

บทที่ 3

ผลการทดลอง และการอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมแห้ง

จากการสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมแห้งด้วยวิธีการต้ม (Reflux) ด้วย 95% ethanol และ partition ด้วย ethyl acetate พบว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลเข้ม (รูปที่ 3.1) คิดเป็น % yield 7.78 % w/w และวิเคราะห์หาปริมาณ ellagic acid โดยวิธี HPLC นำค่าที่ได้มาคำนวณจากการฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงพบว่ามีปริมาณ ellagic acid 11.51 ± 0.23 %w/w



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม

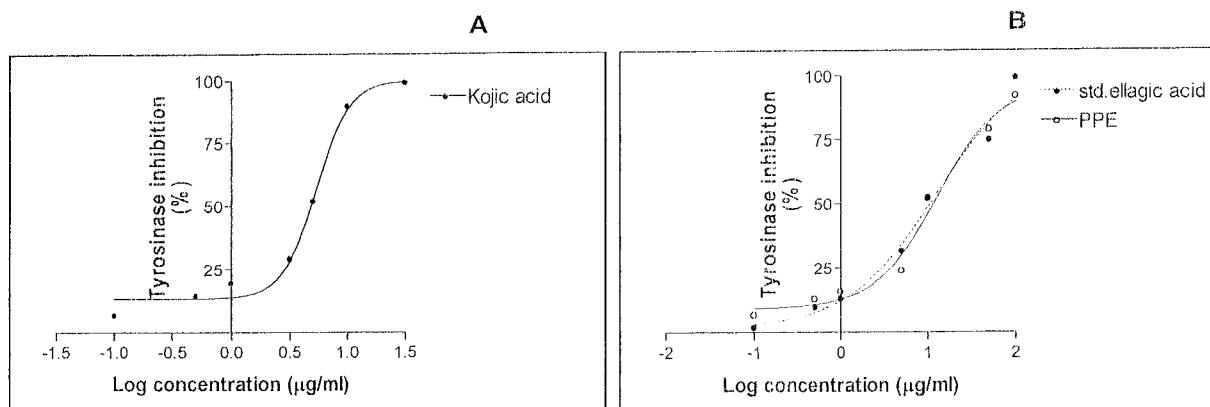
3.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดขยายจากเปลือกผลทับทิม

จากการทดสอบฤทธิ์ anti-tyrosinase ด้วยวิธี mushroom tyrosinase inhibitor assay พบว่า สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมมีฤทธิ์น้อยกว่า kojic acid เพียง 2 เท่า และมีฤทธิ์เทียบเท่ากับ standard ellagic acid ส่วนการทดสอบฤทธิ์ anti-oxidation ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay พบว่า สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมมีฤทธิ์น้อยกว่า trolox 3 เท่า แต่มีฤทธิ์ตื้อกว่า standard ellagic acid

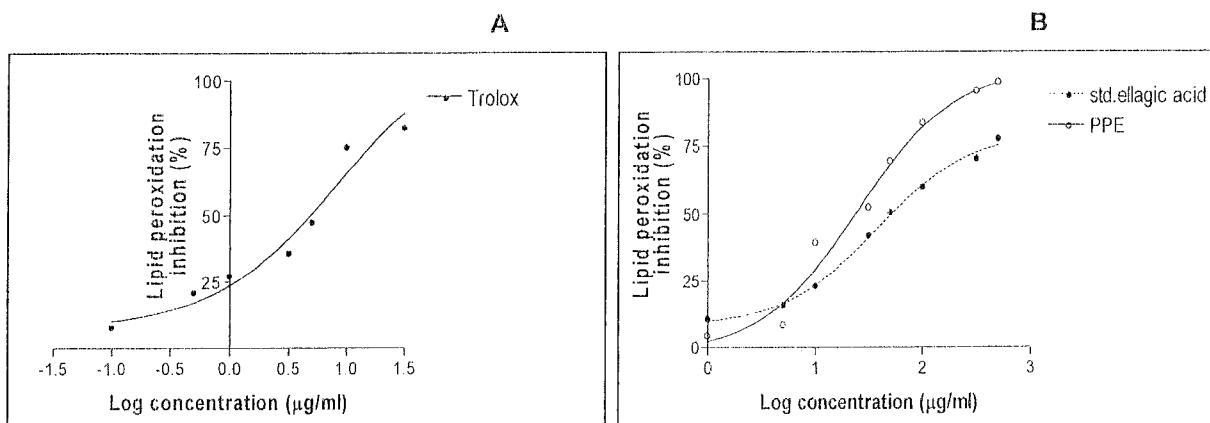
ซึ่งการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ว่า สมุนไพรในรูปสารสกัดขยายสามารถนำมาใช้ได้โดยไม่มีความจำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์เพื่อให้ได้สารสำคัญในการออกฤทธิ์ ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต้องการเป็นผลมาจากการออกฤทธิ์ของสารหลายชนิดที่มีปริมาณ และสัดส่วนที่พอเหมาะในสารสกัดนั้นร่วมกัน

ตารางที่ 3.1 แสดงค่า EC₅₀ ของผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดเปลือกผลทับทิม

| การทดสอบ | EC ₅₀ (μg/ml) | | |
|-----------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | positive control | standard ellagic acid | สารสกัดเปลือกผลทับทิม |
| anti-tyrosinase | 5.33 (kojic acid) | 12.56 | 12.78 |
| anti-oxidation | 7.80 (trolox) | 36.92 | 24.35 |



รูปที่ 3.2 Sigmoid curves แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log concentration กับ % tyrosinase inhibition (A) kojic acid, (B) std.ellagic acid and pomegranate peel extract (PPE)



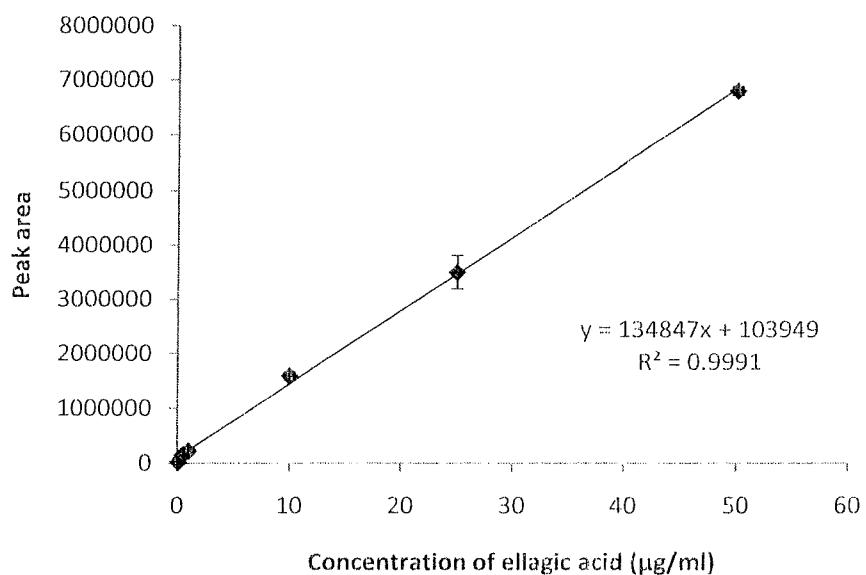
รูปที่ 3.3 Sigmoid curves แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log concentration กับ % lipid peroxidation inhibition (A) trolox, (B) std.ellagic acid and pomegranate peels extract (PPE)

3.3 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ ellagic acid

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ ellagic acid ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 10, 25 และ 50 μg/ml ด้วย HPLC ตามสภาวะที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยฉีด standard ellagic acid เข้า HPLC ตัวอย่างละ 2 ครั้ง โดยทำการทดลอง 3 ชั้้า นำค่าเฉลี่ยของ peak area (ตารางที่ 3.2) มา plot calibration curve ระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของ standard ellagic acid พบร่วมกับสมการเส้นตรง $y = 134847x + 103949$ โดยมีค่า Linear correlation (R^2) 0.9991(รูปที่ 3.4)

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าพื้นที่ได้กราฟของสารมาตรฐาน ellagic acid

| Concentration of ellagic acid ($\mu\text{g/ml}$) | Peak area | | | | |
|--|-----------|---------|---------|-----------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | Mean | SD |
| 0.1 | 26440 | 26682 | 24078 | 25733.333 | 1439 |
| 0.5 | 156260 | 153254 | 157456 | 155656.67 | 2165 |
| 1 | 218170 | 221650 | 214983 | 218267.67 | 3335 |
| 10 | 1677708 | 1577118 | 1522703 | 1592509.7 | 78640 |
| 25 | 3621595 | 3156629 | 3737826 | 3505350 | 307542 |
| 50 | 6828102 | 6712351 | 6871226 | 6803893 | 82158 |



รูปที่ 3.4 Standard curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ได้กราฟกับความเข้มข้นของ ellagic acid

3.4 การตั้งตัวรับสารสกัดเปลือกผลทับทิมในรูปแบบ อนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโน

จากการศึกษาพบว่าสามารถเตรียม pomegranate peel extract loaded NLCs ด้วยเทคนิค hot melt microemulsion ได้สำเร็จ โดยเมื่อถูกจากจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องการณ์ (SEM) พบว่าอนุภาคมีรูปร่างทรงกลม มีการกระจายตัวดี (รูปที่ 3.5)



รูปที่ 3.5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องสว่าง (SEM) แสดงลักษณะอนุภาค Lyophilized pomegranate peel extract loaded NLCs ที่เตรียมจาก lexol โดยมีไขมันแข็งเป็นร้อยละ 25 ของตัวรับ

และเมื่อทำการวัดขนาดอนุภาคด้วย dinamic light scattering พบว่ามีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 160 - 300 nm (ตารางที่ 3.3) ค่าการกระจายอนุภาคอยู่ในช่วง 0.2-0.3 และประจุบวกของอนุภาคมีค่าเฉลี่ย ~ -35 mV ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความคงตัวของตัวรับ โดยทั่วไปพบว่าปัจจัยในการผลิตที่ทำให้การศึกษาไม่มีผลต่อค่าประจุบวกของอนุภาค แต่มีผลต่อขนาดและการกระจายอนุภาค ปัจจัยในการผลิตที่มีผลต่อขนาดอนุภาคได้แก่ ปริมาณของไขมันแข็งในตัวรับ ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว และปริมาณของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม อย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของไขมันเหลวไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ย การกระจายอนุภาค

จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันแข็งจาก 10-30 (%w/w) ขนาดอนุภาคเฉลี่ยมีแนวโน้มใหญ่ขึ้นจาก 160-330 nm ค่าการกระจายของอนุภาคก็กว้างขึ้น เนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันแข็งในตัวรับโดยที่ปริมาณสารลดแรงตึงผิวคงที่ ทำให้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวไม่พอที่จะใช้ในการก่อให้เกิดอนุภาค

ซึ่งจากการศึกษาเมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (lipoid s75) จาก 3-7 (%w/w) พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยมีแนวโน้มเล็กลง เนื่องจากปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เพิ่มขึ้นจะไปช่วยลดแรงตึงผิวในขณะที่จะเกิดเป็นอนุภาค จึงส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง ค่าการกระจายของอนุภาคก็แคบลง

จากการทดลองยังพบว่าเมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมมากขึ้นจะทำให้ขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นด้วยเนื่องจากเมื่อเกิดเป็นอนุภาคปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมที่มากกว่าจะสามารถกระจายอยู่ในอนุภาค และภาวะอยู่ที่ผิวอนุภาค ได้มากกว่าการโหลดสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมในปริมาณเท่าน้อย จึงส่งผลให้เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมมากขึ้นจะทำให้ได้ขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น

นอกจากนี้ ยังได้ทดลองเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมในรูปแบบไขมันแข็งขนาดนาโนในรูปแบบผงแห้งด้วยเทคโนโลยี freeze dry โดยใช้mannitol เป็น lyoprotectant จากผลการทดลองพบว่าสามารถเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมในรูปแบบไขมันแข็งขนาดนาโนในรูปแบบผงแห้งได้สำเร็จ ได้ผงแห้งสีเหลืองอ่อน กระจายตัวได้ง่ายในน้ำกลั่น ไม่เกาะกันเป็นก้อน เมื่อนำมาไปดูลักษณะตัวยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องสว่าง พบว่า มีลักษณะเป็นทรงกลม และเมื่อทำการวัดขนาดอนุภาคด้วย dinamic light scattering มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 200 nm

ตารางที่ 3.3 แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย การกระจายขนาดอนุภาคและประจุบวกเพื่ออนุภาคเมื่อเปลี่ยนแปลงปัจจัยในกระบวนการผลิต

| ชนิดของ Oil | Mean particle size (nm) ± SD | Polydispersity index (PI) ± SD | Zeta potential (mV) ± SD |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Lexol | 169 ± 11 | 0.27 ± 0.01 | -36.5 ± 2.1 |
| Oleic acid | 176 ± 3 | 0.26 ± 0.04 | -33.4 ± 1.9 |
| Olive oil | 188 ± 2 | 0.34 ± 0.02 | -33.9 ± 2.6 |
| IPP | 175 ± 5 | 0.26 ± 0.04 | -36.8 ± 2.1 |
| IPM | 183 ± 7 | 0.27 ± 0.05 | -35.9 ± 3.5 |
| Total lipid (%w/w) | Mean particle size (nm) ± SD | Polydispersity index (PI) ± SD | Zeta potential (mV) ± SD |
| 10 | 162 ± 6 | 0.27 ± 0.04 | -35.4 ± 2.2 |
| 15 | 169 ± 2 | 0.28 ± 0.05 | -35.4 ± 3.4 |
| 20 | 212 ± 8 | 0.27 ± 0.05 | -32.6 ± 1.9 |
| 25 | 169 ± 11 | 0.27 ± 0.01 | -36.5 ± 2.1 |
| 30 | 328 ± 15 | 0.32 ± 0.03 | -34.3 ± 2.1 |
| Surfactant (%w/w) | Mean particle size (nm) ± SD | Polydispersity index (PI) ± SD | Zeta potential (mV) ± SD |
| 3 | 324 ± 8 | 0.34 ± 0.02 | -34.7 ± 1.9 |
| 5 | 277 ± 5 | 0.27 ± 0.03 | -37.4 ± 1.8 |
| 7 | 169 ± 11 | 0.27 ± 0.01 | -36.5 ± 2.1 |
| Pomegranate peel extract (%w/w) | Mean particle size (nm) ± SD | Polydispersity index (PI) ± SD | Zeta potential (mV) ± SD |
| 0.5 | 169 ± 11 | 0.27 ± 0.01 | -36.5 ± 2.1 |
| 0.6 | 237 ± 6 | 0.27 ± 0.04 | -34.9 ± 2.9 |
| 0.7 | 289 ± 6 | 0.28 ± .003 | -33.4 ± 2.6 |

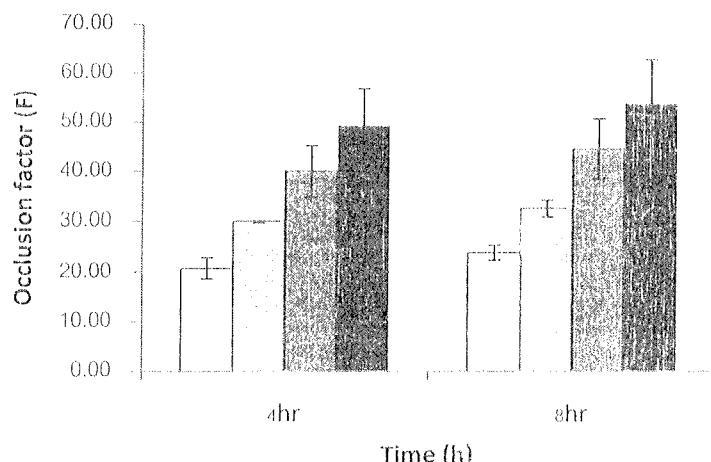
3.5 การทดสอบการปักคลุมผิวของอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโน

รูปที่ 3.6 แสดงค่าการปักคลุม (F) ของ NLC dispersions โดยการเพิ่มปริมาณของไขมันแข็งทึบหมดในตัวรับจาก 10%, 15%, 20% ถึง 30% (w/w) จากการศึกษาเราคาดหวังว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของไขมันแข็ง ความเข้มข้นของอนุภาคของไขมันมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นด้วย

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันที่เป็นของแข็งจาก 10% ถึง 30% (w/w) นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปักคลุม (F) ผลการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ด้วยความสามารถของอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนในการยึดติด (adhesiveness) ผิวที่ตื้น เนื่องจากประสิทธิภาพในการยึดติดผิวนี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามขนาดของ

อนุภาคที่เล็กลง (Wissing et al., 2001) การยึดติดพิวของอนุภาคไข่มันแข็งขนาดนาโนนั้นนำไปสู่การสร้างฟลั่มบนผิวน้ำหลังจากการหุง เนื่องจากอนุภาคไข่มันแข็งขนาดนาโนมีช่องว่างระหว่างอนุภาคที่แคบขนาดแคปิลารี (capillary) ทำให้เกิดแรงแคปิลารี (capillary forces) ซึ่งจะส่งเสริมให้เกิดฟลั่มที่มีความหนา (Pardeike et al., 2007) ทำให้การระเหยของน้ำลดลง และทำให้เกิดผลของการปกคลุมผิว (occlusion effect) ซึ่งมีความเข้มข้นของอนุภาคของไข่มันเพิ่มขึ้นก็ส่งผลให้เกิดการปกคลุมผิวที่มากขึ้นด้วย ซึ่งอาจมาจากการพกรูหรือความหนาของชั้นของฟลั่มซึ่งจะทำการศึกษาต่อไป

ค่าการปกคลุมยังขึ้นอยู่กับเวลา หากเปรียบเทียบผลการปกคลุมระหว่างที่เวลา 4 ชั่วโมงและ 8 ชั่วโมงพบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปกคลุม แต่ที่ปริมาณไข่มันแข็งที่ 20% และ 30% (w/w) พบว่าค่าการปกคลุมมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าที่เวลา 4 ชั่วโมงสามารถเกิดการปกคลุมผิวได้สูงสุด



รูปที่ 3.6 แสดงค่าการปกคลุม (Occlusion factor) ของ NLC dispersions ที่เตรียมโดยมีปริมาณไข่มันรวมเป็น □ 10% w/w, □ 15% w/w, □ 20% w/w และ ■ 30% w/w

3.6 การศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยยา

จากการทดลองแสดงในตารางที่ 3.4 พบว่าการเตรียม pomegranate peel extract loaded NLCs ด้วยเทคนิค hot microemulsion มีประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยยาอยู่ในช่วงร้อยละ 50 - 90 โดยปัจจัยในกระบวนการผลิตมีผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยยา

จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ไข่มันเหลวเป็น oleic acid และ olive oil ประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยยาจะลดลงอยู่ในช่วงร้อยละ 50-60 เนื่องมาจากไข่มันเหลวทั้งสองชนิดนี้มีความหนืดสูง ทำให้ microemulsion ที่เตรียมได้เกิดเป็นเจลที่มีความหนืดสูงตามไปด้วย จึงยากต่อการกระจายลงใน stabilizing agent ทำให้สูญเสียไปในกระบวนการผลิตในปริมาณมาก โดยพบว่าเมื่อใช้ lexol เป็นไข่มันเหลวจะให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยยามากที่สุด

จากการทดลองยังพบว่าเมื่อใช้ไขมันเหลวเป็น Lexol แต่เพิ่งปริมาณไขมันแข็งทั้งหมดในเตารีบจาก 10-30 (%w/w) ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาไม่แน่ใจมีเพิ่มขึ้นร้อยละ 70-90 จากการศึกษาผู้วิจัยคาดหวังว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของไขมันแข็ง ความเข้มข้นของอนุภาคของไขมันมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น รวมถึงขนาดอนุภาคเฉลี่ยก็มีแนวโน้มใหญ่ขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

นอกจากนี้เมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงดึงผิว พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงดึงผิวน้ำดอนุภาคเฉลี่ยมีแนวโน้มเล็กลง และยังส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยพบว่าเมื่อใช้ปริมาณไขมันแข็ง 25 (%w/w) และปริมาณสารลดแรงดึงผิว 7 (%w/w) ให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยามากที่สุด

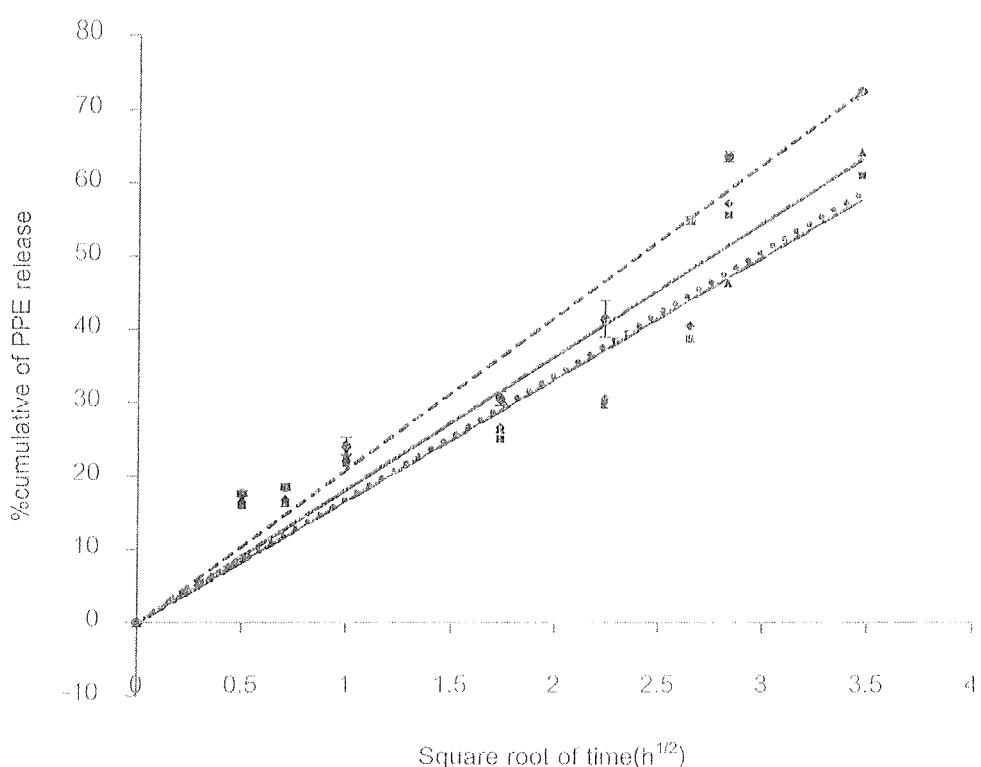
อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ไขมันเหลวเป็น Lexol ปริมาณไขมันแข็งเป็น 25 (%w/w) แต่เพิ่มปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม พบร่วมกับการเพิ่มปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยา โดยสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมที่ 0.5 (%w/w) ให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยามากที่สุด

ตารางที่ 3.4 แสดงประสิทธิภาพในการกักเก็บ ellagic acid เป็นร้อยละ

| ชนิด oil | % Entrapment (mean ± SD) |
|---------------------------------|--------------------------|
| Lexol | 90.75 ± 2.20 |
| Oleic acid | 59.73 ± 2.35 |
| Olive oil | 49.65 ± 1.31 |
| IPP | 72.31 ± 7.56 |
| IPM | 71.38 ± 6.11 |
| Total lipid (%w/w) | % Entrapment (mean ± SD) |
| 10 | 66.05 ± 2.39 |
| 15 | 74.49 ± 2.68 |
| 20 | 81.13 ± 0.67 |
| 25 | 90.75 ± 2.20 |
| 30 | 88.97 ± 0.98 |
| Surfactant (%w/w) | % Entrapment (mean ± SD) |
| 3 | 74.68 ± 1.49 |
| 5 | 86.94 ± 1.48 |
| 7 | 90.75 ± 2.20 |
| Pomegranate peel extract (%w/w) | % Entrapment (mean ± SD) |
| 0.5 | 90.75 ± 2.20 |
| 0.6 | 84.70 ± 1.10 |
| 0.7 | 81.51 ± 0.97 |

3.7 การศึกษารูปแบบการปลดปล่อยตัวยา

ศึกษารูปแบบการปลดปล่อย ellagic acid จากตัวรับ pomegranate peel extract loaded NLCs cream และ ตัวรับ pomegranate peel extract unloaded NLCs cream ด้วยวิธี Franz diffusion cell จากผลการศึกษาพบว่าอนุภาคมีการปลดปล่อย ellagic acid ช้าๆ อย่างต่อเนื่อง (prolong release) ภายในเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งรูปแบบการปลดปล่อยตัวยาเป็นไปตาม Higuchi's model โดยในการทดลองนี้ศึกษาการปลดปล่อย ellagic acid จาก NLCs ที่เตรียมโดยใช้ไขมันเหลวต่างชนิดกัน พบว่าการปลดปล่อยตัวยาเชื่อมกับชนิดของไขมันเหลว การทดลองนี้ได้เห็นว่าตัวรับที่ใช้ Iexol เป็นไขมันเหลว มีการปลดปล่อยตัวยามากกว่าตัวรับที่ใช้ IPP และ IPM เป็นไขมันเหลว แต่มีการปลดปล่อยตัวยาที่น้อยกว่า pomegranate peel extract unloaded NLCs โดยค่าการปลดปล่อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากในรูปแบบ pomegranate peel extract loaded NLCs ตัวยาต้องละลายออกจากอนุภาค และต้องแพร่ผ่านครีมก่อน จึงพบว่ามีอัตราเร็วในการละลายช้ากว่าในรูปแบบ pomegranate peel extract unloaded NLCs (รูปที่ 3.7) ผลการทดลองนี้แนะนำว่าจำนวนครั้นบอนจะต้องของ Iexol, IPP และ IPM ไม่ค่าเท่ากัน C6-C12, C19 และ C17 ตามลำดับ ซึ่งส่งผลต่อการปลดปล่อยตัวยา โดย Iexol มีจำนวนครั้นบอนจะต่ำกว่าที่สุด จะช่วยในการปลดปล่อย ellagic acid ออกมากที่สุด

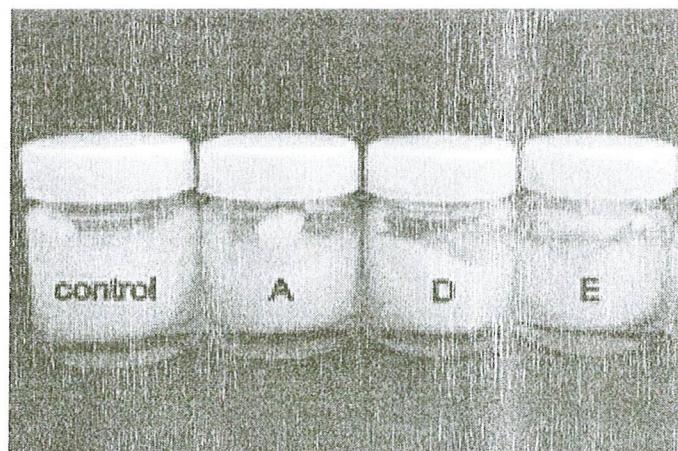


รูปที่ 3.7 แสดงรูปแบบการปลดปล่อยตัวยาจากตัวรับ pomegranate loaded NLCs cream เมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดของไขมันเหลวในตัวรับ (-♦-) Iexol, (-▲-) IPP และ (-◆-) IPM เมริยบเทียบกับตัวรับ (-●-) pomegranate peel extract unloaded NLCs cream

3.8 การศึกษาความคงตัวทางกายภาพ และเคมี

จากผลการศึกษาความคงตัวในสภาพแวดล้อม โดยพบว่าปัจจัยในกระบวนการผลิตที่ศึกษาไม่มีผลต่อความคงตัวทางกายภาพ ตารางที่ 3.5 แสดงลักษณะของตัวรับเมื่อผ่านการทดสอบในสภาพแวดล้อม 6 รอบ พบว่าไม่มีการแยกชั้นของตัวรับที่รอบต่างๆ ซึ่งทุกตัวรับจะมีลักษณะเหมือนกัน ตัวรับก่อนการทดสอบคือ เป็นครีมสีขาวที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน (รูปที่ 3.8) โดยจากการทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาพแวดล้อม โดยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ พบว่าทุกตัวรับไม่มีการเปลี่ยนแปลงความหนืด

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาความคงตัวทางเคมีโดยการวัดการเปลี่ยนแปลง pH ของตัวรับด้วยเครื่อง pH meter และวัดปริมาณสารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC ผลการทดลองพบว่าทุกตัวรับเมื่อผ่าน heat cool cycle ครบ 6 รอบ พบว่ามี ความคงตัวดี โดยไม่ขึ้นกับปัจจัยในการผลิตที่ศึกษา ตารางที่ 3.7 แสดงค่า pH ของตัวรับ จากการทดลองพบว่าหลังการทดสอบในสภาพแวดล้อมทุกตัวรับมีไกล์เดียงกับก่อนการทดสอบ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการหาปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC (รูปที่ 3.9) โดยพบว่าเมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดของไขมันเหลว พบว่าปริมาณสารสำคัญลดลง ไกล์เดียงกับหลังการทดสอบในสภาพแวดล้อม ซึ่งจากการศึกษาจะเห็นได้ว่าระบบนำส่งในรูปแบบ NLCs มีแนวโน้มในการเพิ่มความคงตัวให้กับสารสกัดเปลือกผลทับทิมได้



รูปที่ 3.8 ภาพถ่ายแสดงลักษณะตัวรับหลังการทดสอบความคงตัวทางกายภาพในสภาพแวดล้อม โดยวิธี Heat cool ของตัวรับ pomegranate loaded NLCs cream เมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดของไขมันเหลว (A) Lexol, (D) IPP และ (E) IPM เปรียบเทียบกับตัวรับ (control) pomegranate peel extract unloaded NLCs cream

ตารางที่ 3.5 แสดงลักษณะด้ำรูปเมื่อทำการทดสอบความคงตัวทางกายภาพในสภาวะเร่ง โดยวิธี heat cool ที่จำนวนรอบต่างๆ

| ตัวรับ | Oil | ตัวอย่างที่ | ลักษณะการแยกชั้น หลังเข้า Heat cool (101) | | | | | | |
|---------|--------------------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| A | Lexol | 1 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 2 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 3 | M | M | M | M | M | M | M |
| D | IPP | 1 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 2 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 3 | M | M | M | M | M | M | M |
| E | IPM | 1 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 2 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 3 | M | M | M | M | M | M | M |
| Control | Pomegranate peel extract cream | 1 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 2 | M | M | M | M | M | M | M |
| | | 3 | M | M | M | M | M | M | M |

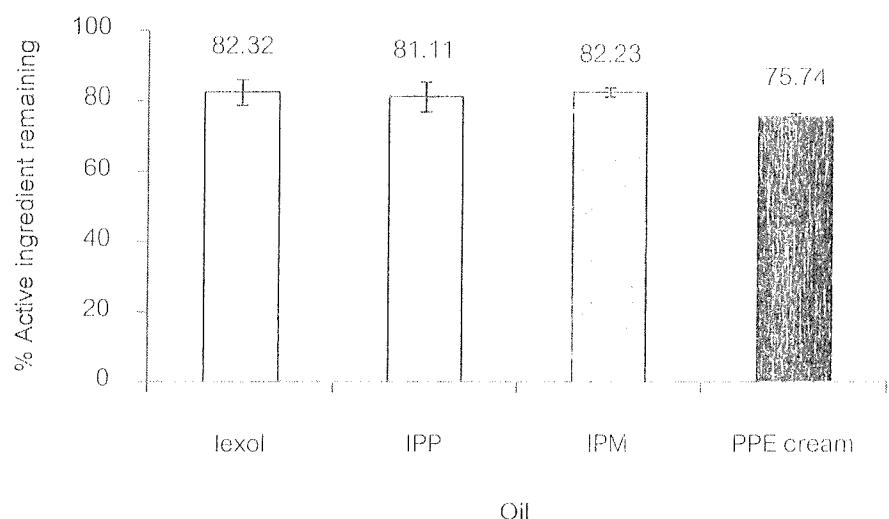
หมายเหตุ: M = ไม่แยกชั้น

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าความหนืดของตัวรับทั้งก่อนและหลังทำการทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่ง โดยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ โดยเก็บให้พันแสง

| ตัวรับ | Oil | Viscosity (cps) ± SD | |
|---------|--------------------------------|----------------------|-----------------------|
| | | Initial | After heat cool cycle |
| A | Lexol | 1654 ± 23 | 1613 ± 16 |
| D | IPP | 1865 ± 12 | 1850 ± 21 |
| E | IPM | 1630 ± 16 | 1604 ± 26 |
| Control | Pomegranate peel extract cream | 1683 ± 15 | 1653 ± 0.05 |

ตารางที่ 3.7 แสดงค่า pH ของตัวรับหังก์ก่อนและหลังทำการทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่ง โดยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ โดยเก็บให้พันแสบ

| ตัวรับ | Oil | pH value \pm SD | |
|---------|--------------------------------|-------------------|-----------------------|
| | | Initial | After heat cool cycle |
| A | Lexol | 7.34 \pm 0.10 | 7.51 \pm 0.05 |
| B | IPP | 7.35 \pm 0.05 | 7.18 \pm 0.02 |
| E | IPM | 7.30 \pm 0.06 | 7.04 \pm 0.06 |
| Control | Pomegranate peel extract cream | 7.28 \pm 0.07 | 7.16 \pm 0.06 |



รูปที่ 3.9 แสดงปริมาณสารสำคัญที่เหลืออยู่ในตัวรับ pomegranate loaded NLCs cream เมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดของไขมันเหลว (□) Lexol, (□) IPP และ (□) IPM เปรียบเทียบกับตัวรับ (■) pomegranate peel extract unloaded NLCs cream หลังการทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่งด้วยวิธี heat cool