

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์หาปริมาณ ellagic acid จากสารสกัดเปลือกผลทับทิมด้วย HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณ ellagic acid ด้วยวิธี HPLC

ซึ่งสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม 10 mg ละลายใน MeOH 1ml จากนั้นนำไปเจือจางด้วย mobile phase ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 100 µg /ml นำไปกรองด้วย nylon membrane แล้ววิเคราะห์หาปริมาณ ellagic acid ด้วยวิธี HPLC โดยเตรียมตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ปริมาณของ ellagic acid จากสารสกัดเปลือกผลทับทิม

Sample		PPE (mg)	Peak area			Concentration	% ellagic acid	
			1	2	Mean		Mean	SD
PPE	1	10	1606877	1635431	1621154	11.25	11.51	0.23
	2	10	1654871	1673645	1664258	11.57		
	3	10	1665213	1696540	1680877	11.69		

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง (linear regression equation) ที่ได้จาก calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของ ellagic acid เท่ากับ $y = 134847x + 103949$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของ ellagic acid y = ค่าพื้นที่ใต้กราฟ

โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัดเปลือกผลทับทิมที่มีความเข้มข้น 100 µg/ml

ครั้งที่ 1 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1621154

$$x = (1621154 - 103949) / 134847$$

$$= 11.25 \text{ µg/ml}$$

ครั้งที่ 2 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1664258

$$x = (1664258 - 103949) / 134847$$

$$= 11.57 \text{ µg/ml}$$

ครั้งที่ 3 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1680877

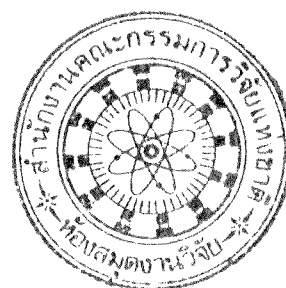
$$x = (1680877 - 103949) / 134847$$

$$= 11.69 \text{ µg/ml}$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยของปริมาณ ellagic acid} = (11.25 + 11.57 + 11.69) / 3$$

$$= 11.51$$

∴ สารสกัดเปลือกผลทับทิมที่สกัดได้มีปริมาณของ ellagic acid 11.51 %



ภาคผนวก ข

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิม

1. ทดสอบฤทธิ์ Anti-tyrosinase ด้วยวิธี mushroom tyrosinase inhibitor assay

ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบคือ สารสกัดจากเปลือกผลทับทิม, standard ellagic acid และใช้ kojic acid เป็น positive control นำผลที่ได้มาคำนวณหา % tyrosinase inhibition แล้วสร้างกราฟระหว่าง log concentration และ % tyrosinase inhibition ของตัวอย่างเพื่อหาค่า EC₅₀

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = \frac{(\text{OD of control} - \text{OD of sample})}{\text{OD of control}} \times 100$$

เมื่อ OD of control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 510 nm

OD of sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 510 nm

$$\begin{aligned} \% \text{ Tyrosinase inhibition} &= \frac{(0.6827 - 0.6370)}{0.6827} \times 100 \\ &= 6.6928 \end{aligned}$$

2. ทดสอบฤทธิ์ anti-oxidation ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay

ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบคือ สารสกัดจากเปลือกผลทับทิม, standard ellagic acid และใช้ trolox เป็น positive control นำผลที่ได้มาคำนวณหา % Lipid peroxidation inhibition แล้วสร้างกราฟระหว่าง log concentration และ % Lipid peroxidation inhibition ของตัวอย่างเพื่อหาค่า EC₅₀

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition} = \frac{(\text{OD of control} - \text{OD of sample})}{\text{OD of control}} \times 100$$

เมื่อ OD of control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 510 nm

OD of sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 510 nm

$$\begin{aligned} \% \text{ Lipid peroxidation inhibition} &= \frac{(0.2664 - 0.2464)}{0.2664} \times 100 \\ &= 7.4998 \end{aligned}$$

ตารางที่ 2 ผลการทดลองการทดสอบฤทธิ์ Anti-tyrosinase

Concentration of kojic acid	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.001	0.6370	0.6361	0.6366	6.6928	6.8326	6.7626	6.7627	5.33
0.005	0.5876	0.5819	0.5827	13.9278	14.7701	14.6530	14.4503	
0.01	0.5489	0.5494	0.5519	19.5987	19.5254	19.1519	19.4253	
0.03	0.4763	0.4786	0.4990	30.2370	29.8911	26.9050	29.0110	
0.05	0.3329	0.3173	0.3347	51.2300	53.5214	50.9812	51.9109	
0.1	0.0843	0.0655	0.0599	87.6451	90.4104	91.2332	89.7629	
0.3	0.0064	0.0089	0.0006	99.0625	98.6890	99.9194	99.2237	
0.5	0.0009	0.0008	0.0010	100.1318	100.1172	99.8608	100.0366	

Concentration std.ellagic acid	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.001	0.6709	0.6711	0.6710	1.7322	1.693	1.7116	1.7123	12.56
0.005	0.6173	0.6171	0.6168	9.5826	9.61098	9.6551	9.6162	
0.01	0.5901	0.5996	0.5953	13.5672	12.176	12.7951	12.8461	
0.05	0.4635	0.4732	0.4671	32.1045	30.6831	31.5804	31.4560	
0.1	0.3200	0.3323	0.3252	53.1231	51.3256	52.3626	52.2704	
0.5	0.1651	0.1801	0.1720	75.8149	73.6178	74.8092	74.7473	
1	0.0003	0.0061	0.0107	100.0402	99.1110	98.4321	99.1944	
5	0.0127	0.0065	0.0009	98.1365	100.9579	99.873	99.6558	

Concentration PPE (mg/ml)	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.001	0.6359	0.6380	0.6367	6.8514	6.5519	6.7447	6.7160	12.78
0.005	0.5909	0.5982	0.5991	13.4526	12.3832	12.2413	12.6923	
0.01	0.5793	0.5677	0.5773	15.1526	16.8521	15.4318	15.8122	
0.05	0.5057	0.5242	0.5315	25.9314	23.2216	22.1447	23.7659	
0.1	0.3282	0.3206	0.3301	51.9321	53.0394	51.6461	52.0259	
0.5	0.1358	0.1525	0.1448	80.11242	77.6559	78.7875	78.8519	
1	0.0463	0.0555	0.0636	93.2128	91.8657	90.6868	91.9218	
5	0.0242	0.0353	0.0280	96.4626	94.8332	95.8949	95.7302	

ตารางที่ 3 ผลการทดลองการทดสอบฤทธิ์ Anti-oxidation

Concentration of trolox	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.001	0.2464	0.2462	0.2459	7.4998	7.5998	7.6997	7.5998	7.80
0.005	0.2160	0.2083	0.2085	18.9185	21.7965	21.7287	20.8146	
0.01	0.1969	0.1940	0.1924	26.0895	27.1759	27.7595	27.0083	
0.03	0.1717	0.1725	0.1696	35.5648	35.2364	36.3454	35.7155	
0.05	0.1370	0.1446	0.1399	48.5680	45.7278	47.4677	47.2545	
0.1	0.0687	0.0662	0.0640	74.2037	75.1431	75.9910	75.1126	
0.3	0.0468	0.0513	0.0459	82.4258	80.7260	82.7678	81.9732	
0.5	0.0100	0.0049	0.0042	96.2576	98.1557	98.4359	97.6164	

Concentration std.ellagic	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.01	0.2409	0.2353	0.2375	9.5658	11.6626	10.8365	10.6883	36.92
0.05	0.2221	0.2245	0.2259	16.6395	15.7403	15.1990	15.8596	
0.1	0.2084	0.2047	0.2020	21.7706	23.1638	24.1556	23.0300	
0.3	0.1581	0.1524	0.1535	40.6368	42.7786	42.3728	41.9294	
0.5	0.1330	0.1302	0.1327	50.0685	51.1397	50.1994	50.4692	
1	0.1099	0.1029	0.1086	58.7548	61.3670	59.2361	59.7860	
3	0.0821	0.0772	0.0792	69.1675	71.0345	70.2532	70.1517	
5	0.0584	0.0650	0.0582	78.0614	75.6104	78.1412	77.2710	

Concentration of PPE	Absorbance (510 nm)			%Inhibition				EC ₅₀
	1	2	3	1	2	3	Mean	
0.01	0.2550	0.2550	0.2547	4.2825	4.2746	4.4078	4.3216	24.35
0.05	0.2440	0.2445	0.2439	8.4128	8.2339	8.4531	8.3266	
0.1	0.1577	0.1650	0.1622	40.7865	38.065	39.1251	39.2355	
0.3	0.1299	0.1270	0.1247	51.2378	52.3458	53.1856	52.2564	
0.5	0.0838	0.0796	0.0824	68.5286	70.1258	69.0551	69.2365	
1	0.0453	0.0431	0.0449	83.0056	83.81265	83.1282	83.3155	
3	0.0102	0.0159	0.0129	96.1859	94.0365	95.1539	95.1254	
5	0.0033	0.0023	0.0067	98.7524	99.1245	97.4926	98.4565	

ภาคผนวก ค
ขนาด การกระจายขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาค

ตารางที่ 4 แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย การกระจายขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคด้วยเครื่อง Dynamic light scattering

ปัจจัยที่ศึกษา	Mean particle size (nm)					PI Value					Zeta potential value (mV)					
	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	
ชนิด Oil																
	Lexol	162	163	182	169	11	0.27	0.26	0.27	0.01	-35.40	-35.2	-38.9	-36.5	2.1	
	Oleic acid	173	175	179	176	3	0.22	0.26	0.29	0.04	-35.4	-31.6	-33.2	-33.4	1.9	
	Olive oil	190	187	186	188	2	0.36	0.32	0.34	0.02	-36.8	-31.6	-33.4	-33.9	2.6	
	IPP	179	176	169	175	5	0.31	0.24	0.23	0.04	-35.1	-36.1	-39.2	-36.8	2.1	
IPM	183	176	189	183	7	0.21	0.29	0.31	0.27	0.05	-32.8	-39.7	-35.1	-35.9	3.5	
ปัจจัยที่ศึกษา																
Lipid (%w/w)																
	10	156	163	167	162	6	0.31	0.23	0.27	0.04	-37.5	-33.2	-35.6	-35.4	2.2	
	15	170.6	167.6	169.2	169	2	0.26	0.24	0.34	0.05	-35.1	-39.1	-32.4	-35.5	3.4	
	20	221	210	205	212	8	0.21	0.29	0.3	0.05	-32.8	-34.3	-30.6	-32.6	1.9	
	25	162	163	182	169	11	0.27	0.26	0.27	0.01	-35.40	-35.2	-38.9	-36.5	2.1	
30	319	320	346	328	15	0.31	0.29	0.35	0.32	0.03	-33.9	-32.4	-36.5	-34.3	2.1	
ปัจจัยที่ศึกษา																
Surfactant(%w/w)																
	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	
	3	332	316	324	324	8	0.36	0.32	0.35	0.34	0.02	-36.2	-32.6	-35.4	-34.7	1.9
	5	275	283	274	277	5	0.299	0.26	0.24	0.27	0.03	-39.1	-35.6	-37.6	-37.4	1.8
7	162	163	182	169	11	0.27	0.26	0.27	0.27	0.01	-35.40	-35.2	-38.9	-36.5	2.1	
ปัจจัยที่ศึกษา																
PPE (%w/w)																
	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	1	2	3	Mean	SD	
	0.5	162	163	182	169	11	0.27	0.26	0.27	0.27	0.01	-35.40	-35.2	-38.9	-36.5	2.1
	0.6	243	238	231	237	6	0.31	0.26	0.24	0.27	0.04	-35.9	-31.6	-37.2	-34.9	2.9
0.7	294	283	290	289	6	0.28	0.31	0.26	0.28	0.03	-30.5	-35.6	-34.1	-33.4	2.6	

ภาคผนวก ง

การทดสอบการปกคลุมผิวของอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโน

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

ในการทดสอบการปกคลุมผิวของอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนนี้ได้พัฒนาวิธีการทดลองมาจาก de Vringer และ de Ronde (1995) โดยการใช้ผิวหนังหมู แล้วชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและน้ำหนักที่คงเหลืออยู่ที่เวลา 4 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณหาค่าการปกคลุมจากสมการต่อไปนี้

$$F = 100*((A-B)/A)$$

โดยที่ A เป็นปริมาณน้ำที่สูญหายไปของตัวควบคุม

B เป็นปริมาณน้ำที่สูญหายไปของสารทดสอบ

จากสมการนี้ถ้า F มีค่าเป็นศูนย์คือไม่มีผลการปกคลุมเมื่อเทียบกับตัวควบคุม และ F เป็น 100 คือมีผลการปกคลุมที่มากที่สุด

ที่เวลา 4 ชั่วโมง

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำที่สูญหายไปของตัวควบคุม} &= \text{น้ำหนักของน้ำเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักของน้ำที่เหลืออยู่} \\ &= 98.3521 - 98.2564 \\ &= 0.0957 \text{ (A)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำที่สูญหายไปของสารทดสอบ} &= \text{น้ำหนักของสารทดสอบเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักของสาร} \\ \text{ทดสอบที่เหลืออยู่} & \end{aligned}$$

$$= 97.1991 - 97.1253$$

$$= 0.0738 \text{ (B)}$$

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร } F &= 100*((A-B)/A) \\ &= 100*((0.0957 - 0.0738)/0.0957) \\ &= 22.8840 \end{aligned}$$

ผลการทดลองครั้งที่ 1

sample	0 hr			mean	4 hr			mean	8 hr			mean
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
water	98.3531	98.3518	98.3513	98.3521	98.256	98.2565	98.2566	98.2564	98.1017	98.1342	98.1445	98.1268
10%	97.1997	97.1996	97.198	97.1991	97.1227	97.1281	97.1252	97.1253	97.1018	97.101	97.1108	97.1045
15%	96.8859	96.8846	96.8843	96.8849	96.8849	96.8582	96.8462	96.8564	96.8072	96.8002	96.8046	96.8040
20%	97.2022	97.2014	97.2011	97.2016	97.1584	97.1401	97.1644	97.1543	97.0928	97.0946	97.0974	97.0949
30%	96.6873	96.6866	96.6881	96.6873	96.6111	96.6099	96.6075	96.6095	96.5644	96.5831	96.5995	96.5823

ผลการทดลองครั้งที่ 2

sample	0 hr				4 hr				8 hr			
	1	2	3	mean	1	2	3	mean	1	2	3	mean
water	98.513	98.5111	98.5118	98.5120	98.3998	98.3993	98.3976	98.3989	98.3196	98.3181	98.3174	98.3184
10%	98.0624	98.0605	98.0596	98.0608	97.9018	97.8987	97.899	97.8998	97.782	97.781	97.7792	97.7807
15%	97.3667	97.3661	97.365	97.3659	97.2473	97.2474	97.2443	97.2463	97.1455	97.1433	97.1435	97.1441
20%	97.7657	97.7651	97.764	97.7649	97.6845	97.6841	97.6819	97.6835	97.6132	97.6116	97.6107	97.6118
30%	97.5239	97.5237	97.5222	97.5233	97.4281	97.453	97.435	97.4387	97.3497	97.3539	97.3492	97.3509

ผลการทดลองครั้งที่ 3

sample	0 hr				4 hr				8 hr			
	1	2	3	mean	1	2	3	mean	1	2	3	mean
water	97.5399	97.5401	97.5227	97.5342	97.3678	97.3721	97.3696	97.3698	97.2662	97.2657	97.2646	97.2655
10%	98.3554	98.3539	98.3534	98.3542	98.2696	98.2689	98.2682	98.2689	98.2055	98.2063	98.2065	98.2061
15%	96.7277	96.726	96.7259	96.7265	96.599	96.6005	96.5998	96.5998	96.5197	96.5205	96.52	96.5201
20%	98.4444	98.4477	98.4464	98.4462	98.3399	98.3376	98.337	98.3382	98.2447	98.2442	98.2445	98.2445
30%	96.7992	96.8003	96.7993	96.7996	96.7141	96.7134	96.712	96.7132	96.6133	96.6123	96.6095	96.6117

ตารางที่ 5 แสดงค่าการปกคลุมผิวของอนุภาคโพลิเมอร์แข็งขนาดนาโน (F)

sample	F Value											
	4hr						8hr					
	1	2	3	mean	SD		1	2	3	mean	SD	
10%	22.8841	20.8021	22.8913	22.1925	1.2041		22.9188	25.7143	23.1704	23.9345	1.5465	
15%	30.2194	29.7723	30.0794	30.0237	0.2287		32.6835	30.8818	34.3066	32.6173	1.7128	
20%	45.5746	35.3483	39.5472	40.1567	5.1403		50.6095	38.4734	44.8772	44.6534	6.0711	
30%	58.0201	45.3410	44.8772	49.4128	7.4578		64.0722	49.4203	48.0941	53.8622	8.8670	

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการกักเก็บยา

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง (linear regression equation) ที่ได้จาก calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของ ellagic acid เท่ากับ $y = 134847x + 103949$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของ ellagic acid

y = ค่าพื้นที่ใต้กราฟ

โดย 1. NLC dispersion มีปริมาตร 50 ml

2. ใส่สารสกัดลงในดาร์บ NLC ปริมาณ 50 mg ซึ่งมีปริมาณ ellagic acid เท่ากับ 5.76 mg

ดาร์บ A

ครั้งที่ 1 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1484213

$$x = (1484213 - 103949) / 134847$$

$$= 10.24 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

นำค่า x ที่ได้คูณด้วย dilution factor

$$10.24 \times 10 = 102.4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

NLC ปริมาณ 1 ml มีปริมาณของ ellagic acid 102.4 μg

ถ้า NLC ปริมาณ 50 ml จะมีปริมาณของ ellagic acid 5120 μg

เพราะฉะนั้น ellagic acid 5.76 mg คิดเป็น 100 %

ellagic acid 5.120 mg คิดเป็น $100 \times 5.120 / 5.76 = 88.85\%$

$\therefore$ มี % entrapment เท่ากับ 50.95

ครั้งที่ 2 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1551264

$\therefore$ มี % entrapment เท่ากับ 93.17

ครั้งที่ 3 มีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1505632

$\therefore$ มี % entrapment เท่ากับ 90.23

$\therefore$ ค่าเฉลี่ย % entrapment $= (88.85 + 93.17 + 90.23) / 3$

$$= 90.75$$

ตารางที่ 6 แสดงประสิทธิภาพในการกักเก็บ ellagic acid ของตำรับ NLC dispersion

ปัจจัยที่ศึกษา	Peak area			% Entrapment				
	1	2	3	1	2	3	Mean	SD
ชนิด Oil								
Ixol	1484213	1551264	1505632	88.85	93.17	90.23	90.75	2.20
Oleic acid	1036245	993214	1065871	60.02	57.24	61.92	59.73	2.35
Olive oil	882365	852361	891032	50.11	48.18	50.67	49.65	1.31
IPP	1203265	1354677	1123587	70.77	80.51	65.64	72.31	7.56
IPM	1312456	1202354	1123543	77.80	70.71	65.63	71.38	6.11
Lipid (%w/w)								
10	1123654	1096540	1169870	65.64	63.90	68.62	66.05	2.39
15	1254354	1223250	1305648	74.06	72.05	77.36	74.49	2.68
20	1367445	1352640	1372562	81.34	80.38	81.66	81.13	0.67
25	1484213	1551264	1505632	88.85	93.17	90.23	90.75	2.20
30	1502310	1483256	1472356	90.02	88.79	88.09	88.97	0.98
Surfactant (%w/w)								
3	1290123	1256342	1245763	76.36	74.18	73.50	74.68	1.49
5	1478542	1452326	1432654	88.49	86.80	85.53	86.94	1.48
7	1484213	1551264	1505632	88.85	93.17	90.23	90.75	2.20
PPE (%w/w)								
0.5	1484213	1551264	1505632	88.85	93.17	90.23	90.75	2.20
0.6	1436521	1420316	1402355	85.78	84.74	83.58	84.70	1.10
0.7	1387456	1360214	1362758	82.62	80.87	81.03	81.51	0.97

ภาคผนวก จ

ศึกษารูปแบบการปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง ด้วย Franz diffusion cell

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง (Linear regression equation) ที่ได้จาก calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของ ellagic acid เท่ากับ $y = 134847x + 103949$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของ ellagic acid

y = ค่าพื้นที่ใต้กราฟ

เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างสารละลายตัวกลาง 0.5 ml ที่เวลา 15 นาที ภายหลังจากศึกษา นำมาวิเคราะห์ปริมาณของ ellagic acid ตามวิธีข้างต้น พบว่าพื้นที่ใต้กราฟมีค่าเท่ากับ 132251 ดังนั้นความเข้มข้นของ ellagic acid ที่มีในสารละลายตัวอย่างมีค่าเท่ากับ

$$\begin{aligned} x &= (132251 - 103949) / 134847 \\ &= 0.211 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

คิดเป็นปริมาณ ellagic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมา ณ ที่เวลา 15 นาที

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ ellagic acid ใน 0.5 ml} &= (0.211 \times 0.5) / 1 \\ &= 0.105 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ ellagic acid ใน 11 ml} &= (0.211 \times 11) / 1 \\ &= 2.317 \mu\text{g} \end{aligned}$$

เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างสารละลายตัวกลาง 0.5 ml ที่เวลา 30 นาที ภายหลังจากศึกษา นำมาวิเคราะห์ปริมาณของ ellagic acid ตามวิธีข้างต้น พบว่าพื้นที่ใต้กราฟมีค่าเท่ากับ 134254 ดังนั้นความเข้มข้นของ ellagic acid ที่มีในสารละลายตัวอย่างมีค่าเท่ากับ

$$\begin{aligned} x &= (134254 - 103949) / 134847 \\ &= 0.225 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

คิดเป็นปริมาณ curcuminoid ที่ถูกปลดปล่อยออกมา ณ ที่เวลา 30 นาที

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ ellagic acid ใน 11 ml} &= (0.225 \times 11) / 1 \\ &= 2.472 \mu\text{g} \end{aligned}$$

คิดเป็นปริมาณสารสำคัญสะสมทั้งหมดที่ถูกปลดปล่อยออกมา ณ ที่เวลา 30 นาที ภายหลังจากการศึกษา

$$\begin{aligned} &= \text{total ellagic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมา ณ ที่เวลา 30 นาที} + \\ &\quad \text{total ellagic acid ที่อยู่ในตัวอย่างที่ถูกสุ่มออกไป ณ ที่เวลา 15 นาที} \\ &= 2.472 + 0.105 \\ &= 2.577 \mu\text{g} \end{aligned}$$

คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ total ellagic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมา

$$\begin{aligned} &= (2.577 / 10.05) \times 100 \\ &= 25.66 \% \end{aligned}$$

ปัจจัยที่ศึกษา	เวลา	ตัวอย่างที่	น้ำหนัก		Initial (ug)	Peak area	conc ug/ml	conc ug/ml (0.5ml)	conc ug/ml (11ml)	Cumulative release(ug)	% release	
			กรัม	มิลลิกรัม							mean	SD
Lexol	15 min	1	50.2	50.2	10.05	132351	0.211	0.105	2.317	1.158	11.53	11.65 0.62
		2	50.3	50.3	10.05	131314	0.203	0.101	2.232	1.116	11.11	
		3	50.4	50.4	10.05	134321	0.225	0.113	2.478	1.239	12.33	
	30 min	1	50.3	50.3	10.05	134254	0.225	0.112	2.472	2.577	25.65	25.66 0.91
		2	50.3	50.3	10.05	133214	0.217	0.109	2.387	2.489	24.76	
		3	50.1	50.1	10.05	135321	0.233	0.116	2.559	2.672	26.58	
	1 hour	1	50.6	50.6	10.05	136542	0.242	0.121	2.659	2.771	27.573	28.48 1.53
		2	50.4	50.4	10.05	139875	0.266	0.133	2.931	3.039	30.240	
		3	50.2	50.2	10.05	136541	0.242	0.121	2.659	2.775	27.612	
	3 hour	1	50.1	50.1	10.05	140325	0.270	0.135	2.967	3.088	30.728	30.50 0.40
		2	50.3	50.3	10.05	139326	0.262	0.131	2.886	3.019	30.040	
		3	50.3	50.3	10.05	140325	0.270	0.135	2.967	3.088	30.728	
	5 hour	1	50.2	50.2	10.05	142351	0.285	0.142	3.133	3.267	32.512	34.22 1.69
		2	50.1	50.1	10.05	144532	0.301	0.150	3.311	3.442	34.246	
		3	50.4	50.4	10.05	146525	0.316	0.158	3.473	3.608	35.900	
	7 hour	1	50.3	50.3	10.05	150231	0.343	0.172	3.775	3.918	38.983	41.26 2.55
		2	50.2	50.2	10.05	152364	0.359	0.180	3.949	4.100	40.795	
		3	50.4	50.4	10.05	156243	0.388	0.194	4.266	4.424	44.017	
	9 hour	1	50.3	50.3	10.05	179312	0.559	0.279	6.148	6.319	62.878	63.13 0.63
		2	50.2	50.2	10.05	178965	0.556	0.278	6.119	6.299	62.675	
		3	50.3	50.3	10.05	180231	0.566	0.283	6.223	6.417	63.846	
	12 hour	1	50.5	50.5	10.05	189552	0.635	0.317	6.983	7.262	72.263	72.84 2.44
		2	50.2	50.2	10.05	193581	0.665	0.332	7.312	7.590	75.520	
		3	50.3	50.3	10.05	187648	0.621	0.310	6.828	7.111	70.751	

ปัจจัยที่ศึกษา	เวลา	ตัวอย่างที่	น้ำหนักครีม mg	Initial (ug)	Peak area	conc ug/ml	conc ug/ml (0.5ml)	conc ug/ml (11ml)	% release		
									Cumulative release(ug)	mean	SD
IPP	15 min	1	50.6	10.05	126532	0.167	0.084	1.842	0.921	9.17	0.62
		2	50.2	10.05	127547	0.175	0.087	1.925	0.962	9.58	
		3	50.6	10.05	129534	0.190	0.095	2.087	1.044	10.38	
	30 min	1	50.2	10.05	130264	0.195	0.098	2.147	2.230	22.19	0.81
		2	50.3	10.05	128235	0.180	0.090	1.981	2.069	20.58	
		3	50.1	10.05	129214	0.187	0.094	2.061	2.156	21.45	
	1 hour	1	50.5	10.05	130212	0.195	0.097	2.142	2.240	22.288	0.86
		2	50.2	10.05	132124	0.209	0.104	2.298	2.388	23.765	
		3	50.3	10.05	132125	0.209	0.104	2.298	2.392	23.802	
	3 hour	1	50.3	10.05	136545	0.242	0.121	2.659	2.756	27.427	0.74
		2	50.2	10.05	135426	0.233	0.117	2.568	2.672	26.589	
		3	50.4	10.05	137256	0.247	0.123	2.717	2.821	28.074	
	5 hour	1	50.3	10.05	140231	0.269	0.135	2.960	3.081	30.652	0.72
		2	50.5	10.05	139547	0.264	0.132	2.904	3.021	30.056	
		3	50.3	10.05	141235	0.277	0.138	3.042	3.165	31.493	
	7 hour	1	50.4	10.05	148552	0.331	0.165	3.638	3.773	37.542	0.51
		2	50.2	10.05	148652	0.332	0.166	3.647	3.779	37.598	
		3	50.5	10.05	149623	0.339	0.169	3.726	3.864	38.448	
	9 hour	1	50.6	10.05	168235	0.477	0.238	5.244	5.409	53.825	1.20
		2	50.1	10.05	166549	0.464	0.232	5.107	5.272	52.461	
		3	50.3	10.05	165243	0.455	0.227	5.000	5.169	51.436	
	12 hour	1	50.5	10.05	174235	0.521	0.261	5.734	5.972	59.422	1.82
		2	50.7	10.05	178563	0.553	0.277	6.087	6.319	62.872	
		3	50.6	10.05	175255	0.529	0.264	5.817	6.044	60.139	

ปัจจัยที่ศึกษา	เวลา	ตัวอย่างที่	น้ำหนักครีม mg		Initial (ug)	Peak area	conc ug/ml	conc ug/ml (0.5ml)	conc ug/ml (11ml)	Cumulative release(ug)	% release	
											mean	SD
IPM	15 min	1	50.5		10.05	129654	0.191	0.095	2.097	1.048	10.43	9.86 0.64
		2	50.2		10.05	128546	0.182	0.091	2.006	1.003	9.98	
		3	50.2		10.05	126547	0.168	0.084	1.843	0.922	9.17	
	30 min	1	50.3		10.05	129365	0.188	0.094	2.073	2.169	21.58	21.52 0.77
		2	50.5		10.05	130254	0.195	0.098	2.146	2.237	22.26	
		3	50.2		10.05	128453	0.182	0.091	1.999	2.083	20.72	
	1 hour	1	50.3		10.05	131254	0.202	0.101	2.227	2.322	23.101	23.17 0.98
		2	50.2		10.05	132546	0.212	0.106	2.333	2.430	24.182	
		3	50.1		10.05	130214	0.195	0.097	2.143	2.233	22.223	
	3 hour	1	50.6		10.05	135645	0.235	0.118	2.586	2.687	26.734	27.95 1.15
		2	50.4		10.05	137254	0.247	0.123	2.717	2.823	28.088	
		3	50.5		10.05	138521	0.256	0.128	2.820	2.918	29.030	
	5 hour	1	50.3		10.05	140231	0.269	0.135	2.960	3.077	30.619	30.04 0.72
		2	50.2		10.05	138452	0.256	0.128	2.815	2.938	29.234	
		3	50.6		10.05	139665	0.265	0.132	2.913	3.042	30.266	
	7 hour	1	50.2		10.05	149652	0.339	0.169	3.728	3.863	38.435	37.66 1.74
		2	50.1		10.05	146325	0.314	0.157	3.457	3.585	35.669	
		3	50.5		10.05	150235	0.343	0.172	3.776	3.908	38.887	
	9 hour	1	50.6		10.05	159641	0.413	0.207	4.543	4.712	46.890	46.12 0.70
		2	50.4		10.05	158624	0.405	0.203	4.460	4.617	45.942	
		3	50.2		10.05	157922	0.400	0.200	4.403	4.574	45.517	
	12 hour	1	50.1		10.05	179887	0.563	0.282	6.195	6.401	63.692	63.41 0.70
		2	50.6		10.05	180231	0.566	0.283	6.223	6.425	63.934	
		3	50.2		10.05	178633	0.554	0.277	6.092	6.292	62.611	

ปัจจัยที่ศึกษา	เวลา	ตัวอย่างที่	น้ำหนักครีม mg	Initial (ug)	Peak area	conc ug/ml	conc ug/ml (0.5ml)	conc ug/ml (11ml)	% release		
									Cumulative release(ug)	mean	SD
PPE cream	15 min	1	50.1	10.05	126547	0.168	0.084	1.843	0.922	9.17	0.64
		2	50.5	10.05	125465	0.160	0.080	1.755	0.878	8.73	
		3	50.6	10.05	128564	0.183	0.091	2.008	1.004	9.99	
	30 min	1	50.2	10.05	130256	0.195	0.098	2.146	2.230	22.19	1.09
		2	50.3	10.05	129547	0.190	0.095	2.088	2.168	21.57	
		3	50.4	10.05	127563	0.175	0.088	1.926	2.018	20.08	
	1 hour	1	50.4	10.05	132457	0.211	0.106	2.326	2.423	24.110	0.81
		2	50.2	10.05	133265	0.217	0.109	2.391	2.486	24.740	
		3	50.3	10.05	134569	0.227	0.114	2.498	2.585	25.725	
	3 hour	1	50.6	10.05	142154	0.283	0.142	3.117	3.222	32.062	2.07
		2	50.3	10.05	145326	0.307	0.153	3.375	3.484	34.667	
		3	50.4	10.05	140236	0.269	0.135	2.960	3.074	30.583	
	5 hour	1	50.1	10.05	151234	0.351	0.175	3.857	3.999	39.790	1.75
		2	50.5	10.05	154236	0.373	0.186	4.102	4.256	42.344	
		3	50.3	10.05	155463	0.382	0.191	4.202	4.337	43.152	
	7 hour	1	50.4	10.05	163549	0.442	0.221	4.862	5.037	50.121	1.73
		2	50.2	10.05	165234	0.454	0.227	4.999	5.186	51.599	
		3	50.3	10.05	167598	0.472	0.236	5.192	5.383	53.563	
	9 hour	1	50.6	10.05	178236	0.551	0.275	6.060	6.281	62.496	1.85
		2	50.2	10.05	175268	0.529	0.264	5.818	6.045	60.149	
		3	50.2	10.05	179654	0.561	0.281	6.176	6.412	63.797	
	12 hour	1	50.5	10.05	189654	0.636	0.318	6.991	7.267	72.306	0.68
		2	50.3	10.05	190356	0.641	0.320	7.049	7.313	72.766	
		3	50.4	10.05	191235	0.647	0.324	7.120	7.401	73.641	

ภาคผนวก ข

การศึกษาความคงตัวของปริมาณสารสำคัญใน NLCs

แสดงตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง (linear regression equation) ที่ได้จาก calibration curve ของความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของ ellagic acid เท่ากับ $y = 134847x + 103949$

เมื่อ $x =$ ความเข้มข้นของ ellagic acid

$y =$ ค่าพื้นที่ใต้กราฟ

ตำรับ A ครั้งที่ 1

ก่อนทำการทดสอบความคงตัวมีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 178124

$$x = (178124 - 103949)/134847$$

$$= 0.550 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

หลังทำการทดสอบความคงตัวมีค่าพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 165123

$$x = (165123 - 103949)/134847$$

$$= 0.454 \mu\text{g/ml}$$

$$\therefore \% \text{ remaining of ellagic acid} = (0.454 \times 100)/0.550$$

$$= 82.36$$

ตำรับ A ครั้งที่ 2

มีค่า % remaining of ellagic acid เท่ากับ 78.75

ตำรับ A ครั้งที่ 3

มีค่า % remaining of ellagic acid เท่ากับ 85.84

$$\text{ดังนั้น ค่าเฉลี่ย \% remaining of ellagic acid} = (82.36 + 78.75 + 85.84)/3$$

$$= 82.32$$

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณสารสำคัญที่เหลืออยู่ในตัวรับก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ เมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดของไขมัน
เหลวและสารลดแรงตึงผิว

ตัวรับ	ตัวอย่าง ที่	Weight of cream (mg)	Peak area		Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Initial conc. (μg)	Peak area (Final)	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Final conc. (μg)	% Remaining	
			Initial							Mean	SD
A	1	100	178124		0.550	0.550	165123	0.454	0.453	82.36	3.55
	2	100	179654		0.561	0.560	163254	0.440	0.441	78.75	
	3	100	180321		0.566	0.565	169354	0.485	0.485	85.84	
D	1	100	176541		0.538	0.538	159322	0.411	0.411	76.39	4.10
	2	100	180236		0.566	0.565	167456	0.471	0.470	83.19	
	3	100	178621		0.554	0.554	166524	0.464	0.464	83.75	
E	1	100	182354		0.581	0.581	169264	0.484	0.484	83.305	1.23
	2	100	178546		0.553	0.554	165542	0.457	0.457	82.491	
	3	100	177564		0.546	0.544	163344	0.440	0.44	80.882	
PPE cream	1	100	175648		0.532	0.531	158242	0.403	0.403	75.895	0.85
	2	100	180325		0.566	0.564	161021	0.423	0.422	74.823	
	3	100	178945		0.556	0.553	161235	0.425	0.423	76.492	

