ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249526

การศึกษาความเป็นพิษต่อผิวหนังของสารสกัดอัญชันในรูปแบบอนุภาคนาโน โดยใช้แบบทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

SKIN TOXICITY TEST OF NANOPARTICLE OF *Clitoria Ternatea* LINN. USING HUMAN CELL CULTURE MODEL

นางสาวสกณเทพ ศรีรักษ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2554

b00253935

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249526

การศึกษาความเป็นพิษต่อผิวหนังของสารสกัดอัญชันในรูปแบบอนุภาคนาโน โดยใช้แบบทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

SKIN TOXICITY TEST OF NANOPARTICLE OF *Clitoria Ternatea* LINN. USING HUMAN CELL CULTURE MODEL

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย

นางสาวสกลเทพ ศรีรักษ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2554

การศึกษาความเป็นพิษต่อผิวหนังของสารสกัดอัญชันในรูปแบบอนุภาคนาโน โดยใช้แบบทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

นางสาวสกลเทพ ศรีรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพิษวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2554

SKIN TOXICITY TEST OF NANOPARTICLE OF *Clitoria Ternatea* LINN. USING HUMAN CELL CULTURE MODEL

MISS SAKOLTHEP SRIRAK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

IN TOXICOLOGY

GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY

2011

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพิษวิทยา

ชื่อวิทยานิพนธ์: การศึกษาความเป็นพิษต่อผิวหนังของสารสกัดอัญชันในรูปแบบอนุภาคนาโน โดยใช้แบบทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์: นางสาวสกลเทพ ศรีรักษ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. วิไลรัตน์ ลื้อนันต์ศักดิ์ศิริ	ประธานกรรมการ
	ผศ.ดร. สุพัตรา ปรศุพัฒนา	กรรมการ
	รศ.ดร. อรุณศรี ปรีเปรม	กรรมการ
	รศ.ดร. ธีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรือง	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ปรศุพัฒนา)

....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรือง)

....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมาตย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วงศ์วิวัฒน์ ทัศนียกุล)

คณบดีคณะเภสัชศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

สกลเทพ ศรีรักษ์. 2554. **การศึกษาความเป็นพิษต่อผิวหนังของสารสกัดอัญชันในรูปแบบอนุภาคนาโนโดยใช้แบบทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพิษวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร. สุพัตรา ปรศุพัฒนา, รศ.ดร. ธีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรือง

บทคัดย่อ

249526

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแอนโทไซยานินสกัดจากดอกอัญชันสีน้ำเงิน และนาโนซีโอไลต์ (ขนาดอนุภาค 4 ไมโครเมตร ขนาดรูพรุน 2 – 50 นาโนมตร) ซึ่งมุ่งหวังดูดซับแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงที่ใช้คือ เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากหน้าผากมนุษย์และเซลล์เคอราติโนไซต์จากมนุษย์ โดยติดตามเซลล์แบบต่อเนื่องด้วยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ (xCELLigence system) เปรียบเทียบกับทดสอบการตายของเซลล์ด้วยวิธีการเอ็มทีที หลังเซลล์สัมผัสกับสารทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แอนโทไซยานินมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.7 และ 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นาโนซีโอไลต์มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.9 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารประกอบเชิงซ้อน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.7 และ 1.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเซลล์เคอราติโนไซต์และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ตามลำดับ พบว่านาโนซีโอไลต์เหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส ในเซลล์เคอราติโนไซต์และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ร้อยละ 51.5 และ 21.9 สารประกอบเชิงซ้อนพบร้อยละ 21.6 และ 13.7 ตามลำดับ ทั้งนี้แอนโทไซยานินไม่ทำให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส การทดสอบความระคายเคืองจากการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน -1 แอลฟา (interleukin – 1 alpha, IL-1α) จากเซลล์หลังสัมผัสนาโนซีโอไลต์ 15 นาที ไม่พบการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน -1 แอลฟาจนก่อให้เกิดความระคายเคืองในเซลล์ทั้งสองชนิด แต่แอนโทไซยานินพบที่ความเข้มข้น 0.2-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารประกอบเชิงซ้อนพบที่ความเข้มข้น 5-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้เซลล์เคอราติโนไซต์หลั่งอินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟาได้สูงสุด นาโนซีโอไลต์ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทำให้เซลล์เคอราติโนไซต์หลั่งอินเตอร์ลิวคิน -1 แอลฟาจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดการระคายเคืองได้โดยต้องสัมผัสนาน 48 ชั่วโมง และในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ไม่พบการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน -1 แอลฟา จนถึงระดับที่ก่อให้การระคายเคืองตลอดการทดลอง การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินที่ถูกดูดซับในนาโนซีโอไลต์ด้วยโครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูงอ่านผลด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนส์ ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 520 และความยาวคลื่นปลดปล่อย 640 นาโนเมตร แสดงปริมาณดูดซับแอนโทไซยานิน 0.1 กรัมต่อกรัมของนาโนซีโอไลต์ ผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ โอแรค (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) ได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (ความชัน = 1.057 และสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (*r*) = 0.986) ระหว่างสารประกอบเชิงซ้อนกับแอนโทไซยานิน แสดงว่าแอนโทไซยานินที่ถูกดูดซับนั้นปลดปล่อยออกมาได้จนแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลสำคัญถึงช่วงความเข้มข้นที่ปลอดภัยของสารที่ได้จากเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง สามารถนำมาพิจารณาในการเลือกความเข้มข้นของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด เพื่อที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปแบบอนุภาคนาโนต่อไปในอนาคต

Sakolthep Srirak. 2011. **Skin Toxicity Test of Nanoparticle of *Clitoria ternatia* Linn. Using Human Cell Culture Model.** Master of Science Thesis in Toxicology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Asst. Prof. Dr. Supatra Porasuphatana, Assoc. Prof. Dr. Teerasak Damrongrungruang

ABSTRACT

249526

This research aims to study cytotoxicity of anthocyanin extracted from blue butterfly pea and nano-zeolite (particle size 4 μm, pore size 2 - 50 nm) used to entrap anthocyanin. This study was to investigate cytotoxicity of anthocyanin, nanozeolites and anthocyanin entrapped in nanozeolites on human epidermoid carcinoma (A431) and human forehead fibroblast (HFF) cells by using real-time xCELLigence analysis and MTT assay. A431 and HFF cells showed IC_{50} of anthocyanin at 1.7 and 1.4 mg/ml, nanozeolites at 0.9 and 0.8 mg/ml and anthocyanin entrapped in nanozeolites at 2.7 and 1.9 mg/ml, respectively. The result of apoptosis assay at IC_{50} concentration nanozelites using A431 and HFF cells found apoptotic cell death at 51.5 and 21.9 %, respectively. When compared with anthocyanin entrapped in nanozeolites numbers of apoptotic cell death were found to be 21.6 and 13.7%. The result proved that anthocyanin helped protect apoptosis. The irritation test using ELISA kit showed no irritation after 15 minutes incubated with nanozeolites (0.01 - 0.5 %) with HFF and A431 cells, but anthocyanin (0.2 - 0.5 %) and anthocyanin entrapped in nanozeolites (0.5 - 1 %) generate the release of IL-1α from A431 cells, representing cell irritation. After 48 hours incubated with nanozeolite 0.1 - 0.5% showed irritation. However, this phenomenon was not observed for HFF cells, indicating no irritation of test compounds. Anthocyanin analysis was performed by using HPLC fluorescence (λ_{exc} 520 and λ_{ems} 640 nm) and maximum anthocyanin was detected at 0.1 gram per gram of nanozeolites. The antioxidant assay with Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) showed the linear relationship (slope=1.057, r=0.986) between anthocynin entrapped in nanozeolites and anthocyanin showing that anthocyanin entrapped in nanozeolites contained the antioxidant ability. Results from this study suggested that despite cytotoxic effects of anthocyanin extracts, the formation of anthocyanin entrapped in nanozeolites effectively improved its safety onto human skin cells. This can be applied for human skin products by using nanozeolites.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเพราะได้รับความกรุณาอย่างดียิ่งจาก ผศ.ดร. สุพัตรา ปรศุพัฒนา รศ.ดร. อรุณศรี ปรีเปรม และ รศ.ดร.ธีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรืองที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิไลรัตน์ ลื้อนันต์ศักดิ์ศิริ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการศึกษาเรื่องวิถีการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และให้ความอนุเคราะห์เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากหน้าผากมนุษย์ (human forehead fibroblast cell, HFF) ที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พิบูลย์ พันธุ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สารสังเคราะห์นาโนซีโอไลต์สำหรับงานวิทยานิพนธ์นี้

ขอบพระคุณ รศ.ดร. วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์ ภาควิชาเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือฟลูออเรสเซนซ์ ไมโครเพลท ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำสาขาวิชาพิษวิทยา และคณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่านที่ได้ให้การสั่งสอนรายวิชาต่าง ๆ ที่เป็นพื้นฐานในการศึกษา และในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณบริษัท Roche Applied Science And Bioscience ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่อง RTCA sp instrument รุ่น xCELLigence system ในงานวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ และคณะทันตแพทยศาสตร์ และเจ้าหน้าที่กลุ่มประสานงานการศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท และรุ่นพี่ทุกคนที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาเป็นอย่างดีข้อชี้แนะสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนลุล่วงได้

ขอขอบคุณเพื่อนที่รักทุกคนที่คอยให้กำลังในการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ ปี 2553

สุดท้ายผลอันจะเป็นประโยชน์ ความดีความงามทั้งปวง ที่เกิดขึ้นจากการศึกษาวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ขอมอบแด่คุณพ่อคุณแม่ที่เคารพรักยิ่ง รวมถึงญาติพี่น้องทุกคนในครอบครัว ที่เป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยตลอดมา และหากมีข้อบกพร่องประการใดในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบคุณยิ่ง

สกลเทพ ศรีรักษ์

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ช
บทที่ 1	บทนำ	1
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3	ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2	วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1	นิยามที่เกี่ยวข้อง	5
2.2	ผิวหนัง	6
2.3	การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนัง	7
2.4	การติดตามเซลล์ที่มีชีวิตทุกช่วงเวลาหรือแบบต่อเนื่อง	10
2.5	นาโนซีโอไลต์	11
2.6	แอนโทไซยานิน	12
2.7	การดูดซับ	15
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย	18
3.1	สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์	18
3.2	วิธีการดำเนินงานวิจัย	19
3.3	สถานที่ทำการวิจัย	23
บทที่ 4	ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	24
4.1	การกัดกร่อนผิวหนัง	24
4.2	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยการติดตามแบบต่อเนื่องของเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงโดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์	27
4.3	การชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) โดยวิธีโฟลไซโทเมทรี (flow cytometry)	36
4.4	ผลการทดสอบฤทธิ์การระคายเคืองต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง	40
4.5	ผลการดูดซับแอนโทไซยานินด้วยนาโนซีโอไลต์	43
4.6	ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีโอแรค (Oxygen Radical Absorbance Capacity assay, ORAC assay)	48

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	57

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	สารแอนโทไซยานินจากธรรมชาติบางตัวที่มีหมู่แทนที่ต่างกันทำให้มีสีต่างกัน	13
ตารางที่ 4.1	ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อสัมผัสสารทดสอบ 24 ชั่วโมง ด้วยวิธีการเอ็มทีที	26
ตารางที่ 4.2	ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซต์ เมื่อสัมผัสสารทดสอบ 24 ชั่วโมง ด้วยวิธีการเอ็มทีที	26
ตารางที่ 4.3	ค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ร้อยละ 50 ของเซลล์ทั้งหมด (IC_{50})	35
ตารางที่ 4.4	ร้อยละของเซลล์ไฟโบรบลาสต์เมื่อศึกษาการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส เมื่อทดสอบด้วยแอนโทไซยานิน นาโนซีโอไลต์ และสารประกอบเชิงซ้อน ที่ความเข้มข้นที่ IC_{50}	39
ตารางที่ 4.5	ร้อยละของเซลล์เคอราติโนไซต์เมื่อศึกษาการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส เมื่อทดสอบด้วยแอนโทไซยานิน นาโนซีโอไลต์ และสารประกอบเชิงซ้อน ที่ความเข้มข้นที่ IC_{50}	39
ตารางที่ 4.6	ปริมาณอินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟา และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่หลั่งจากเซลล์เคอราติโนไซต์ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อรับสัมผัสกับสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต เป็นเวลา 15 นาที และ 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 ครั้ง	41
ตารางที่ 4.7	ปริมาณอินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟา และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่หลั่งจากเซลล์เคอราติโนไซต์ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อรับสัมผัสกับแอนโทไซยานิน เป็นเวลา 15 นาที และ 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 ครั้ง	41
ตารางที่ 4.8	ปริมาณอินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟา และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่หลั่งจากเซลล์เคอราติโนไซต์ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อรับสัมผัสกับนาโนซีโอไลต์ เป็นเวลา 15 นาที และ 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 ครั้ง	42
ตารางที่ 4.9	ปริมาณอินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟา และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่หลั่งจากเซลล์เคอราติโนไซต์ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อรับสัมผัสกับสารประกอบเชิงซ้อน เป็นเวลา 15 นาที และ 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 ครั้ง	43
ตารางที่ 4.10	ค่าร้อยละการกลับคืนของแอนโทไซยานิน	47
ตารางที่ 4.11	ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่ถูกดูดซับ โดยปริมาณนาโนซีโอไลต์ที่ใช้คือ 2 มิลลิกรัม	47
ตารางที่ 4.12	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานิน นาโนซีโอไลต์ และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโทไซยานินกับนาโนซีโอไลต์โดยวิธีโอแรค (ORAC)	49

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2.1	กลไกการเกิดความต้านทานของระบบขั้นที่อิเล็กโทรดของระบบเอ็กเซลลิเจนซ์	11
ภาพที่ 2.2	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (transmission electron microscope, TEM) ของนาโนซีโอไลต์ที่สังเคราะห์ได้	12
ภาพที่ 2.3	ฟลาไวเลียม (flavylium) เป็นโครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิน	13
ภาพที่ 2.4	ผลของความเป็นกรดด่างต่อแอนโทไซยานิน	14
ภาพที่ 4.1	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อสัมผัสกับแอนโทไซยานิน	28
ภาพที่ 4.2	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อสัมผัสกับนาโนซีโอไลต์	29
ภาพที่ 4.3	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อสัมผัสกับสารประกอบเชิงซ้อน	30
ภาพที่ 4.4	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เคอราติโนไซต์ เมื่อสัมผัสกับแอนโทไซยานิน	31
ภาพที่ 4.5	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เคอราติโนไซต์ เมื่อสัมผัสกับนาโนซีโอไลต์	32
ภาพที่ 4.6	ค่าดัชนีเซลล์โดยระบบเอ็กเซลลิเจนซ์ แสดงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เคอราติโนไซต์ เมื่อสัมผัสกับสารประกอบเชิงซ้อน	34
ภาพที่ 4.7	การตายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ระยะต่าง ๆ	37
ภาพที่ 4.8	การตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ ระยะต่าง ๆ	38
ภาพที่ 4.9	แสดงโครมาโตแกรมของ (a) สารละลายแอนโทไซยานินที่สกัดจากสารสกัดอัญชันในน้ำที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (b) สารละลายมาตรฐานเดลฟินิดินในน้ำที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	45
ภาพที่ 4.10	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากดอกอัญชันสีน้ำเงิน วิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง	46
ภาพที่ 4.11	กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารถูกดูดซับคงเหลือ (ce, มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับสัดส่วนความเข้มข้นของสารดังกล่าวเทียบกับปริมาณตัวดูดซับ (ce/x/m, มิลลิกรัมต่อกรัม) ที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง	48
ภาพที่ 4.12	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบเชิงซ้อนเทียบกับแอนโทไซยานิน เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโอแรค (ORAC)	50