



บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิจัยในโครงการนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเพิ่มคุณภาพและความคงสภาพให้สารสกัดสมุนไพรไทยด้วยนาโนเทคโนโลยี สมุนไพรที่เลือกมาทำการศึกษาคือ ฝรั่ง ส่วนที่นำมาศึกษาคือ ส่วนของใบ เนื่องจากมีรายงานว่าใบฝรั่งมีสารออกฤทธิ์ Antioxidant สูง (Tachakittirungrod, 2007) การวิจัยเพื่อเพิ่มคุณภาพให้สารสกัดใบฝรั่งของโครงการนี้ เริ่มจากการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อสารสกัด โดยเฉพาะผลต่อฤทธิ์ Antioxidant จากนั้นจึงทำการศึกษาควบคุมมาตรฐานด้วย HPLC finger print เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดใบฝรั่งต่อไป สำหรับปัจจัยที่อาจมีผลต่อสารสกัดดังกล่าวข้างต้น ที่ได้ทำการศึกษามี 3 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยด้านขบวนการทำให้แห้ง ปัจจัยด้านวิธีการสกัด และปัจจัยด้านอายุของใบฝรั่ง นอกจากนี้ในการศึกษาปัจจัยด้านวิธีการสกัดยังได้ศึกษาผลของตัวทำละลายร่วมด้วย ผลการศึกษาแสดงในรายละเอียดต่อไปนี้

ปัจจัยด้านขบวนการทำให้แห้ง

การวิจัยพบว่าจากขบวนการทำให้แห้งต่าง ๆ กัน พบว่าจะทำให้ได้ลักษณะของใบฝรั่งแห้งแตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 3-1 ถึงรูปที่ 3-4 อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาบดเป็นผงแล้ว ได้ผงแห้งใบฝรั่งที่มีลักษณะเหมือนกัน คือเป็นผงสีเขียวเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 3-5 ผลการทดลองสารสกัดของใบฝรั่งที่ผ่านขบวนการทำให้แห้งเหล่านั้นพบว่าขบวนการทำให้แห้ง มีผลต่อ % yield, ปริมาณสารออกฤทธิ์กลุ่ม phenolic (total phenolic content, TPC) และฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3-1 ถึงตารางที่ 3-2 เมื่อนำค่า TEAC และ EC มาพล็อตจะได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 3-6 ถึงรูปที่ 3-7 จากผลการทดลองพบว่าการอบแห้งใบสดจะทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต่ำที่สุด การผึ่งใบสดที่อุณหภูมิห้องแม้จะให้ค่า TEAC สูง แต่ให้ค่า EC ต่ำมาก พบว่าขบวนการทำให้แห้งโดยการลวกก่อนแล้วอบที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นวิธีที่ดีที่สุด และเป็นวิธีที่ให้ % yield มากที่สุด และสามารถสกัดสารที่ออกฤทธิ์ Antioxidant ได้ดีที่สุด ดังแสดงค่า TEAC และค่า EC สูงที่สุด อีกทั้งยังแสดงว่ามีปริมาณสารออกฤทธิ์ คือ TPC มากที่สุดด้วย



รูปที่ 3-1 ลักษณะใบผลวกที่ผ่านการผึ่ง



รูปที่ 3-2 ลักษณะใบผลวกที่ผ่านการอบ



รูปที่ 3-3 ลักษณะใบสดที่ผ่านการอบ



รูปที่ 3-4 ลักษณะใบตวากที่ผ่านการผึ่ง



รูปที่ 3-5 ลักษณะผงใบฝรั่งที่ผ่านการบด

ตารางที่ 3-1 อิทธิพลของขบวนการทำให้แห้งต่อ % yield และ TPC ของสารสกัด

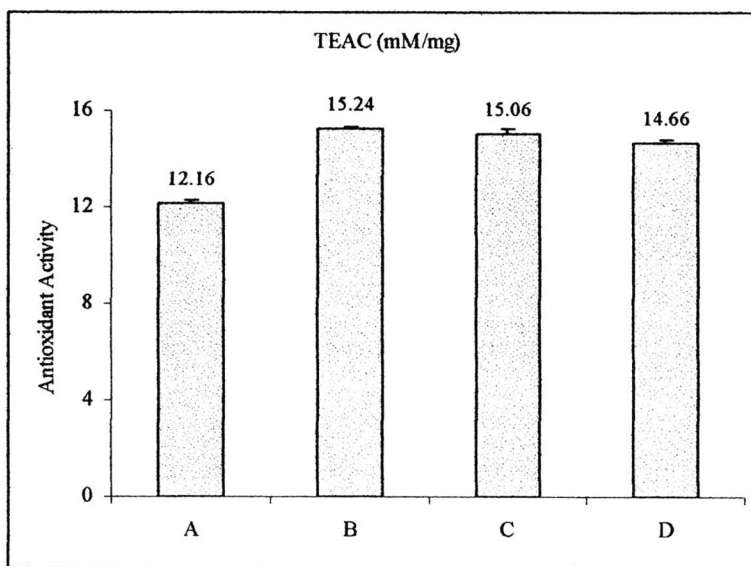
Drying Process*	%yield (w/w)	TPC (mg/ml)
A	18.1	103.11 ± 3.81
B	16.4	121.24 ± 2.10
C	18.7	136.02 ± 5.55
D	17.6	125.94 ± 3.08

* A = อบแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง
B = ผึ่งแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง
C = อบแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง
D = ผึ่งแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3-2 อิทธิพลของขบวนการทำให้แห้งต่อค่า TEAC และ EC ของสารสกัด

Drying Process*	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
A	12.16 ± 0.17	7.85 ± 0.25
B	15.24 ± 0.12	9.94 ± 0.17
C	15.06 ± 0.23	11.03 ± 0.35
D	14.66 ± 0.14	10.01 ± 0.41

* A = อบแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง
B = ผึ่งแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง
C = อบแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง
D = ผึ่งแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง



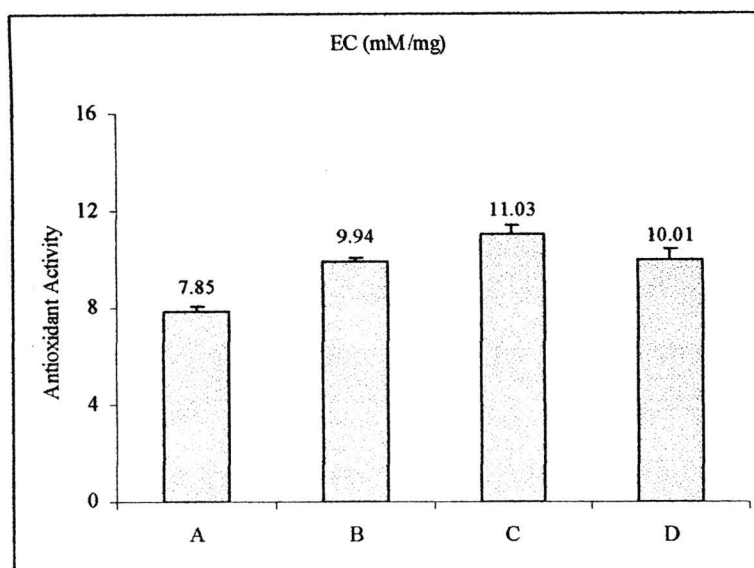
รูปที่ 3-6 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งที่ใช้ขบวนการทำให้แห้งแตกต่างกัน

A = อบแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

B = ผึ่งแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง

C = อบแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

D = ผึ่งแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง



รูปที่ 3-7 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งที่ใช้ขบวนการทำให้แห้งแตกต่างกัน

A = อบแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

B = ผึ่งแห้งพืชสด ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง

C = อบแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

D = ผึ่งแห้งพืชลวก ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) นาน 72 ชั่วโมง

ปัจจัยด้านวิธีการสกัด

ในการศึกษาปัจจัยด้านการสกัด ในตอนแรกได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัด 4 วิธี ได้แก่ วิธี Maceration extraction, วิธี Stirring extraction, วิธี Sonication extraction, และวิธี Soxhlet extraction โดยใช้ Absolute ethanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด ผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัด มีผลต่อทั้ง % yield, TPC และฤทธิ์ Antioxidant activity ของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3-3 จากผลการทดลองนี้จะเห็นว่าวิธีสกัดบางวิธีให้ค่า % yield สูง แต่ค่า TPC ต่ำ แสดงว่าวิธีสกัดที่ให้ % yield ของสารสกัดสูงไม่ได้หมายความว่าสามารถสกัดสารในกลุ่ม Phenolic compounds ได้มากเสมอไป แต่สังเกตว่าค่า TPC จะสัมพันธ์กับค่า TEAC และ EC เสมอ ซึ่งแสดงว่าฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดใบฝรั่งเป็นผลมาจากปริมาณ TPC ในสารสกัดนั่นเอง

หากเปรียบเทียบวิธีสกัด พบว่าวิธี Sonication extraction และวิธี Stirring extraction เป็นวิธีที่ดีที่สุดตามลำดับ เพราะสารสกัดที่ได้สามารถออกฤทธิ์ได้แรงกว่าอีก 2 วิธี คือวิธี Maceration extraction และวิธี Soxhlet extraction ซึ่งแสดงว่าในสารสกัดมีสารออกฤทธิ์อยู่ในปริมาณมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธี Sonication extraction และวิธี Stirring extraction เป็นวิธีที่มีการสั่นสะเทือนระบบตลอดเวลาของการสกัด การสั่นสะเทือนดังกล่าวจะช่วยให้ตัวทำละลายพาสารสกัดออกมาจากกากสมุนไพรได้ดีกว่า ส่วนวิธี Soxhlet extraction แม้จะให้ % yield ของสารสกัดมากกว่า แต่จะเห็นว่าสารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธีนี้ต้องอาศัยความร้อนสูงในการสกัด ความร้อนของวิธีนี้อาจไปทำให้สารสำคัญเกิดการสลายตัวหรือสูญเสียความคงสภาพ จึงทำให้ไม่มีฤทธิ์ตามต้องการ

ด้วยเหตุนี้ ในการศึกษาขั้นต่อไปคือการทดลองเปลี่ยนตัวทำละลายในการสกัดจาก Absolute ethanol มาเป็น Ethanol 95% จึงได้เลือกให้วิธีการสกัดที่มีการสั่นสะเทือนระบบตลอดการสกัดจำนวน 3 วิธี ได้แก่วิธี Sonication extraction, วิธี Stirring extraction, และวิธี Microwave extraction ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3-4 จากตารางผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่าสารสกัดที่ได้จากแต่ละวิธีมีค่า TEAC ใกล้เคียงกับ BHT ซึ่งเป็น chemical antioxidant ที่ใช้เป็น positive control แต่มีค่า EC สูงกว่า BHT อย่างชัดเจน หากเปรียบเทียบแต่ละวิธีจะพบว่า วิธี Stirring extraction และวิธี Microwave extraction ให้สารสกัดหยาบปริมาณมากกว่าแต่สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ Antioxidant น้อยกว่าวิธี Sonication extraction ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธี Stirring extraction ใช้เวลาสกัดนานกว่า จึงทำให้สามารถสกัดสารต่าง ๆ ออกมาได้มากกว่า สารที่สกัดได้อาจมีทั้ง

สารที่ออกฤทธิ์และไม่ออกฤทธิ์รวม ๆ กันแต่มีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่น้อยกว่า จึงทำให้สารสกัดต่อ 1 มิลลิกรัม แสดงค่า TEAC และ EC น้อยกว่า ส่วนวิธี Microwave extraction แม้ว่าเป็นวิธีที่ใช้เวลาใกล้เคียงกับวิธี Sonication extraction แต่สังเกตว่าวิธี Microwave extraction เกิดความร้อนสูงในระหว่างการสกัด ดังนั้นความร้อนอาจมีผลต่อสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้โดยอาจไปทำลายหรือเร่งให้เกิดการสลายตัวเร็วขึ้น ผลการทดลองพบว่าใน 1 มิลลิกรัมของสารสกัดที่ได้จากวิธี Microwave extraction มีค่า TEAC และ EC น้อยกว่าสารสกัดที่ได้จากวิธี Sonication extraction จึงเป็นข้อพิสูจน์ว่าแม้ว่าจะได้ปริมาณสารสกัดหยาบจำนวนมาก แต่ก็ไม่ได้หมายความว่า会有สารออกฤทธิ์ Antioxidant ในสารสกัดนั้นในปริมาณมาก เมื่อนำค่าในตารางมาพล็อตกราฟเพื่อให้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนยิ่งขึ้น จะได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 3-8 ถึงรูปที่ 3-11 จากการเปรียบเทียบดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า Ethanol 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัดได้ดีกว่า Absolute ethanol สารสกัดที่ได้จาก Ethanol 95% โดยวิธีสกัดแบบ Sonication extraction เป็นสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ Antioxidant สูงที่สุด ดังนั้นวิธีการสกัดใบฝรั่งที่ดีที่สุดคือ วิธี Sonication extraction

ตารางที่ 3-3 อิทธิพลของวิธีสกัดต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด
เมื่อใช้ Absolute Ethanol เป็นตัวทำละลาย

Extraction method	%yield (w/w)	TPC (mg/ml)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
Maceration	15.6	80.28 ± 1.58	9.41 ± 0.26	5.63 ± 0.23
Stirring	16.4	94.08 ± 3.54	13.18 ± 0.30	7.75 ± 0.10
Sonication	12.4	136.02 ± 5.55	15.06 ± 0.23	11.03 ± 0.35
Soxhlet	7.7	126.28 ± 3.02	14.01 ± 0.20	8.44 ± 0.20

ตารางที่ 3-4 อิทธิพลของวิธีสกัดต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด
เมื่อใช้ 95% Ethanol เป็นตัวทำละลาย

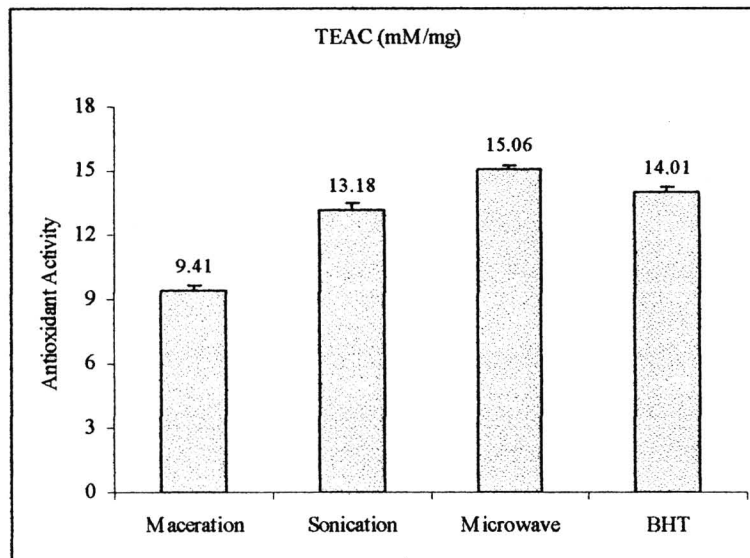
Extraction method	%yield (w/w)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
Maceration	25.60	15.68 ± 0.09	9.29 ± 0.20
Sonication	16.37	17.61 ± 0.05	13.17 ± 0.08
Microwave	21.00	16.21 ± 0.11	10.74 ± 0.19
BHT*	-	15.06 ± 0.49	2.39 ± 0.04

* BHT = Butylated Hydroxytoluene เป็นสารที่ใช้เป็น positive control

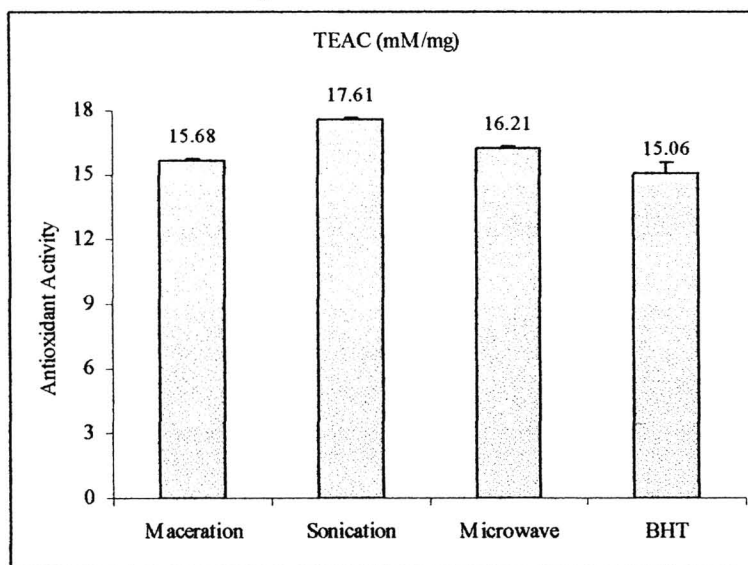
ปัจจัยด้านอายุของใบฝรั่ง

สารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุต่างกัน มีลักษณะต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 3-12 ในการศึกษาปัจจัยด้านอายุของใบฝรั่ง ได้เลือกใช้วิธี Sonication extraction เป็นวิธีสกัด และใช้ Ethanol 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัด เนื่องจากผลการทดลองข้างต้นพบว่าวิธีและตัวทำละลายดังกล่าว ได้สารสกัดที่ให้ฤทธิ์ Antioxidant สูงที่สุด

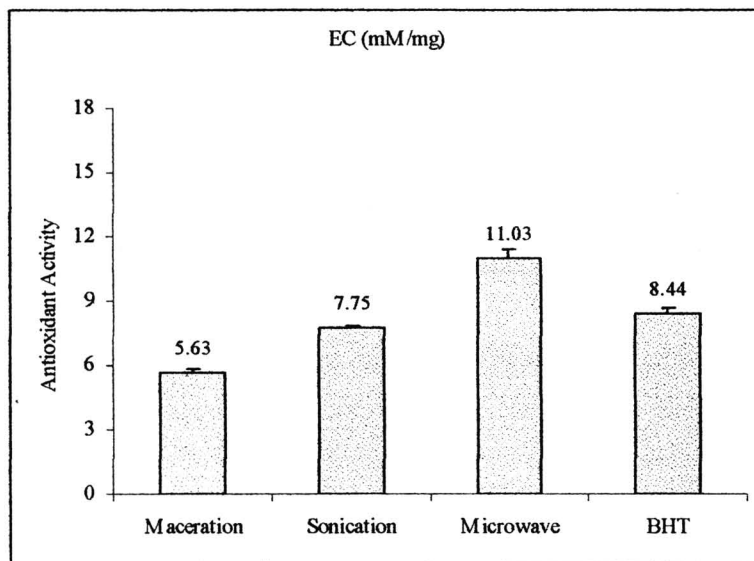
ผลการทดลองสารสกัดใบฝรั่งพบว่าอายุของใบฝรั่ง มีผลต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3-5 จากตารางดังกล่าวจะเห็นว่าปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากใบอ่อนน้อยกว่าปริมาณที่สกัดได้จากใบปานกลางและใบแก่ตามลำดับ แต่สารสกัดจากใบอ่อนมีฤทธิ์ Antioxidant มากกว่าใบกลางและใบแก่ ดังจะเห็นได้จากเมื่อนำค่า TEAC และ EC จากตารางมาพล็อตกราฟ จะเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนยิ่งขึ้นในรูปกราฟแท่งดังแสดงในรูปที่ 3-13 ถึงรูปที่ 3-14 จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าใบฝรั่งที่มีอายุอ่อน มีสารสำคัญปริมาณมากที่สุดและสามารถออกฤทธิ์ Antioxidant ได้สูงที่สุด ส่วนใบที่มีอายุปานกลางและใบแก่พบว่าในสารสกัด 1 มิลลิกรัม ให้ฤทธิ์ Antioxidant ใกล้เคียงกัน เป็นที่น่าสังเกตว่า สารสกัดใบฝรั่งไม่ว่าจะมาจากใบอ่อน ใบอายุปานกลาง หรือใบแก่ มีความสามารถออกฤทธิ์ Antioxidant ได้ดีกว่า BHT ซึ่งเป็น positive control



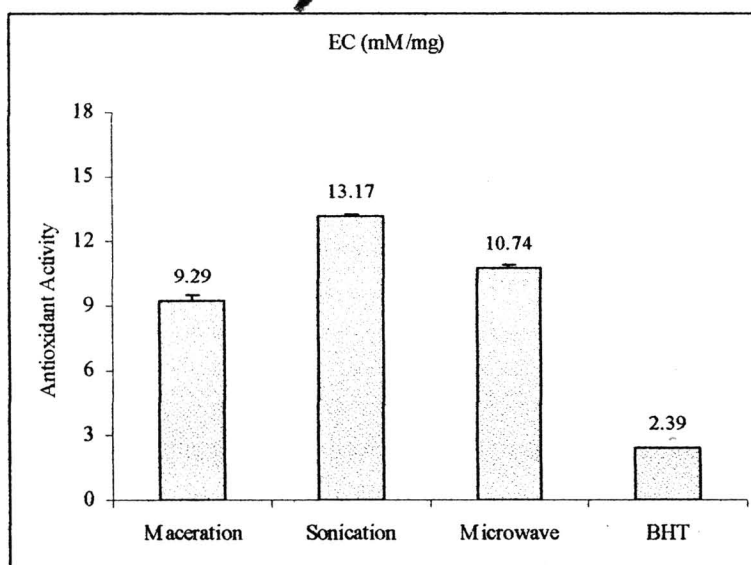
รูปที่ 3-8 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Absolute Ethanol ที่ใช้วิธีสกัดแตกต่างกัน



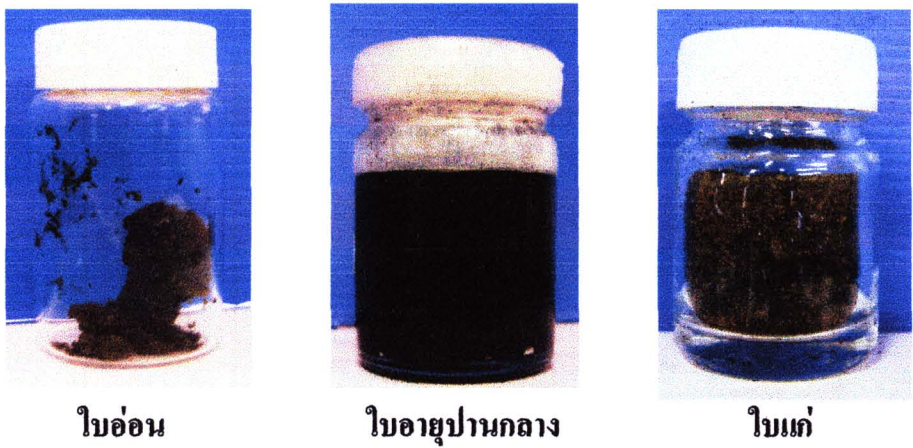
รูปที่ 3-9 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Ethanol 95% ที่ใช้วิธีสกัดแตกต่างกัน



รูปที่ 3-10 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Absolute Ethanol ที่ใช้วิธีสกัดแตกต่างกัน



รูปที่ 3-11 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่ง จาก Ethanol 95% ที่ใช้วิธีสกัดแตกต่างกัน

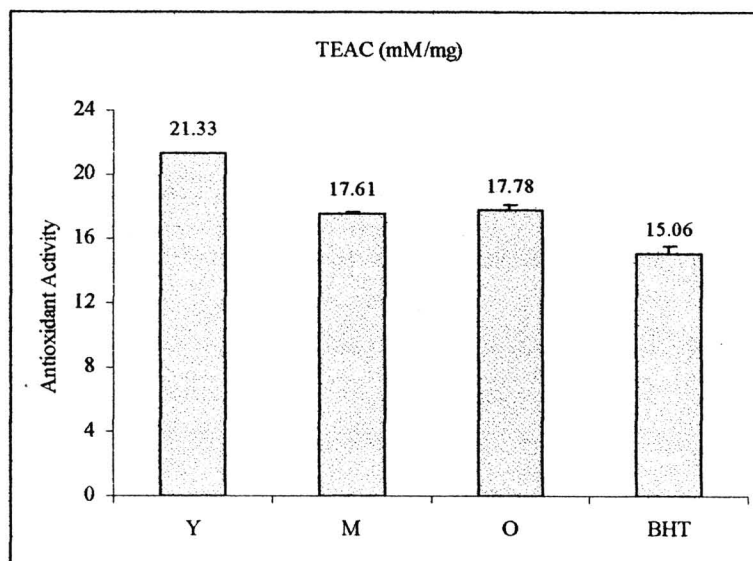


รูปที่ 3-12 ลักษณะสารสกัดจากใบฝรั่ง

ตารางที่ 3-5 อิทธิพลของอายุต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด

Leaf age	%yield (w/w)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
Young	14.4	21.33 ± 0.05	15.90 ± 0.05
Medium	16.4	17.61 ± 0.05	13.17 ± 0.08
Old	27.4	17.78 ± 0.34	12.39 ± 0.05
BHT*	-	15.06 ± 0.49	2.39 ± 0.04

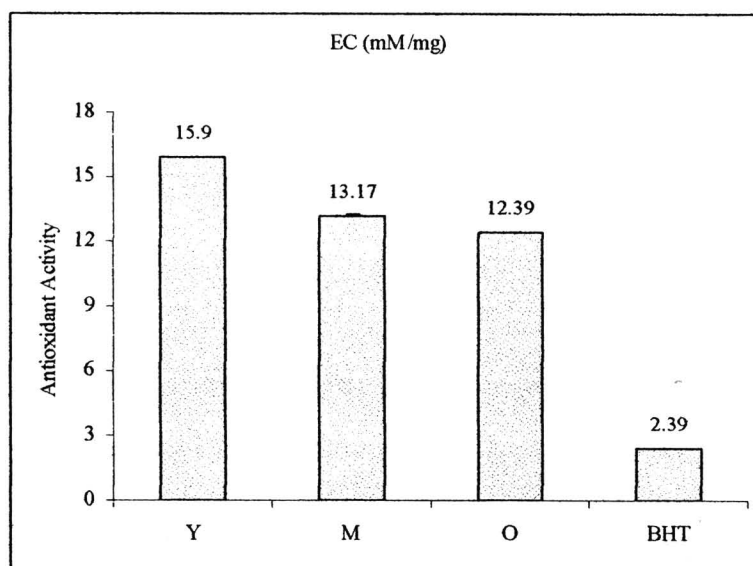
* BHT = Butylated Hydroxytoluene เป็นสารที่ใช้เป็น positive control



รูปที่ 3-13 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุแตกต่างกัน

Y = ใบที่มีอายุอ่อน, M = ใบที่มีอายุปานกลาง, O = ใบที่มีอายุแก่

BHT = Butylated Hydroxytoluene เป็นสารที่ใช้เป็น positive control



รูปที่ 3-14 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุแตกต่างกัน

Y = ใบที่มีอายุอ่อน, M = ใบที่มีอายุปานกลาง, O = ใบที่มีอายุแก่

BHT = Butylated Hydroxytoluene เป็นสารที่ใช้เป็น positive control

การศึกษาฤทธิ์และการควบคุมมาตรฐานของสารสกัดแยกส่วน

สารสกัดที่กล่าวข้างต้นเป็นสารสกัดหยาบ ที่ประกอบด้วยสารต่าง ๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ได้และออกฤทธิ์ไม่ได้หลากหลายชนิดอยู่ร่วมกัน การเตรียมสารสกัดแยกส่วนจะช่วยแบ่งสารที่มีขั้วใกล้เคียงกันให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นจึงสามารถแยกสารออกฤทธิ์ที่มีขั้วแตกต่างจากสารไม่ออกฤทธิ์ออกจากกันได้ การสกัดแยกส่วนจึงเป็นเทคนิคเบื้องต้นที่ทำให้ได้สารสกัดที่บริสุทธิ์และมีคุณภาพมากขึ้น ในการสกัดใบฝรั่งเพื่อให้ได้สารสกัดแยกส่วน ได้ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่มี polarity แตกต่างกัน เริ่มจากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มี polarity ต่ำสุดไปสู่ตัวทำละลายที่มี polarity สูงสุด ได้แก่ n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol, Methanol, และน้ำ และได้นำใบฝรั่งที่มีอายุทั้งสามชนิด คือ ใบอ่อน ใบอายุปานกลาง และใบแก่ มาทำการสกัดแยกส่วน เนื่องจากผลการทดลองจากสารสกัดหยาบข้างต้นพบว่าสารสกัดหยาบของใบทั้งสามชนิด มีฤทธิ์ Antioxidant สูงกว่า positive control อย่างชัดเจน จึงน่าจะเป็นใบที่มีประสิทธิภาพในการนำมาศึกษาในขั้นตอนนี้ทั้งสามชนิด ผลการทดลองพบว่าสารสกัดแยกส่วนที่ได้จากใบฝรั่งที่มีอายุต่างกัน ในแต่ละส่วนของตัวทำละลาย มี % yield, TPC และฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-6 ถึงตารางที่ 3-8 สำหรับใบที่มีอายุอ่อน ใบที่มีอายุปานกลาง และใบที่มีอายุแก่ ตามลำดับ เมื่อนำค่า TEAC และ EC จากตารางมาพล็อตจะได้กราฟ ดังแสดงในรูปที่ 3-15 ถึงรูปที่ 3-17 สำหรับใบที่มีอายุอ่อน ใบที่มีอายุปานกลาง และใบที่มีอายุแก่ ตามลำดับ จากกราฟที่ได้ จะสามารถเห็นความสามารถในการออกฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจนและสามารถเปรียบเทียบกันได้ง่าย ซึ่งจะเห็นว่าใบฝรั่งทั้งสามอายุ สารสกัดแยกส่วนจาก Ethanol และ Methanol ให้ฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดแยกส่วนที่ได้จากตัวทำละลายอื่น สารสกัดแยกส่วนที่ได้จากน้ำให้ฤทธิ์ Antioxidant ต่ำที่สุด จึงไม่นำไปศึกษาต่อในด้านการควบคุมมาตรฐาน

สารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ จาก n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol และ Methanol ถูกนำมาควบคุมมาตรฐานด้วยการทำ Finger print ด้วย HPLC เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ Quercetin ซึ่งเป็นสาร Antioxidant ที่มักพบในพืช ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3-18 ถึงรูปที่ 3-22 สำหรับสารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ ที่แยกได้ในชั้น n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol และ Methanol ตามลำดับ และรูปที่ 3-23 สำหรับ

สารมาตรฐาน Quercetin และในการวิจัยนี้ได้ใช้ Finger print ที่ได้จากชั้นตอนนี้เป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดมาตรฐานของสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งแต่ละชนิดตลอดการวิจัย

ตารางที่ 3-6 ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุอ่อน

Solvent	% Yield (w/w)	TPC (mg/ml)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
n-Hexane	2.4	46.04 ± 2.10	3.32 ± 0.11	1.45 ± 0.15
Ethyl acetate	2.7	81.96 ± 1.16	9.56 ± 0.26	7.19 ± 0.27
n-Butanol	1.6	178.32 ± 3.49	16.87 ± 0.35	12.20 ± 0.12
Ethanol	5.5	269.26 ± 6.98	24.08 ± 0.14	21.27 ± 0.22
Methanol	9.5	229.36 ± 4.07	21.69 ± 0.28	17.55 ± 0.41
Water	5.7	4.40 ± 4.19	1.85 ± 0.16	0.72 ± 0.08

จาก Finger print ดังกล่าวจะเห็นว่าสารสกัดแยกส่วนของใบทั้งสามชนิดที่ได้จาก n-Hexane ไม่มีสาร Quercetin อยู่เลย ในขณะที่สารสกัดแยกส่วนที่ได้จากตัวทำละลายอื่น ๆ ในใบทั้งสามชนิด มีสาร Quercetin อยู่ในปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่า Quercetin มีอยู่มากที่สุดในสารสกัดของใบฝรั่งทั้งสามชนิดที่แยกได้โดยใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย ส่วนที่แยกได้โดย Methanol มีปริมาณ Quercetin น้อยที่สุด (หากไม่นับ n-Hexane) การที่ฤทธิ์ Antioxidant จากสารสกัดแยกส่วนที่ได้จากชั้น Ethanol และ Methanol แสดงฤทธิ์ Antioxidation สูงที่สุดแม้ว่าจะมี Quercetin น้อยกว่าสารสกัดแยกส่วนจาก Ethyl acetate ทำให้คาดว่าในสารสกัดแยกส่วนที่ได้จากชั้น Ethanol และ Methanol อาจมีสารชนิดอื่นที่ออกฤทธิ์ Antioxidation เช่นเดียวกับ Quercetin ปนอยู่ด้วยในปริมาณต่าง ๆ กัน ซึ่งแสดง peak ในตำแหน่งอื่น ๆ ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันในเรื่องนี้ จึงได้ทำการสกัดอีกครั้ง โดยแบ่งผงใบฝรั่งแต่ละอายุเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่ม นำมาสกัดแยกด้วย Ethyl acetate, Absolute ethanol, และ น้ำร้อน ด้วยกรรมวิธีการสกัดและสภาวะเดียวกับการสกัดแยกส่วน นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ตามวิธีของ Wu (2009)

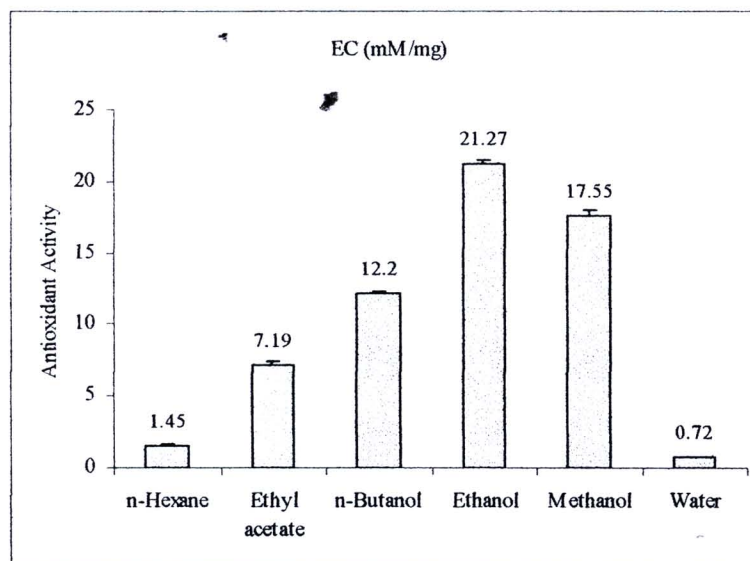
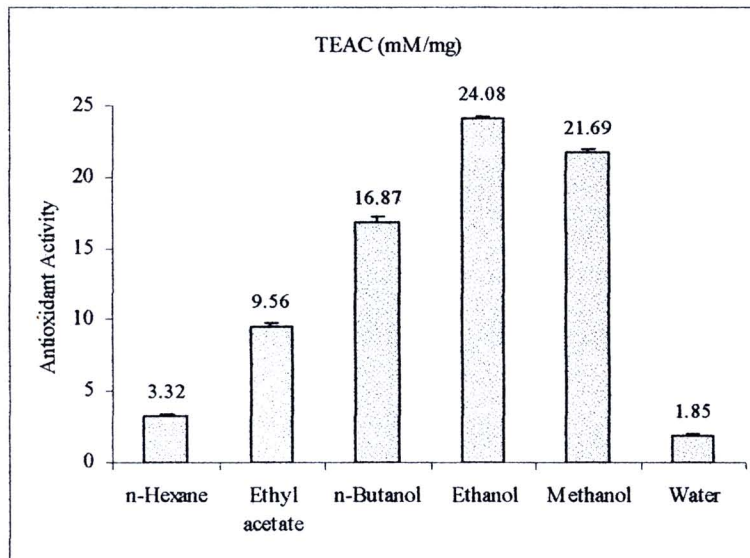
เปรียบเทียบกับสาร Antioxidant มาตรฐาน 3 ชนิด คือ Quercetin, Gallic acid, และ Ellagic acid พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมีสารออกฤทธิ์ Antioxidant เหล่านี้อยู่ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 3-9 ผลการทดลองนี้เป็นการยืนยันได้ว่าสารสกัดใบฝรั่งมีสารออกฤทธิ์ Antioxidant อื่น ๆ หลายชนิดปนอยู่ด้วยนอกเหนือจาก Quercetin

ตารางที่ 3-7 ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุปานกลาง

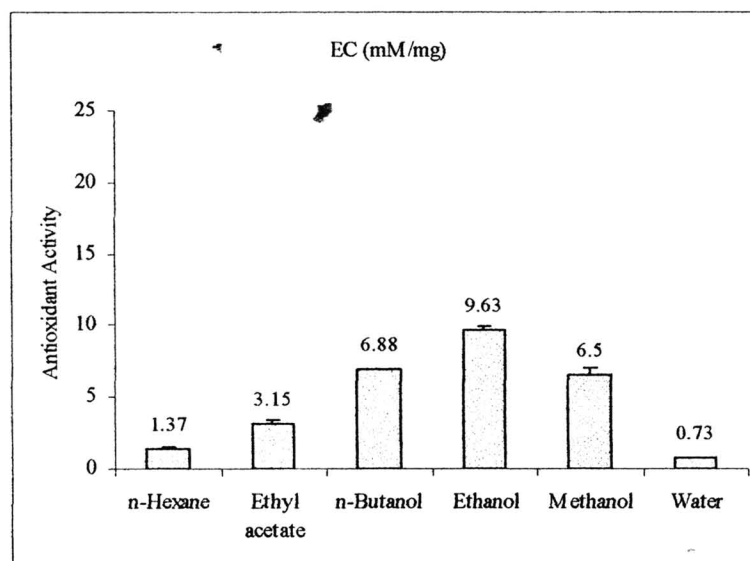
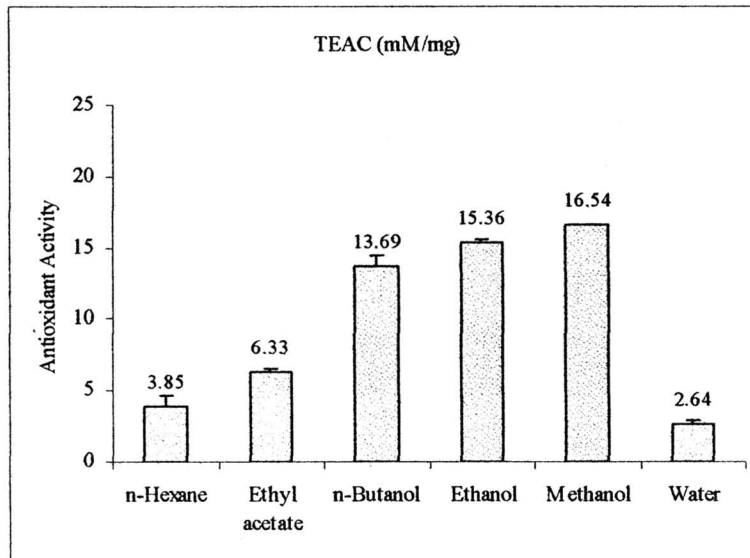
Solvent	% Yield (w/w)	TPC (mg/ml)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
n-Hexane	2.7	32.61 ± 7.05	3.85 ± 0.74	1.37 ± 0.11
Ethyl acetate	3.3	39.66 ± 3.63	6.33 ± 0.25	3.15 ± 0.22
n-Butanol	5.7	110.50 ± 4.65	13.69 ± 0.81	6.88 ± 0.09
Ethanol	9.6	142.40± 2.66	15.36± 0.20	9.63 ± 0.28
Methanol	7.2	135.01 ± 7.15	16.54 ± 0.05	6.50 ± 0.49
Water	5.4	6.42 ± 3.63	2.64 ± 0.20	0.73 ± 0.07

ตารางที่ 3-8 ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุแก่

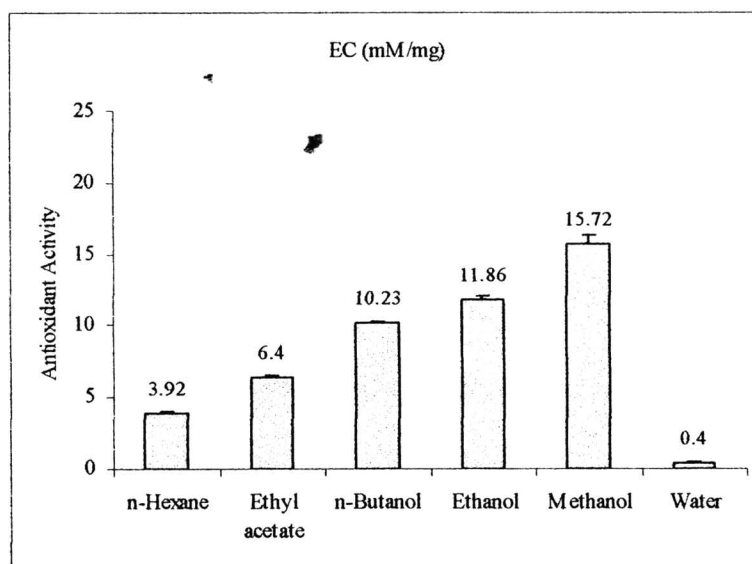
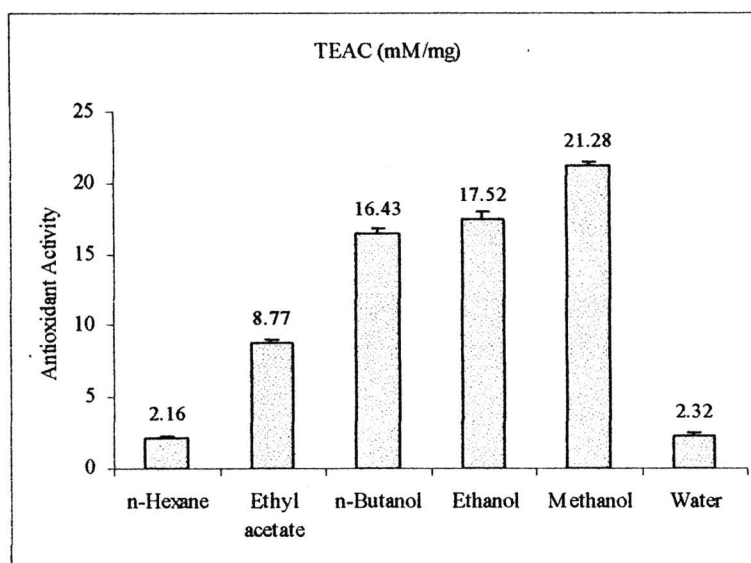
Solvent	% Yield (w/w)	TPC (mg/ml)	TEAC (mM/mg)	EC (mM/mg)
n-Hexane	3.1	41.67 ± 1.74	2.16 ± 0.05	3.92 ± 0.06
Ethyl acetate	5.1	85.99 ± 1.74	8.77 ± 0.30	6.40 ± 0.15
n-Butanol	4.7	139.71 ± 2.10	16.43 ± 0.36	10.23 ± 0.12
Ethanol	8.8	170.93 ± 1.54	17.52 ± 0.49	11.86 ± 0.24
Methanol	7.5	215.25 ± 2.53	21.28 ± 0.26	15.72 ± 0.61
Water	4.4	6.08 ± 1.16	2.32 ± 0.14	0.40 ± 0.05



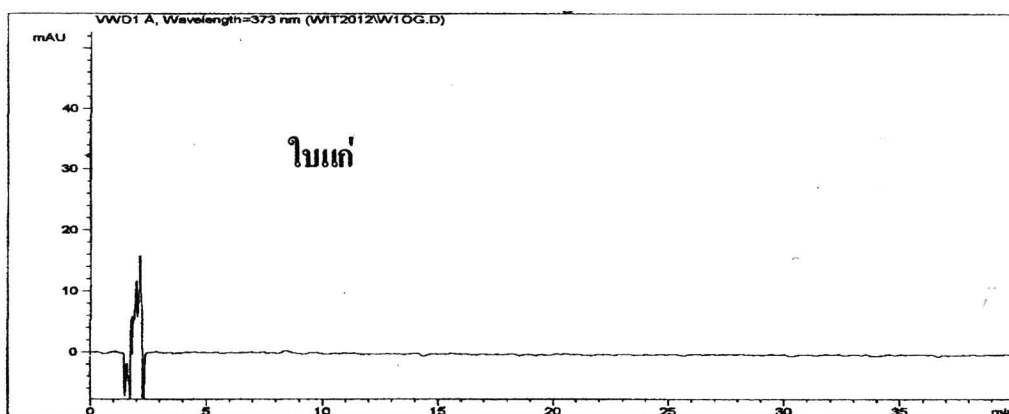
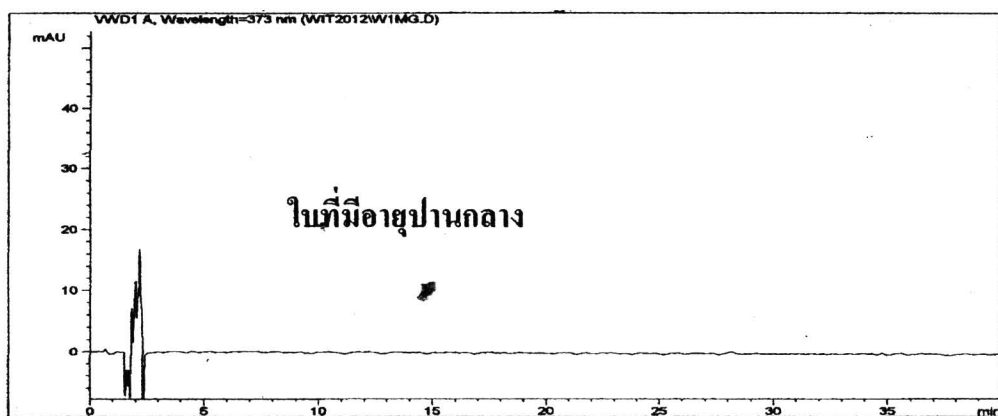
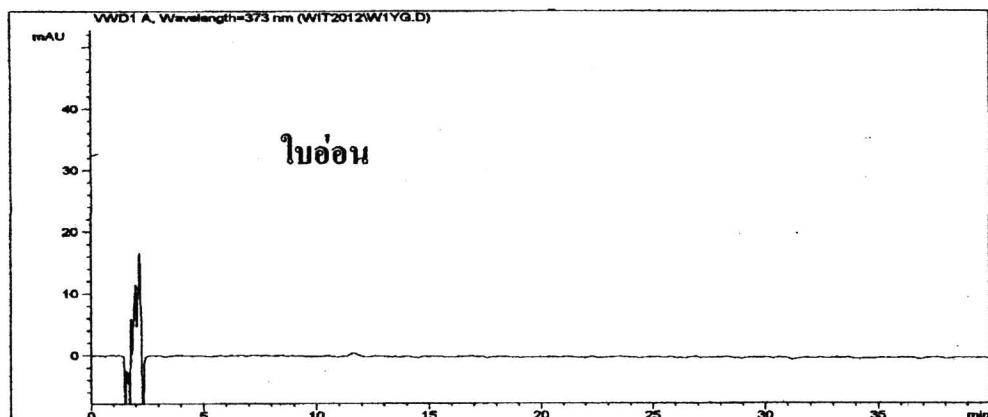
รูปที่ 3-15 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุอ่อน



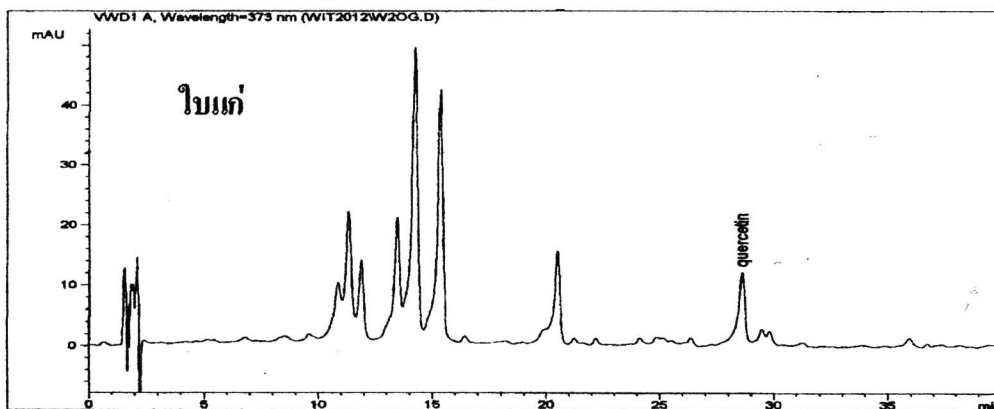
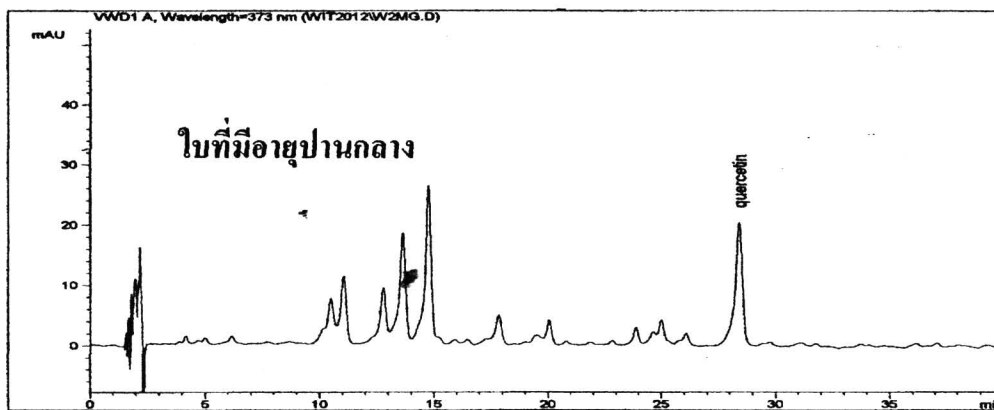
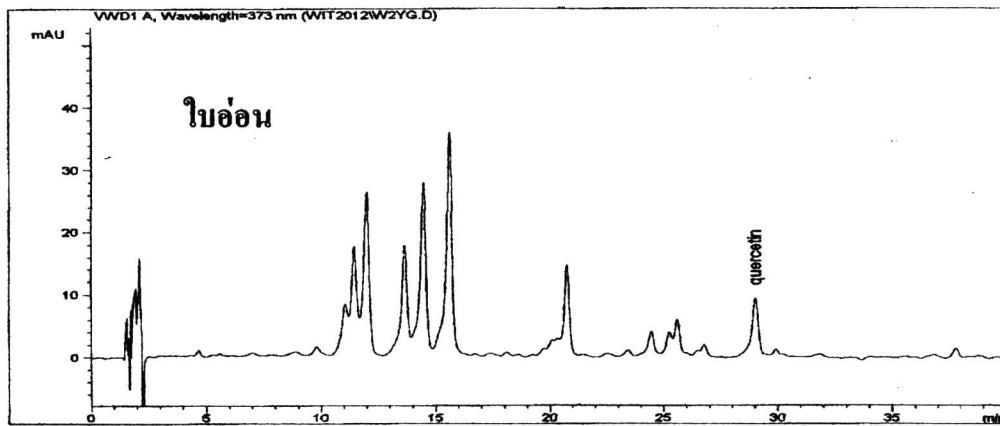
รูปที่ 3-16 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุปานกลาง



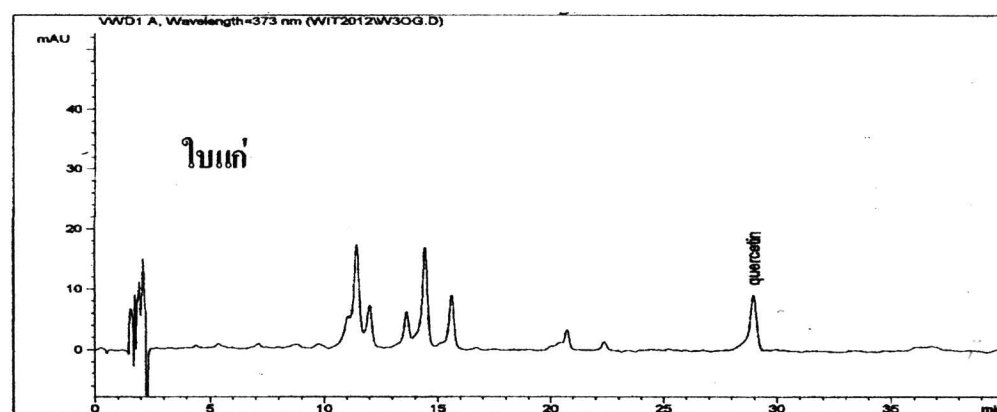
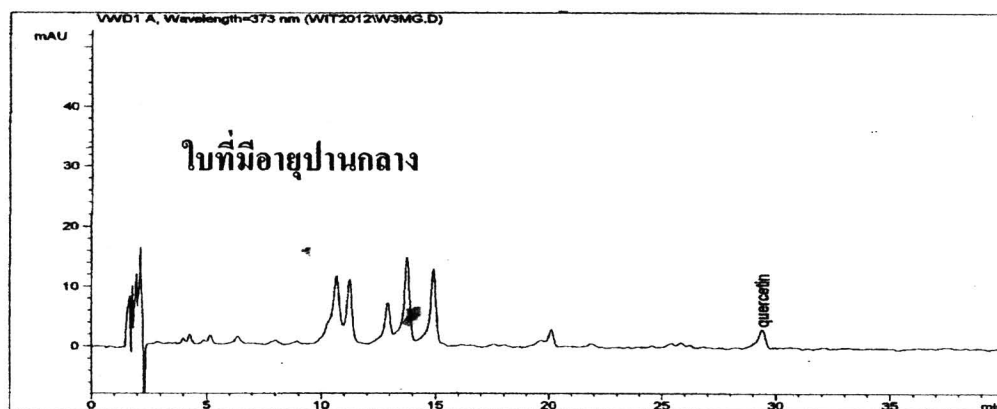
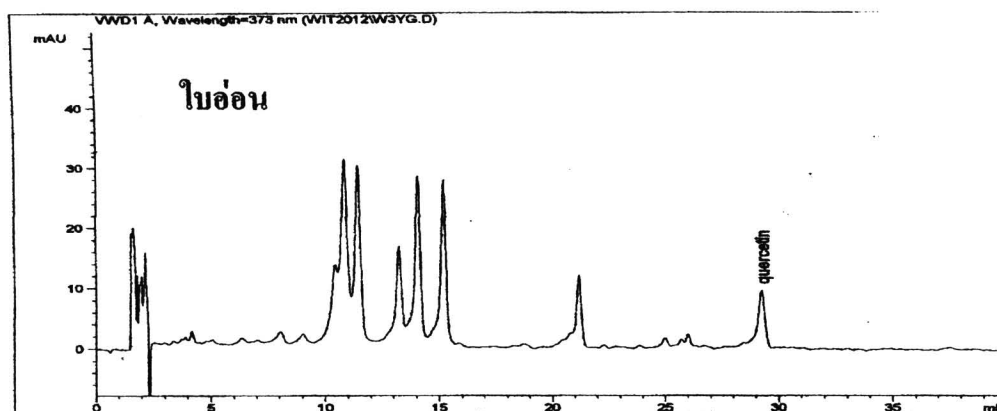
รูปที่ 3-17 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุแก่



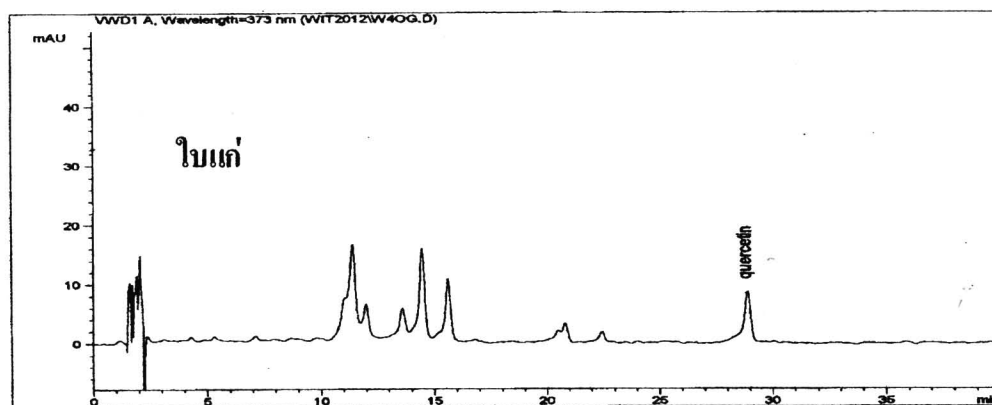
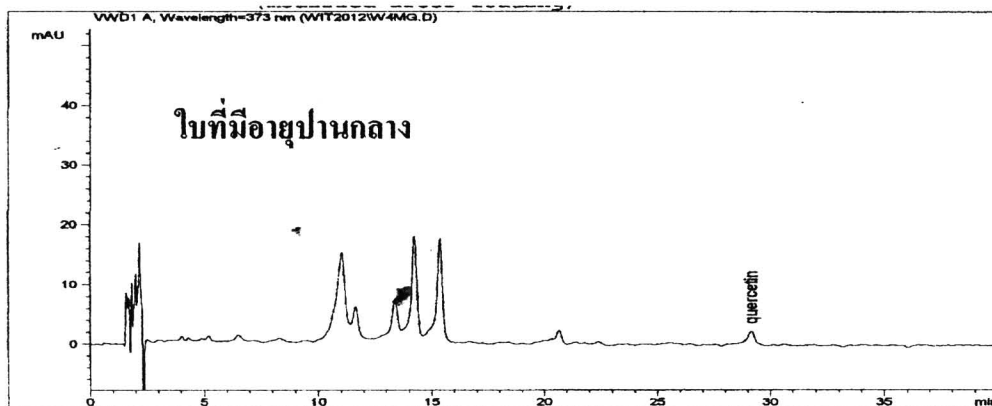
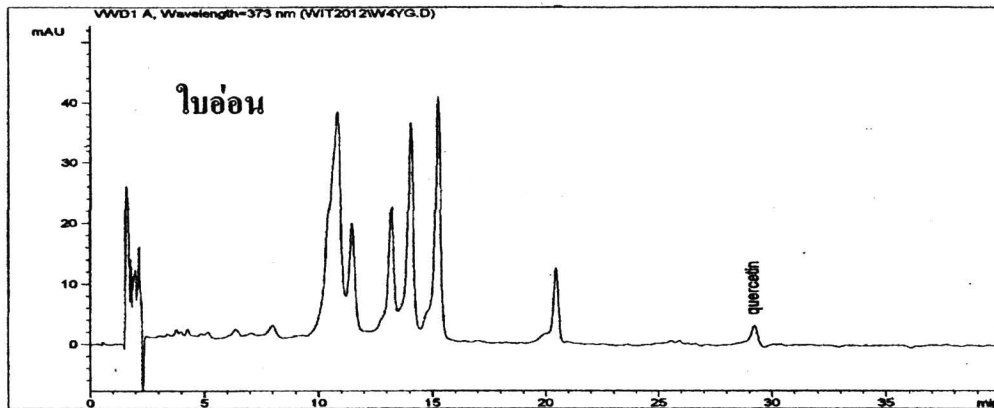
รูปที่ 3-18 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก n-Hexane
ของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ



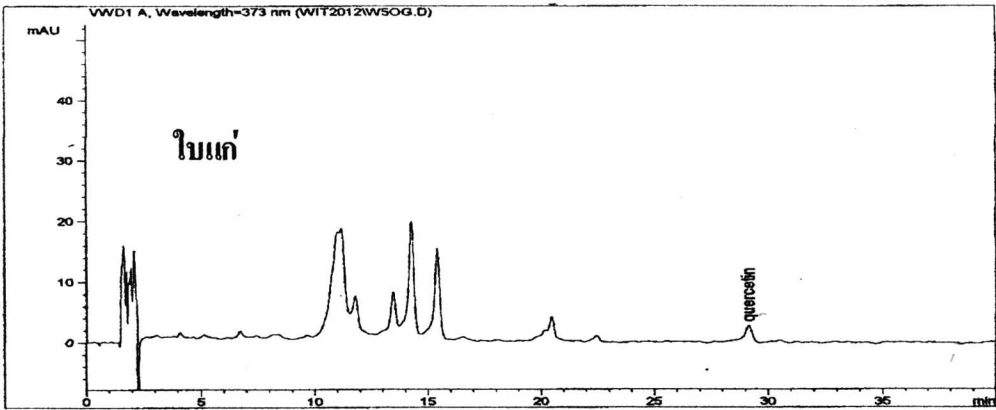
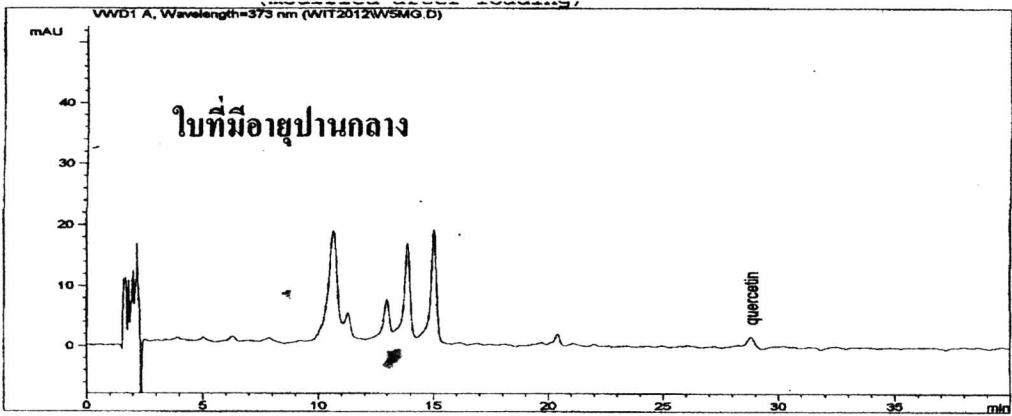
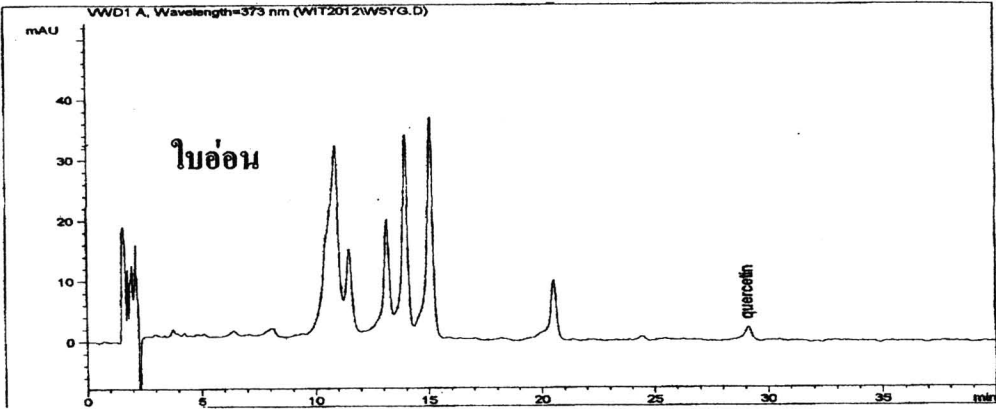
รูปที่ 3-19 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Ethyl acetate
ของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ



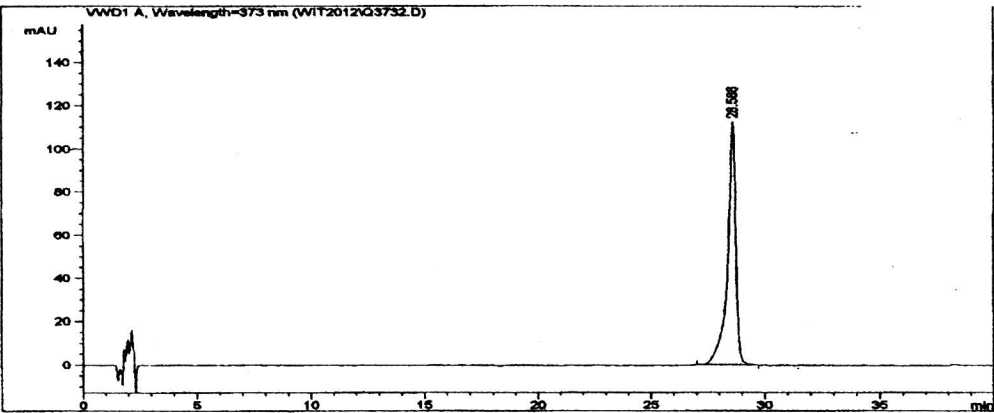
รูปที่ 3-20 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก n-Butanol
ของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ



รูปที่ 3-21 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Ethanol
ของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ



รูปที่ 3-22 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Methanol
ของใบฝรั่งที่มีอายุต่าง ๆ



รูปที่ 3-23 HPLC chromatogram ของสารมาตรฐาน Quercetin

ตารางที่ 3-9 ปริมาณและสาร Antioxidant ที่พบในสารสกัดหยาบใบฝรั่ง

สารสกัดหยาบ จากใบอายุต่าง ๆ	Yield (g/100g)	Gallic acid (mg/g)	Ellagic acid (mg/g)	Quercetin (mg/g)
<u>ใบอ่อน</u>				
Ethyl acetate extract	4.6 ± 0.6	1.96 ± 0.14	3.67 ± 0.17	13.86 ± 0.44
Ethanol extract	10.6 ± 0.7	3.67 ± 0.12	13.82 ± 0.34	26.12 ± 0.98
Hot water extract	21.0 ± 0.7	6.27 ± 0.23	36.68 ± 1.16	14.73 ± 0.70
<u>ใบอายุปานกลาง</u>				
Ethyl acetate extract	7.7 ± 0.7	0.93 ± 0.02	2.74 ± 0.45	12.25 ± 1.68
Ethanol extract	18.7 ± 0.5	1.90 ± 0.13	2.61 ± 0.67	12.08 ± 1.08
Hot water extract	18.1 ± 0.9	2.43 ± 0.11	17.51 ± 0.85	11.07 ± 0.20
<u>ใบแก่</u>				
Ethyl acetate extract	11.2 ± 0.5	1.17 ± 0.06	4.76 ± 0.83	16.07 ± 0.31
Ethanol extract	20.1 ± 0.8	1.96 ± 0.20	5.21 ± 0.31	14.47 ± 0.81
Hot water extract	17.8 ± 1.0	3.72 ± 0.22	13.20 ± 0.21	10.85 ± 0.15

การศึกษาสมบัติเคมีกายภาพเบื้องต้นที่จำเป็นของสารสกัด

ในการศึกษาขั้นตอนนี้ ได้นำสารมาตรฐาน Quercetin มาศึกษาควบคู่ไปด้วย เนื่องจากพบว่าเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในสารสกัดใบฝรั่งและเป็นสารที่ผู้วิจัยสนใจ ในส่วนของสารสกัดได้นำสารสกัดแยกส่วนจาก Ethyl acetate ของใบฝรั่งที่มีอายุปานกลางมาทำการศึกษา เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวมีสารออกฤทธิ์คือ Quercetin อยู่ในปริมาณมากที่สุด

เนื่องจากในโครงการวิจัยนี้จะทำการพัฒนาระบบนำส่งนาโนของสารออกฤทธิ์ในใบฝรั่ง ดังนั้นการศึกษาสมบัติเคมีกายภาพเบื้องต้นจึงได้เลือกศึกษาสมบัติที่มีความจำเป็นต่อการเตรียมอนุภาคนาโน ซึ่งได้แก่ สมบัติการละลาย และพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อน การศึกษาสมบัติการละลายได้ใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่นิยมใช้ทางเภสัชกรรม และที่ต้องใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโน ผลการทดลองสำหรับตัวทำละลายที่เป็นของเหลว แสดงในตารางที่ 3-10 ส่วนตัวทำละลายที่เป็นของแข็ง แสดงในตารางที่ 3-11 พบว่าทั้งสารสกัดและ Quercetin ละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน หากเปรียบเทียบในตัวทำละลายเดียวกัน พบว่ามีหลายตัวทำละลายที่สารสกัดและ Quercetin สามารถละลายได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน เช่น สารสกัดละลายได้ดีกว่า Quercetin ในสารละลาย NaOH 0.1 N และ DMSO ในขณะที่ Quercetin ละลายได้ดีกว่าสารสกัดใน Ethyl acetate เป็นต้น อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดสามารถละลายได้มากกว่า Quercetin เล็กน้อยในตัวทำละลายส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในสารสกัดใบฝรั่งนั้นยังประกอบด้วยสารอื่น ๆ อีกหลายชนิด ซึ่งสารเหล่านั้นอาจทำหน้าที่เป็น solubilizing agent ได้ด้วย

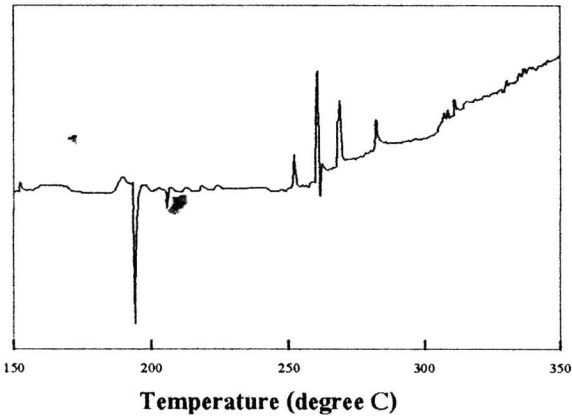
การศึกษาพฤติกรรมของสารสกัดเมื่อได้รับความร้อน โดยอาศัยเครื่องมือ Differential Scanning Calorimeter (DSC) ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3-24 สำหรับสารสกัด และรูปที่ 3-25 สำหรับสารมาตรฐาน Quercetin จากผลการทดลองพบว่า Quercetin มี onset ของ endothermic peak อยู่ที่ประมาณ 320 องศาเซลเซียส ซึ่งน่าจะเป็น melting point ของ Quercetin สำหรับ DSC thermogram ของสารสกัด พบ exothermic peak ที่บริเวณ 190 องศาเซลเซียส ซึ่งน่าจะมาจากปฏิกิริยา exothermic reaction ของสารประกอบใด ๆ ในสารสกัด และพบ endothermic peaks จำนวนมากตั้งแต่บริเวณ 250 เป็นต้นไป และพบ tail curve ที่แสดงถึงการสลายตัว แต่ไม่พบ endothermic peak ของ Quercetin ซึ่งทำให้พิจารณาได้ว่า ในสารสกัดประกอบด้วยสารหลายชนิด บางชนิดน่าจะทำหน้าที่เป็น solubilizing agent ทำให้ Quercetin ที่มีอยู่ในสารสกัดอยู่ในรูป solid solution กับสารประกอบตัวอื่น

ตารางที่ 3-10 สมบัติการละลายของสารสกัด/Quercetin เมื่อตัวทำละลายที่เป็นของเหลว
(ส่วนของตัวทำละลายที่ต้องใช้ละลาย 1 ส่วนของสารสกัดหรือ Quercetin)

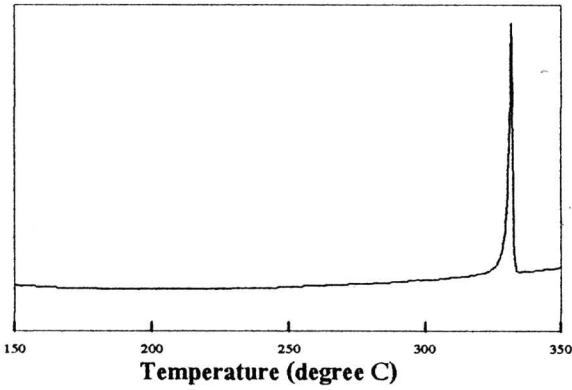
Solvent	สารสกัด	Quercetin
H ₂ O	< 0.10	< 0.10
pH 5.8	< 0.10	< 0.10
pH 6.8	< 0.10	< 0.10
pH 8.0	< 0.10	< 0.10
HCl 0.1 N	< 0.10	5.50
NaOH 0.1 N	< 0.10	2.75
EtOH	1.38	0.34
EtOH 50%	< 0.10	0.92
EtOH 70%	< 0.10	< 0.10
MeOH	0.83	< 0.10
MeOH 50%	< 0.10	5.50
MeOH 70%	< 0.10	< 0.10
DMSO	1.25	1.01
DMSO 50%	< 0.10	0.58
Tween20	< 0.10	1.09
Tween20 50%	< 0.10	0.80
Seasame oil	< 0.10	0.81
Liquid parafin	< 0.10	1.09
PEG400	< 0.10	1.08
Propylene glycol	< 0.10	2.75
Glycerin	< 0.10	< 0.10
EtOAc	5.00	5.00
Hexane	< 0.10	< 0.10

ตารางที่ 3-11 แสดงสมบัติการละลายของสารสกัด/Quercetin เมื่อตัวทำละลายที่เป็นของแข็ง (ส่วนของตัวทำละลายที่ต้องใช้ละลาย 1 ส่วนของสารสกัดหรือ Quercetin)

Solvent	สารสกัด	Quercetin
PEG8000	< 0.10	4.77
PEG20000	< 0.10	6.82
Cetyl alcohol	6.22	< 0.10
Glyceryl monostearate	< 0.10	< 0.10
Stearyl alcohol	1.07	< 0.10



รูปที่ 3-24 DSC Thermogram ของสารสกัด



รูปที่ 3-25 DSC Thermogram ของ Quercetin

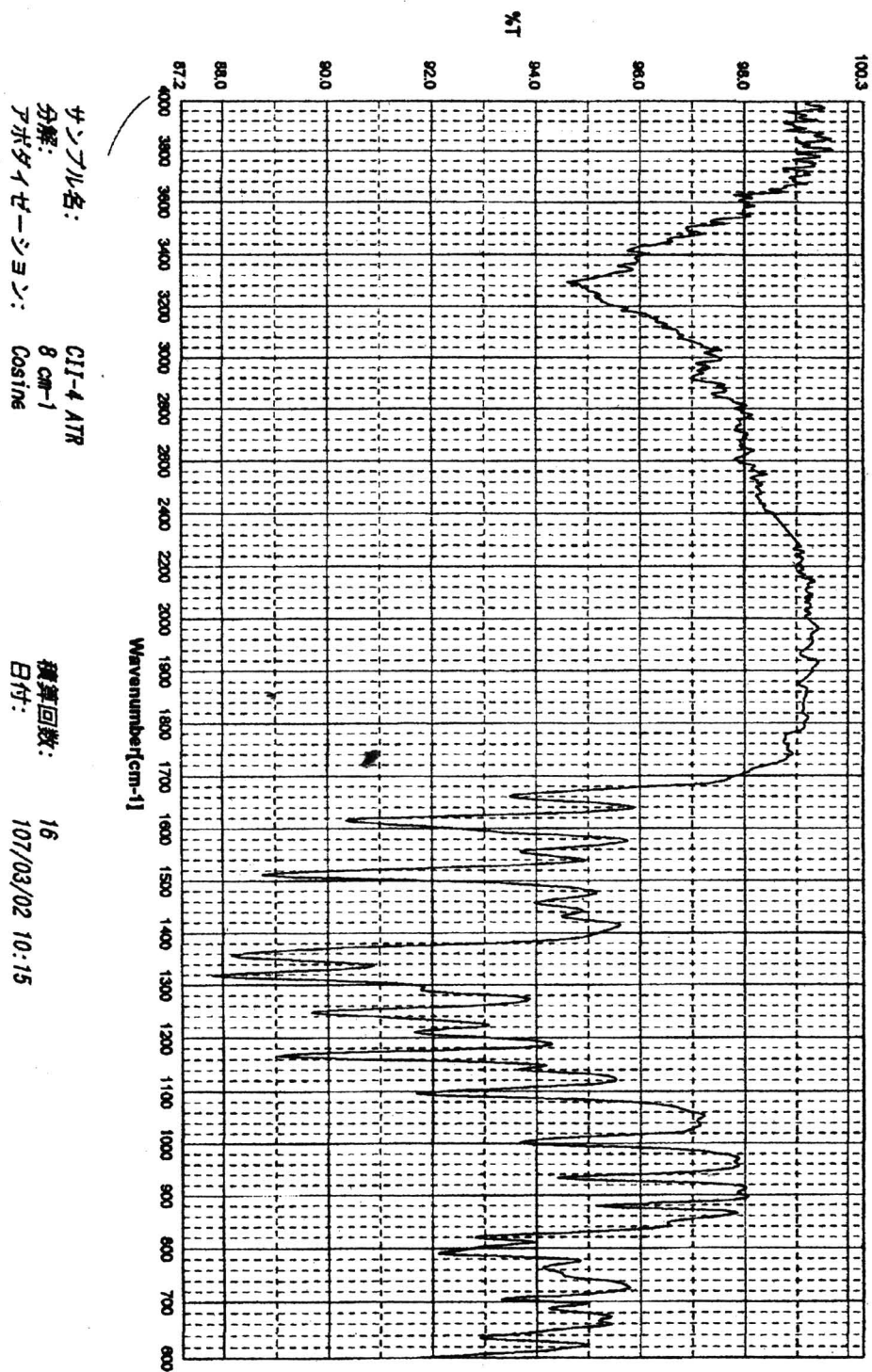
การสกัด Quercetin จากใบฝรั่ง

จากผลการทดลองที่ผ่านมาโดยเฉพาะจากผลของ Finger print จะเห็นว่าสารสกัดแยกส่วนของ Ethyl acetate แม้มี Quercetin อยู่ในปริมาณมากที่สุด แต่ peak ของ Quercetin ในปริมาณที่วัดได้จากสารสกัดดังกล่าว 100% มีปริมาณน้อยมาก คือไม่ถึง 20% ของสารมาตรฐาน Quercetin ดังนั้นจึงทำการสกัดต่อเพื่อให้ได้เฉพาะสารออกฤทธิ์ที่ทราบแน่นอนแล้วว่ามีย่อยปริมาณมากในใบฝรั่งคือสาร Quercetin เพื่อจะนำไปศึกษาพัฒนาระบบนำส่งนาโนต่อไป ผลของการสกัด พบว่าได้สารบริสุทธิ์สีเหลือง ดังแสดงในรูป 3-26 และเมื่อทำการตรวจสอบด้วย EI-MS พบว่ามี molecular ion $[M^+]$ peak ที่ 302 และเมื่อตรวจวิเคราะห์โดย FT-IR ได้ IR spectra ดังแสดงในรูปที่ 3-27 จากรูปดังกล่าวจะเห็นว่า IR absorption bands อยู่ที่ 3293.82, 1616.06, 1511.92 และ 1166.72 ซึ่งแสดงว่ามีกลุ่มของ hydroxyl, carbonyl, aromatic ring, และ ether เป็นส่วนประกอบอยู่



รูปที่ 3-26 ลักษณะผงที่สกัดได้

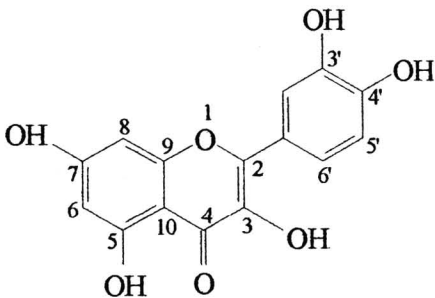
เมื่อนำผงสกัดไปศึกษาด้วย NMR ได้ผลการทดลองของ $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ดังแสดงในรูปที่ 3-28 และรูปที่ 3-29 ตามลำดับ จาก spectra ดังกล่าวพบว่า peaks ของทั้ง $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ของสารสกัดตรงกันพอดีกับ peaks ของสารมาตรฐาน Quercetin ที่มีรายงานไว้แล้ว (Arima, 2002; Markham, 1978) ดังแสดงในตารางที่ 3-12 อีกทั้ง Molecular weight ของ Quercetin ที่คำนวณได้จากสูตร ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$) คือ 302.24 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับ molecular ion $[M^+]$ peak ที่ได้จาก mass spectra ของผงที่สกัดได้ คือ 302 ในสูตรโครงสร้างของสารมาตรฐาน Quercetin มี chromophore ที่สำคัญทั้ง 4 ชนิดเช่นเดียวกับที่ได้จาก IR spectra ของผงสกัด ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่าผงที่สกัดได้เป็น Quercetin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 3-30



รูปที่ 3-27 IR spectra ของสารที่สกัดได้

ตารางที่ 3-12 NMR attribution ของ Quercetin และ ผงที่สกัดได้

Attribution	Quercetin		ผงที่สกัดได้	
	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H
2	146.9		148.9	
3	135.5		137.3	
4	175.8		177.5	
5	160.7		162.6	
6	98.2	6.16 s	99.4	6.17 s
7	163.9		165.7	
8	93.3	6.36 s	94.5	6.37 s
9	156.2		158.4	
10	103.1		104.6	
1'	122.1		124.3	
2'	115.3	7.72 s	116.1	7.72 s
3'	145.0		146.3	
4'	147.6		148.1	
5'	115.6	6.87 d (8.5)	116.3	6.86 d (8.4)
6'	120.0	7.62 d (8.5)	121.8	7.62 d (8.6)



รูปที่ 3-30 สูตรโครงสร้าง ของ Quercetin

การพัฒนาอนุภาคนาโน Querectin

เนื่องจากโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กากของเหลือใช้มาเป็นสารช่วยก่ออนุภาค ดังนั้นจึงได้พิจารณาใช้ไคโตซานเป็นสารหลักของการก่ออนุภาค เนื่องจากไคโตซานเป็น natural polymer ที่ผลิตได้จากกากเหลือใช้เช่นเปลือกกุ้ง กระจดองปู หรือแกนปลาหมึก และนอกจากนั้นไคโตซานยังมีความปลอดภัยสูงและประเทศไทยสามารถผลิตได้เอง ทำให้ไม่ต้องพึ่งพาต่างประเทศ แต่เนื่องจากไคโตซานที่ผลิตในประเทศไทยมีหลายชนิด เช่น ไคโตซานชนิดที่มาจากสัตว์ต่างชนิดกัน ไคโตซานที่มี MW และ DD ต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลต่ออนุภาคได้ นอกจากนั้นในการเตรียมอนุภาคนาโน ต้องอาศัย reagent อื่น ๆ อีกหลายชนิด ลำดับก่อนหลังของการเติม reagent เหล่านั้นและแม้กระทั่งตัวทำละลายสารสำคัญเพื่อเติมในระบบอนุภาคนาโน ก็อาจส่งผลต่อสมบัติเคมีกายภาพของอนุภาคที่เตรียมได้ ดังนั้นสิ่งเหล่านี้จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่จำเป็นต้องศึกษาเพื่อให้ได้อนุภาคนาโนที่มีลักษณะและสมบัติที่ต้องการ ผลการศึกษาปัจจัยเหล่านี้ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การศึกษาผลของไคโตซานจากสัตว์ต่างชนิดกัน

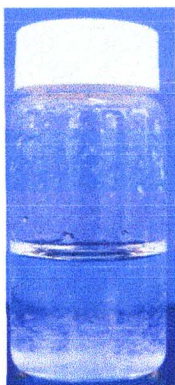
การทดลองพบว่าไคโตซานจากสัตว์แต่ละชนิดมีผลต่อการเกิดอนุภาคนาโนที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-13 และรูปที่ 3-31 ถึงรูปที่ 3-32 พบว่าไคโตซานชนิดที่ 1-5 ทำให้เกิด aggregation และไม่สามารถทำให้เกิดอนุภาคนาโน แต่ไคโตซานชนิดที่ 6 ซึ่งเป็นไคโตซานชนิดโอลิโกเมอร์ที่ได้จากเปลือกกุ้ง ไม่ทำให้เกิด aggregation และสามารถเตรียมได้อนุภาคนาโนที่กระจายตัวกันอย่างสม่ำเสมอ จึงพิจารณาว่าไคโตซานจากเปลือกกุ้งเป็นชนิดที่เหมาะสมที่สมควรนำไปใช้วิจัยในขั้นตอนต่อไป นอกจากนั้นผลการทดลองในเบื้องต้นนี้ยังแสดงให้เห็นแนวโน้มว่าไคโตซานที่มี molecular weight ต่ำ ให้ผลดีกว่าไคโตซานที่มี molecular weight สูง



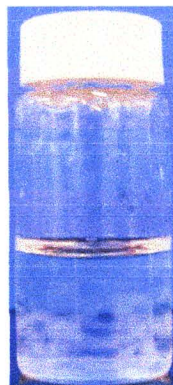
ตารางที่ 3-13 ผลการเตรียมอนุภาคของไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ

ชนิดที่	ชนิดของสัตว์	ชนิดของไคโตซาน	ลักษณะที่ปรากฏ	
			ก่อนเติมไคโตซาน	หลังเติมไคโตซาน
1	กุ้ง	โอลีโอไมเออร์*	Solution	Aggregates
2	กุ้ง	โพลีเมออร์	Solution	Aggregates
3	ปู	โอลีโอไมเออร์	Solution	Aggregates
4	ปู	โพลีเมออร์	Solution	Aggregates
5	ปลาหมึก	โอลีโอไมเออร์	Solution	Aggregates
6	กุ้ง	โอลีโอไมเออร์*	Solution	Nanoparticles

หมายเหตุ * จากแหล่งผลิตที่แตกต่างกัน



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 1



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 2



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 3



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 4

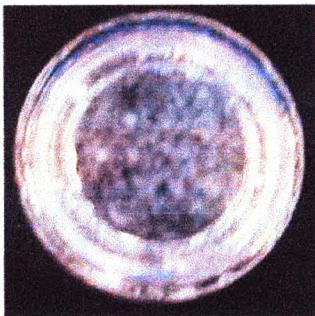


Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 5

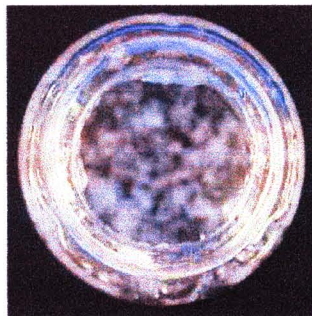


Nanoparticles ของไคโตซานชนิดที่ 6

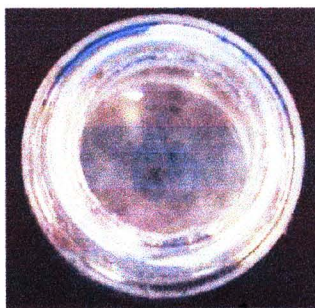
รูปที่ 3-31 ลักษณะ (side view) ของอนุภาคที่ได้จากไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ



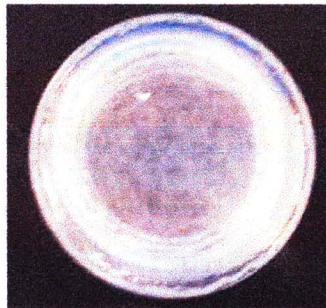
Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 1



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 2



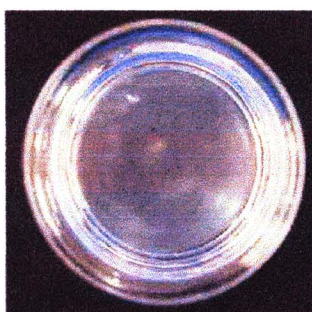
Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 3



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 4



Aggregation ของไคโตซานชนิดที่ 5



ลักษณะอนุภาคนาโนของไคโตซานชนิดที่ 6

รูปที่ 3-32 ลักษณะ (top view) ของอนุภาคที่ได้จากไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ

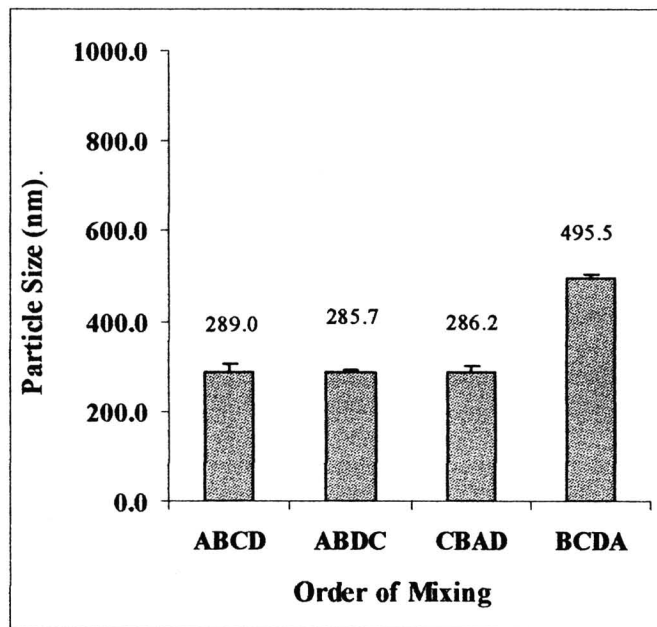
การศึกษาลำดับการเติมสาร

ผลการทดลองพบว่าลำดับการเติมสารละลายมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโนที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 3-14 และรูปที่ 3-33 ถึงรูปที่ 3-35 พบว่าลำดับการเติมมีผลต่อขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาคอย่างชัดเจน แต่มีผลเล็กน้อยต่อ zeta potential ของอนุภาค เมื่อพิจารณาความเหมาะสมพบว่าลำดับการเติมที่จะทำให้เกิดอนุภาคนาโนที่ดีที่สุด กล่าวคือให้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุด และมีการกระจายขนาดน้อยที่สุด เหมาะสำหรับการใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนในขั้นตอนต่อไป คือ A B C D โดยที่

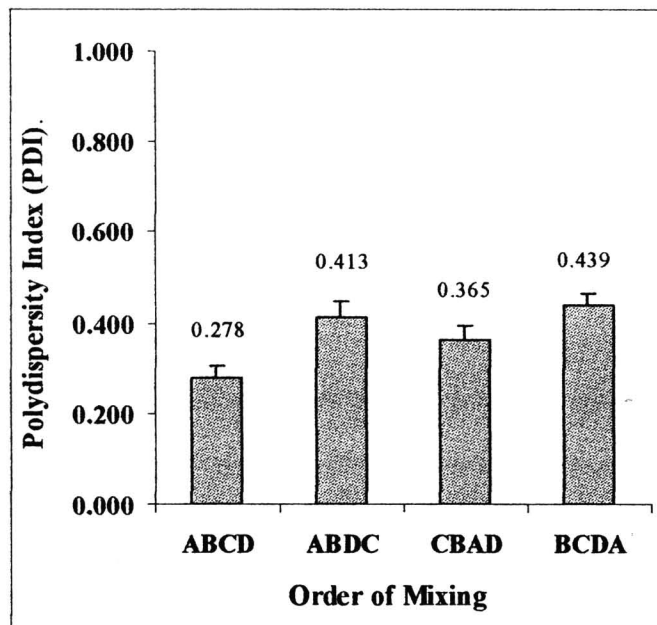
- A หมายถึง สารละลาย Sodium alginate ความเข้มข้น 0.03 %w/v ในน้ำปราศจากไอออน (ใช้ปริมาณ 10.0 มิลลิลิตร)
- B หมายถึง สารละลาย Quercetin ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย water-DMSO (1:1) (ใช้ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร)
- C หมายถึงสารละลาย CaCl₂ ความเข้มข้น 0.18 mM (ใช้ปริมาณ 0.3 มิลลิลิตร)
- D หมายถึงสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 0.05 %w/v ในสารละลาย Acetic acid 1%v/v (ใช้ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร)

ตารางที่ 3-14 ผลของลำดับการเติมสารละลายต่ออนุภาค

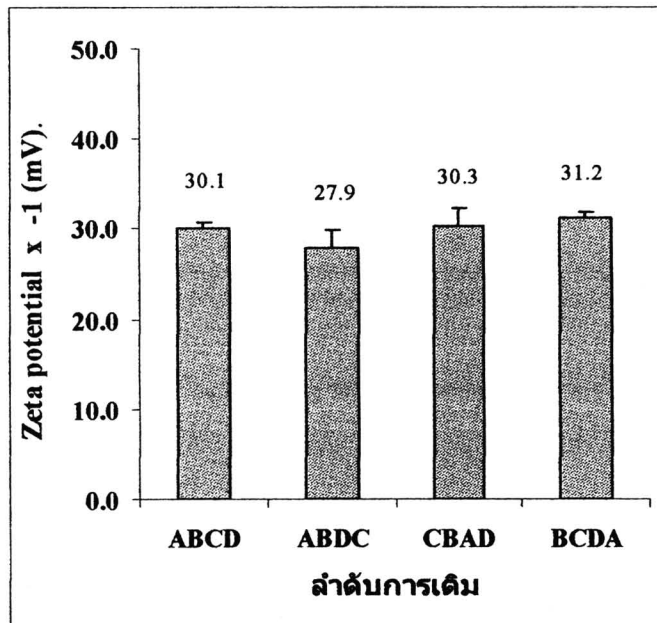
ลำดับการเติม	ขนาด (นาโนเมตร)	การกระจายขนาด (นาโนเมตร)	Zeta potential (mV)
A B C D	289.0 ± 14.2	0.278 ± 0.028	-30.1 ± 0.7
A B D C	285.7 ± 07.9	0.413 ± 0.036	-27.9 ± 1.9
C B A D	286.2 ± 12.8	0.365 ± 0.030	-30.3 ± 2.0
B C D A	495.5 ± 09.5	0.439 ± 0.026	-31.2 ± 0.6



รูปที่ 3-33 อิทธิพลของลำดับการเติมต่อขนาดของอนุภาค



รูปที่ 3-34 อิทธิพลของลำดับการเติมต่อการกระจายขนาดของอนุภาค



รูปที่ 3-35 อิทธิพลของลำดับการเดิมต่อ Zeta potential ของอนุภาค

ผลของ Molecular weight (MW) ของโคโคซาน

ผลการทดลองพบว่า MW ของโคโคซานมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ ทั้งต่อขนาดของอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัด แต่ไม่มีผลกระทบมากนักกับค่า zeta potential ดังแสดงในตารางที่ 3-15 ถึงตารางที่ 3-18 และรูปที่ 3-36 ถึงรูปที่ 3-39 และเมื่อได้ทดลองบรรจุสารสำคัญ Quercetin ความเข้มข้นต่าง ๆ เข้าไปในอนุภาคนาโน ผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสำคัญเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3-15 เช่นในระบบที่มีการใช้โคโคซาน MW 15000 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสำคัญตามลำดับคือ 0.10, 0.2, และ 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อนุภาคนาโนที่เตรียมได้จะมีขนาดเท่ากับ 289.0 ± 62.2 นาโนเมตร, 565.1 ± 18.0 นาโนเมตร และ 749.1 ± 121.5 นาโนเมตร ซึ่งจะเห็นว่าใหญ่ขึ้นตามลำดับ และในระบบที่มีการใช้โคโคซาน MW 22000 ก็เช่นกัน พบว่าอนุภาคที่เตรียมได้จากการเพิ่มปริมาณสารสำคัญดังกล่าวมีขนาดเท่ากับ 310.1 ± 7.1 นาโนเมตร, 596.0 ± 36.6 นาโนเมตร และ 964.9 ± 170.6 นาโนเมตร ซึ่งจะเห็นว่าใหญ่ขึ้นตามลำดับ แต่สำหรับระบบที่มีการใช้โคโคซาน MW 760000 พบว่าขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสำคัญเพิ่มจาก 0.1 เป็น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่เมื่อเพิ่มความ

เข้มข้นของสารสำคัญเป็น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขนาดอนุภาคกลับลดลง คือมีขนาดเพียง 624.6 ± 363.0 นาโนเมตร เมื่อเทียบกับอนุภาคที่ได้จากไคโตซาน MW 15000 ซึ่งมีขนาดถึง 749.1 ± 121.5 นาโนเมตร การที่เป็นเช่นนี้พิจารณาว่าเนื่องจากไคโตซาน MW 15000 สามารถกักเก็บสารสกัดได้มากกว่า คือได้ถึง 88.56 ± 1.04 % จึงมีขนาดใหญ่กว่า ในขณะที่อนุภาคที่เกิดจากไคโตซาน MW 760000 สามารถกักเก็บสารสกัดได้เพียง 42.68 ± 0.85 % จึงมีขนาดเล็กกว่า

นอกจากนั้นยังพบว่า การเพิ่มปริมาณสารสำคัญในระบบจะทำให้มีการกระจายขนาดมากขึ้น โดยสังเกตจากค่า Polydispersity Index หรือ PDI ที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3-16 แต่ไม่มีผลต่อ zeta potential ของอนุภาค ดังแสดงในตารางที่ 3-17 ผลอย่างชัดเจนอีกอย่างหนึ่งของปริมาณสารสำคัญในระบบคือผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ (Entrapment efficiency) โดยพบว่าเมื่อปริมาณสารสำคัญในระบบเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญลดลง ดังแสดงในตารางที่ 3-18 หากเปรียบเทียบกันระหว่างอนุภาคที่เกิดจากไคโตซานที่มี MW แตกต่างกัน เมื่อมีความเข้มข้นของสารสำคัญในระบบปริมาณน้อย ๆ พบว่าขนาดอนุภาคที่ได้มีความใกล้เคียงกันมาก เช่นในระบบที่มีความเข้มข้นของ Quercetin อยู่ในปริมาณ 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขนาดอนุภาคที่ได้จากไคโตซาน MW 15000, MW 22000 และ MW 76000 จะมีขนาดเท่ากับ 289.0 ± 62.2 นาโนเมตร, 310.1 ± 7.1 นาโนเมตร และ 302.1 ± 9.2 นาโนเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อความเข้มข้นของสารสำคัญในระบบเพิ่มมากขึ้นจะพบความแตกต่างของขนาดอนุภาคอันเนื่องจากไคโตซานที่มี MW แตกต่างกันมากยิ่งขึ้น ดังเช่นเมื่อระบบที่มีความเข้มข้นของ Quercetin เพิ่มขึ้นเป็น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขนาดอนุภาคที่ได้จากไคโตซาน MW 15000, MW 22000 และ MW 76000 จะมีขนาดเท่ากับ 565.1 ± 18.0 นาโนเมตร, 596.0 ± 36.6 นาโนเมตร และ 889.0 ± 73.3 นาโนเมตร ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มเป็น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขนาดอนุภาคที่ได้จากไคโตซาน MW 15000, MW 22000 และ MW 76000 จะมีขนาดเท่ากับ 749.1 ± 121.5 นาโนเมตร, 964.9 ± 170.6 นาโนเมตร และ 624.6 ± 363.0 นาโนเมตร ตามลำดับ การสังเกตอนุภาคด้วยตาเปล่าจะเห็นความแตกต่างที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณสารสกัด ดังแสดงในรูปที่ 3-40

จากผลการทดลองนี้โดยเฉพาะผลต่อขนาดอนุภาคและประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ สรุปว่าไคโตซานที่มี MW 15000 มีความเหมาะสมมากที่สุด โดยทำให้ได้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กที่สุด และให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญมากที่สุด

ตารางที่ 3-15 ผลของ MW ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค

MW	Quercetin (mg/ml)	Particle size (nm)
15,000	0.10	289.0 ± 62.2
	0.20	565.1 ± 18.0
	0.30	749.1 ± 121.5
22,000	0.10	310.1 ± 7.1
	0.20	596.0 ± 36.6
	0.30	964.9 ± 170.6
760,000	0.10	302.1 ± 9.2
	0.20	889.0 ± 73.3
	0.30	624.6 ± 363.0

ตารางที่ 3-16 ผลของ MW ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค

MW	Quercetin (mg/ml)	PDI
15,000	0.10	0.502 ± 0.057
	0.20	0.590 ± 0.085
	0.30	0.731 ± 0.242
22,000	0.10	0.377 ± 0.022
	0.20	0.486 ± 0.018
	0.30	0.669 ± 0.040
760,000	0.10	0.426 ± 0.011
	0.20	0.652 ± 0.029
	0.30	0.691 ± 0.099

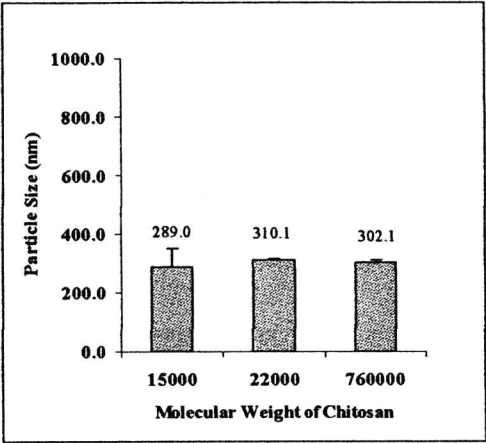
ตารางที่ 3-17 ผลของ MW ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค

MW	Quercetin (mg/ml)	Zeta potential
15,000	0.10	-30.10 ± 1.15
	0.20	-34.60 ± 0.52
	0.30	-31.20 ± 1.31
22,000	0.10	-35.90 ± 0.57
	0.20	-33.30 ± 1.60
	0.30	-34.60 ± 0.87
760,000	0.10	-31.70 ± 0.64
	0.20	-36.60 ± 0.74
	0.30	-29.00 ± 1.46

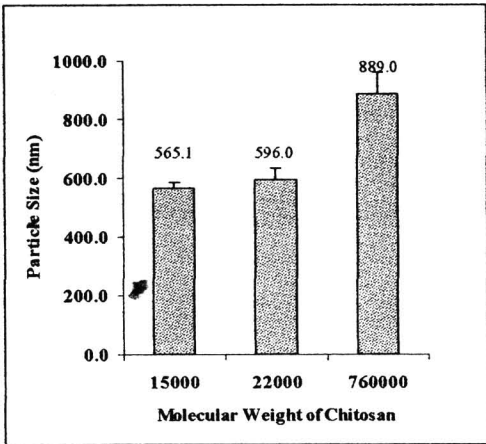
ตารางที่ 3-18 ผลของ MW ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค

MW	Quercetin (mg/ml)	Entrapment (%)
15,000	0.10	96.98 ± 0.10
	0.20	95.59 ± 0.07
	0.30	88.56 ± 1.04
22,000	0.10	96.26 ± 0.08
	0.20	92.33 ± 0.12
	0.30	56.97 ± 0.30
760,000	0.10	94.59 ± 0.14
	0.20	77.25 ± 0.31
	0.30	42.68 ± 0.85

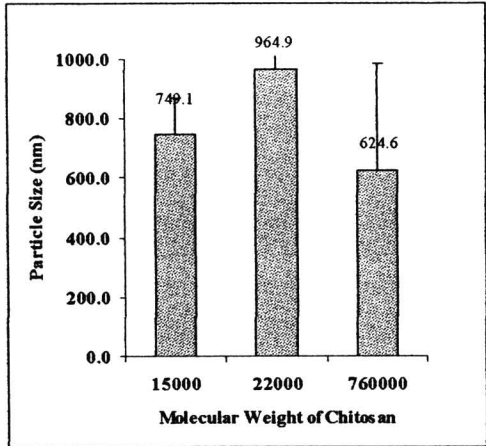
(A)



(B)

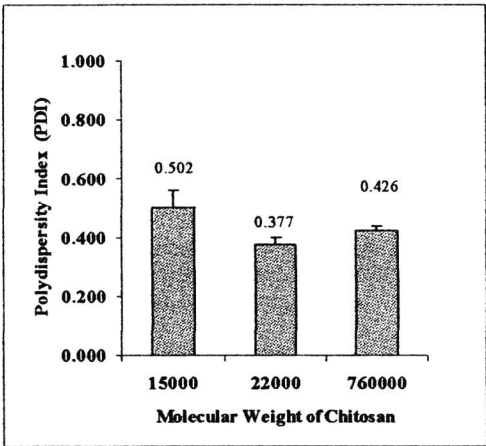


(C)

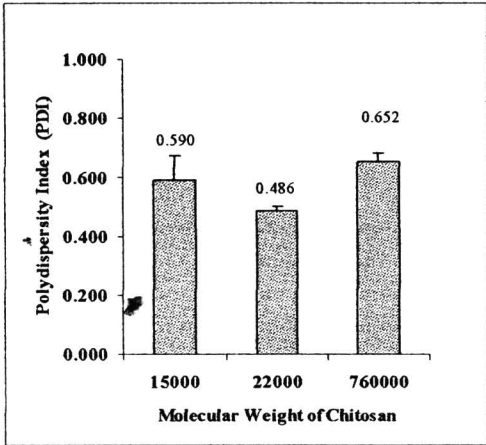


รูปที่ 3-36 ผลของ MW ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

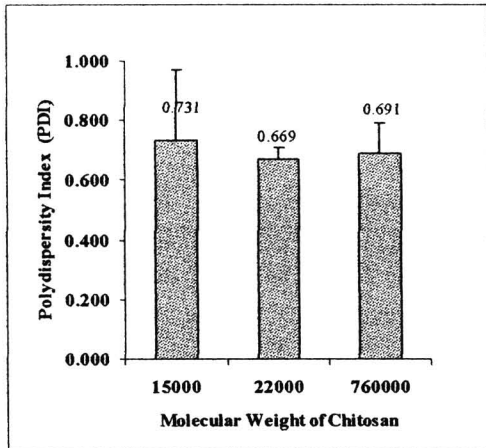
(A)



(B)

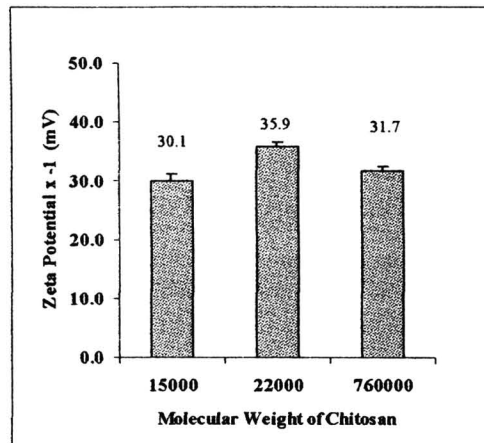


(C)

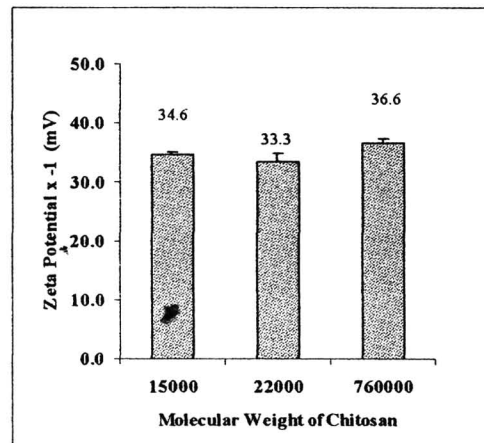


รูปที่ 3-37 ผลของ MW ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

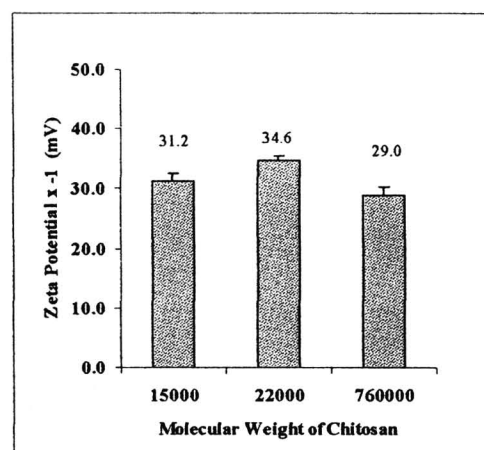
(A)



(B)



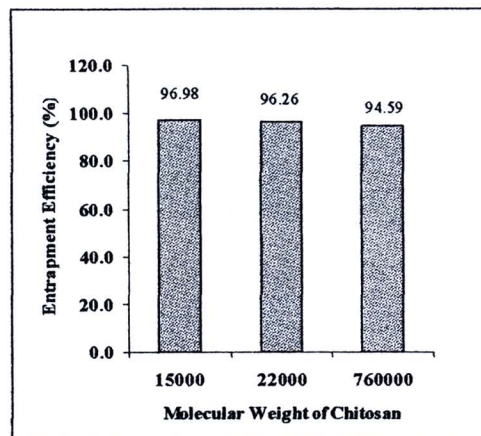
(C)



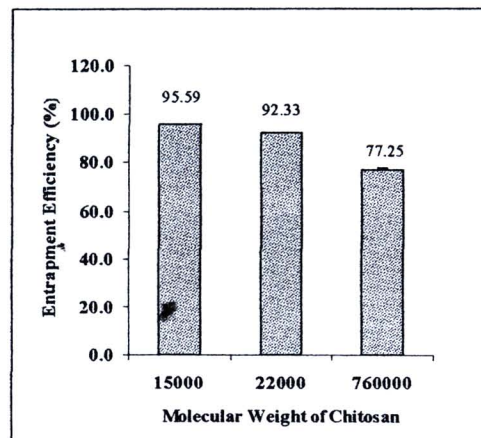
รูปที่ 3-38 ผลของ MW ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



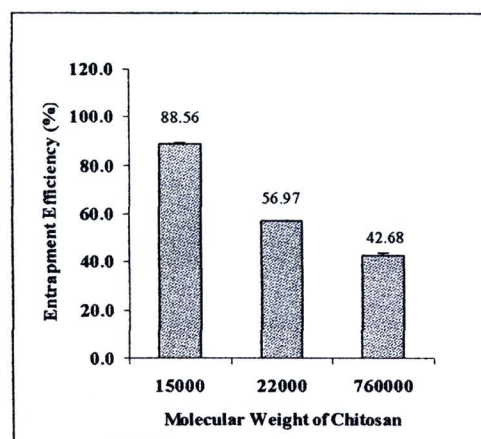
(A)



(B)

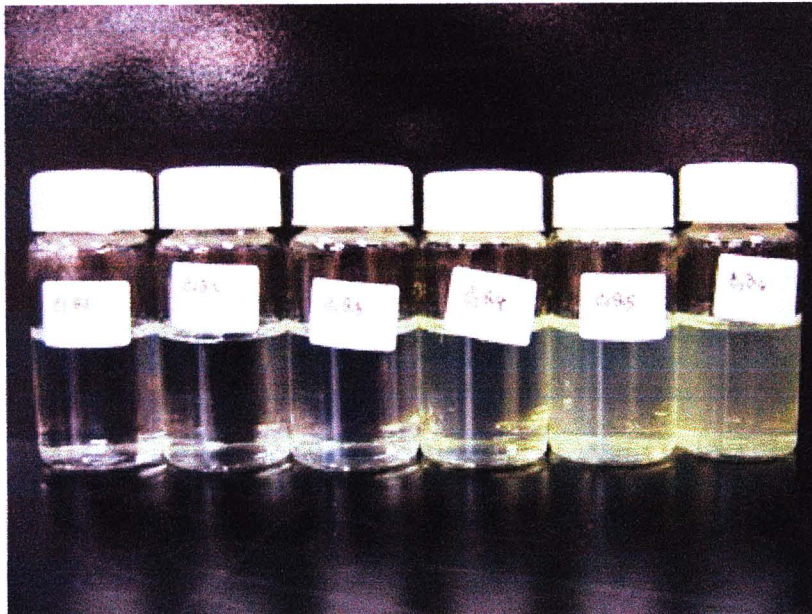


(C)

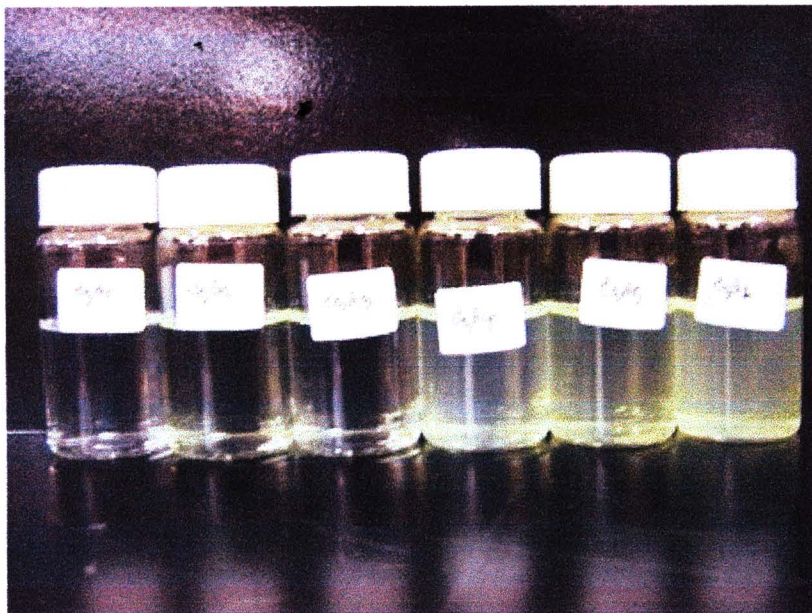


รูปที่ 3-39 ผลของ MW ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

(A)



(B)



รูปที่ 3-40 ลักษณะของอนุภาคที่มองเห็นด้วยตาเปล่าเมื่อใช้โคโคซานที่มี MW แตกต่างกัน

เมื่อ (A) = MW 15000, (B) = MW 760000 ความเข้มข้น Quercetin เพิ่มจากซ้ายไปขวา

ผลของ Degree of deacetylation (DD) ของไคโตซาน

การทดลองนี้ไคโตซานทำการเปรียบเทียบไคโตซานที่มี DD 2 ค่า คือ DA 85% และ DA 95% ผลการทดลองพบว่าค่า DD ของไคโตซานมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโน โดยเฉพาะผลต่อขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค และประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัด แต่ไม่มีผลมากนักต่อ zeta potential ของอนุภาค ไคโตซานที่มี DD ต่ำ (DD 85%) จะให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กกว่า แต่ประสิทธิภาพการกักเก็บน้อยกว่า ส่วนไคโตซานที่มี DD สูง (DD 95%) จะให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อยแต่มีประสิทธิภาพการกักเก็บมากกว่า ดังแสดงในตารางที่ 3-19 ถึงตารางที่ 3-22 และรูปที่ 3-41 ถึงรูปที่ 3-44 นอกจากนั้นผลการทดลองเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสำคัญ Quercetin พบว่าได้ผลคล้ายกับปัจจัยอื่นเกิดจาก MW ของไคโตซาน กล่าวคือความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อขนาดและการกระจายขนาดรวมทั้งประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้เกิดอนุภาคนาโนขนาดใหญ่ขึ้นและมีการกระจายขนาดมากขึ้น แต่ประสิทธิภาพการกักเก็บลดลง พบว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เห็นชัดเจนในไคโตซานที่มี DD ต่ำมากกว่าไคโตซานที่มี DD สูง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพสูงของไคโตซานที่มี DD 95% ในการกักเก็บสารสำคัญไว้ในอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ จากผลการทดลองนี้จึงพิจารณาว่าไคโตซานที่มี DD 95% มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไป เนื่องจากทำให้เกิดอนุภาคที่มีความสามารถกักเก็บตัวยามากกว่า ส่วนขนาดอนุภาคที่เพิ่มใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดนั้น ยังมีขนาดเล็กกว่า 1 ไมครอนซึ่งถือว่ายังอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

ตารางที่ 3-19 ผลของ DD ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค

DD (%)	Quercetin (mg/ml)	Particle size (nm)
85	0.1	274.5 ± 1.9
	0.2	391.2 ± 14.4
	0.3	883.7 ± 72.4
95	0.1	310.1 ± 7.1
	0.2	596.0 ± 36.6
	0.3	964.9 ± 170.6

ตารางที่ 3-20 ผลของ DD ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค

DD (%)	Quercetin (mg/ml)	PDI
85	0.1	0.292 ± 0.005
	0.2	0.538 ± 0.101
	0.3	0.757 ± 0.107
95	0.1	0.377 ± 0.022
	0.2	0.486 ± 0.018
	0.3	0.669 ± 0.040

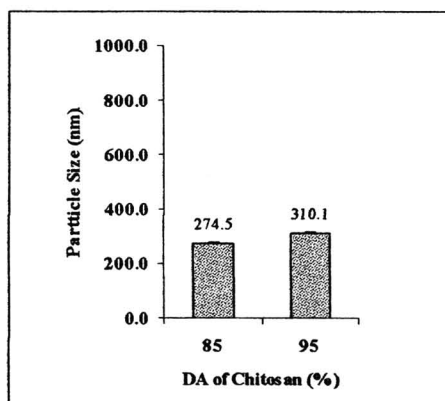
ตารางที่ 3-21 ผลของ DD ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค

DD (%)	Quercetin (mg/ml)	Zeta potential
85	0.1	-34.00 ± 0.84
	0.2	-35.40 ± 0.34
	0.3	-35.30 ± 1.02
95	0.1	-35.90 ± 0.57
	0.2	-33.30 ± 1.60
	0.3	-34.60 ± 0.87

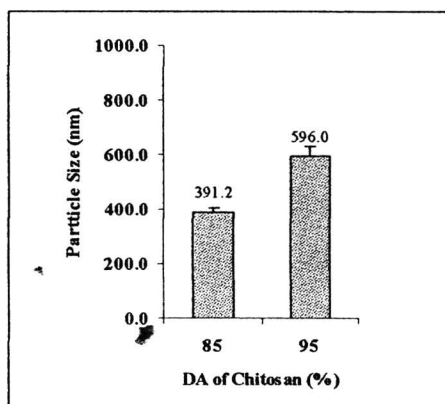
ตารางที่ 3-22 ผลของ DD ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค

DD (%)	Quercetin (mg/ml)	Entrapment (%)
85	0.1	89.80 ± 0.27
	0.2	81.30 ± 0.25
	0.3	9.16 ± 2.80
95	0.1	96.26 ± 0.08
	0.2	92.33 ± 0.12
	0.3	56.97 ± 0.30

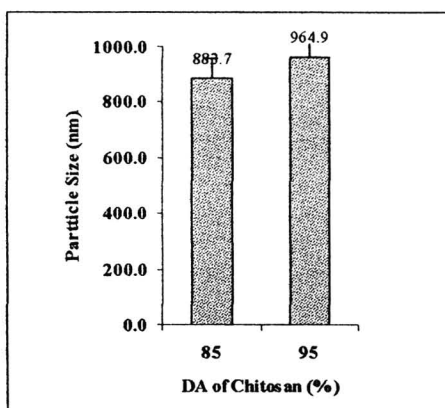
(A)



(B)

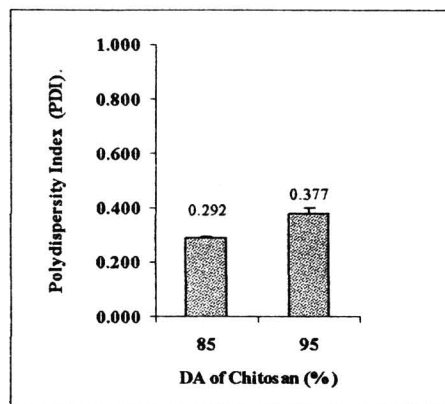


(C)

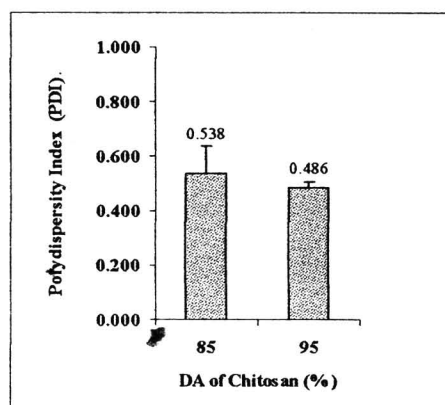


รูปที่ 3-41 ผลของ DD ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

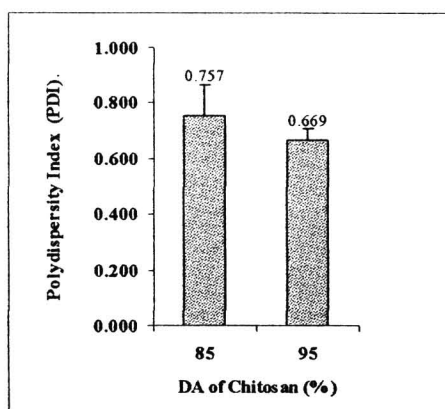
(A)



(B)

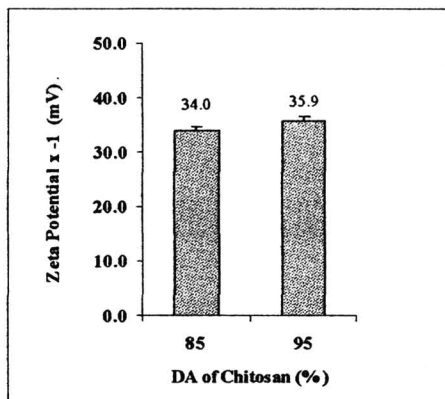


(C)

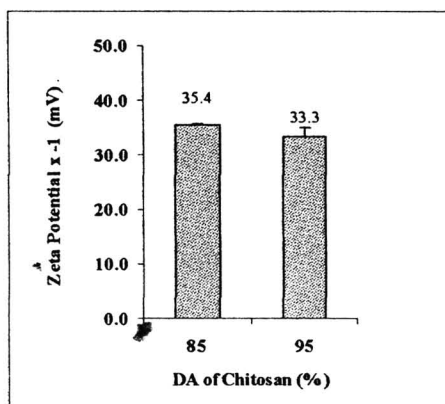


รูปที่ 3-42 ผลของ DD ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

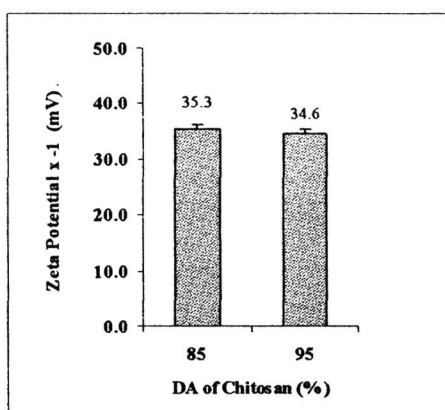
(A)



(B)

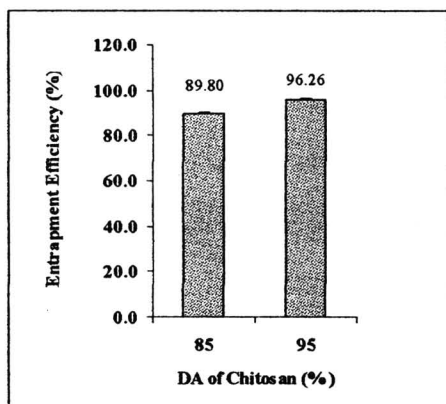


(C)

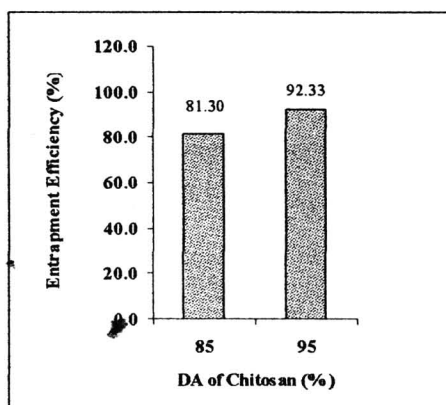


รูปที่ 3-43 ผลของ DD ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

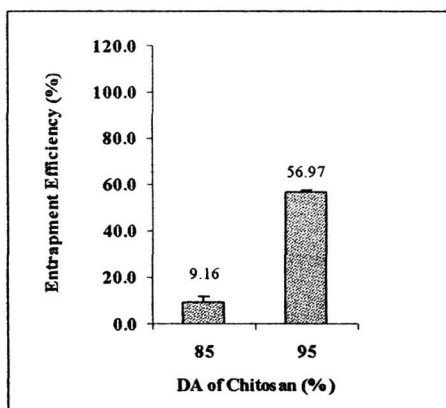
(A)



(B)



(C)



รูปที่ 3-44 ผลของ DD ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.2 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ผลของตัวทำละลาย

ในการศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสำคัญคือ Quercetin ได้ใช้ระบบตัวทำละลายร่วมที่มีส่วนประกอบของน้ำเป็นหลัก โดยได้ศึกษาทั้งหมด 4 ระบบ คือ water-DMSO, water-PEG, water-PG, และ water-Tween ผลการทดลองพบว่าระบบตัวทำละลายมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้โดยเฉพาะต่อขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค รวมทั้งประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ แต่ไม่มีผลมากนักต่อ zeta potential ของอนุภาค ดังแสดงในตารางที่ 3-23 ถึงตารางที่ 3-26 และรูปที่ 3-45 ถึงรูปที่ 3-48 การทดลองพบว่าระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water-Tween เป็นระบบที่ให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กที่สุด แต่มีข้อเสียคืออนุภาคที่ได้มีการกระจายของขนาดมากที่สุด มีค่า zeta potential เป็นลบน้อยกว่าระบบตัวทำละลายอื่น ๆ ทุกระบบ ซึ่งแสดงว่าอนุภาคที่ได้จากระบบ water-Tween จะมีโอกาสมากที่สุดในการเกิดการรวมตัวหรือเกาะกันเป็นอนุภาคใหญ่ขึ้นซึ่งแสดงถึงแนวโน้มในการสูญเสียความคงสภาพมากที่สุด นอกจากนั้นยังพบว่าอนุภาคที่ได้จากระบบ water-Tween มีประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญน้อยที่สุดด้วย

เมื่อพิจารณา ระบบ water-PEG และระบบ water-PG ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเป็นระบบที่ให้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุด ที่ยังให้ประสิทธิภาพการกักเก็บมากที่สุด เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณสารสำคัญมีผลต่อขนาดของอนุภาคและประสิทธิภาพการกักเก็บ โดยขนาดอนุภาคที่ได้จะใหญ่ขึ้นตามความเข้มข้นของสารสำคัญที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถมองเห็นความแตกต่างได้ด้วยตาเปล่า และเมื่อฉายลำแสงเลเซอร์ผ่าน จะเห็นลำแสงแตกกระเจิงมากขึ้นในระบบที่ขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 3-49 ถึงรูปที่ 3-52 เมื่อไม่มีสารสำคัญขนาดอนุภาคนาโนที่เตรียมได้จากระบบตัวทำละลายทั้งสองมีขนาดใกล้เคียงกันคือ 276.6 ± 6.1 นาโนเมตร และ 270.6 ± 6.3 นาโนเมตรตามลำดับ แต่เมื่อเติมสารสำคัญลงไปในปริมาณ 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะทำให้ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 344.3 ± 13.8 นาโนเมตรและ 1440.0 ± 378.3 นาโนเมตรตามลำดับ อนุภาคที่ได้จากตัวทำละลายทั้งสองระบบนี้เมื่อมีปริมาณสารสำคัญในระบบ 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพการกักเก็บถึง 100% การทดลองพบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บนี้จะลดลงเพียงเล็กน้อย (ไม่ถึง 1%) ในทั้งสองระบบ เมื่อความเข้มข้นของสารสำคัญเพิ่มจาก 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนประสิทธิภาพการกักเก็บเมื่อใช้ระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water-DMSO และ water-Tween จะน้อยกว่าเมื่อใช้ระบบ water-PEG

และ water-PG มากคือมีประสิทธิภาพการกักเก็บเมื่อเติมสารสำคัญ 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพียง $88.56 \pm 1.04 \%$ และ $58.70 \pm 0.49 \%$ ตามลำดับ ในขณะที่ตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water-PEG และ water-PG ให้ประสิทธิภาพการกักเก็บถึง $99.90 \pm 0.02 \%$ และ $99.86 \pm 0.03 \%$ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารสำคัญ 0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคที่เตรียมจากระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water-PEG และ water-PG มีถึง 100 % ในขณะที่ระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย water-DMSO และ water-Tween20 จะให้ประสิทธิภาพการกักเก็บเพียง $96.98 \pm 0.10 \%$ และ $96.12 \pm 0.47 \%$ ตามลำดับ

ตารางที่ 3-23 ผลของระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาค

Solvent system	Quercetin (mg/ml)	Particle size (nm)
Water-DMSO	0.0	258.0 ± 2.9
	0.1	289.0 ± 62.2
	0.3	749.1 ± 121.5
Water-PEG	0.0	276.6 ± 6.1
	0.1	301.2 ± 11.1
	0.3	344.3 ± 13.8
Water-PG	0.0	270.6 ± 6.3
	0.1	288.1 ± 1.8
	0.3	1440.0 ± 378.3
Water-Tween	0.0	35.0 ± 2.3
	0.1	35.1 ± 0.2
	0.3	34.6 ± 1.8

ตารางที่ 3-24 ผลของระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาค

Solvent system	Quercetin (mg/ml)	PDI (nm)
Water-DMSO	0.0	0.275 ± 0.008
	0.1	0.502 ± 0.057
	0.3	0.731 ± 0.242
Water-PEG	0.0	0.277 ± 0.021
	0.1	0.332 ± 0.050
	0.3	0.361 ± 0.065
Water-PG	0.0	0.283 ± 0.035
	0.1	0.321 ± 0.028
	0.3	0.888 ± 0.113
Water-Tween	0.0	0.948 ± 0.031
	0.1	0.863 ± 0.006
	0.3	0.894 ± 0.044

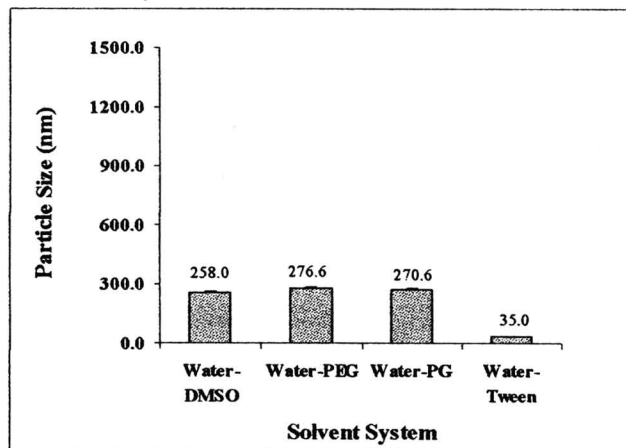
ตารางที่ 3-25 ผลของระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาค

Solvent system	Quercetin (mg/ml)	Zeta potential
Water-DMSO	0.0	-27.80 ± 0.70
	0.1	-30.10 ± 1.15
	0.3	-31.20 ± 1.31
Water-PEG	0.0	-27.80 ± 0.66
	0.1	-27.70 ± 1.12
	0.3	-28.50 ± 0.84
Water-PG	0.0	-28.50 ± 0.78
	0.1	-28.20 ± 0.80
	0.3	-28.80 ± 0.94
Water-Tween	0.0	-25.10 ± 1.48
	0.1	-23.80 ± 0.28
	0.3	-25.00 ± 1.28

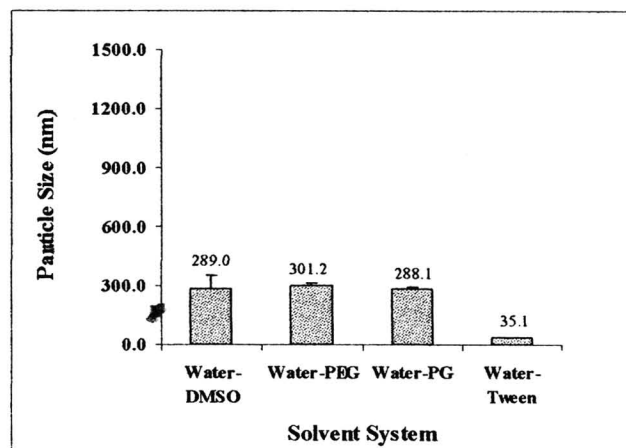
ตารางที่ 3-26 ผลของระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค

Solvent system	Quercetin (mg/ml)	Entrapment (%)
Water-DMSO	0.0	-
	0.1	96.98 ± 0.10
	0.3	88.56 ± 1.04
Water-PEG	0.0	-
	0.1	100.00 ± 0.00
	0.3	99.90 ± 0.02
Water-PG	0.0	-
	0.1	100.00 ± 0.00
	0.3	99.86 ± 0.03
Water-Tween	0.0	-
	0.1	96.12 ± 0.47
	0.3	58.70 ± 0.49

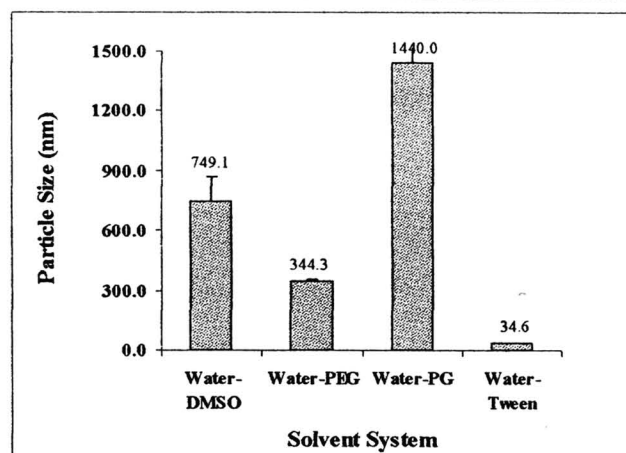
(A)



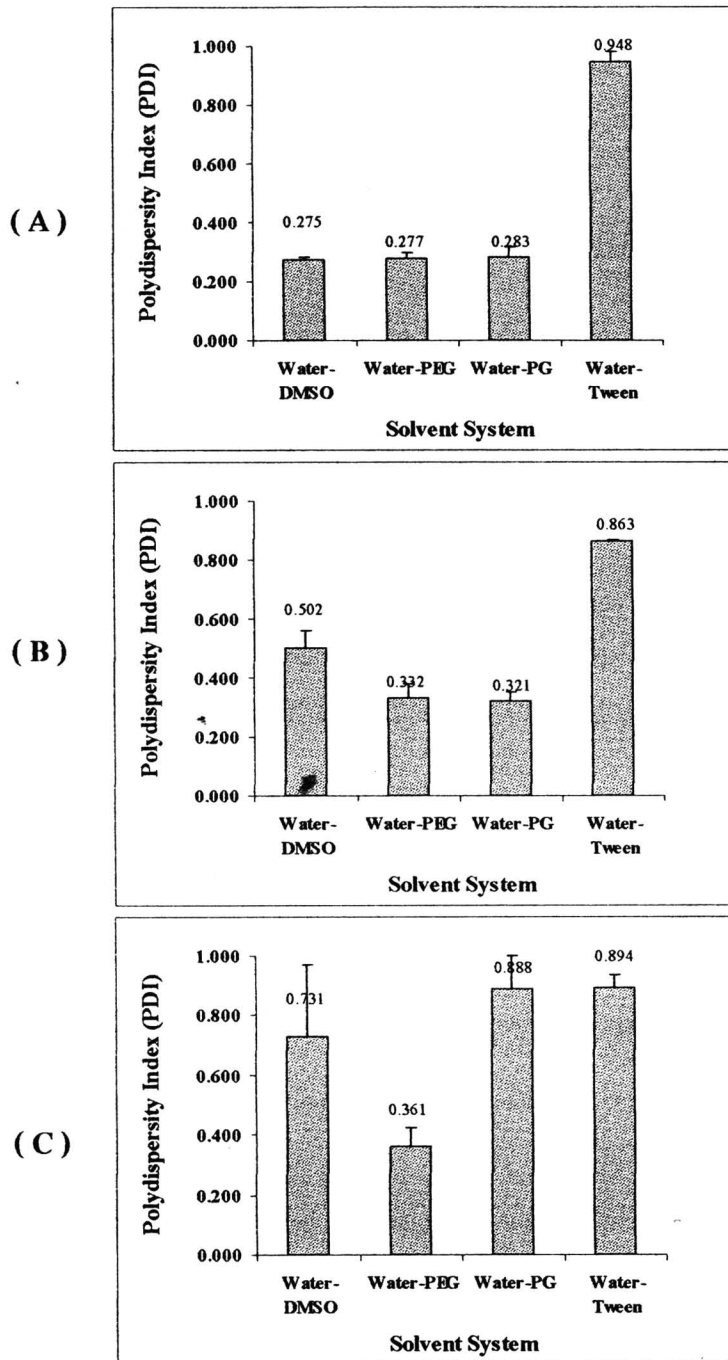
(B)



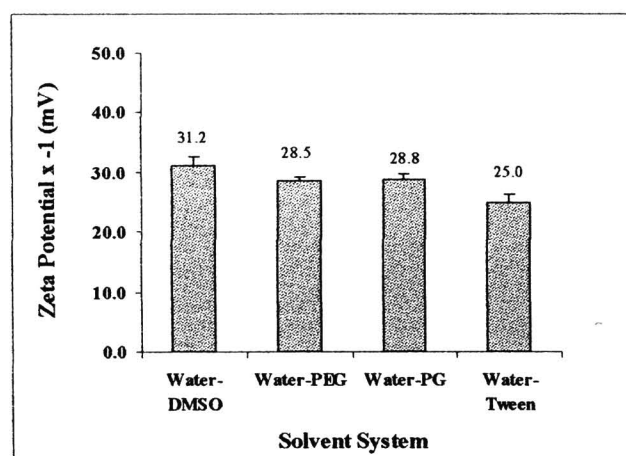
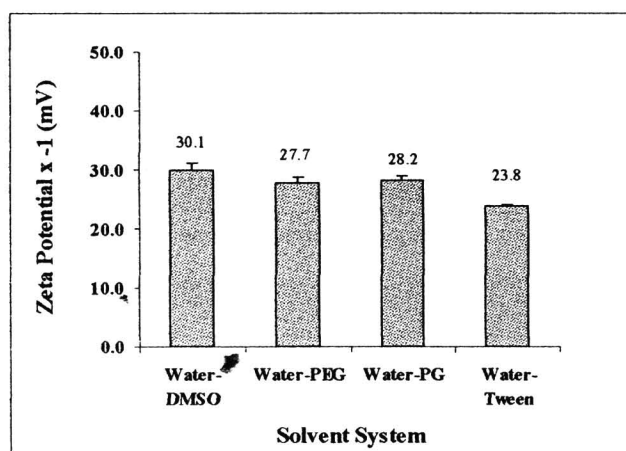
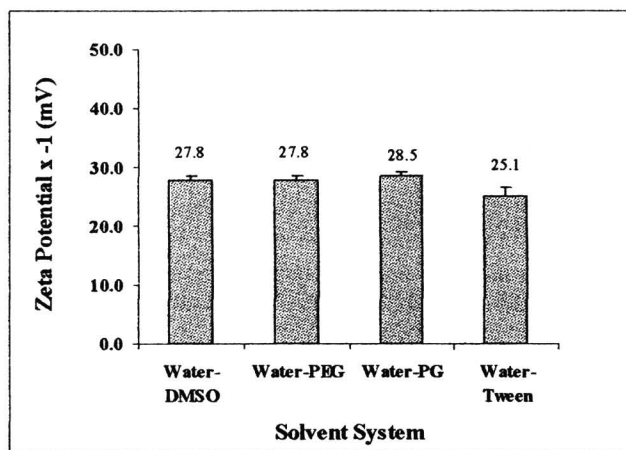
(C)



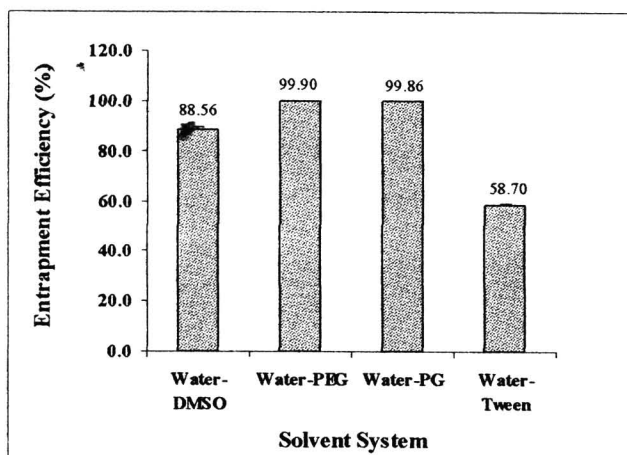
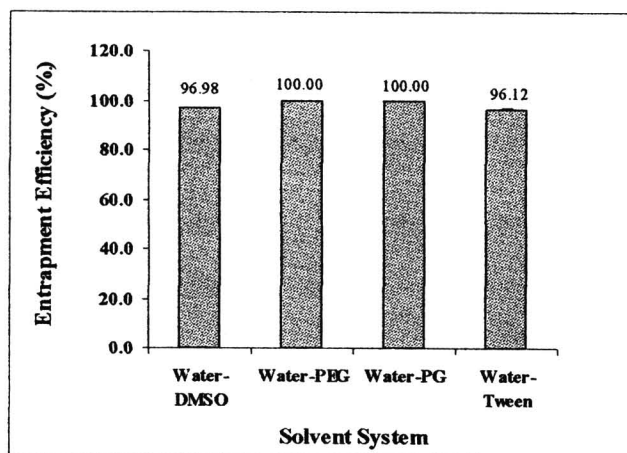
รูปที่ 3-45 ผลของระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ 3-46 ผลของระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ 3-47 ผลของระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



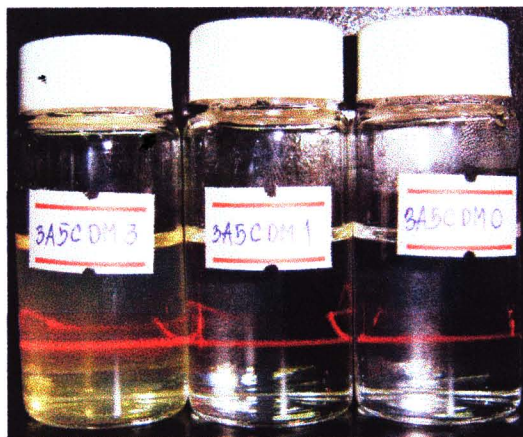
รูปที่ 3-48 ผลของระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.3 (B) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



(A)



(B)

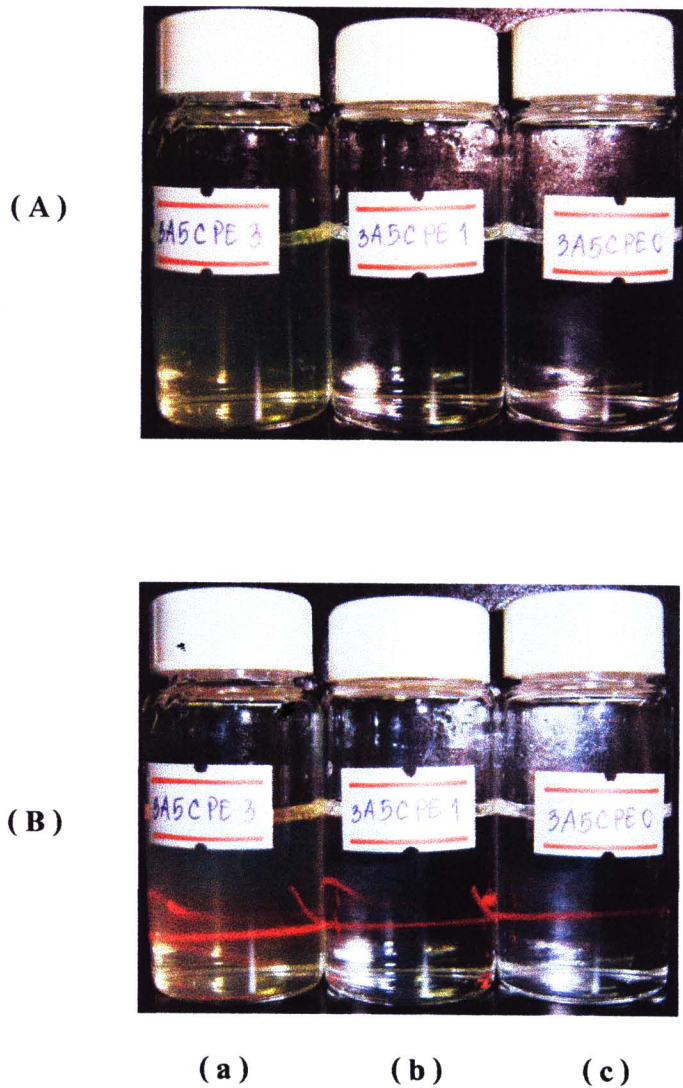


(a)

(b)

(c)

รูปที่ 3-49 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO ที่มองเห็นเมื่อไม่ผ่านแสงเลเซอร์ (A) และเมื่อผ่านแสงเลเซอร์ (B) เมื่อความเข้มข้นของ Quercetin เป็น (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (b) = 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-50 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG ที่มองเห็นเมื่อไม่ผ่านแสงเลเซอร์ (A) และเมื่อผ่านแสงเลเซอร์ (B) เมื่อความเข้มข้นของ Quercetin เป็น (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (b) = 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin

(A)



(B)



(a)

(b)

(c)

รูปที่ 3-51 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG

ที่มองเห็นเมื่อไม่ผ่านแสงเลเซอร์ (A) และเมื่อผ่านแสงเลเซอร์ (B)
 เมื่อความเข้มข้นของ Quercetin เป็น (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร,
 (b) = 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-52 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween ที่มองเห็นเมื่อไม่ผ่านแสงเลเซอร์ (A) และเมื่อผ่านแสงเลเซอร์ (B) เมื่อความเข้มข้นของ Quercetin เป็น (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (b) = 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin

ผลของอัลจินต

ผลการทดลองพบว่าสารละลายอัลจินตมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโนเปล่าและอนุภาคนาโนที่กักเก็บสารสำคัญทั้งต่อขนาดอนุภาค การกระจายของขนาด zeta potential และประสิทธิภาพการกักเก็บ โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะเกิดกับตัวทำละลายทุก ๆ ระบบ ผลการทดลองเตรียมอนุภาคนาโนเปล่าที่ยังไม่ได้เติม Quercetin โดยไม่ใช้ระบบตัวทำละลายใด ๆ นอกเหนือจากน้ำ พบว่าปริมาณอัลจินตที่เพิ่มขึ้นจะทำให้อนุภาคนาโนเปล่ามีขนาดใหญ่ขึ้น มีการกระจายขนาดเพิ่มขึ้น และ zeta potential มีความเป็นลบมากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3-27 และรูปที่ 3-53 เมื่อเปลี่ยนระบบตัวทำละลาย พบว่าอัลจินตยังแสดงอิทธิพลอย่างชัดเจนต่อขนาด การกระจายขนาดและ zeta potential ของอนุภาคนาโนเปล่าในทำนองเดียวกับที่กล่าวข้างต้น ยกเว้นระบบ water-Tween ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ดังแสดงในตารางที่ 3-28 ถึงตารางที่ 3-38 และรูปที่ 3-54 ถึงรูปที่ 3-57 การเติมสารสำคัญลงไปในระบบที่มีสารละลายอัลจินตความเข้มข้นแตกต่างกัน จะมีผลต่อสมบัติของอนุภาคนาโน ทั้งขนาด การกระจายขนาด zeta potential และประสิทธิภาพการกักเก็บ อนุภาคนาโนที่ได้จากการเติมสารสำคัญ 0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นของอัลจินตที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ขนาดของอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น และมีค่า zeta potential เป็นลบมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นกับอนุภาคนาโนที่เตรียมได้จากทุก ๆ ระบบตัวทำละลาย เมื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญเป็น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนยิ่งขึ้นและพบในทุกระบบของตัวทำละลาย คือทำให้อนุภาคมีค่า zeta potential เป็นลบมากขึ้น แต่สมบัติอื่นมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่ไม่เหมือนกัน เช่น การเพิ่มขึ้นของอัลจินตทำให้ขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมจากระบบตัวทำละลาย water-DMSO ลดลง ในขณะที่ขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมจากระบบตัวทำละลาย water-PEG, water-PG, และ water-Tween เพิ่มขึ้น สำหรับประสิทธิภาพของการกักเก็บเมื่อระบบมีสารสำคัญ 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นของอัลจินตที่เพิ่มขึ้นจาก 0.03 % เป็น 0.06 % ทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคที่เตรียมได้จากระบบตัวทำละลาย water-Tween เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จาก 58.70 ± 0.49 % เป็น 88.02 ± 0.21 % ในขณะที่ประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคที่ได้จากระบบตัวทำละลาย water-PG กลับลดลงเล็กน้อยจาก 99.86 ± 0.03 % เป็น 94.50 ± 0.05 % แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในด้านประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้จากระบบตัวทำละลายระบบใด ๆ ที่

มีการเติมสารสำคัญเพียง 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลของอัลจินेटที่ทำให้ zeta potential เป็นลบมากขึ้นจะช่วยป้องกันการเกิด aggregation ทำให้เพิ่มความคงสภาพให้อนุภาคได้ ลักษณะของระบบอนุภาคนาโนที่เตรียมได้มองด้วยตาเปล่าแสดงในรูปที่ 3-58 ถึงรูปที่ 3-65 ซึ่งจะเห็นว่าระบบที่มีขนาดอนุภาคใหญ่จะเห็นลำแสงที่กระเจิงมากกว่า

ตารางที่ 3-27 ผลของอัลจินेटต่ออนุภาคที่ไม่มี Quercetin

สมบัติของอนุภาคนาโน	ความเข้มข้นของอัลจินेट	
	0.03 %	0.06 %
Particle Size (nm)	235.7 ± 6.2	373.2 ± 35.3
PDI	0.265 ± 0.006	0.472 ± 0.037
Zeta Potential	-32.10 ± 1.00	-38.10 ± 0.68

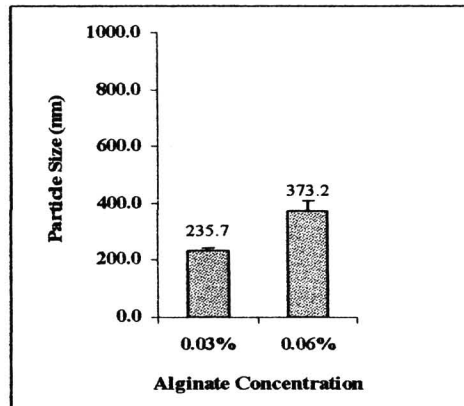
ตารางที่ 3-28 ผลของอัลจินेटและระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin

ระบบตัวทำละลาย	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	
	อัลจินेट 0.03 %	อัลจินेट 0.06 %
Water	235.7 ± 6.2	373.2 ± 35.3
Water-DMSO	258.0 ± 2.9	421.2 ± 8.6
Water-PEG	276.6 ± 6.1	385.8 ± 6.9
Water-PG	270.6 ± 6.3	389.2 ± 7.1
Water-Tween	35.0 ± 2.3	33.2 ± 2.5

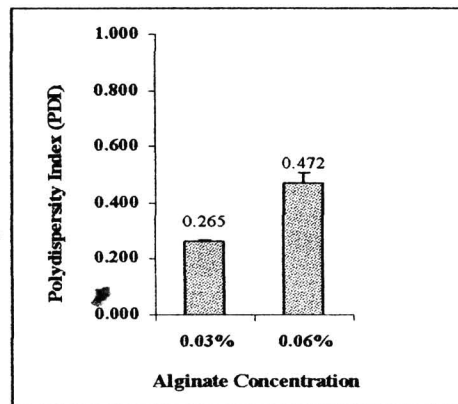
ตารางที่ 3-29 ผลของอัลจินेटและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin

ระบบตัวทำละลาย	Polydispersity Index	
	อัลจินेट 0.03 %	อัลจินेट 0.06 %
Water	0.265 ± 0.006	0.472 ± 0.037
Water-DMSO	0.275 ± 0.008	0.464 ± 0.028
Water-PEG	0.277 ± 0.021	0.368 ± 0.050
Water-PG	0.283 ± 0.035	0.464 ± 0.021
Water-Tween	0.948 ± 0.031	0.903 ± 0.019

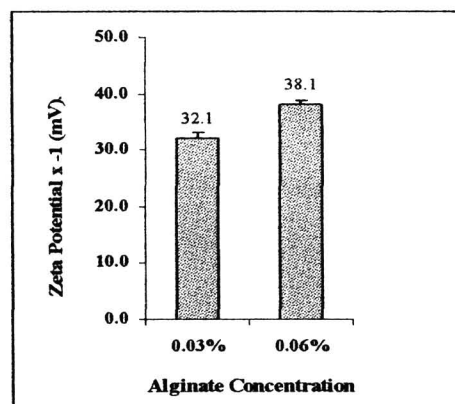
(A)



(B)



(C)



รูปที่ 3-53 ผลของอัลจินตต่อสมบัติของอนุภาคปลาเมือใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 3-30 ผลของอัลจินตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin

ระบบตัวทำละลาย	Zeta potential (mV)	
	อัลจินต 0.03 %	อัลจินต 0.06 %
Water	-32.10 ± 1.00	-38.10 ± 0.68
Water-DMSO	-27.80 ± 0.70	-37.10 ± 0.90
Water-PEG	-27.80 ± 0.66	-32.70 ± 2.20
Water-PG	-27.80 ± 0.66	-36.10 ± 1.30
Water-Tween	-25.10 ± 1.48	-25.60 ± 2.80

ตารางที่ 3-31 ผลของอัลจินตและระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	
	อัลจินต 0.03 %	อัลจินต 0.06 %
Water-DMSO	289.0 ± 62.2	364.6 ± 13.8
Water-PEG	301.2 ± 11.1	426.6 ± 28.8
Water-PG	288.1 ± 1.8	399.5 ± 14.7
Water-Tween	35.1 ± 0.2	42.4 ± 6.3

ตารางที่ 3-32 ผลของอัลจินตและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	Polydispersity Index	
	อัลจินต 0.03 %	อัลจินต 0.06 %
Water-DMSO	0.502 ± 0.057	0.470 ± 0.040
Water-PEG	0.332 ± 0.050	0.454 ± 0.028
Water-PG	0.321 ± 0.028	0.456 ± 0.011
Water-Tween	0.863 ± 0.006	0.840 ± 0.055

ตารางที่ 3-33 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	Zeta potential (mV)	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	-30.10 ± 1.15	-37.70 ± 0.38
Water-PEG	-27.70 ± 1.12	-34.00 ± 1.51
Water-PG	-28.20 ± 0.80	-33.90 ± 2.47
Water-Tween	-23.80 ± 0.28	-29.10 ± 1.10

ตารางที่ 3-34 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บ ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	ประสิทธิภาพการกักเก็บ (%)	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	99.53 ± 0.08	99.64 ± 0.20
Water-PEG	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
Water-PG	100.00 ± 0.00	99.85 ± 0.04
Water-Tween	96.12 ± 0.47	93.16 ± 1.14

ตารางที่ 3-35 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อขนาด ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	749.1 ± 121.5	576.7 ± 38.3
Water-PEG	344.3 ± 13.8	373.6 ± 10.9
Water-PG	1440.0 ± 378.3	1659.0 ± 173.6
Water-Tween	34.6 ± 1.8	40.1 ± 3.3

ตารางที่ 3-36 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาด
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

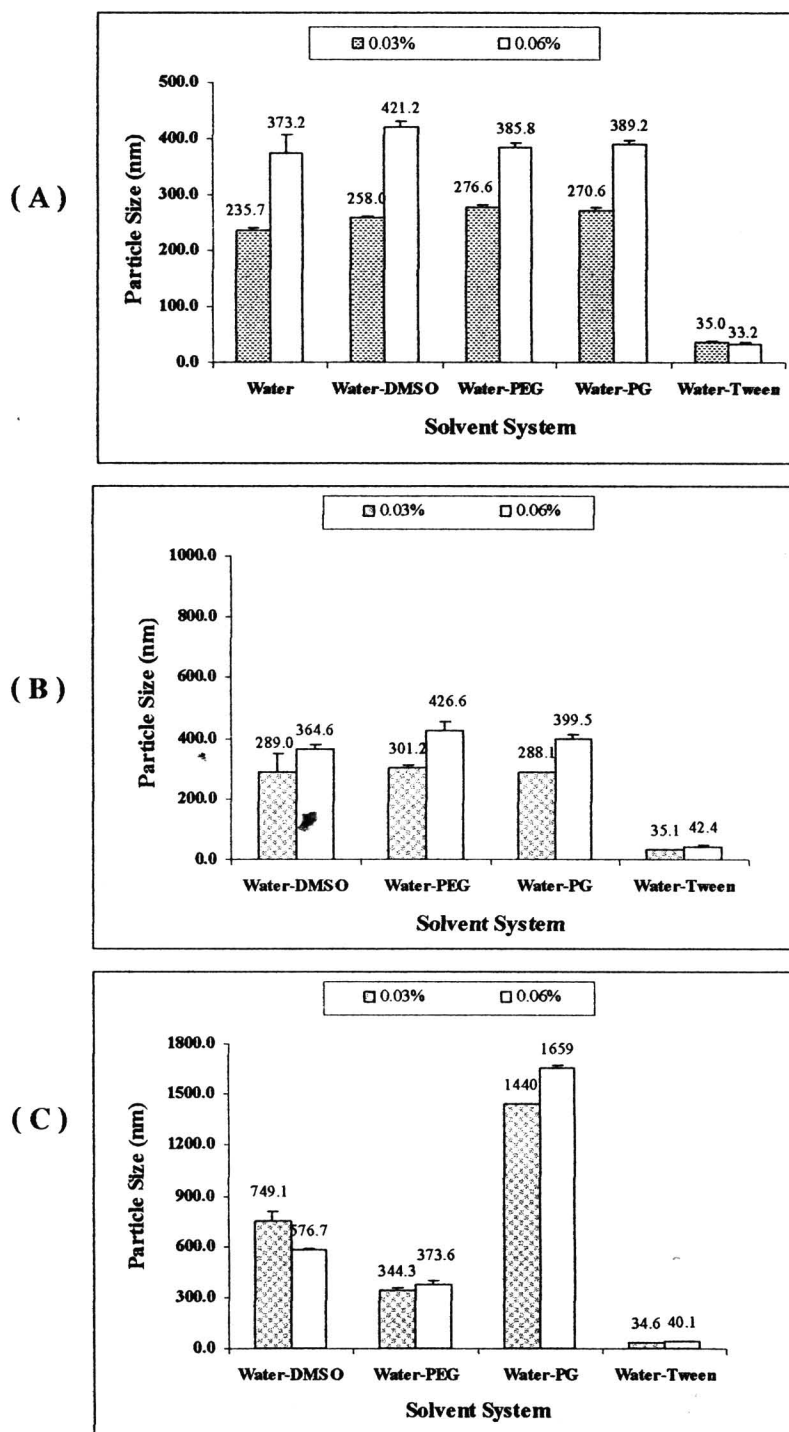
ระบบตัวทำละลาย	Polydispersity Index (PDI)	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	0.731 ± 0.242	0.645 ± 0.161
Water-PEG	0.361 ± 0.065	0.412 ± 0.025
Water-PG	0.888 ± 0.113	0.900 ± 0.057
Water-Tween	0.894 ± 0.044	0.913 ± 0.036

ตารางที่ 3-37 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	Zeta potential (mV)	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	-31.20 ± 1.31	-38.30 ± 0.98
Water-PEG	-28.50 ± 0.84	-32.90 ± 1.59
Water-PG	-28.80 ± 0.94	-33.50 ± 0.94
Water-Tween	-25.00 ± 1.28	-31.20 ± 0.23

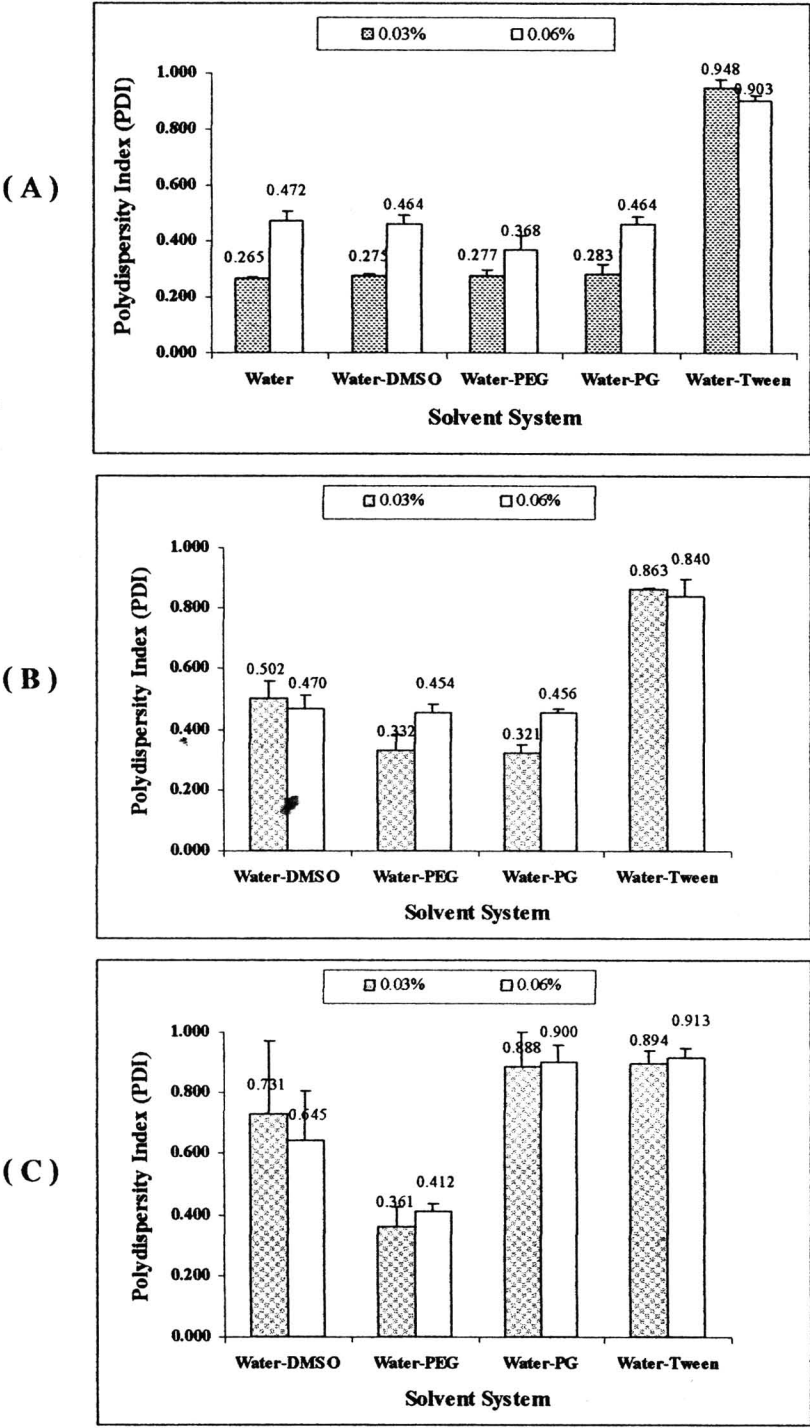
ตารางที่ 3-38 ผลของอัลจินเตและระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บ
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย	ประสิทธิภาพการกักเก็บ	
	อัลจินเต 0.03 %	อัลจินเต 0.06 %
Water-DMSO	99.83 ± 0.02	99.57 ± 0.01
Water-PEG	99.90 ± 0.02	100.00 ± 0.00
Water-PG	99.86 ± 0.03	94.50 ± 0.05
Water-Tween	58.70 ± 0.49	88.02 ± 0.21

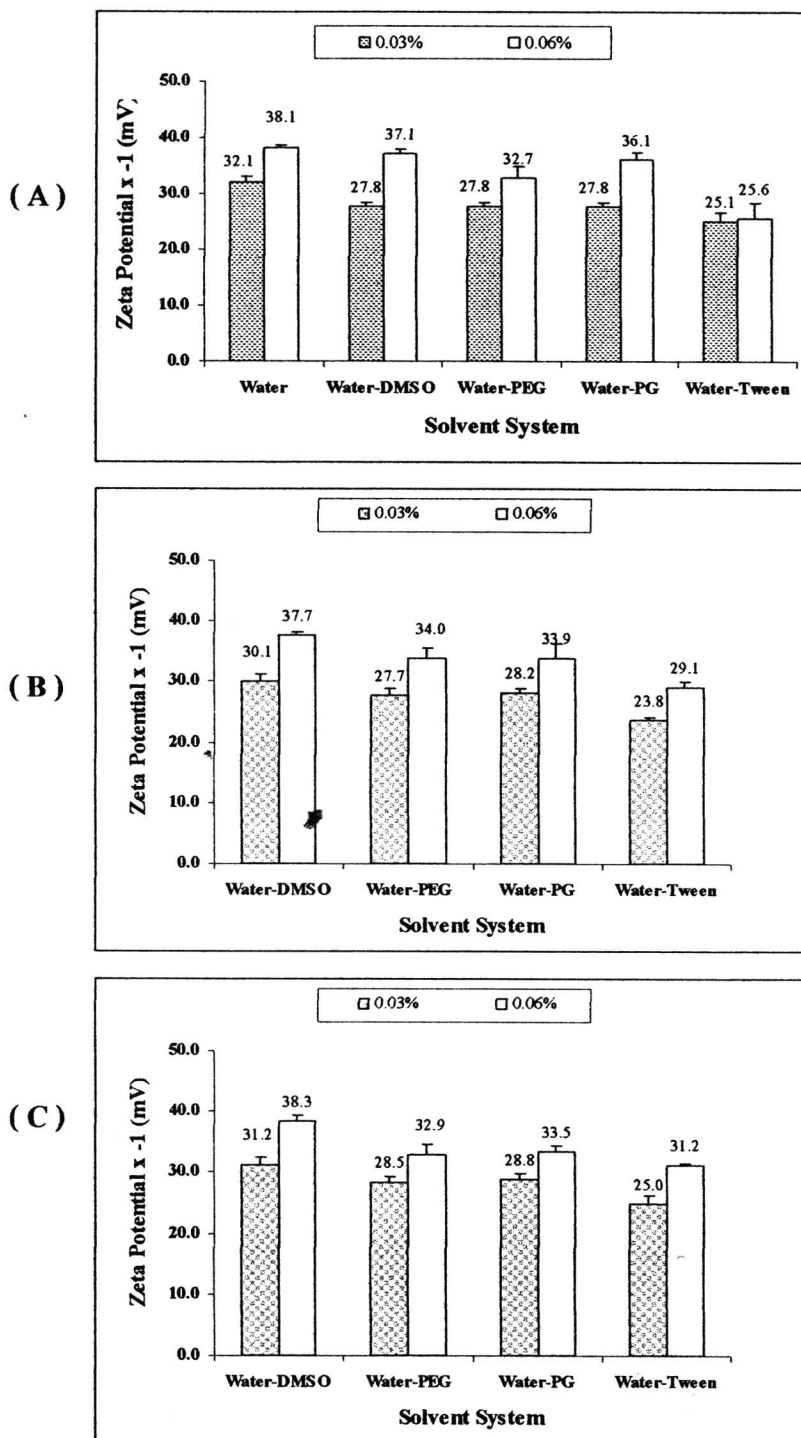


รูปที่ 3-54 ผลของอัลจินตต่อขนาดของอนุภาค

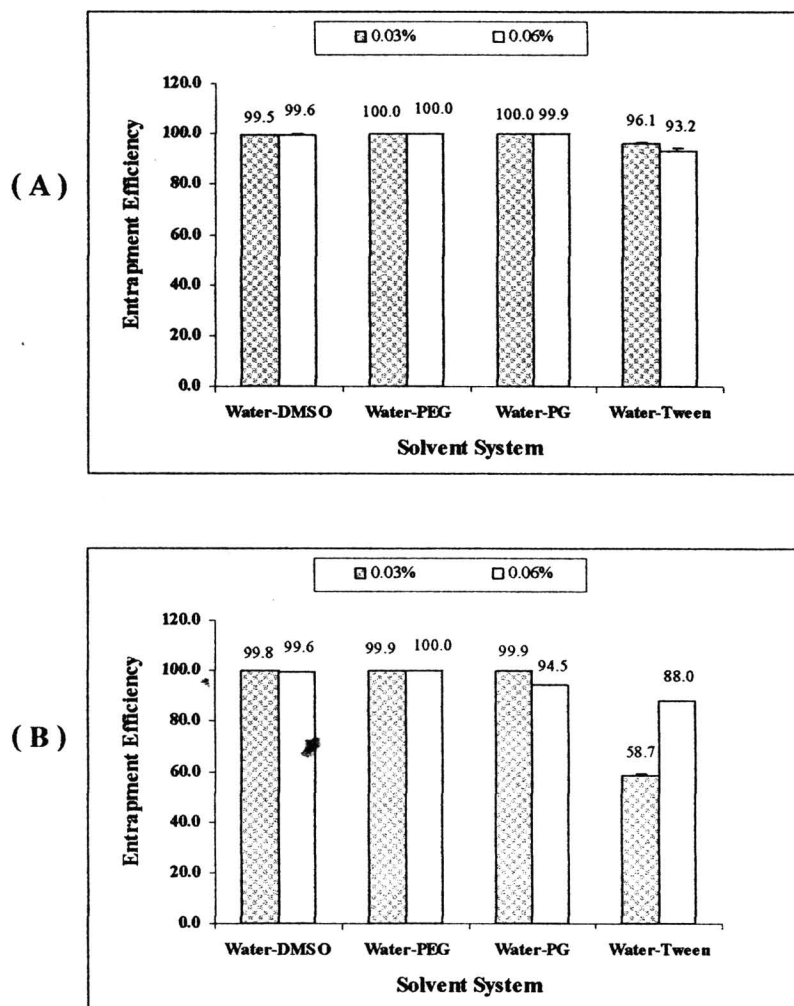
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



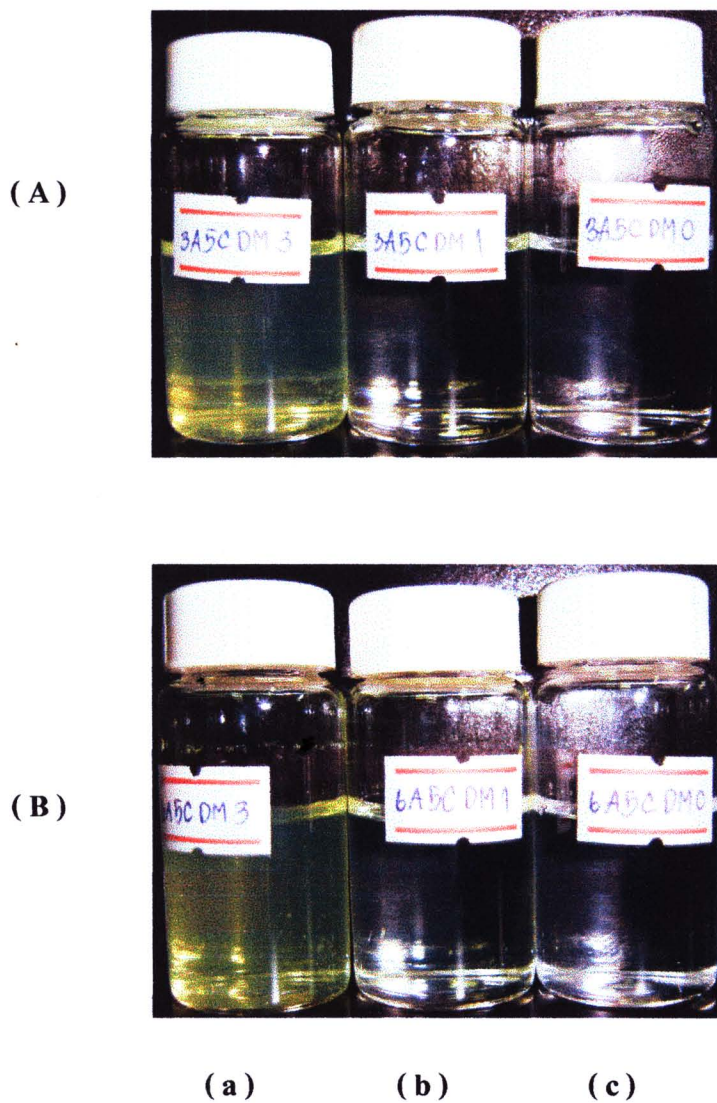
รูปที่ 3-55 ผลของอัลจินตต่อการกระจายขนาดของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



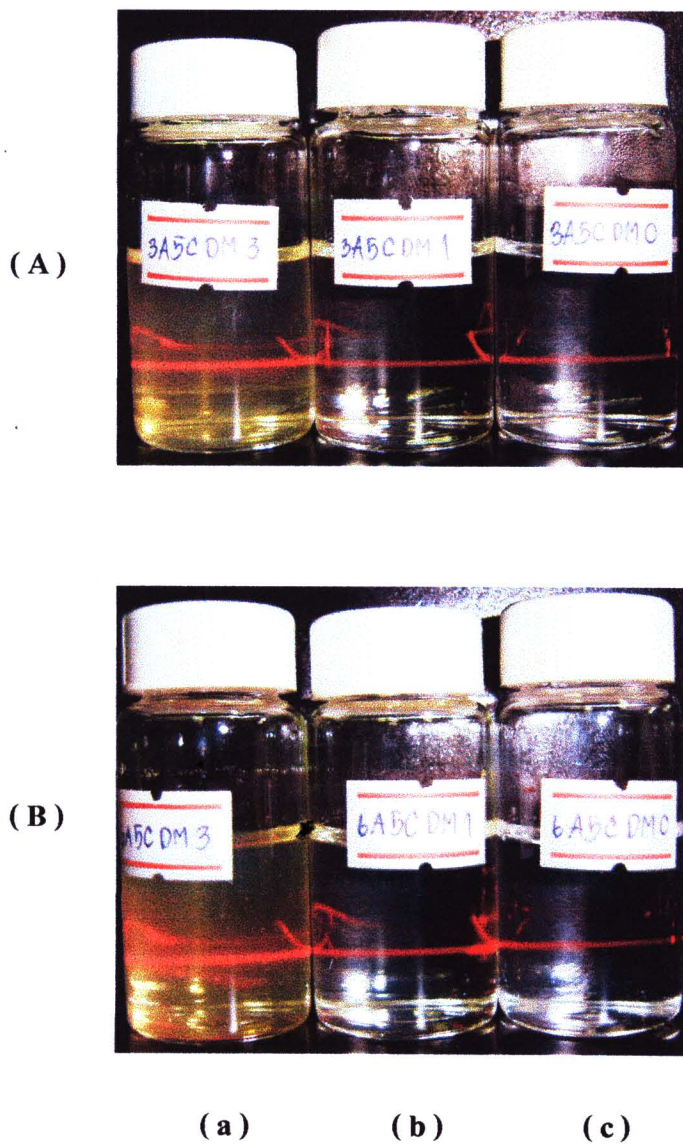
รูปที่ 3-56 ผลของอัลจินเตตต่อ Zeta Potential ของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.0 (A), 0.1 (B), 0.3 (C) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



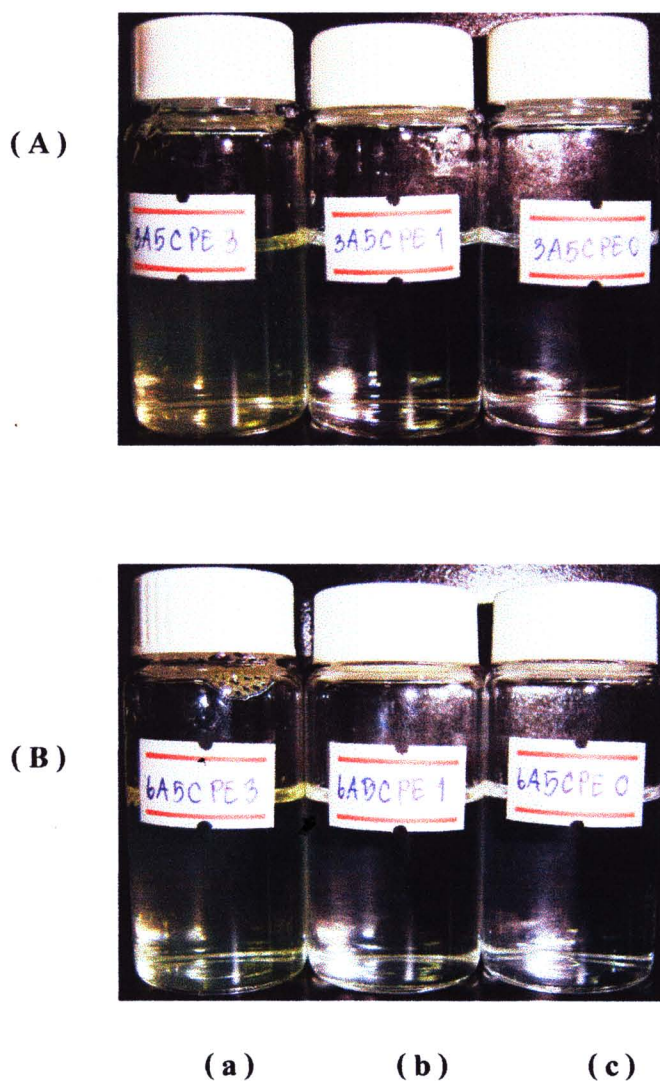
รูปที่ 3-57 ผลของอัลจินตต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค
เมื่อเติม Quercetin ปริมาณ 0.1 (A), 0.3 (B) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



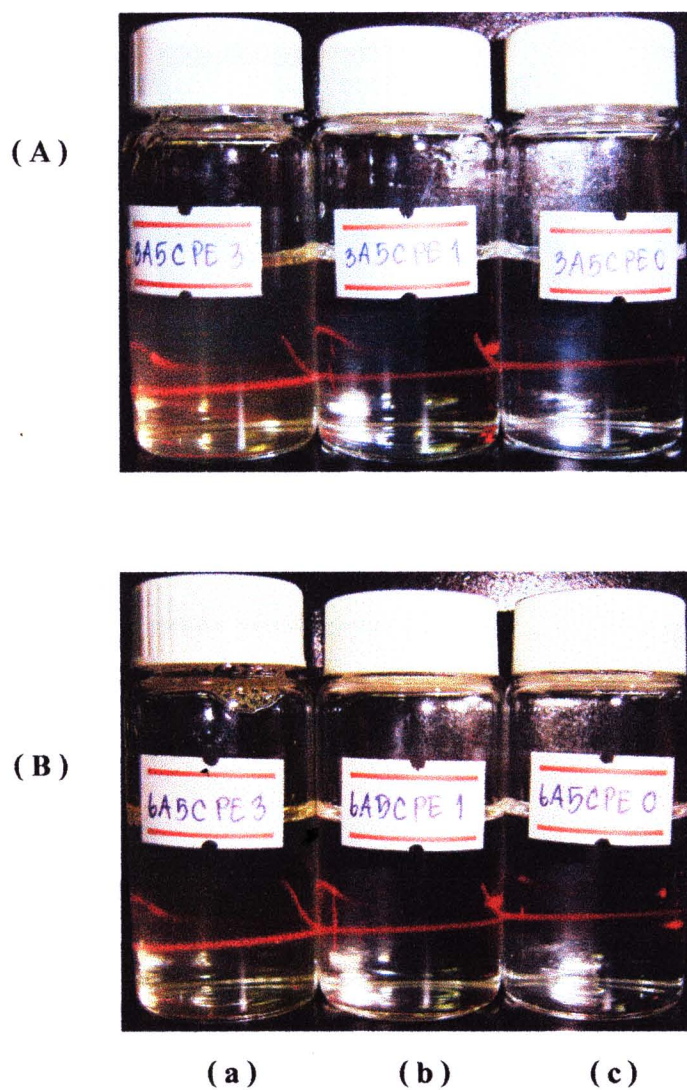
รูปที่ 3-58 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO เมื่อไม่ผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจินต 0.03 % และ (B) = อัลจินต 0.06 %
 ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
 (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-59 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO เมื่อผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 % ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-60 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG เมื่อไม่ผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 %
 ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
 (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-61 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG เมื่อผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 % ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



(A)



(B)

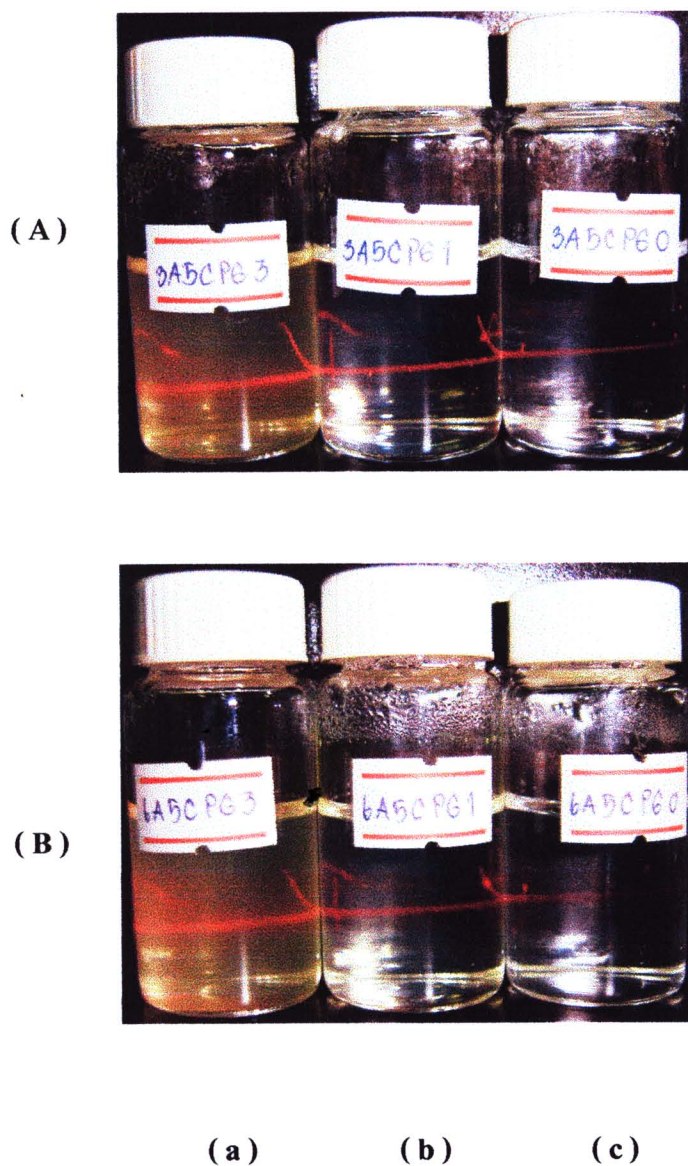


(a)

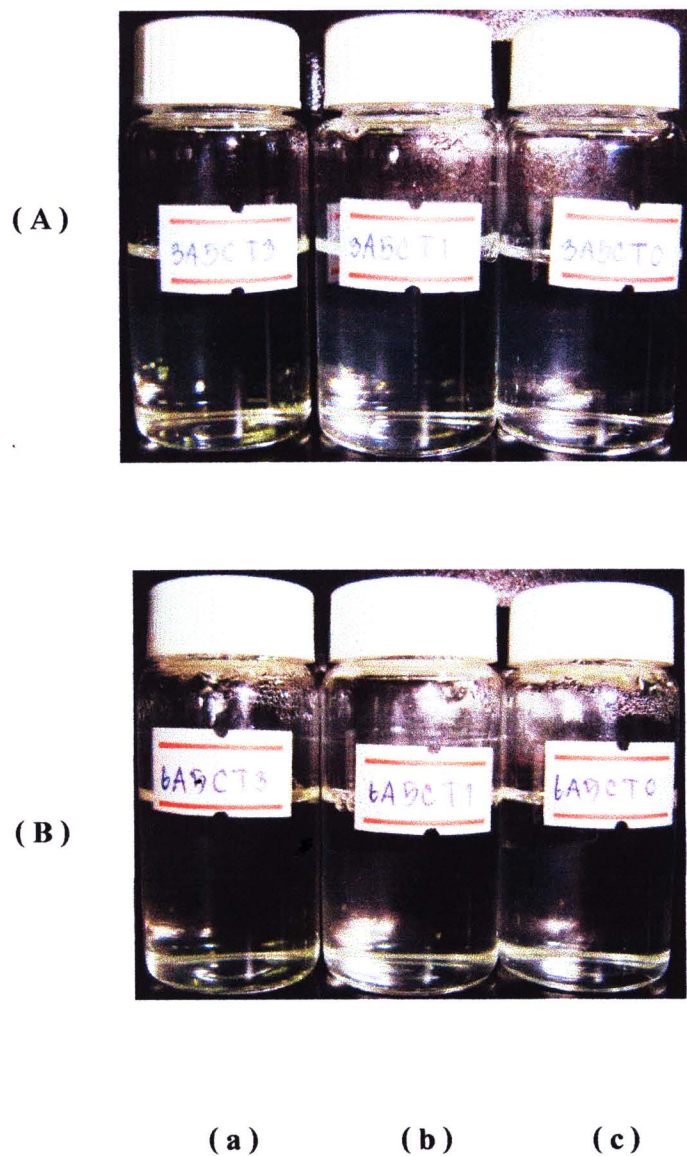
(b)

(c)

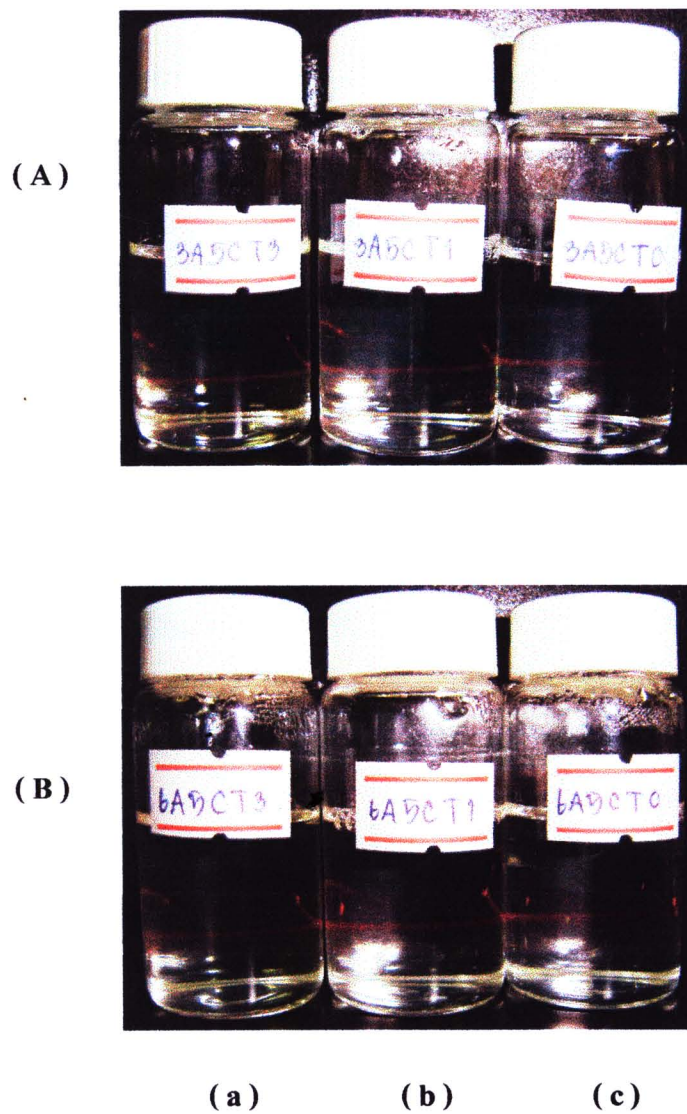
รูปที่ 3-62 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG เมื่อไม่ผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 %
 ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
 (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-63 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG เมื่อผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 % ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-64 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween เมื่อไม่ผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 %
 ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
 (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin



รูปที่ 3-65 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween เมื่อผ่านลำแสง โดยที่ (A) = อัลจิเนต 0.03 % และ (B) = อัลจิเนต 0.06 % ปริมาณ Quercetin เรียงจากมากไปน้อยคือ (a) = 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (b) = 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, (c) = ไม่มี Quercetin

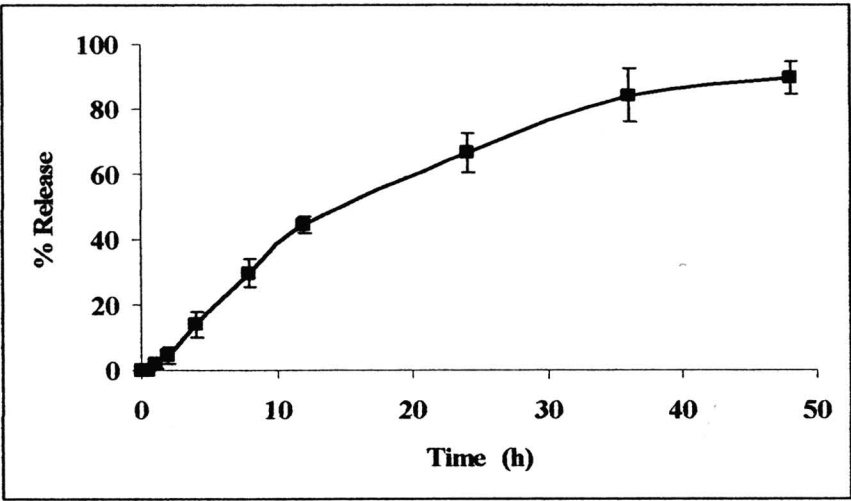
การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ

ในขั้นตอนนี้ได้เริ่มจากการศึกษาพฤติกรรมการละลายของสารสำคัญคือ Quercetin ในเวลาต่าง ๆ เพื่อใช้เปรียบเทียบกับที่เมื่อถูกกักเก็บในอนุภาคนาโน ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3-39 และรูปที่ 3-66 สำหรับผลการละลายของสารสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนโคโดซานชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นการแสดงถึงความสามารถในการปลดปล่อยสารออกจากอนุภาคนั้น แสดงในตารางที่ 3-40 และรูปที่ 3-67 ผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนโคโดซานแต่ละชนิด สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ในระดับที่แตกต่างกัน และเป็นการปลดปล่อยอย่างช้า ๆ เมื่อเทียบกับการละลายของสารสำคัญเมื่อไม่ถูกกักเก็บในอนุภาค ดังเช่น ภายในเวลา 1 ชั่วโมง สารสำคัญสามารถละลายได้ $2.1 \pm 1.6\%$ ในขณะที่สารนี้ถูกปลดปล่อยออกมาจากอนุภาคนาโนโคโดซานแต่ละชนิดไม่เกิน 0.5% หากเปรียบเทียบในกลุ่มอนุภาคนาโน พบว่าอนุภาคนาโนที่ได้จากโคโดซาน ชนิด CS#1 สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากที่สุด ซึ่งจะเห็นผลของความแตกต่างนี้ชัดเจนยิ่งขึ้นเมื่อทิ้งช่วงให้เกิดการปลดปล่อยนานขึ้น เช่น ภายใน 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง พบว่าสารสำคัญที่ไม่ถูกกักเก็บละลายออกมาได้ $44.4 \pm 2.6\%$ และ $89.5 \pm 5.1\%$ ตามลำดับ และที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนโคโดซานชนิด CS#1 ซึ่งเป็นโคโดซานที่มี MW 15000 และ DA 95% จะถูกปลดปล่อยออกมา $42.8 \pm 3.5\%$ และ $54.9 \pm 4.2\%$ ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคนาโนจากโคโดซานชนิดอื่นปลดปล่อยสารสำคัญได้น้อยกว่านี้ และที่ปลดปล่อยสารได้น้อยที่สุดคืออนุภาคนาโนจากโคโดซานชนิด CS#4 ซึ่งเป็นโคโดซานที่มี MW 45000 และ DA 85% โดยพบว่าอนุภาคนาโนจากโคโดซานชนิดนี้ไม่สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้เลยภายในชั่วโมงแรก และภายใน 2 ชั่วโมง สารที่ถูกกักเก็บสามารถละลายออกมาได้เพียง $0.1 \pm 0.3\%$ เท่านั้น และเมื่อทิ้งไว้ให้มีเวลาปลดปล่อยสารนานถึง 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าสามารถปลดปล่อยสารออกมาได้เพียง $13.9 \pm 1.5\%$ และ $32.0 \pm 3.0\%$ ตามลำดับเท่านั้น

อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้พอสรุปได้ว่าความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญของอนุภาคนาโนโคโดซานขึ้นกับ MW และ DA ของโคโดซาน พบว่าโคโดซานที่มี MW ต่ำ สามารถปลดปล่อยตัวยาได้เร็วกว่าที่มี MW สูง และโคโดซานที่มี DA สูง สามารถปลดปล่อยตัวยาได้เร็วกว่าที่มี DA ต่ำ

ตารางที่ 3-39 พฤติกรรมการละลายของ Quercetin ในเวลาต่าง ๆ

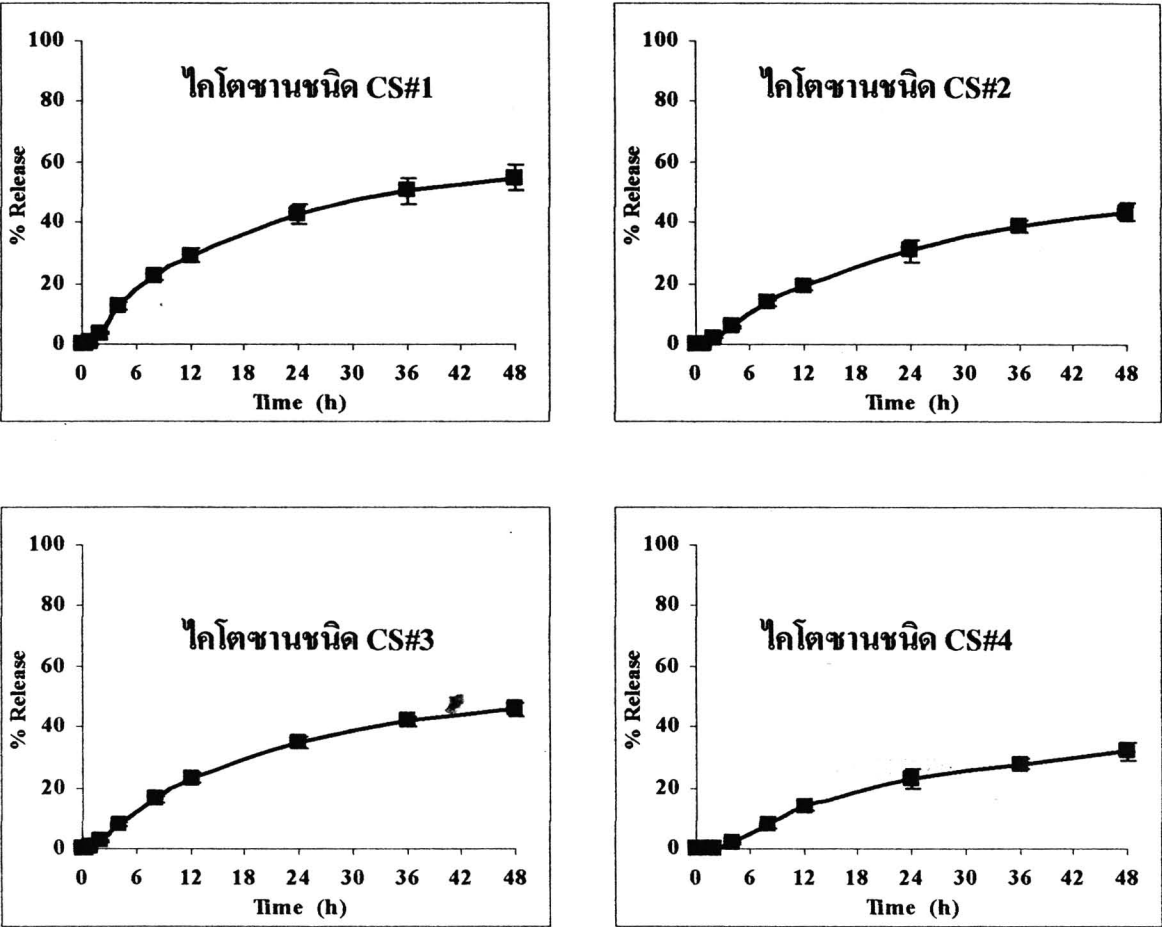
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ Quercetin ที่ละลายออกมา (%)
0.0	0.0 ± 0.0
0.5	0.1 ± 0.1
1.0	2.1 ± 1.6
2.0	4.5 ± 2.7
4.0	14.0 ± 3.9
8.0	29.7 ± 4.1
12.0	44.4 ± 2.6
24.0	66.5 ± 6.0
36.0	84.2 ± 8.4
48.0	89.5 ± 5.1



รูปที่ 3-66 พฤติกรรมการละลายของ Quercetin ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-40 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกจากอนุภาคนิวเคลียสต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกมา (%)			
	CS#1	CS#2	CS#3	CS#4
0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
0.5	0.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1.0	0.4 ± 0.7	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.0 ± 0.1
2.0	3.6 ± 0.6	2.0 ± 0.3	2.5 ± 0.3	0.1 ± 0.3
4.0	12.3 ± 1.2	5.7 ± 0.4	7.8 ± 0.6	1.9 ± 0.4
8.0	22.5 ± 1.7	13.5 ± 1.2	16.3 ± 0.9	8.1 ± 1.2
12.0	29.2 ± 2.1	19.4 ± 1.5	23.3 ± 1.4	13.9 ± 1.5
24.0	42.8 ± 3.5	30.7 ± 3.4	34.7 ± 2.0	23.0 ± 3.4
36.0	50.5 ± 4.4	38.7 ± 1.9	42.0 ± 1.7	27.9 ± 1.9
48.0	54.9 ± 4.2	43.5 ± 3.0	45.8 ± 2.1	32.0 ± 3.0



รูปที่ 3-67 พฤติกรรมการปลดปล่อย Quercetin ออกจากอนุภาคชนิดต่าง ๆ

การศึกษาความคงตัว

จากการศึกษาความคงตัว พบว่า Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคนาโนมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่อเก็บในที่ถูกแสง ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3-41 ถึงตารางที่ 3-42 และรูปที่ 3-68 จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่านอกจากแสงจะเป็นตัวเร่งการสลายตัวของ Quercetin แล้ว ความร้อนหรืออุณหภูมิที่สูงขึ้นก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่เร่งการสลายตัวของ Quercetin ได้ โดยจะเห็นว่า Quercetin ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิเย็น (4 องศาเซลเซียส) มีการสลายตัวช้ากว่าที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่สูงขึ้น เช่นที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยที่ Quercetin ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วภายใน 1 สัปดาห์ โดยการสลายตัวดังกล่าวไม่พบความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างการเก็บไว้ที่ถูกแสงและไม่ถูกแสง ส่วนการเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจะเห็นผลของแสงที่มีต่อการสลายตัวของ Quercetin มากขึ้น เช่นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรือที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่า Quercetin ที่เก็บในที่ไม่ถูกแสงจะมีปริมาณที่เหลืออยู่มากกว่าเมื่อเก็บในที่ถูกแสง และพบว่าการเก็บ Quercetin ในที่ไม่ถูกแสงจะสามารถเก็บได้นานกว่าในที่ถูกแสง

เมื่อนำ Quercetin มากักเก็บไว้ในอนุภาคนาโนไคโตซาน พบว่า Quercetin มีการสลายตัวลดลง ดังจะเห็นว่า Quercetin ที่เหลืออยู่ในอนุภาคนาโนไคโตซานแต่ละชนิดมีปริมาณมากกว่า Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคนาโนไคโตซาน เมื่อเก็บไว้ในสภาวะเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-43 ถึงตารางที่ 3-50 และรูปที่ 3-69 ถึงรูปที่ 3-74 จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่าแสงและความร้อน ยังคงเป็นปัจจัยสำคัญในการสลายตัวของ Quercetin ที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคนาโนไคโตซาน ทำนองเดียวกับที่ไม่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคนาโน กล่าวคือ แสงและอุณหภูมิสูงจะเร่งการสลายตัวของ Quercetin ที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคนาโนไคโตซานด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนไคโตซานสามารถป้องกันการสลายตัวของ Quercetin ได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการพิจารณา Degradation profile ของ Quercetin ที่ถูกกักเก็บและไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนจากรูปที่ 3-69 ถึงรูปที่ 3-74 จะเห็นว่าการลดลงของ Quercetin มีลักษณะเป็น exponential curve ทำให้พิจารณาได้ว่า Quercetin น่าจะมี Degradation kinetic เป็นแบบ First order ดังสมการต่อไปนี้

$$\ln [A_t] = \ln [A_0] - kt$$

เมื่อ	A_0	หมายถึงปริมาณ Quercetin เมื่อเวลาเริ่มต้น
	A_t	หมายถึงปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่เมื่อเวลา t
	k	หมายถึง Degradation rate constant
	t	หมายถึง ระยะเวลาที่เก็บ (ในที่นี้มีหน่วยเป็นสัปดาห์)

สมการดังกล่าวข้างต้นเป็นสมการเส้นตรง เมื่อ plot ระหว่างค่า $\ln [A_t]$ และ t จะได้ slope มีค่าเท่ากับค่า k และ intercept เท่ากับ $\ln [A_0]$ ดังนั้นหากการสลายตัวของ Quercetin เป็นแบบ First order degradation จริง เมื่อนำค่า $\ln$ ของปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบเมื่อเวลาใด ๆ มา plot กับเวลานั้น ๆ ก็ควรจะได้กราฟเส้นตรงด้วย จากผลการทดลองนำค่า $\ln$ ของปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มา plot กับระยะเวลาที่เก็บ พบว่าได้กราฟเป็นเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 3-75 ถึงรูปที่ 3-76 ที่มีค่า correlation coefficient เข้าใกล้ 1.0 และมีสมการเส้นตรง ดังแสดงในตารางที่ 3-51 ถึงตารางที่ 3-52 และจากสมการเส้นตรงดังกล่าว ทำให้ทราบค่า Degradation rate constant ของ Quercetin ที่ถูกกักเก็บและไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซาน ซึ่งค่าที่ได้แสดงในตารางที่ 3-53 ถึงตารางที่ 3-54 ค่า Degradation rate constant นี้จะแสดงถึงอัตราเร็วของการสลายตัวของ Quercetin ซึ่งหากค่านี้สูงก็แสดงว่ามีการสลายตัวเร็ว ในทำนองกลับกันหากค่านี้ต่ำแสดงว่ามีการสลายตัวช้า จากผลการทดลองในตารางดังกล่าวจะเห็นว่า Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซานมีค่า Degradation rate constant ต่ำกว่าที่ไม่กักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าอนุภาคนาโนไคโตซานสามารถปกป้อง Quercetin ให้มีความคงตัวเพิ่มมากขึ้นได้ หากเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพิ่มความคงตัวของ Quercetin พบว่าอนุภาคนาโนไคโตซานชนิด CS#4 คือที่มี MW 45000 และ DA 85% มีประสิทธิภาพมากที่สุด

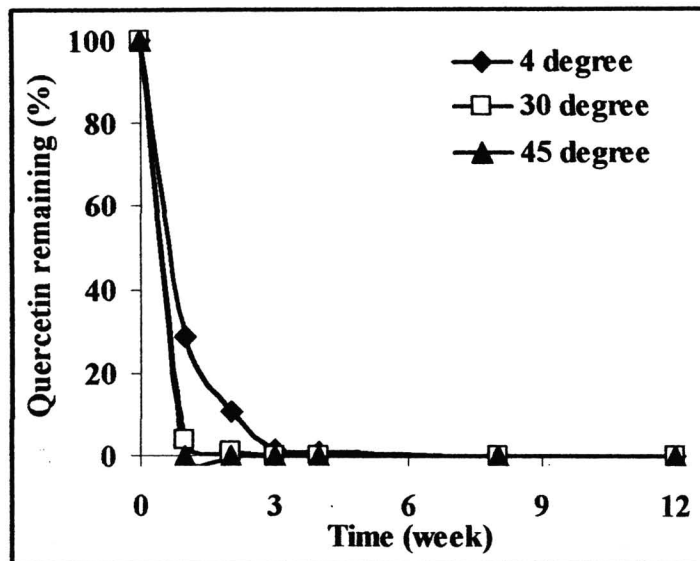
ตารางที่ 3-41 ปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาค ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บในที่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	28.50 ± 0.22	3.94 ± 0.22	0.00 ± 0.00
2	10.70 ± 0.04	0.98 ± 0.04	0.00 ± 0.00
3	1.32 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	0.90 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	0.00 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

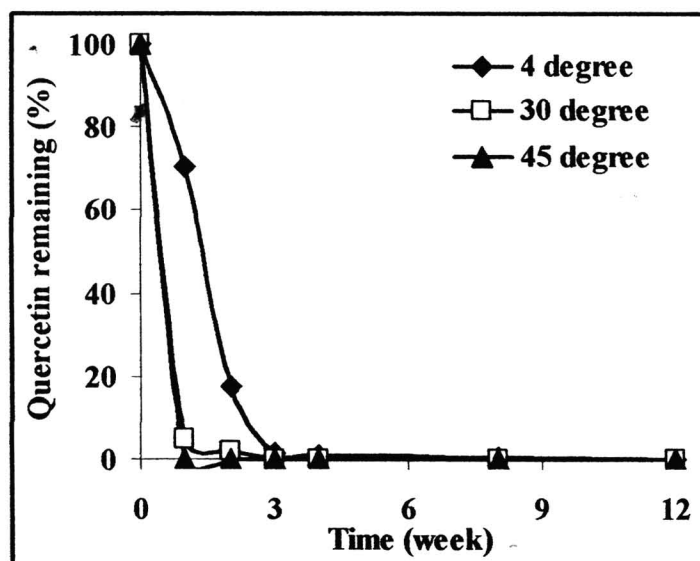
ตารางที่ 3-42 แสดงปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาค ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บในที่ที่ไม่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	70.25 ± 1.63	5.10 ± 0.60	0.00 ± 0.00
2	17.71 ± 0.12	1.98 ± 0.24	0.00 ± 0.00
3	1.32 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	0.90 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	0.65 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

(A)



(B)



รูปที่ 3-68 ปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บที่เหลือน้อยอยู่ในเวลาต่าง ๆ

(A) = เมื่อเก็บในที่ถูกแสง (B) = เมื่อเก็บในที่มืด

ตารางที่ 3-43 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#1
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	78.19 ± 1.15	21.87 ± 0.35	0.82 ± 0.24
2	66.72 ± 0.17	0.98 ± 0.07	0.00 ± 0.00
3	31.89 ± 0.67	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	27.99 ± 0.23	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	22.06 ± 0.33	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	12.30 ± 0.19	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-44 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#1
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	89.21 ± 1.03	70.57 ± 0.57	2.59 ± 0.47
2	84.58 ± 0.71	3.40 ± 0.24	1.64 ± 0.05
3	59.22 ± 2.52	2.39 ± 0.45	0.86 ± 0.27
4	51.03 ± 0.37	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	27.28 ± 0.21	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	26.00 ± 0.17	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-45 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#2
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	79.73 ± 2.41	24.71 ± 0.63	2.21 ± 0.60
2	48.25 ± 0.32	0.98 ± 0.17	0.00 ± 0.00
3	31.44 ± 0.23	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	28.05 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	20.69 ± 0.07	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	14.09 ± 0.11	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-46 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#2
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	78.59 ± 0.94	72.75 ± 1.88	4.98 ± 0.17
2	76.06 ± 0.91	6.54 ± 0.19	2.36 ± 0.11
3	64.74 ± 0.91	2.85 ± 0.14	1.15 ± 0.42
4	37.14 ± 0.79	0.29 ± 0.08	0.00 ± 0.00
8	33.94 ± 0.36	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	25.86 ± 0.28	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-47 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#3
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง

เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	90.30 ± 1.01	33.48 ± 1.84	4.09 ± 0.15
2	83.13 ± 0.51	0.98 ± 0.19	0.69 ± 0.38
3	25.45 ± 0.20	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	17.19 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	17.19 ± 0.17	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	13.20 ± 0.10	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-48 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#3
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง

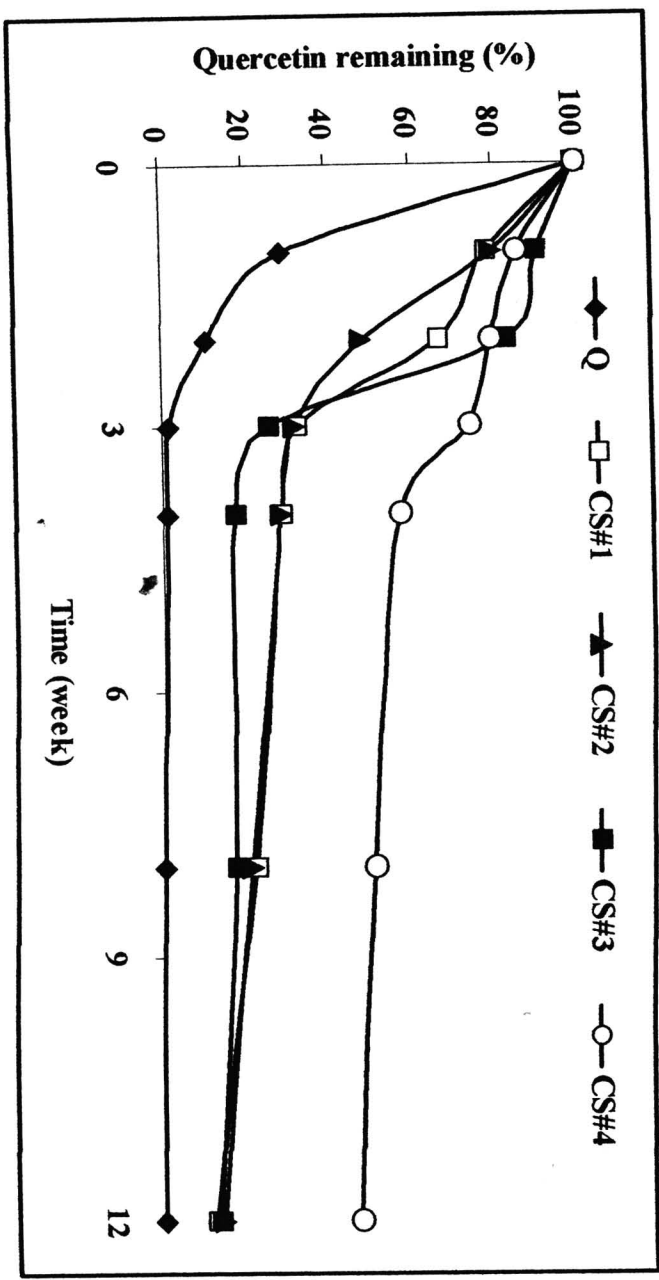
เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	95.55 ± 1.10	93.57 ± 5.95	4.88 ± 0.39
2	82.27 ± 1.15	10.27 ± 1.02	2.73 ± 0.68
3	59.34 ± 0.88	3.35 ± 0.11	1.38 ± 0.39
4	48.02 ± 0.35	0.60 ± 0.17	0.00 ± 0.00
8	45.03 ± 0.55	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	40.50 ± 4.79	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-49 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#4
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง

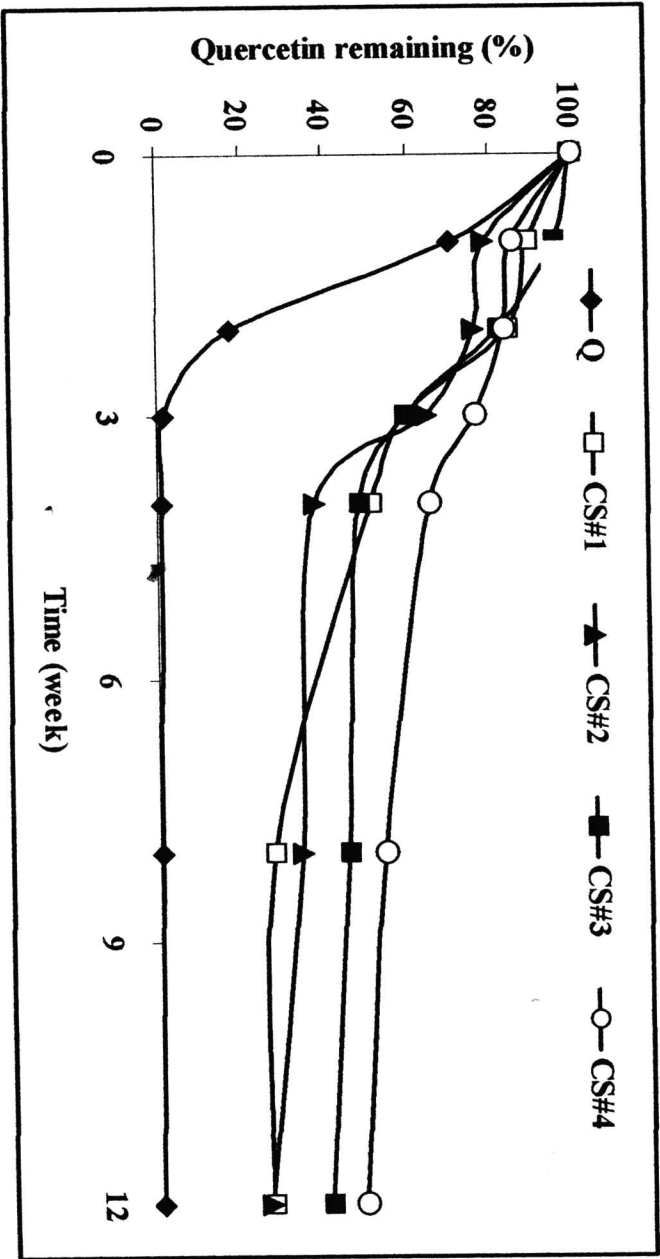
เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	85.31 ± 5.65	51.80 ± 0.66	4.76 ± 0.24
2	78.97 ± 2.64	0.98 ± 0.21	1.23 ± 0.07
3	73.76 ± 7.16	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
4	56.63 ± 3.53	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	50.38 ± 5.96	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	47.11 ± 2.97	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 3-50 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#4
ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง

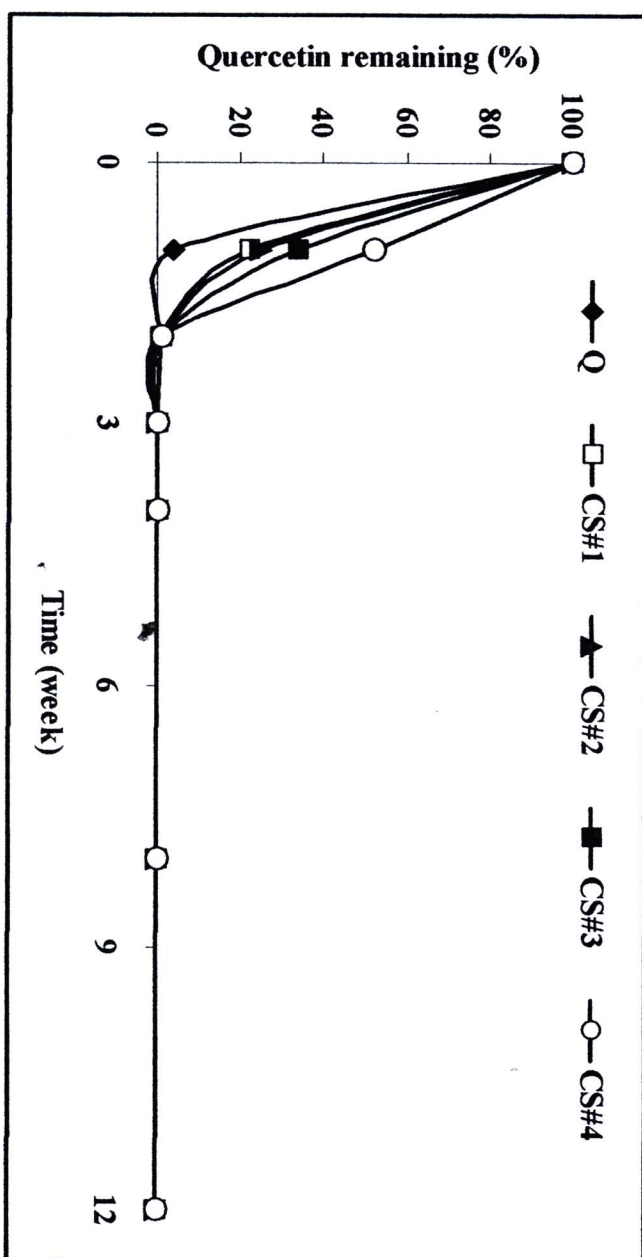
เวลา (สัปดาห์)	ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ในระบบ (%)		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	4	30	45
0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
1	85.62 ± 11.63	96.16 ± 3.08	5.75 ± 0.46
2	83.61 ± 13.15	19.97 ± 0.87	3.44 ± 0.64
3	76.29 ± 4.88	4.96 ± 0.19	1.88 ± 0.40
4	64.86 ± 2.75	2.64 ± 0.04	0.00 ± 0.00
8	53.78 ± 3.69	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
12	48.57 ± 5.55	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00



รูปที่ 3-69 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในโคโตนาน

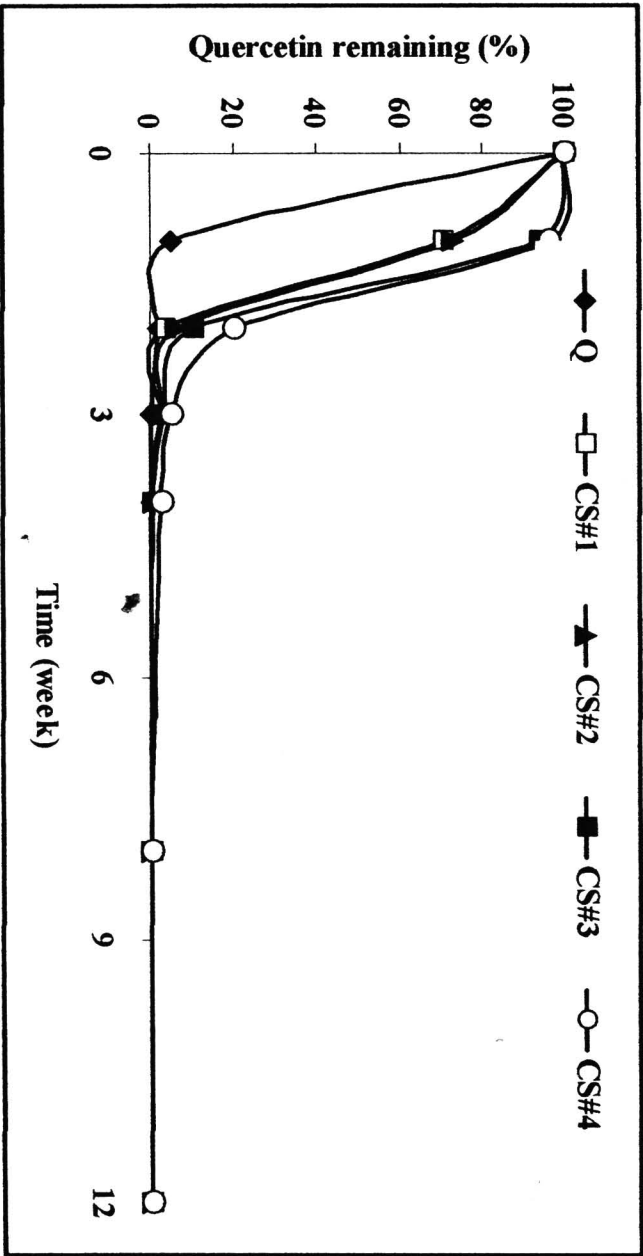


รูปที่ 3-70 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่กักเก็บในไคโตซาน

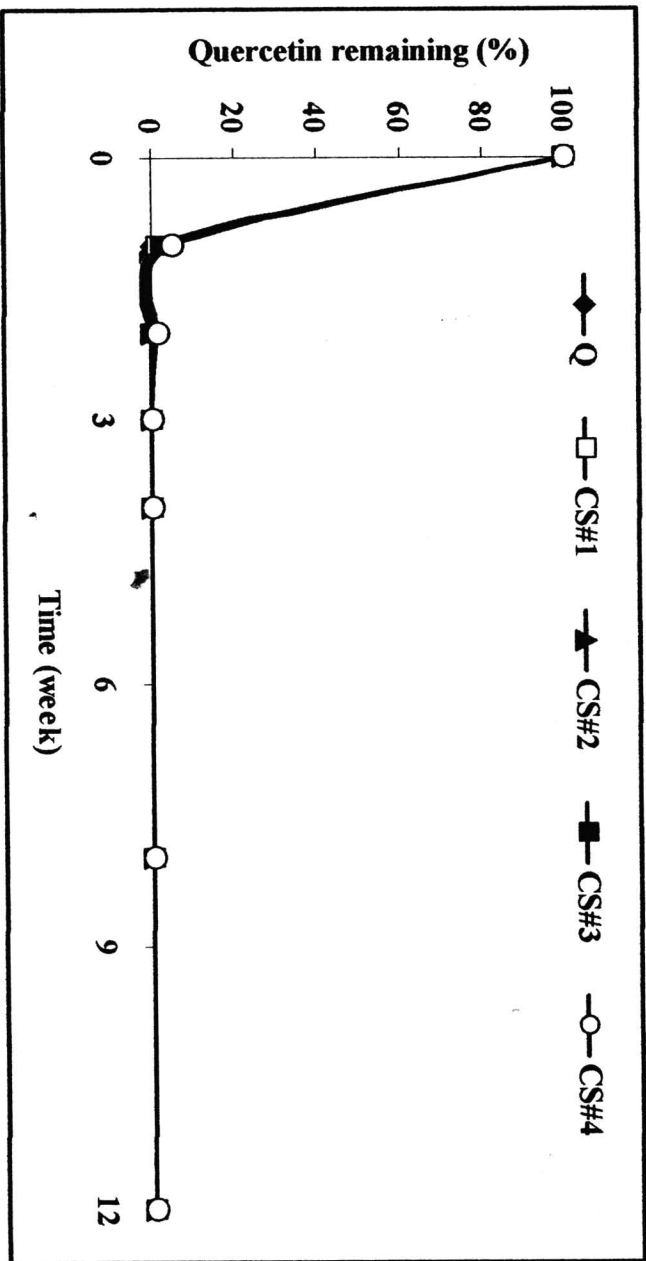


รูปที่ 3-71 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่ถูกเก็บใน ๓ โตะ

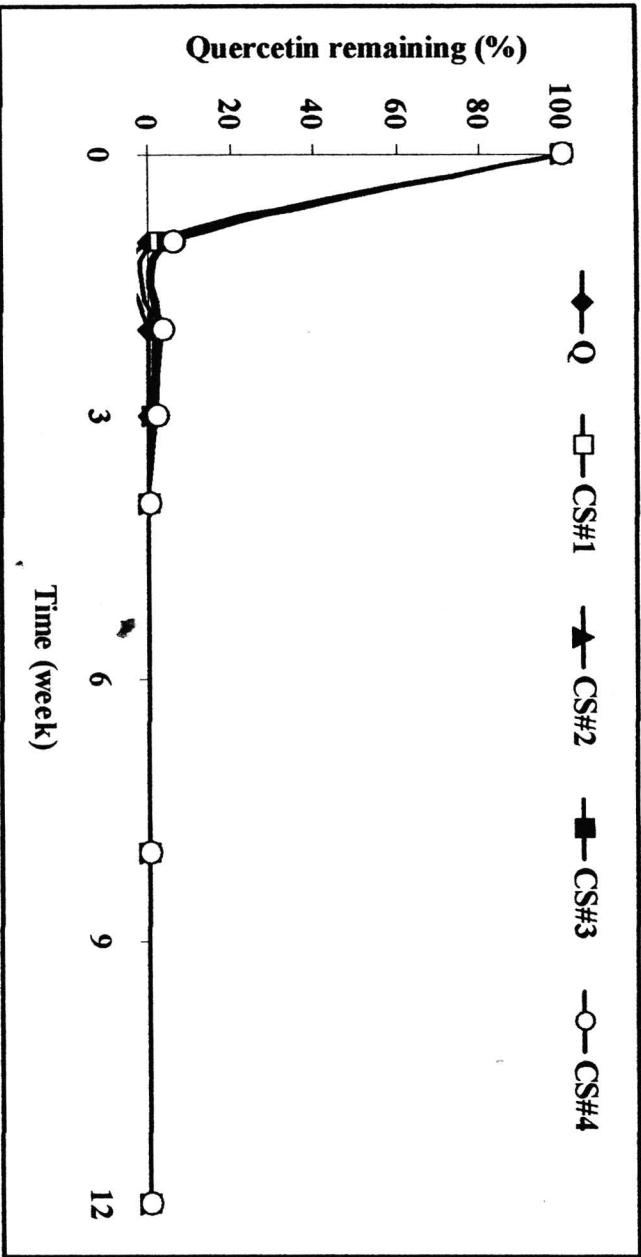


รูปที่ 3-72 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกเก็บเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่ถูกเก็บใน ๒๐ โดชาน

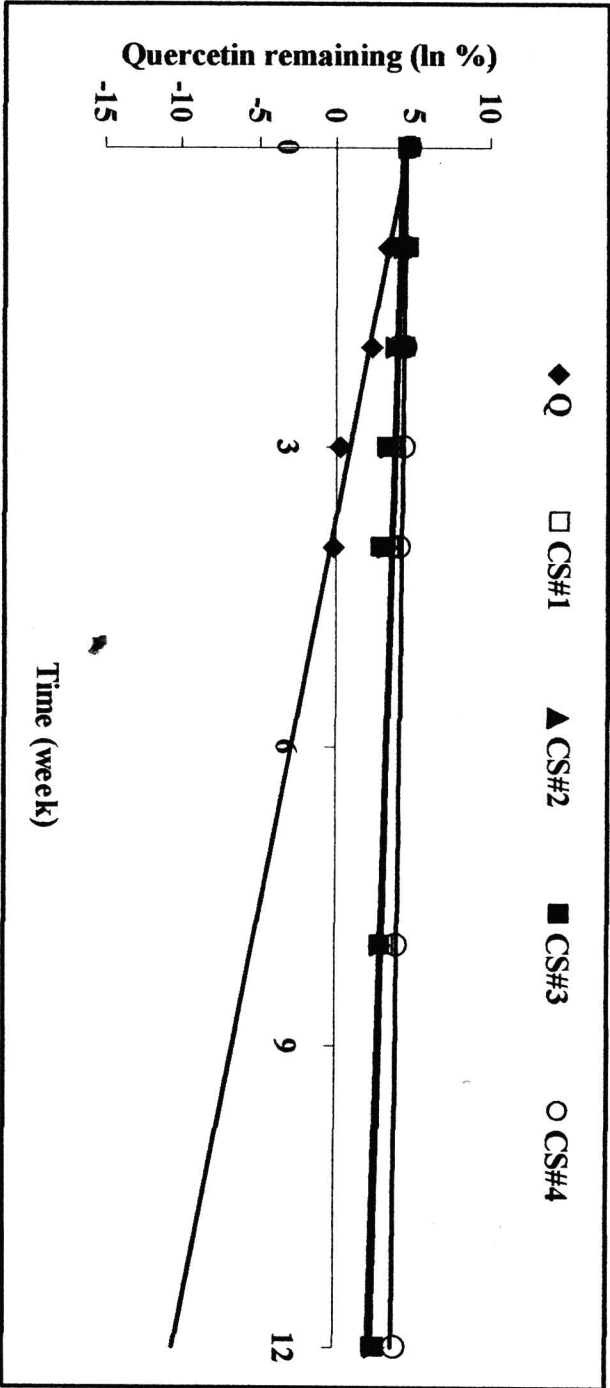


รูปที่ 3-73 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

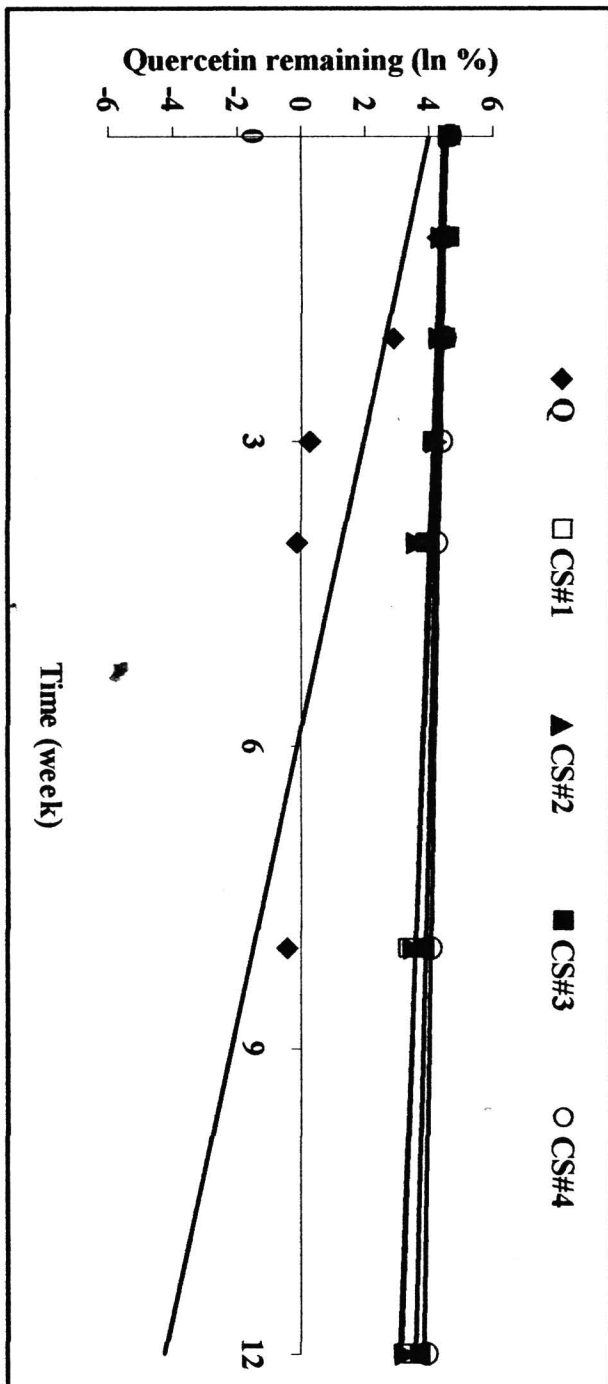
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่ถูกกักเก็บใน ๓ โดซาน



รูปที่ 3-74 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่กักเก็บใน ไซโตซาน



รูปที่ 3-75 Degradation kinetic ของ Quercetin เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่กักเก็บใน ๔ โดเมน



รูปที่ 3-76 Degradation kinetic ของ Quercetin เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 Q=Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บ: CS#1, CS#2, CS#3, CS#4 คือ Quercetin ที่ถูกกักเก็บใน คีโตซาน

ตารางที่ 3-51 สมการและค่า correlation coefficient (r^2) ของการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ถูกแสง

Quercetin	Equation	r^2
ไม่ถูกกักเก็บ	$y = -1.2493x + 4.5982$	0.9697
กักเก็บใน CS#1	$y = -0.1664x + 4.365$	0.8749
กักเก็บใน CS#2	$y = -0.1527x + 4.2711$	0.8444
กักเก็บใน CS#3	$y = -0.1749x + 4.3261$	0.6963
กักเก็บใน CS#4	$y = -0.0616x + 4.4825$	0.8514

ตารางที่ 3-52 สมการและค่า correlation coefficient (r^2) ของการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ไม่ถูกแสง

Quercetin	Equation	r^2
ไม่ถูกกักเก็บ	$y = -0.6864x + 3.9709$	0.7278
กักเก็บใน CS#1	$y = -0.1242x + 4.5484$	0.9176
กักเก็บใน CS#2	$y = -0.1114x + 4.4578$	0.8656
กักเก็บใน CS#3	$y = -0.0773x + 4.4797$	0.7757
กักเก็บใน CS#4	$y = -0.0593x + 4.5191$	0.9287

ตารางที่ 3-53 Degradation rate constant ในการสลายตัวของ Quercetin
เมื่อเก็บในที่ถูกแสง

Quercetin	Degradation rate constant (k)
ไม่ถูกกักเก็บ	1.249
กักเก็บใน CS#1	0.166
กักเก็บใน CS#2	0.153
กักเก็บใน CS#3	0.175
กักเก็บใน CS#4	0.062

ตารางที่ 3-54 Degradation rate constant ในการสลายตัวของ Quercetin
เมื่อเก็บในที่ไม่ถูกแสง

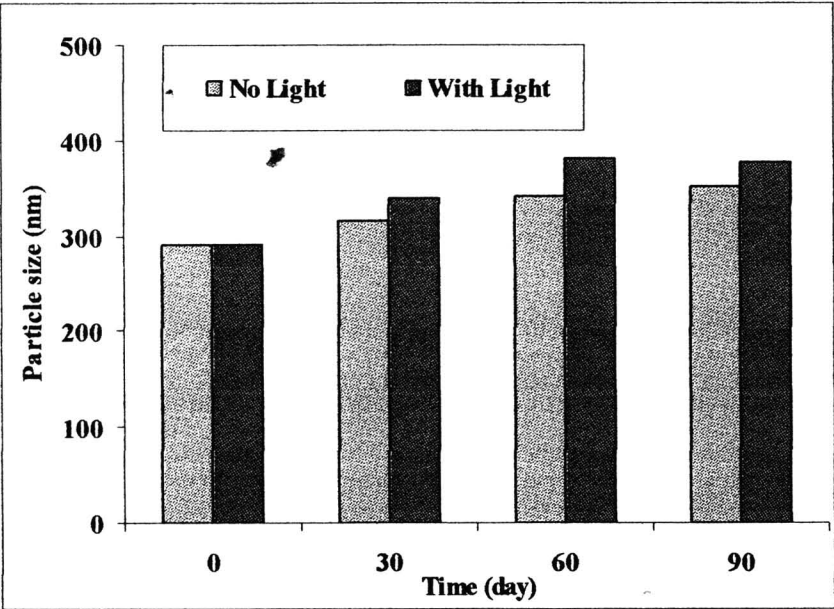
Quercetin	Degradation rate constant (k)
ไม่ถูกกักเก็บ	0.686
กักเก็บใน CS#1	0.124
กักเก็บใน CS#2	0.111
กักเก็บใน CS#3	0.077
กักเก็บใน CS#4	0.059

ในการศึกษาความคงตัวของคอลลอยด์เคมีกายภาพของอนุภาคนาโน ได้ทำการศึกษานาโน และค่า zeta potential ของอนุภาคนาโนที่เก็บไว้ที่สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 90 วัน ในขวดกันแสงและไม่กันแสง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3-55 ถึงตารางที่ 3-58 และในรูปที่ 3-77 ถึงรูปที่ 3-80 จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่าอนุภาคนาโนจากไคโตซานทุกชนิด มีแนวโน้มของการเพิ่มขนาดเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน แต่สำหรับค่า zeta potential ของอนุภาคนาโนไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนดังแสดงในตารางที่ 3-59 ถึงตารางที่ 3-62 และในรูปที่ 3-81 ถึงรูปที่ 3-84 จึงสรุปได้ว่าการเก็บอนุภาคนาโนไว้ในสภาวะต่าง ๆ มีผลต่อขนาดของอนุภาคเพียงเล็กน้อยแต่ไม่มีผลต่อความต่างศักย์ที่ผิวของอนุภาคเลย ซึ่งแสดงว่าอนุภาคนาโนไคโตซานที่เตรียมได้มีความคงสภาพดีมาก

ผลการศึกษาในด้านความคงตัวทั้งหมดสามารถกล่าวได้ว่าโครงการนี้สามารถเตรียมอนุภาคนาโนไคโตซานที่กักเก็บสารออกฤทธิ์สำคัญของใบฝรั่งได้ โดยพบว่าอนุภาคนาโนจากไคโตซานทั้งสี่ชนิดที่เตรียมได้มีความคงสภาพในด้านเคมีกายภาพดีเท่ากัน แต่สามารถป้องกันความคงตัวของสารสำคัญได้แตกต่างกัน โดยไคโตซานชนิด CS#4 คือไคโตซานที่มี MW 45000 และ DA 85% มีความสามารถป้องกันสารสำคัญได้ดีที่สุด แต่เนื่องจากไคโตซานชนิดนี้สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้น้อยเมื่อเทียบกับชนิดอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากไคโตซานชนิดนี้สามารถละลายน้ำได้น้อยกว่าชนิดอื่นเนื่องจากมีค่า DA ต่ำกว่าชนิดอื่น ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการทดลองนำอนุพันธ์ของไคโตซานที่มี MW และ DA ใกล้เคียงกัน คือ Glycol chitosan ซึ่งสามารถละลายน้ำได้มากขึ้น มาเติมกลุ่ม hydrophobic ที่เหมาะสม เรียกว่า Hydrophobic glycol chitosan หรือ HGC เพื่อให้สามารถละลายน้ำได้มากขึ้นและในขณะเดียวกันสามารถจับสารสำคัญคือ Quercetin ซึ่งเป็น hydrophobic substance ได้ด้วย แล้วทำการเตรียมอนุภาคนาโนที่กักเก็บสารสำคัญเช่นเดียวกับไคโตซานปกติ เมื่อทำการทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญ พบว่าอนุภาคนาโนไคโตซานชนิด HGC สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากขึ้นอย่างชัดเจน ผลการปลดปล่อยนี้ดังแสดงในตารางที่ 3-63 และรูปที่ 3-85 จึงสรุปได้ว่าโครงการนี้สามารถกักเก็บสารสำคัญจากใบฝรั่งในอนุภาคนาโนของไคโตซานชนิดที่เหมาะสม และสามารถเพิ่มความคงตัวให้สารสำคัญที่ถูกกักเก็บได้ อีกทั้งยังสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากตามต้องการ

ตารางที่ 3-55 ขนาดของอนุภาคชนิด CS#1 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

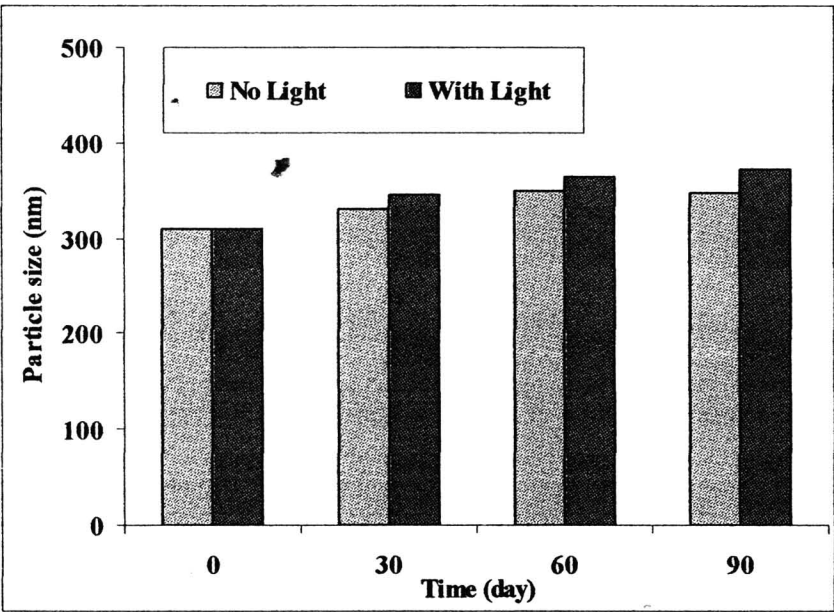
เวลา (วัน)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (nm)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	291 ± 18	291 ± 18
30	339 ± 10	316 ± 16
60	381 ± 27	341 ± 11
90	376 ± 23	352 ± 20



รูปที่ 3-77 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาค CS#1 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-56 ขนาดของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

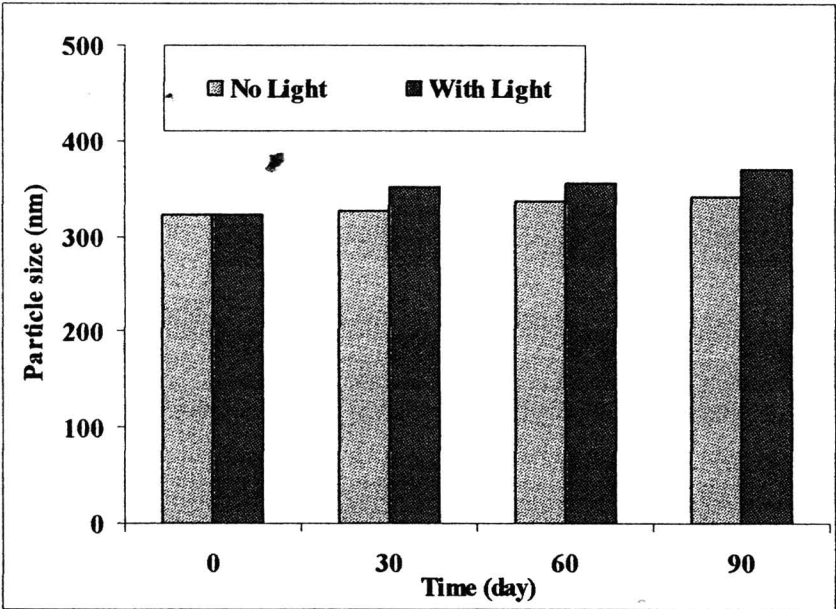
เวลา (วัน)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (nm)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	310 ± 15	310 ± 15
30	345 ± 18	330 ± 19
60	364 ± 21	349 ± 23
90	373 ± 25	347 ± 13



รูปที่ 3-78 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-57 ขนาดของอนุภาคนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

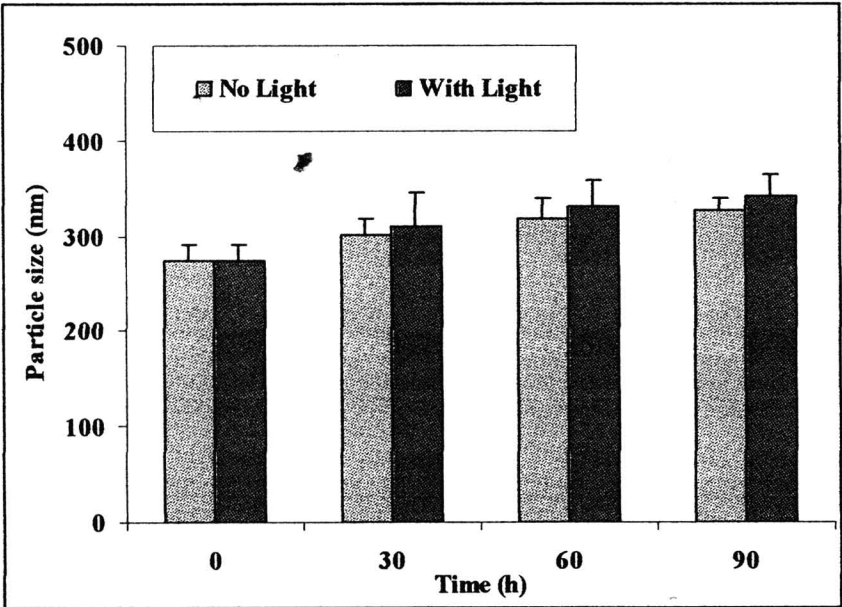
เวลา (วัน)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (nm)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	322 ± 18	322 ± 18
30	352 ± 21	327 ± 18
60	355 ± 18	337 ± 19
90	370 ± 22	342 ± 22



รูปที่ 3-79 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-58 ขนาดของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

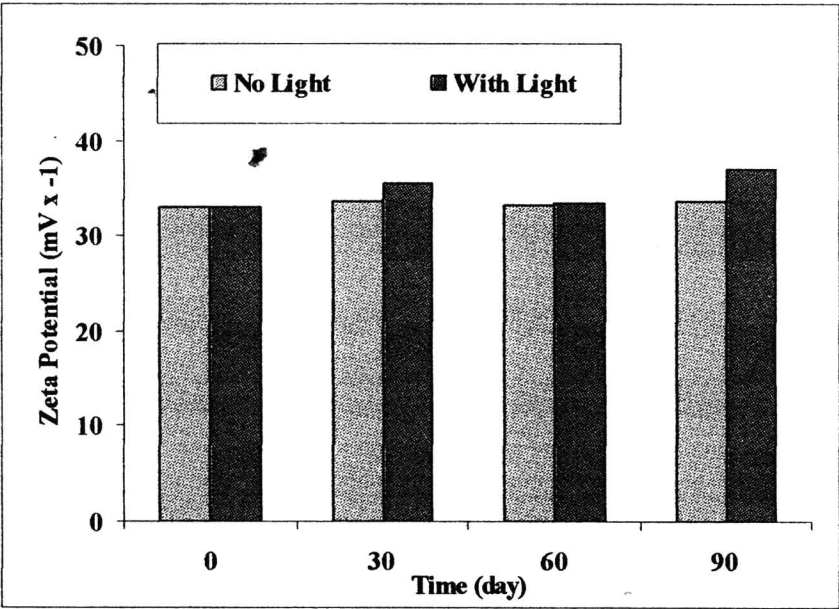
เวลา (วัน)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (nm)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	275 ± 16	275 ± 16
30	310 ± 36	301 ± 16
60	330 ± 27	319 ± 19
90	342 ± 22	327 ± 12



รูปที่ 3-80 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-59 Zeta Potential ของอนุภาคนิคม CS#1 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

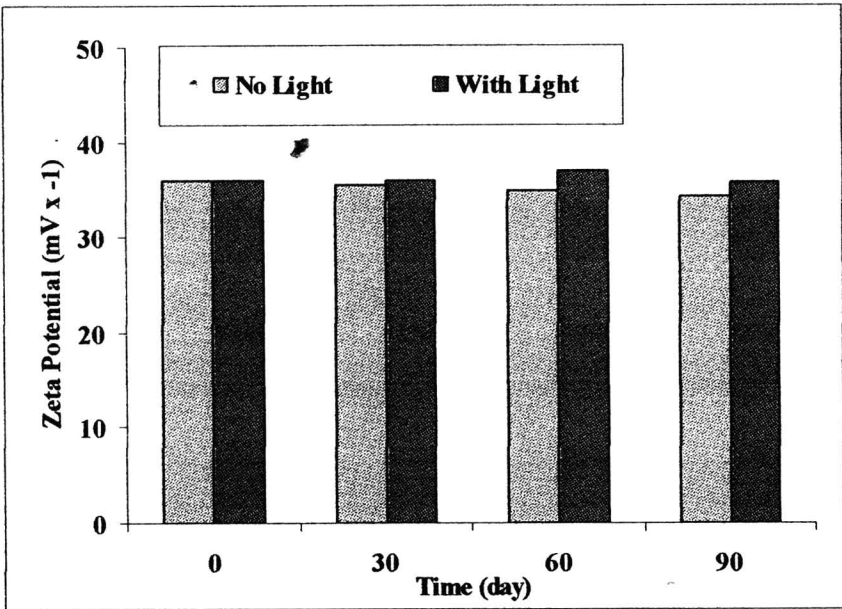
เวลา (วัน)	Zeta Potential (mV)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	33.0 ± 0.21	33.0 ± 0.21
30	35.4 ± 0.51	33.6 ± 1.20
60	33.4 ± 3.30	33.2 ± 0.04
90	37.0 ± 0.09	33.6 ± 0.55



รูปที่ 3-81 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคนิคม CS#1 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-60 Zeta Potential ของอนุภาคนาโนชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

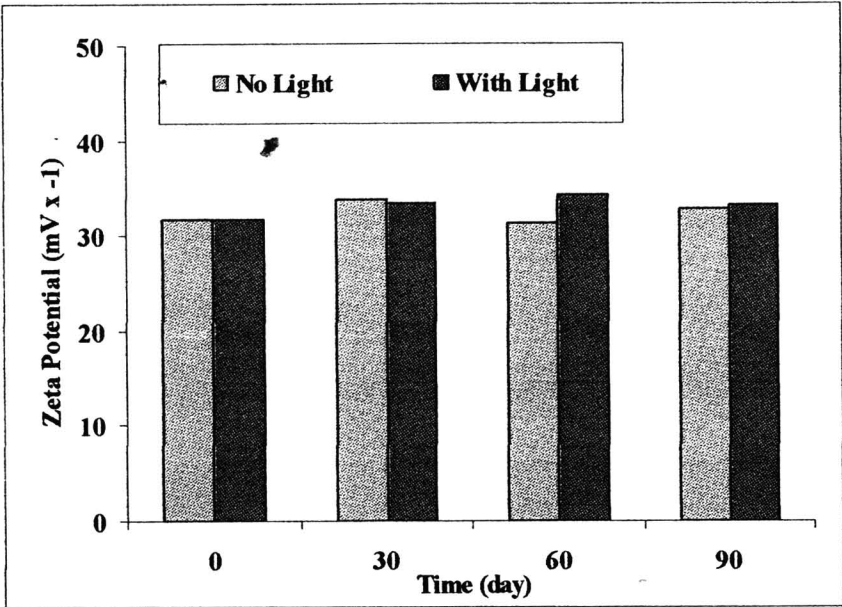
เวลา (วัน)	Zeta Potential (mV)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	35.9 ± 0.57	35.9 ± 0.57
30	36.1 ± 1.00	35.6 ± 0.29
60	37.0 ± 1.20	34.8 ± 1.20
90	35.8± 100	34.3 ± 0.20



รูปที่ 3-82 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-61 Zeta Potential ของอนุภาคนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

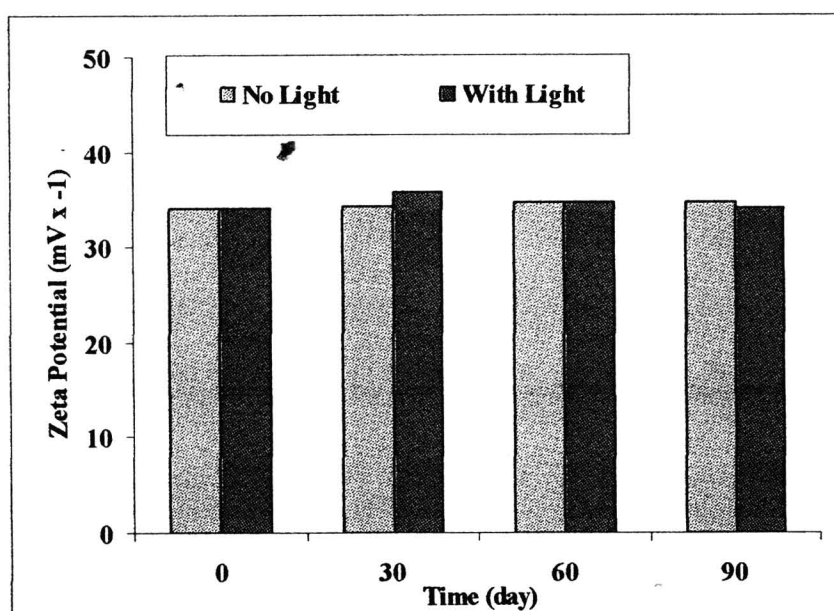
เวลา (วัน)	Zeta Potential (mV)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	31.7 ± 0.64	31.7 ± 0.64
30	33.4 ± 0.57	33.8 ± 0.23
60	34.2 ± 0.10	31.2 ± 1.20
90	33.2 ± 0.69	32.7 ± 0.20



รูปที่ 3-83 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-62 Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

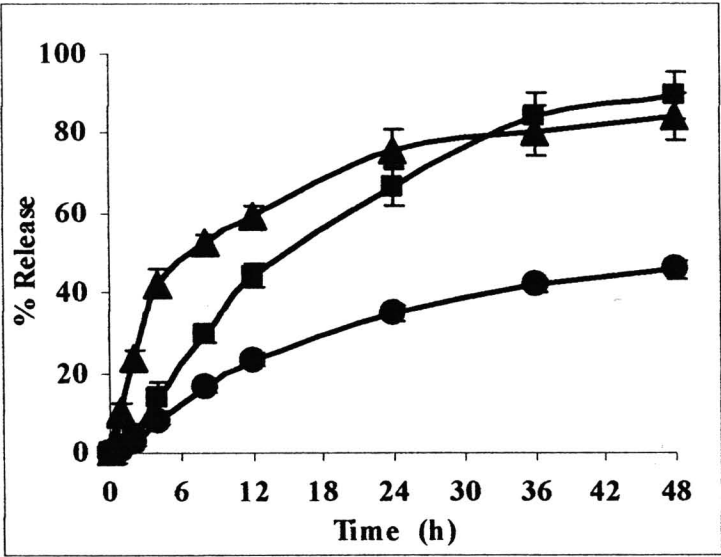
เวลา (วัน)	Zeta Potential (mV)	
	ถูกแสง	ไม่ถูกแสง
0	34.0 ± 0.84	34.0 ± 0.84
30	35.8 ± 0.68	34.3 ± 0.34
60	34.7 ± 0.80	34.7 ± 0.34
90	34.0 ± 0.95	34.6 ± 0.27



รูปที่ 3-84 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 3-63 ปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในเวลาต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ Quercetin ที่ละลายออกมา (%)		
	ไม่ถูกกักเก็บ	ถูกกักเก็บใน	
		CS#4	HGC
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
0.5	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	3.6 ± 2.9
1	2.1 ± 1.6	0.0 ± 0.1	10.4 ± 2.2
2	4.5 ± 2.7	0.1 ± 0.3	23.6 ± 1.9
4	14.0 ± 3.9	1.9 ± 0.4	42.3 ± 3.7
8	29.7 ± 4.1	8.1 ± 1.2	52.5 ± 2.4
12	44.4 ± 2.6	13.9 ± 1.5	59.2 ± 2.9
24	66.5 ± 6.0	23.0 ± 3.4	75.8 ± 4.9
36	84.2 ± 8.4	27.9 ± 1.9	80.5 ± 6.2
48	89.5 ± 5.1	32.0 ± 3.0	84.5 ± 5.9



รูปที่ 3-85 เปรียบเทียบปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในเวลาต่าง ๆ