

อนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรบรรจุน้ำมันงาเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิว

วัลย์พร เตียประสิทธิ์¹, บัญชา ยิ่งงาม², วันดี รังสีวิจิตรประภา^{3*}

¹นักศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรศาสตรมหาบัณฑิต สาขาศาสตร์แห่งเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สุขภาพ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

²ปร.ด. (เภสัชศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์, กลุ่มวิชาเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

^{3*}Dr. rer. nat (Pharmaceutical Technology), รองศาสตราจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

*ติดต่อผู้พิมพ์: รศ.ดร.วันดี รังสีวิจิตรประภา กลุ่มวิชาเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โทร. 045-353615 e-mail: wandee.r@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

อนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรบรรจุน้ำมันงาเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิว

วัลย์พร เตียประสิทธิ์¹, บัญชา ยิ่งงาม², วันดี รังสีวิจิตรประภา^{3*}

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2561; 14(4) : 112-121

รับบทความ : 25 เมษายน 2561

ตอบรับ : 7 สิงหาคม 2561

อาการผิวแห้งมาก เป็นสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากของผิวหนังในชั้นสตราตัมคอร์เนียอย่างมาก จากการสูญเสียน้ำในชั้นหนังกำพร้า น้ำมันงามีส่วนประกอบคือสารกลุ่มลิแกน มีรายงานว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต้านการอักเสบ และให้ความชุ่มชื้นผิวสำหรับอาการผิวแห้ง การกักเก็บน้ำมันงาในอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรเป็นระบบนำส่งที่มีความปลอดภัย สามารถนำส่งสารออกฤทธิ์ไปยังอวัยวะเป้าหมาย และยังสามารถช่วยป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิวได้อีกด้วย การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของส่วนประกอบของอนุภาคขนาดนาโนเมตรที่มีต่อขนาดอนุภาค และการป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว **วิธีดำเนินการวิจัย:** เตรียมอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรด้วยวิธีการเตรียมอิมัลชันโดยใช้ปีกเกอร์ และลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์และเครื่องโซนิคเทแบบโพรบ โดยศึกษาสัดส่วนของปริมาณไขมันเหลว (น้ำมันงา) ปริมาณสารก่ออิมัลชันและปริมาณไขมันรวม แล้ววัดขนาดอนุภาคและค่าการกระจายอนุภาค (PDI) ด้วยอาศัยหลักการกระเจิงของแสงเลเซอร์ ศึกษาความสามารถป้องกันน้ำระเหยจากผิวในหลอดทดลอง โดยมีตัวควบคุมแบบลบ คือ น้ำ **ผลการวิจัย:** ปริมาณสารลดแรงตึงผิว และปริมาณไขมันรวม มีผลต่อขนาดอนุภาค และการกระจายของอนุภาค โดยเมื่อปริมาณ โพลอกซาเมอร์เพิ่มจากร้อยละ 2.5 เป็น 5.0 อนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลง อย่างไรก็ตาม เมื่อปริมาณ โพลอกซาเมอร์เพิ่มเป็นร้อยละ 7.5 อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น ขนาดอนุภาคแปรผันตรงกับปริมาณไขมันรวม การเพิ่มปริมาณน้ำมันงา ไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค ความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยจากผิวเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณไขมันแข็งในตำรับเพิ่มมากขึ้น **สรุปผลการวิจัย:** ชนิดและปริมาณขององค์ประกอบมีผลต่อขนาดอนุภาคและความสามารถในการป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิว

คำสำคัญ: น้ำมันงา, อนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร, การป้องกันน้ำระเหยจากผิว, ลิแกน

Lipid Nanoparticles Containing Sesame Oil for Skin Occlusion

Walaiporn Tiaprasit¹, Bancha Yingngam², Wandee Rungseevijitprapa^{3*}

¹Master degree student, Cosmetic Sciences and Health Products Program, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University

²Ph.D.(Pharmaceutical Sciences), Assistant Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University

³Dr. rer. nat (Pharmaceutical Technology), Associate Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University

*Corresponding author: Wandee Rungseevijitprapa, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University,

Tel. 045-353615, e-mail: wandee.r@ubu.ac.th

Abstract

Lipid Nanoparticles Containing Sesame Oil for Skin Occlusion

Walaiporn Tiaprasit¹, Bancha Yingngam², Wandee Rungseevijitprapa^{3*}

IJPS, 2018; 14(4) : 112-121

Received : 25 April 2018

Accepted : 7 August 2018

Xerosis is a condition of skin with a significant change in the appearance and surface condition of the stratum corneum due to epidermal water loss. Sesame oil which contains lignin has been reported to have antioxidation and anti inflammation activities as well as to provide skin moisturizer for dry skin condition. The encapsulation of sesame oil in lipid nanoparticles is a safety delivery system which can deliver the active ingredient to the target organ and enhance the protection of water loss from skin. The objective of this research was to study the effect of lipid nanoparticle compositions on particle size and skin occlusion effect. **Methods:** Lipid nanoparticles were prepared by emulsion beaker method and the particle size was reduced by homogenizer and probe sonicator. The ratio of liquid lipid (sesame oil), amount of surfactant and total lipids in formulations were investigated. Particle size and polydispersity index (PDI) were measured by laser light scattering. *In vitro* occlusion factor was investigated and water was served as negative control. **Results:** Percentage of surfactant and total lipid in the formulation affected particle size and size distribution. As expected, increasing percentage of poloxamer 188 from 2.5 to 5.0, the obtained particle size was decreased. However, increasing the percentage of poloxamer content to 7.5% w/w resulted in larger particle size. The particle size increased when the total lipid was increased. Increasing ratio of sesame oil did not influence the particle size. The occlusion effect was enhanced when the amount of solid lipid was increased. **Conclusion:** Type and content of formulation composition affected the particle size and the ability to protect skin water loss.

Keywords: sesame oil, lipid nanoparticles, occlusive effect, lignan

บทนำ

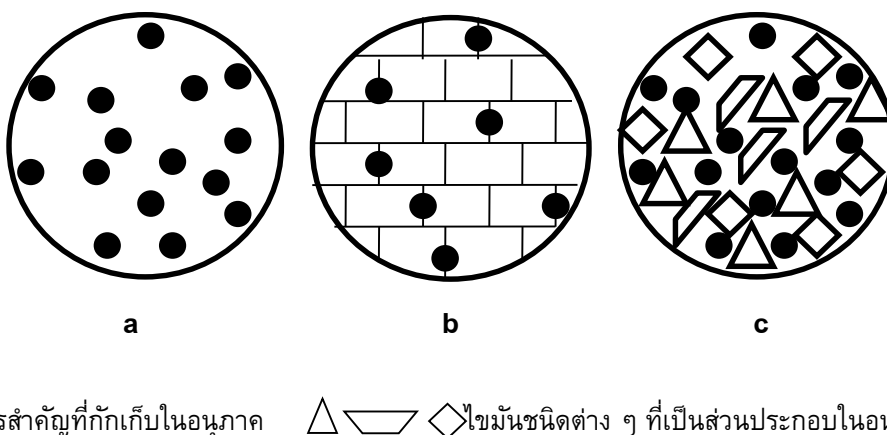
ภาวะผิวแห้งมาก (Xerosis) เกิดขึ้นจากการสูญเสียน้ำออกจากผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม ทำให้ผิวแห้งเป็นขุยไม่เรียบเนียน และหากไม่ได้รับการดูแล ก็จะทำให้ผิวแห้งมากขึ้น ส่วนใหญ่ภาวะผิวแห้งอาจเกิดจากสภาวะที่มีความชื้นในอากาศต่ำ โรคทางผิวหนังบางชนิด การขาดวิตามินเอและดี การถูก

แดดเผา หรืออาจเกิดจากการใช้ยาบางชนิด ในการบรรเทาอาการผิวแห้ง ทำได้โดยการให้สารที่ให้ความชุ่มชื้นกับผิว ซึ่งจะช่วยป้องกันน้ำระเหยจากผิวได้ โดยมีรายงานว่า หากปริมาณน้ำในชั้นสตราตัมคอร์เนียมลดลงร้อยละ 10-20 ก็จะทำให้ผิวแห้งและแตก (Wissing and Müller, 2002) ดังนั้นการใช้สารประเภท

น้ำมัน ขี้ผึ้ง ไขมันทาลงบนผิว จะช่วยให้ผิวชุ่มชื้น และป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิวได้ จากการศึกษาและรวบรวมงานวิจัยพบว่า น้ำมันงาและสารสกัดจากน้ำมันงา ได้แก่ เซซามินและเซซาโมลิน สามารถให้ความชุ่มชื้นกับผิว และมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่น่าสนใจต่อผิว โดยมีการทดสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ในรงค์วัตถุสีน้ำตาลที่สกัดมาจากเมล็ดงาดำพบว่า มีประสิทธิภาพที่สูงกว่าโทรล็อกซ์ (Trolox) และวิตามินอี (alpha-tocopherol) และเทียบเท่า BHA (Xu, Chen and Hu, 2005) และมีงานวิจัยที่บ่งชี้ว่าเซซามอลจากน้ำมันงาสามารถยับยั้งการตอบสนองของเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย Lipopolysaccharide (LPS) ได้ (Uehara *et al.*, 2010) และสารเซซามอลยังช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการผลิตเมลานิน (Kumar, 2011) การวิจัยใน albino rats พบว่าสารเซซามอลช่วยในกระบวนการรักษาบาดแผลได้ โดยพบว่าค่า tensile strength คือ แรงที่ใช้ในการเปิดบาดแผล ของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับเซซามอลมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของ hydroxyproline ซึ่งเป็นสารที่พบในการสร้างคอลลาเจน มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของสารชนิดนี้แสดงให้เห็นการสร้างคอลลาเจนที่เพิ่มขึ้นซึ่งช่วยให้การสมานบาดแผลเร็วขึ้น (Shenoy *et al.*, 2011)

แต่การใช้ น้ำมันงาและสารสกัดจากเมล็ดงาที่ได้จากน้ำมันงาทาบนผิว จะให้ความรู้สึกเหนียวเหนอะหนะ และขาดการยอมรับจากผู้บริโภคได้ ดังนั้นจึงมีความต้องการที่จะพัฒนาสูตรตำรับที่สามารถป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว โดยเป็นตำรับ

ที่สามารถใช้ง่าย และมีประสิทธิภาพดีในการป้องกันน้ำระเหยจากผิว ซึ่งระบบอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร เป็นระบบที่น่าสนใจที่น่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อแก้ไขปัญหานี้ได้ โดยอนุภาคไขมันที่มีการพัฒนาขึ้นประกอบด้วย ระบบนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion, NE) ระบบอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนพาร์ติเคิล (Solid lipid nanoparticles, SLN) และระบบตัวพาไขมันขนาดนาโน (Nanostructured lipid carriers, NLC) (Rungseevijitprapa, 2011) ดังแสดงในรูปที่ 1 จากประโยชน์อันหลากหลายของน้ำมันงาผู้วิจัยจึงสนใจนำน้ำมันงามาทำการเปรียบเทียบทั้ง 3 ระบบในการกักเก็บสารที่ละลายได้ดีในไขมัน ข้อดีของรูปแบบอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร คือ เป็นระบบนำส่งที่ปลอดภัย เนื่องจากมีองค์ประกอบหลักเป็นไขมันและน้ำมัน ที่สามารถเข้ากันได้กับร่างกาย ไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารแบบออกฤทธิ์นาน เมื่อนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เวชสำอาง สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นผิวโดยให้คุณสมบัติการปกคลุมผิวหนัง (occlusive effect) (Rungseevijitprapa, 2011) ซึ่งกระบวนการผลิตและส่วนประกอบต่างๆ ในตำรับมีผลต่อคุณลักษณะของตำรับที่เตรียมได้ และอาจส่งผลกระทบต่อสมบัติ การช่วยป้องกันน้ำระเหยจากผิวทางผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาระบบอนุภาคไขมันขนาดนาโน โดยศึกษาผลของส่วนประกอบหลักในการเตรียมและศึกษาคุณสมบัติการปกคลุมผิวหนัง เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำจากผิวหนังซึ่งจะเป็นการเก็บความชุ่มชื้นไว้ให้กับผิว ช่วยลดริ้วรอยและชะลอวัยได้



รูปที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของอนุภาค NE (a), SLN (b) และ NLC (c)
ที่มา: ดัดแปลงจาก Rungseevijitprapa, 2011

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

น้ำมันงาบริสุทธิ์สกัดเย็นจากงาดำ ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์การเรียนรู้และพัฒนา "งา" เชียงเกษตรอุตสาหกรรมครัวเรือนแบบยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, Oliwax® (Hallstar, Italy), และ Kolliphor® P188 (Sigma-Aldrich, USA) สารมาตรฐานเซซามิน (sesamin) และเซซาโมลิน (sesamol) (Sigma-Aldrich, USA) การวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มลิแกนด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารลิแกนด์จากน้ำมันงา ดัดแปลงวิธีจาก Dar และคณะ (2015) โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผันกลับ (reversed phase chromatography) คอลัมน์ ขนาด 250 มม. x 4.6 มม. เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมครอน ตัวตรวจหาแบบดูดซับไวโอเล็ต (UV) ตัวทำละลายเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 70:30 ที่อัตราการไหล 1.0 มล./นาที ตรวจหาที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร ปริมาณสารที่ฉีดอยู่ที่ 20 ไมโครลิตร โดยใช้สารเซซามินและเซซาโมลินเป็นสารเครื่องหมายมาตรฐาน (standard marker)

การเตรียมอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร

ในการเตรียมอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรดัดแปลงวิธีจาก Uner (2006) ทำได้โดยแบ่งเตรียมสารในวัฏภาคน้ำมัน ได้แก่ โอลิเว็กซ์ (Oliwax®) และน้ำมันงา และสารที่อยู่ในวัฏภาคน้ำ ได้แก่ สารกอลลิมัลชันไม่มีประจุ (Kolliphor® P188) และน้ำปราศจากประจุ ให้ความร้อนแก่วัฏภาคไขมันและน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปั่นผสมทั้งสองวัฏภาคด้วยเครื่อง high speed homogenizer (Ultra Tuarrax T10 basic, IKA, Germany) ที่ความเร็วรอบประมาณ 12,500 rpm จากนั้นทำการลดขนาดอนุภาคด้วยคลื่นเหนือเสียง (Ultrasonication) ด้วยเครื่อง Probe sonicator โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขนาดอนุภาคที่ละตัวแปร ได้แก่ สัดส่วนปริมาณไขมันเหลว (น้ำมันงา) ที่ร้อยละ (w/w) 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 ของปริมาณไขมันรวม ปริมาณสารกอลลิมัลชันที่ ร้อยละ (w/w) 2.5, 5 และ 7.5 และ ปริมาณไขมันรวมที่ร้อยละ (w/w) 5, 7.5 และ 10 ของทั้งระบบ การวัดขนาดอนุภาคไขมันและการกระจายขนาดอนุภาค

การวัดขนาดอนุภาคและการกระจายตัวขนาดอนุภาค ดัดแปลงวิธีจาก Souto *et al.* (2004) โดยนำอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร 50 ไมโครลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน 950 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดขนาดอนุภาค และการกระจายตัวขนาดอนุภาค ด้วยเครื่อง Zetasizer® Nano-ZS

(Mavorn instrument, UK) โดยการสุ่มตัวอย่างจากตำรับเดียวกัน และวัดทั้งหมด 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

การศึกษาปริมาณน้ำที่ระเหยจากผิวหนัง

การศึกษาหาปริมาณน้ำที่ระเหยออกจากผิวหนัง ดัดแปลงวิธีจาก de Vringer (1992) โดยทำการเตรียมน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 25 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 30 มล. ปิดบีกเกอร์ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 หยดตำรับอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรปริมาตร 350 ไมโครลิตรให้ทั่วกระดาษกรอง โดยทำการเปรียบเทียบตำรับอนุภาคไขมันขนาดนาโนที่มีสัดส่วนน้ำมันงาที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวควบคุมทางลบ (negative control) เก็บบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 32 °C แล้วทำการชั่งน้ำหนักน้ำที่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาที่ 0, 6, และ 24 จากนั้นคำนวณค่าการป้องกันน้ำระเหยจากผิว (occlusion factor, F) จากสมการ

$$F = 100 \times [(A-B)/A]$$

โดย A คือ ปริมาณน้ำที่ระเหยผ่านกระดาษกรองเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง B คือ ปริมาณน้ำที่ระเหยผ่านกระดาษกรองเมื่อมีสารตัวอย่าง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การแสดงผลการทดลองจะเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ และในการหาสมภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตำรับ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี one way ANOVA และ ทดสอบความแตกต่างโดยวิธี Duncan ที่ระดับนัยสำคัญที่แสดงความแตกต่างที่ $p < 0.05$ โดยข้อมูลแต่ละชุดมีการแจกแจงแบบปกติ และความแปรปรวนที่เท่ากัน

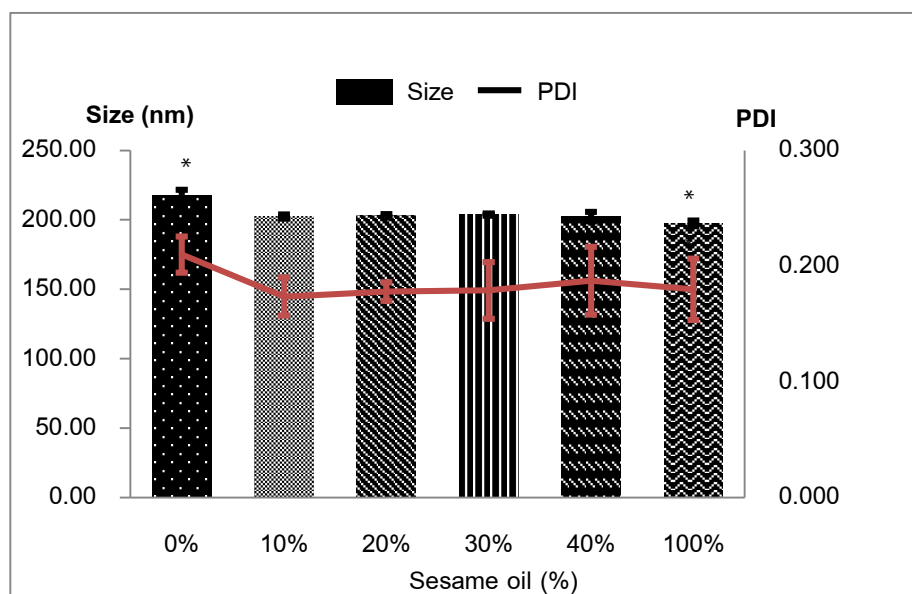
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มลิแกนด์

สารกลุ่มลิแกนด์ ได้แก่ เซซามินและเซซาโมลิน เป็นองค์ประกอบสำคัญที่พบได้ในน้ำมันงา จากการวิเคราะห์ปริมาณสารลิแกนด์ในน้ำมันงาที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีเหลวความดันสูง โดยใช้เซซามินและเซซาโมลิน เป็นสารมาตรฐาน (Standard marker) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารลิแกนด์ จากการวิเคราะห์พบว่า ค่า retention time ของเซซามินและเซซาโมลินเท่ากับ 11.09 และ 14.65 นาที ตามลำดับ ดังรูปที่ 2 และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มลิแกนด์ในน้ำมันงาสกัดเย็นจากงาดำที่ใช้ในงานวิจัยนี้ พบว่ามีปริมาณเซซามินและเซซาโมลิน 3.81 ± 0.18 และ 3.79 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อน้ำมันงา

นัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% กับขนาดอนุภาคของตำรับอื่นๆ และขนาดอนุภาคของตำรับที่มีสัดส่วนของน้ำมันงาที่ร้อยละ 10-40 ของปริมาณไขมันรวมนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yuan และคณะ (2017) ที่พบว่า การเพิ่มสัดส่วนของปริมาณกรดโอเลอิกซึ่งเป็นไขมันเหลวในตำรับไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค แต่จะมีผลต่อปริมาณการกักเก็บสารภายในอนุภาค และความสามารถในการปลดปล่อยตัวยาสำคัญออกจากตำรับ ชนิดและปริมาณของไขมันเหลวมีผลต่อความคงตัวของตำรับ โดยไขมันเหลวมีส่วนที่ทำให้เกิดการเรียงตัวโครงสร้างของผลึกที่ไม่เป็นระเบียบ ไขมันเหลวที่มีจุดหลอมเหลวต่ำ ช่วยให้ตำรับมีความคงตัวมากยิ่งขึ้น Yang และคณะ (2014) ได้เปรียบเทียบการใช้ไขมันมะกอก และน้ำมันปาล์มเป็นไขมันเหลวในตำรับ

พบว่าตำรับที่ใช้ไขมันมะกอกมีความคงตัวมากกว่าตำรับที่ใช้ น้ำมันปาล์ม เนื่องจากไขมันมะกอกมีจุดหลอมเหลวที่ -6°C ส่วน น้ำมันปาล์มมีจุดหลอมเหลวที่ 35°C ดังนั้นที่อุณหภูมิห้อง น้ำมันปาล์มจะเป็นไข ไขมันมะกอกที่มีความหนืดน้อยกว่า จะช่วยให้เคลื่อนที่ปกคลุมโดยรอบอนุภาคได้ง่ายกว่า จึงช่วยให้ตำรับที่ได้มีความคงตัวที่ดี ซึ่งคุณลักษณะของไขมันมะกอก มีความคล้ายคลึงกับน้ำมันงา โดยมีจุดหลอมเหลวต่ำ คือ ที่ -6°C และค่าความหนืดของน้ำมันงา และน้ำมันมะกอกที่ 40°C อยู่ที่ประมาณ $0.03\text{ Pa}\cdot\text{s}$ (Lemuel and Tianying, 2014) และน้ำมันทั้ง 2 ชนิดยังมีชนิดของกรดไขมันอิ่มตัวที่ใกล้เคียงกัน จากการทดลองเก็บอนุภาคไขมันที่มีน้ำมันงาเป็นส่วนประกอบในสัดส่วนต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 3 ผลของสัดส่วนของน้ำมันงาในตำรับต่อขนาดอนุภาคและค่าการกระจายอนุภาคหลังจากเตรียมเสร็จเป็นเวลา 7 วัน โดยมีปริมาณไขมันรวม และสารก่ออิมัลชันที่ร้อยละ 7.5 และ 2.5 ตามลำดับ * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นที่ $p < 0.05$

ผลของปริมาณสารก่ออิมัลชันในตำรับต่อขนาดของอนุภาค

สารก่ออิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมตำรับอนุภาคไขมันจะมีผลต่อขนาดอนุภาคและความคงตัวของตำรับ ในการทดลองนี้ได้มีการเลือกใช้ Kolliphor® P188 ซึ่งคือ Poloxamer 188 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่เป็นสารก่ออิมัลชันที่ไม่มีประจุในการเตรียมตำรับ ซึ่ง Poloxamer 188 เป็นสารที่มีความปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวจากการศึกษาเปลี่ยนแปลงปริมาณ

สารก่ออิมัลชันที่ร้อยละ 2.5, 5 และ 7.5 ในตำรับ (ตำรับที่ 1-3 ตามลำดับ) โดยมีสัดส่วนของน้ำมันงาที่ร้อยละ 40 ของปริมาณไขมันรวม และมีปริมาณไขมันรวมคงที่ที่ร้อยละ 7.5 ของตำรับ พบว่าอนุภาคที่ได้มีขนาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปริมาณสารก่ออิมัลชันเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.5 เป็น 5 แต่เมื่อเพิ่มสารก่ออิมัลชันเป็นร้อยละ 7.5 ขนาดอนุภาคกลับใหญ่ขึ้น (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยว่าสารก่ออิมัลชันที่ช่วยในการลดแรงตึงผิวระหว่างหยดไขมันและน้ำช่วยทำให้อนุภาคเคลื่อนที่ได้ง่ายใน

ระหว่างขั้นตอนการปั่นผสม ทำให้อนุภาคของไขมันขนาดนาโนเมตรนั้นมีขนาดเล็ก และมีผิวสัมผัสที่มากขึ้น ดังนั้นเมื่อเพิ่มสารก่ออิมัลชัน จึงทำให้อนุภาคมีขนาดที่เล็กลง (Rungseevijitprapa, 2011) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสารก่ออิมัลชันมากยิ่งขึ้น จะทำให้

อนุภาคใหญ่ขึ้น เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวส่วนเกินจะห่อหุ้มอนุภาคทำให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น (Suksiriworapong, 2014)

ตารางที่ 1 ผลของสารก่ออิมัลชันที่มีต่อขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาค (n=3)

Formulation	Kolliphor® (%)	Oliwax® (%)	Sesame oil (%)	Size (nm)	PDI
1	2.5	4.5	3.0	202.3. ± 3.40 ^a	0.187 ± 0.029
2	5.0	4.5	3.0	176.37 ± 0.21	0.168 ± 0.006
3	7.5	4.5	3.0	196.80 ± 3.60 ^a	0.198 ± 0.023

^a แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

ผลการศึกษาของปริมาณไขมันรวมต่อขนาดอนุภาค

จากการเปลี่ยนแปลงปริมาณของไขมันรวมที่ร้อยละ 5, 7.5 และ 10 (ตำรับที่ 4-6 ตามลำดับ) โดยมีสัดส่วนน้ำมันงาที่ร้อยละ 40 ของปริมาณไขมันรวม ปริมาณสารก่ออิมัลชันคงที่ที่ร้อยละ 5 ของตำรับ ทำการวัดขนาดอนุภาค และค่า PDI ในวันที่ 7 พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันรวมจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 7.5 อนุภาคมีขนาดเล็กลง แต่เมื่อปริมาณไขมันรวมในตำรับเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 10 อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น (ตารางที่ 2) โดยขนาดอนุภาคของทั้ง 3 ตำรับมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากปริมาณไขมันส่งผลต่อความหนืดของระบบ การใช้เวลาและแรงที่เท่าเดิมในการเตรียมตำรับ ทำให้ประสิทธิภาพใน

การลดขนาดของอนุภาคนั้นลดลง (Jinarat, 2017) และมีรายงานว่าปริมาณไขมันแข็งที่เพิ่มขึ้นทำให้ความคงตัวของตำรับลดลง (Yingngam *et al.*, 2007) นอกจากนั้นความเข้มข้นของไขมันทั้งหมดในระบบ ต้องสอดคล้องกับปริมาณสารก่ออิมัลชัน กล่าวคือ ปริมาณสารก่ออิมัลชันต้องมีปริมาณมากพอที่จะปกคลุมผิวของอนุภาคไขมันได้ จึงจะทำให้ระบบมีความคงตัวป้องกันการกลับมารวมกันของอนุภาคไขมัน (Zirak and Pezeshki, 2015) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณไขมันรวม แต่ความเข้มข้นสารก่ออิมัลชันที่เท่าเดิม จะมีผลทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น

ตารางที่ 2 ผลของปริมาณไขมันรวมที่มีต่อขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาค (n=3)

Formulation	Total lipid (%)	Oliwax® (%)	Sesame oil (%)	Kolliphor® (%)	Size (nm)	PDI
4	5.0	3.0	2.0	5.0	188.30 ± 0.95 ^a	0.255 ± 0.005 ^a
5	7.5	4.5	3.0	5.0	176.37 ± 0.21 ^b	0.168 ± 0.006 ^b
6	10.0	6.0	4.0	5.0	186.07 ± 1.04 ^c	0.189 ± 0.003 ^c

^a แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

^b แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 4 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

^c แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

ดังนั้นสูตรตำรับของอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรที่เหมาะสม ควรประกอบไปด้วย สารก่ออิมัลชันร้อยละ 5 และมีปริมาณไขมันรวมที่ร้อยละ 7.58

อนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรและการป้องกันน้ำระเหยจากผิว

การทำอนุภาคนาโนไขมันขนาดนาโนเมตรลงบนผิวหนึ่งจะทำให้อนุภาคดังกล่าวเกิดเป็นฟิล์มบางๆ ปกคลุมบน

ผิวหนังด้านบนและส่งผลขัดขวางการระเหยของน้ำออกจากผิวหนัง เรียกคุณสมบัตินี้ว่า "occlusive effect" คุณสมบัตินี้มีผลช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง และช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสารออกฤทธิ์เข้าสู่ชั้นผิวในการทดสอบการป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิว ค่า occlusion factor สูงแสดงว่าสารทดสอบมีความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยจากผิวมาก ในงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษาอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรที่มีปริมาณสารก่ออิมัลชันที่ร้อยละ 5 ปริมาณไขมันรวมที่ 7.5 และสัดส่วนของน้ำมันงาที่ ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 ของปริมาณไขมันรวม (ตำรับที่ 7-12 ตามลำดับ) พบว่าทุกตำรับมีขนาดอยู่ในช่วง 169-193 นาโนเมตร โดยพบว่า เมื่อปริมาณน้ำมันงาในตำรับเพิ่มขึ้น อนุภาคมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญ การเกิด occlusive effect จะเกิดได้ดีเมื่อใช้ไขมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำร่วมกับความเป็นผลึกที่สูง และมีขนาดอนุภาคเล็ก ตัวอย่างเช่นการผลิตอนุภาคไขมันแข็งให้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงนาโนเมตร จะสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวหนังได้สูงกว่าอนุภาคในช่วงไมโครเมตรถึง 15 เท่า (de Vringer, 1992). โดยตำรับที่ไม่มีน้ำมันงา คือ อนุภาคไขมันขนาดนาโน (SLN) ตำรับที่มีน้ำมันงาร้อยละ 10-40 ของปริมาณไขมันรวม คือ ระบบตัวพาไขมันขนาดนาโน (NLC) และตำรับที่มีเฉพาะน้ำมันงาเป็นไขมันในตำรับ คือ นาโนอิมัลชัน (NE) คุณสมบัติของอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนเมตรในแบบต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3 ซึ่ง SLN มีขนาดอนุภาคที่ใหญ่ที่สุด ส่วน NE จะมีขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุด ตำรับ SLN มีส่วนประกอบที่มีเฉพาะไขมันแข็ง โครงสร้าง

ภายในอนุภาคมีความเป็นผลึกสูง ค่า occlusion factor จึงสูง เมื่อมีการเพิ่มปริมาณไขมันเหลวในตำรับเพิ่มขึ้นเป็น NLC และ NE ทำให้ความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยจากผิวลดลง จากตารางที่ 3 ปริมาณไขมันแข็งแปรผันตรงกับ ค่า occlusion factor ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Teeranachaiidekul และคณะ (2008) ที่พบว่าตำรับ SLN สามารถเกิด occlusive effect ได้ดีกว่า ตำรับ NLC และความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยจากผิวจะลดลงเมื่อมีปริมาณไขมันเหลวในตำรับเพิ่มขึ้น หากมีการเตรียมตำรับในปริมาณไขมันที่เท่ากัน ตำรับที่มีปริมาณไขมันแข็งมากกว่า จะมีช่วยป้องกันน้ำระเหยออกจากผิวได้ดีกว่า และตำรับที่มีค่าความเป็นผลึกสูงสามารถป้องกันน้ำระเหยออกจากผิวได้ดี (Wissing and Müller, 2003) แต่ตำรับ SLN มีความจุในการกักเก็บสารสำคัญที่ค่อนข้างจำกัด เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพโครงสร้างผลึกอนุภาคไขมันให้เป็นระเบียบมากขึ้น เป็นผลให้สารสำคัญถูกขับออกจากอนุภาค เมื่อค่านึงถึงสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บ การเลือกใช้ตำรับ NLC ที่มีรูปแบบโครงสร้างที่ไร้ระเบียบ จะทำให้มีช่องว่างในการกักเก็บสารสำคัญในอนุภาค จากผลในตารางที่ 3 การเลือกใช้ตำรับ NLC ที่มีน้ำมันงาเป็นส่วนประกอบร้อยละ 10 ของปริมาณไขมันรวม ให้ค่า occlusion factor ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับตำรับ SLN ดังนั้นตำรับ NLC ที่มีน้ำมันงาเป็นส่วนประกอบนอกจากจะช่วยป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิวแล้ว ยังช่วยเพิ่มประโยชน์ต่างๆที่ได้จากน้ำมันงาดังที่กล่าวมาข้างต้น

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร และค่า occlusion factor ในตำรับที่มีสัดส่วนน้ำมันงาที่แตกต่างกัน

Formulation	System	sesame oil (%)	Oliwax® (%)	Size (nm)	PDI	Occlusion factor (after 24 h)
7	SLN	0.00	7.50	193.20 ± 2.09	0.203 ± 0.008	23.06 ± 1.83 ^c
8	NLC	0.75	6.75	185.23 ± 1.42	0.188 ± 0.011	20.28 ± 4.97 ^{b,c}
9	NLC	1.50	6.00	181.50 ± 1.40	0.178 ± 0.019	16.65 ± 1.66 ^{a,b}
10	NLC	2.25	5.25	178.37 ± 0.70	0.192 ± 0.007	18.10 ± 2.88 ^{a,b,c}
11	NLC	3.00	4.50	177.00 ± 1.61	0.173 ± 0.007	16.33 ± 4.49 ^{a,b}
12	NE	7.50	0.00	169.80 ± 1.04	0.183 ± 0.008	12.36 ± 1.37 ^a

^a แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 7 และ 8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

^b แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 7 และ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Duncan

^c แสดงถึงความแตกต่างกับตำรับที่ 9, 11 และ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p < 0.05 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Dunca

สรุปผลการวิจัย

ส่วนประกอบในการเตรียมอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตรที่กักเก็บน้ำมันงา ได้แก่ ปริมาณสารก่ออนุมูลอิสระ ปริมาณไขมันรวม ส่งผลต่อขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค และรูปแบบอนุภาคไขมันที่เตรียมขึ้น ส่งผลต่อความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยออกจากผิวได้แตกต่างกัน โดยพบว่ารูปแบบ SLN ซึ่งประกอบด้วยไขมันแข็งที่มีความเป็นผลึกสูง และมีความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยได้มากกว่าระบบ NLC และ NE ตามลำดับ ดังนั้นการเลือกองค์ประกอบและสัดส่วนของสารที่ใช้เตรียมระบบอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร ส่งผลต่อขนาดอนุภาคและความสามารถในการป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และขอขอบคุณ รศ.ดร.อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ ศูนย์การเรียนรู้เพื่อการพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการแปรรูป “งา” คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนน้ำมันงาเพื่อใช้ในการวิจัย และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนด้าน สถานที่ อุปกรณ์ ที่ใช้ในการทดลอง

References

Allen T. Photon correlation spectroscopy. in particle size measurement. Allen T. 426. Vol.1. London: Champman & Hall, 1997.

Dar AA, Verma NK, Arumugam N. An updated method for isolation, purification and characterization of clinically important antioxidant lignans– Sesamin and sesamol, from sesame oil. *Ind Crops Prod* 2015;64: 201-208.

Finsey R. Particle sizing by quasi-elastic light scattering. *Adv. Colloid Interface Sci* 1994; 52: 79-143.

Jinarat D, Yingngam B, Rungseewijitprapa W. Development and characterization of *Curcuma comosa* extract loaded nanostructured lipid carriers. *IJPS* 2017; 13 Suppl: 163-173.

Kumar MC, Sathisha UV, Dhaemesh S, Appu Rao AG, Singh SA. Interaction of sesamol (3,4-methylenedioxyphenol) with tyrosinase and its effect on melanin synthesis. *Biochimie* 2011; 93: 562-569.

Lemuel M, Tianying L. Absolute viscosities of vegetable oils at different temperatures and shear rate range of 64.5 to 4835 s⁻¹. *J.Food Process* 2014; 1-6.

Rungkadilok N, Pholphana N, Mahidol C, et al. Variation of sesamin, sesamol and tocopherols in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds and oil products in Thailand. *Food Chem* 2010; 122(3): 724-730.

Rungseewijitprapa W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for drug and cosmetic delivery. Ubonratchathani: Ubonratchathani university press; 2011.

Shenoy RR, Sudheendra AT, Nayak PG, Paul P, Kutty NG, Rao CM. Normal and delayed wound healing is improved by sesamol, an active constituent of *Sesamum indicum* (L.) in albino rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 133(2): 608-612.

Souto EB, Wissing SA, Barbosa CM, Muller RH. Evaluation of physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. *Euro. J.Pharm.Biophar* 2004; 58: 83-90.

Srisayam M, Weerapreedakul N, Sribuarin P. *In vitro* antioxidant activity of white, black and red sesame seeds. *IJPS* 2014; 10(2): 136-146.

Suksiriworapong J, Rungvimolsin T, A-gomol A. Development and characterization of lyophilized diazepam-loaded polymeric micelles. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2014; 15(1): 52-64.

Teeranachaideekul V, Boonme P, Souto EB, Müller RH, et al. Influence of oil content on physicochemical properties and skin distribution of Nile red-loaded NLC. *J Control Release* 2008; 128(2): 134-141.

Uehara J, Shindo S, Numazawa S, Yoshida T. Inhibitory effect of sesamol on LPS-mediated inflammatory response. *Toxicol Lett* 2010; 196 Suppl: S241.

- Uner M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructures lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier system. *Pharmazie*. 2006; 61(5): 375-386.
- de Vringer T. Topical preparation containing a suspension of solid lipid particles. European Patent 91200664; 1992.
- Washington C. Photon correlation spectroscopy, in particle size analysis in pharmaceuticals and other industries. 135. Newyork: Ellis Horwood; 1992.
- Wissing S, Müller RH. The influence of the crystallinity of lipid nanoparticles on their occlusive properties. *Int J Pharm* 2002; 242(1-2): 377–379.
- Wissing SA, Müller RH. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *Int J Pharm* 2003; 254: 65-68.
- Xu J, Chen S, Hu Q. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum L.*). *Food Chem* 2005; 91(1): 79-83.
- Yadav NV, Sadashivaiah, Ramaiyan B, Acharya P, Belur L, Talahalli RR. Sesame Oil and Rice Bran Oil Ameliorates Adjuvant-Induced Arthritis in Rats: Distinguishing the Role of Minor Components and Fatty Acids. *Lipid*. 2016; 51(12): 1385-1395.
- Yang Y, Corona A, 3rd, Schubert B, Reeder R, Henson MA. The effect of oil type on the aggregation stability of nanostructured lipid carriers. *J Colloid Interface Sci* 2014; 418: 261-72.
- Yingngam B, Phimpanit Y, Wongkasemchai, Sila-on W *et al.* Encapsulation of rice bran oil in solid lipid nanoparticles (SLN) for skin hydration and viscoelasticity. *IJPS* 2007; 3(2): 8-22.
- Yuan H, Wang LL, Du YZ, You J, Hu FQ, Zeng S. Preparation and characteristics of nanostructured lipid carriers for control-releasing progesterone by melt-emulsification. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2007; 60(2):174-9.
- Zirak MB, Pezeshki A. Effect of Surfactant Concentration on the Particle Size, Stability and Potential Zeta of Beta carotene Nano Lipid Carrier. *IJCMAS* 2015; 4(9): 924-32.