



รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

การสร้างมูลค่าเพิ่มของผงเมือกกระเจี๊ยบเขียวสู่การพัฒนามาสก์ไฮโดรเจล
ผสมแซนแทนกัมและคาร์ราจีแนนเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชะลอวัย

Value added of okra mucilage powder to development of
xanthan gum and carrageenan hydrogel mask

for anti-aging product

รหัสโครงการ 4709153

โดย

ปิยะพงษ์ ปานแก้ว

เจริญพร โชคบริบาล

วรวิดี สุขัยยะ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เดือน กันยายน พ.ศ. 2568

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนามาस्कไฮโดรเจลเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชะลอวัย โดยการวิจัยได้ศึกษาใช้ระบบนำส่งเชิงนาโน ได้แก่ โลโโปโซมและนีโอโซม เพื่อเพิ่มความคงตัวและการนำส่งสารออกฤทธิ์ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสลิปปีงมาस्कทั้งสามตำรับ ได้แก่ (1) สารสกัดกระเจียบเขียว (2) โลโโปโซมบรรจุสารสกัด และ (3) นีโอโซมบรรจุสารสกัด มีลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์คงที่ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น หรือการแยกชั้น ตำรับที่มีระบบนำส่งยังคงค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ แสดงถึงบทบาทของนาโนเวสิเคิลต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์ การทดสอบฤทธิ์ชะลอวัยในหลอดทดลองพบว่าทุกตำรับสามารถยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส อีลาสเตส และไฮยาลูโรนิเดสได้ดีกว่าตัวควบคุมเชิงบวก โดยตำรับนีโอโซมให้ผลเหนือกว่าโลโโปโซมในเอนไซม์คอลลาจีเนสและอีลาสเตส ขณะที่โลโโปโซมมีประสิทธิภาพสูงกว่าเล็กน้อยในเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส การประเมินอาสาสมัครชี้ให้เห็นว่าตำรับที่มีสารสกัด และตำรับนีโอโซมไม่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ท้องตลาด ส่วนตำรับโลโโปโซมได้รับความพึงพอใจสูงกว่าอย่างชัดเจน ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการใช้ระบบนำส่งนาโนร่วมกับสารสกัดกระเจียบเขียวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดริ้วรอย และมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเชิงพาณิชย์ที่เพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรท้องถิ่นได้

คำสำคัญ: สารสกัดกระเจียบเขียว; โลโโปโซม; นีโอโซม; ชะลอวัย; เครื่องสำอางจากสมุนไพร

Abstract

This research developed a hydrogel mask as an anti-aging product by employing nanodelivery systems, including liposomes and niosomes, to enhance stability and active compound delivery. Three formulations were prepared: (1) extract alone, (2) extract-loaded liposomes, and (3) extract-loaded niosomes. All formulations exhibited stable cream-like texture without noticeable changes in color, odor, or phase separation. The liposomal and niosomal systems-maintained viscosity values, indicating their role in improving formulation stability. In vitro anti-aging assays revealed that all formulations exhibited stronger inhibitory effects on collagenase, elastase, and hyaluronidase compared with the positive control. Among the nanovesicular systems, the niosomal formulation showed superior inhibition of collagenase and elastase, while the liposomal formulation demonstrated slightly higher activity against hyaluronidase. Sensory evaluation indicated that the extract and niosomal formulations were comparable to commercial products, whereas the liposomal formulation achieved significantly higher consumer satisfaction. In conclusion, nanovesicle-based delivery of *Abelmoschus esculentus* extract enhanced the enzyme-inhibitory activity related to skin aging and demonstrated strong potential for development as a value-added herbal-based cosmetic product with commercial application.

Keywords: *Abelmoschus esculentus* extract; Liposome; Niosome; Anti-aging; Herbal cosmetics

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากความกรุณาจากคณาจารย์ และบุคคล ที่เกี่ยวข้องหลายฝ่ายด้วยกัน ที่คอยให้คำปรึกษา และร่วมทำโครงการวิจัยมาโดยตลอด ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนครที่มอบเงินสนับสนุนงบประมาณการวิจัย ภายใต้ทุนงบประมาณผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

อนึ่งคณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ ให้แก่เหล่าคณาจารย์ ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง และขอขอบคุณความกตัญญูทศเวทิตาคุณ แต่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิดเพียงผู้เดียว และพร้อมที่จะรับคำแนะนำของทุกท่านเพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

คณะผู้วิจัย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
Abstract.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
 บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
 บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับกระเจียบเขียว.....	4
2.2 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของกระเจียบเขียว.....	4
2.3 องค์ประกอบทางเคมี.....	6
2.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกระเจียบเขียว.....	7
2.5 การศึกษาพิษวิทยาสารสกัดกระเจียบเขียว.....	7
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดกระเจียบเขียว.....	8
2.7 ระบบนำส่ง.....	8
2.8 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)	11
2.9 ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า.....	13
2.10 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์.....	14
2.11 โครงสร้างผิวหนัง กระบวนการเสื่อมสภาพของผิวหนัง และการทดสอบการชะลอวัย.....	15
2.12 คอลลาเจน เอนไซม์คอลลาจีเนส และการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส.....	16
2.13 อีลาสติน เอนไซม์อีลาสเตส และการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส.....	18
2.14 กรดไฮยาลูโรนิก เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส.....	19
2.15 สารกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic compound) และฤทธิ์ชะลอวัย.....	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 วิธีการเตรียมระบบนำส่งด้วยวิธีการทำให้เกิดฟิล์ม (The thin-film hydration (TFH))	23
3.2 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สลิปปิ้งมาสก์.....	24
3.3 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สลิปปิ้งมาสก์.....	25
3.4 การทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย.....	26
3.5 การทดสอบทางคลินิก.....	30
3.6 การทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์.....	35
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 ผลการเตรียมระบบนำส่งที่ห่อหุ้มสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว.....	36
4.2 ผลการตรวจสอบโครงสร้างลักษณะรูปร่างไลโปโซมและนีโอโซม.....	37
4.3 ผลการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์.....	38
4.4 ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์.....	39
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย.....	41
4.6 ผลการทดสอบการแพ้และระคายเคืองต่อผิวหนัง.....	53
4.7 ผลการวัดค่าอายุผิวด้วยเครื่อง Visia.....	53
4.8 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดความชุ่มชื้นระยะยาว (8 สัปดาห์).....	59
4.9 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินระยะยาว (8 สัปดาห์).....	61
4.10 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดการสูญเสียไอน้ำระยะยาว (8 สัปดาห์).....	62
4.11 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดความยืดหยุ่นระยะยาว (8 สัปดาห์).....	64
4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์.....	68
4.13 ผลการประเมินความพึงพอใจต่อความสบายผิวของผลิตภัณฑ์.....	69
บทที่ 5 สรุป และข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	71
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	72
เอกสารอ้างอิง.....	73

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1	ส่วนประกอบของสลิปปีงมาสก์และหน้าที่ในตำรับ
ตารางที่ 3.2	ปริมาณสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส
ตารางที่ 3.3	ปริมาณสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส
ตารางที่ 3.4	ปริมาณสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส
ตารางที่ 4.1	ผลการทดสอบความหนืดในสภาวะเร่งโดยวิธี Heating - cooling cycle
ตารางที่ 4.2	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารมาตรฐาน gallic acid
ตารางที่ 4.3	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Sample 1
ตารางที่ 4.4	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome
ตารางที่ 4.5	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Niosome
ตารางที่ 4.6	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารมาตรฐาน gallic acid
ตารางที่ 4.7	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Sample 1
ตารางที่ 4.8	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome
ตารางที่ 4.9	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Niosome
ตารางที่ 4.10	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารมาตรฐาน quercetin
ตารางที่ 4.11	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Sample 1
ตารางที่ 4.12	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome
ตารางที่ 4.13	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Niosome
ตารางที่ 4.14	การวัดอายุผิวของทั้ง 2 กลุ่มในผลิตภัณฑ์
ตารางที่ 4.15	ค่าเปอร์เซ็นต์ริ้วรอยของทั้ง 2 กลุ่มในผลิตภัณฑ์
ตารางที่ 4.16	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย
ตารางที่ 4.17	ผลการวิเคราะห์ความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา
ตารางที่ 4.18	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย
ตารางที่ 4.19	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา
ตารางที่ 4.20	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าการสูญเสียในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย
ตารางที่ 4.21	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าการสูญเสียน้ำในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา
ตารางที่ 4.22	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (R6) ในอาสาสมัคร 20 คน
ตารางที่ 4.23	ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (R8) ในอาสาสมัคร 20 คน

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.24 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น(Q1)ในอาสาสมัคร 20 คน	66
ตารางที่ 4.25 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (Q3) ในอาสาสมัคร 20 คน	67
ตารางที่ 4.26 ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในแต่ละด้าน	69
ตารางที่ 4.27 ความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์เมื่อผลิตภัณฑ์ซึมเข้าผิวจากอาสาสมัคร 20 คน	70



สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1	ต้นกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 2.2	ใบกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 2.3	ดอกกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 2.4	ผลกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 2.5	ระบบนำส่งยาที่มาจากสมุนไพร
รูปที่ 2.6	ขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งด้วยวิธีการทำให้เกิดฟิล์ม
รูปที่ 2.7	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
รูปที่ 2.8	ส่วนประกอบกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
รูปที่ 2.9	กระบวนการเสื่อมสภาพของผิวหนัง
รูปที่ 2.10	สารกลุ่มฟีนอลิก
รูปที่ 2.11	โครงสร้างหลักของสารฟลาโวนอยด์
รูปที่ 3.1	Quantitative feature analyser
รูปที่ 3.2	Spots
รูปที่ 3.3	Wrinkles
รูปที่ 3.4	Texture
รูปที่ 3.5	Pores
รูปที่ 3.6	UV spots
รูปที่ 3.7	Brown spots
รูปที่ 3.8	Red areas
รูปที่ 3.9	Porphyrins
รูปที่ 4.1	สารละลายนีโอโชม (ซ้าย) สารละลายไลโปโชม (ขวา)
รูปที่ 4.2	สารละลายนีโอโชมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ซ้าย) สารละลายไลโปโชมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ขวา)
รูปที่ 4.3	รูปร่างไลโปโชมที่ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน กำลังขยาย 14,000 เท่า
รูปที่ 4.4	รูปร่างนีโอโชมที่ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน กำลังขยาย 28,500 เท่า
รูปที่ 4.5	ตำรับ S ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 4.6	ตำรับ L ใส่ไลโปโชมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 4.7	ตำรับ N ใส่เนโอโชมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
รูปที่ 4.8	สลิปปีงมาส์กทั้ง 3 ตำรับ ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง
รูปที่ 4.9	สลิปปีงมาส์กทั้ง 3 ตำรับ หลังจากนำไปปั่นเหวี่ยง
รูปที่ 4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน gallic acid

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1	43
รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome	44
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน Niosome	45
รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน gallic acid	46
รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1	47
รูปที่ 4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome	48
รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน Niosome	49
รูปที่ 4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน quercetin	50
รูปที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1	51
รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome	52
รูปที่ 4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน niosome	53
รูปที่ 4.22 การทดสอบการแพ้ระคายเคือง	53

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

รอยดำคล้ำ (Dark circles) เป็นภาวะที่พบได้บ่อยกับคนทุกเพศทุกวัย และมักจะเป็นมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น รอยดำคล้ำที่เป็นปัญหาที่กระทบกระเทือนสภาพจิตใจมักเป็นรอยดำคล้ำที่เกิดบริเวณใต้ตา อย่างเช่นรอยดำคล้ำจากแผลสิ่ว รอยดำคล้ำใต้ดวงตา รอยดำคล้ำใต้ดวงตามักเกิดกับทุกเพศทุกวัยและพบในปริมาณมาก ถึงแม้ว่ารอยดำใต้ตาจะไม่ใช่วิธีที่จำเป็นต้องรักษา หรือเป็นปัญหาสำคัญต่อสุขภาพ แต่ก็ทำให้เกิดปัญหาด้านความงามได้ เพราะการมีรอยดำใต้ตาอาจทำให้ผู้ที่เป็न्दูเศร้าหมอง เหนื่อย หน้าตาดูไม่สดใส และดูมีอายุมากขึ้นกว่าความเป็นจริง ปัญหาขอบตาคล้ำเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การอดนอน พักผ่อนน้อย ถูกกระทบกระเทือนมา หรือมีโรคภัยซ่อนอยู่ ปัญหาขอบตาคล้ำ หรือรอยดำคล้ำใต้ตา ที่เป็นผลมาจากหลอดเลือดดำบริเวณตาขยายใหญ่หรือทำให้เม็ดสีเมลานินมากขึ้นจึงทำให้ใต้ตาคล้ำ ทำให้ใ้ใบหน้าดูหมองไม่สดใส ความสวยงามก็ลดลง ซึ่งสาเหตุของขอบตาคล้ำก็มีอยู่ด้วยกันหลายสาเหตุ บางคนอาจเกิดจากสาเหตุเดียว แต่บางคนก็อาจเกิดจากหลาย ๆ สาเหตุร่วมกัน ได้แก่ กรรมพันธุ์ ขอบตาคล้ำจากภาวะเสียสมดุลอายุที่มากขึ้น ผิวใต้ตาบาง การสร้างเม็ดสีบริเวณผิวหนังใต้ตาเพิ่มขึ้น เกิดจากการระคายเคืองรอบดวงตา อาการตาแห้ง หรือปานโอตะ [1]

จากการค้นคว้าและศึกษาผลิตภัณฑ์เสริมความงามต่าง ๆ พบว่าในเครื่องสำอาง อาทิเช่น ครีมบำรุงเจลบำรุงผิว และแผ่นมาสก์ โดยในปัจจุบันได้มีผลิตภัณฑ์บำรุงผิวทำออกมาในรูปแบบของไฮโดรเจล (Hydrogel) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติ มีลักษณะมีความอ่อนนุ่ม แต่มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้ และด้วยคุณสมบัติพิเศษนี้เองจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย [2]

ไฮโดรเจลสำหรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของแซนแทนกัม (Xanthan Gum : XG) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่สามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลได้ เนื่องจากแซนแทนกัมมีคุณสมบัติสามารถดูดความชื้นได้ดี แต่แซนแทนกัมมีข้อเสีย คือ จับตัวกันเป็นก้อนและแข็งเร็ว จึงต้องได้มีการเติมสารที่เพิ่มการยืดหยุ่น ได้แก่ คาร์ราจีแนน (Carrageenan : CN) ซึ่งเป็นสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง (Rhodophyceae) ทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิว (emulsifier) ช่วยให้น้ำมัน ไขมัน และน้ำผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี ส่งผลให้สารที่ผสมเกิดความเหนียว [3]

สำหรับในประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีทั้งพืชผักสมุนไพรหลายชนิดที่น่าสนใจที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระและยังช่วยบำรุงผิว ซ่อมแซม หนึ่งในพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัตินี้ คือ กระเจียวเขียว เนื่องจากมีรายงานวิจัยว่าเมื่อกระเจียวเขียวคือแรมโนกาแลคตูโรแนน (rhamnogalacturonan) คล้ายเพคติน มีสมบัติเป็นสารให้ความเหนียว และมีความเหนียวสูงสุดในภาวะที่มีค่าความเป็นกรดต่างที่เป็นกลาง [4] และมีกลูตาไธโอน (glutathione) มีหน้าที่สำคัญต่อการควบคุมสารอนุมูลอิสระในร่างกาย การสร้างสารซ่อมแซมเซลล์ ทำปฏิกิริยาขจัดสารพิษที่เกิดในร่างกาย และช่วยต้านมะเร็งได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนิยมใช้สารนี้เพื่อให้ผิวขาวขึ้น และลดความหมองคล้ำของผิว

จากที่กล่าวมาข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญในการพัฒนาไฮโดรเจลจากผงคาร์ราจีแนนและแซนแทนกัมโดยเสริมประสิทธิภาพด้วยผงจากเมื่อกระเจียวเขียวเพื่อบำรุงผิว และลดรอยหมองคล้ำ โดยศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของไฮโดรเจล องค์ประกอบความรู้จากการศึกษาในครั้งนี้จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แผ่นมาสก์เพื่อดูแลผิวหนังในอนาคตและการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. สกัดและตรวจสอบลักษณะเฉพาะของผงเมือกกระเจี๊ยบเขียว
2. พัฒนาไฮโดรเจลจากคาร์ราจีแนนและแซนแทนกัมและผงเมือกกระเจี๊ยบเขียว
3. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของไฮโดรเจลที่พัฒนาขึ้น

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการชะลอวัยในหลอดทดลอง ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ คอลลาจีเนส เอนไซม์อีลาสเตส เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ตำรับ
2. เปรียบเทียบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์กที่พัฒนาขึ้นกับผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์ก ในท้องตลาดจากอาสาสมัคร 20 คน
3. เปรียบเทียบความคงตัวของตำรับสูตรครีมสลิปปีงมาส์กบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัด กระเจี๊ยบเขียว และตำรับสูตรครีมสลิปปีงมาส์กบำรุงผิวหน้าที่ไม่มีส่วนผสมสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว และทดสอบอาการแพ้และอาการระคายเคืองโดยใช้วิธีการทดสอบ Patch test
4. ทดสอบและประเมินประสิทธิภาพของครีมสลิปปีงมาส์กทั้งหมด 2 ตำรับ ตำรับที่ 1 ไม่เป็นนีโอโโซม ที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว N ตำรับที่ 2 เป็นนีโอโโซมที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว S โดยประเมิน ประสิทธิภาพในด้านความชุ่มชื้น การสูญเสีย น้ำ ความยืดหยุ่นผิว ก่อนใช้และหลังใช้ เป็นเวลา 2 เดือน ในอาสาสมัคร

1.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

1. พัฒนาระบบนำส่งไลโปโซมและนีโอโโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
2. ตั้งตำรับผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์ก 3 ตำรับ ได้แก่ ตำรับใส่สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว ตำรับใส่ไลโปโซม ที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว และตำรับใส่นีโอโโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
3. ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์ก
4. ทดสอบฤทธิ์ชะลอวัยของสลิปปีงมาส์กที่มีสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในหลอดทดลอง
5. ทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์ก

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการพัฒนาผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์กที่มีสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
2. ได้ผลการศึกษาฤทธิ์ชะลอวัยของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
3. สามารถนำไปศึกษาต่อยอดงานวิจัยเพื่อประยุกต์ใช้ในด้านเวชสำอางได้
4. สามารถสร้างกลุ่มวิจัยวัสดุที่มีความพร้อมในการบูรณาการความรู้ทางด้านต่างๆ

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ฤทธิ์ชะลอวัย หมายถึง ฤทธิ์ในการชะลอการเสื่อมสภาพของผิวหนัง โดยศึกษาจากฤทธิ์ ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส เอนไซม์คอลลาจีเนส และเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส
2. สลึปปิ้งมาสก์ หมายถึง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่ออกแบบมาเพื่อใช้งานในขณะนอนหลับ โดยมีเนื้อสัมผัสเบาบาง ซึมง่าย และไม่เหนอะหนะ ทำให้ทาทิ้งไว้บนใบหน้าได้ตลอดทั้งคืนโดยไม่ต้องล้างออก
3. ระบบนำส่ง หมายถึง นวัตกรรมที่ช่วยให้การนำสารสำคัญตรงเข้าสู่ผิวได้อย่างแม่นยำ พร้อมค่อย ๆ ปลดปล่อยสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้มออกมาจึงไม่เกิดการระคายเคืองผิวและยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารสำคัญ ตัวอย่างเช่น สารสกัดจากธรรมชาติ สารที่ซึมเข้าสู่ผิวได้ยาก สารที่เสื่อมสลายได้ง่ายเมื่อเจอแสง เป็นต้น
4. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส หมายถึง การลดหรือชะลอการทำลายคอลลาเจนในชั้น ผิวหนัง เพื่อให้โครงสร้างผิวหนังแข็งแรง ชะลอการเกิดริ้วรอยและรอยเหี่ยวย่น ซึ่งวัดได้จากค่า %inhibition และ the half maximal inhibitory concentration (IC_{50})
5. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส หมายถึง การลดหรือชะลอการทำลายเส้นใยอีลาสตินในชั้นผิวหนัง เพื่อคงสภาพความยืดหยุ่นของผิวหนัง ไม่ให้ผิวหนังเหี่ยวย่นหรือเกิดริ้วรอย ซึ่งวัดได้จากค่า %inhibition และ the half maximal inhibitory concentration (IC_{50})
6. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส หมายถึง การลดหรือชะลอการทำลายกรดไฮยาลูโรนิกที่อยู่ระหว่างเส้นใยอีลาสตินและคอลลาเจนในชั้นผิวหนัง เพื่อคงสภาพของโครงสร้าง ผิวหนังให้แข็งแรง ชะลอการเกิดริ้วรอยและรอยเหี่ยวย่น รวมถึงให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังซึ่งวัดได้จากค่า %inhibition และ the half maximal inhibitory concentration (IC_{50})



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับกระเจี๊ยบเขียว

ชื่อสมุนไพร	กระเจี๊ยบเขียว
ชื่ออื่น ๆ	กระตาด (แถบจังหวัดสมุทรสาคร, สมุทรปราการ) มะเขือมอญ (ภาคกลาง) มะเขือมัน (ภาคเหนือ) ถั่วเละ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Abelmoschus esculentus</i> L. Moench
ชื่อพ้อง	Okra, Gumbo, Lady's finger, Quimbamto
ชื่อวงศ์	Malvaceae (Mallow family)

2.2 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของกระเจี๊ยบเขียว

1. ต้นกระเจี๊ยบเขียว

มีถิ่นกำเนิดในแถบแอฟริกาตะวันตก ในประเทศชูดาน และสันนิษฐานว่าน่าจะมีการนำเข้ามาในประเทศไทยหลังปี พ.ศ.2416 โดยจัดเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุประมาณ 1 ปี มีความสูงประมาณ 0.5-2.4 เมตร ลำต้นและกิ่งก้านมีสีเขียว แต่บางครั้งก็มีจุดประมวง ตามลำต้นจะมีขนอ่อนหยาบ ๆ ขึ้นปกคลุม เช่นเดียวกับใบและผล เจริญเติบโตได้ดีในอากาศที่ร้อน หรือที่อุณหภูมิระหว่าง 18-35 องศาเซลเซียส ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ด



รูปที่ 2.1 ต้นกระเจี๊ยบเขียว

2. ใบกระเจี๊ยบเขียว

มีใบเป็นใบเดี่ยวขนาดใหญ่ ลักษณะของใบคล้ายรูปฝ่ามือเรียงสลับกัน ใบมักเว้าเป็น 3 แฉก มีความกว้างประมาณ 10-30 เซนติเมตร ปลายใบหยักแหลม โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ มีเส้นใบออกจากโคนใบ 3-7 เส้น ใบมีขนหยาบ ก้านใบยาว



รูปที่ 2.2 ใบกระเจี๊ยบเขียว

3. ดอกกระเจี๊ยบเขียว

มีดอกสีเหลืองอ่อน ที่โคนกลีบดอกด้านในจะมีสีม่วงแดงเข้ม รูปไข่กลับหรือค่อนข้างกลม ออกดอกตามง่ามใบ มีริ้วประดับเป็นเส้นสีเขียวประมาณ 8-10 เส้น เรียงเป็นวงรอบโคนกลีบเลี้ยง กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ และกลีบดอก 5 กลีบ ดอกมีเกสรตัวผู้จำนวนมาก มีก้านชูอับเรณูรวมกันลักษณะเป็นหลอดยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตรหุ้มเกสรตัวเมียไว้ อับเรณูเล็กจำนวนมากติดอยู่รอบหลอด ก้านเกสรตัวเมียมีลักษณะเรียวยาว ปลายแยกเป็น 5 แฉก



รูปที่ 2.3 ดอกกระเจี๊ยบเขียว

4. ผลกระเจี๊ยบเขียว หรือ ฝักกระเจี๊ยบเขียว

ผลมีลักษณะเป็นฝัก โดยฝักคล้ายกับนิ้วมือผู้หญิง ฝักมีสีเขียวทรงเรียวยาว มักโค้งเล็กน้อย ปลายฝักแหลมเป็นจีบ ผิวฝักมีเหลี่ยมเป็นสัน โดยฝักมีสันเป็นเหลี่ยมตามยาวอยู่ 5 เหลี่ยม ตามฝักจะมีขนอ่อน ๆ อยู่ทั่วฝัก ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในฝักมีน้ำเมือกข้นเหนียวอยู่มาก และมีเมล็ดลักษณะกลมอยู่มาก ขนาดประมาณ 3-6 มิลลิเมตร ฝักอ่อนมีรสหวานกรอบอร่อย ส่วนฝักแก่จะมีเนื้อเหนียว ไม่เป็นที่นิยมในการรับประทาน



รูปที่ 2.4 ผลกระเจี๊ยบเขียว

2.3 องค์ประกอบทางเคมี

สารพฤกษศาสตร์เคมีที่สำคัญในกระเจี๊ยบเขียว ดังนี้

1. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

เช่น เควอซิทิน (Quercetin) แคมพ์เฟอรอล (Kaempferol), รูติน (Rutin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน

2. แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

เช่น เดลฟินิดิน (Delphinidin) และไซยานิดิน (Cyanidin) สารที่ให้สีแดง-ม่วงในกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ช่วยลดความเสี่ยงจากโรคหัวใจและเสริมการทำงานของระบบประสาท

3. กรดอินทรีย์ (Organic Acids)

เช่น กรดมาลิก (Malic acid) ช่วยกระตุ้นกระบวนการย่อยอาหารและการดูดซึมสารอาหารในร่างกาย กรดซิตริก (Citric acid) เสริมระบบภูมิคุ้มกันลดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stress) และมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นพลังงาน

4. พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides)

มีบทบาทในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและช่วยบำรุงสุขภาพโดยรวม เพิ่มการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน

5. แทนนิน (Tannins)

แทนนินมีฤทธิ์ด้านการอักเสบยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดและช่วยสมานแผลใช้ในการรักษาอาการท้องเสียและรักษาปัญหาทางเดินอาหารบางประเภท

6. กรดไขมัน (Fatty acids)

กระเจี๊ยบเขียวมีกรดไขมัน เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และกรดโอเลอิก (oleic acid) ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและบำรุงผิวพรรณ

7. วิตามินและแร่ธาตุ

เช่น วิตามิน C ช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน ต่อต้านอนุมูลอิสระ และส่งเสริมสุขภาพผิว

2.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว

เบ้าคำและคณะ [6] ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว โดยนำกระเจี๊ยบเขียวมาสกัดด้วยน้ำและเอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อนและวิธีไหลย้อนกลับด้วยความร้อน จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) และสารฟีนอลิกรวม ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% โดยวิธี MT (MTd50) มีเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ 27.50% มีปริมาณ Polysaccharide 5.58 ± 0.03 mg glucose/g ปริมาณฟีนอลิกรวม 1.24 ± 0.01 mg GAE/g มีค่า SC_{50} 0.59 ± 0.07 mg/ml และค่า IPC_{50} 0.02 ± 0.02 mg/ml สารสกัด MTd50 ถูกนำมาเตรียมตำรับ ผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจลที่มีความคงตัว ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังของอาสาสมัครนาน 90 นาที ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวจึงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็น ผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง

ผลกระเจี๊ยบเขียวมีกลูตาไทโอนประมาณ 12 - 14 มิลลิกรัม/ 100 กรัม กลูตาไทโอน มีบทบาทสำคัญในการควบคุมสารอนุมูลอิสระในร่างกาย การสร้างสารซ่อมแซมเซลล์ และทำปฏิกิริยาขจัดสารพิษที่เกิดในร่างกาย ช่วยต้านมะเร็ง ป้องกันการติดเชื้อจากไวรัส ได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนิยมใช้สารนี้เพื่อให้ผิวขาวขึ้น เพราะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตเม็ดสี (melanogenesis) ได้ชั่วคราว โดยผ่านกลไกหลายอย่าง เช่น กระตุ้นการสังเคราะห์ pheomelanin ให้มี มากกว่า eumelanin เนื่องจาก eumelanin มีผลทำให้ผิวสีเข้ม และการเข้าไปขัดขวางการทำงานของเซลล์ ที่ทำหน้าที่ในการผลิต melanogenic enzyme เป็นต้น นอกจากนี้ กลูตาไทโอนยังมีคุณสมบัติเป็นสารชะลอวัย (anti-aging) อีกด้วย

2.5 การศึกษาพิษวิทยาสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว

เบ้าคำและคณะ [6] ทำการทดสอบการระคายเคืองผิวหนังในอาสาสมัครสำหรับสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวดำเนินการโดยใช้วิธีการทดสอบการระคายเคืองผิวหนัง (Patch Test) ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังของอาสาสมัคร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดนี้มีความปลอดภัยในการใช้กับผิวหนัง

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว

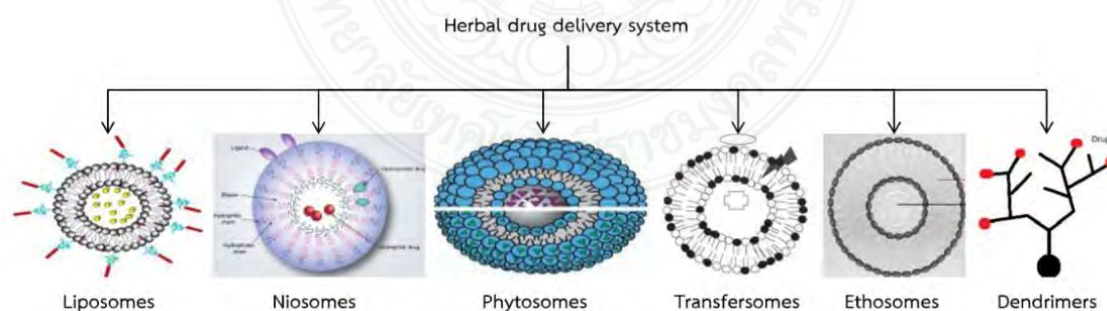
Kwok et al. พบว่าสารสกัดจากเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus*) มีคุณสมบัติในการปกป้องผิวหนัง โดยการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวสามารถเพิ่มความยืดหยุ่น ความกระชับ เนื้อสัมผัส และความหนาแน่นของผิวหนัง รวมถึงลดริ้วรอยได้ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เกี่ยวข้องกับผลของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast growth factor-2 หรือ FGF-2) นอกจากนี้สำหรับการสังเคราะห์ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycans หรือ GAG) ที่มีผลต่อการช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ และการสังเคราะห์ GAG ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์

2.7 ระบบนำส่ง

ยาสมุนไพรแม้ว่าจะมีคุณสมบัติที่ดีแต่ยังมีข้อจำกัด คือ ต้องใช้ตัวยาปริมาณมาก และต้องรับประทานบ่อยครั้ง ทำให้ความนิยมในการใช้ค่อนข้างต่ำ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาระบบนำส่งแบบใหม่เพื่อนำส่งเข้าสู่ร่างกายและเพิ่มการออกฤทธิ์ของยาสมุนไพร ข้อดีของระบบนำส่ง คือ

- เพิ่มความสามารถในการละลาย
- เพิ่มชีวประสิทธิผลโดยการเพิ่มการดูดซึม
- สามารถป้องกันความเป็นพิษที่จะเกิดจากการสัมผัสสารที่บรรจุโดยตรงกับเซลล์
- เพิ่มฤทธิ์ในการรักษาทางเภสัชวิทยา
- เพิ่มความคงตัวให้แก่สารที่ถูกกักเก็บในระบบ
- ป้องกันการสลายตัวของสารจากเซลล์แมคโครฟาจ
- สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญได้
- สามารถปกป้องสารสำคัญจากการสลายตัวด้วยกระบวนการทางกายภาพและเคมี

ระบบนำส่งสารพฤษเคมีซึ่งเป็นที่นิยมในปัจจุบันสามารถจำแนกได้ 6 ระบบ ได้แก่ ไลโปโซม (liposomes) นีโอโซม (niosomes) ไฟโตโซม (phytosomes) ทรานสเฟอโซม (transfersomes) เอโทโซม (ethosomes) และเดนไดรเมอร์ (dendrimers)



รูปที่ 2.5 ระบบนำส่งยาที่มาจากสมุนไพร

ไลโปโซม (liposomes) คือ อนุภาคขนาดเล็กของสารไขมันที่เรียงซ้อนกันสองชั้นสลับกับชั้นของน้ำมีลักษณะเป็นถุงกลม ๆ สารไขมันส่วนใหญ่จะเป็นไขมันประเภทฟอสโฟลิปิดในสารละลายน้ำเนื่องจากไลโปโซมมีส่วนประกอบและคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิต จึงถูกพัฒนามาใช้ในการนำพาสารต่าง ๆ เช่น ยา เครื่องสำอาง เข้าสู่ร่างกาย ข้อดีของไลโปโซม คือ

- นำส่งสารสำคัญสู่เป้าหมายได้ดี
- เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา
- เพิ่มความคงตัว
- ลดความเป็นพิษจากการสัมผัสสารสำคัญโดยตรง
- ลดผลข้างเคียง
- ลดการถูกขับออกจากกระบวนการเมแทบอลิซึม
- ระบบสามารถกักเก็บสารได้ทั้งโมเลกุลเล็ก และใหญ่
- ระบบสามารถกักเก็บสารสำคัญที่มีคุณสมบัติทั้งละลายในน้ำได้ดีและละลายในไขมันได้ดี

นีโอโซม (niosomes) มีลักษณะเป็นถุงทรงกลมขนาดเล็ก คล้ายกระเปาะที่เก็บกักสารต่าง ๆ ไว้ภายใน อนุภาคเหล่านี้มีลักษณะโครงสร้างของผนังเซลล์เป็นผนังสองชั้น ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัวของโมเลกุลสาร ลดแรงตึงผิวที่มีคุณสมบัติมีหัวและไม่มีหัวอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวโดยนำส่วนที่มี คุณสมบัติเหมือนกันเข้าหากันและมีการซ้อนกันเป็นผนังสองชั้นเป็นชั้นเดียวหรืออาจเกิดได้มากกว่าหนึ่งชั้น นีโอโซมส่วนใหญ่มีขนาดอนุภาค ในช่วง 30-120 นาโนเมตร ข้อดีของนีโอโซม คือ

- ระบบสามารถละลายได้ดีในกระบวนการทางชีวภาพ ไม่ตกค้าง
- สามารถกักเก็บสารปริมาณมาก ๆ ได้ในปริมาณน้อย
- ใช้งานง่าย
- ระบบสามารถกักเก็บสารสำคัญที่มีคุณสมบัติทั้งละลายได้ดีในน้ำ ไขมัน และสารที่เป็นกึ่งกลาง
- ควบคุมการผลิตง่าย
- นำไปผลิตในรูปแบบเภสัชกรรมได้หลายรูปแบบ
- มีความคงตัวและเก็บง่าย

ไฟโตโซม (phytosomes) คือ ถุงหุ้มสารสำคัญจากพืช โดยสารสำคัญจะถูกล้อมรอบด้วยลิปิด ซึ่ง สร้างพันธะไฮโดรเจนกับฟอสฟาติดีลโคลีน สามารถถูกกักเก็บได้ในส่วนแกนกลางและส่วนที่เชื่อมต่อกับส่วนของฟอสเฟต ข้อดีของไฟโตโซม คือ

- เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมจากการรวมกันของฟอสโฟลิปิดเชิงซ้อน
- เพิ่มการดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร
- เพิ่มชีวประสิทธิผล
- ใช้สารสำคัญในปริมาณน้อยลงเนื่องจากเพิ่มการนำส่งได้มากขึ้น
- มีความคงตัวสูง
- เพิ่มการซึมผ่านผิวหนังได้ดีเมื่อใช้ในทางเครื่องสำอาง

- เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาทางคลินิก
- องค์ประกอบในระบบมีฤทธิ์ปกป้องตับ

ทรานสเฟอร์โซม (transfersomes) เป็นระบบนำส่งชนิดที่นิยมใช้กับการนำส่งสารสำคัญแบบเฉพาะที่ เช่น บริเวณผิวหนัง เนื่องจากมีความสามารถในการบีบตัวผ่านเข้าสู่ผิวหนังได้เป็นอย่างดี สามารถใช้ได้กับสารทั้งโมเลกุลใหญ่และเล็ก โดยความสามารถเหล่านี้มาจากองค์ประกอบของ ทรานสเฟอร์โซมที่ประกอบด้วย ฟอสโฟลิปิดและสารลดแรงตึงผิวแบบสายเดี่ยวในสัดส่วนที่เหมาะสม ทำให้ระบบนำส่งชนิดนี้มีความสามารถในการยืดหยุ่น เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ ข้อดีของทรานสเฟอร์โซม คือ

- สามารถกักเก็บสารสำคัญที่ละลายในไขมันได้ดีสูงถึงร้อยละ 90
- เพิ่มการดูดซึมและซึมผ่านได้ดีกว่าระบบนำส่งอื่น
- สามารถใช้ได้กับสารสำคัญ ที่มีมวลโมเลกุลสูง
- ระบบมีอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญช้า
- สามารถป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญ ในระบบเมแทบอลิซึมได้

เอทโทโซม (ethosomes) คือ ระบบนำส่งยาเข้าสู่ผิวหนังแบบอนุภาคหรือถุงทรงกลมที่มีความอ่อนตัว ยืดหยุ่น สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปตามเส้นทางที่เคลื่อนที่ผ่าน ประกอบขึ้นจากสารไขมันประเภท ฟอสโฟลิปิด เอทานอล ที่มีความเข้มข้นสูง และน้ำ เอทโทโซมเป็นไลโปโซมที่มีส่วนประกอบของเอทานอลในปริมาณสูง (20-45% โดยน้ำหนัก) เป็นอนุภาคที่มีลักษณะอ่อนและยืดหยุ่น เป็นระบบนำส่งสารหรือยาผ่านผิวหนังที่สามารถแทรกผ่านผิวหนังลงไปในชั้นที่ลึกได้ และอาจนำส่งถึงระบบไหลเวียนโลหิตเพื่อให้ฤทธิ์ทั่วร่างกาย ข้อดีของเอทโทโซม คือ

- ระบบสามารถนำส่งสารโมเลกุลใหญ่ได้ดี เช่น เปปไทด์ หรือ โปรตีน
- สามารถลดความเป็นพิษที่เกิดจากการสัมผัสสารโดยตรง
- เป็นระบบที่นำส่งสารผ่านผิวหนังได้ดี
- เป็นระบบที่ใช้ประโยชน์หลากหลายในทางเภสัชกรรม ทางเครื่องสำอาง ทางสัตวบาล
- เตรียมง่าย

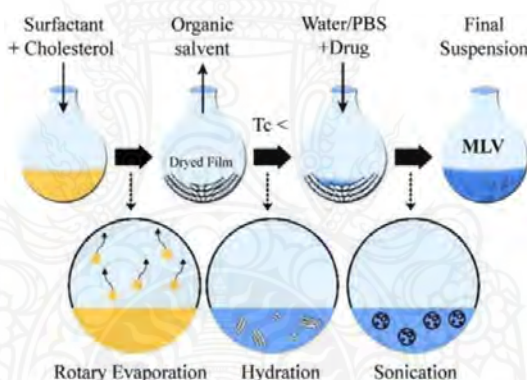
เดนไดรเมอร์ (dendrimers) เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีลักษณะโครงสร้างพอลิเมอร์ที่เหมือนต้นไม้ โดยพันธะที่มีทั้งหมดจะต่อกิ่งก้านสาขาของโมเลกุลเป็นรัศมีออกจากจุดหรือแกนที่เป็นศูนย์กลางในลักษณะโครงสร้างที่ซ้ำกัน และมีขนาดเดียวกัน เดนไดรเมอร์มีลักษณะทรงกลมสามมิติ ซึ่งมีความเสถียรสูง ลักษณะโครงสร้างของเดนไดรเมอร์ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ (1) แกนกลาง (2) ชั้นใน ซึ่งมีลักษณะของโครงสร้างที่มีกิ่งก้านแผ่เป็นรัศมีโดยติดกับแกนกลาง และ (3) ชั้นนอก ซึ่งมีลักษณะของโครงสร้างกิ่งก้านที่แผ่ออกไปจากชั้นด้านใน ขนาด รูปร่าง และความไวในการทำปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับจำนวนชั้นและส่วนประกอบทางเคมีของแกนกลาง กิ่งก้านโมเลกุลชั้นใน และกลุ่มโมเลกุลพื้นผิว เดนไดรเมอร์ประกอบด้วยโครงสร้างเคมีที่ซ้ำกัน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้หลายขนาดในระดับโมกุลไปจนถึงระดับนาโน

ข้อดีของเดนไดรเมอร์ คือ

- สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญได้ดี
- ใช้ได้ดีกับการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังแต่ไม่เข้าสู่ระบบเลือด

- ระบบทนต่อการดื้อในกระเพาะอาหาร
- ระบบสามารถกักเก็บสารสำคัญได้มาก
- ระบบสามารถปกป้องสารสำคัญจากการสลายตัวด้วยกระบวนการทางเคมีได้ดี

การเตรียมระบบนำส่งด้วยวิธีการทำให้เกิดฟิล์ม เป็นวิธีที่ง่ายและใช้กันอย่างแพร่หลาย สำหรับการเตรียมด้วยวิธีนี้ สารลดแรงตึงผิวและสารเพิ่มเติมต่าง ๆ เช่น คอเลสเตอรอล นำมาละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในภาชนะก้นกลม เมื่อทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ฟิล์มที่เกิดเคลือบอยู่ที่ผิวภายในภาชนะก้นกลม เติมสารละลายที่มีขี้ เช่น น้ำ หรือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline) เพื่อให้เกิดการพองตัวที่อุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะ (phase transition temperature, T_c) ของสารลดแรงตึงผิวและ คอเลสเตอรอล หลังจากเติมตัวทำละลายแล้ว ให้เขย่าในระหว่างที่แผ่นฟิล์มพองตัวเข้ากับบัฟเฟอร์จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นอนุภาคนีโอโซมหลายชั้น (MLV) การเติมยาขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของยา ถ้าตัวยาละลายน้ำได้ดีให้ผสมในน้ำหรือบัฟเฟอร์ และถูกกักเก็บภายในนีโอโซม แต่ถ้าตัวยาละลายน้ำได้น้อยให้ผสมตัวทำละลายอินทรีย์ และถูกกักเก็บในชั้นที่ไม่ชอบน้ำของนีโอโซมหลังจากที่เขย่าจะเห็นลักษณะเป็นของสารละลายขาวขุ่นคล้ายนม



รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งด้วยวิธีการทำให้เกิดฟิล์ม

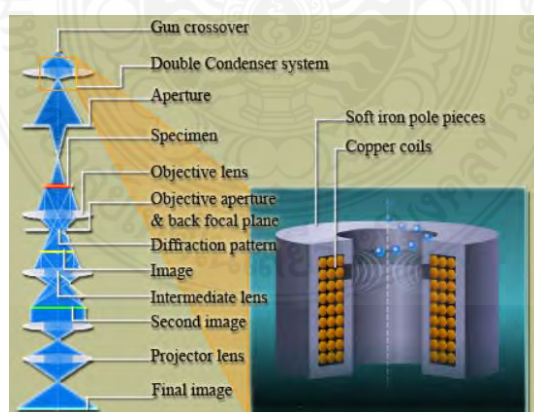
2.8 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)

เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่ใช้ศึกษาตัวอย่างชนิดบาง ซึ่งเตรียมขึ้นโดยวิธีพิเศษเพื่อให้ลำแสงอนุภาคอิเล็กตรอนผ่านทะลุได้ การสร้างภาพจากกล้องประเภทนี้จะทำได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่ทะลุผ่านตัวอย่าง เครื่อง TEM เหมาะสำหรับศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบภายในของตัวอย่าง เช่น องค์ประกอบภายในเซลล์ ลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์ เป็นต้น ซึ่งจะให้รายละเอียดสูงกว่ากล้องจุลทรรศน์ชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีกำลังขยายและประสิทธิภาพในการแจกแจงรายละเอียดสูงมาก



รูปที่ 2.7 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

หลักการทำงาน จะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ จากนั้นลำอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านตัวอย่างที่จะศึกษา (specimen) ไป ซึ่งตัวอย่างที่จะศึกษาจะต้องมีลักษณะที่แบนและบางมาก (บ่อยครั้งที่พบว่าอยู่ในช่วงระหว่าง 1 - 100 นาโนเมตร) จากนั้นจะเกิดการกระเจิงอนุภาคขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนทะลุผ่านตัวอย่างไป และอิเล็กตรอนที่ทะลุผ่านตัวอย่างนี้ก็จะถูกปรับโฟกัสของภาพโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ซึ่งเป็นเลนส์ที่ทำหน้าที่ขยายภาพให้ได้รายละเอียดมากที่สุดจากนั้นจะได้รับการขยายด้วยเลนส์ทอดภาพไปสู่จอรับ (projector lens) และปรับโฟกัสของลำอนุภาคอิเล็กตรอนให้ยาวพอดีที่จะปรากฏบนฉากรังสีเรืองแสงสุดท้ายจะเกิดการสร้างภาพขึ้นมาได้



รูปที่ 2.8 ส่วนประกอบกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

2.9 ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า

มาสก์ (Mask) คือ ผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าที่ถูกออกแบบมาเพื่อทาและทิ้งไว้บนผิวหน้าเป็นระยะเวลาหนึ่ง เพื่อให้ส่วนผสมต่าง ๆ ซึมซาบเข้าสู่ผิวและให้ผลลัพธ์ในการบำรุง ฟันฟู หรือแก้ปัญหาผิวต่าง ๆ มาสก์สามารถใช้ได้ตามความต้องการของผิว เช่น การเพิ่มความชุ่มชื้น การปรับสีผิวให้กระจ่างใส การลดริ้วรอย หรือการช่วยให้ผิวสะอาดขึ้น มาสก์มีหลายประเภท ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติและส่วนผสมที่ใช้ ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของมาสก์ได้หลากหลายตามลักษณะการใช้งานและการบำรุงผิว

มาสก์ชีต (Sheet Mask) หรือ มาสก์แผ่น เป็นแผ่นมาสก์สำเร็จรูปเคลือบเซรั่มหรือสารบำรุงผิวไว้หลากหลายสูตร โดยทั่วไปแผ่นชีตจะผลิตจากวัสดุหลายรูปแบบ เช่น ผลิตจากเส้นใยธรรมชาติ จำพวกใยฝ้าย หรือใยไผ่ ซึ่งมีราคาไม่แพง หรือผลิตเซลล์ลูโลสธรรมชาติ มีลักษณะคล้ายเยลลี่บาง ๆ ตลอดจนแบบไฮโดรเจลที่บางเบามาก แต่คงความสดชื่นได้เป็นอย่างดี เป็นต้น โดยมาสก์ชีตนั้น ได้รับความนิยมสูง เพราะใช้ง่าย และมีหลายสูตรให้เลือก จึงเหมาะกับทุกสภาพผิว

มาสก์ครีม (Cream Mask) มีลักษณะเป็นเนื้อครีมตามชื่อ ซึ่งมักมีส่วนผสมของน้ำมันอยู่ในเนื้อมาสก์ด้วย จึงทำให้เพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวหน้าได้เป็นอย่างดี เหมาะกับผู้ที่ผิวแห้ง และผิวธรรมดา สำหรับผู้มีผิวผสมก็สามารถใช้ได้เช่นกัน แต่อาจไม่ต้องบ่อยนัก สำหรับผู้ที่มีผิวมันอาจไม่ค่อยชอบความหนักและความมันของเนื้อครีมเท่าไรนัก

มาสก์เจล (Gel Mask) จะมีลักษณะเนื้อเป็นเจลใส มีสัมผัสที่บางเบาว่าชนิดอื่น เหมาะสำหรับผิวแพ้ง่ายในทุกสภาพผิว สามารถใช้เพื่อปกป้องผิวจากการระคายเคืองได้ด้วย ให้ความรู้สึกเย็นสบาย ผ่อนคลายผิว ช่วยฟันฟูผิว เติมความชุ่มชื้น ลดสิ่ว ลดรอยหมองคล้ำ เพิ่มความกระจ่างใส

มาสก์โคลน (Mud Mask) ทั้งสีและเนื้อสัมผัสของมาสก์โคลนจะมีลักษณะคล้ายโคลนมาก มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำมันส่วนเกินบนใบหน้า พร้อมช่วยขจัดสิ่งสกปรกที่อุดตันรูขุมขน เวลาที่มาสก์จะทำให้ผิวหน้ารู้สึกแห้ง ตึง จึงเหมาะกับผู้ที่มีผิวมัน และผู้ที่มีปัญหาสิ่ว โดยเมื่อมาสก์เสร็จแล้ว จะรู้สึกถึงความมันบนใบหน้าลดลง ผิวหน้ากระชับ สดชื่น สบาย

มาสก์ผง (Powder Mask) โดยทั่วไปมาสก์ผงจะสกัดมาจากสมุนไพรธรรมชาติ มีลักษณะเป็นผงเหมือนชอล์ก วิธีใช้คือนำมาสก์ผงไปผสมกับน้ำสะอาดแล้วนำมาทาลงบนใบหน้า ทิ้งไว้ประมาณ 5-20 นาที แล้วล้างออก มีคุณสมบัติช่วยในการผลัดเซลล์ผิวที่ตายแล้วให้หลุดออกอย่างเป็นธรรมชาติ ทำให้ใบหน้ามีความชุ่มชื้นเหมาะสำหรับผู้ที่เป็นสิ่วไม่มากในทุกสภาพผิวโดยเฉพาะผิวมัน ไม่เหมาะกับผู้ที่ผิวแพ้ง่ายหรือผิวบอบบาง

มาสก์บับเบิ้ล (Bubble Mask) มีลักษณะเป็นฟองฟู มีคุณสมบัติในการช่วยทำความสะอาดผิว ช่วยขจัดสิ่งตกค้างบนใบหน้า เหมาะสำหรับผู้ที่มีผิวมัน หรือผู้ที่ใช้เครื่องสำอางที่ล้างออกได้ยาก ตัวอย่างเช่น ครีมรองพื้น หรือครีมกันแดด วิธีใช้คือนวดเบาๆ ที่หน้า จะรู้สึกถึงฟองฟูยุบยับ พอทิ้งไว้ได้ทั่วใบหน้า โดยเฉพาะทีโซน แล้วล้างออก จะรู้สึกผิวสะอาด สดชื่น ช่วยลดปัญหาการเกิดสิ่วและริ้วรอย

สลีปิ้งมาสก์ (Sleeping Mask) มีคุณสมบัติในการเคลือบผิวเพื่อช่วยเก็บความชุ่มชื้นไว้ให้ผิว ช่วยฟันฟูผิวในยามค่ำคืน เนื้อสัมผัสของมาสก์โดยทั่วไปจะคล้ายเซรั่มและมีความบางเบาว่าครีมบำรุงผิวทั่วไป ทำให้รู้สึกสบายผิว ไม่ทำให้อุดตันหรือเป็นสิ่ว จึงเหมาะสำหรับทุกสภาพผิว

มาสก์ลอกออก (Peel Mask) มีลักษณะเป็นเนื้อเจลใส วิธีในการใช้ทั่วไป คือทาเนื้อมาสก์ทิ้งไว้บางๆ จนเนื้อเจลแห้งสนิท จึงค่อย ๆ ลอกออกมา โดยมาสก์เจล จะมีคุณสมบัติหลักในการลอกผิวเสี้ยน ช่วยทำความสะอาดสิ่งสกปรกตกค้างในรูขุมขน โดยเฉพาะบริเวณที่โชน ไม่เหมาะกับผู้ที่ผิวแพ้ง่าย

สลิปปี้งมาสก์ ผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้า ที่ใช้สำหรับทาทิ้งไว้บนผิวหน้าในช่วงขณะที่นอนหลับ ในรูปแบบของเนื้อเจลหรือเนื้อครีมที่มีคุณสมบัติหลัก ๆ คือการเติมน้ำให้ผิวอย่างเร่งด่วนภายใต้เวลาข้ามคืน พัฒนาสูตรเพื่อตอบโจทย์ในหลายปัญหาผิว เช่น ช่วยเพิ่มความกระจ่างใส ช่วยลดริ้วรอยต่าง ๆ หรือแม้แต่ช่วยลดสิवाद ลักษณะและคุณสมบัติของสลิปปี้งมาสก์ โดยมีเนื้อสัมผัสเบาบาง ซึมง่าย และไม่เหนอะหนะ ทำให้ทาทิ้งไว้บนใบหน้าได้ตลอดทั้งคืนโดยไม่ต้องล้างออก วิธีการใช้ ทาผลิตภัณฑ์นี้เป็นขั้นตอนสุดท้ายในช่วงการดูแลผิวดูแลกลางคืน โดยจะทาหลังจากขั้นตอนการทำความสะอาดและบำรุงผิวด้วยเซรั่มหรือครีมบำรุงต่าง ๆ แล้วทา สลิปปี้งมาสก์ให้ทั่วใบหน้า โดยส่วนผสมสลิปปี้งมาสก์มักจะมีสารบำรุงผิวที่สำคัญอย่าง เช่น กรดไฮยาลูโรนิก (ช่วยให้ความชุ่มชื้น) สารสกัดจากพืช (เช่น ว่านหางจระเข้ ชาเขียว) และ วิตามิน (เช่น วิตามินซี วิตามินอี) ที่ช่วยให้ผิวหน้ารู้สึกสดชื่นและฟื้นฟู ผลลัพธ์ เมื่อใช้สลิปปี้งมาสก์ต่อเนื่องจะช่วยให้ผิวหน้าได้รับการฟื้นฟู และชุ่มชื้นมากขึ้น ผิวหน้าจะดูสดใสและกระจ่างใสมากขึ้นในตอนเช้า

2.10 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในห้องทดลอง (Stability Testing) เป็นการทดสอบที่สำคัญในการตรวจสอบว่า ผลิตภัณฑ์ เช่น เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว หรือยาจะยังคงคุณสมบัติและประสิทธิภาพตามข้อกำหนดไว้เมื่อถูกเก็บรักษาในสภาวะต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง

1. ทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง

การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งมักจะใช้เพื่อจำลองสภาวะที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพเร็วกว่าปกติ โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงหรืออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว เพื่อดูว่า ผลิตภัณฑ์จะยังคงคุณสมบัติและความเสถียรต่อการใช้ได้หรือไม่ โดยจะทำการทดสอบในระยะเวลาดสั้น ๆ ที่อุณหภูมิสูงกว่าปกติ เช่น 40°C 50°C หรือ 60°C ความชื้นสูง โดยเก็บไว้ในสภาพที่มีความชื้นสูงการทดสอบนี้สามารถใช้ในการทดสอบความเสถียรของเนื้อผลิตภัณฑ์ เช่น สี กลิ่น และลักษณะการแยกชั้นหรือการตกตะกอน

2. ทดสอบ Heating - cooling cycle (การทดสอบการแช่แข็งและการละลาย)

ทดสอบ Heating - cooling cycle คือการทดสอบที่ผลิตภัณฑ์จะถูกแช่แข็งและละลายซ้ำหลาย ๆ ครั้ง (มักจะทำซ้ำ 3-5 รอบ) เพื่อทดสอบว่าในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว (จากเย็นไปอุ่น) ผลิตภัณฑ์จะมีการแยกชั้นหรือการตกตะกอนเกิดขึ้นหรือไม่ ซึ่งมักจะใช้ในการทดสอบผลิตภัณฑ์ประเภท โลชั่น ครีม หรือ มอยส์เจอไรเซอร์ ที่อาจมีส่วนผสมของน้ำและน้ำมัน ตัวอย่างของขั้นตอนการทดสอบ Heating - cooling แช่แข็งผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิประมาณ -5°C ถึง -10°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ละลายผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวนรอบการแช่แข็งและละลายนี้ซ้ำหลายรอบตามระยะเวลาที่กำหนด (เช่น 3 รอบ, 5 รอบ หรือมากกว่า) การทดสอบนี้จะช่วยประเมินว่าเนื้อผลิตภัณฑ์จะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น (Phase Separation) หรือการเกิดการตกตะกอน

3. ทดสอบการแยกชั้นหรือการตกตะกอน

การทดสอบการแยกชั้นหรือการตกตะกอนใช้เพื่อตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์มีการแยกชั้นของส่วนผสมระหว่างเนื้อครีม น้ำมัน และน้ำเมื่อเก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ โดยการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) ช่วยจำลองการแยกชั้นอย่างรวดเร็วภายใต้แรงเหวี่ยง ขั้นตอนการทดสอบการปั่นเหวี่ยง คือ ใส่ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในหลอดทดสอบที่มีความจุเหมาะสม ตั้งเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วประมาณ 3000-4000 rpm สำหรับเวลา 5-10 นาที (หรือค่าที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์) ตรวจสอบการแยกชั้นหรือการตกตะกอนในหลอดทดสอบเพื่อดูว่าผลิตภัณฑ์มีการแยกชั้นหรือไม่ หากผลิตภัณฑ์มีการแยกชั้นหรือการตกตะกอน อาจจะเป็นสัญญาณว่าผลิตภัณฑ์ไม่เสถียร และจะต้องปรับสูตรเพื่อให้มีความคงตัวมากขึ้น

4. การประเมินผลการทดสอบความคงตัว

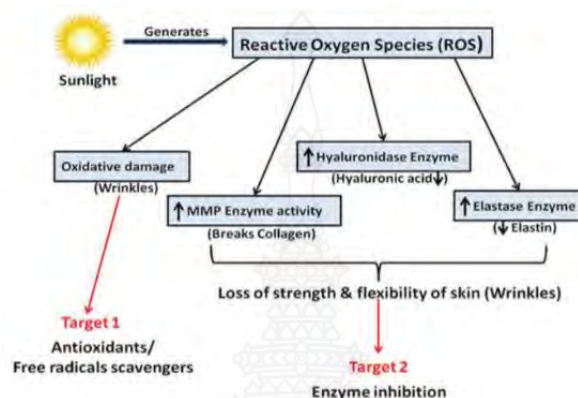
หลังจากทดสอบในสภาวะต่าง ๆ เช่น Freeze-thaw, Heating - cooling การแยกชั้น หรือการปั่นเหวี่ยง ผลลัพธ์ที่ได้จะต้องตรวจสอบและเปรียบเทียบกับคุณสมบัติเดิมของผลิตภัณฑ์ เช่นการเปลี่ยนแปลงของสี หรือ กลิ่น การแยกชั้น หรือการตกตะกอน ความเปลี่ยนแปลงทาง เนื้อสัมผัส หรือ ประสิทธิภาพ ผลลัพธ์ที่ผ่านการทดสอบสามารถใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีความเสถียรยิ่งขึ้นและมีอายุการใช้งานที่ยาวนานมากขึ้น

2.11 โครงสร้างผิวหนัง กระบวนการเสื่อมสภาพของผิวหนัง และการทดสอบการชะลอวัย

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของร่างกายมนุษย์ทำหน้าที่ปกคลุมและป้องกันอันตรายแก่ อวัยวะภายใน ทั้งเชื้อโรค สิ่งแปลกปลอม และรังสีอัลตราไวโอเลต รวมถึงรับรู้ความรู้สึก และควบคุมอุณหภูมิร่างกาย โดยผิวหนังมีทั้งหมด 3 ชั้น ได้แก่ ผิวหนังชั้นนอกหรือชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ชั้นหนังแท้ (dermis) และชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (hypodermis หรือ subcutis) ซึ่งในชั้นหนังแท้จะมีองค์ประกอบเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของโปรตีนเส้นใยกลุ่มคอลลาเจน (collagen) และเส้นใยอีลาสติน (elastin) โดยมีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ในลักษณะของเส้นใยที่ทอประสานกัน ทำหน้าที่พยุงโครงสร้างของผิวหนังให้แข็งแรงร่วมกับอีลาสตินเพื่อให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่นรวมถึงในชั้นผิวหนังยังมีกรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ทำหน้าที่ประสานเส้นใยคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสตินเข้าด้วยกัน ทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่นแข็งแรงปราศจากริ้วรอย และดึงน้ำเข้าเซลล์เพื่อให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้น [8] โดยการเสื่อมสภาพของผิวหนัง (skin aging) เกิดได้จาก 2 ปัจจัย ได้แก่

การเสื่อมสภาพของผิวหนังจากปัจจัยภายใน (Intrinsic skin aging) เกิดจากร่างกายสร้างคอลลาเจน อีลาสติน และกรดไฮยาลูโรนิกลดลงและมีการสลายตัวของคอลลาเจน อีลาสติน และกรดไฮยาลูโรนิกที่มากขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นรวมถึงกระบวนการฟื้นคืนสภาพของผิวหนังมีประสิทธิภาพลดลง ส่งผลให้ผิวหนังสูญเสียสภาพความยืดหยุ่นและเกิดรอยเหี่ยวย่น อายุที่เพิ่มขึ้นกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinase) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) เอนไซม์อีลาสเตส (elastase) และเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) ที่เป็นเอนไซม์ทำลายคอลลาเจน อีลาสติน และกรดไฮยาลูโรนิก ตามลำดับ [8] นอกจากนี้การเสื่อมสภาพของผิวหนังยังเกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ความเครียด และฮอร์โมน ซึ่งฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ที่ลดลงส่งผลให้ผิวหนังสูญเสียความชุ่มชื้นและมีการสร้างคอลลาเจนในชั้นผิวหนังลดลง [9]

การเสื่อมสภาพของผิวหนังจากปัจจัยภายนอก (Extrinsic skin aging) เกิดจากการได้รับรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultra Violet; UV) จากแสงแดดซึ่งเป็นปัจจัยกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ MMPs มากขึ้น ทำให้คอลลาเจน อีลาสติน และกรดไฮยาลูโรนิก ถูกทำลายมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเกิดเป็นสารอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species, ROS หรือ free radical) โดยสารอนุมูลอิสระจะทำให้โมเลกุลของเซลล์ผิวหนังขาดเสถียรภาพ ส่งผลให้เซลล์ผิวหนังทำงานผิดปกติและเกิดริ้วรอยได้รวมถึงสารอนุมูลอิสระยังกระตุ้นให้เอนไซม์ MMPs ทำงานมากขึ้น [8] ดังภาพประกอบ 2.8



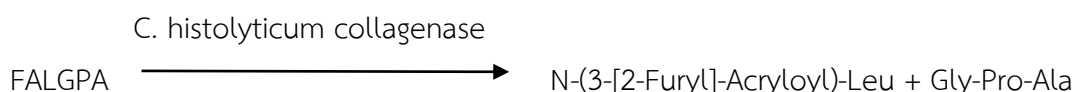
รูปที่ 2.9 กระบวนการเสื่อมสภาพของผิวหนัง

2.12 คอลลาเจน เอนไซม์คอลลาจีเนส และการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

คอลลาเจนเป็นสายโปรตีนรูปร่าง triplex helix ที่เกิดจากการประสานกันของแอลฟา (α -chains) ของกรดอะมิโนไกลซีน (glycine) โพรลีน (proline) และไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) ซึ่งคอลลาเจนมีประมาณ 28 ชนิด ชนิดที่พบมากในชั้นหนังแท้ คือ คอลลาเจน ชนิดที่ 1 และ 3 (type I & III collagen) และคอลลาเจนชนิดที่ 7 (type VII collagen) จะสามารถกระจายอยู่ในบริเวณรอยต่อผิวหนังชั้นหนังแท้กับหนังกำพร้า โดยคอลลาเจนจะประสานกันเป็นร่างแหเพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับโครงสร้างของชั้นผิวหนัง ซึ่งคอลลาเจนถูกทำลายด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส โดยการทำลายพันธะระหว่างสายโปรตีน ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของโครงร่าง triplex helix เส้นใยคอลลาเจนจึงเสื่อมสภาพ ส่งผลให้โครงสร้างของผิวหนังขาดความแข็งแรงเกิดริ้วรอย

การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส (anti-collagenase activity test) สามารถทดสอบได้ 2 วิธี คือ

วิธี spectrophotometric method การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนสใช้เอนไซม์ *Clostridium histolyticum* collagenase ในการเปลี่ยนสารตั้งต้น N-(3-[2-Furyl]-Acryloyl)-LeuGly-Pro-Ala (FALGPA) เป็นผลิตภัณฑ์ N-(3-[2-Furyl]-Acryloyl)-Leu และ Gly-Pro-Ala ตามปฏิกิริยาดังนี้



เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) วัดการลดลงของ FALGPA โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 nm [9] โดยหากสารตัวอย่างสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนสได้ การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของ FALGPA จะน้อยกว่าปฏิกิริยาควบคุมผลลบ และสามารถคำนวณหาฤทธิ์การยับยั้งเป็น %inhibition ได้จากสมการ

$$\%inhibition = \frac{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}} - \text{Fluorescence intensity}_{\text{sample}}}{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Δ Optical density คือ การเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่ เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดปฏิกิริยาของ FALGPA ในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) 2 วิธี spectrofluorometric method เอนไซม์ C. histolyticum collagenase ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น ได้แก่ collagen ที่ติดฉลากด้วยสี fluorescence ที่อุณหภูมิห้อง collagen โดยจะถูกย่อยได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตีนที่สามารถเรืองแสง fluorescence ที่ excitation 485nm และ emission 538 nm ได้



ทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) โดยวัดการเกิดขึ้นของโปรตีนเรืองแสง fluorescence ที่ excitation 485 nm และ emission 538 nm เป็นค่าการเรืองแสง fluorescence (fluorescence intensity) ของโปรตีนเรืองแสง [10]

ดังนั้นหากสารตัวอย่างสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนสได้ การเกิดขึ้นของโปรตีนเรืองแสงจะน้อยกว่าในปฏิกิริยาควบคุมผลลบซึ่งสามารถนำค่าการเรืองแสง fluorescence ของโปรตีนเรืองแสง ที่เกิดขึ้นในทั้งสองปฏิกิริยามาคำนวณหาฤทธิ์การยับยั้งเป็น %inhibition ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\%inhibition = \frac{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}} - \text{Fluorescence intensity}_{\text{sample}}}{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Fluorescence intensity คือ ค่าการเรืองแสง fluorescence ของโปรตีนเรืองแสงในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) ที่เวลาที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยา

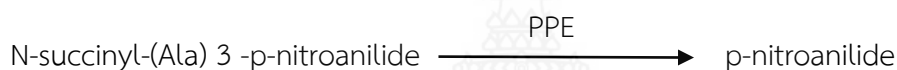
งานวิจัยนี้ทดสอบการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสด้วยวิธี spectrophotometric method โดยใช้ C. histolyticum collagenase เป็นเอนไซม์ในการทดสอบและใช้ N-(3-[2-Furyl]-Acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา

2.13 อิลาสติน เอนไซม์อีลาสเตส และการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส

อิลาสตินเป็นเส้นใยที่สร้างจากการ cross-linked tropoelastin เพื่อสร้างความยืดหยุ่นให้แก่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ปอด เส้นเอ็น ผังหนังหลอดเลือด และผิวหนัง เป็นต้น โดยเส้นใยอิลาสตินถูกทำลายด้วยเอนไซม์อีลาสเตส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease โดยเอนไซม์อีลาสเตสจะทำงานได้ต่อเมื่อมันถูก proteolysis ที่ N-terminal ด้วยกรดอะมิโนทริปซิน (trypsin) และใช้กรดอะมิโนเซอรีน (serine) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการย่อยสลายเส้นใยอิลาสติน เมื่ออิลาสตินในชั้นผิวหนังถูกทำลายจะส่งผลทำให้ผิวหนังเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นและขาดความยืดหยุ่น [11]

การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส (anti-elastase activity test) สามารถทดสอบได้ 2 วิธีคือ วิธี spectrophotometric method และวิธี spectrofluorometric method

1. วิธี spectrophotometric method การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตสจะใช้เอนไซม์ porcine pancreatic elastase (PPE) ใน การ เ ป ลี ย N-succinyl-(Ala) 3 -p-nitroanilide เป็น p-nitroanilide ซึ่งเกิดปฏิกิริยาดังนี้



ทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ p-nitroanilide ที่ความยาวคลื่น 410 nm (optical density) ดังนั้นหากสารตัวอย่างสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตสได้จะเกิดสาร p-nitroanilide น้อยกว่าในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ ซึ่งสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงของ p-nitroanilide ที่เกิดขึ้นในทั้งสองปฏิกิริยามาคำนวณหาฤทธิ์การยับยั้งเป็น %inhibition ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\%inhibition = \frac{\text{Optical density}_{\text{control}} - \text{Optical density}_{\text{sample}}}{\text{Optical density}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Optical density คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ p-nitroanilide ในปฏิกิริยา ควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) ที่เวลาที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยา

2. วิธี spectrofluorometric method ศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ porcine pancreatic elastase (PPE) กับ สารตั้งต้นโดยสารตั้งต้น คือ elastin ที่ติดฉลากด้วยสี fluorescence เมื่อเกิดปฏิกิริยา elastin ที่ถูกย่อยได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตีนที่สามารถเรืองแสง fluorescence ที่ระดับ excitation 485 nm และระดับ emission 538 nm ซึ่งเกิดปฏิกิริยาดังนี้



ทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างนั้นเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) โดยสามารถ

วัดโปรตีนเรืองแสง fluorescence ที่ excitation 485 nm และ emission 538 nm เป็นค่าการเรืองแสง fluorescence (fluorescence intensity) ของโปรตีนเรืองแสงที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา ดังนั้น หากสารตัวอย่างนั้นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเตสได้ การเกิดขึ้นของโปรตีนเรืองแสงจะน้อยกว่าในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ ซึ่งสามารถนำค่าการเรืองแสง fluorescence ของโปรตีนเรืองแสงที่เกิดขึ้นในทั้งสองปฏิกิริยามาคำนวณหาฤทธิ์การยับยั้งเป็น %inhibition ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\%inhibition = \frac{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}} - \text{Fluorescence intensity}_{\text{sample}}}{\text{Fluorescence intensity}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Fluorescence intensity คือ ค่าการเรืองแสง fluorescence ของโปรตีนเรืองแสงในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) ที่เวลาสิ้นสุดการทำปฏิกิริยา

งานวิจัยนี้ทดสอบการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสด้วยวิธี spectrophotometric method โดยใช้ porcine pancreatic elastase (PPE) เป็นเอนไซม์ในการทดสอบ และใช้ N-succinyl-(Ala) 3 -p-nitroanilide เป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา

2.14 กรดไฮยาลูโรนิก เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส

กรดไฮยาลูโรนิกเป็นไกลโคสะมิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันจนก่อเกิดเป็นพอลิเมอร์ (polymer) สายยาวระหว่างโมเลกุลของ D-glucuronic acid (GlcUA) และ N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) โดยพบตามกระดูกอ่อน น้ำไขข้อ น้ำเลี้ยงลูกตา และน้ำหล่อลื่นบริเวณส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เพื่อลดการเสียดสีของอวัยวะและเซลล์และพบในผิวหนังโดยเป็นตัวประสานเส้นใยคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสตินเข้าด้วยกัน เพื่อคงสภาพของผิวหนังให้แข็งแรง มีความยืดหยุ่นปราศจากริ้วรอย และทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นโดยการดึงน้ำเข้าเซลล์ผิวซึ่งกรดไฮยาลูโรนิกถูกทำลายด้วยเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสทำให้กรดไฮยาลูโรนิกมีความหนืด (viscosity) ลดลง และเพิ่มความสามารถในการแทรกผ่าน (permeability) ส่งผลให้ผิวหนังสูญเสียน้ำขาดความชุ่มชื้น [12] การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (anti-hyaluronidase activity test) สามารถทดสอบได้ 2 วิธี คือ วิธี turbidimetric method และวิธี colorimetric method

วิธี turbidimetric method เป็นการวัดความขุ่นที่ลดลงของสารละลายกรดไฮยาลูโรนิกเนื่องจากกรดไฮยาลูโรนิกมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกรดไฮยาลูโรนิกจึงแขวนลอยในสารละลาย ทำให้เห็นสารละลายขุ่นตามความเข้มข้นของกรดไฮยาลูโรนิกที่ใส่เมื่อเติมเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสลงไป เอนไซม์จะตัดพันธะที่เชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก ทำให้กรดไฮยาลูโรนิกมีขนาดโมเลกุลที่เล็กลงจึงละลายได้มากขึ้น ทำให้ความขุ่นของสารละลายลดลงเมื่อเทียบระหว่างก่อนการเติมเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) โดยวัดค่าความขุ่นของสารละลายที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 600 nm [13] ดังนั้นการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสจึงพิจารณาที่ค่าความขุ่นของสารละลายหลังเติมเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ถ้าสารละลายนั้นมีความขุ่นไม่ต่างจากก่อนเติมเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส แสดงว่าสารที่ทดสอบนั้นไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส

วิธี colorimetric method การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสใช้เอนไซม์ bovine testes hyaluronidase ทำปฏิกิริยากับกรดไฮยาลูโรนิก ได้ผลิตภัณฑ์เป็น N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) ซึ่งถูกเปลี่ยนไปเป็น chromogen I และ II ภายใต้สภาวะที่เป็นเบสที่อุณหภูมิ 100 °C และจะถูกเปลี่ยนเป็น chromogen III โดยสภาวะกรด และ chromogen III จะทำปฏิกิริยากับ p-dimethylaminobenzaldehyde (PDMAB) เกิดเป็นสารละลายสีม่วง (reddish-purple) ที่สามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 nm ดังรูปที่ 2.10 นอกจากนี้ได้มีการดัดแปลงวิธีการทดสอบโดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง GlcNAc กับ p-dimethylaminobenzaldehyde (PDMAB) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 570 nm

ทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และปฏิกิริยาที่ใส่สารตัวอย่างเรียกว่า ปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) โดยวัดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์หลังเกิดปฏิกิริยาระหว่าง GlcNAc กับ p-dimethylaminobenzaldehyde (PDMAB) ที่ความยาวคลื่น 570 nm [14] ดังนั้นหากสารตัวอย่างสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ จะเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้อยกว่าในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ ซึ่งสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในทั้งสองปฏิกิริยามาคำนวณหาฤทธิ์การยับยั้งเป็น %inhibition ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

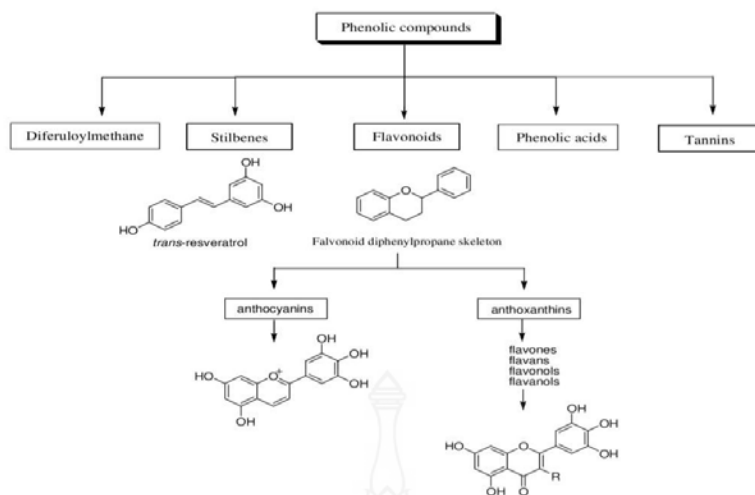
$$\%inhibition = \frac{\text{Optical density}_{\text{control}} - \text{Optical density}_{\text{sample}}}{\text{Optical density}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Optical density คือ ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ GlcNAc-PDMAB ในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test) ที่เวลาที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยา

งานวิจัยนี้ทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสด้วยวิธี colorimetric method โดยใช้ bovine testes hyaluronidase เป็นเอนไซม์ในการทดสอบ และใช้กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา

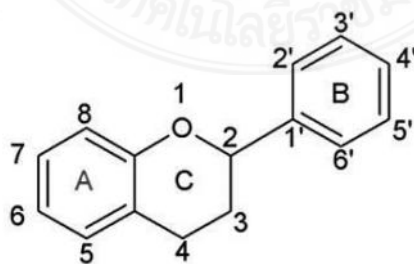
2.15 สารกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic compound) และฤทธิ์ชะลอวัย

สารกลุ่มฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิหรือพฤษเคมีที่พืชสร้างขึ้นเพื่อการเจริญเติบโต โดยโครงสร้างของสารกลุ่มฟีนอลิกประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ ต่ออยู่บนวงแหวนเบนซีน ดังรูปที่ 2.10 โดยสารกลุ่มฟีนอลิกสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่



รูปที่ 2.10 สารกลุ่มฟีนอลิก

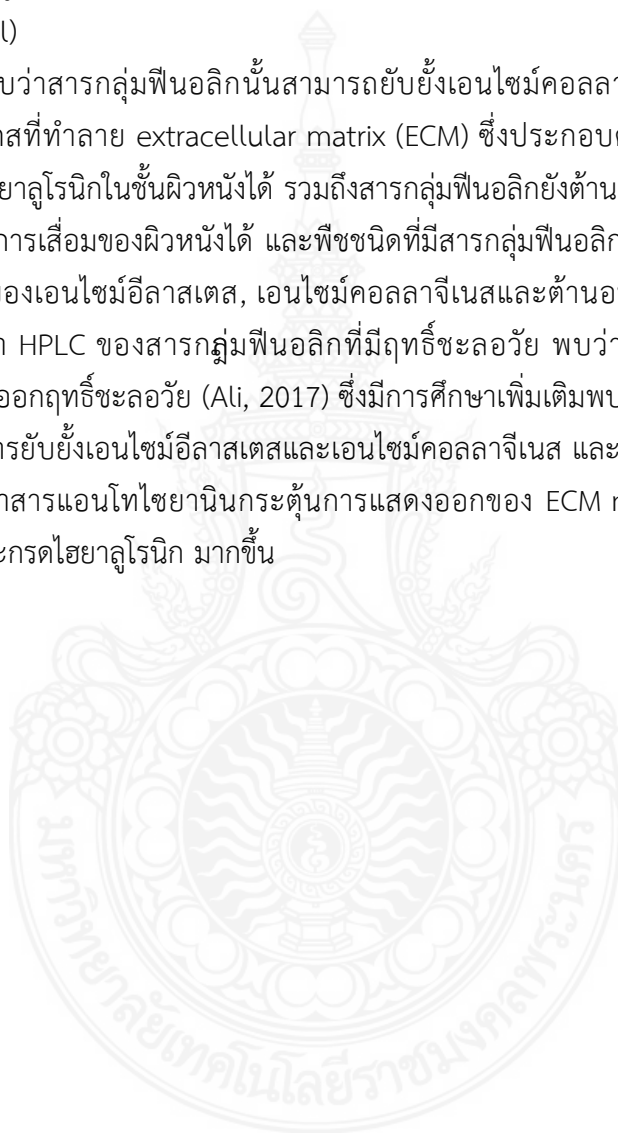
1. กรดฟีนอลิก (phenolic acids) แบ่งออกเป็นกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) เช่น กรดคาเฟอิก (caffeic acid), กรดคูมาริก (coumaric acid) เป็นต้น และกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) เช่น กรดเอลลาจิก (ellagic acid), กรดแกลลิก (gallic acid) โดยพบว่ากรดฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านการอักเสบ และต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน
2. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารกลุ่มฟีนอลิกที่พบมากที่สุดโดยโครงสร้างหลักเป็นเบนโซไพแรน (benzopyran) หรือฟลาแวนนิวเคลียส (flavan nucleus) ซึ่งจะประกอบด้วยวงเบนซีน (benzene) 2 วง (A และ B) ที่เชื่อมต่อกันด้วยวงไพแรน (pyran) หรือไพโรน (pyrone) (C) ดังรูปที่ 2.11 โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ ring c ทำให้เกิดเป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ได้แก่ ฟลาโวน (flavones), ฟลาวาโนน (flavanone), ฟลาวานอล (flavanols), ฟลาวาโนนอล (flavanonols), ฟลาแวน (flavan), ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid) และ แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งชนิดของฟลาโวนอยด์ที่พบส่วนใหญ่ คือ ไมริเซติน (myricetin), ฟิเซติน (fisetin), เควอเซติน (quercetin), แคมเฟอรอล (kaempferol) และคาทีชิน (catechin) โดยฟลาโวนอยด์มีบทบาทสำคัญในการป้องกันสารก่อมะเร็ง ต้านการกลายพันธุ์และต้านสารอนุมูลอิสระ โดยลดหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน



รูปที่ 2.11 โครงสร้างหลักของสารฟลาโวนอยด์

3. สติลเบิน (stilbenes) เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันเชื้อโรค ป้องกันแมลงกัดกินและป้องกันแสงแดด ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และต้านในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
4. แทนนิน (tannin) พบได้ทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิดมีโมเลกุลใหญ่และมีโครงสร้างที่ซับซ้อนส่วนใหญ่พบในรูปของไกลโคไซด์ ซึ่งแบ่งออกเป็น condensed tannins และ hydrolysable tannins
5. ไดเฟอรูลอยลิวมีเทน (diferuloylmethanes) เป็นสารกลุ่มฟีนอลิกกลุ่มเล็ก ๆ ที่โครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก 2 วง มีหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่และจับอยู่กับหมู่คาร์บอนิลแบบสายตรงสารไดเฟอรูลอยลิวมีเทน เช่น เคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) และไฮดรอกซีไทโรซอล (hydroxytyrosol)

จากการศึกษาพบว่าสารกลุ่มฟีนอลิกนั้นสามารถยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส เอนไซม์ อิลาสเตส และเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ทำลาย extracellular matrix (ECM) ซึ่งประกอบด้วย คอลลาเจน อิลาสติน ไฟโบรเนคติน และกรดไฮยาลูโรนิกในชั้นผิวหนังได้ รวมถึงสารกลุ่มฟีนอลิกยังต้านสารอนุมูลอิสระสามารถลดการเกิดริ้วรอยและชะลอการเสื่อมของผิวหนังได้ และพืชชนิดที่มีสารกลุ่มฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อิลาสเตส, เอนไซม์คอลลาจีเนสและต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) และจากการวิจัยที่ศึกษา HPLC ของสารกลุ่มฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ชะลอวัย พบว่าเควอเซทิน แคมเฟอร์อล และกรดแกลลิก เป็นสารออกฤทธิ์ชะลอวัย (Ali, 2017) ซึ่งมีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าแคมเฟอร์อลเควอเซทิน และไมริเซทิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อิลาสเตสและเอนไซม์คอลลาจีเนส และจากการศึกษาเพิ่มเติมของสารแอนโทไซยานินพบว่าสารแอนโทไซยานินกระตุ้นการแสดงออกของ ECM mRNA ส่งผลให้มีการสร้างคอลลาเจน อิลาสตินและกรดไฮยาลูโรนิก มากขึ้น



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการเตรียมระบบนำส่งด้วยวิธีการทำให้เกิดฟิล์ม (The thin-film hydration (TFH))

1. การเตรียมวัตถุดิบ

สารสกัดที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้ได้แก่ MYOXINOL LS 9736 สารประกอบเชิงซ้อนของโอลิโกเปปไทด์ที่ได้จากการเปลี่ยนรูปของชีวโมเลกุลของโปรตีนในกระเจียบเขียว

- แหล่งกำเนิดสินค้า: เยอรมัน
- ยี่ห้อ: BASF
- Function: Anti-Aging Agent, Anti-Wrinkle, Topical answer to smooth expression lines, Eliminate or reduce frequency of invasive procedures.
- เกรดสินค้า: Cosmetic Grade

2. วิธีการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีเข้มข้น 0.025 โมลาร์ (pH 7.4) จัดเตรียมโดยการชั่ง $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ นำมาละลายด้วย Deionized water ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย HCl หรือ NaOH ให้มีค่า pH เท่ากับ 7.4

3. การเตรียมไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว

การเตรียมไลโปโซมสามารถดำเนินการโดยการทำให้เกิดฟิล์มบาง (thin film hydration method) โดยใช้คอเลสเตอรอลและฟอสโฟลิปิดในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ละลายในสารละลายอินทรีย์ผสมเอทานอลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1:1 แล้วบรรจุในขวดก้นกลมขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไประเหยด้วยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50 °C ความเร็ว 50 รอบต่อนาที จนได้ฟิล์มแห้งเกาะติดผนังขวดก้นกลม ต่อมาเติมสารละลายสารสกัดกระเจียบเขียว ซึ่งเตรียมโดยการละลายผงสกัด 5 กรัมในน้ำยาฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดดังกล่าว แล้วทำการเขย่าเพื่อให้ฟิล์มพองตัวและกระจายเข้าสู่สารละลายอย่างสมบูรณ์ หลังจากนั้นจึงลดขนาดอุณหภูมิด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์เป็นเวลา 15 นาที และเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

4. การเตรียมนีโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว

การเตรียมนีโอโซมสามารถดำเนินการโดยวิธีการทำให้เกิดฟิล์มบาง (thin film hydration method) โดยใช้คอเลสเตอรอลและสแตน 60 ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ละลายในสารละลายอินทรีย์ผสมเอทานอลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นบรรจุในขวดก้นกลมขนาด 1000 มิลลิลิตร และทำการระเหยด้วยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50 °C ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที จนได้แผ่นฟิล์มแห้งเกาะผนังขวดก้นกลม จากนั้นเติมสารละลายสารสกัดกระเจียบเขียว ซึ่งเตรียมโดยละลายผงสกัด

5 กรัม ในน้ำยาฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดดังกล่าว แล้วเขย่าเพื่อให้แผ่นฟิล์มพองตัว และกระจายเข้าสู่สารละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์เป็นเวลา 15 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

5. การตรวจสอบลักษณะรูปร่างของไลโปโซมและนีโอโซม

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไลโปโซมและนีโอโซมตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscopy, TEM; JEOL JEM-2100, Japan) โดยอาศัยวิธีการย้อมเชิงลบ (Negative staining) ดัดแปลงตาม Therdphapiyanak (2013) ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างประกอบด้วย การเจือจางตัวอย่างในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นหยดสารแขวนลอยลงบนแผ่นคาร์บอนกริด และปล่อยให้แห้ง 5–10 นาที ก่อนซับส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรอง แล้วหยดสารละลายกรดฟอสโฟทังสติกเข้มข้น 1% (ผ่านการกรองเพื่อกำจัดตะกอน) ที่แห้ง 2–5 นาที จากนั้นซับด้วยกระดาษกรองอีกครั้งเพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับการส่องตรวจด้วย TEM

3.2 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สลิปิงมาสก์

การพัฒนาตำรับสลิปิงมาสก์ได้ดำเนินการทั้งหมด 3 ตำรับ โดยมีส่วนประกอบตามที่ระบุในตารางที่ 3.1 ได้แก่

- ตำรับ S: ผสมสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
- ตำรับ L: ผสมไลโปโซมบรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว
- ตำรับ N: ผสมนีโอโซมบรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว

การจัดเตรียมตำรับได้มีการศึกษาและปรับสัดส่วนของส่วนประกอบต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สลิปิงมาสก์ที่มีลักษณะเนื้อบางเบา ซึมซาบเร็ว ให้ความชุ่มชื้น และไม่เหนียวเหนอะหนะ โดยขั้นตอนการเตรียมตำรับประกอบด้วย

- ผสม Phase A ซึ่งเป็นส่วนของสารสร้างเนื้อผลิตภัณฑ์ จนเข้ากันเป็นเนื้อเดียว
- ผสม Phase B ซึ่งเป็นส่วนของสารออกฤทธิ์ (Active Ingredients) ให้เข้ากัน จากนั้นค่อย ๆ เติมลงใน Phase A ภายใต้การคนอย่างต่อเนื่อง
- เมื่อ Phase A และ Phase B ผสมเข้ากันดีแล้ว เติม Phase C ซึ่งประกอบด้วยสารกันเสียและน้ำหอมลงไป
- คนส่วนผสมทั้งหมดจนได้เนื้อผลิตภัณฑ์ที่สม่ำเสมอและมีความคงตัว

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสลิปปีงมาสก์และหน้าที่ในตำรับ

Phase	Ingredients	Formulas (% w/w)			Function
		S	L	N	
A	Water	85.5	57	57	Solvent
	Aristoflex avc	2	2	2	Gelling agent
	Butylene glycol	3	3	3	Humectant
	Glycerin	2	2	2	Humectant
	Disodium EDTA	0.1	0.1	0.1	Chelating agent
B	Nicotinamide	1	1	1	Whitening Agent
	Hymagic 4D	0.5	0.5	0.5	Moisturizer
	Acetyl hexapeptide 8	3	3	3	Anti-Aging Agent
	Myoxinol LS 9736	1.5	-	-	Anti-Aging Agent
	Myoxinol LS 9736 in Liposome	-	30	-	Anti-Aging Agent
	Myoxinol LS 9736 in niosome	-	-	30	Anti-Aging Agent
	Allantoin	0.4	0.4	0.4	Skin-softening
C	Microcare PHC	1	1	1	Preservative
	Fragrance	q.s.	q.s.	q.s.	Fragrance

3.3 การทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาสก์

1. การทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งโดยวิธี Heating-Cooling Cycle

ผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาสก์ถูกนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และต่อด้วยการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบของการทดสอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 6 รอบ ในแต่ละรอบบันทึกลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะที่ปรากฏ สี กลิ่น ความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คำนวณร้อยละการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับค่าก่อนทำการทดสอบ และเปรียบเทียบผลลัพธ์กับตัวควบคุมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. การทดสอบการแยกชั้นหรือตกตะกอนด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง

ทำการปั่นเหวี่ยงผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที และสังเกตการเกิดการแยกชั้นหรือตกตะกอนของผลิตภัณฑ์

3.4 การทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย

1. การเตรียมสารสำหรับการทดสอบ (ดัดแปลงจาก ชีวบัณฑิต, 2563)

- เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ Tricine 0.05 M (pH 7.5)
- เตรียมสารละลาย Collagenase type I จาก *Clostridium histolyticum* ให้ความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเท่ากับ 6.25 collagen digestion units (CDU)
- เตรียมสารละลาย N-[3-(2-furyl)-acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเท่ากับ 0.8 mM
- เตรียมสารละลาย Gallic acid ละลายใน Tricine buffer ให้ความเข้มข้น 1–50 µg/mL
- เตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10,000 µg/mL โดยใช้ Tricine buffer เป็นตัวทำละลาย และเจือจางเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ระดับเพื่อใช้วิเคราะห์กราฟมาตรฐาน

วิธีการทดสอบ

- ทำการทดลองสำหรับแต่ละตัวอย่าง โดยมีการทดสอบ Negative control, Positive control และ Tested sample บน 96-well plate
- ปิเปตสารทดสอบลงในหลุมของ 96-well plate
- บ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากเติม Tricine buffer, สารทดสอบ และ Collagenase type I
- เติมสาร FALGPA แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 nm ด้วย microplate reader ทุก 10 นาที เป็นเวลา 60 นาที
- นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเป็นร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) ของเอนไซม์

$$\% \text{inhibition} = \frac{\Delta \text{Optical density}_{\text{control}} - \Delta \text{Optical density}_{\text{sample}}}{\Delta \text{Optical density}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Δ Optical density หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่จุดเริ่มต้นจนถึงจุดสิ้นสุดปฏิกิริยา (30 นาที) ของ FALGPA ทั้งในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (Negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (Sample test)

- สำหรับสารทดสอบ นำค่าร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) ที่คำนวณได้จากความเข้มข้นอย่างน้อย 4 ระดับ มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารทดสอบกับค่าเฉลี่ยของ % inhibition จากนั้นหาค่า IC_{50} โดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟ

ตารางที่ 3.2 ปริมาตรสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

กลุ่ม	ลำดับและปริมาตรสารใน 96-well plate (μl)				เวลาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
	Tricine Buffer	Sample	Collagenase Enzyme	FALGPA	
Negative control	120	-	15	15	
Blank negative control	135	-	15	-	
Positive control	-	120	15	15	
Blank positive control	15	120	15	-	
Tested sample	-	120	15	15	
Blank tested sample	15	120	15	-	

เมื่อ sample คือ gallic acid สำหรับ positive control และสารละลายตัวอย่างสำหรับ tested sample

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส

การเตรียมสารละลายสำหรับการทดสอบ (ดัดแปลงจาก ชิวบันเทิง, 2563)

- เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.2 M Tris-HCl (pH 8.0)
- เตรียมสารละลาย Porcine Pancreatic Elastase type IV (PPE) (4.5 unit/mg solid) ที่ความเข้มข้น 0.01 mg/ml
- เตรียมสารละลาย N-Succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide (SANA) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาที่ 0.8 mM
- เตรียมสารละลาย gallic acid ละลายด้วย Tris-HCl buffer เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1–50 μg/ml
- เตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10,000 μg/ml โดยใช้ Tris-HCl buffer เป็นตัวทำละลาย และเจือจางออกเป็นอย่างน้อย 5 ความเข้มข้นสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

วิธีการทดสอบ

- ทำการทดลองของแต่ละตัวอย่างโดยรวม Negative control, Positive control และ Tested sample ลงใน 96-well plate
- ปิเปตสารทดสอบลงในแต่ละหลุมของ 96-well plate
- ทำการบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หลังเติม Tris-HCl buffer, สารทดสอบ และ PPE
- เติมสาร SANA และบ่มต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที
- วัดค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละหลุมด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 410 nm ทุก 10 นาที เป็นเวลา 60 นาที
- คำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เป็นร้อยละการยับยั้ง (% inhibition)

$$\% \text{inhibition} = \frac{\Delta \text{Optical density}_{\text{control}} - \Delta \text{Optical density}_{\text{sample}}}{\Delta \text{Optical density}_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ Δ Optical density หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดปฏิกิริยา (50 นาที) ของสาร p-nitroanilide ในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test)

- สำหรับสารทดสอบ นำค่าร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) ที่คำนวณได้จากอย่างน้อย 4 ความเข้มข้น ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารทดสอบกับค่าเฉลี่ยของ % inhibition จากนั้นหาค่า IC_{50} โดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟ

ตารางที่ 3.3 ปริมาตรสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส

กลุ่ม	ลำดับและปริมาตรสารใน 96-well plate (μ l)				
	Tris-HCl Buffer	Sample	PPE	SANA	
Negative control	160	-	20	20	incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
Blank negative control	180	-	-	20	
Positive control	-	160	20	20	
Blank positive control	20	160	-	20	
Tested sample	-	160	20	20	
Blank tested sample	20	160	-	20	

เมื่อ sample คือ gallic acid สำหรับ positive control และสารละลายตัวอย่างสำหรับ tested sample

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส

การเตรียมสารสำหรับการทดสอบ

- เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 M acetate buffer (pH 3.6)
- เตรียมสารละลาย hyaluronidase จาก bovine testes (800 units/mg solid) ให้ได้ความเข้มข้น 7900 units/ml
- เตรียมสารละลาย hyaluronic acid (HA) ความเข้มข้น 15 mg/ml
- เตรียมสารละลาย p-dimethylaminobenzaldehyde (PDMAB) โดยละลายด้วย 10N HCl และ glacial acetic acid

- เตรียมสารละลาย quercetin ปรับปริมาตรด้วย ethanol AR ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยา 0.6 mg/ml และ sonicate จนได้สารละลายสีเหลืองใส
- เตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยใช้ ethanol AR เป็นตัวทำละลาย และเจือจางเป็นอย่างน้อย 5 ความเข้มข้นสำหรับวิเคราะห์กราฟมาตรฐาน

วิธีการทดสอบ

- ทำการทดลองแต่ละตัวอย่างโดยทดสอบ negative control, positive control, solvent control และ tested sample ใน 96-well plate
- ปิเปตสารทดสอบลงใน 96-well plate
- บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 40 นาที หลังจากเติมเอนไซม์ไฮยาโลโรนิเดส, สารทดสอบ และกรดไฮยาโลโรนิก
- เติมสาร PDMA B และวัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 nm ทุก ๆ 10 นาที เป็นเวลา 60 นาที
- นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณเป็นร้อยละการยับยั้ง (% inhibition)

$$\%inhibition = \frac{\Delta Optical\ density_{control} - \Delta Optical\ density_{sample}}{\Delta Optical\ density_{control}} \times 100$$

เมื่อ Δ Optical density หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดปฏิกิริยา (40 นาที) ของ GlcNAc-PDMA B ทั้งในปฏิกิริยาควบคุมผลลบ (negative control) และในปฏิกิริยาทดสอบ (sample test)

- สำหรับสารทดสอบ ให้นำค่า % inhibition อย่างน้อย 4 ความเข้มข้นที่คำนวณได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารทดสอบกับค่าเฉลี่ยของ % inhibition ที่คำนวณได้จากนั้นหาค่า IC₅₀ โดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟ

ตารางที่ 3.4 ปริมาตรสารที่ใช้ทดสอบและวิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส

กลุ่ม	ลำดับและปริมาตรสารใน 96-well plate (μl)					
	Hyaluronidase	Sample	Acetate buffer	HA	PDMAB	
Negative control	50	-	50	250		1000
Blank negative control	50	-	300	-		1000
Solvent control	50	50	-	250		1000
Blank solvent control	50	50	250	-		1000
Positive control	50	50	-	250		1000
Blank positive control	50	50	250	-		1000
Tested sample	50	50	-	250		1000
Blank tested sample	50	50	250	-		1000

incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 40 นาที

เมื่อ sample คือ ethanol AR สำหรับ solvent control, quercetin สำหรับ positive control และสารละลายตัวอย่างสำหรับ tested sample

3.5 การทดสอบทางคลินิก

1. การคัดเลือกอาสาสมัคร

นักวิจัยคัดเลือกอาสาสมัครจำนวน 40 คน อายุ 30–60 ปี สุขภาพดี ไม่มีโรคผิวหนังหรือรอยโรคในบริเวณทดสอบ เงื่อนไขคัดเลือก: ผิวปกติ, ไม่ใช้ยาต่อต้านอาการแพ้หรือสเตียรอยด์, ไม่ตั้งครรภ์ และไม่ให้นมบุตร เงื่อนไขยกเว้น: การใช้ยาเฉพาะที่มีสเตียรอยด์, พยาธิสภาพผิวหนังรุนแรง เช่น ผื่นแดงหรือกลาก อาสาสมัครได้รับข้อมูลเกี่ยวกับวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการทดสอบ และผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น พร้อมค่าตอบแทน และต้องลงนามยินยอมก่อนเข้าร่วม มีสิทธิถอนตัวได้ทุกเมื่อโดยไม่เสียสิทธิประโยชน์

2. การทดสอบการแพ้และระคายเคือง

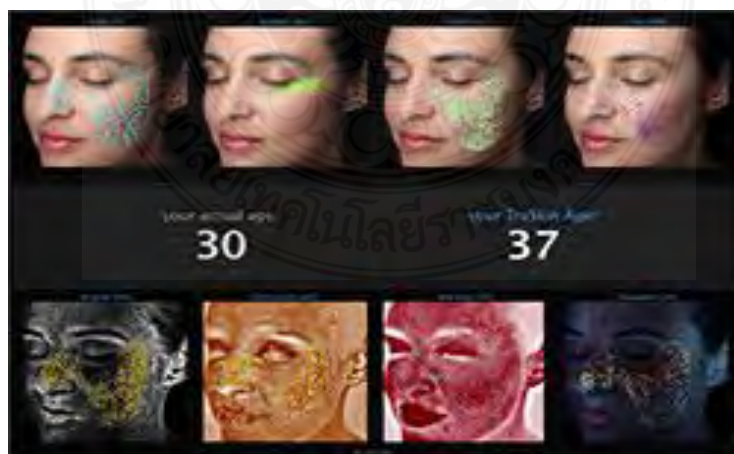
ใช้ Patch test โดยทาผลิตภัณฑ์ 5 กรัม บนแขนด้านใน ภายใต้แผ่นปิด 10 × 20 cm² เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากเปิดแผ่นปิดจะสังเกตอาการระคายเคือง ระดับการระคายเคือง: ไม่มีอาการ และ มีอาการเล็กน้อย: คันหรือแดงชั่วคราว มีเลือดคั่งหรือบวม

3. การเตรียมสภาพแวดล้อมในการวัดสภาพผิว

เพื่อให้ผลการวัดไม่คลาดเคลื่อนจากแสงหรืออุณหภูมิ อาสาสมัครพักในห้องปรับอากาศ 20 ± 2 °C, ความชื้นสัมพัทธ์ 40–60 %RH เป็นเวลา 30 นาที ก่อนทำการวัด

4. การประเมินประสิทธิภาพทางคลินิกระยะยาว

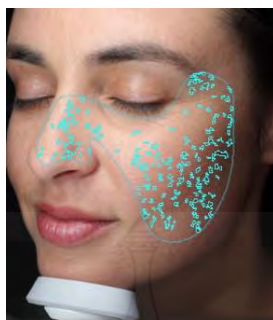
- ระยะเวลา: 8 สัปดาห์, วัดสัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- เครื่องมือ: Cutometer dual MPA 580, Germany
- Corneometer CM825: วัดความชุ่มชื้นของ Stratum corneum (หน่วย A.U.)
- Tewameter TM300: วัดการสูญเสียน้ำของผิว (TEWL) เป็น $\text{g/m}^2/\text{h}$ และร้อยละเปลี่ยนแปลง
- Mexameter MX18: วัดสีผิว (เมลานินและรอยแดง)
- Cutometer MPA 580: วัดความยืดหยุ่นและการคืนตัวของผิว
- พารามิเตอร์ Cutometer:
 - R-Parameters (ความยืดหยุ่น):
 - R6 (Ua/Ue): อัตราส่วนการคืนตัวต่อการยืดตัว แสดงความยืดหยุ่นแท้จริงของผิว
 - R8: ความสามารถของผิวในการคืนตัวหลังถูกกด ยิ่งใกล้ 1 ยิ่งคืนตัวดี
- Q-Parameters (การฟื้นตัวของผิวตามอายุ):
 - Q1: การคืนตัวแบบยืดหยุ่น ค่า Q1 สูง = ฟื้นตัวเร็ว
 - Q3: การคืนตัวแบบรวมความหนืดและยืดหยุ่น (Viscoelastic recovery)
 - ค่า Q3 สูง = ผิวยืดหยุ่นและคืนตัวดี
- ปัจจัยที่ส่งผลต่อพารามิเตอร์:
 - เส้นใยอีลาสติก (Elastic fibers) → ช่วยยืดและคืนตัว
 - เส้นใยคอลลาเจน (Collagen fibers) → เสริมโครงสร้างผิวให้แน่น
 - ความชุ่มชื้นของผิว (Hyaluronic acid) → คืนตัวเร็ว



รูปที่ 3.1 Quantitative feature analyser

- Spots จุดต่างดำน

โดยทั่วไปเป็นรอยผิวหนึ่งสีน้ำตาลหรือสีแดง สามารถแยกแยะได้จากสีและความแตกต่างที่ชัดเจนจากโทนสีผิวพื้นหลัง จุดมีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน และปกติจะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า



รูปที่ 3.2 Spots

- Wrinkles ร้วรอย

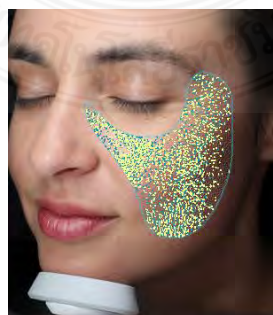
ร่อง รอยพับ หรือรอยย่นบนผิวหนังที่อาจเพิ่มขึ้นอันเป็นผลจากการสัมผัสแสงแดด และเกี่ยวข้องกับอายุและความยืดหยุ่นของผิวหนังที่ลดลง



รูปที่ 3.3 Wrinkles

- Texture พื้นผิว

บริเวณที่นูนและยุบลงซึ่งบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงบนผิวภายนอกที่ส่งผลต่อความเรียบเนียนของผิว



รูปที่ 3.4 Texture

- Pores รูขุมขน

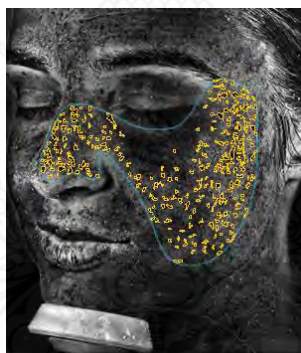
รูขุมขนที่ผิวเป็นวงกลมของท่อต่อมเหงื่อรูขุมขนที่ขยายใหญ่ขึ้นจะดูเข้มกว่าสีผิวโดยรอบเนื่องจากมีเงา และสังเกตได้จากสีเข้มกว่าและรูปร่างเป็นวงกลม



รูปที่ 3.5 Pores

- spots ความเสียหายจากแสงแดด

การดูดซับแสง UV โดยเมลานินในชั้นหนังกำพร้าใต้ผิวหนัง ส่งผลให้มีจุดต่างดำนที่เกิดจากแสงแดดและตรวจพบได้



รูปที่ 3.6 UV spots

- Brown Spots จุดต่างดำน

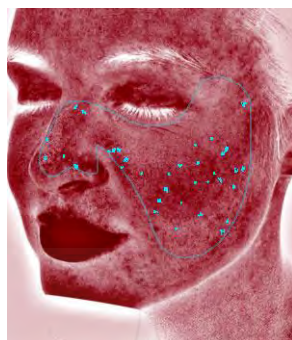
เกิดจากบริเวณนั้นมีการสะสมของ Melanin ซึ่งผลิตจาก Melanocytes ที่อยู่ใต้ผิวซึ่งมีมากกว่าปกติ เช่น กระ ฝ้า จุดต่างดำนบนใบหน้า Brown spots จะทำให้เห็นความไม่สม่ำเสมอของสีผิวที่อยู่ด้านบนและภายในผิว ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถตรวจได้ด้วย RBXTM Technology



รูปที่ 3.7 Brown spots

- Red areas รอยแดง

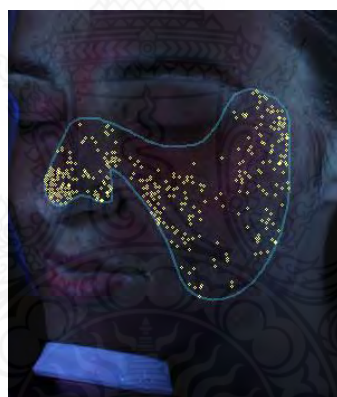
รอยแดงเข้มที่มีความเข้มข้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับภาวะต่าง ๆ เช่น การอักเสบหรือเส้นเลือดฝอยแตก



รูปที่ 3.8 Red areas

- Porphyrins เชื้อสี

สารคัดหลั่งจากแบคทีเรียที่อาจติดค้างอยู่ในรูขุมขนได้



รูปที่ 3.9 Porphyrins

3.6 การทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

อาสาสมัครทำการทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สลิปโป้มาสก์ โดยแบ่งตัวอย่างทดสอบเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้:

- ตัวอย่างที่ 1 (S): สลิปโป้มาสก์ที่ใส่สารสกัดกระเจียวเขียว
- ตัวอย่างที่ 2 (L): สลิปโป้มาสก์ที่ใส่ไลโปโซมบรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว
- ตัวอย่างที่ 3 (N): สลิปโป้มาสก์ที่ใส่ไนโอโซมบรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว
- ตัวอย่างที่ 4 (M): ผลิตภัณฑ์สลิปโป้มาสก์จากท้องตลาด

การทดสอบแบ่งแบบสอบถามออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้:

- ข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัคร
 - อาสาสมัครกรอกข้อมูลส่วนบุคคล เช่น เพศ อายุ สภาพผิว ตามความจริง

- ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านต่าง ๆ

ประเมินด้วยคะแนนเต็ม 5 คะแนน ในแต่ละหัวข้อ ได้แก่

- เนื้อสัมผัส (Texture)
- ความเกลี้ยงง่าย (Spreadability)
- การซึมเข้าสู่ผิว (Absorption)
- ความเหนียวเหนอะหนะผิว (Stickiness)
- ความชุ่มชื้น (Moisturizing effect)
- ความรู้สึกหลังใช้ทันที (Immediate skin feel)

- ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์เมื่อซึมเข้าผิวแล้ว

ตัวเลือกตอบ 3 แบบ ได้แก่

- สบายผิว ไม่เหนียวเหนอะหนะ
- เฉย ๆ
- เหนียวเหนอะหนะ ไม่สบายผิว

- ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

- อาสาสมัครให้ความคิดเห็นและคำแนะนำแบบเปิดเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์

- การวิเคราะห์สถิติ:

- เปรียบเทียบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น (S, L, N) กับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด (M)
- ใช้ Paired t-test เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการเตรียมระบบนำส่งที่ห่อหุ้มสารสกัดกระเจียวเขียว

แผ่นฟิล์มที่เกิดจากไลโปโซมและนีโอโซมหลังจากระเหยตัวทำละลายออกในขวดก้นกลม มีลักษณะสีที่แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของส่วนประกอบที่ทำให้เกิดฟิล์ม: แผ่นฟิล์มของไลโปโซมมีสีขาวปนเหลือง ในขณะที่แผ่นฟิล์มของนีโอโซมมีสีขาวขุ่น (ดังแสดงในรูปที่ 4.1) อย่างไรก็ตาม เมื่อทั้งสองสารละลายถูกบรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว สีของสารละลายทั้งสองไม่แสดงความแตกต่างกันอย่างชัดเจน (ดังแสดงในรูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.1 สารละลายนีโอโซม (ซ้าย) สารละลายไลโปโซม (ขวา)

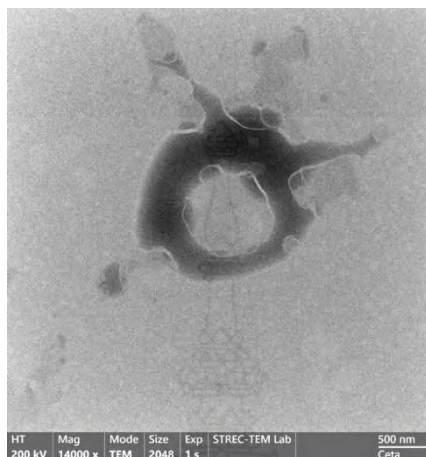


รูปที่ 4.2 สารละลายนีโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว (ซ้าย)
สารละลายไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว (ขวา)

4.2 ผลการตรวจสอบโครงสร้างลักษณะรูปร่างไลโปโซมและนีโอโซม

1. ลักษณะรูปร่างของไลโปโซม

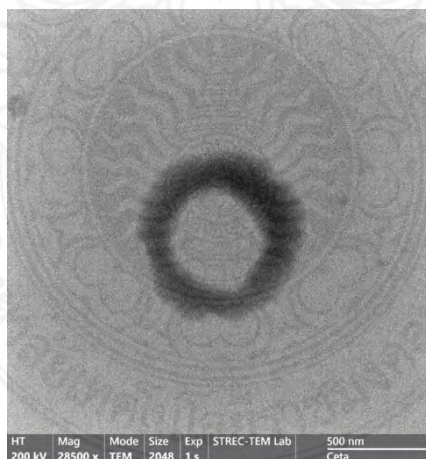
ขนาดของไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว เมื่อวัดโดยการประมาณ พบว่ามีขนาดอยู่ในช่วง 100–1,000 นาโนเมตร



รูปที่ 4.3 รูปร่างไลโปโซมที่ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านกำลังขยาย 14,000 เท่า

2. ลักษณะรูปร่างของนีโอโซม

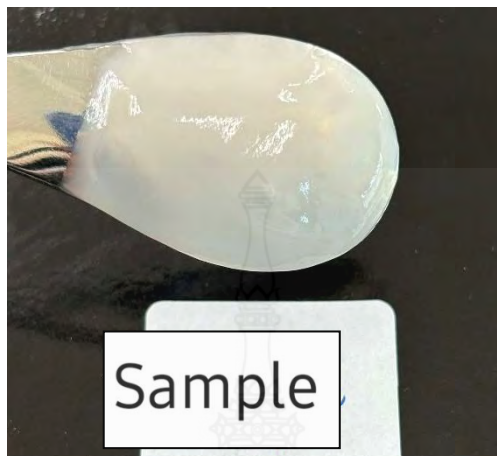
ขนาดของนีโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว เมื่อวัดโดยการประมาณ พบว่ามีขนาดอยู่ในช่วง 100–1,000 นาโนเมตร



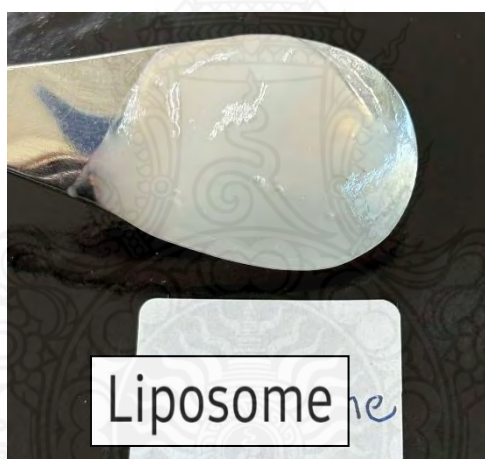
รูปที่ 4.4 รูปร่างนีโอโซมที่ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านกำลังขยาย 28,500 เท่า

4.3 ผลการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาร์กทั้ง 3 ตำรับ มีลักษณะเนื้อเป็น pudding cream ดังแสดงในรูปด้านล่าง โดยผลิตภัณฑ์ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว ซึมซาบเร็ว และไม่เหนียวเหนอะหนะ ทาบนผิวจะให้ความรู้สึกเย็นสบาย



รูปที่ 4.5 ตำรับ S ใส่สารสกัดกระเจียบเขียว



รูปที่ 4.6 ตำรับ L ใส่ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว



รูปที่ 4.7 ตำรับ N ใส่ไนโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว

4.4 ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

1. ทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating - cooling cycle

ผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์กทั้ง 3 ตำรับ มี ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ที่ประมาณ 5.7 เมื่อตรวจสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating–Cooling Cycle พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง pH เล็กน้อย แต่ยังคงอยู่ในช่วง 5.5–6.5 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับผิว และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่น

สำหรับ ความหนืดของผลิตภัณฑ์ พบรายละเอียดดังนี้:

- ตำรับ S: ค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงสูงสุดของความหนืดเมื่อเก็บในสภาวะเร่งและอุณหภูมิห้อง เท่ากับ -15.23 และ -13.26 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 6 รอบการทดสอบ
- ตำรับ L: ค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงสูงสุดของความหนืดเมื่อเก็บในสภาวะเร่งและอุณหภูมิห้อง เท่ากับ 1.10 และ -9.50 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 6 รอบการทดสอบ
- ตำรับ N: ค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงสูงสุดของความหนืดเมื่อเก็บในสภาวะเร่งและอุณหภูมิห้อง เท่ากับ -6.52 และ -2.16 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 6 รอบการทดสอบ

ข้อมูลสรุปดังกล่าวแสดงใน ตารางที่ 4.1

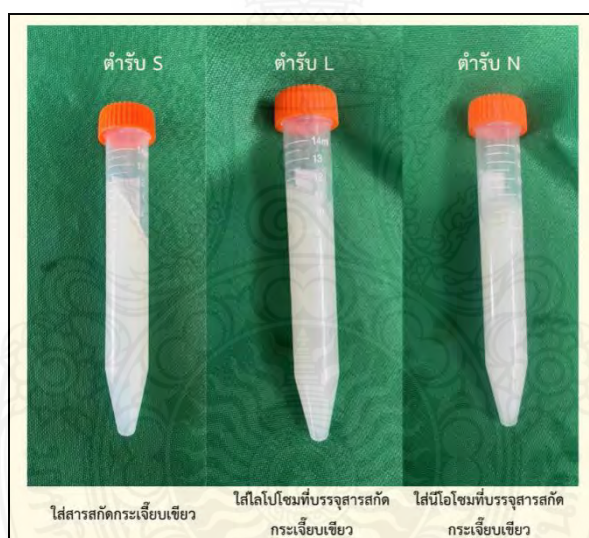
ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบความหนืดในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating - cooling cycle

ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	ค่าความหนืดหลังทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง							Avg ± SD.	ร้อยละการเปลี่ยนแปลงสูงสุด	P - value
		รอบที่ 0	รอบที่ 1	รอบที่ 2	รอบที่ 3	รอบที่ 4	รอบที่ 5	รอบที่ 6			
S1	ความหนืด	14510	13950	13980	12390	12300	12870	13430	13347 ± 852.77	-15.23	0.011
S2	ความหนืด	14180	14580	12390	12300	13110	13640	12930	13304 ± 868.85	-13.26	0.032
L1	ความหนืด	6083	6080	6073	6120	6150	6088	6105	6099 ± 27.35	1.10	0.156
L2	ความหนืด	6075	5955	6080	6128	6073	5730	5498	5934 ± 234.63	-9.50	0.165
N1	ความหนืด	6338	6300	6293	6285	6308	6203	5925	6236 ± 143.26	-6.52	0.108
N2	ความหนืด	6248	6360	6165	6128	6113	6195	6240	6207 ± 84.82	-2.16	0.248

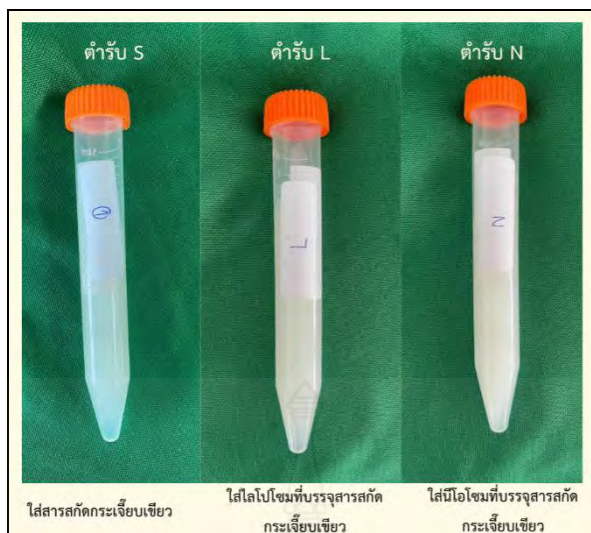
- S1: สลึปปึงมาสกลีสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และ 40 °C
 S2: สลึปปึงมาสกลีสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิห้อง
 L1: สลึปปึงมาสกลีไลโปโซมบรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และ 40 °C
 L2: สลึปปึงมาสกลีไลโปโซมบรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิห้อง
 N1: สลึปปึงมาสกลีไนโอโซมบรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และ 40 °C
 N2: สลึปปึงมาสกลีไนโอโซมบรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. ทดสอบการแยกชั้นหรือการตกตะกอนด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง

ผลิตภัณฑ์สลึปปึงมาสกลีทั้ง 3 ตำรับ ที่ผ่านการทดสอบ Heating–Cooling Cycle แต่ละรอบ ได้ถูกนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เพื่อประเมินการตกตะกอนหรือการแยกชั้นของเนื้อผลิตภัณฑ์ ผลการทดสอบพบว่า เนื้อผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ตำรับ ไม่เกิดการตกตะกอนหรือแยกชั้น ซึ่งแสดงถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะเร่ง ดังแสดงใน รูปที่ 4.8 และ 4.9



รูปที่ 4.8 สลึปปึงมาสกลีทั้ง 3 ตำรับ ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง



รูปที่ 4.9 สลึบปิ้งมาสก์ทั้ง 3 ตัวรับ หลังจากนำไปปั่นเหวี่ยง

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย

การศึกษาฤทธิ์ชะลอวัยของผลิตภัณฑ์ สลึบปิ้งมาสก์ทั้ง 3 ตัวรับ โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส อีลาสเตส และเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ให้ผลการทดลองดังนี้

1. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ช่วงเวลาที่ 30-0 นาที)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของ สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว ดำเนินการที่ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ โดยใช้วิธี spectrophotometric method ก่อนทดสอบ ได้ตรวจสอบความเหมาะสมของสภาวะการทดลองด้วยสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 3–5 mg/ml พบว่า ค่า IC_{50} ของ gallic acid เท่ากับ 1.72 mg/ml (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.10) จึงใช้ gallic acid เป็น ปฏิกริยาควบคุมผลบวก ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของตัวอย่างต่าง ๆ มีดังนี้

1. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (Sample 1)

- ค่า IC_{50} = 1.51 μ g/ml
- แสดง ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid
- สรุปผลใน ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.11

2. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในไลโปโซม (Liposome)

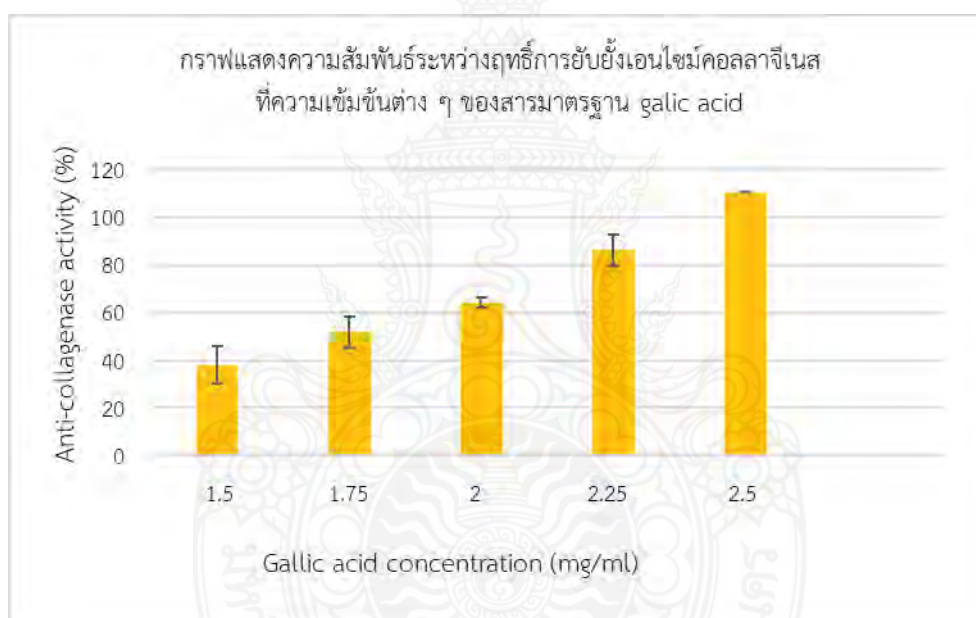
- ค่า IC_{50} = 298.09 μ g/ml
- มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid
- แสดงผลใน ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.12

3. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในนีโอโซม (Niosome)

- ค่า IC_{50} = 251.06 μ g/ml
- มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid
- แสดงผลใน ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.13

ตารางที่ 4.2 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารมาตรฐาน gallic acid

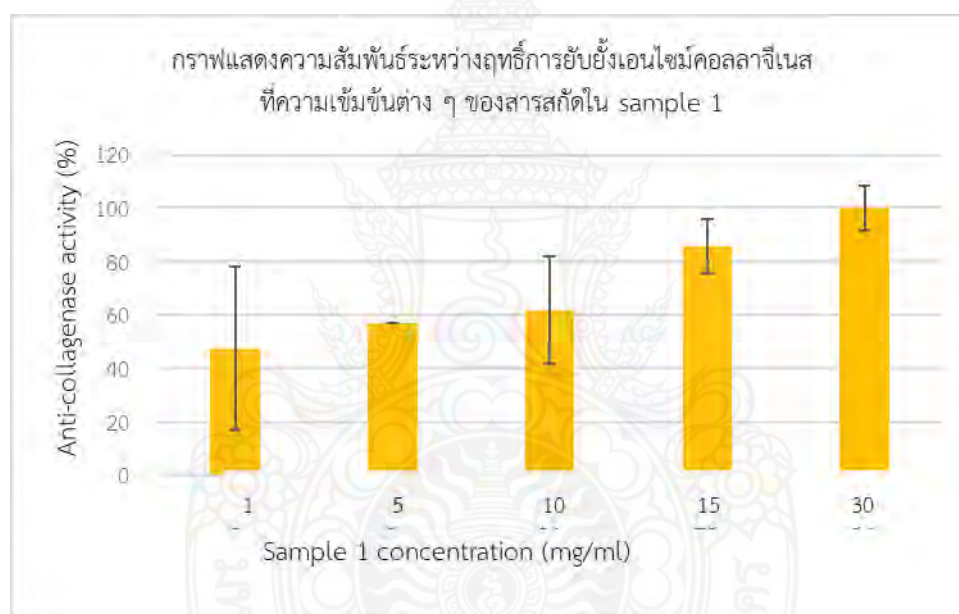
ความเข้มข้นสาร มาตรฐาน Gallic acid (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์คอลลา จีเนส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (mg/ml)
1.5	37.95 ± 7.86	$Y = 71.7x - 73.276$ $R^2 = 0.9789$	1.72
1.75	51.74 ± 6.42		
2	64.38 ± 2.14		
2.25	86.21 ± 6.42		
2.5	110.34 ± 0		



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน gallic acid

ตารางที่ 4.3 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจียบเขียวใน Sample 1

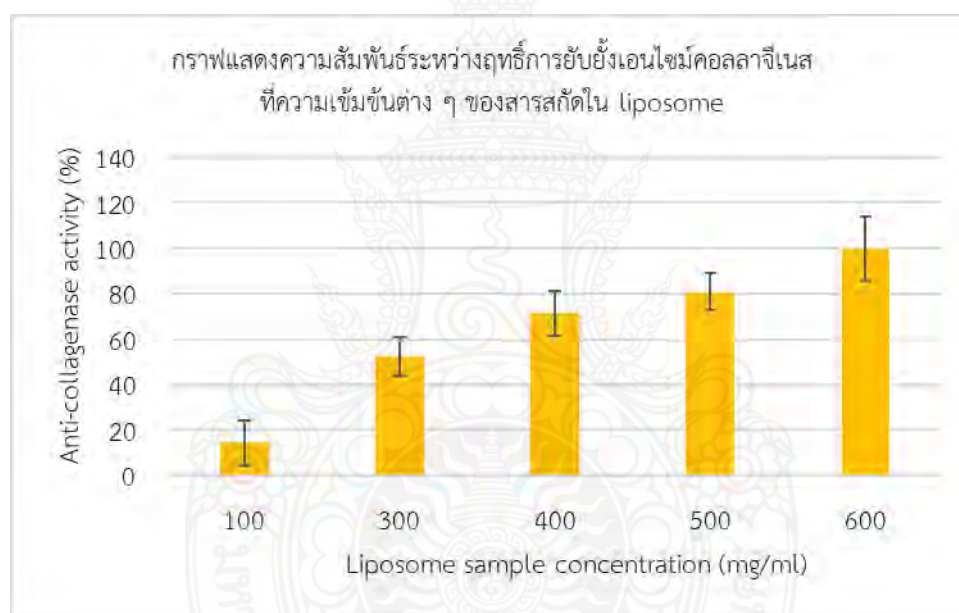
ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Sample 1 (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์คอลลา จีเนส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (µg/ml)
1	47.62 ± 30.30	$y = 1.8266x + 47.239$ $R^2 = 0.9659$	1.51
5	57.14 ± 0		
10	61.90 ± 20.20		
15	80.95 ± 10.10		
30	100 ± 8.25		



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1

ตารางที่ 4.4 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome

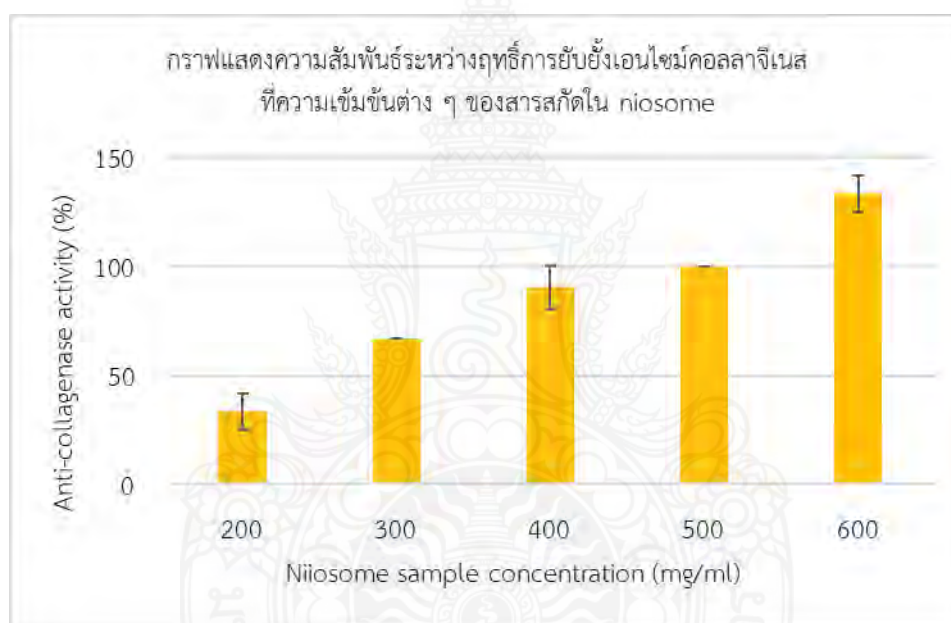
ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Liposome ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ คอลลาจีเนส	สมการเส้นตรง	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
100	14.27 ± 10.10	$y = 1.8266x + 47.239$ $R^2 = 0.9659$	298.09
300	52.38 ± 8.25		
400	71.43 ± 10.10		
500	80.95 ± 8.25		
600	100 ± 14.29		



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome

ตารางที่ 4.5 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Niosome

ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Niosome ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ คอลลาจีเนส	สมการเส้นตรง	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
200	33.33 ± 8.25	$y = 0.2333x - 8.5714$ $R^2 = 0.9729$	251.06
300	66.67 ± 0		
400	90.48 ± 10.10		
500	100 ± 0		
600	133.33 ± 8.25		



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน Niosome

2. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ช่วงเวลา 50-30 นาที)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของ สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว ดำเนินการที่ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ โดยใช้วิธี spectrophotometric method ก่อนทดสอบ ได้ตรวจสอบความเหมาะสมของสภาวะการทดลองด้วยสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 1–4 mg/ml พบว่า ค่า IC_{50} ของ gallic acid เท่ากับ 0.62 mg/ml (ตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.14) จึงใช้ gallic acid เป็น ปฏิกริยาควบคุมผลบวก ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของตัวอย่างต่าง ๆ มีดังนี้

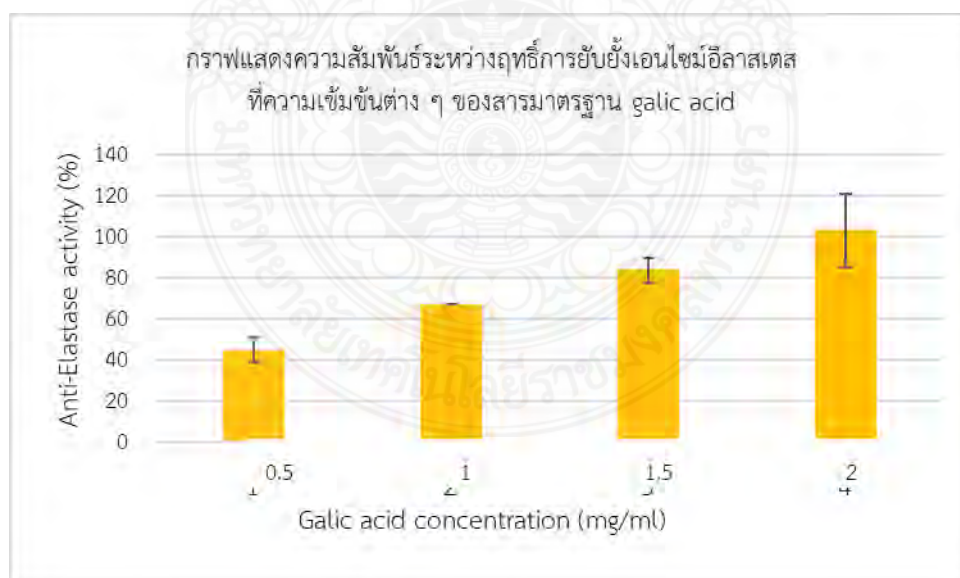
1. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (Sample 1)

- ค่า $\text{IC}_{50} = 16.99 \mu\text{g/ml}$
- แสดง ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid

- สรุปผลใน ตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.15
2. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในไลโปโซม (Liposome)
 - ค่า $IC_{50} = 223.71 \mu\text{g/ml}$
 - มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid
 - แสดงผลใน ตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.16
 3. สารสกัดกระเจี๊ยบเขียวในนีโอโซม (Niosome)
 - ค่า $IC_{50} = 217.92 \mu\text{g/ml}$
 - มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสมากกว่าสารมาตรฐาน gallic acid
 - แสดงผลใน ตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.17

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารมาตรฐาน gallic acid

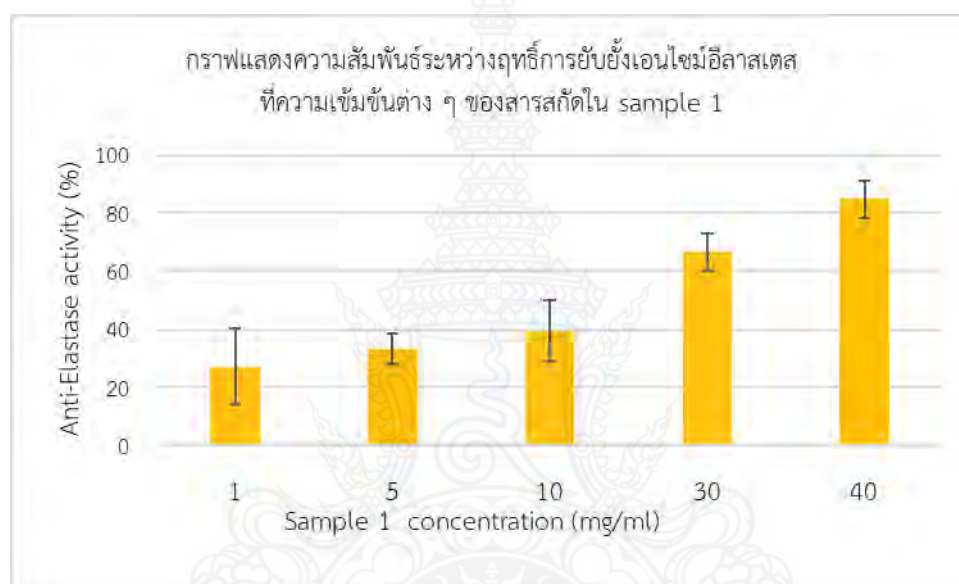
ความเข้มข้นสาร มาตรฐาน Gallic acid (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส	สมการเส้นตรง	IC_{50} (mg/ml)
0.5	44.44 ± 5.89	$y = 38.333x + 26.389$ $R^2 = 0.9971$	0.62
1	66.67 ± 0		
1.5	83.33 ± 5.89		
2	102.78 ± 17.68		



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน gallic acid

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Sample 1

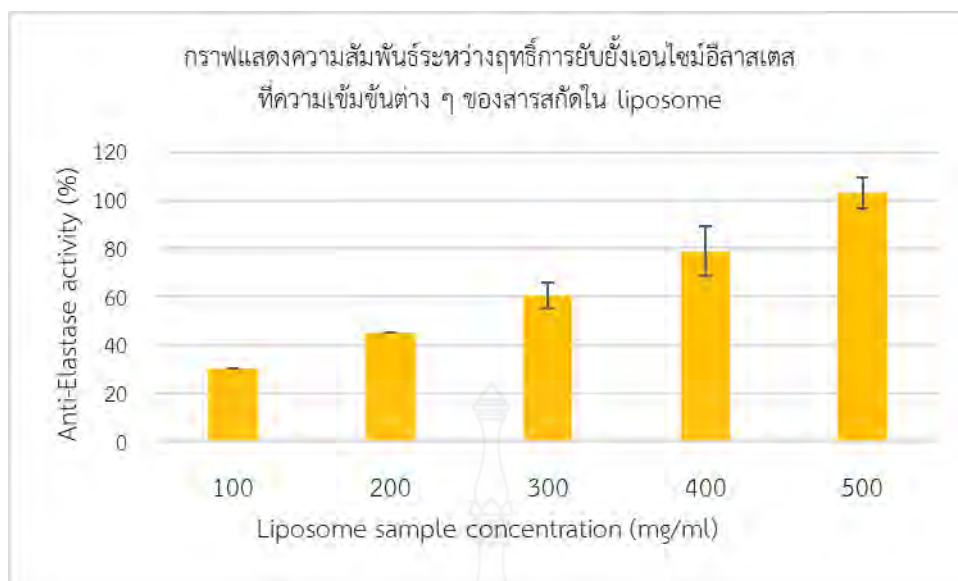
ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Sample 1 (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้ง เอนไซม์อีลาสเตส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (µg/ml)
1	27.27±12.86	$y = 1.4438x + 25.47$ $R^2 = 0.9967$	16.99
5	33.33±5.25		
10	39.39±10.50		
30	66.67±6.43		
40	84.85±6.43		



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1

ตารางที่ 4.8 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome

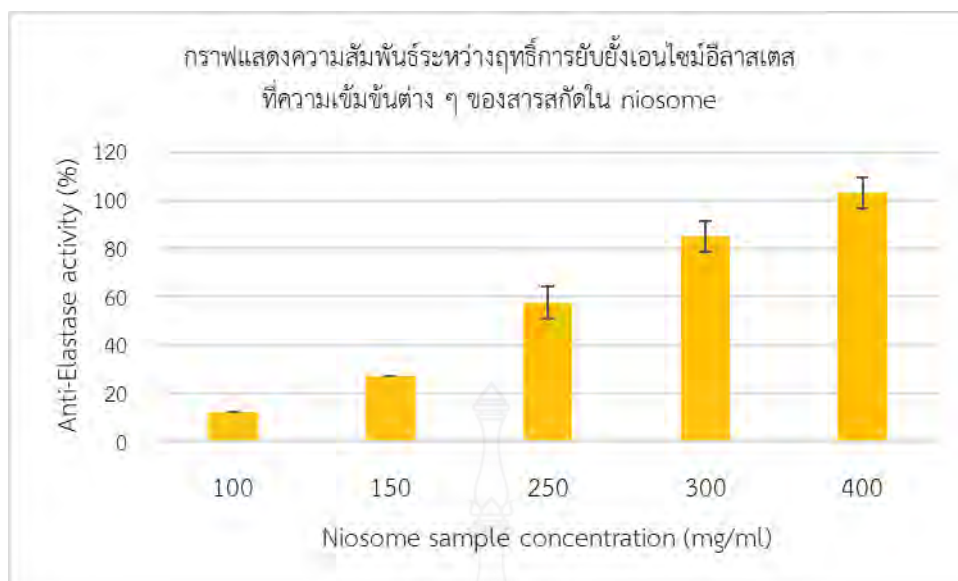
ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Liposome (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้ง เอนไซม์อีลาสเตส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (µg/ml)
100	30.30±0	$y = 0.1788x + 10$ $R^2 = 0.9889$	223.71
200	45.45±0		
300	60.61±5.25		
400	78.79±10.50		
500	103.03±6.43		



รูปที่ 4.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome

ตารางที่ 4.9 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตสของสารสกัดกระเจียบเขียวใน Niosome

ความเข้มข้นสารตัวอย่าง Niosome (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้ง เอนไซม์อีลาสเตส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (µg/ml)
100	12.12±0	$y = 0.3158x - 18.82$ $R^2 = 0.9813$	217.92
150	27.27±0		
250	57.58±6.43		
300	84.85±6.43		
400	103.03±6.43		



รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน Niosome

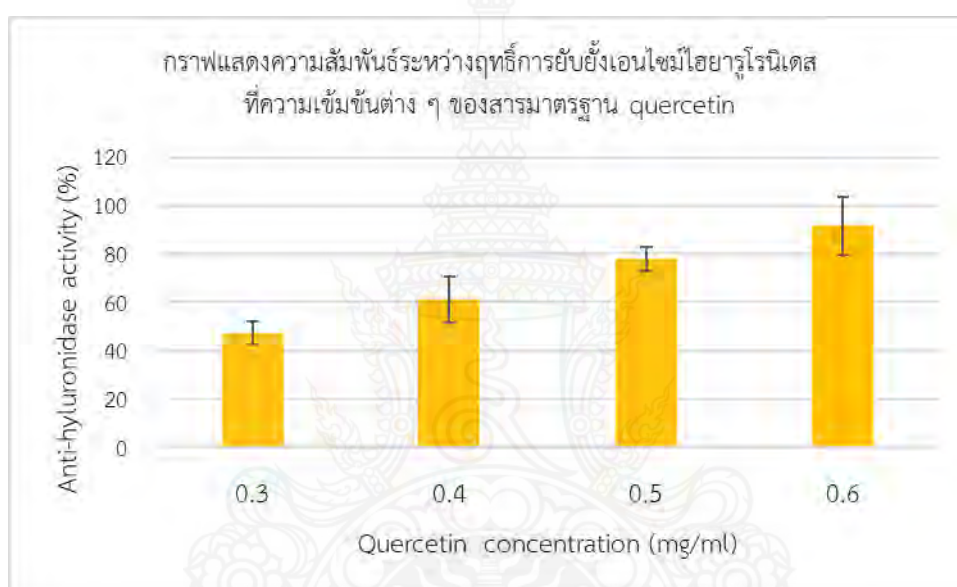
3. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจียบเขียว (ช่วงเวลาที่ 40-0 นาที)

การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจียบเขียวถูกดำเนินการในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันจำนวน 4 ระดับ โดยใช้วิธีการวัดเชิงสี (colorimetric method) ทั้งนี้ ได้มีการตรวจสอบความถูกต้องและความเหมาะสมของเงื่อนไขการทดสอบด้วยการใช้สารมาตรฐาน quercetin ที่ช่วงความเข้มข้น 0.3–0.6 mg/ml ซึ่งพบว่ามีความ IC_{50} เท่ากับ 0.32 mg/ml ดังปรากฏในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.18 จึงกำหนดให้ quercetin ทำหน้าที่เป็นสารควบคุมเชิงบวกในการทดสอบ

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดกระเจียบเขียวจากตัวอย่าง Sample 1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.46 μ g/ml ซึ่งสูงกว่าฤทธิ์ของ quercetin ตามตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.19 ในขณะที่สารสกัดกระเจียบเขียวที่บรรจุในระบบลิโปโซม (Liposome) ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 370.37 μ g/ml (ตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.20) และตัวอย่างที่บรรจุในระบบนิโอโซม (Niosome) ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 383.33 μ g/ml (ตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.21) โดยทั้งสองรูปแบบแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ต่ำกว่า quercetin เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ยังคงแสดงศักยภาพในการยับยั้งได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 4.10 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารมาตรฐาน quercetin

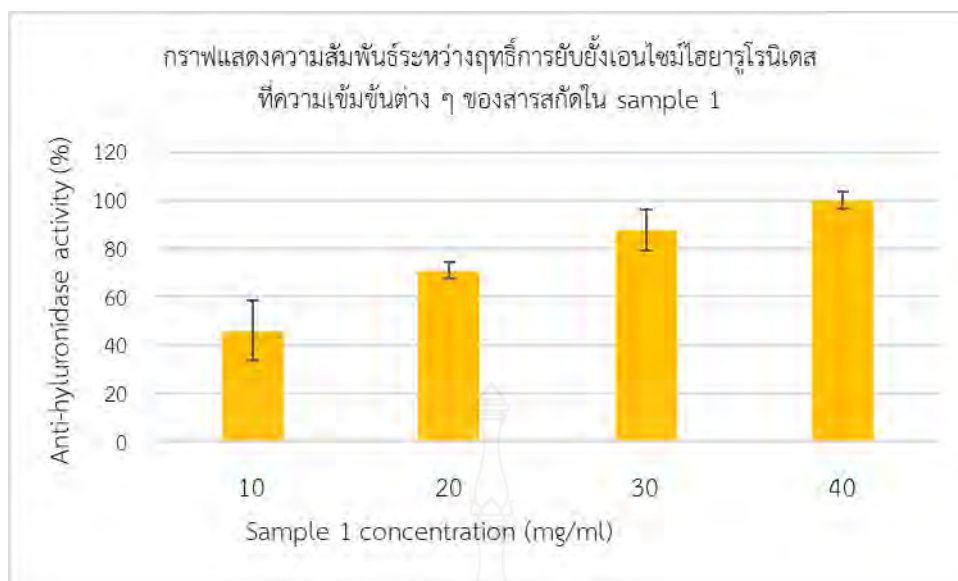
ความเข้มข้นสาร มาตรฐาน quercetin (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโร นิเดส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (mg/ml)
0.3	47.22±4.81	$y = 150x + 1.9444$ $R^2 = 0.9986$	0.32
0.4	61.11±9.62		
0.5	77.78±4.81		
0.6	91.67±11.79		



รูปที่ 4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐาน quercetin

ตารางที่ 4.11 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Sample 1

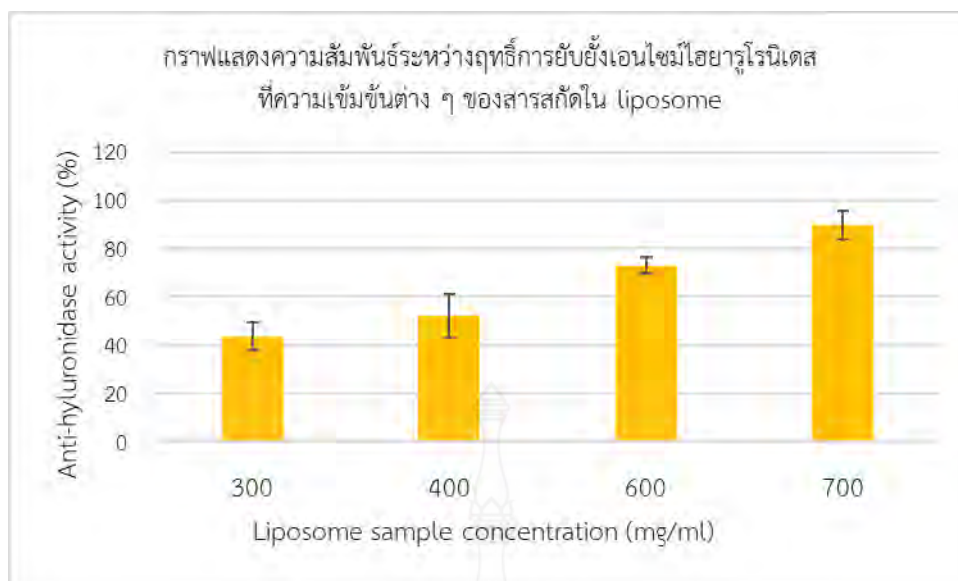
ความเข้มข้นสาร ตัวอย่าง Sample 1 (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโร นิเดส	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (µg/ml)
10	45.83±12.5	$y = 1.7917x + 31.25$ $R^2 = 0.9757$	10.46
20	70.83±3.40		
30	87.5±8.33		
40	100±3.40		



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน sample 1

ตารางที่ 4.12 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Liposome

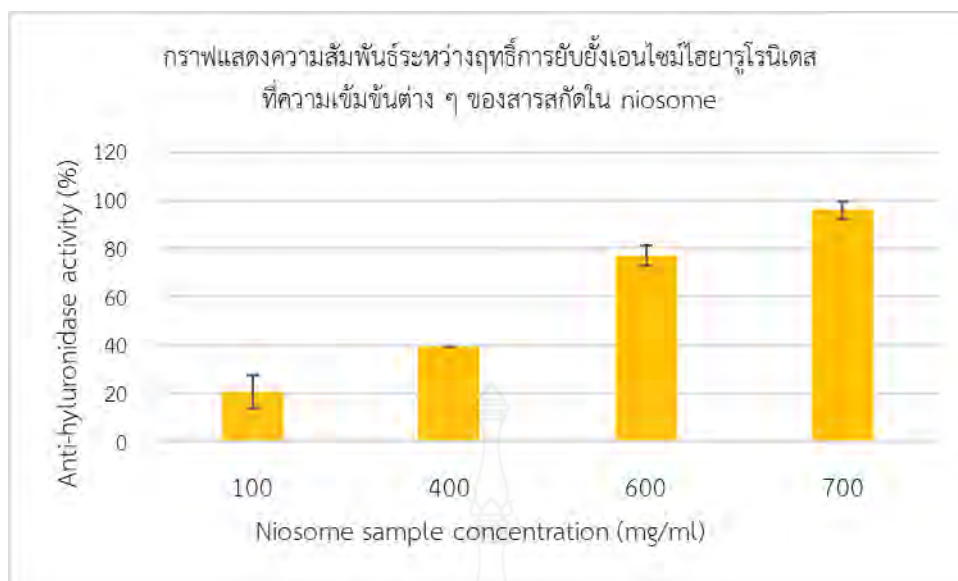
ความเข้มข้นสาร ตัวอย่าง liposome ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโร นิเดส	สมการเส้นตรง	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
300	43.75 ± 5.89	$y = 0.1125x + 8.3333$ $R^2 = 0.9851$	370.37
400	52.08 ± 9		
600	72.92 ± 3.40		
700	89.58 ± 5.89		



รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน liposome

ตารางที่ 4.13 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวใน Niosome

ความเข้มข้นสาร ตัวอย่าง niosome ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการ ยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโร นิเดส	สมการเส้นตรง	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
100	20.83 ± 6.80	$y = 0.125x + 2.0833$ $R^2 = 0.9333$	383.33
400	39.58 ± 0		
600	77.08 ± 4.17		
700	95.83 ± 3.40		



รูปที่ 4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดใน niosome

4.6 ผลการทดสอบการแพ้และระคายเคืองต่อผิวหนัง

จากการประเมินความปลอดภัยเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาสาสมัครทั้งหมด 43 คน พบว่ามีอาสาสมัคร 2 คน (คิดเป็นร้อยละ 4.76) แสดงอาการคันร่วมกับการเกิดผื่นแดงเล็กน้อย ขณะที่อาสาสมัครอีก 40 คน ไม่พบอาการแพ้หรือการระคายเคืองใด ๆ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากข้อจำกัดด้านความพร้อมของอาสาสมัคร จึงมีผู้เข้าร่วมการทดสอบต่อเนื่องจริงจำนวน 20 คน โดยทำการประเมินค่าความชุ่มชื้นและการสูญเสียน้ำผ่านผิวหนัง (transepidermal water loss; TEWL) ตามที่แสดงในรูปที่ 4.22



รูปที่ 4.22 การทดสอบการแพ้ระคายเคือง

4.7 ผลการวัดค่าอายุผิวด้วยเครื่อง Visia

การประเมินอายุผิวดำเนินการด้วยระบบวิเคราะห์ภาพ Visia โดยใช้ค่าร้อยละจากตัวชี้วัดต่าง ๆ ได้แก่ จุดด่างดำ (Spots), ริ้วรอย (Wrinkles), ลักษณะพื้นผิว (Texture), ขนาดรูขุมขน (Pores), ความเสียหายจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV Spots), รอยกระสีน้ำตาล (Brown Spots), บริเวณรอยแดง (Red Areas) และสารคงค้างจากแบคทีเรีย (Porphyrins) โดยผลร้อยละที่ได้เป็นค่าที่เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างที่มีอายุและลักษณะสีผิวใกล้เคียงกัน

จากผลการติดตามในอาสาสมัครหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง 8 สัปดาห์ พบว่า ค่าอายุผิวที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Visia มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ยประมาณ 1 ปี เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.14 นอกจากนี้ การวิเคราะห์เชิงลึกจากค่าร้อยละของริ้วรอยพบว่า กลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีนิโอโซม (N) แสดงค่าร้อยละริ้วรอยลดลง 22.50 ขณะที่กลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) ลดลง 13.20 ตามรายละเอียดในตารางที่ 4.15



ตารางที่ 4.14 การวัดอายุผิวของทั้ง 2 กลุ่มในผลิตภัณฑ์

Group	Volunteer ID	Actual age (Baseline)	Skin age (Baseline)			Actual age (After 8 Weeks)	Skin age (After 8 Weeks)			Skin age difference between before and after using the product.
			The left side of the face	The right side of the face	Average skin age		The left side of the face	The right side of the face	Average skin age	
Group 1 (Used F1, with the extra)	1	49	48	50	49	49	48	48	48	1
	2	52	53	53	53	52	52	53	52.5	0.5
	3	44	38	39	38.5	44	38	40	39	-0.5
	4	42	38	39	38.5	42	41	36	38.5	0
	5	44	43	42	42.5	44	43	43	43	-0.5
	6	54	56	53	54.5	54	50	50	50	4.5
	7	43	42	42	42	43	45	42	43.5	-1.5
	8	46	48	48	48	46	47	48	47.5	0.5
	9	37	33	36	34.5	37	33	33	33	1.5
	10	36	32	32	32	36	27	27	27	5
Average ± SD		44.70 ± 5.83	43.10 ± 8.10	43.40 ± 7.28	43.25 ± 7.66	44.70 ± 5.83	42.40 ± 7.86	42.00 ± 8.19	42.20 ± 7.96	1.05 ± 2.13
Group 2 (Used F2, with niosome-encapsulated Extract)	1	33	36	27	31.5	33	28	30	29	2.5
	2	39	38	39	38.5	39	39	39	39	-0.5
	3	62	64	64	64	62	64	63	63.5	0.5
	4	37	33	33	33	37	32	31	31.5	1.5
	5	42	39	41	40	42	36	39	37.5	2.5
	6	49	48	44	46	49	45	43	44	2
	7	55	54	54	54	55	54	54	54	0
	8	54	53	53	53	54	53	53	53	0
	9	49	50	53	51.5	49	47	53	50	1.5
	10	34	30	33	31.5	34	31	31	31	0.5
Average ± SD		45.40 ± 9.86	44.50 ± 10.92	44.10 ± 11.68	44.30 ± 11.16	45.40 ± 9.86	42.90 ± 11.72	43.60 ± 11.58	43.25 ± 11.59	1.05 ± 1.09

ตารางที่ 4.15 ค่าเปอร์เซ็นต์ริ้วรอยของทั้ง 2 กลุ่มในผลิตภัณฑ์

Group	Volunteer ID	The percentage comparison of wrinkle values shows a better number of values from the database of groups of the same age and skin color. (Baseline)				The percentage comparison of wrinkle values shows a better number of values from the database of groups of the same age and skin color. (After 8 Weeks)			Average wrinkle values	Wrinkle values difference between before and after using the product.
		The left side of the face	The right side of the face	Front	Average wrinkle values	The left side of the face	The right side of the face	Front		
Group 1 (Used F1, with the extract)	1	9	9	98	38.67	9	9	93	37	1.67
	2	9	13	12	11.33	15	31	13	19.67	-8.34
	3	80	77	99	85.33	79	53	50	60.67	24.66
	4	9	9	9	9	28	82	9	39.67	-30.67
	5	9	9	51	23	23	9	51	27.67	-4.67
	6	10	43	9	20.67	79	88	9	58.67	-38
	7	12	9	42	21	12	36	34	27.33	-6.33
	8	9	9	20	12.67	9	10	83	34	-21.33
	9	9	9	67	28.33	23	9	82	38	-9.67
	10	21	9	68	32.67	83	86	47	72	-39.33
Average ± SD		17.70 ± 22.21	19.60 ± 22.78	47.50 ± 35.00	28.27 ± 22.17	36.00 ± 31.24	41.30 ± 33.69	47.10 ± 31.40	41.47 ± 16.84	-13.20 ± 19.66
Group 2 (Used F2, with niosome-encapsulated Extract)	1	32	70	26	42.67	92	71	24	62.33	-19.66
	2	20	17	9	15.33	17	9	25	17	-1.67
	3	20	16	39	25	33	25	61	39.67	-14.67
	4	9	9	15	11	41	47	15	34.33	-23.33
	5	18	9	29	18.67	82	52	12	48.67	-30.00
	6	67	12	9	29.33	89	83	9	60.33	-31.00
	7	9	9	9	9	27	9	91	42.33	-33.33
	8	9	9	22	13.33	9	9	76	31.33	-18.00
	9	50	13	25	29.33	81	34	60	58.33	-29.00
	10	24	20	23	22.33	29	13	98	46.67	-24.34
Average ± SD		25.80 ± 19.15	18.40 ± 18.55	20.60 ± 10.00	21.60 ± 10.34	50.00 ± 32.28	35.20 ± 27.17	47.10 ± 34.07	44.10 ± 14.30	-22.50 ± 19.52

ภาพตัวอย่างกลุ่มอาสาสมัครที่มีผลการทดสอบที่ดีที่สุด

กลุ่มตำรับที่ไม่เป็นนิโอโซมที่ใส่สารสกัด (S)



ก่อนใช้

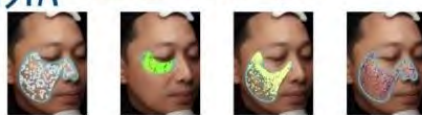
หลังใช้ 8 สัปดาห์



ก่อนใช้

หลังใช้ 8 สัปดาห์ ด้านซ้าย

VISIA Facial Assessment Report



your actual age
36

your TruSkin Age®
32



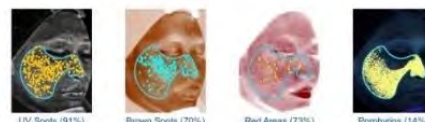
ก่อนใช้

VISIA Facial Assessment Report



your actual age
36

your TruSkin Age®
27



หลังใช้ 8 สัปดาห์ ด้านขวา

กลุ่มดำรับที่เป็นนีโอโซมที่ใส่สารสกัด (N)

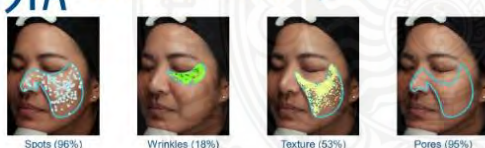


ก่อนใช้



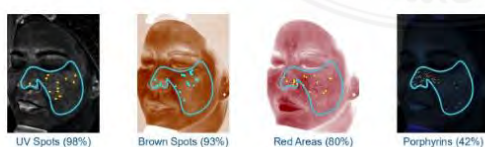
หลังใช้ 8 สัปดาห์

VISIA Facial Assessment Report



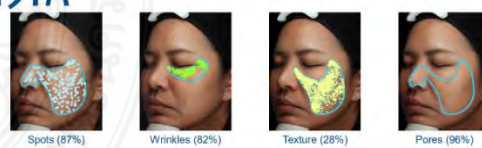
your actual age
42

your TruSkin Age®
39



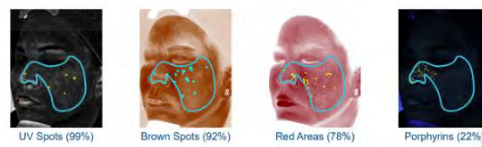
ก่อนใช้

VISIA Facial Assessment Report



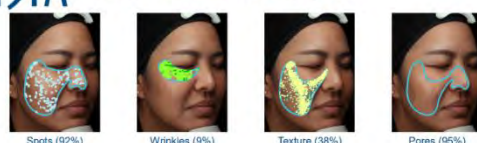
your actual age
42

your TruSkin Age®
36



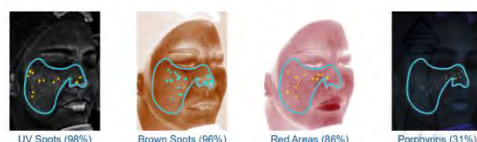
หลังใช้ 8 สัปดาห์ ด้านซ้าย

VISIA Facial Assessment Report



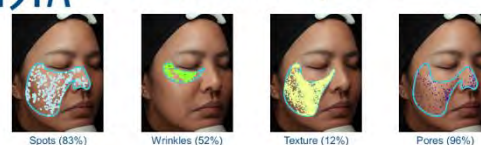
your actual age
42

your TruSkin Age®
41



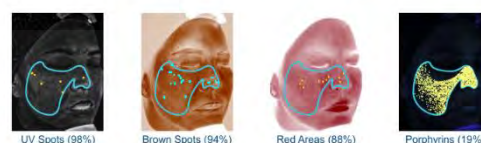
ก่อนใช้

VISIA Facial Assessment Report



your actual age
42

your TruSkin Age®
39



หลังใช้ 8 สัปดาห์ ด้านซ้าย

4.8 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดความชุ่มชื้นระยะยาว (8 สัปดาห์)

การประเมินค่าความชุ่มชื้นของผิวหนังในระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงผลการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น (Baseline) ดังนี้ สำหรับกลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ตำรับซึ่งไม่บรรจุไนโอโซมแต่มีการเติมสารสกัด (S) พบการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของความชุ่มชื้นเท่ากับ -5.52, -5.55, -6.35 และ -5.03 ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ตำรับที่บรรจุไนโอโซมร่วมกับสารสกัด (N) พบว่าความชุ่มชื้นเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ Baseline โดยมีค่า -4.32, -13.39, -11.94 และ -7.98 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความชุ่มชื้นที่เปลี่ยนแปลงจากการใช้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองสูตร ไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น (P-value > 0.05) ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย

Average วัดความชุ่มชื้น Corneometer	S	N
	Arbitrary units (average ± SD)	Arbitrary units (average ± SD)
Baseline	71.42 ± 15.64	64.13 ± 13.31
After 5 weeks	75.59±15.89	68.46±12.70
Difference	-5.52 ± 15.97	-4.32 ± 15.41
P-Value	0.458	0.398
After 6 weeks	76.97±10.96	77.53±13.53
Difference	-5.55 ± 12.66	-13.39 ± 19.68
P-Value	0.199	0.060
After 7 weeks	77.77±14.01	76.07±15.94

ตารางที่ 4.16 (ต่อ) ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย

Average วัดความชุ่มชื้น Corneometer	S	N
	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Difference	-6.35 $\pm$ 16.75	-11.94 $\pm$ 21.17
P-Value	0.262	0.108
After 8 weeks	76.45 $\pm$ 10.31	72.11 $\pm$ 10.81
Difference	-5.03 $\pm$ 18.95	-7.98 $\pm$ 20.10
P-Value	0.423	0.241

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงความชุ่มชื้นของผิวหนังบริเวณด้านขวาในช่วงเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ตำรับที่ไม่บรรจุไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่มีการเติมสารสกัด (S) มีค่าการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยของความชุ่มชื้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น (Baseline) เท่ากับ -0.10, -3.46, -9.15 และ -14.18 ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ตำรับที่บรรจุไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับสารสกัด (N) พบค่าการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ -1.90, -9.45, -14.36 และ -10.10 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความชุ่มชื้นที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองสูตร ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น (P-value > 0.05) ตลอดระยะเวลาการศึกษา 8 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 ผลการวิเคราะห์ความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา

Average วัดความชุ่มชื้น Corneometer	S	N
	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Baseline	69.72 $\pm$ 11.61	64.49 $\pm$ 14.35
After 5 weeks	69.83 $\pm$ 13.80	66.38 $\pm$ 13.89
Difference	-0.10 $\pm$ 16.59	-1.90 $\pm$ 13.40
P-Value	0.984	0.665
After 6 weeks	73.18 $\pm$ 11.26	74.66 $\pm$ 11.37
Difference	-3.46 $\pm$ 17.71	-9.45 $\pm$ 16.29
P-Value	0.552	0.075
After 7 weeks	78.87 $\pm$ 10.11	78.85 $\pm$ 12.11
Difference	-9.15 $\pm$ 12.85	-14.36 $\pm$ 16.02
P-Value	0.051	0.020
After 8 weeks	83.91 $\pm$ 23.18	74.58 $\pm$ 11.46
Difference	-14.18 $\pm$ 20.05	-10.10 $\pm$ 17.76
P-Value	0.052	0.108

4.9 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินระยะยาว (8 สัปดาห์)

การเปลี่ยนแปลงของค่าเม็ดสีเมลานินในอาสาสมัครตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า

- **ด้านซ้ายของผิวหนัง:** ค่าความเข้มของเม็ดสีมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น (Baseline) โดยกลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) ลดลง 17.38 และกลุ่มที่ใช้สูตรที่บรรจุนี้โอโซม (N) ลดลง 9.92 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.18)
- **ด้านขวาของผิวหนัง:** กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) ลดลง 6.64 และกลุ่มที่ใช้สูตรนี้โอโซม (N) ลดลง 8.67 (ตารางที่ 4.19)

โดยรวมแล้ว การใช้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองสูตรส่งผลให้ค่าเม็ดสีเมลานินมีแนวโน้มลดลงทั้งในด้านซ้ายและด้านขวาของผิวหนัง อย่างไรก็ตาม การเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงกับค่าเริ่มต้นไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} > 0.05$) ตลอดช่วงการศึกษา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.18 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย

	S	N
Average วัดเม็ดสีเมลานิน Mexameter MX-18	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Baseline	180.48 $\pm$ 47.45	181.11 $\pm$ 49.40
After 5 weeks	149.02 $\pm$ 47.87	168.42 $\pm$ 57.99
Difference	31.46 $\pm$ 64.91	12.69 $\pm$ 22.33
P-Value	0.160	0.106
After 6 weeks	163.27 $\pm$ 50.13	187.81 $\pm$ 52.58
Difference	17.21 $\pm$ 25.07	-6.70 $\pm$ 25.23
P-Value	0.058	0.423
After 7 weeks	182.12 $\pm$ 44.22	173.10 $\pm$ 59.94
Difference	-1.64 $\pm$ 28.20	8.01 $\pm$ 43.49
P-Value	0.858	0.575
After 8 weeks	163.10 $\pm$ 43.15	171.19 $\pm$ 57.78
Difference	17.38 $\pm$ 26.35	9.92 $\pm$ 47.36
P-Value	0.067	0.524

ตารางที่ 4.19 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าเม็ดสีเมลานินในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา

	S	N
Average วัดเม็ดสีเมลานิน Mexameter nMX-18	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Baseline	174.87 $\pm$ 44.19	176.63 $\pm$ 47.06
After 5 weeks	157.08 $\pm$ 49.65	170.50 $\pm$ 52.20
Difference	17.80 $\pm$ 60.13	6.13 $\pm$ 17.58
P-Value	0.374	0.299
After 6 weeks	169.02 $\pm$ 44.68	189.13 $\pm$ 69.62
Difference	5.86 $\pm$ 22.29	-12.50 $\pm$ 33.39
P-Value	0.428	0.267
After 7 weeks	184.11 $\pm$ 52.98	169.38 $\pm$ 72.51
Difference	-9.24 $\pm$ 43.46	7.75 $\pm$ 50.74
P-Value	0.518	0.662
After 8 weeks	168.23 $\pm$ 41.93	167.96 $\pm$ 50.52
Difference	6.64 $\pm$ 27.00	8.67 $\pm$ 20.98
P-Value	0.456	0.224

4.10 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดการสูญเสียน้ำระยะยาว (8 สัปดาห์)

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของการสูญเสียน้ำในอาสาสมัครตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า

1. ด้านซ้ายของผิวหนัง:

- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) มีค่าการสูญเสียน้ำแตกต่างจากค่าเริ่มต้น (Baseline) เท่ากับ -13.61, 4.64, 18.15 และ 8.89 ตามลำดับ
- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรนีโอโซม (N) มีค่าการสูญเสียน้ำแตกต่างจาก Baseline เท่ากับ -17.01, 7.24, 8.63 และ 14.63 ตามลำดับ
- โดยรวมแล้ว ค่าการสูญเสียน้ำในกลุ่ม N มีแนวโน้มลดลงมากกว่า และมีความแตกต่างจาก Baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในบางช่วง (ตารางที่ 4.20)

2. ด้านขวาของผิวหนัง:

- กลุ่ม S มีค่าการสูญเสียน้ำแตกต่างจาก Baseline เท่ากับ -16.26, 4.54, -4.30 และ 4.96 ตามลำดับ
- กลุ่ม N มีค่าการสูญเสียน้ำแตกต่างจาก Baseline เท่ากับ -12.26, 7.97, 14.45 และ 0.92 ตามลำดับ
- โดยรวม กลุ่ม N พบค่าการสูญเสียน้ำแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบกับ Baseline (ตารางที่ 4.21)

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สูตรนีโอโซม (N) อาจช่วยลดการสูญเสียน้ำของผิวได้ดีกว่าสูตรมาตรฐาน (S) โดยเฉพาะในช่วงท้ายของการศึกษา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.20 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าการสูญเสียในอาสาสมัคร 20 คน ด้านซ้าย

	S	N
Average วัดการสูญเสีย น้ำ Tewamrter TM 300	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Baseline	16.04 $\pm$ 17.64	13.25 $\pm$ 6.67
After 5 weeks	29.65 $\pm$ 26.35	30.59 $\pm$ 11.44
Difference	-13.61 $\pm$ 33.83	-17.34 $\pm$ 10.54
P-Value	0.235	0.001
After 6 weeks	11.40 $\pm$ 12.22	6.01 $\pm$ 13.01
Difference	4.64 $\pm$ 19.00	7.24 $\pm$ 11.94
P-Value	0.460	0.087
After 7 weeks	-2.11 $\pm$ 20.84	4.62 $\pm$ 19.06
Difference	18.15 $\pm$ 29.93	8.63 $\pm$ 19.12
P-Value	0.087	0.187
After 8 weeks	7.15 $\pm$ 23.20	-1.38 $\pm$ 10.43
Difference	8.89 $\pm$ 25.21	14.63 $\pm$ 6.81
P-Value	0.294	0.000

ตารางที่ 4.21 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าการสูญเสียในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา

	S	N
Average วัดการสูญเสีย น้ำ Tewamrter TM 300	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
Baseline	19.13 $\pm$ 18.79	17.24 $\pm$ 12.01
After 5 weeks	35.39 $\pm$ 28.58	29.83 $\pm$ 9.25
Difference	-16.26 $\pm$ -37.99	-12.59 $\pm$ 14.70
P-Value	0.209	0.024
After 6 weeks	14.59 $\pm$ 15.98	7.97 $\pm$ 12.85
Difference	4.54 $\pm$ 23.39	9.27 $\pm$ 17.63
P-Value	0.554	0.131

ตารางที่ 4.21 (ต่อ) ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าการสูญเสียในอาสาสมัคร 20 คน ด้านขวา

	S	N
Average วัดการสูญเสีย น้ำ Tawamrter TM 300	Arbitrary units (average $\pm$ SD)	Arbitrary units (average $\pm$ SD)
After 7 weeks	-4.30 $\pm$ 10.56	2.79 $\pm$ 21.79
Difference	23.43 $\pm$ 22.59	14.45 $\pm$ 22.87
P-Value	0.010	0.077
After 8 weeks	14.17 $\pm$ 24.36	16.32 $\pm$ 14.16
Difference	4.96 $\pm$ 20.7-	0.92 $\pm$ 10.63
P-Value	0.099	0.005

4.11 ผลการวัดความเปลี่ยนแปลงวัดความยืดหยุ่นระยะยาว (8 สัปดาห์)

1. R6 (Portion visco-elasticity)

การติดตามค่าความยืดหยุ่น R6 ตลอด 8 สัปดาห์ พบว่า

- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) มีค่าการเปลี่ยนแปลง R6 เท่ากับ 0.51, 0.48, 0.47 และ 0.40 ตามลำดับ
- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรนีโอโซม (N) มีค่าการเปลี่ยนแปลง R6 เท่ากับ -1.07, 0.58, 0.55 และ 0.52 ตามลำดับ
- โดยรวมแล้ว ความแตกต่างของค่า R6 เมื่อเปรียบเทียบกับ Baseline ไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value > 0.05) ตลอด 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.22)

2. R8 (Skin recovery)

การติดตามค่าความยืดหยุ่น R8 ตลอด 8 สัปดาห์ พบว่า

- กลุ่ม S มีค่าการเปลี่ยนแปลง R8 เท่ากับ -0.11, -0.11, -0.14 และ -0.14 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- กลุ่ม N มีค่าการเปลี่ยนแปลง R8 เท่ากับ -0.12, -0.12, -0.14 และ -0.14 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- การเปลี่ยนแปลงค่า R8 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 สำหรับกลุ่ม S (P-value < 0.05) และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 สำหรับกลุ่ม N (ตารางที่ 4.23)

สรุป:

ค่า R6 ไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน R8 แสดงแนวโน้มการฟื้นตัวของผิว โดยกลุ่ม S มีความแตกต่างจาก Baseline อย่างมีนัยสำคัญเร็วกว่ากลุ่ม N

ตารางที่ 4.22 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (R6) ในอาสาสมัคร 20 คน

Average R6	S	N
	mm (average $\pm$ SD)	mm (average $\pm$ SD)
Baseline	0.73 $\pm$ 0.75	0.74 $\pm$ 0.83
After 5 weeks	0.22 $\pm$ 0.15	1.81 $\pm$ 4.79
Difference	0.51 $\pm$ 0.79	-1.07 $\pm$ 5.12
P-Value	0.072	0.524
After 6 weeks	0.25 $\pm$ 0.18	0.16 $\pm$ 0.17
Difference	0.48 $\pm$ 0.68	0.58 $\pm$ 0.87
P-Value	0.050	0.064
After 7 weeks	0.26 $\pm$ 0.18	0.19 $\pm$ 0.07
Difference	0.47 $\pm$ 0.70	0.55 $\pm$ 0.87
P-Value	0.063	0.079
After 8 weeks	0.33 $\pm$ 0.22	0.22 $\pm$ 0.10
Difference	0.40 $\pm$ 0.66	0.52 $\pm$ 0.80
P-Value	0.089	0.070

ตารางที่ 4.23 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (R8) ในอาสาสมัคร 20 คน

Average R8	S	N
	mm (average $\pm$ SD)	mm (average $\pm$ SD)
Baseline	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
After 5 weeks	0.11 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.05
Difference	-0.11 $\pm$ 0.02	-0.12 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000
After 6 weeks	0.12 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.04
Difference	-0.11 $\pm$ 0.04	-0.12 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000
After 7 weeks	0.14 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.04
Difference	-0.14 $\pm$ 0.04	-0.14 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000

ตารางที่ 4.23 (ต่อ) ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (R8) ในอาสาสมัคร 20 คน

Average R8	S	N
	mm (average $\pm$ SD)	mm (average $\pm$ SD)
After 8 weeks	0.14 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.04
Difference	-0.14 $\pm$ 0.03	-0.15 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000

3. Q1 (Elastic recovery)

การติดตามค่าความยืดหยุ่น Q1 ตลอด 8 สัปดาห์ พบว่า

- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) มีค่าการเปลี่ยนแปลง Q1 เท่ากับ -0.11, -0.11, -0.14 และ -0.14 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- การเปลี่ยนแปลงค่า Q1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 (P-value < 0.05)
- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรนีโอโซม (N) มีค่าการเปลี่ยนแปลง Q1 เท่ากับ -0.12, -0.12, -0.14 และ -0.14 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- การเปลี่ยนแปลงค่า Q1 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 (P-value < 0.05)

สรุป:

ทั้งสองตำรับ (S และ N) แสดงการฟื้นตัวของความยืดหยุ่นผิวในช่วงสัปดาห์ที่ 5-8 โดยมีความแตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.24)

ตารางที่ 4.24 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น(Q1)ในอาสาสมัคร 20 คน

Average Q1	S	N
	(average $\pm$ SD)	(average $\pm$ SD)
Baseline	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
After 5 weeks	0.11 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.05
Difference	-0.11 $\pm$ 0.02	-0.12 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000
After 6 weeks	0.12 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.04
Difference	-0.12 $\pm$ 0.04	-0.12 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000

ตารางที่ 4.24 (ต่อ) ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น(Q1)ในอาสาสมัคร 20 คน

Average Q1	S	N
	(average $\pm$ SD)	(average $\pm$ SD)
After 7 weeks	0.14 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.04
Difference	-0.14 $\pm$ 0.04	-0.14 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000
After 8 weeks	0.14 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.04
Difference	-0.14 $\pm$ 0.03	-0.15 $\pm$ 0.04
P-Value	0.000	0.000

4. Q3 (Viscoelastic recovery; overall elasticity)

การติดตามค่าความยืดหยุ่น Q3 ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า

- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรมาตรฐาน (S) มีค่าการเปลี่ยนแปลง Q3 เท่ากับ -0.11, -0.14, -0.16 และ -0.14 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- การเปลี่ยนแปลงค่า Q3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7 (P-value < 0.05)
- กลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์สูตรนีโอโซม (N) มีค่าการเปลี่ยนแปลง Q3 เท่ากับ -0.19, -0.12, -0.16 และ -0.16 ในสัปดาห์ที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
- การเปลี่ยนแปลงค่า Q3 มีความแตกต่างจากค่าเริ่มต้น (Baseline) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7 (P-value < 0.05)

สรุป:

ทั้งสองตำรับ (S และ N) แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความยืดหยุ่น Q3 ในทิศทางที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น โดยเห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงสัปดาห์ที่ 7 เป็นต้นไป (ตารางที่ 4.25)

ตารางที่ 4.25 ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (Q3) ในอาสาสมัคร 20 คน

Average Q3	S	N
	(average $\pm$ SD)	(average $\pm$ SD)
Baseline	-0.03 $\pm$ 0.20	-0.03 $\pm$ 0.18
After 5 weeks	0.07 $\pm$ 0.06	0.15 $\pm$ 0.09
Difference	-0.11 $\pm$ 0.24	-0.19 $\pm$ 0.24

ตารางที่ 4.25 (ต่อ) ผลการวัดการเปลี่ยนแปลงวัดค่าความยืดหยุ่น (Q3) ในอาสาสมัคร 20 คน

Average Q3	S	N
	(average $\pm$ SD)	(average $\pm$ SD)
P-Value	0.182	0.039
After 6 weeks	0.10 $\pm$ 0.07	0.09 $\pm$ 0.14
Difference	-0.14 $\pm$ 0.24	-0.12 $\pm$ 0.22
P-Value	0.071	0.121
After 7 weeks	0.13 $\pm$ 0.06	0.13 $\pm$ 0.05
Difference	-0.16 $\pm$ 0.22	-0.16 $\pm$ 0.22
P-Value	0.043	0.047
After 8 weeks	0.11 $\pm$ 0.04	0.13 $\pm$ 0.04
Difference	-0.14 $\pm$ 0.18	-0.16 $\pm$ 0.17
P-Value	0.038	0.048

4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์

ผลการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ต่อผลิตภัณฑ์สลิปปั๊มป์มาสก์ พบว่า

1. สลิปปั๊มป์มาสก์ใส่ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ตำรับ L) มีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจสูงสุดเท่ากับ 4.18
2. สลิปปั๊มป์มาสก์ใส่ไนโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (ตำรับ N) มีค่าเฉลี่ย 3.90
3. สลิปปั๊มป์มาสก์สูตรมาตรฐานในท้องตลาด (ตำรับ M) มีค่าเฉลี่ย 3.89
4. สลิปปั๊มป์มาสก์ที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบเขียวแบบไม่เป็นลิพิด/ไนโอโซม (ตำรับ S) มีค่าเฉลี่ย 3.78

การวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired t-test พบว่า:

- ตำรับ L มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด (M) (P-value = 0.004)
- ตำรับ N และ S ไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด (N: P-value = 0.943, S: P-value = 0.365)

สรุป:

ผู้ใช้ให้ความพึงพอใจสูงสุดต่อสลิปปั๊มป์มาสก์ใส่ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว (L) ซึ่งมีความแตกต่างจากผลิตภัณฑ์ท้องตลาดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ตำรับอื่น ๆ (N และ S) มีความพึงพอใจใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ท้องตลาด (ตารางที่ 4.26)

ตารางที่ 4.26 ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในแต่ละด้าน

Preference	Preference of average (n=20)			
	ตำรับ S	ตำรับ L	ตำรับ N	ตำรับ M
1. เนื้อสัมผัส	4.1 ± 0.83	4.7 ± 0.46	4.1 ± 0.99	4.4 ± 0.66
2. ความเกลี่ยง่าย	4.5 ± 0.74	4.5 ± 0.50	4.25 ± 0.99	4.6 ± 0.58
3. การซึมเข้าสู่ผิว	3.55 ± 0.86	3.9 ± 0.89	3.8 ± 0.93	4.15 ± 0.91
4. ความเหนียวเหนอะหนะผิว	3 ± 1.18	3.05 ± 1.02	3.45 ± 0.74	2.6 ± 1.07
5. ความชุ่มชื้น	4 ± 0.95	4.5 ± 0.59	4.4 ± 0.58	3.9 ± 0.70
6. ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์ทันที	3.55 ± 1.12	4.4 ± 0.49	3.4 ± 1.07	3.7 ± 1.19
ค่าเฉลี่ยภาพรวม	3.78 ± 0.38	4.18 ± 0.37	3.90 ± 0.57	3.89 ± 0.54

4.13 ผลการประเมินความพึงพอใจต่อความสบายผิวของผลิตภัณฑ์

จากการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัคร 20 คน หลังการใช้ผลิตภัณฑ์สลิปโป้มาสก์พบว่า

1. ความสบายผิวเมื่อผลิตภัณฑ์ซึมเข้าสู่ผิว:

- ตำรับ L (สลิปโป้มาสก์ใส่ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว) ได้รับความสบายผิวสูงสุด มีผู้ประเมินว่า “สบายผิวมากที่สุด” 16 คน
- ตำรับ M (สลิปโป้มาสก์ท้องตลาด) 13 คน
- ตำรับ S (สลิปโป้มาสก์ใส่สารสกัดกระเจียวเขียว) 10 คน
- ตำรับ N (สลิปโป้มาสก์ใส่ไนโอโซมที่บรรจุสารสกัดกระเจียวเขียว) 6 คน

2. ความรู้สึกเฉย ๆ เมื่อผลิตภัณฑ์ซึมเข้าสู่ผิว:

- ตำรับ N มีจำนวนอาสาสมัครรู้สึกเฉย ๆ สูงสุด 7 คน
- ตำรับ S 6 คน
- ตำรับ M 5 คน
- ตำรับ L 4 คน

3. ความรู้สึกเหนียวเหนอะหนะ ไม่สบายผิว:

- ตำรับ N มีอาสาสมัครรู้สึกเหนียวเหนอะหนะมากที่สุด 7 คน
- ตำรับ S 4 คน
- ตำรับ M 2 คน
- ตำรับ L 0 คน

สรุป:

สลิปโป้มาสก์ L เป็นตำรับที่อาสาสมัครประเมินว่าสบายผิวที่สุด และไม่เกิดความรู้สึกเหนียวเหนอะหนะ ในขณะที่ N เป็นตำรับที่มีผู้ประเมินความสบายผิวต่ำที่สุดและมีความเหนียวเหนอะหนะมากที่สุด (ตารางที่ 4.27)

ตารางที่ 4.27 ความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์เมื่อผลิตภัณฑ์ชิมเข้าผิวจากอาสาสมัคร 20 คน

ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์เมื่อ ผลิตภัณฑ์ชิมเข้าผิว	อาสาสมัคร 20 คน			
	ตำรับ S	ตำรับ L	ตำรับ N	ตำรับ M
สบายผิว ไม่เหนียวเหนอะหนะ	10	16	6	13
เฉย ๆ	6	4	7	5
เหนียวเหนอะหนะ ไม่สบายผิว	4	0	7	2



บทที่ 5

สรุป และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยเรื่องการพัฒนาสลิปปีงมาส์กจากสารสกัดกระเจียบเขียว เพื่อทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย ผู้จัดทำสามารถสรุปได้ดังนี้

1. การเตรียมระบบนำส่งที่ห่อหุ้มสารสกัดกระเจียบเขียว
แผ่นฟิล์มของ ไลโปโซม มีสีขาวปนเหลือง ส่วน นิโอโซม มีสีขาวขุ่น เมื่อนำทั้งสองชนิดมาบรรจุสารสกัดกระเจียบเขียว สีของสารละลายทั้งสองไม่แตกต่างกัน จากการตรวจสอบด้วย Transmission Electron Microscopy (JEOL JEM-2100, Japan) พบว่า ไลโปโซมและนิโอโซมเป็น multilamellar vesicles (MLVs) ขนาด 100–1000 nm สามารถห่อหุ้มสารสกัดกระเจียบเขียวได้
2. การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์
ผลิตภัณฑ์สลิปปีงมาส์กทั้ง 3 ตำรับ เป็น เนื้อ pudding cream สีขาวเหลือง ให้ความชุ่มชื้น ซึมไว ไม่เหนียวเหนอะหนะ และให้ความรู้สึกเย็นสบายผิว
3. การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์
ผลิตภัณฑ์ทั้งสามตำรับ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น การแยกชั้น หรือการตกตะกอน ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่ใส่สารสกัดโดยตรงมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่ใส่ ไลโปโซมและนิโอโซม ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ สรุปได้ว่า ระบบนำส่งไลโปโซมและนิโอโซมช่วยเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์
4. การยับยั้งเอนไซม์
Collagenase: Sample 1 = 1.51 $\mu\text{g/mL}$, Liposome = 298.09 $\mu\text{g/mL}$, Niosome = 251.06 $\mu\text{g/mL}$
Elastase: Sample 1 = 16.99 $\mu\text{g/mL}$, Liposome = 223.71 $\mu\text{g/mL}$, Niosome = 217.92 $\mu\text{g/mL}$
Hyaluronidase: Sample 1 = 10.46 $\mu\text{g/mL}$, Liposome = 370.37 $\mu\text{g/mL}$, Niosome = 383.33 $\mu\text{g/mL}$
สารสกัดกระเจียบเขียวใน Sample 1 ไม่มีระบบนำส่ง จึงแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพโดยตรงและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด
5. การแพ้และระคายเคืองต่อผิวหนัง
อาสาสมัคร 43 คน มี 2 คนเกิดอาการระคายเคืองเล็กน้อย (เป็นกลุ่มผิวแพ้ง่าย)
41 คนที่เหลือไม่เกิดอาการแพ้หรือระคายเคือง
6. การวัดค่าอายุผิวและริ้วรอย (Visia)
หลังใช้ 8 สัปดาห์ อายุผิวลดลงประมาณ 1 ปี
เปอร์เซ็นต์ริ้วรอยลดลง:
Niosome (N) = 22.50%
Sample (S) = 13.20%

ผลนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า Niosome ช่วยปกป้องโครงสร้างผิวและลดการเสื่อมสภาพของคอลลาเจนและอีลาสติน

7. การวัดความชุ่มชื้นผิว

Niosome (N) เพิ่มความชุ่มชื้นได้ดีกว่าตำรับไม่มีระบบนำส่ง (S)

ผลต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงความชุ่มชื้นระยะยาว

สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า Niosome ช่วยปล่อยสารให้ผิวต่อเนื่องและเพิ่มการสร้างคอลลาเจน

5.2 ข้อเสนอแนะ

การใช้ไลโปโซมและนีโอโซม เป็นระบบนำส่งสารสกัดสมุนไพรช่วยเพิ่มความคงตัวและประสิทธิภาพของสลิปปีงมาส์ก สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ ควรพิจารณา เพิ่มการทดสอบทางคลินิกในกลุ่มตัวอย่างใหญ่และระยะยาว การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอนาคตสามารถนำสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่นหรือสารออกฤทธิ์ร่วมกับระบบนำส่งนี้เพื่อเพิ่มฤทธิ์บำรุงผิวและชะลอวัย



เอกสารอ้างอิง

- [1] J.H. Nam, Y.S. Kim, J.H. Shin, D.Y. Cho, H. Park, Treatment and classification of nevus of Ota: A seven-year review of 120 cases, *Annals of Dermatology* 29 (2017) 151–158. doi:10.5021/ad.2017.29.2.151.
- [2] S. Mitura, M. Sionkowska, A. Jaiswal, Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review, *International Journal of Cosmetic Science* 42 (2020) 485–495. doi:10.1111/ics.12609.
- [3] M.H.M. Sari, et al., Preparation of hydrogels with xanthan gum and **K**-carrageenan: synergistic improvement in film strength and barrier properties, *Food Hydrocolloids*, vol. 81 (2018) 1–10. doi:10.xxxx/foodhyd.2018.01.010.
- [4] C. Kontogiorgos, I. Margelou, N. Georgiadis, C. Ritzoulis, Rheological characterization of okra pectins, *Food Hydrocolloids* 29 (2012) 356–362. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.04.003
- [5] เบ้าคำ, พ., แสงทอง, ต., สุขนวัฒนกุล, น., & สายนาคำ, ม. (2025). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นจากสารสกัดกระเจียบเขียว. *วารสารเกษตร*, 36(2), 279-290.
- [6] Weschawalit, S., Thongthip, S., Phutrakool, P., & Asawanonda, P. (2017). Glutathione and its antiaging and antimelanogenic effects. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 10, 147-153.
- [7] Kwok, C. T.-K., Ng, Y.-F., Chan, H.-T. L., & Chan, S.-W. (2025). An Overview of the Current Scientific Evidence on the Biological Properties of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (Okra). *Foods*, 14(177)
- [8] Garg, C., Khurana, P., & Garg, M. (2017). Molecular mechanisms of skin photoaging and plant inhibitors. *International Journal of Green Pharmacy*, 11(2), S217-S232. Retrieved from <https://www.greenpharmacy.info/index.php/ijgp/art>
- [9] M.J. Thornton, Estrogens and aging skin: review of effects on skin thickness, collagen content, and hydration in estrogen-deficient women, *Journal of the American Academy of Dermatology* 68 (2013) 80–86. doi:10.1016/j.jaad.2012.05.076.
- [10] S. Pientaweeratch, S. Chansakaow, P. Chansakaow, A. Chansakaow, Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of selected Thai medicinal plants, *Phytotherapy Research* 30 (2016) 1195–1203. doi:10.1002/ptr.5616.
- [11] Z. Werb, M.J. Banda, J.H. McKerrow, R.A. Sandhaus, Elastases and elastin degradation, *J Invest Dermatol* 79 (1982) 154s–159s. doi:10.1111/1523-1747.ep12546056.

- [12] R. Stern, R. Jedrzejewski, Hyaluronidases: structure, mechanism of action, diseases and therapies, *Cellular and Molecular Life Sciences* 80 (2023) 1–18.
doi:10.1007/s00018-023-04866-7.
- [13] Schmith K, Faber V. The turbidimetric method for determination of hyaluronidase. *Scand J Clin Lab Invest.* 1950;2(4):292-7. doi: 10.3109/00365515009056676
- [14] Lee S, Moon S, Hong S, Ahn J, Paik Y. Quantitative analysis of N-acetylglucosamine using p-dimethylaminobenzaldehyde. *Anal Biochem.* 2020;601:113748.
doi:10.1016/j.ab.2020.113748.

