

การสังเคราะห์ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

Synthesis of red cabbage extract liposomes

ธนุสร พลสำโรง¹, ศราวุธ ฟองชัยภูมิ¹ และวนิดา ชูหมื่นไวย^{1*}
Thanusorn Ponsamrong¹, Sarawut Fongchaiyaphum¹, and Vanida Choomuenwai^{1*}
Received: January 8, 2019 Revised: May 18, 2019 Accepted: May 28, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสังเคราะห์ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วง จากการศึกษาคุณสมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์ โดยนำสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงไปทดสอบการเปลี่ยนสีในช่วง pH 1-13 พบว่า สารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วงมีการเปลี่ยนสีในช่วง pH 1-3 และ 7-13 และค่าคงที่การแตกตัวของสารสกัด มีค่าคงที่การแตกตัว 2 ครั้ง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.49 และ 9.16 ที่ pH 4 และ pH 9 ตามลำดับ จากการสังเคราะห์ไลโปโซมจากสารสกัดอินดิเคเตอร์ธรรมชาติด้วยเทคนิคฟิล์มแผ่นบาง พบว่าไลโปโซมที่ได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงนั้นมีขนาดอยู่ที่ 52.56 ± 1.19 นาโนเมตร และเมื่อนำไลโปโซมไปผ่านการปั่นผสมพบว่าไลโปโซม มีขนาดเล็กลง ซึ่งมีขนาดอยู่ที่ 34.51 ± 2.87 นาโนเมตร จากการศึกษาความคงตัวของไลโปโซมในระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าไลโปโซมที่เก็บไว้เป็นเวลานานขึ้นมีค่าคงที่การแตกตัวเปลี่ยนไปหลังจากเก็บไว้ 16 วันและขนาดของไลโปโซมมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น การทดสอบประสิทธิภาพการกักเก็บพบว่า ไลโปโซมที่สังเคราะห์ขึ้นจาก กะหล่ำปลีสีม่วงมีประสิทธิภาพการกักเก็บปานกลางอยู่ที่ร้อยละ 3.48 ± 0.27 และมีประจุที่ห่อหุ้มไลโปโซมเป็นประจุลบ ไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้เป็นวิธีการใหม่ที่สามารถนำไปประยุกต์เป็นการผลิตสีย้อมที่มีสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์ได้

คำสำคัญ: ไลโปโซมอินดิเคเตอร์ สีย้อมธรรมชาติ กะหล่ำปลีสีม่วง

Abstract

This research investigated the synthesis of natural containing indicator liposomes red cabbage extract. To study the properties of an indicator, the crude extract of red cabbage extract were tested for color changes in pH scale ranges from pH 1 to pH 13. The results showed that, the extracts were

¹ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา 30000

¹ Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Nakhon Ratchasima, 30000

Corresponding author E – mail address; vanida.c@nrru.ac.th

color changed when changing pH, red cabbage color was changed at pH scale ranges from 1 - 3 and 7 - 13. Dissociation constant of red cabbage extract dissociation constant was showed at 2.49 and 9.16 at pH 4 and pH 9, respectively. Natural liposomal from these extracts were synthesized by thin film method. The results showed that sizes of liposome from red cabbage extracts were in the ranges of 52.56 ± 1.99 nm. However, after homogenize the obtained liposome with homogenizer, the results displayed that liposome size were decreased to 34.51 ± 2.87 nm. The study of liposome stability, found that the longer liposomes were kept, the bigger size were occurred. The decomposition constant of liposomes were changed after 16 days. The Encapsulation efficacies of obtained liposomes were found at $3.48 \pm 0.27\%$. These new methods could be modified for natural dyes production with indicator property.

Key words; Liposomes, Indicator, Natural dyes, Red cabbage

1. บทนำ

กะหล่ำปลีสีม่วงมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. ชื่อสามัญ Red cabbage เป็นพืชในวงศ์ BRASSICACEAE (CRUCIFERAE) เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นไม่แตกกิ่ง ใบเดี่ยว เรียงเวียน ใบตอนล่างเป็นใบกระจุกแบบกุหลาบซ้อน 7 - 15 ใบและไม่มีก้านใบ ใบตอนบนซ้อนอัดกันแน่นเป็นหัวทรงกลม หรือรูปรี ใบอวบ ใบเกลี้ยง ด้านนอกมีขี้ผึ้งปกคลุม สีเทาหรือสีเขียวปนน้ำเงิน ด้านในสีเขียวอ่อนถึงสีขาวนวล ช่อดอกแบบช่อกระจับไม่มีใบประดับบนลำต้นหลัก และบนช่อกิ่งของช่อย่อย ส่วนต่าง ๆ ของดอกมีจำนวน 4 ดอกสมบูรณ์เพศ ผลแตกแบบฝักกาด เมล็ดกลม สีน้ำตาล (นันทวัน บุญประภัสร์ และคณะ, 2541)

อินดิเคเตอร์เป็นสารอินทรีย์ มีสมบัติเป็นกรดอ่อนหรือเบสอ่อน มีโครงสร้างได้หลายแบบ แต่ละแบบมีสีต่างกัน ซึ่งสามารถใช้สีของอินดิเคเตอร์บอกความเป็นกรด - เบส ของสารละลายได้ สีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของไฮโดรเจนไอออน (H^+) หรือ pH ของสารละลาย โดยพิจารณาได้จากหลักสมดุลของคู่กรด - เบสของอินดิเคเตอร์ในการวิเคราะห์โดยปริมาตรซึ่งทำได้โดยการไทเทรต จุดที่สารทำปฏิกิริยากันพอดี สังเกตได้จากการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถสังเกตเห็นได้ (Blackman, A., 2019)

อินดิเคเตอร์เป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อน

และเปลี่ยนสีได้เมื่อ pH ของสารละลายเปลี่ยนแปลงไป ตัวอย่างเช่น เมทิลออร์เรนจ์ จะมีสีแดงในสารละลายที่มี pH ต่ำกว่า 3.1 และมีสีเหลือง

ในสารละลายที่มี pH สูงกว่า 4.5 แต่ถ้าสารละลายมี pH อยู่ระหว่าง 3.1 - 4.5 สีของอินดิเคเตอร์จะเป็นสีผสมของสีเหลืองและสีแดง ดังนั้นการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จะขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย จึงใช้อินดิเคเตอร์

ในการบอก pH ของสารละลายได้ ทั้งนี้เนื่องจากสีของอินดิเคเตอร์มักเข้ม การใช้อินดิเคเตอร์ในการหาค่า pH จึงใช้สารละลายเจือจางของอินดิเคเตอร์เพียง 2 - 3 หยด ซึ่งจะไม่มีความทำให้ความเป็น กรด - เบส ของสารละลายเปลี่ยนแปลงไป

สารอินดิเคเตอร์ธรรมชาติเป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่มีสี และเปลี่ยนสีได้เมื่ออยู่ในสารละลายของกรดและเบส เมื่ออยู่ในสารละลายของกรดจะมีสีหนึ่งและเมื่ออยู่ในสารละลายของเบส จะเปลี่ยนเป็นอีกสีหนึ่ง ฉะนั้นจึงสามารถใช้เป็นสารตรวจสอบสภาพความเป็นกรดและเบสได้ (กิตติพงษ์ เวียงสมุทร, 2553) จากงานวิจัยของ วราลักษณ์ ขาวดวง และคณะ (2558) ที่ศึกษาถึงวิธีการสกัด และคุณลักษณะของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

เพื่อใช้ทดสอบความเป็น กรด - เบสของสารต่าง ๆ แทนสารเคมี แต่เนื่องจากอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดได้นั้น

ไม่มีความคงตัวและเกิดการเสียสภาพได้ง่ายจากสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการยืดระยะเวลาในการใช้งานของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ (วรลักษณ์ ชาว-ดง และคณะ, 2558)

ไลโปโซม (Liposomes) คือ อนุภาคขนาดเล็กของสารไขมันที่เรียงซ้อนกันสองชั้นสลับกับชั้นของน้ำ มีลักษณะเป็นถุงกลม ๆ สารไขมันส่วนใหญ่จะเป็นไขมันประเภทฟอสโฟลิพิดในสารละลายน้ำ เนื่องจากไลโปโซมมีส่วนประกอบและคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ไลโปโซมจึงถูกพัฒนามาใช้ในการนำพาสารต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ไลโปโซมยังมีคุณสมบัติในการช่วยเพิ่มความคงตัวของสารที่ถูกกักเก็บ ป้องกันการสลายตัวของสารเคมี จากการถูกทำลายโดยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น แสงอัลตราไวโอเลตเอนไซม์ และช่วยลดความเป็นพิษของสารที่ถูกกักเก็บ (อรัญญา มโนสร้อย และจิระเดช มโนสร้อย, 2550).

จากคุณสมบัติข้างต้นของไลโปโซม คณะผู้วิจัยจึงเกิดแนวคิดในการศึกษาการเก็บกักสารสกัดจากพืชที่มีสี และมีคุณสมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์ เพื่อยืดระยะเวลาใช้งานอินดิเคเตอร์ที่สกัดจากพืช คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาการสังเคราะห์ไลโปโซมจากสารสกัดพืชที่สนใจได้แก่กะหล่ำปลีสีม่วง จากนั้นจึงนำไลโปโซมที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV - visible spectrophotometer) รุ่น UH - 5300 บริษัท Hitachi

2.1.2 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) รุ่น Stoppering Tray Dryer Model 79480 บริษัท labconco Corporation

2.1.3 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) รุ่น EYELA บริษัท Tokyo Rikakikai

2.1.4 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น SI - 234 บริษัท Denver Instrument

2.1.5 เครื่องเขย่าสาร (Shaker) รุ่น 3006 บริษัท

GFL

2.1.6 เครื่องผสมสารละลาย (Vertex mixer) รุ่น G560E บริษัท Scientific Industries, Inc.

2.1.7 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น UltraBasic บริษัท BEC THAI

2.1.8 เครื่องปั่นกวนสารด้วยความเร็วสูง (Homogenizer) รุ่น T25 บริษัท IKA group

2.1.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น EBA 200 บริษัท Hettich

2.1.10 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) รุ่น LEICAD750 บริษัท อ็อพติคก้า จำกัด

2.2 สารเคมี

2.2.1 เอทานอล (Ethanol; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) ชนิด Analytical grade บริษัท RCI-Labscan Limited

2.2.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl) ชนิด Analytical grade บริษัท RCI-Labscan Limited

2.2.3 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodiumhydrogenphosphate; Na_2HPO_4) ชนิด Analytical grade บริษัท RCI-Labscan Limited

2.2.4 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodiumdihydrogenphosphate; NaH_2PO_4) ชนิด Analytical grade บริษัท S.V. Madico Co., Ltd.

2.2.5 โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate; $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) ชนิด Analytical grade บริษัท RCL-Labscan Limited

2.2.6 กรดซิตริก (Citric Acid; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) ชนิด Analytical grade บริษัท RCI-Labscan Limited.

2.2.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) ชนิด Analytical grade บริษัท Carlo Erba reagents

2.2.8 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride; KCl) ชนิด Analytical grade บริษัท Ajax Finechem Pty Limited

2.2.9 คลอโรฟอร์ม (Chloroform; CHCl_3) ชนิด Analytical grade บริษัท RCI - Labscan Limited

2.2.10 คอเลสเตอรอล (Cholesterol;

C₂₇H₄₆O) บริษัท Merck Thailand

2.2.11 เลซิติน (lecithin; C₄₂H₈₂O₈ NP) ชนิด Food grade บริษัท CTI and Science Limited

2.3 สารตัวอย่าง

ตัวอย่างกะหล่ำปลีสีม่วงจากซูเปอร์มาร์เก็ตในคลัง
วิลล่า อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและกระบวนการสกัดนำตัวอย่าง กะหล่ำปลีสีม่วง มาล้างให้สะอาด แล้วผึ่งลมให้แห้งแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 - 2 เซนติเมตรจากนั้นนำตัวอย่างที่หั่นแล้วไปชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 10.XXXX กรัม แบ่งเป็น 20 ชุดเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.3.2 การสกัดด้วยวิธีการแช่สกัด (วรลักษณ์ ขาวดวง และคณะ, 2558)

จากงานวิจัยของวรลักษณ์ ขาวดวง และคณะ เรื่องการศึกษาวิธีการสกัด และคุณลักษณะของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติโดยใช้ ตัวทำละลายในการสกัดคือ น้ำต่อเอทานอล ในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ไปแช่สกัดด้วยน้ำต่อเอทานอล ในอัตราส่วน 1 : 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรแล้วทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารความเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านผ้าขาวบางและกระดาษกรองตามลำดับ แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบความยาวคลื่นที่สารสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

2.3.3 การทดสอบความสามารถในการเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัด

นำสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1 - 13 ใส่ลงในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตรทั้งหมด 13 หลอดแล้วนำสารสกัดธรรมชาติที่ได้หยดลงในหลอดทดลองที่มีบัฟเฟอร์ pH 1 - 13 หลอดละ 5 หยด แล้วเขย่าให้เข้ากันสังเกตสีที่เปลี่ยนไปแล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร นำค่า การดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่า pK_a จากสูตร

$$pK_a = pH - \log \left(\frac{A_z - A_a}{A_b - A_z} \right)$$

โดย Az คือ ค่าการดูดกลืนแสงระหว่างช่วงการดูดกลืนกรดและเบส

Aa คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารในช่วงกรด

Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเบส

2.3.4 การเตรียมไลโปโซมกักเก็บสารอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติดัดแปลงมาจาก (ขวัญจิตร อิศระสุข และคณะ, 2557)

เตรียมด้วยวิธีฟิล์มแผ่นบางโดยดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ สมลักษณ์ คงเมือง มัลลย์ สิริพันธ์ และอุทัย โสธนะพันธ์, 2550 มีวิธีการทดลองแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้

1) การเตรียมส่วนของสารผสมไม่มีขี้ผึ้ง โดยทำการผสมเลซิติน และคอเลสเตอรอลในอัตราส่วน 8 : 2 แล้วนำไปละลายด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำส่วนของน้ำมันที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

2) การเตรียมส่วนของสารละลายมีขี้ผึ้ง โดยการผสมน้ำ เข้ากับสารสกัด อินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดได้ด้วยอัตราส่วน 1:1 แล้วเทส่วนของสารละลายมีขี้ผึ้งบนแผ่นฟิล์ม แล้วเขย่าด้วยเครื่องผสมสารละลายประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นแผ่นฟิล์มจะเกิดการห่อหุ้มส่วนของสารละลายมีขี้ผึ้งไว้ เกิดเป็นไลโปโซม

2.3.5 ศึกษาคุณสมบัติของไลโปโซม

1) ศึกษาสมบัติทางกายภาพ

(1) การตรวจสอบลักษณะรูปร่างของไลโปโซมดัดแปลงมาจากขวัญจิตร อิศระสุข และคณะ (2557) ตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบแสงที่กำลังขยาย 400 เท่า

(2) การวัดขนาดของไลโปโซม ในการวัดขนาดของอนุภาคไลโปโซมที่กักเก็บสารอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติวัดโดยการใช้องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า ด้วยโปรแกรม I - views 2014 โดยค่าที่วัดจากโปรแกรมสามารถบอกขนาดได้ในหน่วยนาโนเมตร

(3) การวัดศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคไลโปโซมที่กักเก็บสารอินดิเคเตอร์ธรรมชาติวัดได้โดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคนาโน

(4) ศึกษาขนาดของไลโปโซม โดยการนำไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -2 องศาเซลเซียสเมื่อ

เวลาผ่านไป 1 8 16 และ 30 วัน จากนั้นนำไลโปโซมที่เก็บไว้มาทดสอบขนาดของไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า

(5) การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่กักเก็บในไลโปโซมประยุกต์มาจาก ขวัญจิตร อิศระสุข และคณะ (2557) โดยทำการแยกสารสกัดออกจากไลโปโซมโดยการนำไลโปโซมมาละลายด้วย คลอโรฟอร์มด้วยอัตราส่วน 3:1 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาทีใช้เวลาทั้งหมด 20 นาที แล้วนำของเหลวใสส่วนบน (Supernatant) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาค่าร้อยละการกักเก็บสารสกัดของไลโปโซมตามสมการ

$$\text{Entrapment efficacy (\%)} = (C_s / C_i) \times 100$$

เมื่อ C_s คือปริมาณของสารสกัดในไลโปโซม และ C_i คือปริมาณของสารสกัดเริ่มต้น

2) ศึกษาสมบัติทางเคมีที่ดัดแปลงมาจาก วราลักษณ์ ขาวดวง และคณะ (2558) ซึ่งคณะผู้วิจัยทำการศึกษาความคงตัวของสารสกัดอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่กักเก็บในไลโปโซม โดยทำการศึกษาไลโปโซมที่มีระยะเวลา 18 16 24 และ 30 วัน โดยนำไลโปโซมที่สังเคราะห์ได้ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -2 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาผ่านไป 1 8 16 24 และ 30 วัน แล้วนำไลโปโซมที่เก็บไว้มาทดสอบช่วง pH การเปลี่ยนสีของไลโปโซม โดยใช้วิธีเดียวกับตอนที่ 2.3.3

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ผลการวัดความยาวคลื่นสูงสุดของสารสกัดตัวอย่างสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงจากการศึกษาความยาวคลื่นที่สารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงดูดกลืนแสงได้สูงสุดเพื่อใช้ในการทดสอบคุณสมบัติของสารตัวอย่างและจากตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดให้สี และมีรูปแบบการดูดกลืนแสง โดยค่า λ_{max} ที่ได้จะใช้ในการคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บสารตัวอย่างในไลโปโซม

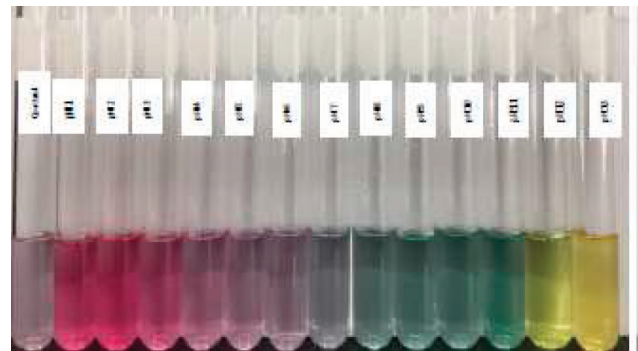
ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วง

สารสกัด	λ_{max} (นาโนเมตร), (ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด)
กะหล่ำปลีสีม่วง	268, (0.971)

3.2 การศึกษาการสกัดสารอินดิเคเตอร์จากกะหล่ำปลีสีม่วงใช้ตัวทำละลายคือ น้ำ :เอทานอล

3.2.1 การทดสอบความสามารถในการเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดธรรมชาติ

เมื่อนำสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1 - 13 ที่เตรียมได้ ไปทดสอบกับสารสกัดสีจากกะหล่ำปลีสีม่วงได้ผลดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 สารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วงในสารละลายที่ pH ต่าง ๆ

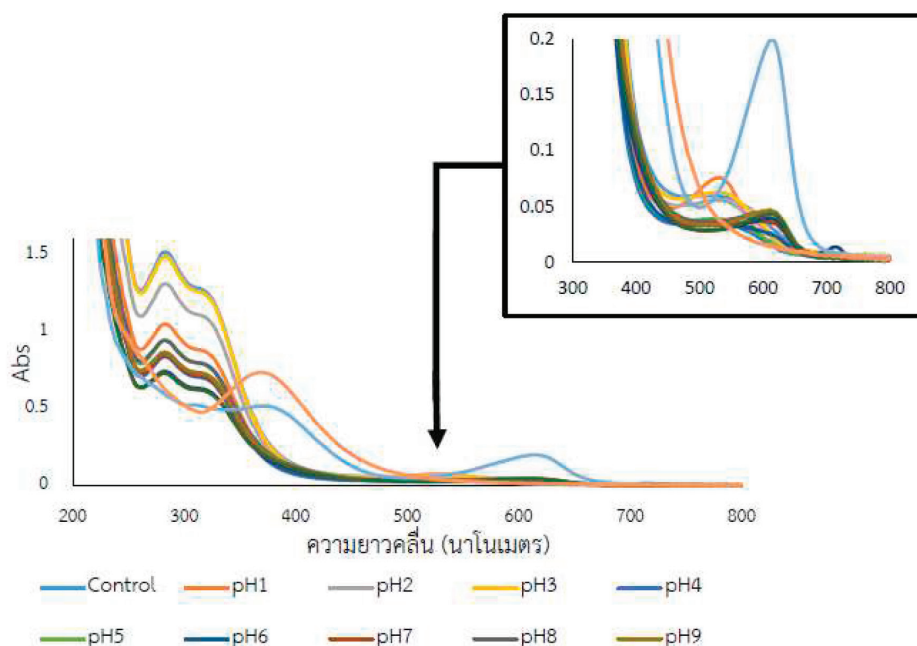
จากรูปจะเห็นว่าอินดิเคเตอร์จากกะหล่ำปลีสีม่วงจะเปลี่ยนสีทั้งในช่วงที่เป็นกรดและเบสซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ วราลักษณ์ ขาวดวง และคณะ (2558)

3.2.2 การทดสอบช่วง pH ของการเปลี่ยนสีของสารสกัดอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า pKa และค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วง

ตัวอย่าง	ช่วง pH	pKa		$\lambda_{\max} (A_z)$	$\lambda_{\max} (A_a)$	$\lambda_{\max} (A_b)$
		pKa1	pKa2			
สารสกัดจาก กะหล่ำปลีสีม่วง	1 - 3 และ 7 - 10	3.34	8.61	524 (0.071)	319 (1.243)	612 (0.044)
*สารสกัดจาก กะหล่ำปลีสีม่วง	3 - 7	3.41	8.89	515 (0.040)	411 (0.289)	624 (0.253)

*หมายเหตุ ผลการทดลองของวราลักษณ์ ขาวดวง และคณะ (2558)
 A_z คือ ค่าการดูดกลืนแสงระหว่างช่วงการดูดกลืนกรดและเบส
 A_a คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารในช่วงกรด
 A_b คือ ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเบส



รูปที่ 2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วง

จากตารางที่ 2 สารสกัดหยาบจากกะหล่ำปลีสีม่วงที่ให้สีโดยสกัดด้วยวิธีแช่ในตัวทำละลายด้วยเอทานอลและน้ำ และ ตรวจสอบคุณสมบัติที่มีความสามารถเป็นอินดิเคเตอร์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโต-เมทรีโดยศึกษาจากสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบโดยสังเกตจากการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร และสารสกัดนั้นจะต้องสามารถเปลี่ยนสีเมื่อทดสอบกับสาร

ละลายบัฟเฟอร์ pH 1 - 13 แสดงว่าสารนั้นมีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์

จากผลการศึกษาพบว่ากะหล่ำปลีสีม่วง มีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารอินดิเคเตอร์ได้โดยสารสกัด มีการเปลี่ยนสีในช่วง pH 1 - 3 และ pH 7 - 10 ดังแสดงในรูปที่ 2

3.3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของไลโปร

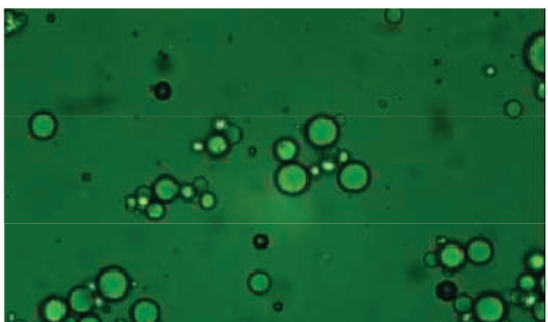
โชมที่บรรจุสารสกัดอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติจากการเตรียมไลโปโซมโดยใช้เลซิตินและคลอเลสเทอรอลในอัตราส่วน 8:1 ละลายใน คลอโรฟอร์ม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้ผลการทดสอบทางกายภาพดังนี้

3.3.1 ศึกษาขนาดของไลโปโซมซึ่งถูกแบ่งออกเป็นไลโปโซมสองชนิด โดยชนิดที่หนึ่งเป็นไลโปโซมที่ไม่ผ่านการปั่นผสม และไลโปโซมชนิดที่สองผ่านการปั่นผสมเป็นเวลา 10 นาที ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที

จากรูปที่ 3 - 4 แสดงขนาดของไลโปโซมที่ไม่ผ่านการปั่นผสมกับไลโปโซมที่ผ่านการปั่นผสมจากรูปที่ 3 - 4 สามารถวัดขนาดของไลโปโซมด้วยโปรแกรม I - views 2014 ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยขนาดของไลโปโซมที่ไม่ผ่านการปั่นผสม มีขนาดอยู่ที่ 52.56 ± 1.19 นาโนเมตร และไลโปโซมที่ผ่านการปั่นผสมมีขนาดเล็กลงอยู่ที่ 34.51 ± 2.87 นาโนเมตร



รูปที่ 3 ไลโปโซมที่ไม่ผ่านการปั่นผสม



รูปที่ 4 ไลโปโซมที่ผ่านการปั่นผสม

3.3.2 การศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าของไลโปโซมจากการศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าของไลโปโซมโดยการวัดค่า Zeta Potential ของไลโปโซมจากสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าศักย์ไฟฟ้าของไลโปโซม

ชนิดของไลโปโซม	Zeta Potential (mV)
กะหล่ำปลีสีม่วง	-10.3
Zhang, X. et al. (2013)	-13

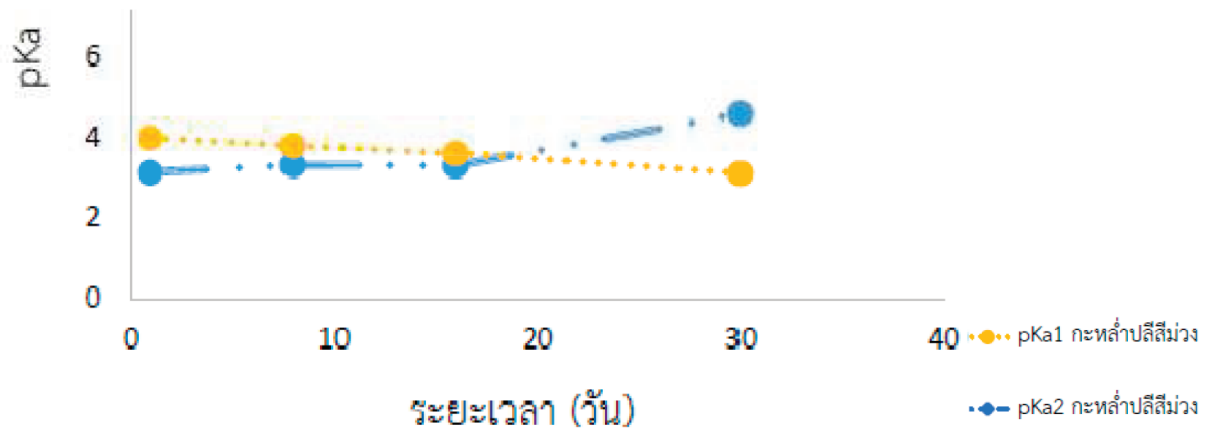
จากตารางจะเห็นได้ว่าไลโปโซมที่มีสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงมีประจุไฟฟ้าเป็นลบ นั้นแสดงว่าการเตรียมไลโปโซมด้วยเทคนิคฟิล์มแผ่นบางทำให้เกิดไลโปโซมที่เป็นประจุลบเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Zhang, X et al. (2013) ศึกษาการเสริมฤทธิ์ของไลโปโซมจากโปรตีนไฮโดรไลซ์ของถั่วลิสงเตากับสารสกัดจากชะเอมในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยได้ค่าศักย์ไฟฟ้าของ ไลโปโซม Pro - PPH ที่เตรียมจากวิธีฟิล์มแผ่นบาง ได้ไลโปโซมที่มีประจุลบเช่นกัน

3.3.3 ผลการศึกษาความคงตัวของไลโปโซม

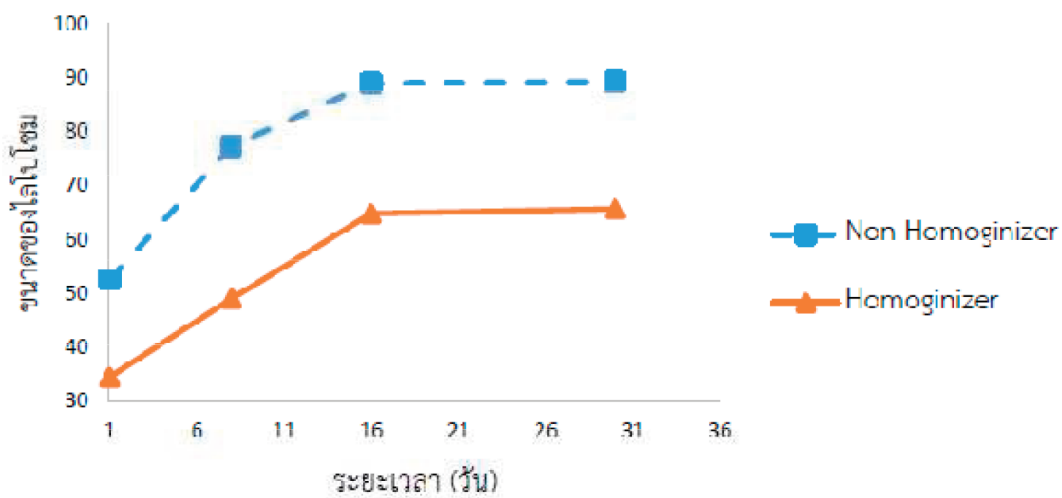
ศึกษาความคงตัวของไลโปโซมโดยการวัดช่วง pH การเปลี่ยนสีของไลโปโซม และวัดขนาดของไลโปโซม ซึ่งมีช่วงการศึกษาเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน โดยแบ่งออกเป็นศึกษาไลโปโซมวันที่ 1 8 16 24 และ 30 วัน

1) ผลการศึกษาช่วง pH ของการเปลี่ยนสี

แยกสารสกัดออกจากไลโปโซมโดยละลายใน คลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3:1 จากนั้นนำส่วนของสารสกัดที่ได้มาทดสอบการเปลี่ยนสีด้วยบัฟเฟอร์ pH1 - 13 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ค่า pKa ของไลโปโซมที่เก็บไว้ตั้งแต่ 1 – 30 วัน



รูปที่ 6 ขนาดของไลโปโซมจากสารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วงในระยะเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดในไลโปโซม

ไลโปโซม	ร้อยละการกักเก็บ
กะหล่ำปลีสีม่วง	3.14±0.27

หมายเหตุ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

จากกราฟจะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไปค่าคงที่การแตกตัวครั้งที่ 1 ของสารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วงมีค่าลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนสีในช่วงที่เป็นกรดเริ่มไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนค่าคงที่การแตกตัวครั้งที่สองเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนสีในช่วงเบสของอินดิเคเตอร์มีความขุ่น นั้นเกิดจากการเสียสภาพของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

2) การศึกษาขนาดของไลโปโซม

จากรูปที่ 6 จะเห็นได้ว่าการปั่นกวนทำให้ขนาดของอนุภาคลดลง และเมื่อเวลาผ่านไปขนาดของอนุภาคเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากอนุภาคของไลโปโซมเกิดการดูดซึมน้ำเข้าไปในอนุภาคทำให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น

3) การศึกษาปริมาณการกักเก็บของไลโปโซม

การศึกษาปริมาณการกักเก็บสารอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่ถูกกักเก็บไว้ในไลโปโซม โดยการละลายไลโปโซมด้วยคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3:1 แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นนำส่วนของสารสกัดมาวัดว่าการดูดกลืนแสง แล้วคำนวณหาปริมาณการกักเก็บโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 จากข้อมูลในตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าการเตรียมไลโปโซมด้วยเทคนิคฟิล์มแผ่นบางของทางคณะผู้วิจัยมีประสิทธิภาพดังแสดงในตาราง เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ ขวัญจิต อิศระสุข และคณะ (2560) ที่ทำการเตรียมไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดจากใบขลู่ พบว่ามีประสิทธิภาพการกักเก็บอยู่ที่ร้อยละ 63.61 จะเห็นได้ว่ามีไลโปโซมที่ได้มีประสิทธิภาพการกักเก็บดีกว่า ทั้งนี้คณะผู้วิจัยคิดว่าเกิดจากการเตรียมไลโปโซมใช้อัตราส่วนของฟอสโฟลิปิดต่อคลอเลสเทอรอลไม่เท่ากัน ทำให้ได้ไลโปโซมในขนาดที่ต่างกันส่งผลให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บที่ต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสังเคราะห์ไลโปโซมที่บรรจุสารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วง จากการศึกษาความสามารถในการเป็นอินดิเคเตอร์ของสารตัวอย่าง พบว่าสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงมีคุณสมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์ได้ เนื่องจากการเปลี่ยนสีได้เมื่อ pH เปลี่ยนไป จากการสังเคราะห์ไลโปโซมจากสารสกัด

อินดิเคเตอร์ธรรมชาติโดยเตรียมจากเทคนิคฟิล์มแผ่นบาง พบว่าขนาดของไลโปโซมมีขนาดอยู่ที่ 52.56 ± 1.19 นาโนเมตร และสามารถลดขนาดของไลโปโซมลงโดยการปั่นผสม พบว่าไลโปโซมมีขนาดอยู่ที่ 34.51 ± 2.87 นาโนเมตร ซึ่งจัดเป็นไลโปโซมประเภท Multilamella Vessicles (MLV) จากการทดสอบความคงตัวโดยการศึกษาค่าคงที่การแตกตัวในระยะเวลาต่างๆ พบว่า ค่าคงที่การแตกตัวเกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากวันที่ 16 และขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น การทดสอบประสิทธิภาพการกักเก็บพบว่า การเตรียมไลโปโซมด้วยเทคนิคฟิล์มแผ่นบางมีประสิทธิภาพการกักเก็บน้อย ซึ่งอยู่ที่ร้อยละ 3.14

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา และขอขอบคุณชั้นปฏิบัติการเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา สำหรับอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ขวัญจิต อิศระสุข และคณะ. (2557). การเตรียม

ไลโปโซมกักเก็บสารสกัดจากใบขลู่เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรเครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต.

วรลักษณ์ ขาวดวง สุภาภรณ์ เกิดสันเทียะ และรัชชัย

กุดนอก. (2558). การศึกษาวิธีการสกัดและ

คุณลักษณะของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัย

ราชภัฏนครราชสีมา.

สมลักษณ์ คงเมืองมัลลย์ สติรพันธุ์ และอุทัย โสธนะพันธุ์.

(2550). ปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมไลโปโซมที่บรรจุ

น้ำมันกานพลูและความคงตัวของไลโปโซม. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตร มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อรัญญา มโนสร้อย และจิรเดช มโนสร้อย. (2550).

ไลโปโซมสำหรับยาผ่านทางผิวหนังและเครื่อง

สำอาง. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

นันทวัน บุญประภัสร์ และคณะ. (2541). **สมุนไพรไม้พื้น**

บ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน
จำกัด.

สุภาพ รมณีย์พิกุล. (2538). **เคมีวิเคราะห์.ภาควิชาเคมี.**

สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

Blackman, A. (2019). Chemistry: Core concepts.

Milton [Brisbane, Queensland, Australia] :

John Wiley & Sons Australia, Ltd.

Zhang, X., Xiong, Y. L., Chen, J., Zhou, L. (2013).

Synergistic Inhibition of Lipid Oxidation by

Pea Protein Hydrolysate Coupled with

Licorice Extract in a Liposomal Model

System. Journal of Agricultural and Food

Chemistry, 61: 8452 - 8461.