



การพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี



ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

พ.ศ. 2564



THE DEVELOPMENT OF NANO FACIAL SERUM FROM KHAOW-
MAK EXTRACTS OF PIGMENTED RICE

DUANGDUAN WATTANURUK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN SCIENCE EDUCATION

GRADUATE SCHOOL

VALAYA ALONGKORN RAJABHAT UNIVERSITY
UNDER THE ROYAL PATRONAGE PATHUM THANI

2021

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี
ชื่อนักศึกษา ดวงเดือน วัฒนารักษ์
รหัสประจำตัว 58B74670102
ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ศึกษา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... *อานะ มรส* ประธาน *วิไล ใส* ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิ่นนภัส ถกลภักดิ์)

..... *ปณ* กรรมการ *ปณ* กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปณนุช นิลแสง) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปณนุช นิลแสง)

..... *กรรณิกา อัมพู* กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา อัมพู)

..... *อานะ มรส* กรรมการและเลขานุการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... *ดร. ธี* ผู้ทรงคุณวุฒิ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

..... *ดร. ธี* ผู้ทรงคุณวุฒิ
(รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล)

..... *กัณต์ฤทัย คลังพล*
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัณต์ฤทัย คลังพล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ *20* เดือน *สิงหาคม* พ.ศ. *2564*

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ดวงเดือน วัฒนานุรักษ์. (2564). การพัฒนานาโนเซรามบารุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี. ปรังษญาตฤษฏีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา. อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ศศมล ผาสุข ผศ.ดร.ปณยุษฐ นิลแสง

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยและพัฒนา มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี 2) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด 3) นำสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสตาต์มาพัฒนานาโนเซรามบารุงผิวหน้า 4) ศึกษาประสิทธิภาพของนาโนเซราม และ 5) ถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ โดยใช้ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่จำแนกเป็น สีม่วงดำ และสีแดงที่สุ่มมาอย่างเจาะจงจำนวน 16 ตัวอย่างจาก 12 จังหวัดในประเทศไทย นำข้าวมีสีมาหมักด้วยลูกแป้งเป็นเวลา 5 วัน ตัวอย่างข้าวมีสีก่อน และหลังหมักสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 นำไปประเหยตัวทำลายจะได้สารสกัดข้าวมีสี

ผลการวิจัยพบว่า 1) ข้าวหมากข้าวลิ้มผิวมีสารสำคัญมากที่สุด ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 45.66 mg GAE/g ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 39.35 mgRE/g และปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 3.37 mg/g 2) การทดสอบด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH) พบว่า สารสกัดของข้าวหมากข้าวลิ้มผิวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 0.364 mg/ml และมีค่าจากเอพอาร์เอพี (FRAP) ดีที่สุดเท่ากับ 28.018 mgFe(II)/g การทดสอบด้วยวิธีโดปาโครม พบว่า ทุกตัวอย่างข้าวไม่พบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 3) ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี SRB assay พบว่า สารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 0.0001-1 (mg/ml) ผลการเตรียมอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ของสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว พบว่า สูตรที่เหมาะสมมีขนาดอนุภาคระหว่าง 185.52-233.07 nm มีค่าการกระจายขนาดอนุภาคเท่ากับ 0.35 และค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -31.44 mV 4) ดำรับนาโนเซรามที่พัฒนาขึ้น พบว่า มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.8 ไม่ตกตะกอน มีค่าความหนืด 19.5 cm/30sec และเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มอก.152-2555) ผลการปิดสารทดสอบบนผิวหนังของนาโนเซรามจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว พบว่า ไม่มีความระคายเคืองในอาสาสมัครเพศหญิงสุขภาพดีจำนวน 22 คน และอาสาสมัครมีความพึงพอใจในนาโนเซรามอยู่ในระดับมาก และ 5) หลังอบรมผู้เข้าร่วมอบรมจำนวน 30 คน มีความรู้เพิ่มขึ้นแตกต่างจากก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 และมีความพึงพอใจในการเข้าร่วมอบรมอยู่ในระดับมากที่สุด (\bar{X} = 4.87, S.D. = 0.60)

องค์ความรู้หรือนวัตกรรมที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ คือ อนุภาคแบบนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ที่เตรียมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว แล้วนำมาพัฒนาเป็นเครื่องสำอางนาโนเซรามบารุงผิวที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย

คำสำคัญ : ข้าวหมาก ข้าวมีสี นาโนเซราม

Duangduan Wattanuruk. (2021). The Development of Nano Facial Serum from Khaow-Mak Extracts of Pigmented Rice. Doctor of Philosophy (Science Education). Advisors: Assoc. Prof. Dr.Sasamol Pasuk, Asst. Prof. Dr.Poonyanuch Nilsang

ABSTRACT

The objectives of this research and development were to 1) analyze the essential compounds of pigmented rice Khaow-Mak extracts, 2) study the biological activities of extracts, 3) develop nano facial serum from the extracts with high biological activities and non-toxic to fibroblast cells, 4) study nano serum efficiency, and 5) disseminate the research knowledge to the community through workshops. The glutinous and non-glutinous rice were classified according to their colors: purple, black, and red. A total of 16 rice samples was selected purposively from 12 provinces in Thailand. The colored rice was fermented with look pang for five days. The colored rice samples before and after being extracted with 95% (v/v) ethanol were brought to evaporate the solvents, which resulted in colored rice extracts.

The results were as follows: 1) the highest essential compounds were found in Leum Phua fermented rice. Their total phenolic, flavonoid, and anthocyanin contents were 45.66 mg GAE/g, 39.35 mgRE/g and 3.37 mg/g, respectively. 2) As for the DPPH method, the crude extracts of Leum Phua fermented rice had the strongest free radical scavenging activity with the EC₅₀ value of 0.364 mg/ml and also presented the greatest FRAP value 28.018 mgFe(II)/g. Tyrosinase inhibitors were also not found in any rice samples by the Dopachrom method. 3) As for the sulforhodamine B (SRB) colorimetric assay method, the crude extracts from Leum Phua fermented rice were in the range between 0.0001 and 1 mg/ml and were non-toxic to cells. From the development of Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) from Leum Phua fermented rice crude extracts, it was found that the optimum formular had the particle size in the range between 185.52 and 233.07 nm, PDI being 0.35, and the approximate zetapotential being -31.44 Mv. 4) It was found that the developed nano serum had a pH of 4.8, non-precipitating, a viscosity of 19.5 cm/30sec and passed the Thai Industrial Standard basis (TIS. 152-2555). When patches filled with the nano serum were applied to 22 healthy female volunteers' skins, there was no irritation, and they were also highly satisfied with the serum. And 5) 30 people participants who had been trained had a higher level of knowledge than before being trained at the a statistically significance level of 0.05 and their satisfaction level was at the highest (\bar{X} = 4.87, S.D. = 0.60).

The body of knowledge/innovation gained from this research is the Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) that were equipped from Leum Phua Khaow-Mak rice extracts. They were developed into nano facial serum, which is effective and safe.

Keywords: Khaow-Mak, Pigmented Rice, Nano Serum

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ภาสขุ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปยุตย นิลแสง กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ความคิดเห็น ตลอดจนชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธาน และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิ่นนรภัฏ ฤกษ์ภักดิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา อัมพูช รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย และรองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ที่ให้ความกรุณาตรวจสอบเอกสารงานวิจัย เพื่อให้งานวิจัยฉบับนี้ สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อิสรา นามตาปี อาจารย์ประจำศูนย์ภาษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความช่วยเหลือตรวจทานบทคัดย่อภาษาอังกฤษให้เป็นไปตามหลักการเขียนที่ถูกต้องของงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ธีรพงศ์ ยะทา อาจารย์ประจำภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการให้คำปรึกษา ตลอดจนเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการหลักสูตรนวัตกรรมชีวผลิตภัณฑ์ และศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ในการเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณครอบครัว รวมทั้งเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่เป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

คุณูปการจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบคุณงามความดีทั้งหลาย เพื่อตอบแทนแต่บิดา มารดา ครู อาจารย์ทุกท่านที่ให้ความเมตตา อบรม สั่งสอน และให้ความรู้เพื่อเป็นผลให้มีกำลังใจในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ดวงเดือน วัฒนานุรักษ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 กรอบแนวคิด.....	3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย.....	4
1.5 ขอบเขตของการวิจัย.....	4
1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	5
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ข้าวมีสี.....	7
2.2 ข้าวหมาก.....	17
2.3 อนุมูลิสรระและสารต้านอนุมูลิสรระ.....	18
2.4 สารประกอบฟีนอลิก.....	21
2.5 แอนโทไซยานิน.....	25
2.6 เอนไซม์ไทโรซิเนส.....	26

2.7	เวชสำอาง.....	28
2.8	อนุภาคนาโนไขมัน.....	30
2.9	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	40
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	47
3.1	ข้าวตัวอย่าง.....	47
3.2	อุปกรณ์.....	47
3.3	สารเคมี.....	48
3.4	เครื่องมือ.....	49
3.5	สถานที่ดำเนินการวิจัย.....	50
3.6	วิธีการวิจัย.....	50
บทที่ 4	ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	69
4.1	ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ.....	69
4.2	ผลการสกัดข้าวหมากของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ.....	69
4.3	ผลการวัดค่าสีของสารสกัดข้าวหมากของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ.....	74
4.4	ผลปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อนและหลังหมักข้าวในสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี.....	75
4.5	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay..	81
4.6	ผลการพัฒนานาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	85
4.7	ผลการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่ม.....	92
4.8	ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซรั่มที่พัฒนาขึ้น.....	99
4.9	ผลการยอมรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมาก.....	101
4.10	ผลการถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชน.....	103
บทที่ 5	สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	105
5.1	สรุปผลการวิจัย.....	105
5.2	อภิปรายผลการวิจัย.....	109

5.3 ข้อเสนอแนะ.....	120
บรรณานุกรม.....	121
ภาคผนวก.....	143
ภาคผนวก ก รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ และผลการประเมินค่าดัชนีความ สอดคล้อง.....	144
ภาคผนวก ข โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัย.....	159
ภาคผนวก ค ผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ.....	183
ภาคผนวก ง การเตรียมสารเคมี.....	200
ภาคผนวก จ กราฟมาตรฐาน.....	204
ภาคผนวก ฉ รายงานผลการวิเคราะห์ขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัว และประจุบนพื้นผิว ของอนุภาคนาโน.....	208
ภาคผนวก ช การคำนวณค่า Hydrophilic-lipophilic balance (HLB).....	210
ภาคผนวก ซ เอกสารรับรองโครงการวิจัย.....	212
ประวัติผู้วิจัย.....	214



GRAD VRU

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่า HLB ที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด.....	34
ตารางที่ 2 การเติมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	53
ตารางที่ 3 การแปลผลตามมาตรฐานของ International Contact Dermatitis Research Group แบ่งตามระดับความรุนแรงในการเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังจากน้อยไปมาก.....	61
ตารางที่ 4 คะแนนการทดสอบการระคายเคือง	62
ตารางที่ 5 เกณฑ์การประเมินการระคายเคือง.....	62
ตารางที่ 6 ตัวอย่างข้าวที่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดแตกต่างกัน.....	69
ตารางที่ 7 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก.....	73
ตารางที่ 8 ผลการศึกษาค่าสีของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน	74
ตารางที่ 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินของข้าว หมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก	76
ตารางที่ 10 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของข้าวหมากข้าวมีสี ก่อน และหลังหมัก	79
ตารางที่ 11 ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อได้รับตัวอย่างทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ	83
ตารางที่ 12 ลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100X) หลังได้รับตัวอย่างทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ.....	84
ตารางที่ 13 สูตรของอนุภาคนาโนไขมันที่ใช้ในการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าว	85
ตารางที่ 14 ลักษณะการคงตัวขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคของ อนุภาคนาโนไขมันที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวแตกต่างกัน	86
ตารางที่ 15 สูตรของอนุภาคนาโนไขมันที่ใช้ในการศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิว.....	88
ตารางที่ 16 ลักษณะการคงตัวขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคของอนุภาค นาโนไขมันที่มีสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน	88
ตารางที่ 17 สูตรที่ใช้ในการศึกษาปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว	90

ตารางที่ 18 ลักษณะการคงตัวขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุนอนุภาคของอนุภาคนาโนไขมันที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลีส้มผิวแตกต่างกัน.....	91
ตารางที่ 19 สูตรตำรับนาโนเซรั่มที่มีส่วนผสมแตกต่างกัน	93
ตารางที่ 20 ผลของการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลีส้มผิวสูตร 1	96
ตารางที่ 21 ผลของการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลีส้มผิวสูตร 2	97
ตารางที่ 22 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์	98
ตารางที่ 23 ผลการตรวจวิเคราะห์โลหะหนัก	98
ตารางที่ 24 ค่าดัชนีการระคายเคือง (M.I.I) ของผิวหนังจากการทดสอบ closed patch test ที่ระยะเวลาต่าง ๆ.....	100
ตารางที่ 25 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลีส้มผิว.....	102
ตารางที่ 26 ผลการทดสอบความรู้ก่อน และหลังการอบรมเชิงปฏิบัติการ.....	104

GRAD VRU

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 กรอบแนวความคิดงานวิจัย.....	3
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของแป้ง.....	8
ภาพที่ 3 เมล็ดข้าวหอมมะลิแดง.....	9
ภาพที่ 4 เมล็ดข้าวสังข์หยด.....	9
ภาพที่ 5 เมล็ดข้าวเหนียวขาว.....	10
ภาพที่ 6 เมล็ดข้าวทับทิมชุมแพ.....	11
ภาพที่ 7 เมล็ดข้าวหอมนิล.....	11
ภาพที่ 8 เมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	12
ภาพที่ 9 เมล็ดข้าวหอมดําสุตะบุตร.....	13
ภาพที่ 10 เมล็ดข้าวหอมมะลิดํา.....	13
ภาพที่ 11 เมล็ดข้าวหอมมะลินิลสุรินทร์.....	14
ภาพที่ 12 เมล็ดข้าวเหนียวลิ้มผิว.....	15
ภาพที่ 13 เมล็ดข้าวเหนียวดําสายพันธุ์ต่าง ๆ.....	16
ภาพที่ 14 เมล็ดของข้าวเหนียวดําหมอ.....	16
ภาพที่ 15 เมล็ดข้าวเหนียวแดงเมืองเลย.....	17
ภาพที่ 16 การให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ.....	19
ภาพที่ 17 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH● กับ สารต้านอนุมูลอิสระ.....	20
ภาพที่ 18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเพอร์ริกไทโรไพรดิลไทโรเอซีน.....	21
ภาพที่ 19 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป.....	22
ภาพที่ 20 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์.....	23
ภาพที่ 21 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ.....	24

ภาพที่ 22 โครงสร้างและชนิดของแอนโทไซยานินชนิดต่าง ๆ	26
ภาพที่ 23 กระบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน	27
ภาพที่ 24 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง ไมเซลล์ ไลโปโซม นาโนอิมัลชัน และ SLN/NLC	32
ภาพที่ 25 ลักษณะอนุภาคนาโนชนิด SLNs (ซ้าย) และ NLCs (ขวา)	33
ภาพที่ 26 เครื่องอัลตราโซนิคแบบโพรบ	35
ภาพที่ 27 เครื่องวิเคราะห์หาขนาด และประจุอนุภาคชนิดสับไมครอน	37
ภาพที่ 28 ประจุที่พื้นผิวของอนุภาคนาโน	38
ภาพที่ 29 อนุภาคจะรวมตัวกันถ้ามีศักย์ซีต่าต่ำ (ซ้าย) อนุภาคจะผลักรันถ้ามีศักย์ซีต่าสูง (ขวา)	38
ภาพที่ 30 การทดสอบเพื่อดูการก่อการระคายเคืองการต่อผิวหนังโดยใช้วิธี Close Patch Test	60
ภาพที่ 31 ตำแหน่งของสารทดสอบบริเวณท้องแขนด้านในของอาสาสมัคร	60
ภาพที่ 32 ข้างมากข้างมีสีสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน	70
ภาพที่ 33 ลักษณะผงข้างมากข้างมีสีสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน	71
ภาพที่ 34 การสกัดตัวอย่างข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล	72
ภาพที่ 35 การทำแห้งสารสกัดข้าวด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ	72
ภาพที่ 36 ข้าวมากข้างมีสีก่อนการสกัด (ก) ตัวอย่างสารสกัดหยาบ (ข)	73
ภาพที่ 37 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวมากข้างมีสีก่อน และหลังหมัก	77
ภาพที่ 38 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของข้าวมากข้างมีสีก่อน และหลังหมัก	77
ภาพที่ 39 ปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวมากข้างมีสีก่อน และหลังหมัก	78
ภาพที่ 40 ลักษณะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	81
ภาพที่ 41 การทดสอบความเป็นพิษของไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ด้วยวิธีการย้อมสี SRB ของสารสกัดข้าวมากข้างลิ้มผิวโนไมโครเวลล์เพลท	82
ภาพที่ 42 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวแตกต่างกัน	87
ภาพที่ 43 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน	89

ภาพที่ 44 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าว ลืมหิวแตกต่างกัน.....	92
ภาพที่ 45 ลักษณะที่แตกต่างกันของอนุภาคนาโนสารสกัดข้าวหมากข้าวลืมหิว เบสเซอร์ม และ ผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมสูตร 1	94
ภาพที่ 46 ลักษณะนาโนเซรัมสูตร 1 (ชาย) และ ลักษณะนาโนเซรัมสูตร 2 (ขวา).....	94
ภาพที่ 47 ลักษณะการคงตัวของผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลืมหิวสูตร 1	95
ภาพที่ 48 ลักษณะการคงตัวของผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลืมหิวสูตร 2	95
ภาพที่ 49 ผิวหนังที่ให้ผลบวกอย่างอ่อน (+) ต่อสารละลายโซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟตร้อยละ 3.....	99



GRAD VRU

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวหมักหรือที่เรียกกันทั่วไปว่า “ข้าวหมาก” เป็นกระบวนการในการแปรสภาพข้าวให้มีรสหวาน ที่เกิดจากภูมิปัญญาพื้นบ้านของไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ และถือเป็นการถนอมอาหารวิธีหนึ่ง โดยอาศัยเชื้อจุลินทรีย์จากลูกแป้งที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิดที่ช่วยควบคุมจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ เมื่อเชื้อเจริญบนข้าวเชื้อราที่อยู่ในลูกแป้งจะผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล ส่วนยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยีสต์ยังมีคุณสมบัติที่เป็นโพรไบโอติก (Probiotics) ที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ภูมิคุ้มกันมะเร็ง ช่วยระบบทางเดินอาหารให้ทำงานเป็นปกติ ช่วยดูดซึมวิตามินดีขึ้น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และช่วยให้มีการดูดซึมแคลเซียม ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง (De Llanos, Querol, Pemán, Gobernado & Fernández-Espinar, 2006) ซึ่งข้าวถือว่าเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติหลายชนิด โดยพบว่าข้าวหมากจากข้าวหอมมะลิแดง ข้าวมันปู ข้าวสังข์หยด ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวดำมีปริมาณสารโพลีฟีนอล (Polyphenol) และแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ที่มีศักยภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในแมลงหวี่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์เดียวกันที่ไม่ผ่านการหมัก โดยข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำให้ผลจากการศึกษาที่ดีที่สุด (Plaittho, Kangsadalampai & Sukprasansap, 2013) โดยเฉพาะในข้าวที่มีสีมีแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุหรือสารสี (Pigment) สารแกมมาออไรซานอล (Gamma-oryzanol) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพันธุ์ที่เมล็ดไม่มีสี (Chakuton, Puangpronpitag & Nakomriab, 2012; Chen, Nagao, Itani & Irifune, 2012; Moko, Purnomo, Kusrudi & Ijong, 2014) จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในเมล็ดข้าว พบว่า เมล็ดข้าวกล้องสีดำ และแดงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก เมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวกล้องสีขาว โดยที่ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าว (Suttajit, Immark, Teerajan, Suttajit & Chiyasut, 2006) โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่จะสามารถทำลายเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายรวมถึงเซลล์ผิวหนัง ทำให้เซลล์ผิวหนังมีความแข็งแรงของผนังเซลล์ลดลง เกิดการเสื่อมสลายของคอลลาเจน ส่งผลให้ความชุ่มชื้น และความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลง จึงเกิดการเหี่ยวย่นก่อนวัย โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ร่างกาย ทำให้มีส่วนช่วยลดริ้วรอย ความหมองคล้ำของผิว และชะลอความเสื่อมของเซลล์ได้ (Fereidoon & ChiTang, 2005) นอกจากนี้รังสีอัลตราไวโอเล็ตยังมีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) ในผิวหนังถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการทำให้มีการเพิ่มขึ้น ของสีผิวโดยส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของเม็ดสีเมลานิน (Melanin) (กรรณิการ์ แจ่มศักดิ์, 2549) สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืชบางชนิดยังมีคุณสมบัติ

ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซิน (Tyrosin) ให้เป็นเม็ดสีเมลานินจึงส่งผลให้การสร้างเมลานินในผิวหนังลดลง และผิวพรรณขาวสดใสขึ้นกว่าเดิม (Choi et al., 2008)

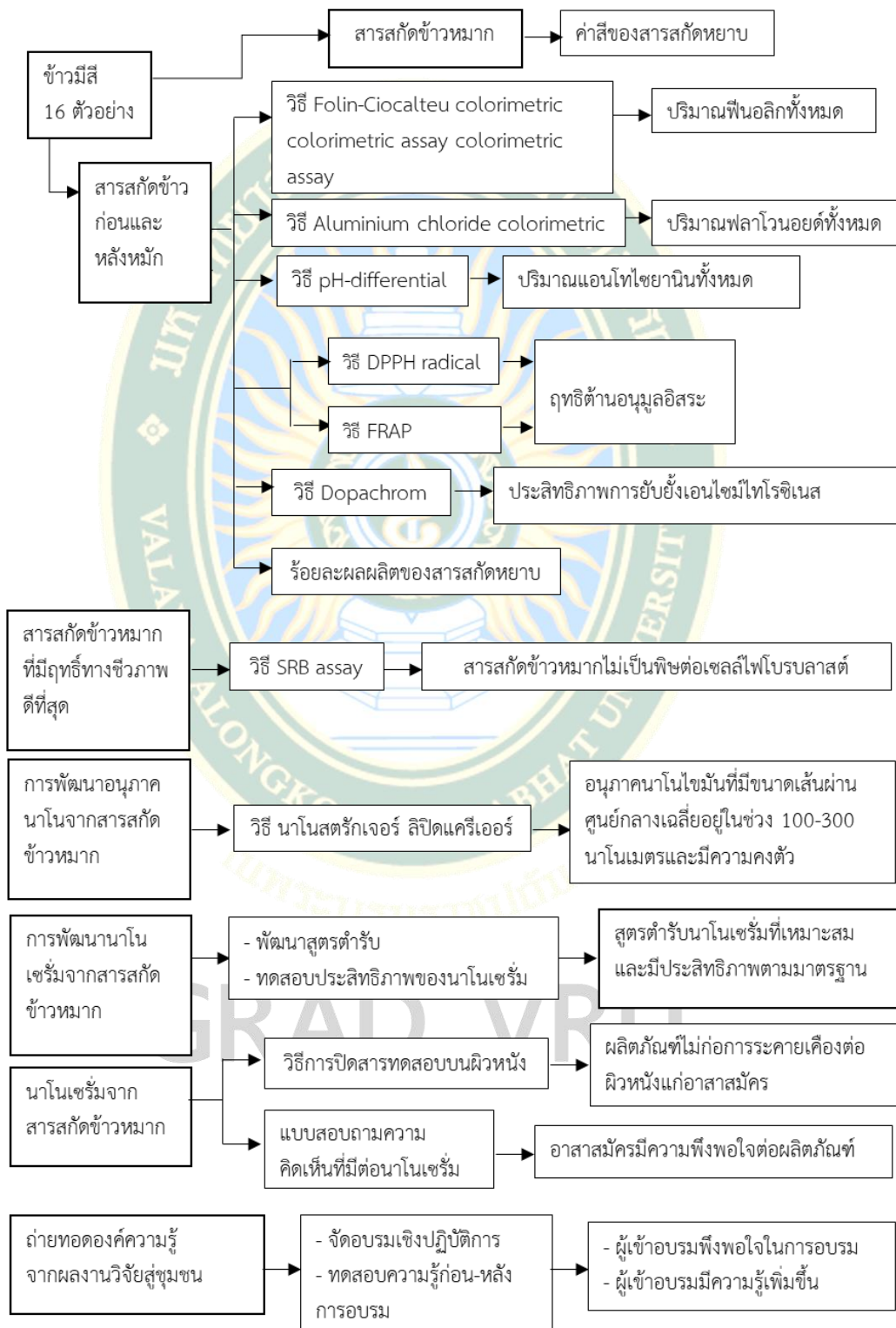
ในปัจจุบันแนวโน้มการส่งออกผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Cosmetics Industry) ของประเทศไทยได้เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะเครื่องสำอางในกลุ่มบำรุงผิวซึ่งมีแนวโน้มเป็นที่ต้องการ และมีมูลค่าการตลาดที่สูง นำไปสู่การวิจัยผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ต่อไปในอนาคตในการแข่งขันการออกสู่ตลาด โดยเฉพาะในกลุ่มประชากรสูงวัยที่เพิ่มมากขึ้น และมีการใช้สารตั้งต้นจากธรรมชาติเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอาง นอกจากนี้ผู้ประกอบการยังมีการผลิตเครื่องสำอางในรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่น ครีม เจล มาร์คหน้า โลชั่น และเซรัม เป็นต้น โดยเฉพาะเซรัมซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีความเข้มข้นของสารเพิ่มประสิทธิภาพ (Active Ingredients) สูง และมีขนาดโมเลกุลที่เล็กมากทำให้สามารถซึมเข้าสู่ชั้นผิวหนังที่ลึกขึ้นเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวประเภทอื่น (Selwyn, 2011) และเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญในการออกฤทธิ์สูงเมื่อเทียบกับครีมหรือโลชั่น (Niluwankosit, Suwansichon, Winitchai & Rimkeeree, 2014) ซึ่งปัจจุบันมีการพัฒนาในรูปแบบของอนุภาคขนาดเล็กระดับนาโนเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ (Active Agent) และการส่งสารออกฤทธิ์เข้าสู่ผิวหนังโดยการพัฒนาตัวนำพา หรือตัวนำส่งสาร ที่สามารถปกป้องสารออกฤทธิ์ไปสู่เป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีประโยชน์ในการกักเก็บสารที่ไม่คงตัวในสภาวะปกติ และใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญซึ่งจะช่วยให้สารสามารถซึมเข้าสู่ผิวชั้นในช่วยให้สารออกฤทธิ์นาน และค่อย ๆ ปล่อยสารสำคัญให้ซึมลงสู่ผิวหนังจึงช่วยลดอาการระคายเคืองทำให้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดให้ดียิ่งขึ้น (Manosroi, Ruksiriwanich, Kietthanakorn, Manosroi & Manosroi, 2011)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษานำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกในพื้นที่ที่แตกต่างกันในประเทศไทยทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียว มาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส แล้วนำสารสกัดมาพัฒนาให้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางชนิดอนุภาคนาโนไขมันด้วยกระบวนการทางนาโนเทคโนโลยี ในการสร้างความหลากหลายของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อช่วยลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ และเป็นการนำคุณค่าของข้าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เป็นการเพิ่มมูลค่า และยกระดับข้าวภายในประเทศ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาปริมาณกลุ่มสารสำคัญก่อน และหลังหมักข้าวของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี
- 1.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพก่อนและหลังหมักข้าวของสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสี ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส
- 1.2.3 ศึกษาการพัฒนาอนุภาคนาโนเซรัมบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 1.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพของนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี
- 1.2.5 ถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัยสู่วิสาหกิจชุมชน และบุคคลทั่วไปโดยการอบรมเชิงปฏิบัติการ

1.3 กรอบแนวคิด



ภาพที่ 1 กรอบแนวความคิดงานวิจัย

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

- 1.4.1 ข้าวหมากที่ทำจากข้าวมีสีมีกลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 1.4.2 ข้าวหมากที่ทำจากข้าวมีสีที่มีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุดสามารถนำไปพัฒนาเป็นเครื่องสำอางชนิดนาโนเซรั่มที่มีประสิทธิภาพ
- 1.4.3 สารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถพัฒนาเป็นนาโนเซรั่มแบบอนุภาคนาโนไขมันได้
- 1.4.4 นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสีมีประสิทธิภาพ และมีมาตรฐานเครื่องสำอาง
- 1.4.5 องค์ความรู้จากงานวิจัยนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสีสามารถนำไปถ่ายทอดสู่วิสาหกิจชุมชน และบุคคลทั่วไปได้

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.5.1 ข้าวกล้องมีสีที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ข้าวเหนียวลิ้มผิว จังหวัดตาก ข้าวเก่า จังหวัดเชียงราย ข้าวเก่าดอย จังหวัดพะเยา ข้าวเหนียวดำหม้อ จังหวัดพัทลุง ข้าวเหนียวดำ จังหวัดบุรีรัมย์ ข้าวเหนียวแดง จังหวัดเลย ข้าวหอมมะลิแดง จังหวัดสระบุรี ข้าวหอมนิล จังหวัดลพบุรี ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ จังหวัดอุบลราชธานี ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จังหวัดปทุมธานี ข้าวสังข์หยด จังหวัดพัทลุง ข้าวมะลินิล จังหวัดสุรินทร์ ข้าวเนียงกวัง จังหวัดบุรีรัมย์ ข้าวทับทิมชุมแพ จังหวัดขอนแก่น ข้าวสุตบุตร จังหวัดเชียงราย และข้าวหอมมะลิดำ จังหวัดเชียงราย เพื่อใช้ในการผลิตข้าวหมากโดยใช้ลูกแป้งที่ผลิตเอง
- 1.5.2 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือ เอทานอลร้อยละ 95
- 1.5.3 สารสำคัญที่ศึกษา ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay สารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric assay สารสีแอนโทไซยานิน โดยใช้วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-differential)
- 1.5.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยวิธี DPPH radical เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายบีเอชที (BHT: 2,6-ditertiary-butyl-4-methyl phenol) และการทดสอบด้วยวิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 1.5.5 การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครม (Dopachrom)
- 1.5.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธีการย้อมสี Sulforhodamine B (SRB assay) ส่งวิเคราะห์ศูนย์ทดสอบทางพิษวิทยาและชีววิทยา สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)
- 1.5.7 นำสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพดีที่สุด และไม่เป็นพิษต่อเซลล์มาพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง

100-300 นาโนเมตร ที่เรียกว่านาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers; NLCs)

1.5.8 พัฒนาสูตรตำรับนาโนเซิร์มจากสกัดข้าวหมากเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่มีประสิทธิภาพ โดยการตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และโลหะหนักตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มอก. 152-2555)

1.5.9 ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซิร์มที่พัฒนาขึ้นในอาสาสมัคร เพศหญิง สุขภาพดี โดยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (Closed patch test under occlusion)

1.5.10 ถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการด้วยการพัฒนาชุดฝึกอบรม และจัดอบรมให้กับวิสาหกิจชุมชน และบุคคลทั่วไปที่มีความสนใจ

1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1.6.1 นาโนเซิร์มสารสกัดข้าวหมาก หมายถึง สารสกัดของข้าวหมากที่ออกฤทธิ์เข้มข้นที่มีโมเลกุลขนาดเล็กกว่าคริมเนื้ออาจจะเป็นเจลหรือเซิร์มที่มีอนุภาคเล็กระดับนาโนเมตร

1.6.2 สารสกัดหยาบ หมายถึง สิ่งที่สกัดได้จากข้าวหมากที่นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แล้วระเหยตัวทำละลายออก ได้เป็นสารสกัดเข้มข้นหรือสารสกัดหยาบข้าวหมาก

1.6.3 ข้าวมีสี คือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่ไม่ผ่านการขัดสีที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ หรือแดง ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มเมล็ดในส่วนของผิวเมล็ดจนถึงเยื่อหุ้มเมล็ดชั้นในเพื่อใช้ในการทำข้าวหมาก

1.6.4 ประสิทธิภาพของสารสกัด หมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดข้าวหมากที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical พิจารณาจากค่า EC₅₀ เทียบกับสารมาตรฐาน BHT และวิธี FRAP พิจารณาจากความสามารถรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe³⁺) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe²⁺)

1.6.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สมบัติการยับยั้ง DPPH radical และความสามารถรีดิวซ์สารเฟอร์ริกเกิดเป็นสารเฟอร์รัสของสารสกัดหยาบข้าวหมาก

1.6.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบจากข้าวหมาก หมายถึง การนำสารสกัดหยาบไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง โดยพิจารณานำเอาค่า IC₅₀ เทียบกับสารมาตรฐานโคจิก

1.6.7 ประสิทธิภาพนาโนเซิร์มบำรุงผิว หมายถึง นาโนเซิร์มบำรุงผิวที่ให้ความชุ่มชื้น ไม่ระคายเคืองต่อผิว มีความคงตัวดี และมีมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1 ได้ผลิตภัณฑ์นาโนเซิร์มที่เป็นนวัตกรรมจากสารสกัดจากธรรมชาติ และสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการพัฒนาเครื่องสำอางที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติ

1.7.2 ทำให้เกิดการพัฒนาศักยภาพอาหารท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจชุมชน

1.7.3 ต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์เชิงพาณิชย์ และสาธารณะ และนำไปสู่การพัฒนาศักยภาพด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่อง การพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นกรอบความคิด หลักในการดำเนินงานวิจัย ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

2.1 ข้าวมีสี

- 2.1.1 ข้าวหอมมะลิแดง
- 2.1.2 ข้าวสังข์หยด
- 2.1.3 ข้าวเหนียวทอง
- 2.1.4 ข้าวทับทิมชุมแพ
- 2.1.5 ข้าวหอมนิล
- 2.1.6 ข้าวไรซ์เบอร์รี่
- 2.1.7 ข้าวหอมคำสุตะบุตร
- 2.1.8 ข้าวหอมมะลิดำ
- 2.1.9 ข้าวหอมมะลินิลสุรินทร์
- 2.1.10 ข้าวเหนียวดำ
- 2.1.11 ข้าวเหนียวดำ
- 2.1.12 ข้าวเหนียวดำหอม
- 2.1.13 ข้าวเหนียวแดงเมืองเลย

2.2 ข้าวหมาก

2.3 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

- 2.3.1 อนุมูลอิสระ
- 2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.4 สารประกอบฟีนอลิก

2.5 แอนโทไซยานิน

2.6 เอนไซม์ไทโรซิเนส

2.7 เวชสำอาง

- 2.7.1 เซิร์ม
- 2.7.2 การทดสอบเซิร์ม

2.8 อนุภาคนาโนไขมัน

- 2.8.1 ข้อมูลทั่วไป
- 2.8.2 โครงสร้างของอนุภาคนาโนไขมัน
- 2.8.3 นาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแคร์เออร์
- 2.8.4 องค์ประกอบของอนุภาคนาโนไขมันแข็ง

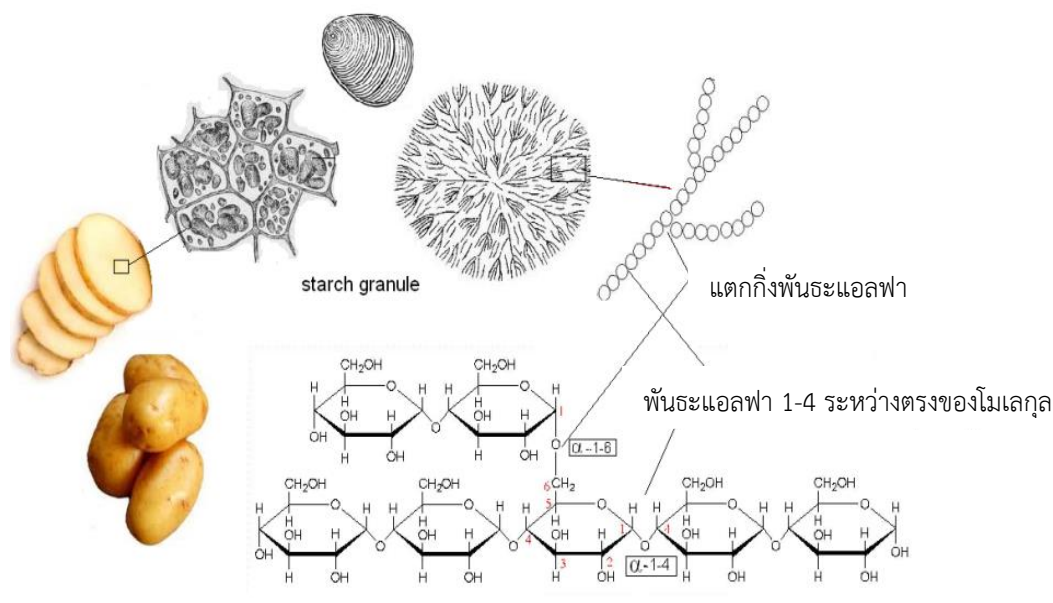
- 2.8.5 วิธีการเตรียมอนุภาคนาโนไฮแซ็ง
- 2.8.6 การประเมินสมบัติเคมีกายภาพ
- 2.8.7 ข้อดีของอนุภาคนาโนไขมัน
- 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
 - 2.9.1 งานวิจัยในประเทศ
 - 2.9.2 งานวิจัยต่างประเทศ

2.1 ข้าวมีสี

ข้าวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ ว่า *Oryza sativa* L. อยู่ในวงศ์หญ้า Poaceae ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกธัญพืชที่สามารถกินเมล็ดได้ โดยจะแบ่งออกเป็น 2 สปีชีส์ใหญ่ ๆ คือ *Oryza glaberrima* ซึ่งปลูกเฉพาะในเขตร้อนของแอฟริกาและ *Oryza sativa* ที่ปลูกกันทั่วโลก สำหรับชนิด *Oryza sativa* ยังแบ่งแยกย่อยออกไปได้อีกคือสายพันธุ์จาпонิก้า (Japonica type) ที่ปลูกมากในเขตอบอุ่น และสายพันธุ์อินดิค้า (Indica type) ที่ปลูกมากในเขตร้อน โดยข้าวที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพวกสายพันธุ์อินดิค้า หรือสายพันธุ์ข้าวอินเดีย ซึ่งเป็นข้าวที่นิยมปลูกในศรีลังกา บังคลาเทศ จีน ตอนกลาง และตอนใต้ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ข้าวจัดเป็นอาหารหลักของชาวไทยเนื่องจากเมล็ดข้าวเป็นแหล่งที่ดีของสารต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน เส้นใยอาหาร ไขมัน วิตามิน ซึ่งเป็นสารพื้นฐานที่เรียกว่าสารเมทาบอลิท์ปฐมภูมิ (Primary metabolite) จากนั้นสารเมทาบอลิท์ปฐมภูมิเหล่านี้จะเข้าสู่กระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ได้สารใหม่ที่เรียกว่าสารเมทาบอลิท์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) เช่น สารฟีนอลิก (Phenolics) เป็นต้น ทั้งนี้ปริมาณสารดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และการขัดสีข้าว (พัชรภรณ์ รัตนธรรม ณีฐฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น, 2556) โดยองค์ประกอบทางเคมีหลักของข้าว รวมทั้งพืชหัวคือแป้ง (Starch) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่มีน้ำตาลกลูโคส (Glucose) เป็นมอนอเมอร์ (Monomer) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) ที่ต่อเป็นสายยาวที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 ได้เป็นโครงสร้างแบบอะไมโลส (Amylose) ส่วนที่ตำแหน่ง แอลฟา 1,4 และแอลฟา 1,6 ได้เป็นอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) ที่มีสายแขนง โมเลกุลของแป้งดังกล่าวจะอัดแน่นเป็นเม็ดแป้ง (Starch granule) มีขนาดประมาณ 3-8 ไมครอนรวมตัวกันอยู่ภายในอะไมโลพลาสต์ (Amyloplast) ของเซลล์ (เขาวนิพร ชีพประสพ หาสันต์ สาเหล็ม และฤทัยทิพ อโนมุณี, 2560) ดังภาพที่ 2

ถ้าแบ่งข้าวตามชนิดของแป้งที่รวมกันเป็นเอ็นโดสเปิร์มจะแบ่งได้เป็นข้าวเหนียว (Glutinous rice) และข้าวเจ้า (Non glutinous rice) โดยข้าวเจ้าจะประกอบด้วยปริมาณอะไมโลเพกทินร้อยละ 60-90 และอะไมโลสร้อยละ 10-30 ส่วนข้าวเหนียวจะประกอบด้วยปริมาณอะไมโลเพกทินสูงขึ้นร้อยละ 90 และมีอะไมโลสน้อยมากหรือไม่มีเลย ถ้าแบ่งตามลักษณะของสี เมล็ดข้าวจะแบ่งได้เป็น ข้าวขาว ข้าวแดง และข้าวดำ เป็นต้น โดยข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสูงกว่าข้าวขาวหรือข้าวสาร เพราะข้าวกล้องยังคงมีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และใยอาหาร ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังพบสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกหลายชนิด เช่น แกมมาโอไรซานอล (Gamma-oryzanol) วิตามินอี ซึ่งเป็น

สารประเภทต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความแก่ และกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (γ -aminobutyric acid) หรือเรียกย่อ ๆ ว่ากาบา (GABA) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดที่สำคัญต่อระบบประสาทส่วนกลาง



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของแป้ง

ที่มา : พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธิยา รัตนานนท์ (2563)

ข้าวมีสีหรือข้าวที่มีรงควัตถุ (Pigmented rice) หมายถึงข้าวที่มีรงควัตถุหรือสารให้สีกระจายอยู่ในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด ทำให้เมล็ดข้าวกล้องมีสีตามธรรมชาติที่แตกต่างกัน เช่น สีแดง สีม่วง หรือสีน้ำตาลแดง รงควัตถุที่ให้สีที่อยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ดคือกลุ่มของแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ซึ่งจะสะสมอยู่ในส่วนผิวเมล็ดบริเวณเปลือกเมล็ดจนถึงเยื่อหุ้มเมล็ดชั้นใน โดยสามารถยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระทำให้เกิดการสร้างคอลลาเจน ช่วยชะลอ และลดริ้วรอย ลดการอักเสบที่ผิวหนัง และที่สำคัญ คือ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคความดันโลหิตสูง และโรคสมองเสื่อมได้ (วีชรี หาญยิ่ง, 2549) ในเมล็ดข้าวสายพันธุ์ที่มีสีแดง และดำจะมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ที่ไม่มีสี (Gregorio, 2002) ตัวอย่างข้าวมีสี เช่น ข้าวกล้องหอมมะลิแดง ข้าวกล้องมันปู ข้าวสังข์หยด ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวเหนียวลิ้มผิว ข้าวกำลังยวมูเซอ และข้าวเหนียวดำ (สัจชัย ยอดมณี, 2552)

2.1.1 ข้าวหอมมะลิแดง

ข้าวกล้องหอมมะลิแดง (Red Jasmine Rice) หรือข้าวมันปู เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เกิดจากการกลายพันธุ์โดยธรรมชาติของข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่ไวต่อแสง มีความต้านทานโรคและแมลงสูง มีปริมาณอะไมโลสร้อยละ 16.9 ลักษณะเมล็ดทรงรี เรียวยาวเล็ก ๆ มีเปลือกแข็งแก่หุ้มเมล็ด เปลือกเมล็ดอ่อนมีสีเขียว เปลือกเมล็ดมีสีเหลืองทอง มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเข้ม เมล็ดมีสีน้ำตาลแดงเข้ม (ภาพที่ 3) เมื่อหุงสุกแล้วเมล็ดจะร่วนสวย นุ่มเหนียว มีกลิ่นหอม (ณัฐณี ตั้งศรีอนุกุล,

2551) นอกจากนั้นยังเป็นข้าวที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูง (Nam, Choi, Kang, Koh, Kozukue & Friedman, 2006)



ภาพที่ 3 เมล็ดข้าวหอมมะลิแดง

2.1.2 ข้าวสังข์หยด

ข้าวสังข์หยด (Sangyod Rice) จัดเป็นกลุ่มข้าวที่มีสีแดง (ภาพที่ 4) มีถิ่นกำเนิดทางจังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย เช่น นครศรีธรรมราช สงขลา และพัทลุง จัดเป็นข้าวพื้นเมืองของจังหวัดพัทลุงที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นพันธุ์ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้เฉพาะนาปี ลักษณะของเยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดงเข้ม จากรงควัตถุแอนโทไซยานินในเยื่อชั้นนอกของข้าว เมื่อสีเป็นข้าวสารจะมีลักษณะสีแดงเข้มปนสีขาวในเมล็ดเดียวกัน เมื่อหุงสุกมีลักษณะนุ่มค่อนข้างเหนียว เนื่องจากมีปริมาณอะไมโลสต่ำ คือร้อยละ 14.25 มีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สารแกมมาโอไรซานอล สารกาบา และสารประกอบฟีนอลิก ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง ชะลอความแก่บำรุงโลหิต ป้องกันความจำเสื่อม (ปรีชา เมียนเพชร, 2548) ข้าวสังข์หยดพัทลุงได้รับคำประกาศรับรองให้เป็นสินค้าบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indications : GI) ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ พ.ศ.2546 โดยใช้ชื่อว่า “ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง” ตั้งแต่วันที่ 23 มิถุนายน 2549 นับเป็นข้าวจีไอพันธุ์แรกของประเทศไทย (สำเร็จ แซ่ตัน, 2550)



ภาพที่ 4 เมล็ดข้าวสังข์หยด

2.1.3 ข้าวเนียงกง

ข้าวเนียงกงเป็นข้าวเจ้าพันธุ์พื้นเมืองชุมชนเขมรสุรินทร์ บ้านโดนเลงใต้ นิยมปลูกในภูมิโนเขตที่เป็นนาลุ่ม มีน้ำท่วมขังเกือบทั้งปี เมล็ดมีขนาดเล็ก อ้วน มีสีแดง (ภาพที่ 5) ข้าวเนียงกงถือเป็นข้าวมงคล เพราะคำว่า “เนียง” ในภาษาเขมรแปลว่า ผู้หญิง ในความหมายของข้าวจึงหมายถึงแม่โพสพผู้รักษาข้าว คำว่า “กง” หมายถึง คงอยู่ ยืนยาว ไม่มีวันสูญหาย เนียงกงจึงหมายถึงข้าวที่คงอยู่ไม่มีวันหมดวันสิ้น ชาวเขมรจึงนิยมนำไปใช้ในการประกอบพิธีกรรมต่าง ๆ เช่น งานแต่งงาน หรือใส่ในหลุมเสาตอชปลูกบ้านใหม่ และเชื่อว่าการสร้างบ้านจะต้องปลูกข้าวเนียงกงไว้รอบบ้านเพื่อช่วยค้าจุนให้มั่นคง (พิชานันท์ ปัญญาเหลือ จูริมาศ ฉลาดมาก และภัทรารณณ์ แก้วกุล, 2556)



ภาพที่ 5 เมล็ดข้าวเนียงกง

2.1.4 ข้าวทับทิมชุมแพ

ข้าวทับทิมชุมแพเป็นข้าวจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กลายพันธุ์จากรังสี ทรงต้นเตี้ย (Semi-dwarf KDML105) ที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ ไม่ไวต่อช่วงแสงเป็นพันธุ์แม่ กับข้าวเจ้าพันธุ์สังข์หยด ซึ่งมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ไวต่อช่วงแสง อายุสั้น ต้นสูงเป็นพันธุ์พ่อ จนได้ข้าวสายพันธุ์บริสุทธิ์ SRN06008-18-1-5- 7-CPA-20 ที่เมล็ดข้าวกล้องมีสีแดง รูปร่างเรียวยาว คุณภาพสีดี (ภาพที่ 6) มีปริมาณอะไมโลสร้อยละ 12.63 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ วิตามินอี และสารแกมมาออโรซานอลสูง รวมทั้งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง (ฤทธิ์พันธ์ รุ่งเรือง จรัสฟ้า โหมตสุวรรณ นภารัตน์ แซ่ลี่ ณิชฐิตพล ไช้แสงศรี อรพิน เกิดชื่นชู และณัฐธา เลาหกุลจิตต์, 2561) กรมการข้าว ได้ยื่นจดทะเบียนเพื่อขอรับความคุ้มครอง พันธุ์พืชใหม่ต่อสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ในปี พ.ศ. 2558 โดยใช้ชื่อพันธุ์ว่า ทับทิมชุมแพ (ชื่อพันธุ์ตั้งโดยที่ปรึกษากรมการข้าว ดร.บริบูรณ์ สมฤทธิ์) เนื่องจากข้าวกล้องหุงสุกมีสีแดงใสคล้ายทับทิม



ภาพที่ 6 เมล็ดข้าวทับทิมชุมแพ

2.1.5 ข้าวหอมนิล

ข้าวหอมนิล เป็นข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ใหม่ ที่เป็นลูกผสมระหว่างข้าวสีนิลกับข้าวหอมมะลิ 105 ข้าวสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จะมีเมล็ดยาว เยื่อหุ้มเมล็ดที่เป็นสีม่วงดำ (ภาพที่ 7) และมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ มีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 12.5 ปริมาณอะไมโลสร้อยละ 16 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ประกอบไปด้วยสารแอนโทไซยานิน ที่ช่วยลดการอักเสบของเนื้อเยื่อ ลดไขมันอุดตันในเส้นเลือดที่หัวใจและสมอง บรรเทาโรคเบาหวาน บำรุงสายตา และประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีกว่าวิตามินอีหลายเท่า (Tirasart & Thanomwong, 2015) ส่วนข้าวหอมนิลจักรพรรดิ เป็นข้าวสายพันธุ์ผสมระหว่างข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียวดำสายพันธุ์จีน เมล็ดมีสีม่วงเข้ม ชาวจีนโบราณเรียกว่า ข้าวจักรพรรดิ เพราะถือเป็นข้าวเสวยสำหรับจักรพรรดิเท่านั้น เมื่อหุงสุกแล้วมีเนื้อเหนียว นุ่ม หนึบ มีกลิ่นหอม เป็นข้าวโปรตีนสูง มีคาร์โบไฮเดรตชนิดเชิงซ้อนชนิดดี ปริมาณอะไมโลสในสัดส่วนที่สูงเมื่อเทียบกับข้าวชนิดอื่น มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าบลูเบอร์รี่ และวิตามินอี มีเส้นใยที่ย่อยได้สูงสามารถเสริมภูมิคุ้มกัน (กรมการข้าว, 2563)



ภาพที่ 7 เมล็ดข้าวหอมนิล

2.1.6 ข้าวไรซ์เบอร์รี่

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry) เป็นข้าวที่เกิดขึ้นมาใหม่จากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลซึ่งเป็นสายพันธุ์พ่อ กับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ โดยศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ในปีพ.ศ. 2545 เป็นข้าวเจ้าที่เมล็ดมีรูปร่างเรียวยาวมีสีม่วงเข้ม ผิวมันวาว เปลือกหุ้มเมล็ดมีสีม่วง (ภาพที่ 8) มีสารต้านอนุมูลอิสระชนิดแอนโทไซยานินและวิตามินบี 9 หรือโฟเลต (Folate) ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังมีสารอาหารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ได้แก่ เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) แกมมาโอโรซานอล วิตามินอี วิตามินบี1 ลูทีน (lutein) แทนนิน (Tannin) สังกะสี โอเมก้า3 (Omega-3) ธาตุเหล็ก และเส้นใยอาหาร เป็นต้น ซึ่งเป็นสารอาหารที่มีส่วนช่วยลดระดับไขมัน และคอเลสเตอรอล ลดความเสี่ยงต่อการเป็นและป้องกันโรคต่าง ๆ เช่นโรคเบาหวาน โรคหลอดเลือด โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคโลหิตจาง และโรคสมองเสื่อม เป็นต้น รวมทั้งมีส่วนช่วยในการสร้างคอลลาเจน ลดการอักเสบที่ผิวหนัง ช่วยลดริ้วรอย และชะลอความแก่ (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2561)



ภาพที่ 8 เมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่

2.1.7 ข้าวหอมคำสุตะบุตร

ข้าวหอมคำสุตะบุตรเป็นข้าวเจ้าพันธุ์ผสมจากข้าวเจ้าปทุมธานี และข้าวเจ้าหอมนิลอายุ 120 วัน เป็นข้าวนาปรังที่สามารถนำไปเพาะปลูกได้ทุกฤดูกาล เหมาะกับพื้นที่ที่มีน้ำต่ำ ๆ (ประมาณ 2-5 เซนติเมตร) โดยเฉพาะภาคเหนือของไทย ข้าวกล้องมีลักษณะเมล็ดเรียวยาว สีม่วงดำ (ภาพที่ 9) เมื่อขัดขาวให้สีขาวใสอมม่วง เมื่อหุงสุกมีความเหนียวนุ่ม และมีรสชาติคล้ายข้าวเหนียว



ภาพที่ 9 เมล็ดข้าวหอมดำสุตะบุตร

2.1.8 ข้าวหอมมะลิดำ

ข้าวหอมมะลิดำเป็นข้าวเจ้าสายพันธุ์ใหม่ที่ปรับปรุงสายพันธุ์จากศูนย์วิจัยข้าวหนองคาย เป็นพันธุ์ข้าวที่เกิดจากข้าวหอมมะลิ 105 สายพันธุ์กลาย ไม่ไวต่อช่วงแสงเป็นแม่พันธุ์มาผสม กับพ่อพันธุ์ซึ่งเป็นข้าวเหนียวดำ เมล็ดมีลักษณะเรียวยาว สีดำ (ภาพที่ 10) มีปริมาณอะไมโลสต่ำประมาณร้อยละ 15 คุณภาพข้าวสุกนุ่ม และมีกลิ่นหอม อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (ไทยรัฐฉบับพิมพ์, 2560)



ภาพที่ 10 เมล็ดข้าวหอมมะลิดำ

2.1.9 ข้าวหอมมะลินิลสุรินทร์

ข้าวเจ้าพันธุ์มะลินิลสุรินทร์ เป็นข้าวเจ้าหอมต่างสี ได้จากการคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์ ข้าวเจ้าพันธุ์พื้นเมืองไวต่อช่วงแสง พันธุ์มะลิดำสายพันธุ์ SRNC05053 จากแปลงแสดงพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์เมื่อปี พ.ศ. 2548 จนได้ข้าว สายพันธุ์ SRNC05053-6-2 พันธุ์บริสุทธิ์ที่มีเมล็ดเรียวยาว เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ (ภาพที่ 11) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง ต้านการซึมเศร้า วิดกกังวล และยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ มีปริมาณอะไมโลสต่ำ ข้าวที่

สุกจะเหนียว นุ่ม และมีกลิ่นหอม (รณชัย ช่างศรี กรรณิกา นากลาง ฌราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย ธาณี ชื่นบาน และทรงชัย วัฒนพ่ายพุกุล, 2551)



ภาพที่ 11 เมล็ดข้าวหอมมะลิสีสุนทร

2.1.10 ข้าวเหนียวลิ้มผัว

ข้าวเหนียวลิ้มผัว (*Oryza sativa L. variety Leum Phua*) เดิมเป็นข้าวเหนียวดำหอมที่เป็นข้าวไร่ของภาคอีสานบ้านรวมไทยพัฒนาที่ 3 ตำบลรวมไทยพัฒนา อำเภอพบพระ จังหวัดตาก และบนภูเขาอำเภอเขาแก้วที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เนื่องจากทนแล้งไม่ต้องการน้ำมาก จึงเป็นข้าวเหนียวที่มีสีม่วงดำทั้งเยื่อหุ้มเมล็ด และเนื้อเมล็ด (ภาพที่ 12) ซึ่งเป็นสารสีในกลุ่มของแอนโทไซยานินชนิดแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidin) เป็นข้าวเหนียวที่มีกลิ่นหอม รสชาติอร่อย และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวเหนียวที่บริโภคทั่วไปมาก มีสารสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กรดไขมันอิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า 3, 6 และ 9 วิตามินบี 3 วิตามินอี แคลเซียม แมงกานีส ธาตุเหล็ก และแกมมาโอไรซานอล ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจ การลดการแข็งตัวของเลือด ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ช่วยบำรุงตับ ป้องกันโรคสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์ ลดไขมันในเส้นเลือด โรคเบาหวาน รวมไปถึงโรคห่อนสมรรถภาพทางเพศในชาย และหญิง (อภิชาติ เนินพลับ อัจฉรา ณ ลำปาง เนินพลับ พจน์ วัจนะภูมิ และพงศา สุขเสริม, 2553; การันต์ ผึ้งบรรหาร มารุต เมี้ยนเทศ วาสนา กับสนเทียะ และชนิรัตน์ ผึ้งบรรหาร, 2559; วรวิร์ รាយา, 2558) นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับวิตามินอี แต่มีคุณสมบัติดีกว่า และยังช่วยในเรื่องต่อกระดูก ใช้เป็นยารักษาโรคตามภูมิปัญญาท้องถิ่น เช่น โรคท้องร่วง โรคผิวหนัง มะเร็ง และต้มกับใบชาแก้อาการ ตกเลือดหลังคลอด เป็นต้น (กรมการข้าว, 2562)



ภาพที่ 12 เมล็ดข้าวเหนียวสีม่วงดำ

2.1.11 ข้าวเหนียวดำ

ข้าวเหนียวดำ (Black Glutinous Rice) หรือเรียกตามภาษาพื้นเมืองของภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยว่า "ข้าวกำ" (Purple Rice) เป็นการเรียกตามลักษณะสีของเปลือก หรือเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีแดงเข้ม หรือ "แดงกำ" (ภาพที่ 13) นอกจากนั้นยังปรากฏสีม่วงตามส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ และกลีบดอก ซึ่งในวัฒนธรรมข้าวชาวเหนือข้าวกำนั้นถือได้ว่ามีคุณค่าทางสมุนไพร หรือความเป็นยาที่ชาวเหนือดั้งเดิมหรือชาวล้านนาเพาะปลูกในพิธีกรรม การ เช่น ไห้ การโภชนาการ การเสริมสวย และยารักษาโรค (ดำเนิน กาละดี พันธิพา พงษ์เพ็ญจันทร์ และ ศันสนีย์ จำจด, 2543) โดยสีที่เกิดขึ้นมาจากการสะสมของรงควัตถุแอนโทไซยานินโดยเฉพาะชนิดที่พบในข้าวสีม่วงกลุ่มอินดิค้ำ ซึ่งรวมถึงข้าวกำไทย คือไซยานินดิน 3-กลูโคไซด์ (Cyanindin 3-glucoside) ที่เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ละลายได้ดีในน้ำ และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ช่วยการหมุนเวียนของกระแสโลหิต ชะลอการเสื่อมของเซลล์ร่างกาย ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ในร่างกายซึ่งก่อให้เกิดโรคหลายชนิด นอกจากนั้นมีการนำสารสกัดจากเมล็ดข้าวเหนียวดำไปเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางประเภทต้านริ้วรอยต่างด้า ฝ้า กระ หรือชะลอความแก่ เช่น สบู่ ข้าวเหนียวดำผสมถ่าน ช่วยลดริ้วรอยต่างด้าบนใบหน้า และผิว แคมพูข้าวเหนียวดำผสมใบม่อน มาสคார่าข้าวเหนียวดำ และสปาข้าวเหนียวดำ เป็นต้น (จรัญจิต เฟ็งรัตน์ และสุวัฒน์ เจริญระคงมัน, 2552)



ภาพที่ 13 เมล็ดข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ต่าง ๆ

2.1.12 ข้าวเหนียวดำหอม

ข้าวเหนียวดำหอมเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดพัทลุง ที่เกิดจากการเก็บรวบรวมพันธุ์ข้าวเหนียวมีสีที่เกษตรกรนิยมปลูกในภาคใต้ของศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี ตามประวัติพบว่าที่วัดเขาอ้อ หรือสำนักเขาอ้อ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง ซึ่งมีชื่อเสียงทางด้านวิชาอาคม จะมีการทำพิธีกรรมทางไสยศาสตร์อยู่ 3 พิธี 1 ในนั้นก็คือ พิธีหุงข้าวเหนียวดำหรือกินเหนียวดำที่ยังสืบทอดกันมา พิธีหุงข้าวเหนียวดำ หมายถึงการนำเครื่องยาสมุนไพร หรือว่านชนิดต่าง ๆ (ตามตำราบอกว่าไม่ต่ำกว่า 108 ชนิด) มาผสมกันแล้วต้มเอาน้ำยามาใช้หุงข้าวเหนียวดำ ซึ่งข้าวเหนียวดำที่นำมาหุงนั้นเป็นข้าวเหนียวที่เรียกกันว่า “ข้าวเหนียวดำหอม” ซึ่งแต่ละปีจะประกอบพิธีกินกันเพียง 2 ครั้ง คือขึ้น 15 ค่ำเดือน 5 และ วันขึ้น 15 ค่ำเดือน 10 ลักษณะเมล็ดของข้าวเหนียวดำหอมคือมีสีดำ ขนาดใหญ่ และแข็งกว่าข้าวเหนียวดำทั่วไป (ภาพที่ 14) (นิธิศ แสงอรุณ และคณะ, 2553)



ภาพที่ 14 เมล็ดของข้าวเหนียวดำหอม

2.1.13 ข้าวเหนียวแดงเมืองเลย

ข้าวเหนียวแดงเป็นข้าวนาที่มีเมล็ดแดง เปลือกแดง (ภาพที่ 15) นิยมปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย โดยข้าวเหนียวแดงเมืองเลย เป็นสายพันธุ์ที่มีต้นกำเนิดที่จังหวัดเลย ทดลองปลูกครั้งแรกในปีพ.ศ. 2555 เป็นสายพันธุ์ที่เคยได้รับรางวัลที่หนึ่งของข้าวเหนียวที่หอมที่สุดในงานจาก 90 สายพันธุ์ข้าวเหนียว ในงานมหกรรมพันธุ์ข้าวที่จังหวัดยโสธร ซึ่งข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เมล็ดข้าวมีสี เช่น สีแดง มักประกอบด้วยสารพฤกษเคมีในปริมาณสูง โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก (Shao, Xu, Sun, Bao & Beta, 2014)



ภาพที่ 15 เมล็ดข้าวเหนียวแดงเมืองเลย

2.2 ข้าวหมาก

ข้าวหมาก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือ ข้าวเหนียวดำ ที่ผ่านการล้าง นำมานึ่ง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 2 วันถึง 3 วัน เพื่อเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาล เช่น กลูโคส กาแลกโตส และฟรุกโตส เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยจึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทำให้น้ำที่มีอยู่ซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว และยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ในการทำข้าวหมากจะต้องใช้ลูกแป้งข้าวหมากซึ่งมีเชื้อรา ที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งในข้าวเหนียวให้เป็นน้ำตาล และถ้าหมักไว้นาน 1 สัปดาห์จะมีกลิ่นเหล้าอ่อน ๆ เนื่องจากยีสต์บางชนิดจะหมักน้ำตาลในข้าวหมากเป็นแอลกอฮอล์ จึงควรเก็บข้าวหมากไว้ในตู้เย็นเมื่อหมักได้ที่แล้ว (เกศริน แก้วมณี และวัชรีย์ หาญเมืองใจ, 2558) ในการทำข้าวหมากจะต้องใช้ลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนแป้งครึ่งวงกลม สีขาวนวล น้ำหนักเบา ในลูกแป้งข้าวหมากจะมีเชื้อราสกุล *Mucor* sp., *Amylomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus oryzae* และยีสต์ในสกุล *Sacchacomycetes* sp., ในข้าวหมากยังพบยีสต์ *Hansenula* sp. ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนเป็นเอสเทอร์ ซึ่งเป็นกลิ่นรสที่ดีของข้าวหมาก มีรายงานวิจัยที่บ่งชี้ว่า *Amylomyces* sp. เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญในการหมักข้าวหมากโดยสามารถไฮโดรไลซ์แป้งได้อย่างสมบูรณ์ และเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีกว่าเชื้อราชนิดอื่น และให้กลิ่นหอมหวานเฉพาะตัวกับข้าวหมาก (สมพร สิ้นธารา, 2544) ส่วนแบคทีเรียที่พบในลูกแป้ง เช่น แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ได้แก่ สกุล *Pediococcus*,

Lactobacillus และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแอซิติก (Acetic acid bacteria) ได้แก่ สกุล Acetobacter และ Gluconobacter โดยมีส่วนผสมของเครื่องเทศ เช่น กระเทียม ขิง ข่า ชะเอม และพริกไทย ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2544) ลูกแป้งผลิตจาก ภูมิปัญญาพื้นบ้านที่สืบทอดจากบรรพบุรุษ คุณภาพของลูกแป้งข้าวหมากมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับวัตถุดิบ และกรรมวิธีการในการผลิตส่งผลให้ข้าวหมากที่ผลิตได้ในแต่พื้นที่มีลักษณะสี กลิ่น และรสชาติที่แตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก เชื้อยีสต์ในข้าวหมากเป็นโพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานเป็นปกติและดูดซึมวิตามินดีและแคลเซียมดีขึ้น กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงมะเร็งลำไส้ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง (ทองจุล ชันขาว, 2554) ความหวานของข้าวหมากเป็นการหวานด้วยการหมักโดยวิธีธรรมชาติ เนื่องจากน้ำตาลในข้าวหมากส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ได้ทันทีโดยไม่ต้องผ่านการย่อย เมื่อรับประทานข้าวหมากไปจึงทำให้รู้สึกสดชื่น และแป้งที่เหลือจากการย่อยยังสามารถให้พลังงานแก่ร่างกายได้

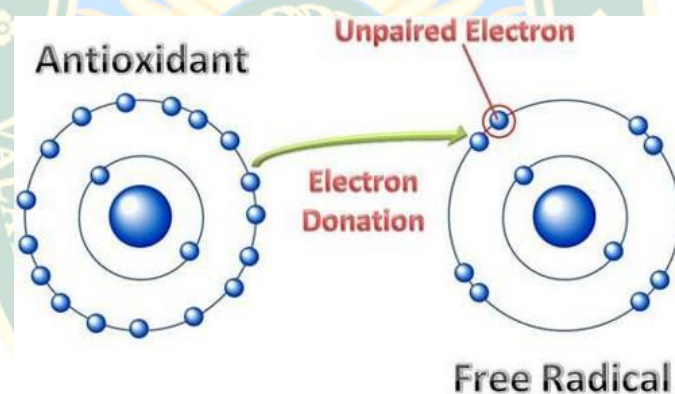
ข้าวหมากที่ทำจากข้าวกล้องยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสูงมากกว่าข้าวขาวหรือข้าวสาร เพราะข้าวกล้องยังคงมีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว และคัพภะ (Rice germ) ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และใยอาหาร ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังพบสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกหลายชนิด เช่น แกมมาออริซานอล วิตามินอี ซึ่งเป็นสารประเภทต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความแก่ และกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง (Zhang, Gao, Chen & Wang, 2014)

2.3 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radical หรือ oxidant) คือ สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกของอะตอมที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน อนุมูลอิสระในร่างกายเป็นอนุพันธ์ของออกซิเจน เรียกว่ารีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (Reactive oxygen species หรือ ROS) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร มีพลังงานสูง และมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย มีผลต่อการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อ ส่งผลต่อความเสื่อม หรือการแก่ของเซลล์ เช่น การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติ (Ames, Shigenaga & Hagen, 1993) โดยปกติร่างกายจะมีระบบควบคุมป้องกันอนุมูลอิสระที่เรียกว่า ระบบแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidant defense system) แต่ถ้าวร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ เรียกว่า เกิดภาวะความเครียดของออกซิเจน (Oxidative stress) โดยอนุมูลอิสระที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจะก่อให้เกิดความเสียหายและเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดความแก่ชรา (Aging) ก่อน

วัย ความเสื่อมของร่างกาย เป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ (Cornish & Garbary, 2010) โมเลกุลของอนุมูลอิสระ เกิดจากผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ของเซลล์ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (Ozone) คิวบิกจากท่อไอเสียรถยนต์ ยาบางชนิดและควันบุหรี่ อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ทำลาย หรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และการขัดขวางและการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะสามารถจับกับอนุมูลอิสระแล้วให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระแล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารอนุมูลอิสระสิ้นสุดลงส่งผลให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ดังภาพที่ 16 (Scott, Poston, Wilson, Coward & Palmer, 2005)

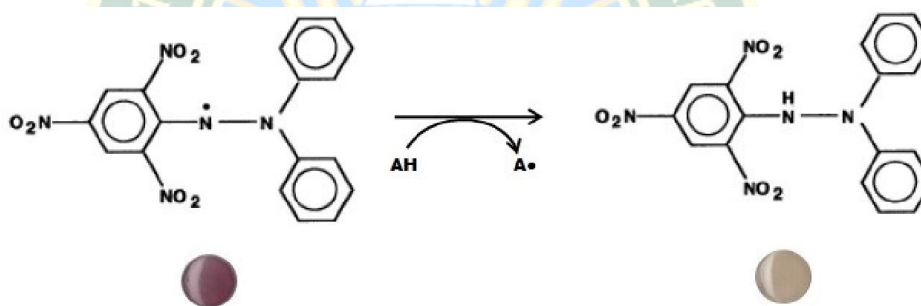


ภาพที่ 16 การให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา : Scott, Poston, Wilson, Coward & palmer (2005)

2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) เป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะเข้าไปทำลายโมเลกุลสารของเซลล์ในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ของมนุษย์ ทำให้เกิดการชะลอ และป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ (Veliloglu, Mazza, Gao & Oomah, 1998) นอกจากนั้นสารต้านอนุมูลอิสระยัง ได้แก่ วิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) และเบต้าแคโรทีน (β -carotene) รวมทั้งกลุ่มเอนไซม์บางชนิด เช่น แคทาเลส (Catalase) กลูตา ไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) ปัจจุบันพบว่า พืชผัก และผลไม้ที่มีสี เช่น สีแดง ดำ หรือ ม่วง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (Zhang et al., 2006)

ในการตรวจวัดกิจกรรมการต้านออกซิเดชันทำได้หลายวิธี ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพโดยอาศัยโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer chromatography หรือ TLC) และโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง (High pressure liquid chromatography หรือ HPLC) ส่วนวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์ เพื่อหาความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม เช่น วิธี DPPH radical scavenging assay หรือ DPPH เป็นวิธีที่ใช้ศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระของพืชที่มีกลไกออกฤทธิ์โดยการดักจับกับอนุมูลอิสระ หลักการคือต้องมีอนุมูลอิสระและต้องทราบความเข้มข้นเริ่มต้นของอนุมูลอิสระ แล้ววิเคราะห์อนุมูลอิสระที่เหลือจากการถูกดักจับกับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) หรือ radical species (R^\bullet) (Hidayat, Sari & Kuswandi, 2018) (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH \bullet กับ สารต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา : Hidayat, Seri & Kuswandi (2018)

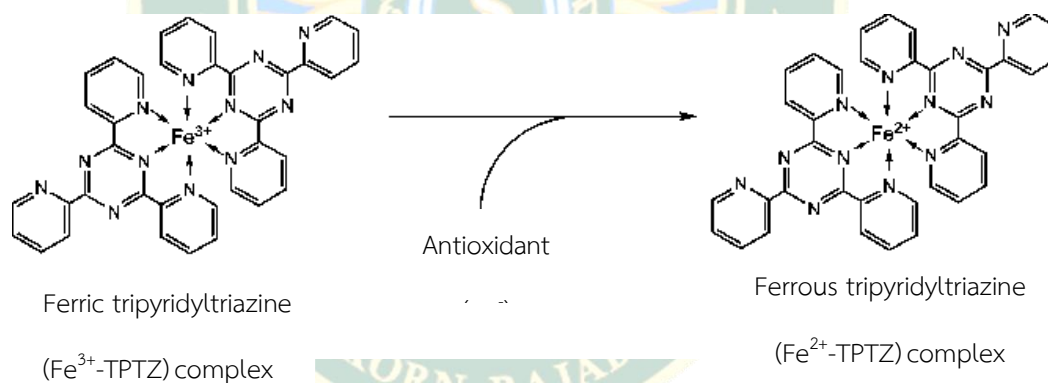
โดย DPPH จะใช้การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ใช้สาร 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging assay หรือ DPPH \bullet) เป็นสารอนุมูลอิสระ เมื่อ DPPH \bullet ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เอทานอลจะได้สารละลายของ DPPH \bullet ที่เสถียร และมีสีม่วงที่ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 515-540 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH \bullet ถูกสารออกฤทธิ์ของพืชจับไว้สีม่วงจะลดลง และยังสามารถใช้ในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มข้นของสารละลายสีม่วงจะลดลง การแสดงผลสามารถรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH \bullet ลดลง 50% ซึ่งถ้าสารใดในกลุ่มสารที่ทำการศึกษาแสดงค่า EC_{50} ต่ำกว่าแสดงว่าสารนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า หรือทำการเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์บางชนิด เช่น บิวทิลเลตไฮดรอกซีโทลูอิน (Butylate Hydroxytoluene หรือ BHT) และบิวทิลเลตไฮดรอกซีแอนนิโซล (Butylate Hydroxyanisole หรือ BHA) เป็นต้น (จุฬารักษ์ เลิศบวรวงศ์, 2554; บุหรีน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

ส่วนวิธี Ferric Ion Reducing Antioxidant Power Assay หรือ FRAP เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารออกฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe^{3+}) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ของสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชเป็นสารรีดิวซ์ (Reducing agent) ดังนั้นสารใดที่สามารถรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe^{3+}) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ได้ดีกว่าสารนั้นจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูง

หลักการของวิธีการนี้คือสารต้านอนุมูลอิสระจะสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับเฟอร์ริกไทโรไพริดิล ไทโรเอซีน (Ferric-tripyridyltriazine หรือ $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$) ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นเฟอร์รัส ไทโรไพริดิลไทโรเอซีน (Ferrous-tripyridyltriazine หรือ $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$) ซึ่ง $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ ดังสมการ



โดยสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 593-600 นาโนเมตร (ภาพที่ 18) ซึ่งปริมาณ $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นจะใช้ประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับกราฟ มาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) แสดงผลเป็นความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถรีดิวซ์สารเฟอร์ริกเกิดเป็นสารเฟอร์รัสได้ 1 มิลลิโมลาร์ (mM) โดยสารใดที่มีค่าสูงในกลุ่มที่ศึกษา แสดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่า (Guo, Yang, Wei, Li, Xu & Jiang, 2003)



ภาพที่ 18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเฟอร์ริกไทโรไพริดิลไทโรเอซีน

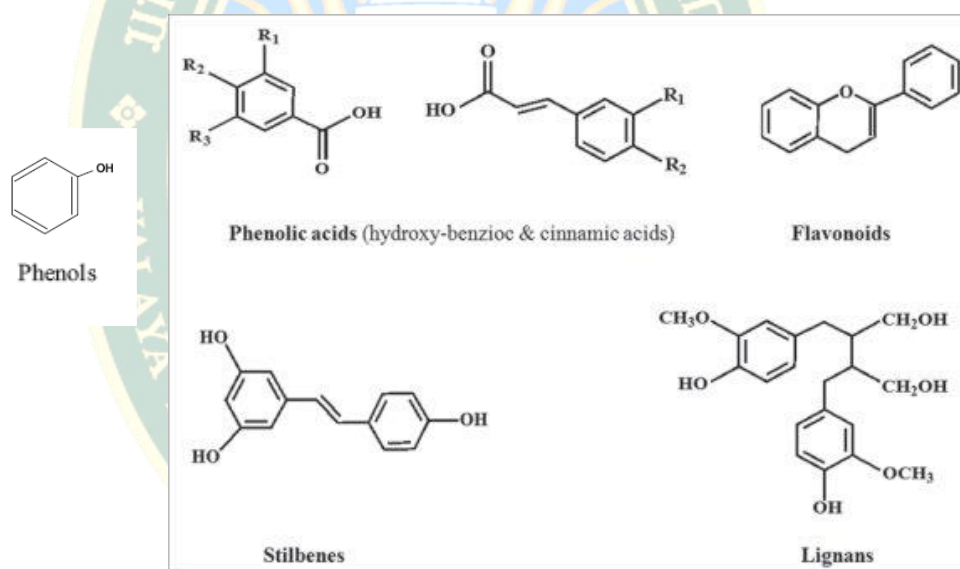
ที่มา : Moon & Shibamoto (2009)

2.4 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) หรือ สารประกอบฟีนอลเป็นสารที่พบได้ในพืช ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในธรรมชาติพบว่าเป็นสารที่ออกฤทธิ์ได้มากชนิด และมีสมบัติที่แตกต่างกัน โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในอาหาร และเครื่องดื่มที่มาจากพืชผัก และผลไม้จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช วิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป และการเก็บ การใช้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปมีส่วนทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง

โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) และมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl, -OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ต่ออยู่สารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน ได้แก่ สารฟีนอล (Phenol) ซึ่งในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2560) ส่วนโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวน

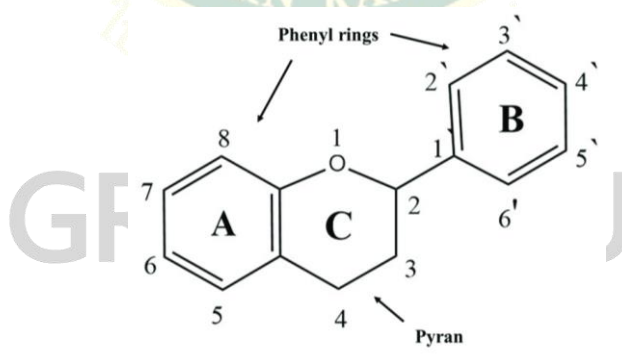
อะโรมาติกจับกับหมู่ไฮดรอกซิลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป เรียกว่ากลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งจำแนกตามจำนวนของวงแหวนฟีนอล และธาตุ หรือหมู่ฟังก์ชันที่มาจับกับวงแหวนนั้น ๆ อาทิ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สตีลเบน (Stilbenes) และลิกแนน (Lignans) (ภาพที่ 19) สารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลจัดเป็นไฟโตนิวเทรียนท์ (Phytonutrients) ที่พบได้ทั่วไปในผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว และพืชที่ให้ฝัก นอกจากนี้ยังพบใน ไวน์ น้ำส้มสายชูหมัก เบียร์ ชา และโกโก้ เป็นต้น (Pandey & Rizvi, 2009) สารประกอบฟีนอลิกอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือจะเป็นสารประกอบฟีนอล กับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดอินทรีย์ (Organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์ปีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น (เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย, 2557)



ภาพที่ 19 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป
ที่มา : Pandey & Rizvi (2009)

การวัดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมีหลายวิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ การวัดปริมาณกรดฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Assay) โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ซึ่งใช้ Folin – Ciocalteu reagent ที่มีส่วนประกอบสำคัญ คือ ฟอสโฟโมลิบเดท (Phosphomolybdate) และ ฟอสโฟทังสเตต (Phosphotungstate) ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงินซึ่งเป็นสีของโมลิบเดท (Molybdate) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น กรดแกลลิก (Gallic acid) ที่เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล ด้วยโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ภายในโมเลกุลสามารถให้อิเล็กตรอนกับโมเลกุลอื่นได้ดีด้วยกลไกที่เหมือนกับวิตามินซีที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีด้วยโครงสร้างทางเคมีทำให้ละลายน้ำได้ง่าย (Kalaycioğlu & Erim, 2017)

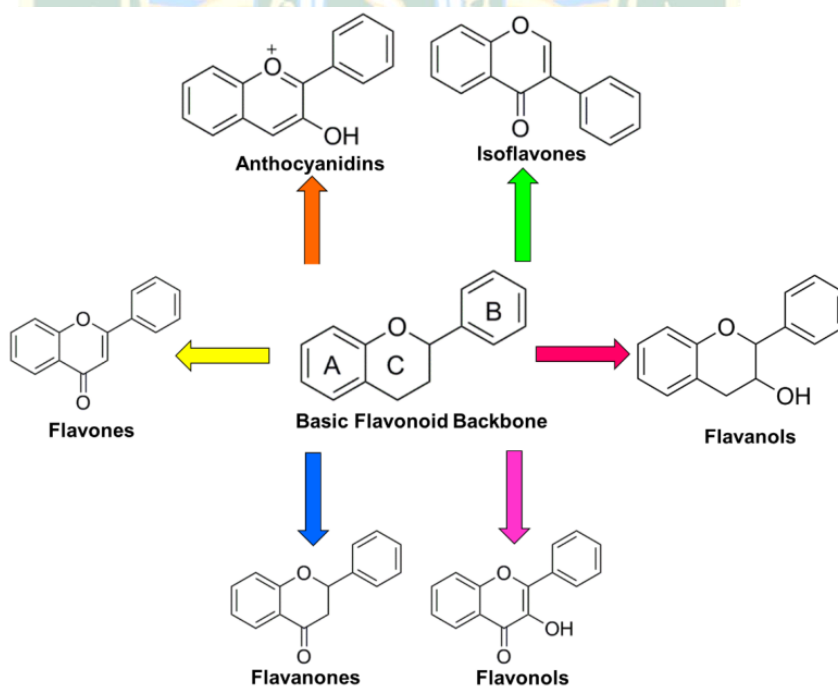
สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดของสารออกฤทธิ์ประเภทโพลีฟีนอลเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทหนึ่งที่ได้พบได้ทั่วไปในอาหารที่เป็นพืช เช่น ผัก และ ผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 -C3 -C6) จัดเรียงเป็นวงแหวน 3 ชนิด (3 ring) เรียกเป็น ring A, B, และ C โดย ring A และ B เป็นวงแหวนอะโรมาติกเบนซีน (Benzene ring หรือ Phenyl rings) ส่วน ring C เป็นวงแหวนไพแรนของสารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (Heterocyclic pyran ring) ที่มีคาร์บอน 3 อะตอมซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (ภาพที่ 20) (วิภพ สุทธนะ, 2556) ในธรรมชาติ สารประกอบ ฟลาโวนอยด์มีมากกว่า 8,000 ชนิด (Pietta, 2000) ส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารประกอบ ไกลโคไซด์ (Glycoside) ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ หรือมากกว่า ในโมเลกุลของสารประกอบ ฟลาโวนอยด์จะเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (Glucose) แรมโนส (Rhamnose) อะราบินอส (Arabinose) และไซโลส (Xylose) (Martinez-Castillo et al., 2018) โดยส่วนของน้ำตาลมักจะจับที่ตำแหน่ง 3, 5 หรือ 7 พบได้ในส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ของใบ ดอก ผล และเกสรดอกไม้ของพืช เป็นสารสีทำให้มีสีสวยงาม ส่วนใหญ่จะออกไปทางสีแดง สีเหลือง สีม่วง และสีน้ำเงิน บางครั้งสามารถพบสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นอะไกลโคโคน (Aglycone) ในเนื้อไม้ (Larson, 1988) ในพืชฟลาโวนอยด์จะช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการช่วยตรึงไนโตรเจน (วิภพ สุทธนะ, 2556) นอกจากนี้ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ยังมีความสำคัญต่อการสร้างรงควัตถุในพืชทำหน้าที่เป็นไฟโตอเล็กซิน (Phytoalexin) เพื่อช่วยป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ (Jez, Bowman, Dixon & Noel, 2000) ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการถูกคุกคามจากไวรัส (Pietta, 2000) ทั้งนี้ความสามารถต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน อาจขึ้นกับโครงสร้าง หรือลักษณะเฉพาะทางเคมีของฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ได้แก่ จำนวนวงแหวนอะโรมาติก โครงสร้างหมู่ไฮดรอกซิล เป็นต้น (Sopittummakhun & Rattanasinganchan, 2017)



ภาพที่ 20 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา : Martinez-Castillo et al. (2018)

ฟลาโวนอยด์จัดเป็นโพลีฟีนอลที่มีความสำคัญมากที่สุด สามารถแบ่งย่อย ๆ ได้อีกหลายชนิดตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐาน ได้แก่ ฟลาโวนอล (Flavonols)

ฟลาโวน (Flavones) ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) ที่พบมากในถั่วเหลือง และแอปเปิ้ล ฟลาวาโนน (Flavanones) ที่พบมากใน พืชตระกูลส้ม แอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) และ ฟลาวานอล (Flavanols) ซึ่งได้แก่ คาเทชิน (Catechins) ที่พบมากในชาเขียว และองุ่น และโปรแอนโทไซยานิดิน (Proanthocyanidins) (ภาพที่ 21) (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy & Jiménez, 2004) โดยโปรแอนโทไซยานิดินเมื่อรวมตัวกันจะอยู่ในรูปของโอลิโกเมरिकโปรแอนโทไซยานิดิน (Oligomeric Proanthocyanidins) หรือเรียกย่อ ๆ ว่า OPCs มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซี และมากกว่าวิตามินอีถึง 20 และ 50 เท่าตามลำดับพบมากในเมล็ด และเปลือกขององุ่น (สีแดงจะมีมากกว่า) เปลือกสน เปลือกต้นมะนาว ถั่วลิสง เซอร์รี่ และเปลือกส้ม มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดีส่งผลให้ช่วยต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวรอบเนื้อเยื่อต่าง ๆ สร้างความแข็งแรงให้เส้นสายโปรตีนคอลลาเจน ช่วยส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปหล่อเลี้ยงต่อม และอวัยวะทั่วร่างกายซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกัน และรักษาโรค ช่วยรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะแตกง่าย และช่วยป้องกันสมอง และเนื้อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระ (ณัฐนนท์ อยู่สถิต และชญาตา กลิ่นจันทร์, 2559)



ภาพที่ 21 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ

ที่มา : Li, Zhang & Chen (2018)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Aluminium chloride colorimetric method ซึ่งเป็นวิธีในการทดสอบโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมฟลาโวนอยด์ (Aluminium-flavonoid complex) หลักการของ Al-flavonoid complexation reaction คือ การทำปฏิกิริยา

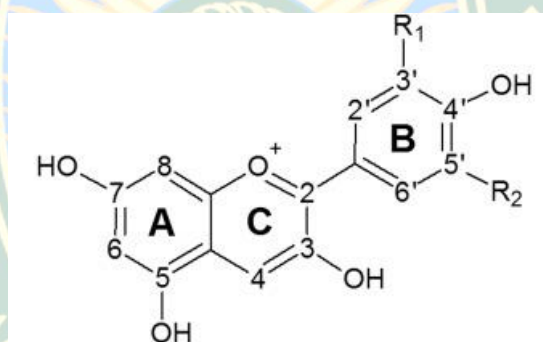
กันระหว่างอะลูมิเนียมไอออน และกลุ่ม O-dihydroxyl (3', 4'-OH) ในวงแหวน B และ O-dihydroxy ในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถประสานกันช่วยเสริมให้จับกับอะลูมิเนียมไอออน ได้ดียิ่งขึ้นเกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมกับฟลาโวนอยด์ (Pekal & Pyrzynska, 2014) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น เควอซิทิน (Quercetin) หรือ รุทีน (Rutin) ที่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์พบมากในผัก ผลไม้ และเมล็ดธัญพืช สารสกัดนี้ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเสริมสุขภาพ มีโครงสร้างทางเคมีที่มีลักษณะเป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี (Zhishen, Mengcheng & Jianming, 1999)

2.5 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นรงควัตถุหรือสารสีที่พบในแวคิวโอล (Vacuole) ของพืชที่ให้สีตามธรรมชาติ ในกลุ่มพืชที่มีสีแดง ม่วง และน้ำเงิน พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้ ใบ หรือ ลำต้นของพืชรวมทั้งเยื่อหุ้มเมล็ดของพืชบางชนิด ได้แก่ มันเทศสีม่วง ชมพู่มะเหมียว ชมพู่มะม่วง ลูกหว้า ข้าวแดง ข้าวนิล ข้าวเหนียวดำ ถั่วแดง ถั่วดำ หอมแดง ดอกอัญชัน กระจับปี่แดง ข้าวโพดสีม่วง เผือก หอมหัวใหญ่สีม่วง มะเขือม่วง พริกแดง องุ่นแดง-ม่วง แอปเปิ้ลแดง ลูกไหน ลูกพรุน ลูกเกด ลูกหม่อน (มีลเบอร์รี่) บลูเบอร์รี่ เชอร์รี่ แบล็กเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ กะหล่ำปลีสีม่วง และเรดิชิสีแดง เป็นต้น จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบพีนอลกลุ่มโพลีฟีนอลที่สำคัญที่สุดของบรรดาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อนทำให้ลดอัตราการเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ เส้นเลือดอุดตันในสมอง ความดันโลหิตสูง มะเร็ง เบาหวาน และข้ออักเสบ ช่วยยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* ที่ก่อในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง และอาหารเป็นพิษ (Cassidy, Mukamal, Liu, Franz, Eliassen & Rimm, 2013; Lazzè et al., 2004; Wang & Stoner, 2008; วัชรวิทย์ หาญยิ่ง, 2549) มีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายประเภทนอนไฮดรอกซิล (Non-hydroxyl) เช่น อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ ไม่เสถียร สลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อน ออกซิเจน แสง เมื่อโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปสีจะเปลี่ยนไปด้วย ปัจจัยที่มีผลต่อสีของแอนโทไซยานิน ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่าง เมื่อ pH เป็นกรด (ต่ำกว่า 3) จะมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลางจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบส (มากกว่า 11) จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน (อรุษา เขาวนลิขิต, 2554)

โครงสร้างของแอนโทไซยานินประกอบด้วยโครงสร้างแบบ 3 ring คือ C6-C3-C6 เชื่อมต่อกัน โดยแอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ (Glycosides) ของ 2-phenyl benzopyrylium หรือ Flavylium Cation ที่มีหมู่น้ำตาลมอนอแซคคาไรด์ (Monosaccharide) ได้แก่ กลูโคส (Glucose) แรมโนส (Rhamnose) กาแลกโตส (Galactose) หรือ อะราบินโนส (Arabinose) หรือไดแซคคาไรด์ (Disaccharide) หรือไตรแซคคาไรด์ (Trisaccharide) มาเกาะที่ตำแหน่งที่ 3 ของ ring หรือบางครั้งอาจเป็นที่ตำแหน่งอื่น ทำให้แอนโทไซยานินทุกชนิดมีโครงสร้างหลักเหมือนกันที่เรียกว่า แอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) ซึ่งน้ำตาลในโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินนั้นมีส่วนช่วยให้สารแอนโทไซยานินสามารถคงตัว และมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ส่วนอื่น ๆ ของแอนโทไซยานิน ได้แก่ ส่วนของอะซิลโคนซึ่งเป็นส่วนโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ และหมู่เอซิล (Acyl group) การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (-OH) และหมู่เมทอกซี (-OCH₃) ของวงแหวนจะทำให้เกิดสีของแอนโท

ไซยานิดิน กล่าวคือการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิด เฉดของสีฟ้า (Bluish shade) การเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง (Redness) แอนโทไซยานินสามารถเกิดได้ประมาณ 20 ชนิดที่มีสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับกลุ่มสาร หรือหมู่สารที่มาเกาะหรือมีการแทนที่อะตอมไฮโดรเจนในโมเลกุลบริเวณวงแหวน แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบได้ในพืช คือ เพลาโกนินิดิน (Pelargonidin) ร้อยละ 18 ไซยานิดิน (Cyanidin) ร้อยละ 30 เดลฟินิดิน (Delphinidin) ร้อยละ 22 พีโอนินิดิน (Peonidin) เพทูนินิดิน (Petunidin) และมอลวิดิดิน (Malvidin) ร้อยละ 20 (ภาพที่ 22) (อรุษา เขาวนลิขิต, 2554) ส่วนที่เป็นกรดซึ่งอาจมีหรือไม่มีก็ได้ แอนโทไซยานินที่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า นอนอะซิลเลตเทต แอนโทไซยานิน (Non acylated anthocyanin) ถ้าไม่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า อะซิลเลตเทต แอนโทไซยานิน (Acylated anthocyanin) โดยกรดจะเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันกับน้ำตาล กรดที่เกิดพันธะเอสเทอร์กับน้ำตาล เช่น กรดคูมาริก (Coumaric acid) กรดเฟอร์รูริก (Ferulic acid) กรดคาร์เฟอิก (Caffeic acid) เป็นต้น



Name	R ₁	R ₂
Pelargonidin (Pg)	H	H
Cyanidin (Cy)	OH	H
Delphinidin (De)	OH	OH
Peonidin (Pn)	OCH ₃	H
Petunidin (Pt)	OH	OCH ₃
Malvidin (Ma)	OCH ₃	OCH ₃

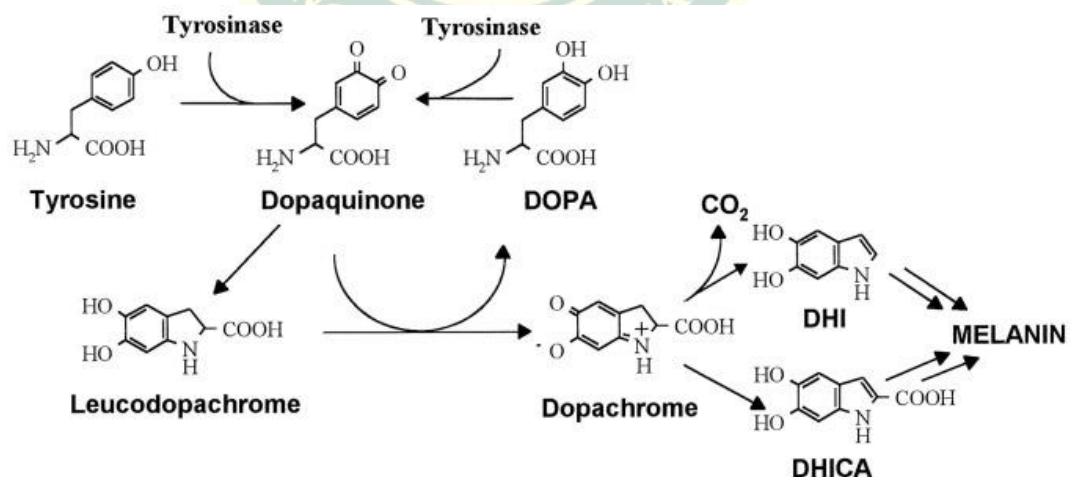
ภาพที่ 22 โครงสร้างและชนิดของแอนโทไซยานินชนิดต่าง ๆ

ที่มา : Fang (2015)

2.6 เอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) หรือ Cresolase, Monophenol oxidase, Phenolase, monophenol monooxygenase เป็นเอนไซม์ในกลุ่มโพลีฟีนอลออกซิเดสที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ของสารประกอบฟีนอล โดยทั่วไปเอนไซม์ไทโรซิเนสจะพบในเนื้อเยื่อสัตว์ และพืช ภายในโครงสร้างของเอนไซม์มีไอออนคอปเปอร์ (Cu) 2 ตัวเป็นโคแฟกเตอร์ซึ่งมีหน้าที่ทำงานร่วมกับออกซิเจนเพื่อเร่งให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันในการสร้างเม็ดสีเมลานินให้เกิดขึ้น โดยในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์นั้นเมลานิน (Melanin) ที่ผิวหนังมีหน้าที่สำคัญในการป้องกันผิวหนังจากแสงแดด อย่างไร

ก็ตามการผลิตเมลานินที่มากเกินไปจนอาจก่อให้เกิดโรคความผิดปกติของสีผิวได้ เพราะฉะนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจะสามารถช่วยลดปริมาณเมลานินที่มากเกินไปได้ ซึ่งเมลานินเป็นเม็ดสีที่สร้างมาจากเมลานोไซต์ (Melanocyte) บริเวณชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า โดยมีรังสีอัลตราไวโอเล็ต หรือรังสียูวี เป็นตัวกระตุ้นผ่านกระบวนการเมลานิเจเนซิส (Melanogenesis) ซึ่งเอนไซม์ไทโรซิเนสจะเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันเปลี่ยนแอล-ไทโรซีน (L-tyrosine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่พบในร่างกายไปเป็นสาร 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน หรือแอล-โดปา (3,4-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA) ซึ่งแอล-โดปา จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นโดปาควิโนน (DOPAquinone) จากนั้นจึงสังเคราะห์ต่อเป็นเมลานินซึ่งมีด้วยกันสองชนิด ได้แก่ ยูเมลานิน (Eumelanin) และฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) เม็ดสีเมลานินเหล่านี้จะถูกขนส่งไปที่เคราติโนไซต์ซึ่งอยู่ที่ชั้นผิวหนัง (Pillaiyar, Manickam, & Namasivayam, 2017) (ภาพที่ 23) โดยหากเอนไซม์เอนไซม์ไทโรซิเนสทำงานมากเกินไปจนส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางผิวหนังได้แก่ รอยด่างดำ ฝ้า และกระ ซึ่งการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นี้จะทำให้ผิวขาวขึ้น และลดความผิดปกติของผิวหนังได้ (Solano, Briganti, Picardo & Ghanem, 2006) สารสังเคราะห์และสารที่พบได้ในธรรมชาติบางชนิด ได้แก่ อาร์บูติน (Arbutin) และกรดโคจิก (Koji acid) สามารถยับยั้งกระบวนการสร้างเมลานินในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือหลาย ๆ ขั้นตอน เพื่อให้มีผลในการลดการสร้างเม็ดสีเมลานิน และทำให้ผิวดูขาวใสขึ้น (Bae-Harboe & Park, 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่มโพลีฟีนอล และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการลดการสร้างเม็ดสีจากการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยตรง เนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีหมู่ แอลฟา-คีโต หรือ 3-ไฮดรอกซี ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับหมู่ไดไฮดรอกซีฟีนิลของ DOPA จึงทำให้จับคอปเปอร์ได้ (Ebanks, Wickett & Boissy, 2009)



ภาพที่ 23 กระบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน

ที่มา : Palumbo, Poli, Di Cosmo & d'Ischia (2000)

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสนิยมใช้ Dopachrome method ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสีเมลานิน ในการทดลองเริ่มจากเอนไซม์ไทโรซิเนสเปลี่ยน

สารตั้งต้นแอล-โดปาด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสารตัวกลางโดปาคิวโนน ซึ่งโดปาคิวโนนสามารถเปลี่ยนเป็นโดปาโครม (Dopachrome) ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นในการวัดผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงของโดปาโครม ที่ 475 nm โดยวัดฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในรูปของ IC₅₀ (50 % Inhibitory Concentration)

2.7 เวชสำอาง

เวชสำอาง (Cosmeceutical) หมายถึง สารที่ทำให้เกิดสุขภาพและความสวยงามของผิวพรรณที่ดีเพิ่มขึ้นโดยการทาภายนอก โดยอัลเบิร์ต เอ็ม คลิกแมน (Albert M Kligman) นักเคมีเครื่องสำอาง (Society of Cosmetic Chemists) ของสหรัฐอเมริกาได้ให้ความหมายว่า เวชสำอางคือ สารที่อยู่ระหว่างความเป็นเครื่องสำอาง และยาที่ทำให้เกิดความสุขงามและสุขภาพผิวที่ดีขึ้น (Kligman, 2000) โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวหนังแต่ไม่ใช่สารที่ทำหน้าที่เป็นยา ผลิตภัณฑ์เวชสำอางส่วนมากมุ่งใช้สำหรับผิวหนัง สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เวชสำอางจึงมุ่งให้ออกฤทธิ์ต่อผิวหนังโดยเฉพาะอย่างยิ่งโครงสร้างที่สำคัญที่สุดของผิวหนัง คือ หนังก่ำพำร่า (Stratum corneum) โดยการที่ชั้นหนังก่ำพำร่ามีคุณสมบัติที่ดี มีการอุ้มน้ำในชั้นนี้ จะทำให้ผิวหนังมีลักษณะนุ่ม ชุ่มชื้น และเพิ่มความยืดหยุ่นของผิว ทำให้ผิวดูมีสุขภาพดี แต่ผลิตภัณฑ์เวชสำอางไม่ได้มีเป้าหมายแค่ชั้นผิวหนังก่ำพำร่าเท่านั้น บางผลิตภัณฑ์ต้องการนำส่งสารสำคัญที่มีฤทธิ์มากกว่าการเป็นสารเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารทำให้หน้าขาวใสเป้าหมายสำคัญจึงอยู่ในชั้น Living epidermis หรือชั้นที่ลึกลงไปกว่าชั้นผิวหนังก่ำพำร่า ซึ่งผลในการนำส่งที่ลึกขึ้นจะทำให้ได้รับประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่ชัดเจน ดังนั้นรูปแบบการนำส่งสารสำคัญในผลิตภัณฑ์จึงสำคัญมาก ทำให้มีการพัฒนาการใช้เทคโนโลยีเพิ่มเติมการซึมผ่านในสูตรตำรับ เพื่อให้การนำส่งสารสำคัญผ่านโครงของชั้นหนังก่ำพำร่าไปในชั้นผิวที่ลึกยิ่งขึ้น (ธนกร อำนวยกิจ, 2552)

2.7.1 เซรั่ม

เครื่องสำอาง เป็นผลิตภัณฑ์ตามความหมายในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 152-2555) เช่น ครีมทาผิว แชมพูอาบน้ำ เจล เป็นต้น ส่วนเซรั่ม คือผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหนึ่งประเภทหนึ่งในรูปแบบสารละลายที่มีโมเลกุลขนาดเล็กมาก อาจจัดเป็นเครื่องสำอาง ยา หรือเวชภัณฑ์ขึ้นอยู่กับสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ในการรักษาเช่นรักษาแผล หรือบำรุงผิวเพื่อความสวยงาม เช่น เซรั่มวิตามินอี เซรั่มวิตามินซี เซรั่มจากสารสกัดพืช ซึ่งช่วยในเรื่องความกระจ่างใสลดริ้วรอย ลักษณะของเนื้อเซรั่มจะมีความเบาบาง โดยเนื้อของเซรั่มจะสามารถมีความเหลวไปจนถึงกึ่งเหลวไม่เหนียวเหนอะหนะ ไม่เน้นการเคลือบผิว ทำให้มีโอกาสน้อยมากในการเกิดการสิว ส่วนในเรื่องของสีเนื้อเซรั่มอาจจะมีความใส ความขุ่น หรือมีสี ทั้งนี้ก็จะขึ้นอยู่กับส่วนผสม สารสกัด และการออกแบบสูตรของเซรั่มแต่ละชนิด สิ่งที่สำคัญของผลิตภัณฑ์เซรั่ม คือ จะมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สำคัญ (Active ingredients) ที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวประเภทอื่น ๆ จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ช่วยในการฟื้นฟูผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง สามารถใช้ได้ปริมาณน้อยเพียงไม่กี่หยด แต่ยังคงให้ผลลัพธ์ที่ดีจึงเน้นการฟื้นฟูผิวเฉพาะจุดได้โดยตรงทำให้มีความสามารถในการบำรุงผิวจากภายในสู่ภายนอก และเนื่องจากเซรั่มมีโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถซึมซาบเข้าสู่ผิวได้อย่างรวดเร็ว และถ้าถึงระดับโครงสร้างผิว ด้วยเหตุนี้เซรั่มจึงมอบคุณประโยชน์ของสารสกัด และส่วนผสม

ในการบำรุงต่าง ๆ ให้แก่ผิวได้เป็นอย่างดีจึงช่วยแก้ไขปัญหาผู้ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Nilsuwankosit, Suwansichon, Winitchai & Rimkeeree, 2014) ตำรับเซรั่มโดยทั่วไปจะประกอบด้วยน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก สารบัฟเฟอร์ (Buffering agent) ได้แก่ โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate) กรดบอริก (Boric acid) เป็นต้น รวมทั้งพอลิเมอร์ (Polymer) เป็นสารเพิ่มความหนืด ได้แก่ โพลอกซาเมอร์ 188 (Ploxamer 188) โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) เจลาติน (Gelatin) คาร์โบเมอร์ (Carbomer) เป็นต้น และมีสาระสำคัญต่าง ๆ ที่ออกฤทธิ์ในด้านการรักษาและเพื่อเพิ่มความสวยงาม

ความแตกต่างระหว่างเซรั่มกับผลิตภัณฑ์ประเภทครีม คือ ลักษณะของเนื้อเซรั่มจะมีความเบาบางกว่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ประเภทครีมที่มีความข้น และให้เนื้อสัมผัสเวลาทาลงบนผิวที่หนากว่าเซรั่ม และผลิตภัณฑ์ประเภทครีมไม่ว่าจะเป็นครีมประเภทไหนก็ตาม จะเน้นไปในเรื่องของการให้ความชุ่มชื้นกับผิว ทำหน้าที่เป็นฟิล์มคลุมผิวชั้นนอกป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากผิวจึงช่วยในเรื่องการให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวได้ดีครีมเหมาะกับคนที่มีผิวแห้ง โดยครีมจะไม่ถูกดูดซึมเข้าไปในผิวหนังทันที และเนื้อครีมจะทำหน้าที่เคลือบผิวภายนอกเพื่อกักเก็บความชุ่มชื้นไว้ สำหรับส่วนของสารออกฤทธิ์สำคัญในครีมจะมีน้อยกว่าในเซรั่ม ในเรื่องของราคาครีมมีราคาถูกกว่าเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ประเภทเซรั่ม (อิศเรศ ปัญญา, 2561) ประเภทของเซรั่มมีอยู่หลายประเภทขึ้นอยู่กับข้อดีของการใช้งาน ได้แก่ เซรั่มช่วยกระชับรูขุมขน (Pore Tightening Serum) เซรั่มช่วยป้องกันสิวและลดรอยด่างจากสิว (Anti-Acne Serum) เซรั่มช่วยลดริ้วรอย (Anti-Aging Serum) เซรั่มช่วยให้ผิวกระจ่างใส ลบเลือนจุดด่างดำ (Skin-Brightening Serum) เซรั่มช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นรักษาผิวแห้งจากภายใน (Hydrating Serum) เซรั่มช่วยซ่อมแซม และฟื้นฟูผิวแบบองค์รวม (Renewing Serum) เซรั่มช่วยในการผลัดเซลล์ผิวที่ตายแล้ว (Exfoliating Serum) เป็นต้น

2.7.2 การทดสอบเซรั่ม

1) การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (laboratory test) เป็นการประเมินผลขั้นต้นโดยการตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ตามเกณฑ์มาตรฐาน ดังนี้

การทดสอบทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความหนืด มีหน่วยเป็นเซนติพอยต์ (cP) ใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์วัด ได้แก่ เครื่องวัดค่าความหนืดแบบต้านการหมุน (Rotational Brookfield Viscometer) หรือเครื่องวัดความหนืด (Rheometer) การวัดค่าสี (L^* , a^* , b^*) คุณสมบัติการไหล เป็นต้น

การทดสอบทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) ในการวัด การหาปริมาณสารสำคัญ สารกันบูด เป็นต้น

การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งเพื่อให้ระยะเวลาในการทดสอบเร็วขึ้น โดยการสร้างสถานการณ์เลียนแบบโอกาสที่ผลิตภัณฑ์จะสลายตัวไปโดยการใช้อุณหภูมิต่ำสลับสูง หรือ Heating and Cooling cycle เช่น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในเครื่องทำความเย็น สลับกับ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในเครื่องบ่ม (Incubator) นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8 รอบ แล้วนำมาประเมินผล (Kannasood, Rimkeeree, Winitchai & Tadakittisarn, 2015; Nilsuwankosit, Suwansichon, Winitchai & Rimkeeree,

2014) หรือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสลับกับที่สภาวะเร่ง (Accelerated stability condition) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสตามระยะเวลาที่กำหนด สังเกตการณ์แยกชั้น หรือตกตะกอน

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ คือต้องไม่มี หรือต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ตามที่ได้กำหนด (มอก. 152-2559)

การตรวจวิเคราะห์โลหะหนักบางชนิด ได้แก่ โปรท (ไม่เกิน 1 mg/Kg) ตะกั่ว (ไม่เกิน 20 mg/Kg) สารหนู (ไม่เกิน 5 mg/Kg) และแคดเมียม (ไม่เกิน 5 mg/Kg)

การทดสอบด้านประสาทสัมผัสเบื้องต้น เช่น สี กลิ่น ความเนียนของเนื้อครีมความเป็นเนื้อเดียวกัน การดูดซึมเมื่อใช้ทาบนผิว เป็นต้น

2) การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์ (Performance test) เป็นการตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์นั้นให้ผลการใช้ตามจุดประสงค์ที่ต้องการหรือไม่ โดยการใช้อาสาสมัครทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ แล้วตอบคำถามลงในแบบสอบถามตามเกณฑ์ที่ตั้งขึ้น เช่น ความพึงพอใจในสี กลิ่น ความเหนอะหนะ การซึมซาบ และการกระจายตัวของครีม เป็นต้น แล้วนำมาประเมินผล

3) การทดสอบผลต่อร่างกาย (Physiological test) เป็นการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์มีผลเสียหรือเป็นอันตรายต่อร่างกายหรือไม่ เช่น ทำให้เกิดการแพ้ หรือระคายเคืองหรือไม่ โดยการทำการทดสอบ (Patch test) การทดสอบในข้อนี้เป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึงเพราะสารที่ใช้ผลิตอิมัลชันโดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว หรือน้ำหอมบางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้

2.8 อนุภาคนาโนไขมัน

2.8.1 ข้อมูลทั่วไป

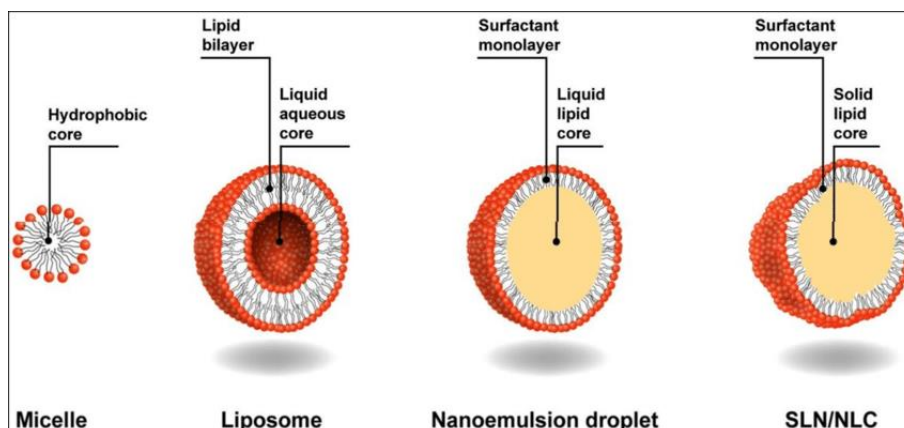
“อนุภาคนาโน” หรือ นาโนพาร์ทิเคิล (Nanoparticle) มาจากคำว่าอนุภาค (Particle) รวมกับคำว่านาโน (Nano) ซึ่งคำว่านาโน หมายถึง นาโนเมตรและ 1 นาโนเมตร คือ 1×10^{-9} เมตร ดังนั้นอนุภาคนาโนที่มีขนาด 1 นาโนเมตร จึงหมายถึงอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับหนึ่งในหนึ่งพันล้านเมตร การกำหนดอนุภาคนาโนขึ้นอยู่กับศาสตร์ สาขาวิชาการ และการนำไปใช้ประโยชน์ โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร (ศิริพร โอโกโนกิ, 2561) ทางเภสัชกรรมบางตำรับที่นำไปใช้มีขนาดมากกว่า 200-500 นาโนเมตร (Gupta, Eral, Hatton & Doyle, 2016) ซึ่งอนุภาคนาโนในทางแพทย์ และเภสัชหมายถึงอนุภาคของสารออกฤทธิ์เพียงอย่างเดียว หรือมีส่วนประกอบของสารออกฤทธิ์ร่วมกับสารอื่น ๆ ช่วย พัฒนาระบบนำส่งในระดับนาโนเมตรเป็นระบบที่ใช้ในด้านเภสัชกรรมเพื่อนำส่งยา โปรตีน วัคซีน และนิวคลีโอไทด์ เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยา การกระจายตัวและการปลดปล่อยสารสำคัญในร่างกาย เนื่องจากสารออกฤทธิ์แสดงประสิทธิภาพต่ำภายหลังการรับประทานจากค่าการละลายต่ำ (Parveen, Misra & Sahoo, 2012) ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนนำไปใช้ในเครื่องสำอาง เนื่องจากสารสำคัญทาง เวชสำอางบางชนิดมีความคงตัว และคุณภาพต่ำ เช่น เอนไซม์ โปรตีน และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น วิตามินซี และวิตามินอี และสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารออกฤทธิ์จากพืชที่ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) ของเซลล์ โดยอนุภาคนาโนที่เป็นสารออกฤทธิ์จะถูกห่อหุ้มด้วยสารที่ก่อตัวเป็นผนังที่อาจเป็นพอลิเมอร์ หรือสารอื่น ๆ โดยอนุภาคนาโนที่เตรียมได้อาจอยู่ในรูปของระบบคอลลอยด์ (Colloid) แขนงลอยกระจายในสารละลาย หรือเตรียมอยู่ในรูปอนุภาคของแข็งที่มีอนุภาค

ทรงกลม ขึ้นอยู่กับเทคนิค และกรรมวิธีการเตรียม ซึ่งเทคโนโลยีนี้เป็นหนึ่งในวิธีการกักเก็บสารสำคัญ หรือที่เรียกว่ากระบวนการนาโนเอ็นแคปซูลชัน (Nanoencapsulation) สำหรับประโยชน์ของ เทคโนโลยีนาโนพาร์ติเคิลในด้านการพัฒนาเครื่องสำอาง พบว่า ถูกนำมาใช้ในการพัฒนารูปแบบการ นำส่งสารสำคัญทางเครื่องสำอาง การควบคุมการปลดปล่อยสารทางเครื่องสำอาง ทำให้เพิ่มระยะเวลา ออกฤทธิ์ต่อผิวหนัง การกลบกลืนของสารสำคัญ การเพิ่มความคงตัวของสารสกัดให้ฤทธิ์ยังคงมี ประสิทธิภาพ โดยป้องกันสารสำคัญจากสภาพแวดล้อม เช่น การออกซิเดชัน ความชื้น แสง ความ ร้อน การลดการระเหยของสารสำคัญ การเปลี่ยนรูปแบบสารสำคัญจากของเหลวเป็นของแข็ง เป็นต้น (ศิริพร โอโกโนกิ, 2561)

อนุภาคนาโนมีหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอนุภาค วิธีที่ใช้ในการเตรียม สารสำคัญที่ต้องการกักเก็บ กลไกการนำส่งอนุภาคที่ต้องการ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้อาจกำหนดสมบัติทาง เคมีกายภาพของอนุภาคนาโน เช่น ขนาดอนุภาค พื้นผิวอนุภาค และความคงตัวของอนุภาคเป็นต้น ตัวอย่างอนุภาคนาโนเช่น ไลโปโซม (Liposomes) อนุภาคนาโนโพลิเมอร์ (Polymeric nanoparticles) นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) และอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) เป็นต้น

2.8.2 โครงสร้างของอนุภาคนาโนไขมัน

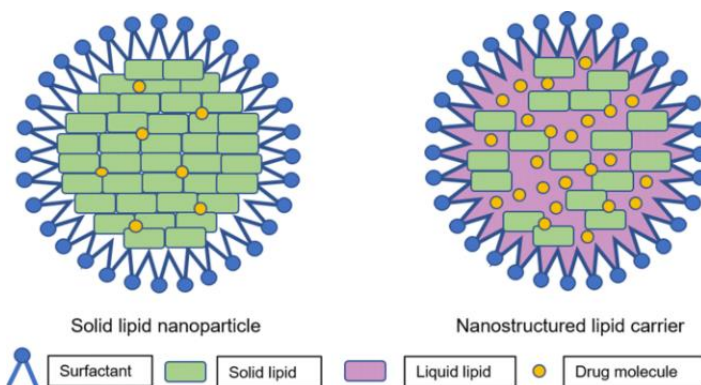
สารก่อตัวที่ก่อให้เกิดอนุภาคไขมันมีหลายชนิดอาจได้มาจากธรรมชาติ และจากการ สังเคราะห์ อย่างไรก็ตามสารไขมันถือว่าเป็นสารช่วยที่มีประสิทธิภาพในการสร้างอนุภาคนาโน และ เพิ่มประสิทธิภาพให้แก่สารออกฤทธิ์จากพืช และเตรียมได้ง่ายแม้ว่าต้องผ่านปฏิกิริยาเคมี หรือความ ร้อน (Fathi, Mozafari & Mohebbi, 2012) โดยอนุภาคอาจมีลักษณะเป็นไมเซลล์ของโพลิเมอร์ ในช่วงนาโนเมตรคล้ายสารลดแรงตึงผิว แต่โดยทั่วไปโครงสร้างของอนุภาคจะประกอบด้วยส่วนหลัก 2 ส่วนได้แก่ส่วนพื้นผิว (Surface) และส่วนภายใน (Internal part) ซึ่งถ้ามีลักษณะเป็นถุงที่มีความ ยืดหยุ่นของสารลดแรงตึงผิวฟอสโฟไลปิด (Phospholipid) เรียง 2 ชั้นหรือมากกว่า โดยที่บรรจุสาร ออกฤทธิ์ภายในจะใช้ในการเตรียมอนุภาคไลโปโซม หรืออนุภาคที่มีสารลดแรงตึงผิวชั้นเดียวภายใน เป็นไขมันเหลว และอาศัยหลักการการเกิดอิมัลชัน เช่น นาโนอิมัลชัน ส่วนอนุภาคนาโนไขมันเป็นการ พัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมัน (Lipid) เป็นส่วนประกอบหลักหรือส่วนผสมระหว่าง ไขมันแข็ง และไขมันเหลว (Liquid Lipid) เป็นส่วนประกอบหลักซึ่งมีชื่อเรียกว่าระบบอนุภาคไขมัน แข็งขนาดนาโนพาร์ติเคิล (Solid Lipid Nanoparticles; SLNs) และระบบตัวพาไขมันขนาดนาโน หรือนาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers; NLCs) ตามลำดับ (ภาพที่ 24) (Balamurugan & Chintamani, 2018)



ภาพที่ 24 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง ไมเซลล์ ไลโปโซม นาโนอิมัลชัน และ SLN/NLC
ที่มา : Balamurugan & Chintamani (2018)

2.8.3 นาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers)

การกักเก็บสารออกฤทธิ์ในไขมันเหลวในระบบอื่น ๆ เช่น ไลโปโซม และนาโนอิมัลชัน ในบางครั้งอาจพบปัญหาความสามารถในการกักเก็บและการควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทำให้สารออกฤทธิ์เกิดการสลายตัวง่าย ดังนั้นจึงเริ่มมีการมีการนำอนุภาคนาโนไขมันที่อยู่ในสถานะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เรียกว่าไขมันแข็ง (Solid Lipid) ไม่ใช่ไขมันที่อยู่ในสถานะของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ที่เรียกว่าไขมันเหลว (Liquid Lipid) หรือน้ำมัน เรียกว่าอนุภาคนาโนไขมันแข็ง หรือ SLNs (Weiss et al., 2008) ซึ่งสามารถห่อหุ้มหรือตั้งสารภายในได้ดีกว่า เนื่องจากสารบางตัวไม่เสถียรเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไว เช่น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ หรือสภาพกรดเบส นอกจากนั้นยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารให้เป็นไปตามที่ต้องการด้วยการนำส่งที่มีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม อนุภาค SLNs ยังมีความแปรปรวนด้านประสิทธิภาพการกักเก็บ วิธีการผลิตบางวิธี การใช้สารลดแรงตึงผิวปริมาณสูง การแตกของอนุภาค ความไม่คงตัวของกายภาพจนเกิดลักษณะเจลเมื่อเก็บไว้ในที่เย็นหรือแยกชั้นเมื่ออุณหภูมิสูง และการกักเก็บสารได้ปริมาณน้อย (Aditya, Shim, Lee, Lee, Im & Ko, 2013) จากข้อจำกัดของ SLNs จึงมีการพัฒนาอนุภาคนาโนไขมันแข็งรุ่นใหม่ขึ้นมาในรูปแบบของอนุภาคนาโนไขมันแข็งที่มีไขมันเหลวเป็นองค์ประกอบร่วมด้วย เรียกว่า นาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแครีเออร์ หรือ NLCs โดยอนุภาคนาโนไขมันทั้งสองชนิดเตรียมมาจากไขมันที่มีความปลอดภัยต่อร่างกาย โดยไม่หลอมละลายที่อุณหภูมิห้อง ข้อแตกต่างระหว่างอนุภาค SLNs กับ NLCs คือสารออกฤทธิ์จะแทรกตัวอยู่ระหว่างโครงร่างผลึก (Crystal lattice) ของ SLNs ที่เป็นระเบียบเนื่องจากเตรียมโดยใช้ไขมันแข็งเป็นหลัก ส่วนอนุภาค NLCs สารออกฤทธิ์จะแทรกอยู่ระหว่างโครงร่างที่ไม่เป็นระเบียบ (Parveen et al., 2012) เนื่องจากเตรียมโดยใช้ไขมันแข็งผสมไขมันเหลว (ภาพที่ 25) ทำให้เกิดช่องว่างที่สารออกฤทธิ์ถูกกักเก็บได้มากขึ้น คงตัวขึ้น และมีการควบคุมการปลดปล่อยดีขึ้นกว่า SLNs และชะลอการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ที่กักเก็บได้นานกว่า



ภาพที่ 25 ลักษณะอนุภาคนาโนชนิด SLNs (ซ้าย) และ NLCs (ขวา)

ที่มา : Parveen, Misra & Sahoo (2012)

2.8.4 องค์ประกอบอนุภาคนาโนไขแข็ง (Solid nanoparticle)

ตัวพาไขมันระดับนาโนเกิดขึ้นจากการทำอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำหรือ oil in water emulsions (O/W emulsions) อนุภาคนาโนไขแข็งประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่

1. ไขมัน

คุณสมบัติของไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของวัสดุภาคนาโน ซึ่งจะต้องสามารถละลายได้เข้ากันได้กับสารออกฤทธิ์ มีความคงตัวและไม่สลายตัวเมื่อถูกความร้อน หรือทางชีวภาพ ตัวอย่างที่นิยมใช้ ได้แก่ เลซิทีน (Lecithin) สารในกลุ่มไตรกลีเซอไรด์ และกลุ่มอื่น ๆ เช่น กลีเซอริล โมโนสเตียเรต (Glyceryl monostearate) เซทิลปาล์มมิเตต (Cetyl palmitate) กรดสเตียริก (Stearic acid) หรือกลุ่มไข (Wax) เช่น ไขผึ้ง (Beeswax) โดยจะมีประมาณร้อยละ 30-40 โดยน้ำหนัก ส่วนไขมันเหลวนิยมใช้ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) น้ำมันพาราฟิน (Paraffin oil) กรดโอเลอิก (Oleic acid) น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil) น้ำมันปาล์ม (Palm oil) น้ำมันมะกอก (Olive oil) เป็นต้น (ศิริพร โอโกโนกิ, 2561)

2. สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวมีหน้าที่ทำให้หยดวัสดุภาคนาโนคือหยดน้ำมันเล็ก ๆ มีความคงตัวโดยไม่มาเกาะรวมกัน และเกิดการแยกชั้นของอิมัลชัน ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวมักใช้ในช่วงร้อยละ 0.5-5 โดยน้ำหนักและอาจใช้มากกว่า 1 ชนิด และควรใช้ในปริมาณน้อยที่สุดโดยที่อิมัลชันยังมีความคงตัว โดยยิ่งหยดอนุภาคนาโนยิ่งเล็กจะยิ่งทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรมาก ส่งผลทำให้เกิดพลังงานอิสระที่ผิวสูง ทำให้ระบบต้องการใช้สารลดแรงตึงผิวมากเพื่อลดพลังงานอิสระ ซึ่งหากสารลดแรงตึงผิวน้อยเกินไป หรือไม่เหมาะสมก็จะทำให้อนุภาคนาโนลดพลังงานด้วยการเคลื่อนที่เข้ามาเกาะรวมกัน เป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นเกิดการแยกชั้นและไม่ได้อยู่ในระดับนาโนเมตร สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ควรเลือกที่เข้ากับร่างกาย ไม่มีพิษ ระคายเคืองน้อย นิยมใช้ชนิดไม่มีประจุ (Non-ionic surfactant) คือ ไม่แตกตัวเป็นประจุเมื่อไม่ละลายน้ำ เช่น จำพวกโพลีซอร์เบต (Polysorbate) หรือ โพลีออกซีเอทิลีนซอร์บิแทนเอสเทอร์ (Polyoxyethylene sorbitan ester) เช่น โพลีออกซีเอทิลีนซอร์บิแทน (20) ซอร์บิแทนโมโนโอเลอเตต (Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate) หรือ

ทวิน 80 (Tween80[®]) และซอร์บิแทนเอสเทอร์ เช่น ซอร์บิแทนโมโนโอเลต (Sorbitan monooleate) หรือ สเปน 80 (Span 80[®]) เป็นต้น โดยการใช้สารลดแรงตึงผิวต้องคำนึงถึงความสมดุลของการชอบน้ำ และชอบน้ำมัน (Hydrophilic-lipophilic balance หรือ HLB) ของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งควรเลือกต่างชนิดกันเพื่อให้ได้ค่า HLB ที่ใกล้เคียงกันและใกล้เคียงกับ HLB ที่ไขมันต้องการ (Required HLB) (ศิริพร โอโกโนกิ, 2561) ในการเตรียมอิมัลชันซึ่งจะมีผลต่อขนาดอนุภาค โดยค่า HLB ที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชัน ดังตารางที่ 1

3. องค์ประกอบส่วนน้ำ

น้ำเป็นของเหลวส่วนภูมิภาคภายนอกของอิมัลชันซึ่งจะเป็นตัวช่วยผลักให้น้ำมันอยู่แยกกันเป็นหยดภายในเพื่อไม่ให้ไขมันมาเกาะรวมกัน อย่างไรก็ตามด้วยความหนืดที่น้อยจำเป็นต้องอาศัยตัวช่วยหลักในการลดพลังงานอิสระที่ผิวอนุภาคในการลดการเคลื่อนที่ร่วมกันของอนุภาค คือ สารลดแรงตึงผิว ข้อดีของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีน้ำเป็นภูมิภาคนอก คือ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเหนียวเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างออกได้ง่าย จึงเป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น เซรั่ม ครีม โลชั่น และครีมกันแดด

ตารางที่ 1 ค่า HLB ที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด

ค่า HLB	การผสมเข้ากันได้ใต้น้ำ	การประยุกต์ใช้
1-4	ไม่เข้ากัน	การผสมน้ำมัน
3-6	เข้ากันได้ไม่ดี	อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน
6-8	มีลักษณะขุ่นเหมือนน้ำมันด้วยการกวน	wetting
8-10	มีลักษณะขุ่นแต่มีความคงตัว	Wetting+อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
10-13	โปร่งแสง	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
>13	ใส	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และการทำให้สารละลายที่เข้ากันได้ยากผสมเข้ากัน

ที่มา : Cheng, Khoo, Lo, Tan & Chemmangattuvalappil (2020)

2.8.5 วิธีการเตรียมอนุภาคนาโนไฮดรอกซี

1. Ultrasonication หรือ High speed homogenization

เทคนิคการเตรียมด้วยวิธีการนี้เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย โดยต้องทำการเตรียมให้สารละลายนาโนอิมัลชันให้ร้อนก่อนประมาณ 70 องศาเซลเซียส แล้วไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วสูงด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์แรงดันสูง (High pressure homogenization) หรือใช้อัลตราโซนิกแบบโพรบ (Ultrasonicate probe) เมื่อนำสารละลายนาโนอิมัลชันไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจะได้สารละลายอนุภาคระดับนาโนไขมัน วิธีนี้มีข้อเสียคือให้การกระจายตัวของอนุภาคต่ำ และอนุภาคมีขนาดใหญ่ระดับไมโครเมตร และมีความคงตัวทางกายภาพต่ำเมื่อระยะเวลาผ่านไป นอกจากนี้ยังใช้สารลดแรงตึงผิวสูงและอาจมีการปนเปื้อนของโลหะ ส่วนเวลาของการโซนิเคชันมีผลต่อขนาดของอนุภาคไม่

มาก ส่วนใหญ่ใช้เวลาประมาณ 10 นาที แต่อาจจะมีผลทำให้การกระจายตัวของอนุภาคดีขึ้น ในงานวิจัยนี้ใช้เครื่อง Sonicator probe ที่ใช้ความถี่สูงไปทำให้โครงสร้างของหยดน้ำมันเกิดเป็นโพรงอากาศอยู่ภายในเพื่อแยกน้ำมันออกจากกัน เนื่องจากน้ำมันพยายามที่จะรวมตัวกันซึ่งต้องใช้พลังงาน และเวลาที่มากพอจนทำให้เป็นอนุภาคที่เล็กระดับนาโนได้ (ภาพที่ 26) อย่างไรก็ตามการเพิ่มเวลาที่มากขึ้นเพื่อให้ขนาดของอนุภาคเล็กลงมากขึ้นจะทำได้ถึงจุดหนึ่งเท่านั้นเพราะจะทำให้เสียเวลา และพลังงาน (Mason, 1992)



ภาพที่ 26 เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ

2. High pressure homogenization

เทคนิคนี้มีการเตรียมพื้นฐานอยู่ 2 วิธี ได้แก่ Hot homogenization technique และ Cold homogenization technique ข้อดีของทั้งสองเทคนิคคือ มีการกระจายของอนุภาคแคบ อนุภาคขนาดไมโครเมตรต่ำ มีความเป็นไปได้ในเตรียมในระดับอุตสาหกรรมเมื่อใช้ขนาด Homogenizers ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยกำลังการผลิตตั้งแต่ 500 ถึง 60,000 ลิตร

3. Hot High pressure homogenization technique

เตรียมโดยให้สารละลายในวัฏภาคไขมันไปกระจายในวัฏภาคน้ำร้อนที่มีสารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ แล้วนำไปผ่านเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ความดันสูง (100-1500 บาร์) ประมาณ 1-3 รอบ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อสารละลายเย็นตัวลงจะตกผลึกเป็นอนุภาคขนาดนาโนเมตร ซึ่งวิธีการนี้เหมาะกับสารสำคัญที่ละลายได้ดีในน้ำมัน

4. Cold High pressure homogenization technique

วิธีการนี้จะใช้กับสารสำคัญที่ละลายได้ดีในน้ำหรือชอบน้ำ ซึ่งมีความสามารถในการละลายในไขมันที่ต่ำ ดังนั้นเมื่อนำมาผสมกับสารลดแรงตึงผิวสารผสมจะถูกทำให้เป็นของแข็งด้วยน้ำแข็งแห้งหรือไนโตรเจนเหลว เพิ่มความเปราะให้ไขมันเพื่อให้บดได้ง่ายขึ้น อนุภาคที่ได้จะมีขนาดประมาณ 50-100 ไมโครเมตร จะถูกกระจายในในสารละลายลดแรงตึงผิวเพื่อไปโฮโมจีไนซ์ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า

5. Preparation via o/w microemulsions

การผลิตวิธีนี้จะเตรียมผ่านการตกตะกอนของหยดไขมันขนาดไมโครเมตรโดยการทำลายไมโครอิมัลชันให้มีขนาดเล็กลง เป็นการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsions) ซึ่งทำได้โดยการเตรียมแยกวัฏภาคน้ำมัน และวัฏภาคน้ำออกจากกัน โดยละลายไขมันที่อุณหภูมิที่แน่นอน และให้ความร้อน กับวัฏภาคน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวที่อุณหภูมิเดียวกัน เมื่อกระจายวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำต้องกวนแล้วไปทำให้เย็นในน้ำเย็นประมาณ 2-3 องศาเซลเซียส โดยต้องกวนตลอดเวลาเพื่อให้ขนาดอนุภาคเล็กเนื่องจากการตกตะกอน โดยไขมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำจะเหมาะสมสำหรับการเตรียมวิธีนี้ เช่น กรดสเตียริก เป็นต้น

6. Solvent diffusion method

วิธีการเตรียมวิธีนี้เป็นการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่ไขมัน หรือน้ำมันจะถูกละลายในสารละลายอินทรีย์ เช่น ไซโคลเฮกเซน (Cyclohexane) แล้วไปกระจายในวัฏภาคน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิว ซึ่งสารสำคัญสามารถใช้ได้ทั้งชนิดที่ละลายน้ำ และละลายในไขมัน ถ้าละลายน้ำจะรวมอยู่ในวัฏภาคน้ำ ถ้าละลายน้ำมันจะรวมอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน เมื่อให้ความร้อนจะทำให้สารละลายอินทรีย์ระเหยออกจนเกิดตะกอนของอนุภาคนาโนไขมันกระจายในวัฏภาคน้ำ แต่ข้อเสียคือ การตกค้างของตัวทำละลาย และการกักเก็บสารสำคัญที่ละลายได้ในไขมันอาจหลุดออกมาระหว่างการเตรียมเนื่องจากความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (ศิริพร โอโกโนกิ, 2561)

2.8.6 การประเมินสมบัติเคมีกายภาพ

1. ขนาดและการกระจายขนาด

การวัดขนาดของอนุภาค (Particle size) เป็นการยืนยันว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจริง และมีคุณสมบัติเพื่อการนำไปใช้งานที่เหมาะสม ซึ่งส่วนใหญ่นิยมระบุเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) อ่านค่าเป็น Z-Average หมายถึง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาค มีหน่วยเป็นนาโนเมตร ด้วยเทคนิคที่อาศัยการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light scattering หรือ DLS) ด้วยเครื่องมือเฉพาะเช่นเครื่องวิเคราะห์หาขนาด และประจุอนุภาคชนิดสับไมครอน (Zetasizer) (ภาพที่ 27) โดยขนาดของอนุภาคที่เกิดขึ้นในการเตรียมแต่ละครั้งควรมีขนาดใกล้เคียงกันมากที่สุด ซึ่งในทางปฏิบัติเป็นไปได้ยากเนื่องจากกระบวนการเตรียมแต่ละครั้งอาจเกิดความไม่แน่นอนจากสถานะและเทคนิค ดังนั้นจึงมีการระบุการกระจายขนาดอนุภาคนาโนแล้วรายงานเป็นค่าโพลิดิสเพอร์ซิตีอินเดกซ์ (Polydispersity Index หรือ PDI) ซึ่งค่า PDI จะบอกถึงความสม่ำเสมอของขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ โดยปกติจะอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 แต่ค่าที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 0.1-0.3 หากค่านี้มากกว่า 0.5 แสดงว่า ขนาดอนุภาคมีการกระจายกว้าง นั่นคือมีความไม่สม่ำเสมอของขนาดและมีขนาดเล็ก ในขณะที่ PDI ต่ำ แสดงว่า อนุภาคนาโนที่ผลิตได้มีขนาดใกล้เคียงกัน และคงตัวทางกายภาพได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป (Freitas & Müller, 1998)

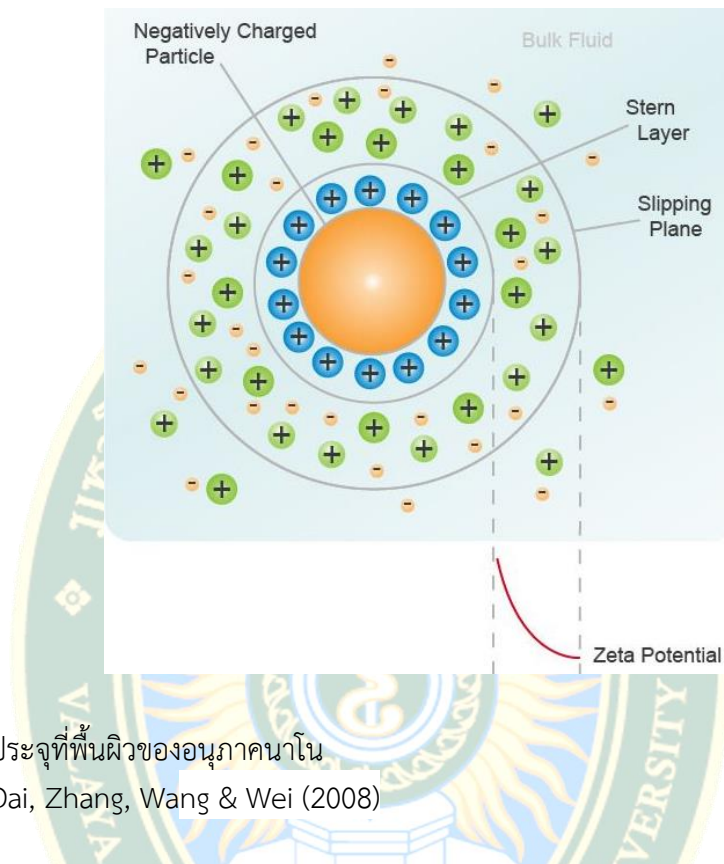


ภาพที่ 27 เครื่องวิเคราะห์หาขนาด และประจุอนุภาคชนิดสับไมครอน

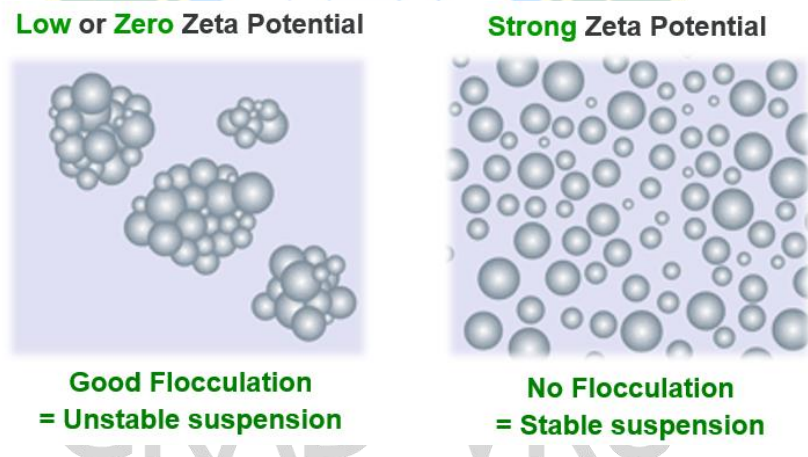
2. ประจุไฟฟ้าที่ผิวและศักย์ซีต้า

อนุภาคนาโนเมื่อแขวนลอยอยู่ในตัวกลางที่เป็นของเหลวจะมีประจุไฟฟ้ามาล้อมรอบ เมื่ออนุภาคมีการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน จะเกิดความต่างศักย์ที่เรียกว่าศักย์ซีต้า (Zeta potential) มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์ (mV) (ภาพที่ 28) ซึ่งวัดได้จากการเคลื่อนที่ทางอิเล็กโทรโฟรีติก (Electrophoretic mobility) ด้วยเครื่อง Zetasizer โดยค่าศักย์ซีต้าแสดงถึงประจุที่พื้นผิวของอนุภาคได้ เช่น หากศักย์ซีต้าเป็นบวก แสดงว่า อนุภาคนั้นมีประจุไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเป็นประจุบวก หากศักย์ซีต้าเป็นลบแสดงว่าอนุภาคนั้นมีประจุไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเป็นประจุลบซึ่งชนิดของประจุดังกล่าวจะเป็นชนิดเดียวกับประจุของอนุภาค แต่ในด้านปริมาณจะพิจารณาจากตัวเลขโดยตรงเท่านั้น หากศักย์ซีต้าของอนุภาคสูง แสดงว่าอนุภาคนั้นมีประจุไฟฟ้าที่แสดงออกที่พื้นผิวอนุภาคปริมาณมากความเหมือนของประจุไฟฟ้าทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้า ทำให้อนุภาคเกิดการผลักกันมากกว่ารวมตัวกัน ถ้าอนุภาคมีศักย์ซีต้าสูงจะมีความคงตัวทางกายภาพสูง ทำให้ไม่มีโอกาสเกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคก้อนใหญ่เมื่อตั้งทิ้งไว้เวลานาน ดังภาพที่ 29 โดยค่าศักย์ซีต้าที่เหมาะสมสำหรับอนุภาคนาโนที่มีความคงตัว ควรมีค่ามากกว่า ± 30 mV (Li, Dai, Zhang, Wang & Wei, 2008) นอกจากนั้นการวัดศักย์ซีต่ายังมีความจำเป็นมาก เนื่องจากการเตรียมอนุภาคที่มีการใช้ความร้อนจะไปเพิ่มพลังงานจลน์กับระบบซึ่งทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน และค่าศักย์ซีต้าจะลดลง

GRAD VRU



ภาพที่ 28 ประจุที่พื้นผิวของอนุภาคนาโน
ที่มา : Li, Dai, Zhang, Wang & Wei (2008)



ภาพที่ 29 อนุภาคจะรวมตัวกันถ้ามีศักย์ซีต้าต่ำ (ซ้าย) อนุภาคจะผลักรันถ้ามีศักย์ซีต้าสูง (ขวา)
ที่มา : DeNigris (2020)

2.8.7 ข้อดีของอนุภาคนาโนไขมัน

อนุภาคนาโนไขมันมีข้อดีในการนำส่งสารสำคัญ หรือสารออกฤทธิ์ที่ดีกว่าระบบอื่น ๆ โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ดังนี้ (พรวิช เจริญพุทธคุณ และธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557)

1. โดยขนาดที่เล็กของอนุภาคนาโนไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบในตำรับทำให้พื้นที่ผิวของอนุภาคสูงขึ้นทำให้การยึดเกาะกับผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (Stratum corneum) สูงขึ้น และสามารถทำให้เกิดการปกคลุมผิวคล้ายกับเป็นแผ่นฟิล์มที่เคลือบบนผิวหนัง เมื่อทาลงบนผิวหนังจึงช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนังได้มากขึ้น มีคุณสมบัติในการเพิ่มการแทรกผ่านผิวหนัง (Penetration enhancer)

2. ทำให้การระเหยของน้ำเกิดลดลงนำไปสู่การเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง (Pardeike, Hommos & Müller, 2009)

3. มีประสิทธิภาพสูงในการกักเก็บรวมทั้งปกป้องสารออกฤทธิ์ และสามารถออกแบบให้ปลดปล่อยออกจากอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น

4. เสถียรภาพที่ดี สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารได้อย่างต่อเนื่อง และสามารถนำส่งสารสำคัญไปยังบริเวณเป้าหมายในผิวหนังหรืออวัยวะเป้าหมายได้ดี

5. สามารถเพิ่มปริมาณ และฐานการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ง่าย โดยเฉพาะการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในทางยา และเครื่องสำอางด้วยต้นทุนการผลิตที่ต่ำ ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซ้ำซ้อน

6. เนื่องจากมีส่วนประกอบเป็นไขมันที่เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย (Biocompatible) และสลายตัวได้ในร่างกาย (Biodegradable) ทำให้มีความเป็นพิษที่ต่ำ (Tian et al., 2007)

7. ไม่ใช้สารละลายอินทรีย์ในขั้นตอนการผลิตจึงเป็นระบบนำส่งที่ปลอดภัย เนื่องจากมีองค์ประกอบหลักเป็นไขมัน และน้ำมันที่สามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกาย

8. สามารถกักเก็บได้ทั้งสารออกฤทธิ์ทั้งชนิดที่ชอบน้ำ และชนิดที่ชอบน้ำมัน และทุกรูปแบบ จึงเหมาะสำหรับกักเก็บสารออกฤทธิ์จากพืชสามารถเปลี่ยนสารสำคัญที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปแบบของเซรัม หรือของของเหลวเนื้อเดียวกับที่เป็นน้ำได้

Pardeike & Müller (2007) ได้ศึกษาการเพิ่มการดูดซึมผ่านผิวหนังของโคเอนไซม์คิวเทน (Coenzyme Q10) ที่บรรจุใน NLC เปรียบเทียบกับโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และในรูปแบบสารละลายในพาราฟินเหลว (Liquid paraffin) โดยใช้แผ่นทดสอบ tape-stripping test จากการศึกษาพบว่า NLC สามารถเพิ่มการดูดซึมของโคเอนไซม์ คิวเทนเมื่อเปรียบเทียบกับโคเอนไซม์คิวเทนในรูปแบบอิมัลชัน และในรูปแบบสารละลายในพาราฟินเหลว

การเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติด้วยนาโนเทคโนโลยีในรูปแบบของอนุภาคนาโน และระบบนำส่งทางผิวหนังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ลึกขึ้น ช่วยลดความเป็นพิษต่อเซลล์ ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ สามารถปกป้องสารออกฤทธิ์ไปสู่เป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และง่ายต่อการเตรียมสูตรต้นตำรับในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทั้งในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ (บังอร ศรีพานิชกุลชัย, 2559) อย่างไรก็ตามข้อ

ควรระวังของการใช้อุณหภูมิก่อนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ ห้ามใช้ต่อเซลล์ เนื้อเยื่อ หรือบริเวณผิวหนังที่ไม่ปกติ และผู้ผลิตที่อยู่ในกระบวนการผลิตอนุภาคนาโนควรมีแนวทางป้องกัน หรืออุปกรณ์ป้องกันระบบทางเดินหายใจ เนื่องจากอนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กจะมีผลต่อปอดได้ (เนติ วรรณช, 2559) ดังนั้นนอกจากทดสอบถึงลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงสภาพของอนุภาคนาโนแล้ว ผู้พัฒนาต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ก่อนที่จะนำไปใช้ต่อไป

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.9.1 งานวิจัยในประเทศ

สุธิตา อินทรโม และสุนันท์ ฉันทสุวรรณ (2560) พัฒนาระบบนำส่งเปปไทด์ทางผิวหนัง โดยใช้ระบบนำส่งชนิดไขมันขนาดนาโน ได้แก่ โซลิคิลิพิดนาโนพาร์ทิเคิล และนาโนสตรักเจอร์ลิพิดแคร์ริเออร์ โดยมีความเข้มข้นของไขมัน 10% และสัดส่วนของไขมันต่อน้ำมันที่ 80:20 (%w/w) สำหรับตำรับที่เตรียมเป็นนาโนสตรักเจอร์ลิพิดแคร์ริเออร์ และกำหนดให้มีความเข้มข้นของสารสำคัญ (Dermaxyl™) 2.5 %w/w โดยอนุภาคไขมันถูกเตรียมให้มีขนาดแตกต่างกันด้วยวิธี hot homogenization และ hot high pressure homogenization (HPH) ที่ความดัน 500 บาร์ พบว่าขนาดอนุภาคในตำรับที่แตกต่างกันมีผลต่อผลึกของไขมัน การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพที่อุณหภูมิ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 40 °C เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ตำรับที่เตรียมด้วยวิธี hot high pressure homogenization (HPH) มีขนาดอนุภาคที่เล็กและสม่ำเสมอมากกว่า มีแนวโน้มที่จะมีความเสถียรภาพทางกายภาพที่มากกว่า การศึกษาความเป็นพิษของตำรับต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่าความเข้มข้นของตำรับที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มากกว่า 50% คือ ความเข้มข้น 0.005% และ 0.0005% และการศึกษาประสิทธิภาพในการสมานแผลในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของผิวหนังมนุษย์ พบว่า ทุกตำรับสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์บริเวณที่กระตุ้นให้เกิดแผล

ยศพร พลายนโ (2559) ศึกษาปริมาณวิตามินอี โพลีฟีนอลทั้งหมด แอนโทไซยานิน ทั้งหมด แกมมาโอโรซานอล สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และศักยภาพในการป้องกันภาวะเครียดจากออกซิเดชันในเซลล์ลำไส้มนุษย์ของข้าวหมาก ทั้งที่ไม่ผ่าน และผ่านการจำลองการย่อยในระบบทางเดินอาหาร ข้าวหมากเตรียมจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผิวหุงสุก หมักกับลูกแป้งนาน 3 วัน ผลการศึกษาพบว่า ข้าวหมากที่ผ่านการจำลองการย่อยมีปริมาณวิตามินอี และโพลีฟีนอลทั้งหมดมากกว่าข้าวหมากที่ไม่ผ่านการจำลองการย่อย และข้าวเหนียวดำสุกตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบว่าข้าวหมากที่ไม่ผ่านการจำลองการย่อยมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด ขณะที่ข้าวเหนียวดำสุกมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่ศึกษาด้วยวิธี DPPH และ FRAP แสดงให้เห็นว่า ข้าวหมากที่ผ่านการจำลองการย่อยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวหมากที่ไม่ผ่านการจำลองการย่อย และข้าวเหนียวดำสุก ตามลำดับ สิ่งที่น่าสนใจในงานวิจัยนี้คือ เซลล์ลำไส้ที่ได้รับสารสกัดตัวอย่างร่วมกับ H₂O₂ มีปริมาณการหลั่ง IL-8 ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมผลบวก (ได้รับH₂O₂ เพียงอย่างเดียว) นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวหมากที่ผ่านการจำลองการย่อยมีฤทธิ์การยับยั้งการหลั่ง IL-8 ต่ำกว่าข้าวหมากไม่ผ่านการย่อย และข้าวเหนียวดำสุกตามลำดับ

ภัทรวัดน์ มณีวัฒนภิญโญ (2559) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาอนุภาคนาโนไขมัน 2 ชนิด คือ อนุภาคนาโนไขมันแข็ง และอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ที่สามารถเก็บกักสารสกัดหอมแดง ส่วนประกอบที่ใช้ในตำรับอนุภาคนาโนไขมันแข็ง คือ กลีเซอรอลโมโนสเตียเรทเป็นไขมันแข็ง ทวิน 80® เป็นสารลดแรงตึงผิว และ 1-บิวทานอลเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม ส่วนประกอบที่ใช้ในตำรับอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ คือ น้ำมันมะพร้าวชนิดพิเศษเป็นไขมันเหลว กลีเซอรอลโมโนสเตียเรทเป็นไขมันแข็งในตำรับ ทวิน 80® เป็นสารลดแรงตึงผิว และ 1-บิวทานอลเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม อนุภาคนาโนไขมันถูกเตรียมโดยใช้วิธีไมโครอิมัลชัน นำไปกระจายในน้ำเย็น พร้อมกับลดขนาดด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และ sonicate เป็นเวลา 30 นาที อนุภาคนาโนไขมันทั้ง 2 ชนิดที่เตรียมได้มีลักษณะใส ตำรับอนุภาคนาโนไขมันแข็งมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 109.7 นาโนเมตร และค่าศักย์ซีตาของตำรับ คือ -10.32 มิลลิโวลต์ ส่วนตำรับอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 151.6 นาโนเมตร และค่าศักย์ซีตาของตำรับ คือ 7.80 มิลลิโวลต์ ในขณะที่อนุภาคนาโนไขมันที่ผสมสารสกัดหอมแดง พบว่า อนุภาคนาโนไขมันแข็งมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 75.5 นาโนเมตร และค่าศักย์ซีตาของตำรับ คือ -4.25 มิลลิโวลต์ ส่วนอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 98.5 นาโนเมตร และค่าศักย์ซีตาของตำรับ คือ -9.68 มิลลิโวลต์ พบอัตราการปลดปล่อยเคออสตินออกจากตำรับอนุภาคนาโนไขมันแข็งปริมาณ 31.12 เปอร์เซ็นต์ และตำรับอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ปริมาณ 50.97 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งมีผลพลศาสตร์การปลดปล่อยแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งสำหรับอนุภาคนาโนไขมันทั้ง 2 ชนิด ดังนั้นแล้ว การเตรียมอนุภาคนาโนไขมันทั้ง 2 ชนิดสามารถเตรียมได้โดยวิธีไมโครอิมัลชัน นำไปกระจายในน้ำเย็น มีขนาดอนุภาคที่เหมาะสม และสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากตำรับได้ดี อนุภาคนาโนไขมันทั้ง 2 ชนิดที่เตรียมได้จึงเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ทางเวชสำอาง

ศิริพร คำชุ่ม อุทัยวรรณ ฉัตรธง และเกตุการ ดาจันทา (2558) ได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำต่างสายพันธุ์ โดยใช้ข้าวเหนียวดำ 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวกำมั่ง ข้าวลิ้มผิว และข้าวกำพะเยา หมักด้วยผงกล้าเชื้อยีสต์ผสมราในปริมาณร้อยละ 0.4 เปรียบเทียบกับข้าวเหนียวขาว (กข 6) หลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล แอนโทไซยานิน และการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) ผลการทดลองพบว่า สารประกอบฟีนอล (ร้อยละ 46-621) ค่า DPPH (ร้อยละ 107-265) และค่า FRAP (ร้อยละ 17-1,063) ในข้าวหมากเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวเหนียวก่อนหมัก ข้าวหมากจากข้าวกำมั่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอล แอนโทไซยานิน และการต้านอนุมูลอิสระทั้ง DPPH และ FRAP สูงที่สุด งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำเป็นแหล่งที่ดีของอาหารต้านอนุมูลอิสระ

อุไรวรรณ วัฒนกุล ชุตินุช สุจริต และนพรัตน์ วงศ์หิรัญเดชา (2555) ได้ทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากส่วนผสมของข้าวกล้องงอกสังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวดำ 5 อัตรา ได้แก่ 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 และ 0:1 พบว่า เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ พบว่า ทุกสูตรการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 0.23-0.47 เปอร์เซ็นต์ ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน

มผช. 162/2546 แต่มีแนวโน้มว่าข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำผสมข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง อัตรา 1:1 มีปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด ส่วนข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพัทลุงให้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุด แต่มีปริมาณสารสีแอนโทไซยานินมากที่สุดเท่ากับ 84.26 มก.ต่อกรัมน้ำหนักเปียก แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสูตรอื่น

ศิรินันท์ พุทธลา รจเรขา วรณศรี สุนิดา คำหาม ทรงพร จึงมั่นคง และวันดี รังสิวิจิตรประภา (2554) ได้พัฒนาระบบนำส่งน้ำมันรำข้าวในรูปแบบของ nanostructure lipid carrier (NLC) เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง โดยศึกษาเปรียบเทียบสูตรตำรับของ NLC และ Niosome วิธีการเตรียม NLC ใช้วิธี hot melt homogenization โดยใช้ Compritol® ATO 888 และ Pluronic® F 68 เป็น lipidic material และ non-ionic emulsifier ตามลำดับ ส่วนวิธีการเตรียม Niosome จะใช้วิธี Chloroform film method จากนั้นศึกษาคุณสมบัติความคงตัวของอนุภาคโดยการวัดขนาดอนุภาค และประจุไฟฟ้าที่ผิวอนุภาค รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณการกักเก็บน้ำมันรำข้าวในสูตรตำรับ ด้วยวิธี indirect method โดยมี γ -ออร์ธานอล เป็นตัวบ่งชี้ในการวิเคราะห์ด้วย high performance liquid chromatography เมื่อนำ NLC มาบรรจุในครีมแล้วทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่งด้วยวิธี Heating-cooling cycle พบว่า มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี ทำให้คาดได้ว่าผลิตภัณฑ์นี้จะสามารถเก็บที่สภาวะปกติแล้วมีความคงตัว 2 ปี แล้วนำไปทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 คน ผลการศึกษา พบว่า สูตรที่มีความคงตัวมากที่สุดคือ NLC (Compritol=RBO 4=6) ซึ่งมีขนาดอนุภาคและประจุไฟฟ้าที่ผิวอนุภาคอยู่ในช่วง 166 ถึง 353 นาโนเมตร และ -14 ถึง -31.5 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ และปริมาณการกักเก็บ γ -ออร์ธานอล 61.87% จากการทดสอบความพึงพอใจของอาสาสมัครจำนวน 30 คน โดยใช้แบบสอบถาม พบว่า ส่วนใหญ่มีระดับความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ดังนี้ ชอบมากที่สุด (60%), ชอบ (26.67%) และเฉย ๆ (13.33%) จากผลการทดลองสรุปว่า NLC (Compritol=RBO 4=6) เป็นสูตรที่เหมาะสมในการเตรียมเป็นตำรับครีมให้อยู่ในรูปแบบระบบนำส่งแบบ NLC เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องสำอางบำรุงผิวต่อไป

2.9.2 งานวิจัยต่างประเทศ

Krambeck et al. (2021) ได้ศึกษาการออกแบบ และกำหนดลักษณะของตัวพา ลิพิดที่มีโครงสร้างนาโน (Nanostructured lipid carrier; NLC) และไฮโดรเจลที่น้ำมันเมล็ดเสาวรส (*Passiflora edulis*) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมอาหาร NLC ถูกเตรียมโดยเทคนิค Ultrasonication โดยใช้ไขมันเมล็ดเสาวรสเป็นไขมันเหลว และ Glycerol distearate เป็นไขมันที่เป็นของแข็งที่ก่อเจลด้วย Polyacrylic acid การศึกษาความคงตัวเป็นเวลา 12 เดือน เพื่อทำการทดสอบ สันฐานวิทยา ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม การวิเคราะห์ขนาดอนุภาค การวิเคราะห์ดัชนีการกระจายตัว ศักย์ซีต้า ค่า pH การวิเคราะห์สี การศึกษาความหนืด การวิเคราะห์พื้นผิว เนื้อสัมผัส การซึมผ่านผิวหนัง กิจกรรมการยับยั้งไทโรซิเนส และการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลอง โดย NLC ที่พัฒนา มีรูปร่างเป็นทรงกลม และการกระจายขนาดอนุภาคแคบ โดยมีขนาดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 150 นาโนเมตร และ PDI ต่ำกว่า 0.3 ค่าศักย์ไฟฟ้าของซีต้าอยู่ที่ประมาณ -30 mV และประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูง กิจกรรมการยับยั้งไทโรซิเนส และการกักเก็บผิวหนังของอนุภาคนาโนสูงกว่าน้ำมันที่ไม่ถูกกักเก็บ สูตรที่พัฒนาแล้วไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat และมีคุณสมบัติ

ความหนืด และเนื้อสัมผัสที่เหมาะสมสำหรับการใช้กับผิวหนัง จึงเป็นตัวเลือกที่ดีในการเป็นสารลดรอยคล้ำ

Rapalli et al. (2020) ได้ศึกษาโครงสร้างนาโน (NLC) ที่เป็นระบบนำส่งยาที่ชอบไขมัน (Lipophilic) ที่มีความคงตัวที่ดี และมีประสิทธิภาพการกักเก็บ ในการซึมผ่านของเคอร์คูมิน (Curcumin) ที่ละลายได้ไม่ดีในชั้นผิวหนัง เพื่อการรักษาโรคสะเก็ดเงินจากการอักเสบเรื้อรัง และสิวที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยการเตรียมอนุภาคที่บรรจุด้วยเคอร์คูมิน ด้วยเทคนิค Hot melt homogenization และ sonication แบบโพรบ ผลการทดลองพบว่า NLC ที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 96.2 ± 0.9 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการกักเก็บที่ $70.5 \pm 1.65\%$ และค่าศักย์ซีต้า -15.2 ± 0.566 มิลลิโวลต์ โดย Curcumin-NLC สามารถปลดปล่อยยาในหลอดทดลองนานถึง 48 ชั่วโมง ในขณะที่เคอร์คูมินอิสระปลดปล่อยยา 100% ภายใน 4 ชั่วโมง มีการซึมผ่านของผิวหนังที่ดี และการกักเก็บผิวที่ดีขึ้น 3.24 เท่า เมื่อเทียบกับเคอร์คูมินอิสระ การศึกษาความมีชีวิตของเซลล์แสดงให้เห็นว่า ส่วนประกอบของสูตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เคราติโนไซต์ ในเซลล์ keratinocyte พบว่ามีการดูดซึมเซลล์ที่ดีขึ้นสำหรับ curcumin-NLC เมื่อเปรียบเทียบกับเคอร์คูมินอิสระ ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่า NLC ที่เตรียมขึ้นจากการทดลองสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเคอร์คูมินได้ดียิ่งขึ้น

Chaiyana et al. (2020) ได้พัฒนาระบบนำส่งนาโนเพื่อเสริมประสิทธิภาพของสารสกัดกะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) สู่มผิวหนัง โดยที่วิเคราะห์ปริมาณของสารสกัด Rosmarinic acid (RA) ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography และเปรียบเทียบระบบนำส่ง ได้แก่ ระบบตัวพาไขมันขนาดนาโน (Nanostructured lipid carrier; NLC) นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) ไลโปโซม (Liposome) และ ไนโอโซม (Niosome) ทำการวัดขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PDI) และศักย์ซีต้า โดย Photon correlation spectroscopy ศึกษาการระคายเคืองโดยใช้ Hen's egg test ของเยื่อเมมเบรนของเอ็มบริโอไข่ (Chorioallantoic membrane) ทดสอบการซึมผ่านผิวหนัง การกักเก็บภายในผิวหนัง ผลการทดลองพบว่า NLC เป็นระบบที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากช่วยเพิ่มการส่ง RA ทางผิวหนัง มีปริมาณการเก็บรักษา $27.1 \pm 1.8\%$ ($p < 0.05$) ขนาดของอนุภาค ค่า PDI และศักย์ซีต้า เท่ากับ 261.0 ± 5.3 นาโนเมตร, 0.216 ± 0.042 และ -45.4 ± 2.4 mV ตามลำดับ มีค่าการปลดปล่อย RA จาก NLC เท่ากับ $1.29 \pm 0.15\%$ และภายหลังจาก 24 ชั่วโมง NLC ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ดังนั้น NLC ที่มีสารสกัด *O. sanctum* จึงเป็นระบบการนำส่งทางผิวหนังที่ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพที่สามารถใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่อต้านริ้วรอย

Ghodrati, Farahpour & Hamishehkar (2019) ได้ศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยในการรักษาบาดแผล ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำเนื่องจากมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ และระเหยง่าย การศึกษาได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (PEO) ที่บรรจุลงในตัวพาลีพิดที่มีโครงสร้างระดับนาโน (PEO-NLC) ต่อการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในหลอดทดลอง และการรักษาบาดแผลที่ติดเชื่อในร่างกายในแบบจำลองหนู โดย PEO-NLC ถูกเตรียมโดยเทคนิค Hot melt homogenization จากนั้นวิเคราะห์ขนาด PEO-NLC การกระจายตัวของอนุภาค (PDI) ค่าศักย์ซีต้า (ZP) และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ PEO และ PEO-NLC โดยใช้แบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella*

typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus pneumonia* และแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes* sp. ผลการทดลองพบว่า PEO-NLC มีขนาดตั้งแต่ 40 ถึง 250 nm มีค่า PDI ~0.4 ค่า ZP ของ PEO-NLC -10 ถึง -15mv จากการวิเคราะห์ SEM พบว่าอนุภาคมีผิวเรียบ เป็นทรงกลม และกระจายตัว โดย PEO และ PEO-NLC มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. epidermidis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังบ่งชี้ผลกระทบเชิงบวกต่อการแสดงออกของระดับ FGF-2 และ EGF mRNA จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าถึงประสิทธิภาพของ PEO-NLC ในการรักษาแบบจำลองบาดแผลที่ติดเชื้อ

Pornputtapitak, Pantakitcharoenkul, Panpakdee, Teeranachaideekul & Sinchaipanid (2018) ศึกษาพบว่าข้าวเหนียวลิ้มผิวมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขาว และข้าวมีสี โดยเฉพาะน้ำมันรำข้าวที่มีสาร γ -ออริซานอล ซึ่งในการทดลองได้ทำการศึกษาตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัด และพบว่า สารสกัดพบกรดสำคัญ ได้แก่ กรดโอเลอิก (Oleic acid) (~40 g/100 g extract), กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) (~30 g/100 g extract) และกรดปาล์มมิติก palmitic acid (~20 g/100 g extract) โดยตัวทำละลาย เมทานอลสามารถสกัดได้กรดหลายชนิดมากที่สุด อย่างไรก็ตามตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดสารแกมมาออริซานอลได้มากที่สุด ดังนั้นในงานวิจัยจึงเลือกสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซนมาใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแคเรียเจอร์ (NLC) พบว่ามีขนาดของอนุภาคเท่ากับ 142.9 ± 0.4 นาโนเมตร ของสูตรสารสกัดที่ใช้เมทานอลสกัด และมีขนาดของอนุภาคเท่ากับ 137.1 ± 0.5 นาโนเมตร ของสูตรสารสกัดที่ใช้เฮกเซนสกัด ความสามารถในการปลดปล่อยสูตรสารสกัดที่ใช้เมทานอลสกัดสูงกว่าเล็กน้อย

Lima, Rampazo, Costa, Rodrigues, Watashi & Duran (2017) ได้ทำการศึกษาศาสตร์เตรียมอนุภาคนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียเจอร์ (NLCs) ซึ่งสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ และป้องกันการสลายตัวของสารประกอบที่มากคงตัว โดยพบว่า NLCs สามารถป้องกันผิวหนังจากแสงแดด เนื่องจากลักษณะของอนุภาคที่มีคุณสมบัติการกระเจิงแสงได้ดี โดยงานวิจัยใช้ไขมันธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ได้แก่ ไขมันพืชที่มีจุดหลอมเหลว (m.p.) ~32-40°C (m.p.) ไขมันสัตว์ (m.p. 35-40°C) และน้ำมันพืช (จุดเดือด ~120-150°C) NLC ถูกเตรียมโดยวิธีการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูงร้อน และวัดขนาดเฉลี่ยของอนุภาค (Zave) การกระจายตัวของอนุภาค (PDI) และศักย์ซีต้า (PZ) ศึกษาการคงตัวของอนุภาค เวลา 60 พบว่า มีค่า Zave ประมาณ 150-200 นาโนเมตร PDI น้อยกว่า 0.2 และ PZ ที่แตกต่างกันตั้งแต่ -25 ถึง -40 mV ความเป็นพิษต่อเซลล์ต่อคีราโนไซต์ (Keratinocytes) ของมนุษย์ (HaCaT) และเมลานโนไซต์ (Melanocytes) (Melan-A) ในระยะการเจริญเติบโตแบบเอ็กซิปเนนเซียล ความมีชีวิตของเซลล์ถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นพิษต่อเซลล์หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 วันโดยการทดสอบ MTT พบว่าสูตร NLC ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT และ Melan-A ผลการศึกษาพบว่า NLC ที่ผลิตขึ้นเป็นตัวพาที่มีศักยภาพสำหรับผลิตภัณฑ์นาโนเครื่องสำอาง และครีมกันแดด

Zhai, Wang & Han (2015) ศึกษาพบว่า ข้าว ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง ข้าวโพด และข้าวโอ๊ตที่หมักด้วย *Agaricus blazei* Murrill บนอาหารแข็ง (Solid-state fermentation) ผลการทดลองพบว่าภายหลังการหมักปริมาณสารอาหาร และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่ามากขึ้น โดยข้าวฟ่าง มีปริมาณฟีนอลทั้งหมด กรดอะมิโน และโปรตีนที่ละลายน้ำสูงที่สุด ขณะที่ข้าวสาลีมีปริมาณ โปรตีนทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด เมื่อนำตัวอย่างมาสกัดด้วยเอทานอลผลการทดลองพบว่าภายหลังการหมักทุกตัวอย่างมีศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) มีค่าเพิ่มมากขึ้น โดยข้าวฟ่างมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงสุด ส่วนข้าวสาลีมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงสุด

Abd Razak, Abd Rashid, Jamaluddin, Sharifudin & Long (2015) ศึกษาการหมักข้าวด้วยราบนอาหารแข็งและสกัดด้วยเมทานอล วัดปริมาณกรดฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วย ferric reducing antioxidant power (FRAP) เปรียบเทียบก่อน และหลังหมัก และศึกษาการหมักด้วยรา *Rhizopus oligosporus* และหัวเชื้อผสมของ *Rhizopus oligosporus* และ *Monascus purpureus* ผลการทดลอง พบว่า ปริมาณกรดฟีนอลิก และการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นภายหลังการหมัก

Naseri, Valizadeh & Zakeri-Milani (2015) รายงานว่าอนุภาคนาโนของไขมัน (LNPs) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในช่วงสองสามทศวรรษที่ผ่านมา โดยระบบอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนพาร์ติเคิล (Solid Lipid Nanoparticles; SLNs) และระบบตัวพาไขมันขนาดนาโน หรือนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers; NLCs) ซึ่ง SLN ได้รับการพัฒนาเพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นกับคอลลอยด์อื่น ๆ เช่น อิมัลชัน โกลโปซิม และอนุภาคนาโนพอลิเมอร์ เนื่องจากมีข้อดี เช่น การปลดปล่อยที่ดีและการจัดส่งยาที่ตรงเป้าหมายและมีเสถียรภาพทางกายภาพที่ดี โดย NLCs ได้รับการดัดแปลง SLN ซึ่งช่วยเพิ่มเสถียรภาพ และความสามารถในการกักเก็บ ทำให้มีศักยภาพในการใช้งานในด้านการจัดส่งยาเพื่อการวิจัยเครื่องสำอาง และการแพทย์ทางคลินิก เป็นต้น

Schmidt, Gonçalves, Prietto, Hackbart & Furlong (2014) ศึกษาการใช้ของทั้งอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อเป็นแหล่งธาตุอาหารในการหมักข้าวด้วยรา *Rhizopus oryzae* บนอาหารแข็ง วัดปริมาณกรดฟีนอลิก และศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ผลการทดลอง พบว่า ภายหลังการหมักสารสกัดข้าวมีปริมาณกรดฟีนอลิกเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase enzyme) แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase enzyme) ได้

Plaitho, Kangsadalampai & Sukprasansap (2013) พบว่า ข้าวหมากจากข้าวมีสีของไทยได้แก่ ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวมันปู ข้าวสังข์หยด ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยลูกแป้งที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 วันผลการทดลองพบว่าปริมาณสารโพลีฟีนอล แอนโทไซยานิน ศักยภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) และฤทธิ์ต้านการก่อ

กลายพันธุ์ในแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์เดียวกันที่ไม่ผ่านการหมัก โดยข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำให้ผลจากการศึกษาที่ดีที่สุด

Kupski, Cipolatti, Rocha, Oliveira, Souza-Soares & Badiale-Furlong (2012) ศึกษาการหมักรำข้าวบนอาหารแข็งด้วยรา *Rhizopus oryzae* CCT 7560 ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 120 ชั่วโมง หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการหมักมาสกัดด้วยเมทานอล ผลการทดลองพบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นและสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 85 และมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น ร้อยละ 26.6

Jong-Hwei, Wen-Rou, Tomohiro, Takashi & Tzu-Ya (2011) พบสารสกัดจากข้าวหมักด้วยยีสต์ *Saccharomycopsis* sp. (*Saccharomycopsis* ferment filtrate, SFF) ซึ่งถูกรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบของเซลล์ที่มีผลมาจากการยับยั้งการสร้างสาร nitric oxide (NO) และป้องกันเซลล์ถูกทำลาย ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสารสกัด SFF ที่มีผลต่อเซลล์คีราติโนไซต์ (keratinocytes) ซึ่งเป็นเซลล์หลักในชั้นหนังกำพร้า และวัดการรอดชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay ผลการทดลอง พบว่า สารชนิดนี้สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์คีราติโนไซต์ ทำให้เซลล์มีการส่งผ่านสารที่ดีขึ้น กระตุ้นการสร้างไทด์จังก์ชัน (tight junctions, TJs) ซึ่งเป็นโปรตีน claudin-1, -3, -4, occludin, ZO-1 ที่ทำให้เซลล์เกาะยึดกันแน่นมากขึ้น โดยการวัดด้วย transepithelial electrical resistance (TER) นอกจากนี้ยังกระตุ้นการแบ่งเซลล์และสร้างชั้นของเซลล์ ทำให้เซลล์มีจำนวนมากขึ้น บ่งบอกถึงสุขภาพที่ดีของเซลล์ โดยสารนี้สามารถกระตุ้นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการแบ่งเซลล์ของคีราติโนไซต์

GRAD VRU

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ข้าวตัวอย่าง

3.1.1 ข้าวเหนียว

1. ข้าวเหนียวลิ้มผิว จังหวัดตาก
2. ข้าวเก่า จังหวัดเชียงราย
3. ข้าวเก่าดอย จังหวัดพะเยา
4. ข้าวเหนียวดำ จังหวัดบุรีรัมย์
5. ข้าวเหนียวแดง จังหวัดเลย
6. ข้าวเหนียวดำหอม จังหวัดพัทลุง

3.1.2 ข้าวเจ้า

1. ข้าวหอมนิลจิง หัวดลพบุรี
2. ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จังหวัดปทุมธานี
3. ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ จังหวัดอุบลราชธานี
4. ข้าวมะลินิล จังหวัดสุรินทร์
5. ข้าวสุตบุตร จังหวัดเชียงราย
6. ข้าวหอมมะลิดำ จังหวัดเชียงราย
7. ข้าวหอมมะลิแดง จังหวัดสระบุรี
8. ข้าวทับทิมชุมแพ จังหวัดขอนแก่น
9. ข้าวเนียงกวัง จังหวัดบุรีรัมย์
10. ข้าวสังข์หยด จังหวัดพัทลุง

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 ปิเปต ทิป (Pipette Tip)
- 3.2.2 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.2.3 ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 5, 10, 25, 100, 250 มิลลิลิตร
- 3.2.4 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 1000 ไมโครลิตร, 5 มิลลิลิตร
- 3.2.5 ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 150 , 250 มิลลิลิตร
- 3.2.6 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 5, 100 มิลลิลิตร
- 3.2.7 กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 (Whatman)
- 3.2.8 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.2.9 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.3 สารเคมี

- 3.3.1 อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride) (AlCl_3)
- 3.3.2 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (DPPH)
- 3.3.3 2,6-ได-เทอิต์-บิวทิล-4-เมทิลฟีนอล (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) (BHT)
- 3.3.4 โฟลิน-ไซโอแคลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu's reagent)
- 3.3.5 กรดแกลลิก (Gallic acid; 3,4,5- hydroxybenzoic acid) ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$)
- 3.3.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) (Na_2CO_3)
- 3.3.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (NaOH)
- 3.3.8 โซเดียมไนไตรต์ (Sodium nitrite) (NaNO_2)
- 3.3.9 เมทานอล (Methanol) (CHOH)
- 3.3.10 เอทานอล (Ethanol) ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
- 3.3.11 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) (KCl)
- 3.3.12 โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate) ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- 3.3.13 เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous Sulfate) ($\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 3.3.14 รูทีน (Rutin hydrate) ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_{29}$)
- 3.3.15 เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase enzyme)
- 3.3.16 กรดโคจิก (Koji acid) ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$)
- 3.3.17 ไดเมทิลซัลโฟไซด์ (Dimethyl sulfoxide; DMSO) ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$)
- 3.3.18 ซัลโฟโรดามีน บี (Sulforhodamine B)
- 3.3.19 ไตรคลอโรแอสिटิกแอซิด (Trichloroacetic acid; TCA) (CCl_3COOH)
- 3.3.20 กรดแอสिटิก (Acetic acid) (CH_3COOH)
- 3.3.21 ทริสเบส [Tris (hydroxyl methyl) aminomethane] [$\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$]
- 3.3.22 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^- - \text{Na}^+$]
- 3.3.23 โซเดียมลอริลซัลเฟต (Sodium lauryl sulfate) ($\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$)
- 3.3.24 เซทเทอริลแอลกอฮอล์และเซทเทอริล-กลูโคไซด์ (มอนทานอฟ 82) (Cetearyl Alcohol (and) Cetearyl Glucoside; Montanov 82)
- 3.3.25 ซอปีแทนโอเลต (สแปน 80) (Sorbitan Oleate; Span 80[®])
- 3.3.26 โพลีซอร์เบต 20 (ทวิน 20) (Polysorbate 20; Tween 20[®])
- 3.3.27 โพรอกซ์ซามเมอร์ (Poloxamer)
- 3.3.28 กลีเซอรอล (Glycerol/Glycerine) ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)
- 3.3.29 ไดเอทิลีนไกลคอล โมโนเอทิลอีเทอร์ (ทรานส์คูล) (Diethylene Glycol Monoethyl Ether; Transcutol[®])
- 3.3.30 น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil)
- 3.3.31 แอล-โดปา (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine; L-DOPA) ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_4$)
- 3.3.32 กรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอะซิติก (Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid; EDTA) ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$)

- 3.3.33 อะคริเลท/C10-30 อัลคิล อะคริเลต ครอสพอลิเมอร์ (Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer)
- 3.3.34 พีอีจี40 ไฮโดรจีเนท แคสเตอร์ออยล์ (PEG 40 Hydrogenated Castor Oil)
- 3.3.35 คลอเฟนิซิน/ฟีน็อกซีเอทานอล (Chlorphenesin/Phenoxyethanol)
- 3.3.36 ไฮดรอกซี เอทิล เซลลูโลส (Hydroxyethyl Cellulose)
- 3.3.37 ฟีนอสแตท (Phenostat)
- 3.3.38 บิวทิลีน ไกลคอล (Butylene Glycol; Ethylene Glycol Monobutyl Ether) (C₄H₁₀O₂)
- 3.3.39 สารปรุงแต่งกลิ่นรส (Flavor)
- 3.3.40 น้ำปราศจากประจุ (Deionized water)

3.4 เครื่องมือ

- 3.4.1 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ BUCHI รุ่น Rotavapor R-124
- 3.4.2 เครื่องเขย่าสารควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator) ยี่ห้อ COMECTA,S.A.
- 3.4.3 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ memmert รุ่น UN110
- 3.4.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) ยี่ห้อ EUTECH รุ่น pH 700
- 3.4.5 เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ Adventurer
- 3.4.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) ยี่ห้อ GIBTHAI CO.,LTD
- 3.4.7 เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) รุ่น FINE VORTEX FINEPCR
- 3.4.8 เครื่องปั่นไฟฟ้า (Heavy duty blender) ยี่ห้อ OTTO รุ่น BE 127A
- 3.4.9 หม้อหุงข้าวไฟฟ้า (Electric rice cooker) ยี่ห้อ OTTO รุ่น CR-180T
- 3.4.10 เครื่องวิเคราะห์หาขนาดและประจุอนุภาคชนิดสับไมครอน ยี่ห้อ Malvern Zetasizer nano ZS
- 3.4.11 เครื่องผสมคลื่นเสียงความถี่สูง (Sonicator) ยี่ห้อ Sonics Vibra Cell
- 3.4.12 เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate Reader) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Enspire 2300 Multimode Plate Reader
- 3.4.13 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (Light microscope) ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น CX23
- 3.4.14 เครื่องกวนผสมความเร็วสูง (High speed homogenizer) ยี่ห้อ IKA รุ่น Altra-Turra T25; Germany
- 3.4.15 เครื่องวัดค่าความหนืดแบบราง (Bostwick consistometer) ยี่ห้อ CSC Scientific
- 3.4.16 เครื่องวัดสี (Chroma meter) ยี่ห้อ MINOTA

3.5 สถานที่ดำเนินการวิจัย

3.5.1 ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

3.5.2 ห้องปฏิบัติการหลักสูตรนวัตกรรมชีวผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

3.5.3 ห้องปฏิบัติการภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

3.5.4 ศูนย์ทดสอบทางพิษวิทยา และชีววิทยา สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) จังหวัดปทุมธานี

3.5.5 ห้องปฏิบัติการการพัฒนาผลิตภัณฑ์บริษัท ซีดีไอพี (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) จังหวัดปทุมธานี

3.6 วิธีการวิจัย

3.6.1 การเตรียมลูกแป้งข้าวหมาก

นำแป้งข้าวเจ้าสำเร็จรูปจากตลาดทั่วไปปริมาณ 100 กรัม ผสมกับสมุนไพรมะขามจากตลาดทั่วไป ได้แก่ ขิง ข่า ขะเอม กระเทียม บดละเอียดชนิดละ 2.5 กรัม พริกไทย ดีปลี บดละเอียดชนิดละ 0.8 กรัม ลูกแป้งข้าวหมากเก่า 0.4 กรัม เติมน้ำสะอาดโดยมีอัตราส่วนน้ำต่อแป้งข้าวเจ้า 85:100 นวดส่วนผสมทุกอย่างให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นปั่นเป็นก้อนครึ่งวงกลมขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร นำไปเรียงบนถาดหรือภาชนะที่สะอาดโรยด้วยแป้งเชื้อทับอีกครั้ง คลุมด้วยผ้าขาวบาง และตั้งทิ้งไว้ในร่ม 1 คืน ก่อนนำออกตากแดดให้แห้ง หรือถ้าไม่มีแดดให้ผึ่งในที่ที่มีอากาศถ่ายเทเป็นเวลา 4-5 วันจนกว่าจะแห้ง เลือกใช้เฉพาะลูกแป้งที่ดี คือมีลักษณะสีขาวนวลแห้ง น้ำหนักเบา ไม่มีกลิ่นฉุนแรง และไม่มีการปนเปื้อนของราเขียวหรือราดำขึ้นปกคลุม ไม่มีรอยแตก เก็บในขวดโหล หรือภาชนะที่มีฝาปิดสนิท (ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์, 2564)

3.6.2 การเตรียมตัวอย่างข้าวหมาก

นำตัวอย่างข้าวเหนียว ได้แก่ ข้าวเหนียวลิ้มผัว ข้าวก่ำ ข้าวก่ำดอย ข้าวเหนียวดำหอม ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวแดง ข้าวเจ้า ได้แก่ ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ ข้าวสังข์หยด ข้าวมะลินิล ข้าวเนียงกวาง ข้าวทับทิมชุมแพ ข้าวสุตบุตร และข้าวหอมมะลิดำ มาล้างน้ำให้สะอาด แช่ข้าวเป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำมาหุงจนสุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า ในอัตราส่วน ข้าว 1 ส่วน ต่อน้ำ 3 ส่วน เมื่อข้าวสุกนำมาผึ่งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในอัตราส่วนร้อยละ 0.5 ต่อข้าว ใช้เวลาในการหมัก 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จนได้เป็นข้าวหมาก (ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์ ศศมล ผาสุข และวีระพงษ์ แสง-ชูโต, 2561) เก็บตัวอย่างก่อน และหลังการหมักเพื่อนำมาสกัดตัวอย่าง

3.6.3 การสกัดข้าวหมาก

นำข้าวหมากที่เตรียมได้ไปอบในตู้อบลมร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 นำไปเขย่าที่ 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปแยกชั้นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที กรอง

แยกส่วนใสด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วจึงนำกากที่เหลือไปสกัดซ้ำในวิธีเดิมอีก 1 ครั้ง นำส่วนที่เป็นของเหลวใสที่ได้ทั้ง 2 ครั้ง รวมกัน ทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายภายใต้สุญญากาศที่ความร้อน 45 องศาเซลเซียส (ยศพร พลายโกล, 2559) จากนั้นนำมาคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก (% yield of dry weight) (Inagaki, Kato, Mori & Fujita, 2013) ดังสมการที่ 1 จากนั้นเก็บตัวอย่างในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{ปริมาณสารสกัด (กรัม)}}{\text{ปริมาณตัวอย่างข้าว (กรัม)}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

3.6.4 การวัดค่าสีของสารสกัดข้าวหมากของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ

นำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวัดสีโดยใช้เครื่องวัดสี (Chroma meter) ค่าพารามิเตอร์ ที่ทำการพิจารณา คือ ค่าความสว่าง (L^*), ค่าความเป็นสีแดง (a^*), และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*)

L^* คือ ค่าที่อ่านได้จากมิเตอร์ไปสว่างสุดตั้งแต่ 0 - 100 โดย 0 คือ สีดำ และ 100 คือ สีขาว

a^* คือ ค่าที่บ่งบอกค่าสีเขียวและสีแดง โดยค่า $+a^*$ แสดงความเป็นสีแดง และ $-a^*$ แสดงความเป็นสีเขียว

b^* คือ ค่าที่บ่งบอกถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดย $+b^*$ แสดงความเป็นสีเหลือง และ $-b^*$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

3.6.5 การศึกษาปริมาณกลุ่มสารสำคัญของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีก่อนและหลังหมักข้าว

3.6.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยชั่งสารสกัดจากข้าวหมาก 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ปิเปตสารตัวอย่าง ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมฟอลิน-ไซโอแคลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu reagent) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาคผนวก จ) และรายงานผลเป็นปริมาณมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (mg GAE/g dried extract) เตรียม Blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 8,500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ไมโครลิตร เติมฟอลิน-ไซโอแคลทู รีเอเจนต์ 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำและคิดเป็นค่าเฉลี่ย (\pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) (Iqbal, Bhangar & Anwar, 2005)

3.6.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric โดยนำสารสกัดจากข้าวหมาก 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร ที่เวลา 0 นาที เติมโซเดียมไนไตรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ที่เวลา 5 นาที เติมอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ที่เวลา 6 นาที เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เติร์ม Blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ที่เวลา 0 นาที เติมโซเดียมไนไตรต์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ที่เวลา 5 นาที เติมอลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ที่เวลา 6 นาที เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานของรูทีน (ภาคผนวก จ) และรายงานผลเป็นปริมาณมิลลิกรัมรูทีนต่อกรัมของตัวอย่าง (mg RE/g dried extract) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (\pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) (Shen, Jin, Xiao, Lu & Bao, 2009)

3.6.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในตัวอย่างใช้วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-differential) (Lee, Durst & Wrolstad, 2005; Sutharut & Sudarat, 2012) โดยผสมสารสกัดข้าวหมากในหลอดทดลองที่ 1 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เติมน้ำฟอสฟอรัสไฮดรอกไซด์ pH 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และผสมสารสกัดข้าวหมากในหลอดทดลองที่ 2 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เติมน้ำฟอสฟอรัสไฮดรอกไซด์ pH 4.5 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดทดลองทั้ง 2 หลอด ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตรตามลำดับ คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากสมการที่ 2

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน(มิลลิกรัม/ลิตร)} = (A \times MW \times DF \times 10^3) / (\epsilon \times L) \dots \dots \dots (2)$$

โดยที่ A = แอปซอร์บแนนซ์ของสารละลายตัวอย่างเจือจาง

$$A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

MW = 449.2 g/mol (น้ำหนักโมเลกุลของ Cyanidin-3-glucoside)

ϵ = 26,900 L/mol/cm โมลาร์แอฟซอพติวิตี (molar absorptivity)

L = 1 cm (ความกว้างของ cuvette)

DF = Dilution factor ของสารละลายตัวอย่าง

(0.2 ml ของสารละลายตัวอย่างแล้วเจือจางเป็น 3 ml ค่า DF = 15)

10^3 = factor for conversion from g to mg (การเปลี่ยนกรัมเป็นมิลลิกรัม)

รายงานผลในรูปของมิลลิกรัมไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ในตัวอย่างกรัมน้ำหนักแห้ง (mg cyanidin-3-glucoside/g dry weight basis) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (\pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

3.6.6 การศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวมีสีก่อน และหลังหมักข้าว

3.6.6.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอส (DPPH)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity) ทำโดยชั่งสารสกัดจากข้าวหมัก 0.02 กรัม ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเพื่อช่วยการละลาย นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ให้ได้ความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาทดสอบความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระดีพีพีเอส (DPPH) เทียบกับสารละลายมาตรฐานบิวทิลเลตไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylate hydroxytoluene หรือ BHT) (ภาคผนวก จ) ผสมสารละลายลงในหลอดทดลอง A คือ ตัวอย่างทดสอบ B คือ Blank ของตัวอย่าง และ C ตัวควบคุม (ทำ 3 ซ้ำ) ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเติมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

A (Test sample)	- สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 - สารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ ใน เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99	1 มิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร
B (Blank of A)	- สารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน ในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 - เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99	1 มิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร
C (Control)	- สารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ ในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 - เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99	1 มิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร

นำสารทดสอบในแต่ละหลอดผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 30 นาที จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากนั้นทำการคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังสมการที่ 3

$$\% \text{ Scavenging} = \frac{\text{control} - \text{sample} \times 100}{\text{control}} \dots\dots\dots(3)$$

หาค่า EC_{50} ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้น ซึ่งการคำนวณ EC_{50} คือความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) ได้ร้อยละ 50 (Fukumoto & Mazza, 2000)

3.6.6.2 การทดสอบด้วยวิธีเฟออาร์เอพี (FRAP)

การทดสอบด้วยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) เพื่อวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งหมด (Total antioxidant power) โดยเป็นการวัดความสามารถของตัวอย่างในการรีดิวซ์สารประกอบเฟอร์ริกไตรไพริดีลไตรเอซีน (Ferric-tripyridyltriazine) หรือ $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ ให้อยู่ในรูปของเฟอร์รัสไตรไพริดีลไตรเอซีน (Ferrous-tripyridyltriazine) หรือ $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ โดยปิเปตสารละลายเฟออาร์เอพี (FRAP reagent) ปริมาตร 3,800 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดข้าวปริมาณ 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate reader) คำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากค่า $[\text{Fe}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ โดยเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (ภาคผนวก จ) ดังสมการที่ 4

$$\begin{aligned} & \text{ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ไมโครโมลสมมูลของเฟอร์รัสไอออนต่อลิตร)} \\ & = [(A_{595} - B) / M] \times 100 \dots\dots\dots(4) \end{aligned}$$

โดยที่ : A_{595} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

B คือ จุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

M คือ ค่าความชันของกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

โดยผลจะแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมตัวอย่างซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำและคิดเป็นค่าเฉลี่ย (\pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) (Griffin & Bhagooli, 2004)

3.6.6.3 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-Tyrosinase Assay) ด้วยวิธี Modified Dopachrome (Piao et al., 2002) มีขั้นตอนที่สำคัญ ได้แก่

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

นำสารสกัดข้าว 0.02 กรัม ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 เขย่า นาน 30 นาที ปรับปริมาตร 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ให้ความเข้มข้น 500, 250, 125 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับ สารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (ภาคผนวก จ) โดยเติมสารละลาย A, B, C และ D ลงในงานหลุมทดสอบแยกกันลงในงานหลุม (Microtitre plate) (ทำซ้ำ 3 ซ้ำ) ได้แก่

A (control) :

- สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร

- เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

B (blank of A) :

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร
- เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

C (test sample) :

- สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร
- สารละลายตัวอย่าง / สารละลายมาตรฐาน ใน เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.99

ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

D (blank of C) :

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร
- สารละลายตัวอย่างใน เอทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

หลังจากเติมสารทดสอบลงในหลุม เขย่าให้สารละลายผสมกันดี แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายแอล-โดปา (L-DOPA reagent) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุม จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม

3. การคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้สมการที่ 5

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = \frac{[(A-B)-(C-D)]}{A - B} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

โดย A, B C และ D คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ระหว่างค่าที่วัดได้ ก่อนการบ่มและหลังบ่มแล้ว 2 นาที ($A_2 \text{ min} - A_0 \text{ min}$)

การคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟ การหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50) ใช้โปรแกรม Excel สร้างกราฟเส้นตรง ระหว่างค่า Log_{10} ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) กับ % Lethality (แกน y) คำนวณโดยแทนค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า IC_{50}

3.6.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay

3.6.7.1 การเตรียมเซลล์ทดสอบ

นำเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ (passage 50: ATCC®PCS-201-012, USA) เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco' modified Eagle medium (DMEM, Gibco, USA) ที่เติม Fetal bovine serum (FBS, BioWhittaker, USA) (v/v) ร้อยละ 10 และ Penicillin-Streptomycin antibiotics (BioWhittaker, USA) ร้อยละ 1 (v/v) จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี CO_2 ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยเริ่มต้นให้มีความเข้มข้น 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (cell/ml) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่ปรับความเข้มข้นด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์

โดยวัดความเข้มข้นของเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา

3.6.7.2 การเตรียมสารทดสอบ

นำสารสกัดข้าวหมากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุดมาละลายในสารละลาย ไดเมทิลซัลไฟด์ (Dimethyl sulfoxide : DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และในอาหารเลี้ยงเซลล์ นำสารสกัดข้าวหมากที่เป็นตัวอย่างทดสอบไปทำให้ไร้เชื้อ โดยกรองผ่านเมมเบรนที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอน จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างทดสอบให้มีความเข้มข้นที่ต้องการด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ทำให้ไร้เชื้อแล้ว ได้แก่ 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) ตามลำดับ และเตรียมสารละลายไดเมทิลซัลไฟด์ให้มีความเข้มข้นได้แก่ 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) ตามลำดับ เติมสารแขวนลอยเซลล์ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงไปในหลุม 96-well plates ของเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate reader) และเติมสารทดสอบสารสกัดข้าวหมาก และสารละลายไดเมทิลซัลไฟด์ลงไปหลุมละ 10 ไมโครลิตร โดยมีสารละลายไดเมทิลซัลไฟด์ร้อยละ 1 เป็นกลุ่มควบคุมลบของสารทดสอบ และอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นกลุ่มควบคุมลบของสารละลายไดเมทิลซัลไฟด์ บ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ร้อยละ 5 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.6.7.3 การย้อมสีซัลโฟโดตามีน บี (Sulforhodamine B)

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธีการย้อมสีซัลโฟโดตามีน บี (Sulforhodamine B; SRB) โดยนำเซลล์ทดสอบที่ผ่านการบ่มมาตรึงด้วยสารละลายไตรคลอโรแอซิดิกแอซิด (Trichloroacetic acid :TCA) ที่เย็นร้อยละ 40 (w/v) บ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ย้อมด้วยสารละลายซัลโฟโดตามีน บี ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ในกรดแอซิดิกร้อยละ 1 ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยกรดแอซิดิก (Acetic acid) ร้อยละ 1 อย่างรวดเร็ว ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 จากนั้นเติม สารละลายทริสเบส [Tris (hydroxyl methyl) aminomethane] pH 10 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตรคำนวณร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังสมการที่ 6 (Skehan et al., 1990; Vichai & Kirtikara, 2006) สังเกตรูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดากำลึงขยาย 100x

$$\% \text{ of control cell growth} = \frac{\text{mean OD}_{\text{sample}} - \text{mean OD}_{\text{day 0}}}{\text{mean OD}_{\text{neg control}} - \text{mean OD}_{\text{day 0}}} \times 100 \dots \dots \dots (6)$$

3.6.8 การพัฒนานาโนเชอร์มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี

นำสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพดีและไม่เป็นพิษต่อเซลล์มาพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100-300 นาโนเมตร โดยการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันขนาดนาโนเมตร มีขั้นตอนดังนี้ (Üner, 2006)

3.6.8.1 เตรียมสารในวัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) ก่อน โดยการชั่งไขมันแข็ง มอนเทอฟ (Montanov 82[®]) ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักและสารลดแรงตึงผิว Sorbitan Oleate (Span 80[®]) แล้วปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสาร (Mechanical stirrer) ที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที โดยให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นชั่ง Transcutol[®] ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นสารช่วยละลายและน้ำมันรำข้าวจากนั้นละลายรวมกับ Montanov 82[®] และ Sorbitan Oleate (Span 80[®]) ที่เตรียมไว้แล้ว เติมสารสกัดข้าวหมาก ปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสาร ที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที โดยให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส จนสารละลายทั้งหมดเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

3.6.8.2 เตรียมสารในวัฏภาคน้ำ (Aqueous phase) โดยการชั่งสารลดแรงตึงผิว Polysorbate 20 (Tween 20[®]) และสารลดแรงตึงผิวร่วม Poloxamer ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก กลีเซอรอล (Glycerol) ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักซึ่งเป็นสารช่วยละลายและปรับปริมาณให้ครบร้อยละ 100 โดยน้ำหนักด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสารที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที โดยให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส จนสารทั้งหมดละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

3.6.8.3 เตรียมสารผสมระหว่างวัฏภาคน้ำมัน และน้ำ โดยนำสารละลายจากการเตรียมวัฏภาคน้ำเทใส่ลงในวัฏภาคน้ำมัน จากนั้นปั่นกวนต่อด้วยเครื่องกวนสารเป็นระยะเวลา 5 นาที ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที โดยให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส จนสารทั้งหมดละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

3.6.8.4 ลดขนาดอนุภาคด้วยการปั่นกวนด้วยความเร็วสูง โดยนำสารละลายดังกล่าวมาลดขนาดอนุภาคด้วยคลื่นเหนือเสียง (Ultrasonication) ด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบโพรบ (Ultrasonicate probe) โดยใช้พลังงานที่ 40 วัตต์ แอมป์จูดร้อยละ 30 (30% Amp) ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายที่ได้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และมีขนาดอนุภาคนาโนตามที่ต้องการ จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง สังเกตการแยกชั้นโดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขนาดอนุภาคที่ละลายตัวแปร ได้แก่ สัดส่วนปริมาณไขมันเหลว (น้ำมันรำข้าว) ที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 โดยน้ำหนัก (w/w) ปริมาณสารลดแรงตึงผิว หรือสารก่ออิมัลชันที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนัก (w/w) และปริมาณสารสกัดข้าวหมากที่ร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก (w/w)

3.6.8.5 ทดสอบความคงตัวของอนุภาคนาโนกักเก็บสารสกัดจากข้าวที่มีความเสถียร โดยมีลักษณะคงตัว ไม่แยกชั้น และไม่เปลี่ยนแปลงสีภายหลังทิ้งสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้อง และในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70% RH (Accelerated stability condition; Temp 45[°]c, Humidity 70% RH) เป็นเวลา 1 เดือน

3.6.8.6 วัดขนาดอนุภาคนาโนไขมัน และการกระจายขนาดอนุภาค ดัดแปลงวิธีจาก Souto, Wissing, Barbosa & Müller (2004) โดยนำอนุภาคไขมันขนาดนาโนเมตร 50 ไมโครลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำปราศจากประจุ 950 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวอนุภาค ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาขนาด และประจุนอนุภาคชนิดสับไมครอน (NanoSizer)

โดยการสุ่มจากตัวอย่างเดียวกัน 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย ด้วยเทคนิคการกระเจิงของแสง (ดี แอลเอส) (Dynamic light scattering: DLS)

3.6.9 การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์นาโนเซรัม

การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมที่ใช้ออนุภาคนาโนกักเก็บสารสกัดจากข้าว เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญ โดยการศึกษาเปรียบเทียบสูตรต้นแบบ 2 สูตรที่มีส่วนผสมที่แตกต่างกัน ทำการกวนส่วนผสมทั้งหมดด้วยเครื่องโฮโมจีไนส์เซอร์ความเร็วสูง (High speed homogenizer) ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีประมาณ 10 นาที หรือร่อนขึ้นเนื้อเป็นครีม นำไปวัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดค่าความหนืดแบบราง (Bostwick consistometer) (USDA, 2008) จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพของนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี ดังนี้

3.6.9.1 ตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพหลังทิ้งเซรัมไว้เป็นเวลา 3 เดือน ในสภาวะเร่ง (Accelerated stability condition) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ (Humidity) 75 %RH และสภาวะปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะปรากฏของเนื้อเซรัม เช่น สี การตกตะกอน และพิจารณาการแยกชั้นชั้นที่กผลทุกเดือน

3.6.9.2 ตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านเคมี ได้แก่ วัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) โดยนำตัวอย่างเซรัมไปกระจายตัวในน้ำกลั่น อัตราส่วนระหว่างเซรัมกับน้ำกลั่นเป็น 1:10 (w/v) แล้ววัดด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) บันทึกผลทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน

3.6.9.3 ตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มอก. 152-2555) ดังนี้

- การปนเปื้อนจุลินทรีย์ USP 41 (Chapter 62)
- การปนเปื้อนโลหะหนัก (In-house method TPT-FS-240TM based on AOAC, 2019; 999.10)

3.6.10 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมาก

ทดสอบการก่อการระคายเคือง (Irritant reaction) ต่อผิวหนังแก่อาสาสมัคร โดยนำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากในตำรับสูตรที่ดีที่สุด มาทดสอบการก่อการระคายเคืองซึ่งเป็นการทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดีโดยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (Closed patch test under occlusion) โดยมีขั้นตอนดังนี้ (Mahdavi, Kermani, Faghihi, Asilian, Hamishehker & Jamshidi, 2006)

3.6.10.1 ทำการคัดเลือกอาสาสมัครเพื่อการวิจัยซึ่งจำนวนอาสาสมัครที่แนวทางจริยธรรมการทำวิจัยในคนในประเทศไทย พ.ศ. 2550 ระบุไว้ไม่ควรเกิน 30 คน โดยการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (Closed patch test under occlusion) เพื่อการทดสอบสารที่ไม่ใช่สารทดสอบมาตรฐานต้องทำการทดสอบ อย่างต่ำ 10 คน จึงจะสามารถแปลผลได้ (วรั้มพา สุวรรณรัตน์, 2554) สำหรับงานวิจัยนี้เลือกใช้อาสาสมัครเป็นปกติที่มีสุขภาพดีจำนวน 22 คน โดยเลือกตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive sampling)

การกำหนดเกณฑ์การคัดอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria) คือ เป็นเพศหญิง อายุระหว่าง 25 - 55 ปี จำนวน 22 คน มีสุขภาพแข็งแรง และกำหนดเกณฑ์การไม่รับอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Exclusion criteria) คือ มีโรคประจำตัว หรือมีประวัติเป็นโรคหัวใจ

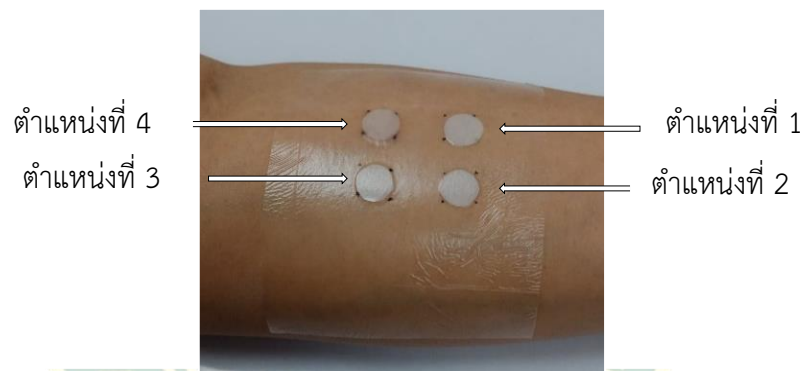
โรคตับ โรคไต โรคเบาหวาน โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคแพ้ภูมิตัวเอง มีประวัติแพ้ยาสมุนไพร มีผิวแพ้ง่าย สำหรับผู้ที่ได้รับยา เช่น ยาแก้แพ้ ยาทาสดียรอยด์ ยากดภูมิคุ้มกันที่ไม่สามารถหยุดยาได้อย่างน้อย 14 วัน บริเวณที่ทำการทดสอบมีลักษณะกึ่งขวาง เช่น แผลเป็น รอยสัก ผื่น รอยโรค ผู้ที่มีโรคผิวหนังติดเชื้อ หรือโรคผิวหนังอื่น ๆ และถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่ตั้งครรภ์หรือวางแผนที่จะตั้งครรภ์ และไม่อยู่ในระหว่างให้นมบุตร ผู้ที่มีการใช้ยาที่มีผลต่อปฏิกิริยาของผิวหนัง ผู้ที่มีประวัติความไวต่อเครื่องสำอาง ผู้ที่ใช้ยาแก้แพ้ (Anti-histamine) หรือยาแก้อักเสบ (Anti-inflammatory) ในช่วง 2 สัปดาห์ที่ผ่านมา และผู้ที่มีประวัติอาการแพ้แผ่นฟิล์มใสติดกันน้ำ (3M Tegaderm® film) หมายเหตุ: ทราบจากการกรอกประวัติเบื้องต้นของอาสาสมัครด้วยวิธีสัมภาษณ์โดยผู้วิจัย โดยอาสาสมัครทุกรายได้รับการชี้แจง รายละเอียดโครงการวิจัยจากเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Participant information sheet) พร้อมอธิบายวิธีการศึกษา และวัตถุประสงค์สำหรับการวิจัยและแสดงความยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent form) ครั้งนี้โดยการลงนามก่อนเริ่มการทดสอบด้วยความสมัครใจ

เกณฑ์การให้อาสาสมัครออกจากการศึกษาวิจัย (Discontinuation criteria) คือ มีอาการแพ้รุนแรง เช่น มีผื่นแดงกระจายทั่วบริเวณทดสอบ อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตาม ข้อกำหนดของงานวิจัย อาสาสมัครปฏิเสธการเข้าร่วมงานวิจัยต่อไป และไม่สามารถติดต่ออาสาสมัครได้ หรืออาสาสมัคร ไม่มาตามนัดการติดตามผลการวิจัย (วราภรณ์ ไตรยสุทธิ อรุณพร อธิรัตน์ พัลลภจักรวิทย์ธำรง และภุริทัต กนกกังสดาล, 2559)

3.6.10.2 ทำการทดสอบเพื่อดูการก่อการระคายเคืองการต่อผิวหนังโดยใช้วิธี Close Patch Test บริเวณท้องแขนด้านในของอาสาสมัคร โดยเมื่อทำการตรวจสอบผิวหนังบริเวณท้องแขนด้านในว่าเป็นปกติดี แล้วจะทำการเช็ดบริเวณดังกล่าวให้สะอาดด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 แล้วปล่อยให้แห้งเอง โดยกำหนดบริเวณที่ต้องการทดสอบด้วยปากกาเขียนผิวหนัง (Skin marker) แล้วทาสารที่ต้องการทดสอบปริมาณ 2 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร บนผิวหนังบริเวณท้องแขนด้านซ้ายที่ทำความสะอาดแล้ว โดยสารที่ทดสอบมี 4 ตัวอย่างได้แก่ น้ำกลั่นเป็นสารควบคุมลบ (Negative control) กำหนดให้เป็นตำแหน่งที่ 1 สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) (ร้อยละ 3) เป็นสารควบคุมบวก (Positive control) (Aramaki, Kawana, Effendy, Happle & Löffler, 2002) กำหนดให้เป็นตำแหน่งที่ 2 เบสเซอร์ม กำหนดให้เป็นตำแหน่งที่ 3 และผลิตภัณฑ์นาโนเซอร์มสารสกัดข้าวหมากกำหนดให้เป็นตำแหน่งที่ 4 จากนั้นปิดทับด้วยกระดาษกรองซึ่งไม่ก่อให้เกิดการแพ้โดยทำให้เกิดการบวม แดง ผื่น บริเวณที่ทาแล้วปิดทับด้วยเทปปิดแผลชนิดไม่ก่อให้เกิดการแพ้จากแผ่นฟิล์มใสติดกันน้ำ (3M Tegaderm® film) ดังภาพที่ 30 ที่งไว้จนครบ 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้แกะแผ่นทดสอบออก รอประมาณ 15 นาทีให้แห้งระเหยและลดปฏิกิริยาระคายจากเทป แล้วแปลผลที่ระยะเวลา 30 นาที 4 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง และ 96 ชั่วโมง โดยแปลผลจากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านผิวหนัง ซึ่งในระหว่างที่อยู่ในระหว่างการทดสอบไม่ให้ผิวที่ทดสอบถูกน้ำ ถ้าหากอาสาสมัครมีอาการระคายเคือง บวม หรือ แดงอย่างรุนแรงให้รีบแกะแผ่นทดสอบออกแล้วล้างตามด้วยน้ำเปล่าทันที (Kanto et al., 2013; เอกพล ลีพิมพ์ษา นภักดิ์ ใจภักดี และศิริรัตน์ ดีศีลธรรม, 2014)



ภาพที่ 30 การทดสอบเพื่อดูการก่อการระคายเคืองการต่อผิวหนังโดยใช้วิธี Close Patch Test



ภาพที่ 31 ตำแหน่งของสารทดสอบบริเวณท้องแขนด้านในของอาสาสมัคร

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการยื่นขอเพื่อรับการพิจารณาและการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

3.6.10.3 เมื่อครบกำหนด สังเกตการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังหลังจากเปิดแผ่นทดสอบบันทึกผลการระคายเคือง ซึ่งอ่านและแปลผลตามมาตรฐานของ International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การแปลผลตามมาตรฐานของ International Contact Dermatitis Research Group แบ่งตามระดับความรุนแรงในการเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังจากน้อยไปมาก

ระดับความรุนแรง	การแปลผล
- (0)	ไม่เกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ผิวหนัง (ผิวหนังปกติ)
?+	ผลบวกไม่ชัดเจน (doubtful) คือมีรอยแดงจางๆ น้อยมาก
+	ผลบวกอย่างอ่อน (weak reaction) คือ มีผื่นรอยแดง เริ่มมีการพอง หรือพองจนเห็นได้ชัดเจน แต่ไม่มีตุ่มน้ำ
++	ผลบวกอย่างแรง (strong reaction) คือ มีผื่นรอยแดง เริ่มมีการพอง หรือพองจนเห็นได้ชัดเจน มีตุ่มใสขนาดเล็ก
+++	ผลบวกอย่างรุนแรง (extreme reaction) คือ มีผื่นรอยแดงอย่างเด่นชัด หรือพองจนเห็นได้ชัดเจน มีตุ่มน้ำใสขนาดใหญ่ หรือเป็นแผล
IR	ปฏิกิริยาจากการทำให้ระคายเคือง ลักษณะของผิวหนังจะเกิดผื่นแพ้สัมผัสที่มีอาการเกิดขึ้นที่ผิวหนังอย่างหลากหลาย เช่น เกิดเม็ดพุพอง และเนื้อเยื่อมีการตายเฉพาะส่วน

ที่มา : Johansen et al. (2015)

นำผลมาคิดค่าดัชนีการระคายเคือง (Mean Irritation Index--M.I.I) พร้อมทั้ง ประเมินผลจากการคำนวณวิเคราะห์ผลโดยใช้ความถี่ และจำนวนในการวิเคราะห์อุบัติการณ์การก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังจากสมการที่ 7 ดังนี้ (An et al., 2013)

$$M.I.I = \frac{\text{ผลรวมคะแนนทั้งหมด (ผื่นแดง + อาการบวมน้ำ)}}{\text{จำนวนอาสาสมัครทั้งหมดที่ทดสอบ}} \dots\dots\dots(7)$$

โดยคะแนนในสูตร (ผื่นแดง + อาการบวมน้ำ) เทียบจาก Clinical Examination and Scoring ตามตารางที่ 4 จากนั้นนำค่าดัชนีการระคายเคืองประเมินการระคายเคือง (Evaluation of primary skin irritation index) ตามตารางที่ 5

ตารางที่ 4 คะแนนการทดสอบการระคายเคือง

คะแนน	การแปลผล	การมีผื่นแดง (Erythema; E)	การบวมน้ำ/การพอง (Oedema; OE)
-: 0	ไม่เกิดปฏิกิริยา (Absence)	ไม่มีผื่นแดง	ไม่มีการพอง
-/+: 0.5	ผลบวกไม่ชัดเจน (Doubtful)	รอยผื่นแดงจาง ๆ น้อยมาก (อาจมีสีชมพูบางส่วนที่สังเกตเห็นหรือไม่เห็น หรือพบบางส่วนในพื้นที่)	-
+: 1	ผลบวกอย่างอ่อน (Slight)	ผื่นแดงเล็กน้อย (อาจมีสีชมพูที่เห็นได้ชัดเจน หรือพบบางส่วนในพื้นที่)	มีการบวมเล็กน้อย (เริ่มมีการพอง หรือตุ่มใส)
++: 2	ผลบวกรุนแรง (Moderate)	ผื่นแดงชัดเจน (ผื่นแดงครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมด)	ผื่นแดงชัดเจน มีการพอง อาจมี หรือไม่มีตุ่มใส
+++: 3	ผลบวกรุนแรงมาก (Severe)	ผื่นแดงรุนแรง (ผื่นแดงครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมด และขยายออกนอกพื้นที่ทดสอบ)	มีการพองจนเห็นได้ชัดเจน (ขยายออกนอกพื้นที่ทดสอบ มีตุ่มน้ำใส)

ที่มา : Hemmati, Ghasemzadeh, Haji Malek-kheili, Khoshnevisan & Koohi (2016)

ตารางที่ 5 เกณฑ์การประเมินการระคายเคือง

ระดับการระคายเคือง	คะแนนการประเมิน (M.I.I)
ไม่ระคายเคือง / ไม่เกิดปฏิกิริยา (Non Irritant; NI)	M.I.I=0.0
ไม่ระคายเคือง (Non Irritant; NI)	M.I.I<0.20
ระคายเคืองเล็กน้อย (Slightly Irritating; SI)	0.20≤M.I.I<0.50
ระคายเคืองปานกลาง (Moderate Irritating; MI)	0.50≤M.I.I<1
ระคายเคืองรุนแรง (Irritating; I)	M.I.I≥1

ที่มา : Hemmati, Ghasemzadeh, Haji Malek-kheili, Khoshnevisan & Koohi (2016)

3.6.11 การทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมาก

3.6.11.1 ใช้แบบสอบถาม (Questionnaire) เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลของผลิตภัณฑ์เป็นแบบสอบถามความคิดเห็นที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากของข้าวมี่สี ซึ่งเป็นแบบสอบถามที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นเอง และมีผู้ทรงคุณวุฒิในการประเมินแบบสอบถามของเครื่องมือวิจัยนี้ โดยให้อาสาสมัครที่ผ่านการทดสอบการระคายเคืองระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่

ผิวหนังคือเพศหญิงกลุ่มที่อายุ 25-55 ปีโดยดูลักษณะของผลิตภัณฑ์ ตมกลั่น จากนั้นทำความสะอาดผิวบริเวณหลังมือแล้วเช็ดให้แห้ง แล้วนำนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากหยดลง 1 หยด จากนั้นทาบาง ๆ ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที และกรอกข้อมูลลงในแบบสอบถามตามความเป็นจริงของตนเองมากที่สุดซึ่งแบ่งเป็นความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านกายภาพ ได้แก่ สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ และลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์ ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านการใช้งาน ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ง่าย ผลิตภัณฑ์ที่ซึ่มง่ายสูผิว ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา และผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านประสิทธิภาพ ได้แก่ รู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้ รู้สึกผิวนุ่มขึ้นหลังการใช้ และความพึงพอใจโดยรวม โดยลักษณะของแบบสอบถามเป็นแบบประมาณค่า (Rating scale) ชนิด 5 อันดับ (ระดับความพึงพอใจ น้อยที่สุด = 1 คะแนน, มากที่สุด = 5 คะแนน) และมีการกำหนดเกณฑ์ในการแปลความหมายของค่าเฉลี่ย

การศึกษานี้ได้ทำการยื่นขอเพื่อรับการพิจารณาและการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

3.6.11.2 ทดสอบหาค่าความเที่ยงตรงของแบบสอบถาม ผู้วิจัยนำแบบสอบถามที่สร้างเรียบร้อยแล้วเสนอต่อผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 5 ท่าน เพื่อพิจารณาตรวจสอบวิเคราะห์หาค่าความเที่ยงตรง แล้วนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ดังสมการที่ 8 ทั้งนี้ผู้วิจัยเลือกข้อคำถามที่มีค่าดัชนีความสอดคล้อง (Index of item-objective congruence : IOC) ตั้งแต่ 0.5 มาใช้เป็นข้อคำถามความพึงพอใจต่อไป

วิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)

$$IOC = \frac{\sum R}{N} \dots\dots\dots(8)$$

เมื่อ IOC = ดัชนีความสอดคล้องระหว่างข้อคำถามกับลักษณะพฤติกรรม

$\sum R$ = ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญด้านเนื้อหาทั้งหมด

N = จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

3.6.11.3 การทดสอบความเชื่อมั่น ผู้วิจัยนำแบบสอบถามความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ไปเก็บข้อมูลจริงกับกลุ่มทดลองที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับกลุ่มตัวอย่าง จากนั้นได้นำผลมาวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามโดยหาสัมประสิทธิ์แอลฟา (α - Coefficient) ตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach) ดังสมการที่ 9 ได้ค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจทั้งหมดมากกว่า 0.81 นำเอาแบบสอบถามนี้ไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยต่อไป

จากสูตรการคำนวณ

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_i^2}{s_t^2} \right\} \dots\dots\dots(9)$$

เมื่อ

α	คือ	ค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม
n	คือ	จำนวนข้อของแบบสอบถาม
S_i^2	คือ	ความแปรปรวนของแบบสอบถามรายข้อ
S_t^2	คือ	ความแปรปรวนของแบบสอบถามทั้งฉบับ

3.6.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในงานวิจัยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ผลการวิเคราะห์แสดงในรูปค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วย one-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test (DMRT) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ศึกษาด้วย Student's t-test ที่ระดับระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาจากการทดลอง 3 ซ้ำ ส่วนการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์และความพึงพอใจในการอบรม ให้คะแนนด้วยวิธี Rating Scale สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ ความถี่และค่าเฉลี่ย

3.6.13 การถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชน

โดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมาก ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ไปถ่ายทอดความรู้และอบรมเชิงปฏิบัติการให้แก่ผู้สนใจจำนวน 25 คน โดยนำไปพัฒนาชุดฝึกอบรมปฏิบัติการ ประกอบด้วย 3 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรมที่ได้จากการวิเคราะห์เนื้อหาในเอกสารงานวิจัยเรื่องการพัฒนาโนเชรม์บำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี

ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ

ส่วนที่ 3 แบบทดสอบความรู้ และแบบประเมินความพึงพอใจหลังอบรม

ทั้งนี้การพิจารณาเอกสารอบรมทั้งสามส่วน มีค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา ประเมินดัชนีความสอดคล้องโดยผู้ทรงคุณวุฒิทั้ง 5 ท่าน มีค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) มากกว่า 0.05 ขึ้นไป จึงนำไปจัดอบรมเพื่อเผยแพร่ความรู้ เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากซึ่งมีวิธีการดำเนินงานดังนี้

วิธีดำเนินการ

1. เสนอโครงการเพื่ออนุมัติโครงการ
2. จัดเตรียมเอกสารที่ใช้ในการอบรมเชิงปฏิบัติการ
3. ประชาสัมพันธ์โครงการและประสานงานทางชุมชนเพื่อถ่ายทอดนวัตกรรม
4. ดำเนินการอบรมเชิงปฏิบัติการโดยใช้ชุดอบรมทั้ง 3 ส่วน
5. จัดอบรมเชิงปฏิบัติการจำนวน 1 ครั้ง ใช้เวลาในการอบรม 1 วัน

6. จัดกิจกรรมอบรมเชิงปฏิบัติการ โดยดำเนินการทดสอบความรู้ก่อนและหลังอบรม มีการบรรยายเกี่ยวกับเรื่องข้าวหมากในเชิงวิทยาศาสตร์ และบรรยายผลการวิจัยเรื่อง การพัฒนาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี การทำปฏิบัติการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมาก การอภิปรายผล ชักถาม และจัดทำแบบประเมินความพึงพอใจในการอบรม

7. สรุปการดำเนินงานและประเมินผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

การสร้างเครื่องมือวัดผลการอบรม

1. แบบทดสอบความรู้ก่อนและหลังการจัดอบรม

1.1 ผู้วิจัยศึกษาเอกสารและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องในการสร้างแบบทดสอบความรู้ที่ครอบคลุมถึงศึกษาวัตถุประสงค์การเรียนรู้และเนื้อหา เพื่อพิจารณาแบบทดสอบรายข้อกับวัตถุประสงค์ให้ครอบคลุม ผู้วิจัยสร้างแบบทดสอบชนิดปรนัย 4 ตัวเลือก (Multiple Choice) จำนวน 20 ข้อ

1.2 ผู้วิจัยนำแบบทดสอบความรู้ เสนอต่อผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 ท่าน เพื่อพิจารณาความสอดคล้องแบบทดสอบรายข้อกับวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา จากนั้นนำผลการพิจารณาจากเกณฑ์การให้คะแนนมาวิเคราะห์หาค่าดัชนีความสอดคล้องดังสมการที่ 10 โดยเลือกข้อสอบที่มีค่า IOC ตั้งแต่ 0.6 ขึ้นไป (ราตรี นันทสุนทร, 2554) ซึ่งการวิเคราะห์ผล ควรมีค่า IOC ตั้งแต่ 0.66 – 1.00 ซึ่งถือได้ว่าแบบทดสอบมีคุณภาพด้านความตรงเชิงเนื้อหาทุกข้อ โดยผู้วิจัยเลือกข้อสอบไว้จำนวน 20 ข้อ จากนั้นนำแบบทดสอบความรู้ไปทดลองใช้กับกลุ่มเป้าหมาย แล้วนำผลมาวิเคราะห์หาคุณภาพของแบบทดสอบต่อไป โดยแบบทดสอบมีเกณฑ์การให้คะแนนเพื่อหาค่า IOC ของผู้เชี่ยวชาญกำหนดเป็น 3 ระดับ ดังนี้

+1 หมายถึง แน่ใจว่า แบบทดสอบวัดตรงตามวัตถุประสงค์หรือตรงตามเนื้อหา

0 หมายถึง ไม่แน่ใจว่า แบบทดสอบวัดตรงตามวัตถุประสงค์หรือตรงตามเนื้อหา

-1 หมายถึง แน่ใจว่า แบบทดสอบไม่ได้วัดตรงตามวัตถุประสงค์หรือตรงตามเนื้อหา
วิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)

$$IOC = \frac{\sum R}{N} \dots\dots\dots(10)$$

เมื่อ IOC = ดัชนีความสอดคล้องระหว่างข้อคำถามกับลักษณะพฤติกรรม

$\sum R$ = ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญด้านเนื้อหาทั้งหมด

N = จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

ซึ่งเกณฑ์การแปลความหมายดัชนีความสอดคล้อง มีดังนี้

0.50 ถึง 1.00 หมายถึง สอดคล้อง

-0.50 ถึง 0.49 หมายถึง ไม่แน่ใจ

-1.00 ถึง -0.49 หมายถึง ไม่สอดคล้อง

1.3 วิเคราะห์หาคุณภาพแบบทดสอบความรู้ นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ หาค่าความยากง่าย (P) ดังสมการที่ 11 ผู้วิจัยคัดเลือกข้อสอบที่มีความยากง่ายตั้งแต่ 0.20 - 0.80 และค่าอำนาจจำแนก (R) ตั้งแต่ 0.20 ขึ้นไป ดังสมการที่ 12 (มนต์ชัย เทียนทอง, 2545) โดยผู้วิจัยจะคัดเลือกข้อสอบที่ได้เกณฑ์ตามมาตรฐานไว้จำนวนทั้งหมด 20 ข้อ

วิเคราะห์ค่าความยากง่าย

$$P = \frac{R}{N} \dots\dots\dots(11)$$

เมื่อ P = ความยากง่ายของแบบทดสอบ

R = จำนวนผู้อบรมที่ตอบข้อคำถามข้อนั้นถูกต้อง

N = จำนวนผู้อบรมทั้งหมด

โดยขอบเขตค่าของความยากง่ายและความหมายมีดังนี้

0.81-1.00 หมายถึง เป็นข้อสอบที่ง่ายมาก

0.61-0.80 หมายถึง เป็นข้อสอบที่ค่อนข้างง่าย

0.41-0.60 หมายถึง เป็นข้อสอบที่ยากง่ายพอเหมาะ

0.21-0.40 หมายถึง เป็นข้อสอบที่ค่อนข้างยาก

0.00-0.20 หมายถึง เป็นข้อสอบที่ยากมาก

วิเคราะห์ค่าอำนาจจำแนก

$$R = \frac{R_U - R_L}{N/2} \dots\dots\dots(12)$$

เมื่อ R = ค่าอำนาจจำแนก

R_U = จำนวนผู้ที่อยู่ในกลุ่มสูงที่ทำแบบทดสอบนั้น ๆ ถูก

R_L = จำนวนผู้ที่อยู่ในกลุ่มต่ำที่ทำแบบทดสอบนั้น ๆ ถูก

N = จำนวนผู้อบรมทั้งหมด

ซึ่งระดับของอำนาจจำแนกสำหรับแบบทดสอบมีดังนี้

R > .40 หมายถึง ดีมาก

R .30 - .39 หมายถึง ดี

R .20 - .29 หมายถึง พอใช้ได้

R < .19 หมายถึง ไม่ดี

ดังนั้นค่าอำนาจจำแนกที่ยอมรับได้คือตั้งแต่ 0.20 ขึ้นไป

1.4 ผู้วิจัยนำแบบทดสอบความรู้ไปใช้กับกลุ่มทดลองที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันกับกลุ่มตัวอย่าง เพื่อหาค่าความเชื่อมั่นทั้งฉบับของแบบทดสอบ คำนวณโดยใช้ KR-20 ของคูเดอร์ ริชาร์ดสัน (Kuder Richardson Reliability) ดังสมการที่ 13 และ 14 (มนต์ชัย เทียนทอง, 2545) จัดพิมพ์แบบทดสอบฉบับจริง เพื่อนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างต่อไป

ค่าความเชื่อมั่น

$$rtt = \frac{K}{K-1} \left[\frac{1 - \sum pq}{S^2} \right] \dots\dots\dots(13)$$

เมื่อ rtt = ค่าความเชื่อมั่น

K = จำนวนข้อสอบในแบบทดสอบ

- p = สัดส่วนของผู้ที่ตอบถูก (จำนวนคนที่ทำถูก/จำนวนคนทั้งหมด)
 q = สัดส่วนของผู้ที่ตอบผิด (1-p)
 S^2 = ความแปรปรวนของคะแนนรวมทั้งหมด

โดยที่

$$s^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N} \dots\dots\dots(14)$$

X คือ คะแนนรวม

\bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของคะแนนทั้งหมด

N คือ จำนวนผู้สอบทั้งหมด

โดยที่คุณภาพของแบบทดสอบที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สามารถนำไปใช้เก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัยได้นั้น ควรมีค่าความเชื่อมั่นไม่ต่ำกว่า 0.60 หรือ 60% ขึ้นไป (มนต์ชัย เทียนทอง, 2545)

1.5 การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างคะแนนแบบทดสอบความรู้ก่อนอบรม และหลังอบรม ด้วยค่าทางสถิติ t - test (dependent sample) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ดังสมการที่ 15 ซึ่งเป็นสถิติที่ใช้ในการเปรียบเทียบผลระหว่างคะแนนแบบทดสอบความรู้ก่อนอบรมและหลังอบรมมีดังนี้ (ธีรศักดิ์ อุ่ออารมย์เลิศ, 2549)

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{n \sum D^2 - (\sum D)^2}{n-1}}} \dots\dots\dots(15)$$

เมื่อกำหนดให้

t = แทนอัตราส่วนวิกฤติ

D = แทนความแตกต่างคะแนนของแต่ละคน

$\sum D$ = แทนผลรวมของคะแนนความต่างของแต่ละคน

n = จำนวนผู้เรียนทั้งหมด

2. แบบสอบถามความพึงพอใจของการอบรม

2.1 ศึกษาการสร้างแบบสอบถามความพึงพอใจจากแนวคิด ทฤษฎีต่าง ๆ และจากเอกสาร งานวิจัยที่เกี่ยวกับประเด็นความพึงพอใจของเข้ารับการอบรมที่มีต่อการจัดกิจกรรม เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการสร้างแบบประเมิน

2.2 กำหนดเนื้อหาของแบบสอบถาม เพื่อนำมาเป็นแนวทางในการสร้างแบบสอบถามความพึงพอใจ ประกอบด้วย ด้านเนื้อหาการเรียนรู้ ด้านการจัดรูปแบบกิจกรรม ด้านสื่อให้ความรู้ ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก และด้านการนำความรู้ไปใช้ประโยชน์ ประกอบด้วยข้อคำถาม 10 ข้อ ซึ่งเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating Scale) แบ่งระดับความพึงพอใจออกเป็น 5 ระดับ คือ มากที่สุด มาก ปานกลาง น้อย น้อยที่สุด จำนวน 1 ฉบับ

2.3 การทดสอบหาค่าความเที่ยงตรงของแบบสอบถาม ผู้วิจัยนำแบบสอบถามที่สร้างเรียบร้อยแล้วเสนอต่อผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 5 ท่าน เพื่อพิจารณาตรวจสอบวิเคราะห์หาค่าความ

เที่ยงตรง แล้วนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ค่า IOC ดังสมการที่ 16 ทั้งนี้ผู้วิจัยเลือกข้อคำถามที่มีค่า IOC ตั้งแต่ 0.5 มาใช้เป็นข้อคำถามความพึงพอใจต่อไป

วิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)

$$IOC = \frac{\Sigma R}{N} \dots\dots\dots(16)$$

เมื่อ IOC = ดัชนีความสอดคล้องระหว่างข้อคำถามกับลักษณะพฤติกรรม

ΣR = ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญด้านเนื้อหาทั้งหมด

N = จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

2.4 การทดสอบความเชื่อมั่น ผู้วิจัยนำแบบสอบถามความพึงพอใจไปเก็บข้อมูลจริงกับกลุ่มทดลองที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับกลุ่มตัวอย่าง จากนั้นได้นำผลมาวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามโดยหาสัมประสิทธิ์แอลฟา (α - Coefficient) ตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach) ดังสมการที่ 17 ได้ค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจทั้งหมดมากกว่า 0.80 นำเอาแบบสอบถามนี้ไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยต่อไป

จากสูตรการคำนวณ

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_i^2}{s_t^2} \right\} \dots\dots\dots(17)$$

เมื่อ

α คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม

n คือ จำนวนข้อของแบบสอบถาม

s_i^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามรายข้อ

s_t^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามทั้งฉบับ

การประเมินความเที่ยงสัมประสิทธิ์แอลฟาได้มีการพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินความเที่ยงสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค ดังนี้ (ศิริชัย กาญจนวาสี, 2554)

ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (α)	การแปลความหมายระดับความเที่ยง
มากกว่า .9	ดีมาก
มากกว่า .8	ดี
มากกว่า .7	พอใช้
มากกว่า .6	ค่อนข้างพอใช้
มากกว่า .5	ต่ำ
น้อยกว่า หรือ เท่ากับ .5	ไม่สามารถรับได้

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างข้าวที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างพันธุ์ข้าวภายในประเทศไทยทั้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่เป็นพันธุ์พื้นเมือง โดยวิธีการสุ่มตัวอย่างอย่างเฉพาะเจาะจงของข้าวกล้องที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีที่ปลูกในแต่ละพื้นที่ของแต่ละภาคของประเทศ ดังตารางที่ 6 ดังนี้

ตารางที่ 6 ตัวอย่างข้าวที่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดแตกต่างกัน

ชนิดของข้าว	พันธุ์ข้าว	สีเยื่อหุ้มเมล็ด	แหล่ง
ข้าวเหนียว	ข้าวลิ้มผิว	ม่วงดำ	ตาก
ข้าวเหนียว	ข้าวคำหมอ	ม่วงดำ	พัทลุง
ข้าวเหนียว	ข้าวดำ	ม่วงดำ	บุรีรัมย์
ข้าวเหนียว	ข้าวกำดอย	ม่วงดำ	พะเยา
ข้าวเหนียว	ข้าวกำ	ม่วงดำ	เชียงราย
ข้าวเหนียว	ข้าวแดง	แดง	เลย
ข้าวเจ้า	ข้าวมะลินิล	ม่วงดำ	สุรินทร์
ข้าวเจ้า	ข้าวหอมนิล	ม่วงดำ	ลพบุรี
ข้าวเจ้า	ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ	ม่วงดำ	อุบลราชธานี
ข้าวเจ้า	ข้าวไรซ์เบอร์รี่	ม่วงดำ	ปทุมธานี
ข้าวเจ้า	ข้าวหอมมะลิดำ	ม่วงดำ	เชียงราย
ข้าวเจ้า	ข้าวสุตบุตร	ม่วงดำ	เชียงราย
ข้าวเจ้า	ข้าวหอมมะลิแดง	แดง	สระบุรี
ข้าวเจ้า	ข้าวสังข์หยด	แดง	พัทลุง
ข้าวเจ้า	ข้าวเนียงกง	แดง	บุรีรัมย์
ข้าวเจ้า	ข้าวทับทิมชุมแพ	แดง	ขอนแก่น

4.2 ผลการสกัดข้าวหมากของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ

ข้าวหมากภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 5 วัน พบว่า เมล็ดข้าวมีลักษณะชุ่มน้ำ ขยายพองตัว และมีน้ำออกมาปริมาณมาก ผลการทดลองดังภาพที่ 32 ซึ่งเมื่อนำไปอบแห้ง และบดให้ละเอียดจะได้ข้าวที่มีลักษณะเป็นผงแห้งที่มีสีที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์ของข้าว ดังภาพที่ 33



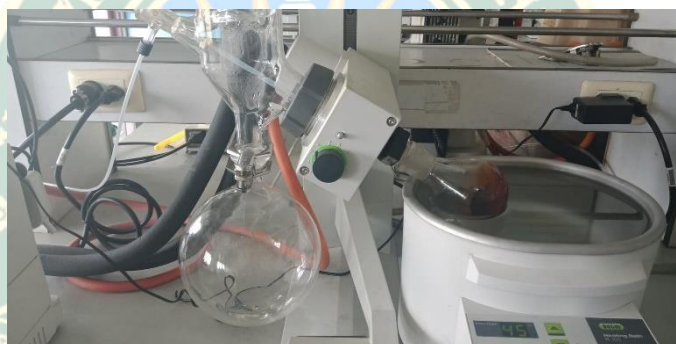
ภาพที่ 32 ข้าวหมากข้าวมีสีสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 33 ลักษณะผงข้าวหมากข้าวมีสีสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

เมื่อนำตัวอย่างข้าวที่บดไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลในเครื่องเขย่าดังภาพที่ 34 ผลที่
 ละเอียดของตัวอย่างข้าวจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับตัวทำละลายมากขึ้น ซึ่งในงานวิจัยใช้ตัวทำ
 ละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในการสกัดสารสำคัญของข้าวหมาก โดยผู้วิจัยได้
 ทำการศึกษาตัวทำละลายที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญบางชนิดของข้าวหมากด้วยตัวทำละลายที่
 แตกต่างกันได้แก่ เอทานอลร้อยละ 80 เอทานอลร้อยละ 95 เมทานอลร้อยละ 80 และเมทานอล
 ร้อยละ 99.99 ที่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของสารสกัดข้าว
 หมากจากข้าวเหนียวดำ ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวดำที่สกัดด้วยเอทานอล
 ร้อยละ 95 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด โดยจากการวิจัยนี้หลังจาก
 ตัวอย่างสกัดด้วยเอทานอล และทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายภายใต้สุญญากาศดังภาพที่

35 พบว่าลักษณะของตัวอย่างที่เป็นสารสกัดหยาบ (Ethanollic crude extract) ของข้าวหมากข้าวมีสีจะมีลักษณะขุ่นเหนียวหนืดค่อนข้างแห้งมีสีเข้มขึ้น และมีกลิ่นแอลกอฮอล์เล็กน้อยดังภาพที่ 36 เมื่อนำมาชั่งเพื่อคำนวณค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ ผลการทดลอง พบว่า ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวหมากข้าวมีสีของข้าวแต่ละสายพันธุ์ภายหลังการหมักข้าวทุกสายพันธุ์มีมากกว่าก่อนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า สารสกัดข้าวในกลุ่มข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำมีปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบมากกว่ากลุ่มข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเล็กน้อยดังตารางที่ 7



ภาพที่ 34 การสกัดตัวอย่างข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ 35 การทำแห้งสารสกัดข้าวด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ



ภาพที่ 36 ข้าวหมากข้าวมีสีก่อนการสกัด (ก) ตัวอย่างสารสกัดหยาบ (ข)

ตารางที่ 7 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก

ตัวอย่างข้าว	ร้อยละผลผลิต (% yield)	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก
ข้าวลิ้มผิว	3.54 ^c ±0.24	18.41 ^d ±0.21*
ข้าวดำหมอ	4.82 ^a ±0.38	20.28 ^a ±0.35*
ข้าวดำ	3.67 ^c ±0.52	19.25 ^b ±0.87*
ข้าวกำดอย	2.92 ^e ±0.21	17.87 ^d ±0.62*
ข้าวกำ	2.95 ^e ±0.63	18.42 ^c ±0.23*
ข้าวแดง	1.96 ^s ±0.78	15.52 ^e ±0.41*
ข้าวมะลินิล	3.87 ^d ±0.65	19.55 ^a ±0.52*
ข้าวหอมนิล	3.64 ^c ±0.32	18.41 ^c ±0.62*
ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ	2.98 ^e ±0.22	19.23 ^b ±0.38*
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	4.02 ^b ±0.54	21.28 ^a ±0.91*
ข้าวหอมมะลิดำ	3.57 ^c ±0.62	18.96 ^c ±0.65*
ข้าวสุตบุตร	2.24 ^f ±0.31	17.48 ^d ±0.68*
ข้าวหอมมะลิแดง	1.97 ^s ±0.22	15.82 ^e ±0.33*
ข้าวสังข์หยด	2.25 ^f ±0.53	15.22 ^e ±0.37*
ข้าวเนียงกง	2.93 ^e ±0.62	16.48 ^d ±0.46*
ข้าวทับทิมชุมแพ	1.98 ^s ±0.64	15.27 ^e ±0.54*

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)
 สัญลักษณ์ * ในแต่ละแถวหมายถึงค่าก่อน และหลังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
 ($p \leq 0.05$)

4.3 ผลการวัดค่าสีของสารสกัดข้าวหมากของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ

จากการวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี (Chroma meter) ค่าพารามิเตอร์ที่ทำการพิจารณา คือ ค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ผลการวัดค่าสี พบว่า ค่าความสว่าง (L*) อยู่ในช่วง 19.65 ± 0.05 - 23.60 ± 0.04 โดยสารสกัดจากข้าวเหนียวลิ้มฝัวมีค่าความสว่างน้อยที่สุดจนเป็นสีคล้ำ ($L^* = 19.65 \pm 0.05$) มีค่าสีแดงมากที่สุด ($a^* = 5.79 \pm 0.00$) มีค่าสีเหลืองน้อยที่สุด ($b^* = 1.41 \pm 0.01$) โดยค่าความสว่างมาก คือ ข้าวสังข์หยด ($L^* = 23.60 \pm 0.04$) นอกจากนั้นค่าสีแดง (a*) ของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี มีค่า a* อยู่ในกลุ่มสีแดงทั้งหมด ส่วนค่าสีเหลือง (b*) ของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี มีค่า b* อยู่ในกลุ่มสีเหลืองทั้งหมด ได้ผลดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาค่าสีของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน

ตัวอย่างสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี	L*	a*	b*
ข้าวลิ้มฝัว	$19.65^b \pm 0.05$	$5.79^a \pm 0.00$	$1.41^c \pm 0.01$
ข้าวดำหอม	$20.76^b \pm 0.78$	$4.04^b \pm 0.71$	$2.77^b \pm 1.12$
ข้าวดำ	$20.81^b \pm 0.06$	$4.17^b \pm 0.06$	$2.56^b \pm 0.03$
ข้าวกำดอย	$21.87^a \pm 0.03$	$4.23^b \pm 0.04$	$3.56^b \pm 0.05$
ข้าวกำ	$21.66^a \pm 0.10$	$4.95^a \pm 0.07$	$3.74^b \pm 0.06$
ข้าวแดง	$22.34^a \pm 0.08$	$3.87^c \pm 0.07$	$5.23^a \pm 0.04$
ข้าวมะลินิล	$21.93^a \pm 0.04$	$4.23^b \pm 0.04$	$3.76^b \pm 0.02$
ข้าวหอมนิล	$21.28^a \pm 0.11$	$4.96^a \pm 0.01$	$3.27^b \pm 0.13$
ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ	$21.37^a \pm 0.06$	$4.21^b \pm 0.04$	$3.94^b \pm 0.01$
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	$21.39^a \pm 0.04$	$4.14^b \pm 0.02$	$3.73^b \pm 0.01$
ข้าวหอมมะลิดำ	$20.28^b \pm 0.02$	$4.14^b \pm 0.08$	$2.78^b \pm 0.05$
ข้าวสุตบุตร	$20.56^b \pm 0.04$	$4.23^b \pm 0.02$	$2.56^b \pm 0.06$
ข้าวหอมมะลิแดง	$22.62^a \pm 0.06$	$3.75^c \pm 0.08$	$5.16^a \pm 0.01$
ข้าวสังข์หยด	$23.60^a \pm 0.04$	$3.60^c \pm 0.17$	$6.24^a \pm 0.10$
ข้าวเนียงกวาง	$23.26^a \pm 0.06$	$3.51^c \pm 0.05$	$6.66^a \pm 0.08$
ข้าวทับทิมชุมแพ	$22.78^a \pm 0.02$	$3.66^c \pm 0.07$	$5.45^a \pm 0.05$

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.4 ผลปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อนและหลังหมักข้าวในสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี

4.4.1 ผลปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานิน จากการวิเคราะห์กลุ่มสารสำคัญก่อน และหลังหมักข้าวในสารสกัดข้าวมีสีซึ่งเป็นการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณ (Quantitative analysis) ของสารสกัด ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดทั้งหมด โดยใช้ Folin-Ciocalteu colorimetric method และรายงานผลเป็น มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างสารสกัด 1 กรัม น้ำหนักแห้ง (mg GAE/g of crude extract) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Aluminum chloride colorimetric assay เทียบกับ กราฟมาตรฐานของรูทีน และรายงานผลเป็นปริมาณมิลลิกรัมสมมูลรูทีนต่อกรัมของตัวอย่างสารสกัด 1 กรัม น้ำหนักแห้ง (mgRE/g crude extract) และปริมาณสารแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน - 3- กลูโคไซด์ โดยใช้วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-differential) ผลการทดลองดังตารางที่ 9

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดทั้งหมดจะใช้สาร Folin-Ciocalteu (F-C reagent) ทำปฏิกิริยากับ สารมาตรฐานของโพลีฟีนอล (จากการทดลองใช้กรดแกลลิก) หรือสารตัวอย่างทดสอบที่ต้องการหา ปริมาณรวมของโพลีฟีนอลจากสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากผลของโพลีฟีนอลที่มีต่อ F-C reagent (Kalaycioğlu & Erim, 2017) โดยจากตารางที่ 9 และภาพที่ 37 ผลการหาปริมาณฟีนอลิก ทั้งหมดของสารสกัดข้าวมีสี พบว่าข้าวหลังการหมักมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าก่อนการหมักใน ทุกตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผลการทดลอง พบว่า ข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ ในช่วง 21.36-45.66 mg GAE /g ส่วนข้าวในกลุ่มสีแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 19.30-21.03 mg GAE /g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 45.66±0.32 mg GAE /g

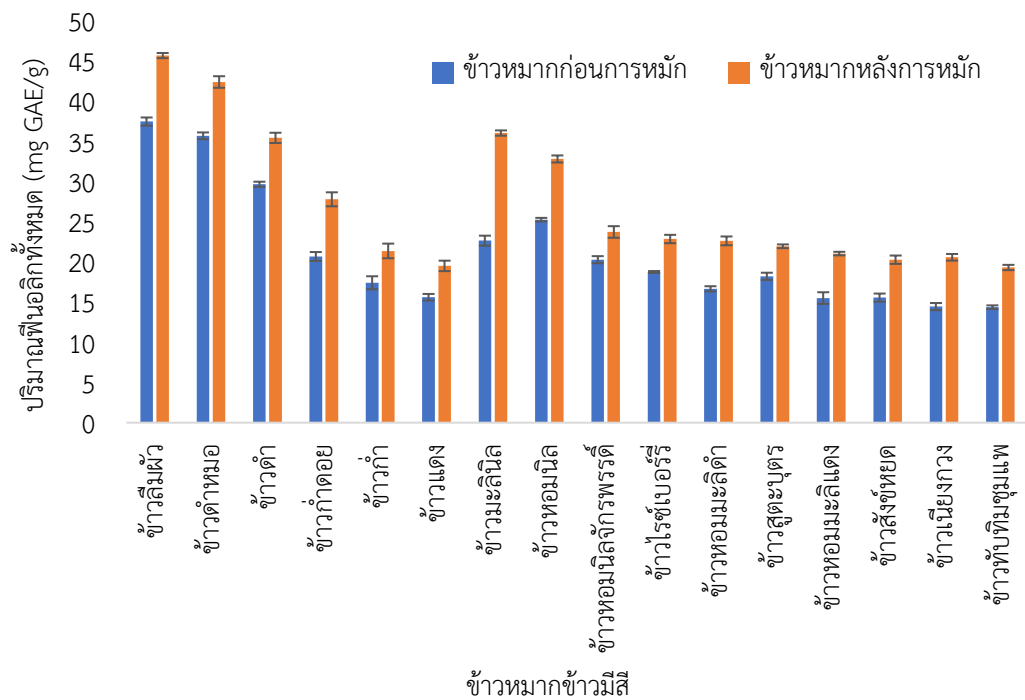
ผลการตรวจสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับการก่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อน aluminium-flavonoid โดยจากผลในตารางที่ 9 และภาพที่ 38 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมดของสารสกัดข้าวมีสี พบว่า ข้าวหลังการหมักมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าก่อนการ หมักในทุกตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมดมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผลการทดลอง พบว่า ข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 16.47-39.35 mgRE/g ส่วนข้าวในกลุ่มสีแดงมีปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมดอยู่ในช่วง 15.30-20.37 mgRE/g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมดสูงสุด 39.35±0.87 mgRE/g

จากตารางที่ 9 และภาพที่ 39 ผลการหาปริมาณแอนโทไซยานินสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี พบว่าข้าวหลังการหมักมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าก่อนการหมักในทุกตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผล การทดลอง พบว่า ข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 1.82-3.37 mg/g ส่วนข้าว ในกลุ่มสีแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 1.32-1.89 mg/g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้ม ฝั้วมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด 3.37±0.04 mg/g

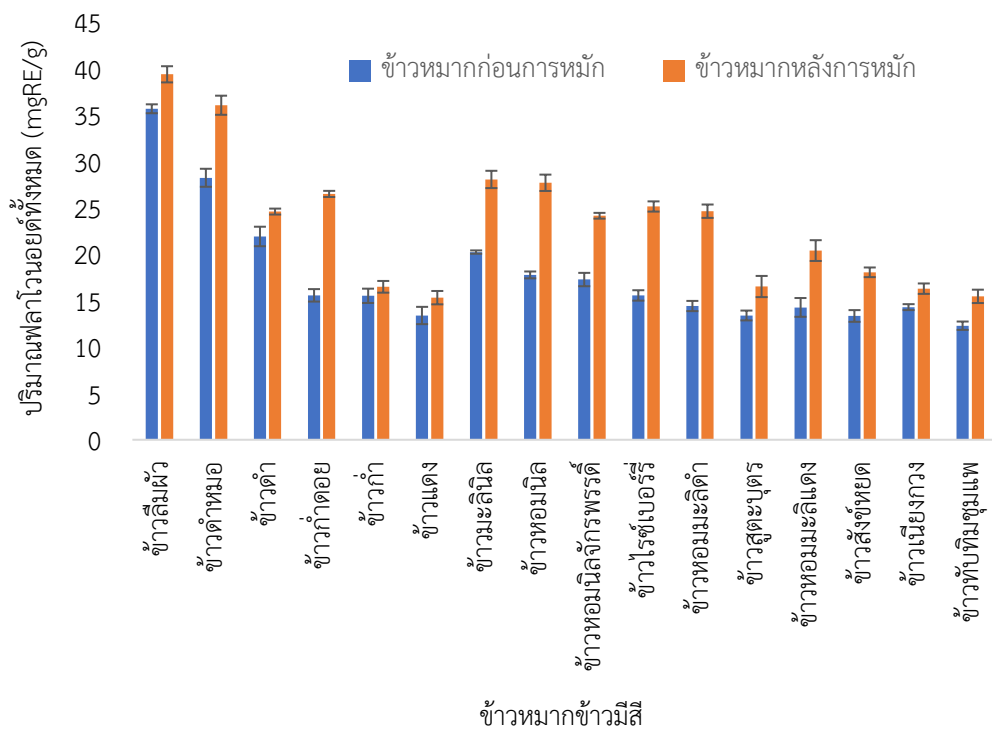
ตารางที่ 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอมโนโทไซยานินของข้าวหมากข้าวมี่สีก่อน และหลังหมัก

ตัวอย่างข้าว	ฟีนอลิก (mg GAE /g)		ฟลาโวนอยด์ (mgRE/g)		แอมโนไซยานิน (mg/g)	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
ข้าวมี่ผิว ^{PB}	37.45±0.51 ^a	45.66±0.32 ^{a*}	35.64±0.48 ^f	39.35±0.87 ^{a*}	2.48±0.15 ^f	3.37±0.04 ^{a*}
ข้าวมี่หอม ^{PB}	35.68±0.42 ^b	42.37±0.72 ^{b*}	28.21±0.97 ^a	36.02±1.03 ^{b*}	2.52±0.08 ^e	3.33±0.18 ^{b*}
ข้าวมี่ดำ ^{PB}	29.65±0.32 ^c	35.42±0.64 ^{d*}	21.89±1.05 ^b	24.57±0.32 ^{g*}	2.64±0.09 ^d	3.31±0.19 ^{c*}
ข้าวมี่ดำคอด ^{PB}	20.67±0.55 ^f	27.78±0.87 ^{**}	15.55±0.67 ^f	26.47±0.33 ^{e*}	2.27±0.03 ⁱ	2.97±0.04 ^{**}
ข้าวมี่ดำ ^{PB}	17.40±0.81 ^l	21.36±0.91 ^{k*}	15.50±0.77 ^g	16.47±0.63 ^k	2.32±0.20 ^h	2.38±0.03 ^{**}
ข้าวมี่แดง ^R	15.60±0.41 ^l	19.50±0.65 ^{o*}	13.38±0.93 ⁱ	15.30±0.72 ^{n*}	1.24±0.07 ⁿ	1.32±0.13 ^{o*}
ข้าวมี่มะลิสี ^{PB}	22.64±0.62 ^e	36.02±0.33 ^{c*}	20.21±0.18 ^c	28.03±0.93 ^{c*}	3.12±0.12 ^a	3.27±0.15 ^{a*}
ข้าวมี่หอมสี ^{PB}	25.25±0.22 ^d	32.80±0.44 ^{e*}	17.75±0.37 ^d	27.67±0.88 ^{d*}	2.87±0.12 ^b	2.88±0.06 ^{g*}
ข้าวมี่หอมสีจักรพรรดิ ^{PB}	20.27±0.44 ^g	23.72±0.72 ^{g*}	17.25±0.72 ^e	24.12±0.31 ^{h*}	2.38±0.23 ^g	2.94±0.21 ^{**}
ข้าวมี่โรเซอริ ^{PB}	18.74±0.12 ^h	22.84±0.52 ^{h*}	15.54±0.56 ^f	25.12±0.55 ^{f*}	2.22±0.22 ⁱ	2.95±0.06 ^{**}
ข้าวมี่หอมมะลิดำ ^{PB}	16.65±0.32 ^k	22.61±0.55 ^{**}	14.40±0.55 ^h	24.61±0.72 ^{g*}	2.51±0.06 ^e	2.63±0.08 ^{h*}
ข้าวมี่สุตบุตร ^{PB}	18.20±0.45 ⁱ	21.94±0.23 ^{h*}	13.38±0.53 ^j	16.50±1.14 ^{k*}	1.57±0.02 ^k	1.82±0.04 ^{**}
ข้าวมี่หอมมะลิแดง ^R	15.50±0.72 ⁿ	21.03±0.22 ^{l*}	14.25±1.01 ^h	20.37±1.12 ^{l*}	1.32±0.08 ^l	1.37±0.06 ^{**}
ข้าวมี่สังข์หยด ^R	15.55±0.51 ^m	20.27±0.52 ^{n*}	13.33±0.63 ^j	18.03±0.52 ^{l*}	1.87±0.08 ^c	2.68±0.11 ^{k*}
ข้าวมี่เนียงขาว ^R	14.44±0.44 ^g	20.57±0.41 ^{m*}	14.28±0.32 ^h	16.27±0.56 ^{l*}	1.26±0.11 ^m	1.45±0.06 ^{m*}
ข้าวมี่ทับทิมชมพู ^R	14.36±0.23 ^p	19.30±0.33 ^{p*}	12.28±0.45 ^j	15.44±0.72 ^{m*}	1.18±0.04 ^o	1.89±0.03 ^{**}

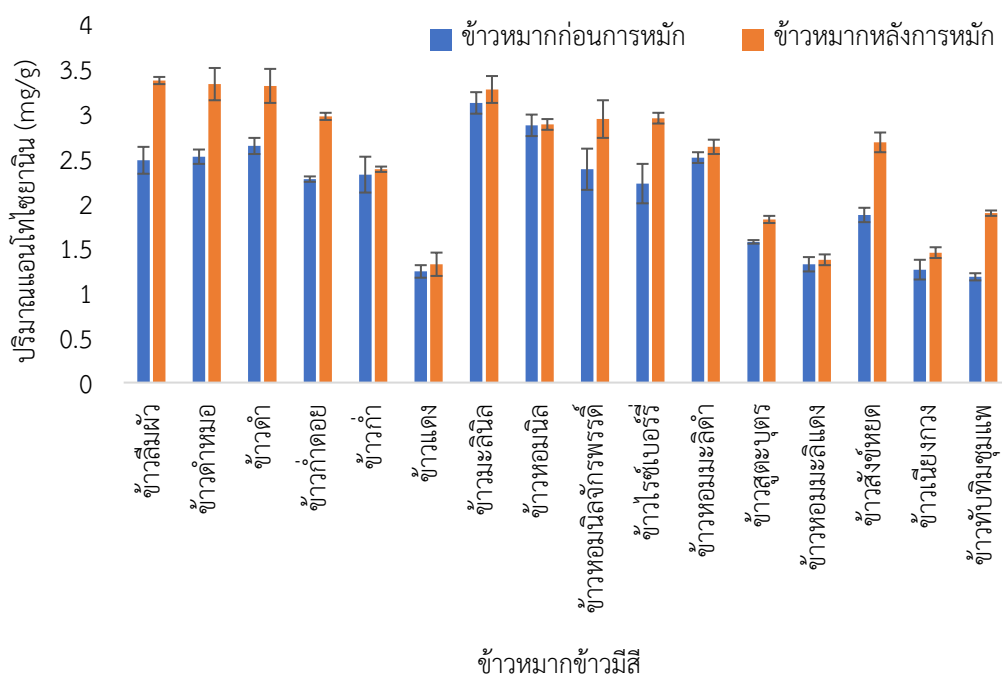
หมายเหตุ : PB หมายถึง กลุ่มข้าวมี่ม่วงดำ; R หมายถึง กลุ่มข้าวมี่สีแดง, อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05), สัญลักษณ์ * ในแถวหมายถึงค่าก่อน และหลังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)



ภาพที่ 37 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก



ภาพที่ 38 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก



ภาพที่ 39 ปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก

4.4.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมักข้าว

จากการตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity รายงานผลเป็นความสามารถต้านออกซิเดชันดีพีพีเอช (DPPH) โดยใช้ค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ หรือ % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 และใช้สาร Butylate hydroxytoluene (BHT) เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนการตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay จะใช้สารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) เป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นมิลลิกรัมของเฟอร์รัส (II) หรือ Fe^{2+} ใน ตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 1 กรัม ($mgFe(II)/g$) และการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase inhibition activity) จะรายงานเป็น % Tyrosinase inhibition (IC_{50}) ผลการทดลอง ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของข้าวหมากข้าวมีสีก่อน และหลังหมัก

ตัวอย่างข้าว	DPPH assay (EC ₅₀) (mg/ml)		FRAP assay (mgFe(II)/g)		IC ₅₀ (mg/ml)	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
ข้าวลิ้มผิว ^{PB}	1.215±0.06 ^k	0.364±0.02 ^{p*}	18.536±0.01 ^e	28.018±0.01 ^{a*}	N/A	N/A
ข้าวดำหอม ^{PB}	1.362±0.01 ^l	0.432±0.03 ^{o*}	22.236±0.02 ^a	16.775±0.04 ^{m*}	N/A	N/A
ข้าวดำ ^{PB}	1.236±0.02 ^j	0.502±0.02 ^{n*}	14.536±0.06 ⁱ	15.997±0.09 ^{s*}	N/A	N/A
ข้าวเก่าดอย ^{PB}	1.563±0.02 ^h	0.858±0.05 [*]	16.988±0.02 ^f	17.343±0.01 ^{e*}	N/A	N/A
ข้าวเก่า ^{PB}	1.362±0.01 ⁱ	0.924±0.02 ^{r*}	11.633±0.02 ^k	14.136±0.05 ^{l*}	N/A	N/A
ข้าวแดง ^R	2.623±0.01 ^b	1.825±0.02 ^{c*}	6.858±0.02 ⁿ	10.582±0.02 ^{m*}	N/A	N/A
ข้าวมะลิชนิด ^{PB}	1.653±0.01 ^s	0.655±0.02 ^{m*}	19.869±0.02 ^c	19.127±0.02 ^{c*}	N/A	N/A
ข้าวหอมชนิด ^{PB}	0.956±0.07 ^m	0.852±0.02 ^{k*}	14.536±0.02 ^l	17.862±0.01 ^{d*}	N/A	N/A
ข้าวหอมชนิดจักรพรรดิ ^{PB}	0.985±0.01 ^l	0.842±0.01 ^{l*}	19.786±0.06 ^d	20.588±0.09 ^{b*}	N/A	N/A
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ^{PB}	0.952±0.01 ⁿ	0.901±0.01 ^{h*}	20.436±0.05 ^b	15.895±0.01 ^{h*}	N/A	N/A
ข้าวหอมมะลิดำ ^{PB}	0.945±0.02 ^e	0.894±0.02 [*]	15.697±0.01 ^s	15.424±0.02 ^{l*}	N/A	N/A
ข้าวสุตบุตร ^{PB}	2.336±0.01 ^e	1.032±0.01 ^{r*}	15.063±0.05 ^h	15.204±0.09 ^{j*}	N/A	N/A
ข้าวหอมมะลิแดง ^R	2.384±0.01 ^d	1.129±0.01 ^{e*}	9.763±0.05 ^m	14.667±0.02 ^{k*}	N/A	N/A
ข้าวสังข์หยด ^R	2.653±0.01 ^a	1.635±0.02 ^{d*}	12.663±0.02 ^l	10.017±0.06 ^{l*}	N/A	N/A
ข้าวเนียงกวัง ^R	2.269±0.02 ^f	1.963±0.01 ^{b*}	5.368±0.08 ^o	8.497±0.06 ^{o*}	N/A	N/A
ข้าวทับทิมชุมแพ ^R	2.542±0.25 ^c	1.985±0.01 ^{a*}	9.869±0.07 ^l	7.948±0.06 ^{p*}	N/A	N/A

หมายเหตุ : PB หมายถึง กลุ่มข้าวสีม่วงดำ; R หมายถึง กลุ่มข้าวสีแดง, อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05), สัญลักษณ์ * ในแต่ละแถวหมายถึงค่าก่อน และหลังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05), N/A หมายถึง ไม่พบ

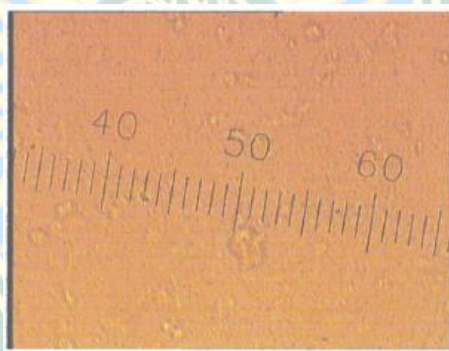
การทดสอบด้วยวิธี DPPH ที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจซึ่งวัดจากความสามารถของตัวอย่างของสารสกัดในการให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนอะตอมกับ DPPH• ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร (Stable free radical) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ (DPPH) การลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ (กิตติพัฒน์ ไสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลยาณู, 2560) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะเปรียบเทียบกับสารละลายต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน BHT ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลประเภทสารสังเคราะห์ (Synthetic antioxidant) และพิจารณาจากค่า EC_{50} ถ้ามีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จากการทดลองการตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากตัวอย่างข้าวหมากข้าวมีสี 16 สายพันธุ์ ผลการทดลอง พบว่า ในกลุ่มข้าวหมากของข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ มีค่า EC_{50} ของสารสกัดในช่วง 0.364-1.032 mg/ml ส่วนกลุ่มข้าวหมากของข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง มีค่า EC_{50} ของสารสกัด ในช่วง 1.129-1.985 mg/ml ซึ่งจากผลการทดลอง แสดงว่า สารสกัดข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีเข้มคือสีม่วงดำจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง โดยค่า EC_{50} ของสารสกัดของข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วจะต่ำที่สุดคือ 0.364 mg/ml ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า EC_{50} ของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน BHT ที่มีค่า EC_{50} 0.239 mg/ml ดังนั้นสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วจึงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดข้าวหมากจากข้าวชนิดอื่น ๆ

นอกจากนั้น พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหลังการหมักในทุกสายพันธุ์มีมากกว่าก่อนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีเฟอราร์เอพี (FRAP) เป็นหลักการของการวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) ซึ่งเป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก โดยในสารละลายเฟอราร์เอพี (FRAP reagent) ประกอบ ด้วยเฟอร์ริก (Fe^{3+}) และ 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสถานะที่เป็นกรดในรูปของ สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} -TPTZ (Ferric tripyridyltriazine) ซึ่งจะถูกรีดิวซ์หรือรับอิเล็กตรอนโดยสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานหรือตัวอย่างสารสกัดแล้วเปลี่ยนเป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก Fe^{2+} -TPTZ (Ferrous tripyridyltriazine) โดยพิจารณาค่าที่ได้ยังมีค่ามากแสดงว่ามีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระสูง (เกสรี กลิ่นสุคนธ์ อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ประภัสสร รักถาวร และลลิตา คชารัตน์, 2559) โดยจากการทดลอง พบว่า ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากหลังการหมักจะมากกว่าข้าวก่อนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และ พบว่า จะมีมากสารสกัดในกลุ่มข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำคือมีค่าอยู่ในช่วง 14.136-28.018 mgFe (II)/g ส่วนสารสกัดกลุ่มข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงมีค่าอยู่ในช่วง 7.948-14.667 mgFe (II)/g โดยสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ 28.018 mgFe(II)/g ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวลิ้มฝั้วมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเมื่อเทียบกับข้าวที่ทำการศึกษาทั้งหมด ซึ่งแม้ว่าข้าวเหนียวลิ้มฝั้วจะมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับวิตามินอีแต่คุณสมบัติดีกว่า เนื่องจากโครงสร้างทำให้เกิดสารออกฤทธิ์ได้ดีกว่า

อย่างไรก็ตามพบว่าไม่พบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในตัวอย่างข้าวหมากทุกตัวอย่างทั้งก่อน และหลังหมัก

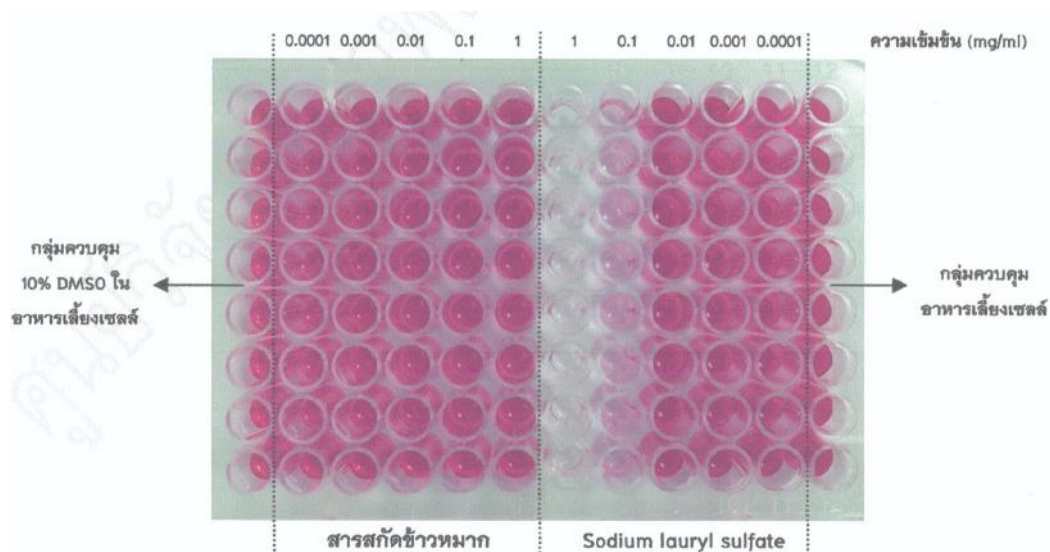
4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสาระสำคัญของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มฝั้วมีปริมาณกลุ่มสาระสำคัญ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวสาลีอื่น ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงนำสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มฝั้วทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ผิวหนังมนุษย์ที่เป็นเซลล์ผิวหนังที่อยู่ในชั้นหนังแท้ ซึ่งใช้เป็นเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงในการทดสอบแทนผิวหนังในชั้นหนังแท้ (Ponec, 1992) (ภาพที่ 40) เนื่องจากต้องนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กับร่างกายจึงต้องมีทดสอบเบื้องต้นว่าสารสกัดดังกล่าวมีผลในระดับเซลล์หรือไม่



ภาพที่ 40 ลักษณะของเซลล์ไฟโบร بلاสต์ผิวหนังของมนุษย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100x)

โดยการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วจะใช้วิธีซัลโฟโดตามีน บี (Sulforhodamine B; SRB) ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายสำหรับการทดสอบเซลล์ที่ได้รับสารพิษ และคำนวณร้อยละของการรอดชีวิตที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกันซึ่งใช้โซเดียมลอริลซัลเฟต (Sodium lauryl sulfate) เป็นสารควบคุมบวก (Positive control) ผลการทดลองดังภาพที่ 41 และตารางที่ 11



ภาพที่ 41 การทดสอบความเป็นพิษของไฟโบร بلاสต์ผิวหนังของมนุษย์ด้วยวิธีการย้อมสี SRB ของสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวในไมโครเวลล์เพลท

จากภาพที่ 41 เป็นทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวที่มีต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ผิวหนังของมนุษย์ที่ตรึงเซลล์ด้วยกรดไตรคลอโรแอสติก (Trichloroacetic acid; TCA) ร้อยละ 40 ในไมโครเวลล์เพลท (96-well plate) จากภาพจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการย้อมด้วยสีย้อม Sulforhodamine B (SRB) ซึ่งเป็นสีอะมิโนแซนทีน (Aminoxanthene dye) ที่สามารถจับกับกรดอะมิโน (Basic amino acid) ของโปรตีนภายในเซลล์ส่วนที่เหลือที่แสดงถึงการรอดชีวิตซึ่งจะให้สีชมพูใส (Bright-pink) ภายใต้สภาวะกรดอ่อน (Vajrabhaya & Korsuwannawong, 2018) ความเข้มของสี SRB แสดงถึงจำนวนเซลล์หรือความหนาแน่นของเซลล์ที่มีชีวิตรอด (Thongdeeying, Kitsiripipat, Ruangnoo, Pibanpaknatee & Itharat, 2017) โดยจากภาพจะเห็นได้ว่าในด้านของสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวยังคงให้สีของ SRB ชัดเจนในทุกความเข้มข้นแสดงว่าเซลล์ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตสูงในทุกความเข้มข้น ส่วนด้านของโซเดียมลอริลซัลเฟตที่เป็นสารควบคุมบวกสีของ SRB เริ่มจางลงที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจางลงมากที่สุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซลล์เริ่มมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำลง

ตารางที่ 11 ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อได้รับตัวอย่างทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ

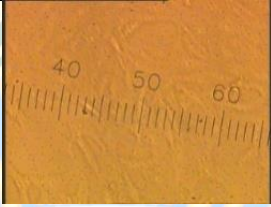
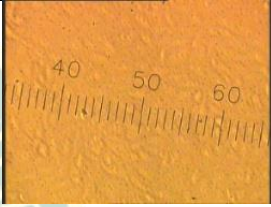

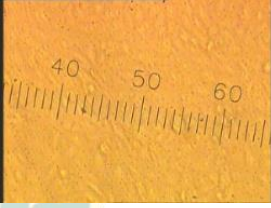
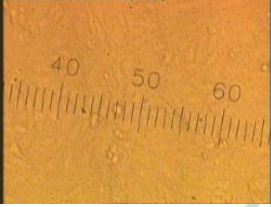
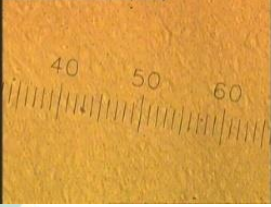
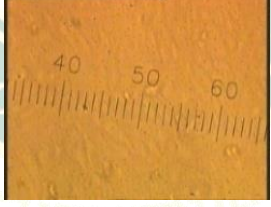
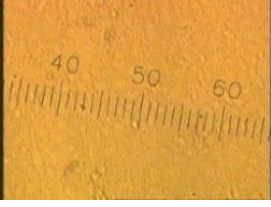
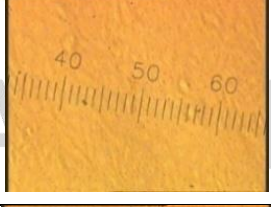
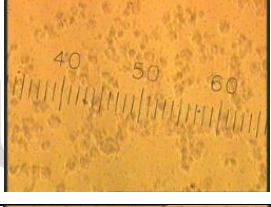
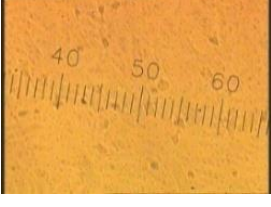
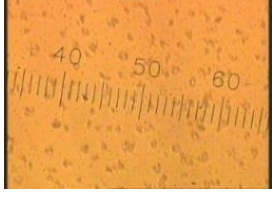
ตัวอย่าง	ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์				
	0.0001 (mg/ml)	0.001 (mg/ml)	0.01 (mg/ml)	0.1 (mg/ml)	1 (mg/ml)
สารสกัดข้าวหมาก ข้าวเหนียวลิ้มผิว	105.17±3.93	105.82±2.69	103.54±2.69	103.49±2.76	102.29±4.42
โซเดียมลอริลซัลเฟต	99.43±2.42	96.06±1.07	94.32±0.89	9.85±1.94	4.91±0.37

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นผลจากการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย±S.D.)

จากผลการทดลองในตารางสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวที่ความเข้มข้น ได้แก่ 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 (mg/ml) มีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ เท่ากับ 105.17 105.82 103.54 103.49 และ 102.29 ตามลำดับ โดยทุกความเข้มข้นไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของผิวหนังมนุษย์ โดยมีร้อยละการรอดชีวิตอยู่ระหว่างร้อยละ 102.29-105.82 mg/ml ส่วนโซเดียมลอริลซัลเฟต มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ที่ความเข้มข้น ได้แก่ 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 (mg/ml) โดยมีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 99.43 96.06 94.32 9.85 และ 4.91 ตามลำดับ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมลอริลซัลเฟตร้อยละการรอดชีวิตจะต่ำลง

เมื่อนำตัวอย่างเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของผิวหนังมนุษย์ก่อน และหลังได้รับตัวอย่างทดสอบไปศึกษารูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาผลการทดลอง พบว่า ลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ ที่ทดสอบด้วยสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มผิวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รูปร่างไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และมีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมคือสังเกตเห็นลักษณะเซลล์รูปกระสวยซึ่ง เป็นลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์แต่ลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ที่ทดสอบด้วยของโซเดียมลอริลซัลเฟตรูปร่างเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นที่ 0.1 และ 1.0 mg/ml คือ เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายจนทำให้เซลล์มีรูปร่างที่ผิดปกติ ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100X) หลังได้รับตัวอย่างทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (mg/ml)	สารสกัดข้าวหมาก ข้าวเหนียวลิ้มผิว	โซเดียมลอริลซัลเฟต
0 (กลุ่มควบคุม)		
0.0001		
0.001		
0.01		
0.1		
1		

4.6 ผลการพัฒนานาโนเซิร์มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสีที่ดีที่สุด และไม่เป็นพิษต่อเซลล์มาพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100-300 นาโนเมตร โดยทดสอบคุณสมบัติของอนุภาคนาโนได้แก่ ขนาดของอนุภาค (Particle size) จากค่าตัวเลขที่วัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย การกระจายขนาดอนุภาค (Polydispersity Index หรือ PDI) ประจุของอนุภาคหรือศักย์ซีต้า (Zeta potential) และทดสอบความคงตัวของอนุภาคนาโนกักเก็บสารสกัดจากข้าวที่มีความเสถียรโดยไม่แยกชั้นหลังทิ้งสารละลายไว้ในสภาวะเร่ง โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรหรือนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers ; NLCs) และการพัฒนานาโนอนุภาคที่ได้จะต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมบางประการที่จะนำไปพัฒนาต่อเป็นนาโนเซิร์มในขั้นตอนต่อไป โดยคุณลักษณะที่ดีของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้จะต้องเป็นของเหลวที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์สูง มีขนาดของอนุภาคในระดับนาโนเมตรตามที่ต้องการซึ่งปัจจัยที่จะมีผลต่อขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้พบว่ามีปริมาณของสารต่าง ๆ ในสูตรจะต้องมีส่วนที่เหมาะสม

4.6.1 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการแปรผันปริมาณไขมันเหลวได้แก่น้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนักตามลำดับ และทำการทดสอบความคงตัวของอนุภาคนาโนที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งเป็นเวลา 1 เดือน วัดขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาค โดยมีสูตรการเตรียมตามตารางที่ 13 และผลการทดลองดังตารางที่ 14

ตารางที่ 13 สูตรของอนุภาคนาโนไขมันที่ใช้ในการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าว

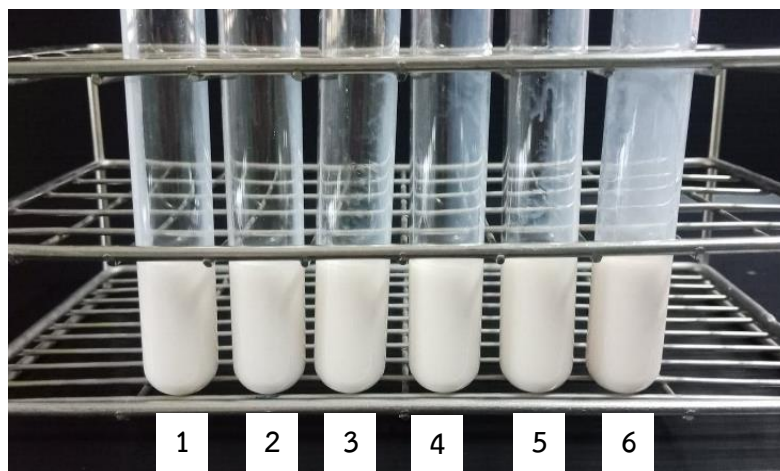
สูตร	ร้อยละ (w/w)							
	น้ำมันรำข้าว	สารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว	Montanov 82	Span 80	Tween 20	transcutol	Poloxamer	Glycerol
1	0	5	1	3	3	2	1	2
2	10	5	1	3	3	2	1	2
3	20	5	1	3	3	2	1	2
4	30	5	1	3	3	2	1	2
5	40	5	1	3	3	2	1	2
6	100	5	1	3	3	2	1	2

ตารางที่ 14 ลักษณะการคงตัวของอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคของอนุภาคนาโนไขมันที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวแตกต่างกัน

สูตร	ร้อยละของน้ำมันรำข้าว	ลักษณะการคงตัว		Z-Average (nm)	Polydispersity (PDI)	Zeta-potential (mV)
		อุณหภูมิห้อง	สภาวะเร่ง			
1	0	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	251.25±21.92 ^a	0.42±0.029	-29.35±2.93
2	10	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	185.52±12.84 ^c	0.36±0.02	-35.53±0.21
3	20	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	176.71±18.91 ^c	0.31±0.03	-32.08±2.13
4	30	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	155.24±13.22 ^c	0.23±0.06	-31.27±0.25
5	40	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	133.01±12.94 ^c	0.21±0.07	-35.45±0.24
6	100	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ำยน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	125.55±15.33 ^b	0.19±0.05	-37.82±0.26

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองจากตารางพบว่าปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0 เป็นระบบ Solid Lipid Nanoparticles หรือ SLN ซึ่งมีขนาดของอนุภาคใหญ่ที่สุด และปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 100 ซึ่งเป็นระบบ NLC ที่มีขนาดอนุภาคเล็กที่สุด โดยเมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาค ของทั้ง 6 สูตรนี้พบว่าขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนักเท่ากับ 251.25, 185.52, 176.71, 155.24, 133.01 และ 125.55 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0 และ 100 โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับขนาดอนุภาคของสูตรอื่น ๆ และขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 10-40 โดยน้ำหนักนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ในการศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือสารก่ออิมัลชันที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักตามลำดับ



หมายเลข 1 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 0
 หมายเลข 2 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 10
 หมายเลข 3 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 20
 หมายเลข 4 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 30
 หมายเลข 5 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 40
 หมายเลข 6 ปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 100

ภาพที่ 42 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวแตกต่างกัน

ส่วนการกระจายขนาดอนุภาคหรือค่า PDI ที่แสดงถึงความสม่ำเสมอของขนาดของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ถ้าค่า PDI มีค่าน้อยแสดงว่าอนุภาคมีขนาดไม่แตกต่างกันมาก ซึ่งจากการทดลองพบว่าในสูตรการเตรียมอนุภาคที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนักมีค่า PDI เท่ากับ 0.42, 0.36, 0.31, 0.23, 0.21 และ 0.19 ตามลำดับ ซึ่งในทุกสูตรพบว่ามีค่าน้อยกว่า 0.5 แสดงว่า ขนาดอนุภาคมีการกระจายในช่วงแคบ นั่นคือมีความสม่ำเสมอ แสดงว่าอนุภาคนาโนที่ได้มีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนค่าศักย์ซีต้าที่เป็นค่าบ่งชี้ความคงตัวของอนุภาคโดยเฉพาะเมื่อตั้งทิ้งไว้ หรือเก็บรักษาไว้ ถ้ามีค่าสูงแสดงว่าอนุภาคที่มีประจุจะมีโอกาสรวมตัวกันได้น้อย ซึ่งจากการทดลองพบว่าในสูตรการเตรียมอนุภาคที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนักมีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -29.35, -35.53, -32.08, -31.27, -35.45 และ -37.82 มิลลิโวลต์ (mV) ตามลำดับ โดยในทุกสูตรของการเตรียมมีค่าศักย์ซีต้ามากกว่า ± 30 มิลลิโวลต์ แสดงว่าอนุภาคนาโนมีความคงตัวได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะเร่งคือทุกสูตรมีลักษณะคงตัวไม่แยกชั้น มีลักษณะขุ่นแบบสารละลายคอลลอยด์ สีคล้ายน้ำนม และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน ดังภาพที่ 42

4.6.2 ผลการศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวจะมีผลอย่างมากต่อขนาดและการคงตัวของอนุภาค ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารลดแรงตึงผิวโดยใช้สารลดแรงตึงผิวผสมของสแปน 80 (span 80) และทวิน 20 (tween 20) ซึ่งจะใช้ชนิดละเท่า ๆ กัน โดยการแปรผันสัดส่วนปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักตามลำดับและทำการทดสอบความคงตัวของอนุภาคนาโนที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งเป็นเวลา 1 เดือน วัดขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคหรือค่าศักย์ซีต้า โดยมีสูตรการเตรียมตามตารางที่ 15 และผลการทดลองดังตารางที่ 16

ตารางที่ 15 สูตรของอนุภาคนาโนไขมันที่ใช้ในการศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิว

สูตร	ร้อยละ (w/w)							
	น้ำมัน รำข้าว	สารสกัด ข้าวหมาก ข้าวลิ้มผิว	Montanov 82	Span 80	Tween 20	transcutol	Poloxamer	Glycerol
1	10	5	1	1.5	1.5	2	1	2
2	10	5	1	3	3	2	1	2
3	10	5	1	4.5	4.5	2	1	2

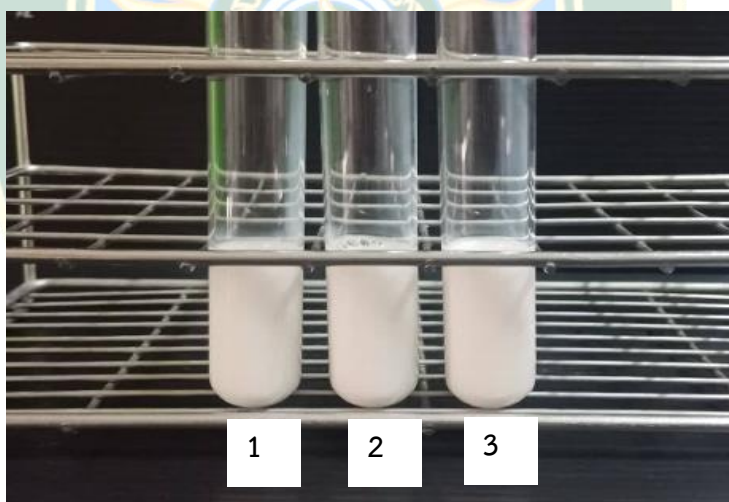
ตารางที่ 16 ลักษณะการคงตัวขนาดอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคของอนุภาคนาโนไขมันที่มีสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน

สูตร	ร้อยละของ สารลด แรงตึงผิว	ลักษณะการคงตัว		Z-Average (nm)	PDI	Zeta- potential (mV)
		อุณหภูมิห้อง	สภาวะเร่ง			
1	3	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	275.62±18.24 ^a	0.55±0.09	-31.55±0.47
2	6	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	223.08±34.30 ^a	0.35±0.02	-33.54±0.33
3	9	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น สีคล้ำยน้ำนม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	176.23±23.9 ^b	0.22±0.01	-34.90±0.83

หมายเหตุ : อักษรที่ไม่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองจาก พบว่า เมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาค ของทั้ง 3 สูตรนี้พบว่า ขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักเท่ากับ 275.62, 223.08 และ 176.23 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ส่วนการกระจายขนาดอนุภาคหรือค่า PDI พบว่าที่ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักเท่ากับ 0.55, 0.35 และ 0.22 ตามลำดับ โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิว ค่า PDI จะลดลงตามลำดับ ซึ่งในทุกสูตรพบว่า มีค่าน้อยกว่า 0.5 แสดงว่า ขนาดอนุภาคมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ ส่วนค่าศักย์ซีต้าของปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักเท่ากับ -31.55, -33.54 และ -34.90 มิลลิโวลต์ตามลำดับ โดยในทุกสูตรมีค่าศักย์ซีต้ามากกว่า ± 30 มิลลิโวลต์แสดงว่าอนุภาคนาโนมีความคงตัวได้ดี แสดงว่าปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่เปลี่ยนไปไม่ส่งผลต่อความคงตัวทางกายภาพ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วย ตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะเร่ง คือ ทุกสูตรมีลักษณะคงตัวไม่แยกชั้น มีลักษณะขุ่นแบบสารละลายคอลลอยด์ สีคล้ายน้ำนม และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน ดังภาพที่ 43



หมายเลข 1 ปริมาณสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 3

หมายเลข 2 ปริมาณสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 6

หมายเลข 3 ปริมาณสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 9

ภาพที่ 43 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน

อย่างไรก็ตามแม้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวจะทำให้ขนาดของอนุภาคเล็กลง และปริมาณของสารลดแรงตึงผิวของสูตรที่เพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 9 โดยน้ำหนักพบว่าอนุภาคนาโนมีขนาดเล็กที่สุด แต่การใช้ปริมาณที่มากอาจทำให้เกิดการระคายเคืองได้มากกว่าในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณร้อยละ 6 โดยน้ำหนักในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

4.6.3 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

ในขั้นตอนนี้ได้ทำการศึกษาผลของปริมาณสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่มีต่อขนาดของอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค ค่าศักย์ซีต้า และลักษณะการคงตัวทางกายภาพ โดยแปรผันปริมาณสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วทั้งหมด 4 สูตรที่ร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนักตามตารางที่ 17

ตารางที่ 17 สูตรที่ใช้ในการศึกษาปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่ว

สูตร	ร้อยละ (w/w)							
	น้ำมัน รำข้าว	สารสกัด ข้าวหมาก ข้าวลิ้มผั่ว	Montanov 82	Span 80	Tween 20	transcutol	Poloxamer	Glycerol
1	10	5	1	3	3	2	1	2
2	10	10	1	3	3	2	1	2
3	10	20	1	3	3	2	1	2
4	10	30	1	3	3	2	1	2

จากผลการทดลองในตาราง พบว่า เมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาคของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วของทั้ง 4 สูตรที่ปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก ขนาดของอนุภาคเท่ากับ 167.32, 233.66, 351.21 และ 383.77 นาโนเมตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วเพิ่มขึ้น โดยในสูตร 3 และ สูตร 4 ที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วร้อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่ามีขนาดของอนุภาคมากกว่า 300 นาโนเมตร โดยขนาดของอนุภาคของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่ปริมาณร้อยละ 5 และ 10 โดยน้ำหนัก มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับขนาดของอนุภาคของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่ปริมาณร้อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนัก มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 18

GRAD VRU

ตารางที่ 18 ลักษณะการคงตัวของอนุภาค การกระจายอนุภาค (PDI) และประจุอนุภาคของอนุภาคนาโนไขมันที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างต่างกัน

สูตร	ร้อยละของสารสกัด	ลักษณะการคงตัว		Z-Average (nm)	Polydispersity (PDI)	Zeta-potential (mV)
		อุณหภูมิห้อง	สภาวะเร่ง			
1	5	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ายน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีคล้ายน้ำมัน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	167.32 ^a ±25.88	0.22±0.01	-35.54±0.35
2	10	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีม่วงอ่อน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีม่วงอ่อน ไม่เปลี่ยนแปลงสี	233.66 ^a ±24.67	0.35±0.01	-33.44±0.48
3	20	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีน้ำตาล ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น ขุ่น สีน้ำตาล ไม่เปลี่ยนแปลงสี	351.21 ^b ±21.93	0.42±0.04	-27.35±2.93
4	30	คงตัว ไม่แยกชั้น สีน้ำตาลเข้ม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	คงตัว ไม่แยกชั้น สีน้ำตาลเข้ม ไม่เปลี่ยนแปลงสี	383.77 ^b ±20.85	0.51±0.03	-25.97±2.28

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของอนุภาค หรือค่า PDI ของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างของทั้ง 4 สูตรที่มีปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่า มีค่า PDI เท่ากับ 0.22, 0.35, 0.42 และ 0.51 ตามลำดับพบว่า แสดงให้เห็นว่า การกระจายตัวของอนุภาคจะเพิ่มขึ้นในช่วงที่กว้างขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างเพิ่มขึ้น โดยในสูตร 3 และ สูตร 4 ที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างร้อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่ามีค่า PDI มากกว่า 0.5 ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดของอนุภาคใหญ่มากขึ้น เกิดความไม่สม่ำเสมอของขนาดของอนุภาคเนื่องจากสารสกัดบางส่วนถูกปลดปล่อยออกจากอนุภาค

เมื่อเปรียบเทียบค่าศักย์ซีต้าของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างของทั้ง 4 สูตรที่มีปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่า มีค่าศักย์ซีต้า เท่ากับ -34.54, -33.44, -27.35 และ -25.97 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ โดยในสูตร 3 และ สูตร 4 ที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างร้อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่า มีค่าศักย์ซีต้าน้อยกว่า ± 30 มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงประจุของอนุภาค NLC ที่เตรียมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างที่แตกต่างกัน โดยจะเห็นได้ว่าค่าศักย์ซีต้ามูลค่าลดลงเมื่อสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากเมื่ออนุภาคใหญ่ขึ้นจะทำให้ความหนาแน่นของประจุต่ำลง และการเพิ่มของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัสด่างอาจไปลดความหนาแน่นของประจุและค่าศักย์ซีต้า

จากลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่สภาวะเร่ง พบว่า แต่ละสูตรมีลักษณะที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 44) ซึ่งจากภาพจะเห็นได้ว่าในสูตร 1 และ สูตร 2 ที่มีปริมาณ

สารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 5 และ 10 โดยน้ำหนักจะมีลักษณะคงตัวดีที่สุดคือมีลักษณะคงตัว ไม่แยกชั้น มีลักษณะขุ่นแบบสารละลายคอลลอยด์ และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยในสูตร 1 จะมีสีคล้ายน้ำนม ส่วนในสูตร 2 จะมีม่วงอ่อน เนื่องจากมีปริมาณของสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยมากกว่า ส่วนในสูตร 3 และ สูตร 4 ที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนัก มีความคงตัวทางกายภาพน้อย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 10 โดยน้ำหนักไปพัฒนาตำรับนาโนเซรามต่อไป



หมายเลข 1 ปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 5
 หมายเลข 2 ปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 10
 หมายเลข 3 ปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 20
 หมายเลข 4 ปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยละ 30

ภาพที่ 44 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนไขมันแต่ละสูตรที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยแตกต่างกัน

4.7 ผลการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์นาโนเซราม

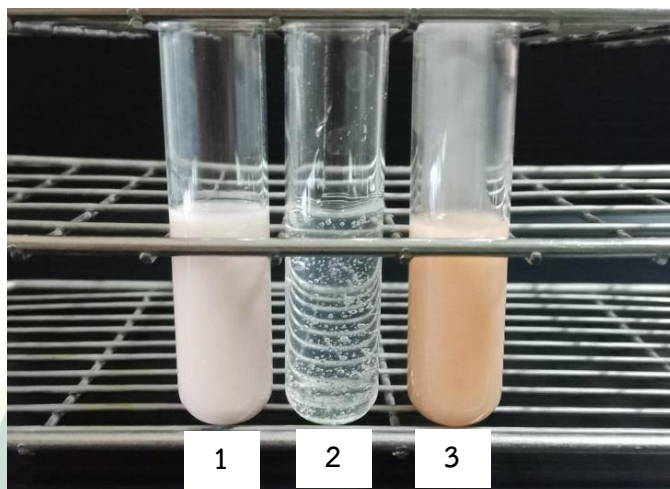
จากการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาอนุภาคนาโนจากสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีฝัวย่อยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคนิคการเตรียมแบบนาโนสตรีกเจอร์ลิปิดแคร์เออร์ซึ่งทำให้ได้อนุภาคเล็กระดับนาโนที่มีความคงตัว ซึ่งในขั้นตอนต่อไปของงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์นาโนเซราม เนื่องจากต้องการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อบางเบาแบบเซรามที่มีความเหลวที่สามารถซึมลงสู่โครงสร้างผิวชั้นนอกได้ดี และรวดเร็ว โดยการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เซรามให้ส่วนประกอบหรือส่วนผสมทั้งหมดเข้าเป็นเนื้อเดียวกันต้องอาศัยเครื่องปั่นความเร็วสูง และตีปั่นกวนด้วยความเร็วสูงจน

ผลิตภัณฑ์เริ่มขึ้นเนื่อจนได้ผลิตภัณฑ์เซรัมจากอนุภาคนาโนกักเก็บสารสำคัญจากข้าวหมากข้าวสาลีผงที่ต้องการ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการเปรียบเทียบสูตรตำรับนาโนเซรัม 2 สูตร ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 สูตรตำรับนาโนเซรัมที่มีส่วนผสมแตกต่างกัน

สูตร 1		สูตร 2	
ส่วนผสม	%w/w	ส่วนผสม	%w/w
อนุภาคนาโนข้าวหมาก	95.00	อนุภาคนาโนข้าวหมาก	4.00
Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid (EDTA)	0.30	Hydroxyethyl Cellulose (HEC)	0.50
Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer (รหัส อ.ย. 12135) (Propolymer)	0.70	Phenostat	1.00
PEG 40 Hydrogenated Castor Oil	3.00	Butylene Glycol	1.20
chlorphenesin/phenoxyethanol (Microcare PHC)	1.00	Glycerine	1.00
		Flavor	0.02
		DI water	92.28

โดยปกติเนื้อเบสเซรัมจะมีลักษณะใสแบบเนื้อเจล เนื่องจากจะมีส่วนประกอบของสารขึ้นรูปเจล โดยในสูตร 1 (Buddeen, 2018) มีส่วนผสมของกรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอะเซติก (EDTA) ที่มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ (Polymer) ซึ่งให้ความรู้สึกหนืดข้น (Thickener) เมื่อทาลงบนผิว ส่วนอัลคิล อะคริเลต (Alkyl Acrylate) คือสารที่ทำให้ส่วนผสมที่ปกติไม่สามารถผสมกันได้ สามารถรวมตัวกันได้ หรือกระจายตัวได้ดี (Emulsifier) นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมของสารเพิ่มความคงตัวที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น พีอีจี 40 ไฮโดรจีเนทแคสเตอร์ออยล์ (PEG 40 Hydrogenated Castor Oil) เป็นต้น ส่วนคลอเฟนิซิน/ฟีน็อกซีเอทานอล (chlorphenesin/phenoxyethanol) เหมาะสำหรับใช้ทดแทนสารกันเสีย (Preservative) กลุ่มพาราเบน (Paraben) โดยสามารถควบคุมเชื้อโรคได้ครบทุกชนิด (broad-spectrum) ลักษณะของเบสเซรัมของสูตร 1 ดังภาพที่ 44 ส่วนสูตร 2 พัฒนาจากผู้วิจัย ซึ่งจากสูตรมีส่วนผสมของไฮดรอกซีเอทิล เซลลูโลส (Hydroxyethyl Cellulose) เพื่อก่อเจล หรือเพิ่มความหนืดของเซรัม เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ ส่วนผสมบิวทิลีนไกลคอล (Butylene Glycol) มีหน้าที่เก็บกักความชุ่มชื้น และสาร กลีเซอริน (Glycerine) มีคุณสมบัติเป็นสารกักเก็บ และดูดความชื้นสู่ผิว (Humectant) ช่วยการทำละลาย (solvent) และเป็นสารหล่อลื่น (emollient) ที่ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์นุ่มลื่นนำใช้ โดยในสูตรใช้ฟีนอสแตท (Phenostat) เป็นสารกันเสียที่ปลอดภัยกว่าพาราเบน



หมายเลข 1 อนุภาคนาโนสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฟัว
 หมายเลข 2 เบสเซอร์ม
 หมายเลข 3 ผลิตภัณฑ์นาโนเซอร์มสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฟัว

ภาพที่ 45 ลักษณะที่แตกต่างกันของอนุภาคนาโนสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฟัว เบสเซอร์ม และผลิตภัณฑ์นาโนเซอร์มสูตร 1



เมื่อทำการผสมเนื่อนาโนเซอร์มจนเข้าเป็นเนื้อเดียวกันทั้ง 2 สูตรและนำไปวัดค่าความหนืดพบว่านาโนเซอร์มสูตร 1 มีค่าความหนืด 19.5 cm/30sec และนาโนเซอร์มสูตร 2 มีค่าความหนืด 23.5 cm/30sec ซึ่งนาโนเซอร์มที่ดีควรมีความหนืดต่ำ โดยลักษณะนาโนเซอร์มที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าดังภาพที่ 46



ภาพที่ 46 ลักษณะนาโนเซอร์มสูตร 1 (ซ้าย) และ ลักษณะนาโนเซอร์มสูตร 2 (ขวา)

จากผลการตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพหลังทิ้งเซรามไว้เป็นเวลา 3 เดือน ในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ (Humidity) 75 %RH และสภาวะ

ปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะปรากฏของเนื้อเซราม์ เช่น สี การตกตะกอน การแยกชั้น และค่าความเป็นกรด-ด่างเพื่อบ่งบอกถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์นาโนเซราม์จากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัว ผลการทดลองดังตารางที่ 20 และตารางที่ 21 ภาพที่ 47 และภาพที่ 48

Stability test	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
สภาวะปกติ				
สภาวะเร่ง				

ภาพที่ 47 ลักษณะการคงตัวของผลิตภัณฑ์นาโนเซราม์จากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัวสูตร 1

Stability test	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
สภาวะปกติ				
สภาวะเร่ง				

ภาพที่ 48 ลักษณะการคงตัวของผลิตภัณฑ์นาโนเซราม์จากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัวสูตร 2

ตารางที่ 20 ผลของการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดข้าวหอมมากข้าวสีม่วงผู้สูตร 1

Stability test	เดือนที่ 0				เดือนที่ 1				เดือนที่ 2				เดือนที่ 3			
	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน
สภาวะปกติ	ชมพู กะปิ	4.7	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ชมพู กะปิ	4.8	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ชมพู กะปิ	4.8	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน	สีชมพู กะปิ	4.8	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน
สภาวะเร่ง	ชมพู กะปิ	4.7	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ชมพู กะปิ	4.6	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ชมพู กะปิ	4.7	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน	สีชมพู กะปิ	4.7	เกิดการแยกชั้นมากกว่าสภาวะปกติ	ไม่ตกตะกอน



ตารางที่ 21 ผลของการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมัลลิวสุธร 2

Stability test	เดือนที่ 0				เดือนที่ 1				เดือนที่ 2				เดือนที่ 3							
	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน	สี	pH	การแยกชั้น	การตกตะกอน
สภาวะปกติ	ไม่มีสี	5.3	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.3	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.2	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.2	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.2	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน
สภาวะเร่ง	ไม่มีสี	5.3	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.3	ไม่แยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.3	เกิดการแยกชั้นเล็กน้อย	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.3	เกิดการแยกชั้น	ไม่ตกตะกอน	ไม่มีสี	5.3	เกิดการแยกชั้นมากกว่า	ไม่ตกตะกอน



จากการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วทั้งสองสูตร ทางด้านจุลินทรีย์ กับแบคทีเรียที่ทดสอบได้แก่ *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Clostridium spp.* (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2559) พบว่า ในปริมาณ 1 กรัมของตัวอย่างไม่พบแบคทีเรียที่ทดสอบ ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2559 เรื่อง เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต้องไม่พบเชื้อ ดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

แบคทีเรียที่ทดสอบ	ผลการทดสอบ (ในตัวอย่าง 1 g)
<i>Candida albicans</i>	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ไม่พบ
<i>Clostridium spp.</i>	ไม่พบ

ผลการทดสอบโลหะหนักของผลิตภัณฑ์เซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่ว กับโลหะหนักที่ทดสอบได้แก่ ตะกั่ว (Lead; Pb), ปรอท (Mercury; Hg), สารหนู (Arsenic; As) และ แคดเมียม (Cadmium; Cd) พบว่าไม่พบโลหะหนักที่ทดสอบ (mg/kg ตัวอย่าง) ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ผลการตรวจวิเคราะห์โลหะหนัก

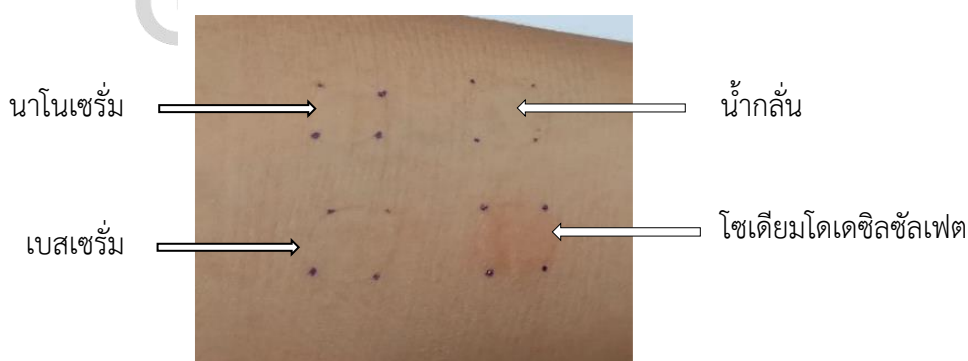
โลหะหนักที่ทดสอบ	ผลการทดสอบ (mg/kg ตัวอย่าง)
Lead (Pb)	ไม่พบ
Mercury (Hg)	ไม่พบ
Total Arsenic (As)	ไม่พบ
Cadmium (Cd)	ไม่พบ

จากผลการทดลองความคงตัวโดยการพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์เซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วของทั้งสองสูตร พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในเชิงลักษณะทางกายภาพ/เคมี เช่น ลักษณะของเนื้อสัมผัส สี/กลิ่น ค่า pH การตกตะกอน ของตัวผลิตภัณฑ์เมื่อทดสอบในสภาวะเร่ง (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, ความชื้นสัมพัทธ์ 75 %RH ระยะเวลา 3 เดือน) และสภาวะปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนการแยกชั้นเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงเดือนที่ 2-3 โดยที่สภาวะเร่งจะเกิดการแยกชั้นที่มากกว่าสภาวะปกติ และในการทดสอบทางด้านจุลินทรีย์ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นการบ่งชี้ได้ในเบื้องต้น ได้ว่า

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมาก มีอายุของผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 1-2 ปี (1 เดือน ในตู้เร่ง เท่ากับ 4 เดือนอุณหภูมิปกติ) โดยที่ผลิตภัณฑ์ ดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลงในเชิงลักษณะทางกายภาพและทางเคมี อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ได้เลือกผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวในสูตรที่ 1 ไปทดสอบการระคายเคืองและความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ต่อไปเนื่องจากมีค่าความหนืดที่น้อยกว่าสูตร 2 และเป็นสูตรที่มีอนุภาคกักเก็บนาโนมากกว่าสูตร 2

4.8 ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซรั่มที่พัฒนาขึ้น

จากงานวิจัยนี้เมื่อได้ทำการพัฒนานาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวที่มีสูตรที่เหมาะสม และมีมาตรฐานตามมาตรฐานเครื่องสำอางแล้ว ในขั้นตอนต่อไปจะทำการทดสอบการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังแก่อาสาสมัครโดยกำหนดเกณฑ์การคัดอาสาสมัครเป็นเพศหญิง อายุระหว่าง 25 - 55 ปี จำนวน 22 คนที่มีสุขภาพแข็งแรง ซึ่งเป็นการทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดีโดยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (Closed patch test under occlusion) ของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว และเบสเซรั่ม เปรียบเทียบกับความถี่ของการเกิดผลบวกของสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate; SDS) ร้อยละ 3 ที่เป็นสารควบคุมบวก (Positive control) และน้ำกลั่นเป็นสารควบคุมลบ (Negative control) จากนั้นสังเกตอุบัติการณ์การก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ แล้วแปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านผิวหนัง พบว่า ปิดแผ่นทดสอบ 24 ชั่วโมงแล้วแปลผลที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังเปิดแผ่นทดสอบผลการทดลองมีดังนี้คือ ในระยะเวลาแปลผลที่ 30 นาที ในสารควบคุมบวกคือ สารละลาย SDS ร้อยละ 3 พบอาสาสมัครที่ให้ผลบวกอย่างจาง (?+) 5 คน และให้ผลบวกอย่างอ่อน (+) 3 คน (ภาพที่ 49) ในสารทดสอบนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว พบอาสาสมัครที่ให้ผลบวกอย่างจาง (?+) 1 คน ส่วนเบสเซรั่ม และน้ำกลั่นไม่เกิดปฏิกิริยาที่ผิวหนัง -(0) ในระยะเวลาแปลผลที่ 30 นาที ในระยะเวลาแปลผลที่ 4 ชั่วโมง ในสารควบคุมบวก คือ สารละลาย SDS ร้อยละ 3 พบอาสาสมัครที่ให้ผลบวกอย่างจาง (?+) 6 คน และให้ผลบวกอย่างอ่อน (+) 3 คน ในสารทดสอบนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิว เบสเซรั่ม และน้ำกลั่นไม่เกิดปฏิกิริยาที่ผิวหนัง -(0) ส่วนในชั่วโมงที่ 24, 72 และ 96 ไม่พบการก่อการระคายเคืองที่ผิวหนัง



ภาพที่ 49 ผิวหนังที่ให้ผลบวกอย่างอ่อน (+) ต่อสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตร้อยละ 3

ผลบวกอย่างจาง (?+หรือ-/+) เทียบเป็นค่าการระคายเคืองเท่ากับ 0.5 และ ผลบวกอย่างอ่อน (+) เทียบเป็นค่าการระคายเคืองเท่ากับ 1 ตาม Draize dermal irritation scoring system (DDISS) จากนั้นเมื่อนำมาคำนวณดัชนีการระคายเคืองจากสูตร

$$M.I.I = \frac{\text{ผลรวมคะแนนทั้งหมด (ผื่นแดง + อาการบวมน้ำ)}}{\text{จำนวนอาสาสมัครทั้งหมดที่ทดสอบ}}$$

ดังนั้น M.I.I ของ Sodium dodecyl sulfate ในระยะเวลาแปลผลที่ 30 นาที

$$M.I.I = \frac{(5 \times 0.5) + (3 \times 1) + (14 \times 0)}{22} = 0.25$$

M.I.I ของ Sodium dodecyl sulfate ในระยะเวลาแปลผลที่ 4 ชั่วโมง

$$M.I.I = \frac{(6 \times 0.5) + (3 \times 1) + (13 \times 0)}{22} = 0.27$$

M.I.I ของสารทดสอบนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัว ในระยะเวลาแปลผลที่ 30 นาที

$$M.I.I = \frac{(1 \times 0.5) + (21 \times 0)}{22} = 0.02$$

จากผลโดยใช้ความถี่และจำนวนในการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนัง และคำนวณค่าเฉลี่ยดัชนีการระคายเคืองผลการทดลองตามตารางที่ 24

ตารางที่ 24 ค่าดัชนีการระคายเคือง (M.I.I) ของผิวหนังจากการทดสอบ closed patch test ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

สารทดสอบ	ระยะเวลา				
	30 นาที	4 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
น้ำกลั่น	0	0	0	0	0
Sodium dodecyl sulfate (ร้อยละ 3)	0.25	0.27	0	0	0
เบสเซรัม	0	0	0	0	0
นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัว	0.02	0	0	0	0

จากตาราง พบว่า ค่าดัชนีการระคายเคือง (M.I.I) จากการทดสอบ Closed patch test ของผิวหนังนำไปเทียบกับ Evaluation of primary skin irritation index (Hemmati, Ghasemzadeh, Haji Malek-kheili, Khoshnevisan & Koochi, 2016) พบว่า ค่าดัชนีการระคายเคืองของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (ร้อยละ 3) ในระยะเวลาที่ 30 นาที และ 4 ชั่วโมง เท่ากับ 0.25 และ 0.27 ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงการตอบสนองที่เป็นปกติของอาสาสมัคร (อยู่ในช่วง $0.20 \leq M.I.I < 0.50$) ส่วนนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัวมีค่าดัชนีการระคายเคืองของผิวหนังเท่ากับ 0.02 ซึ่งพบว่าน้อยกว่า 0.20 ซึ่งแปลผลว่าไม่มีความระคายเคืองแก่อาสาสมัคร

การศึกษานี้ได้ทำการยื่นขอเพื่อรับการพิจารณาและการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ หมายเลขโครงการ 0018/2563

4.9 ผลการยอมรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมาก

การสอบถามความคิดเห็นที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวที่พัฒนาขึ้น ใช้แบบสอบถามที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นเอง และมีผู้ทรงคุณวุฒิในการประเมินแบบสอบถามของเครื่องมือวิจัยนี้ โดยประเมินค่าดัชนีความสอดคล้องหรือ Index of Item-Objective Congruence (IOC) พบว่าทุกข้อมีค่ามากกว่า 0.5 (ภาคผนวก ก) ซึ่งแสดงว่าแบบประเมินข้อคำถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัยได้ผ่านตรวจสอบแล้วว่ามี ความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของงานวิจัย นอกจากนี้ได้คำนวณหาความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจทั้งฉบับ พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.82 ซึ่งเป็นเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับดี (ภาคผนวก ก)

จากการใช้อาสาสมัครที่ผ่านการทดสอบการระคายเคืองระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ผิวหนัง ซึ่งจากการทดลองพบว่าจากการทดสอบการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังแก่อาสาสมัคร มีค่าดัชนีการระคายเคือง เท่ากับ 0.20 ซึ่งแปลผลว่าไม่มีความระคายเคืองแก่อาสาสมัคร ดังนั้นในการทดสอบความคิดเห็นที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวจึงใช้ตัวอย่างเดียวกับอาสาสมัครที่ใช้ในการทดสอบการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังคือเพศหญิงกลุ่มที่มีอายุระหว่าง 25-55 ปีจำนวน 22 คน ใช้แบบสอบถามซึ่งแบ่งเป็นความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านกายภาพ ในด้านการใช้งาน และในด้านประสิทธิภาพ โดยลักษณะของแบบสอบถามเป็นแบบประมาณค่า (Rating scale) ชนิด 5 อันดับ (ระดับความพึงพอใจ น้อยที่สุด = 1 คะแนน, มากที่สุด = 5 คะแนน) และมีการกำหนดเกณฑ์ในการแปลความหมายของค่าเฉลี่ย

ผลการศึกษาทั่วไปของกลุ่มอาสาสมัครพบว่า เป็นเพศหญิงจำนวน 22 คน โดยทุกคนอยู่ตลอดการทดลองของการวิจัย กลุ่มตัวอย่างมีอายุระหว่าง 25-55 ปี จากคะแนนเฉลี่ยความพึงพอใจที่ได้จากการประเมินในแต่ละหัวข้อพบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจตั้งตารางที่ 25 ดังนี้

GRAD VRU

ตารางที่ 25 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่ว

หัวข้อการประเมิน	ระดับความพึงพอใจ		
	ค่าเฉลี่ย	S.D.	การแปลความหมาย
ด้านกายภาพ			
1. สีของผลิตภัณฑ์	3.72	0.48	มาก
2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์	3.36	0.21	ปานกลาง
3. ลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์	4.04	0.45	มาก
ด้านการใช้งาน			
4. ผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย	4.27	0.82	มาก
5. ผลิตภัณฑ์ซึ่มง่ายสู่ผิว	3.86	0.63	มาก
6. ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา	3.81	0.34	มาก
7. ผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว	4.40	0.52	มาก
ด้านประสิทธิภาพ			
8. รู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้	4.22	0.21	มาก
9. รู้สึกผิวเนียนนุ่มขึ้นหลังการใช้	4.04	0.36	มาก
10. ความพึงพอใจโดยรวม	4.14	0.32	มาก
เฉลี่ย	3.98	0.43	มาก

หมายเหตุ : เกณฑ์การให้คะแนน ค่าเฉลี่ย 5.00-4.50 หมายถึง ความพึงพอใจระดับมากที่สุด
 4.49-3.50 หมายถึง ความพึงพอใจระดับมาก
 3.49-2.50 หมายถึง ความพึงพอใจระดับปานกลาง
 2.49-1.50 หมายถึง ความพึงพอใจระดับน้อย
 1.49-1.10 หมายถึง ความพึงพอใจระดับน้อยที่สุด

จากผลความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วของอาสาสมัครในแต่ละด้านมีดังนี้

ในด้านกายภาพมีความพึงพอใจสีของผลิตภัณฑ์และลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์ในระดับมาก โดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจเท่ากับ 3.72 และ 4.04 ตามลำดับ ซึ่งผลิตภัณฑ์มีสีม่วงอ่อนที่เป็นสีของข้าวลิ้มผั่ว และมีเนื้อสัมผัสที่ค่อนข้างเรียบเนียน ส่วนกลิ่นของผลิตภัณฑ์มีความพึงพอใจระดับปานกลางมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจเท่ากับ 3.36 ซึ่งน่าจะเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ไม่ได้มีการปรับแต่งกลิ่นซึ่งยังคงมีกลิ่นของข้าวหมากซึ่งเป็นกลิ่นตามธรรมชาติอยู่เล็กน้อย

ในด้านการใช้งานมีความพึงพอใจเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย ผลิตภัณฑ์ซึ่มง่ายสู่ผิว ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา และผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว ในระดับมากโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจเท่ากับ 4.27, 3.86, 3.81 และ 4.40 ตามลำดับ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบนาโนเซรามิกที่มีโมเลกุลเล็กทำให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกลี่ยง่าย และซึ่มลงสู่ผิวได้รวดเร็ว

ในด้านประสิทธิภาพมีความพึงพอใจเกี่ยวกับรู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้ รู้สึกผิวเนียนนุ่มขึ้นหลังการใช้ และความพึงพอใจโดยรวม ในระดับมากโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจเท่ากับ 4.22, 4.04

และ 4.14 ตามลำดับ ซึ่งจากผลความพึงพอใจทั้งหมด พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.98

ดังนั้นผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่ได้พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้จึงมีความเหมาะสมในการนำไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ตลอดจนเป็นการช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรในการหันมาสนใจพันธุ์ข้าวพื้นเมือง โดยเฉพาะพันธุ์ข้าวเหนียวลิ้มผั่วที่สามารถสร้างมูลค่าได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

การศึกษานี้ได้ทำการยื่นขอเพื่อรับการพิจารณาและการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ หมายเลขโครงการ 0018/2563

4.10 ผลการถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชน

4.10.1 ผลการหาค่าดัชนีความสอดคล้องของชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้จัดอบรมเชิงปฏิบัติโดยการสร้างชุดฝึกอบรม เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ไปถ่ายทอดความรู้ และอบรมเชิงปฏิบัติการให้แก่ผู้สนใจ โดยให้ผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาร่างแบบชุดฝึกอบรมว่ามีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ หรือตัวแปรของการวิจัยเรื่องนี้หรือไม่ แล้วนำผลมาหาค่าดัชนีความสอดคล้องซึ่ง พบว่า มีความสอดคล้องโดยประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง IOC พบว่า ทุกข้อมีมากกว่า 0.5 (ภาคผนวก ก) และมีได้ค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจทั้งฉบับจากค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาที่คำนวณได้มีค่า 0.84 แสดงว่าแบบสอบถามชุดนี้มีค่าความเชื่อมั่นสูง สามารถนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างได้ซึ่งเป็นเกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับดี (ภาคผนวก ก)

4.10.2 ผลการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้จัดอบรมเชิงปฏิบัติเรื่อง การทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่วให้กับชุมชนตำบลวังราย อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี จำนวน 25 คน อายุระหว่าง 25-70 ปี โดยวัดความรู้จากการอบรมด้วยแบบทดสอบที่ผ่านการเสนอต่อผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 ท่าน เพื่อพิจารณาความสอดคล้องแบบทดสอบรายข้อกับวัตถุประสงค์ โดยพบว่าทุกข้อมีค่า IOC มากกว่า 0.5 (ภาคผนวก ค) แสดงว่าสามารถนำมาใช้เป็นแบบทดสอบได้ จากนั้นวิเคราะห์หาคุณภาพแบบทดสอบความรู้ นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ หาค่าความยากง่าย (P) และค่าอำนาจจำแนก (R) โดยผู้วิจัยคัดเลือกข้อสอบที่ได้เกณฑ์ตามมาตรฐานไว้จำนวนทั้งหมด 20 ข้อ จาก 30 ข้อ ที่มีค่าความยากง่ายตั้งแต่ 0.40-0.80 และค่าอำนาจจำแนกตั้งแต่ 0.30-0.50 (ภาคผนวก ค) โดยค่าความเชื่อมั่นทั้งฉบับของแบบทดสอบของแบบทดสอบโดยวิธี KR-20 ของคูเดอร์-ริชชาร์ดสัน (Kuder-Richardson) พบว่ามีค่าความเชื่อมั่นของแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการอบรมมีค่าเท่ากับ 0.83 ซึ่งมากกว่า 0.6 ดังนั้นคุณภาพของแบบทดสอบมีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ภาคผนวก ค)

ผลการทดสอบความรู้ก่อน และหลังการอบรม พบว่า ก่อนการอบรมผู้เข้าร่วมอบรมมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.96 และค่าเฉลี่ยหลังการอบรมมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 14.52 โดยค่าคะแนนเฉลี่ยของคะแนนสอบหลังการอบรมสูงกว่าคะแนนสอบก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ

0.05 (ตารางที่ 26) ซึ่งแสดงว่าหลังจากที่กลุ่มตัวอย่างได้เข้ารับการถ่ายทอดเกี่ยวกับการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิวแล้วกลุ่มตัวอย่างมีความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้น (ภาคผนวก ค)

ผลการทดสอบความพึงพอใจในการอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า ผู้เข้าร่วมอบรมมีความพึงพอใจในการอบรมมากที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.87 ± 0.60 (ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 26 ผลการทดสอบความรู้ก่อน และหลังการอบรมเชิงปฏิบัติการ

การทดสอบ	จำนวนผู้ทดสอบ (N)	ค่าเฉลี่ย	S.D.	df	t	Sig 1 tailed
ก่อนอบรม	25	7.96	1.24	24	20.38*	0.000
หลังอบรม	25	14.52	1.44	24		

หมายเหตุ : * $P < 0.05$

GRAD VRU

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการนำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกในพื้นที่ที่แตกต่างกันในประเทศไทยทั้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียว โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในการสกัดสาร ทำการศึกษาปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อน และหลังหมักข้าวของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานิน ศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวหมากของข้าวมีสี ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสก่อน และหลังหมักข้าว จากนั้นนำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุดไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay เพื่อนำไปพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหนังสำหรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร หรือนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers; NLCs) จากนั้นนำนาโนเซิร์มบำรุงผิวหนังที่พัฒนาขึ้นไปทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง และทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์จากอาสาสมัคร ซึ่งได้ทำการถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับข้าวหมากข้าวมีสีสู่วิสาหกิจชุมชน และบุคคลทั่วไป โดยสามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังต่อไปนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างข้าวชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างข้าวในงานวิจัยแบ่งข้าวได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ ได้แก่ ข้าวเหนียวลิ้มผัว ข้าวเหนียวดำหอม ข้าวเจ้าหอมมะลิดำ ข้าวเจ้าสุตบุตร ข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวกำดอย ข้าวเหนียวกำ ข้าวเจ้ามะลิชนิด ข้าวเจ้าหอมนิล ข้าวเจ้าหอมนิลจักรพรรดิ และข้าวเจ้าไรซ์เบอร์รี่ และกลุ่มข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ได้แก่ ข้าวเหนียวแดง ข้าวเจ้าหอมมะลิแดง ข้าวเจ้าสังข์หยด ข้าวเจ้าเนียงกวาง และข้าวเจ้าทับทิมชุมแพ โดยปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวมีสีของข้าวแต่ละสายพันธุ์ พบว่า ภายหลังจากหมักข้าวทุกสายพันธุ์มีมากกว่าก่อนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณร้อยละผลผลิตระหว่าง 15.22-20.28 ของน้ำหนักแห้ง

ผลการศึกษาค่าสีของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีแต่ละสายพันธุ์ พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) อยู่ในช่วง 19.65-23.60 โดยสารสกัดจากข้าวเหนียวลิ้มผัวมีค่าความสว่างน้อยที่สุด ($L^* = 19.65$) มีค่าสีแดงมากที่สุด ($a^* = 5.79$) มีค่าเหลืองน้อยที่สุด ($b^* = 1.41$) โดยค่าความสว่างมาก คือ ข้าวสังข์หยด ($L^* = 23.60$) นอกจากนั้นสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี มีค่า a^* อยู่ในกลุ่มสีแดงทั้งหมด ส่วนค่า b^* อยู่ในกลุ่มสีเหลืองทั้งหมด

5.1.2 ผลปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อน และหลังหมักข้าวในสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี

ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดข้าวมีสี พบว่า ข้าวหลังการหมักมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าก่อนการหมักในทุกตัวอย่าง โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผลการทดลองพบว่าข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณ

ฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 21.36-45.66 mg GAE /g ส่วนข้าวในกลุ่มสีแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 19.30-21.03 mg GAE /g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 45.66 mg GAE /g

ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดข้าวมีสี พบว่า ข้าวหมากหลังการหมักมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าก่อนการหมักในทุกตัวอย่าง โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผลการทดลองพบว่าข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 13.38-39.35 mgRE/g ส่วนข้าวในกลุ่มสีแดงมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 15.30-20.37 mgRE/g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 39.35 mgRE/g

ผลการหาปริมาณแอนโทไซยานินสารสกัดข้าวมีสี พบว่า ข้าวหลังการหมักมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าก่อนการหมักในทุกตัวอย่าง โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง จากผลการทดลองพบว่าข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 1.82-3.37 mg/g ส่วนข้าวในกลุ่มสีแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 1.32-1.89 mg/g โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด 3.37mg/g

5.1.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี ก่อน และหลังหมักข้าว

จากการทดลองการตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากตัวอย่างข้าว ผลการทดลอง พบว่า ในกลุ่มข้าวหมากของข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ มีค่า EC_{50} ของสารสกัดในช่วง 0.364-1.032 mg/ml ส่วนกลุ่มข้าวหมากของข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง มีค่า EC_{50} ของสารสกัด ในช่วง 1.129-1.985 mg/ml ซึ่งจากผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีเข้ม คือ สีม่วงดำจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง โดยค่า EC_{50} ของสารสกัดของข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วจะต่ำที่สุดคือ 0.364 mg/ml ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า EC_{50} ของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน BHT ที่มีค่า EC_{50} 0.239 mg/ml ส่วนการตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP พบว่า ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวมีสีหลังการหมักจะมากกว่าข้าวก่อนการหมัก และพบว่า จะมีมากสารสกัดในกลุ่มข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ คือ มีค่าอยู่ในช่วง 14.136-28.018 mgFe (II)/g ส่วนสารสกัดกลุ่มข้าวหมากที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงมีค่าอยู่ในช่วง 7.948-14.667 mgFe (II)/g โดยสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 28.018 mgFe(II)/g โดยไม่พบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในตัวอย่างข้าวหมากทุกตัวอย่างทั้งก่อน และหลังหมัก

5.1.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay

เมื่อทำการย้อมเซลล์ไฟโบร بلاสต์ด้วยสีย้อม Sulforhodamine B ผลการทดลองว่า สารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วยังคงให้สีของ SRB ชัดเจนในทุกความเข้มข้น แสดงว่า เซลล์ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตสูงในทุกความเข้มข้น ส่วนด้านของไซโตเมทริคัลเซลล์เฟต ที่เป็นสารควบคุมบวก พบว่า สีของ SRB เริ่มจางลงที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml และจางลงมากที่สุดที่ความเข้มข้น 1 mg/ml โดยสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วที่ความเข้มข้น ได้แก่ 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 mg/ml มีค่าร้อยละ

การรอดชีวิตของเซลล์ เท่ากับ 105.17 105.82 103.54 103.49 และ 102.29 ตามลำดับ โดยทุกความเข้มข้นไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบร بلاสต์ ส่วนโซเดียมลอริลซัลเฟตที่ความเข้มข้น ได้แก่ 0.0001, 0.001 0.01, 0.1 และ 1 mg/ml มีร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์เท่ากับ 99.43, 96.06, 94.32, 9.85 และ 4.91 ตามลำดับ โดยลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ที่ทดสอบด้วยสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียว ลืมผิวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รูปร่างไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และมีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แต่ลักษณะของเซลล์ไฟโบรพลาสต์ที่ทดสอบด้วยของโซเดียมลอริลซัลเฟต รูปร่างเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะที่ความเข้มข้นที่ 0.1 และ 1.0 mg/ml

5.1.5 ผลการพัฒนานาโนเซิร์มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

5.1.5.1 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

จากผลการทดลองพบว่า ขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนัก เท่ากับ 251.25, 185.52, 176.71, 155.24, 133.01 และ 125.55 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0 และ 100 โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับขนาดอนุภาคของสูตรอื่น ๆ และขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่ ร้อยละ 10-40 โดยน้ำหนักนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการทดลอง พบว่า ในสูตรการเตรียมอนุภาคที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนัก มีค่า PDI เท่ากับ 0.42, 0.36, 0.31, 0.23, 0.21 และ 0.19 ตามลำดับ ในสูตรการเตรียมอนุภาคที่มีปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40 และ 100 โดยน้ำหนักมีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -29.35, -35.53, -32.08, -31.27, -35.45 และ -37.82 mV ตามลำดับ โดยลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะเร่ง พบว่าทุกสูตรมีลักษณะคงตัวไม่แยกชั้น มีลักษณะขุ่นแบบสารละลายคอลลอยด์ สีคล้ายนํ้านม และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน

5.1.5.2 ผลการศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

จากผลการทดลองพบว่า ขนาดอนุภาคของสูตรที่มีปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนัก เท่ากับ 275.62, 223.08 และ 176.23 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนการกระจายขนาดอนุภาคหรือค่า PDI พบว่าที่ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักเท่ากับ 0.55, 0.35 และ 0.22 ตามลำดับ ส่วนค่าศักย์ซีต้าของปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่ร้อยละ 3, 6 และ 9 โดยน้ำหนักเท่ากับ -31.55, -33.54 และ -34.90 mV ตามลำดับ โดยลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะเร่งคือทุกสูตรมีลักษณะคงตัวไม่แยกชั้น มีลักษณะขุ่นมีลักษณะขุ่นแบบสารละลายคอลลอยด์ สีคล้ายนํ้านม และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน

5.1.5.3 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลืมผิวที่มีผลต่ออนุภาคนาโนไขมัน

จากผลการทดลองพบว่า ขนาดอนุภาคของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลืมผิวที่ปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก ขนาดของอนุภาคเท่ากับ 167.32, 233.66, 351.21 และ 383.77 นาโนเมตร ตามลำดับ ค่าการกระจายตัวของอนุภาค หรือค่า PDI ของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลืมผิวของที่ปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่ามีค่า PDI

เท่ากับ 0.22, 0.35, 0.42 และ 0.51 ตามลำดับ พบว่า ค่าศักย์ซีต้าของปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วที่ปริมาณร้อยละ 5, 10, 20 และ 30 โดยน้ำหนัก พบว่า มีค่าศักย์ซีต้า เท่ากับ -34.54, -31.44, -27.35 และ -23.97 mv ตามลำดับ จากลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่าทั้งที่อุณหภูมิห้อง และที่สภาวะแรง พบว่า ปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วร้อยละ 5 และ 10 โดยน้ำหนักจะมีลักษณะคงตัวดีที่สุด คือ มีลักษณะคงตัวไม่แยกชั้น มีลักษณะปั่นแบบสารละลายคอลลอยด์ และไม่เปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยในสูตรที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วร้อยละ 5 จะมีสีคล้ายน้ำนม ส่วน ในสูตรที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วร้อยละ 10 จะมีสีชมพูกะปิ ส่วนในสูตรที่มีปริมาณสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วร้อยละ 20 และ 30 โดยน้ำหนักไม่มีความคงตัวทางกายภาพ

5.1.6 ผลการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์นาโนเซรัม

จากการเปรียบเทียบสูตรต้นแบบนาโนเซรัม 2 สูตร พบว่า นาโนเซรัมสูตร 1 มีความหนืด 19.5 cm/sec และนาโนเซรัมสูตร 2 มีความหนืด 23.5 cm/sec จากผลการตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพผลิตภัณฑ์เซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วของทั้งสองสูตร พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในเชิงลักษณะทางกายภาพ/เคมี เช่น ลักษณะของเนื้อสัมผัส สี/กลิ่น ค่า pH การตกตะกอน ของตัวผลิตภัณฑ์เมื่อทดสอบในสภาวะแรง (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 %RH ระยะเวลา 3 เดือน) และสภาวะปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนการแยกชั้นเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงเดือนที่ 2-3 โดยที่สภาวะแรงจะเกิดการแยกชั้นที่มากกว่าสภาวะปกติ และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ และโลหะหนักในผลิตภัณฑ์

5.1.7 ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซรัมที่พัฒนาขึ้น

จากการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซรัมที่พัฒนาขึ้น พบว่า ค่าดัชนีการระคายเคือง (M.I.I) จากการทดสอบ Closed patch test ของผิวหนัง พบว่า ค่าดัชนีการระคายเคืองของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ 3) ในระยะเวลาที่ 30 นาที และ 4 ชั่วโมง เท่ากับ 0.25 และ 0.27 ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงการตอบสนองที่เป็นปกติของอาสาสมัคร (อยู่ในช่วง $0.20 \leq M.I.I < 0.50$) ส่วนนาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มฝั้วมีค่าดัชนีการระคายเคืองของผิวหนังเท่ากับ 0.02 ซึ่งพบว่า น้อยกว่า 0.20 ซึ่งแปลผลว่าไม่มีความระคายเคืองแก่อาสาสมัคร

5.1.8 ผลการยอมรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมาก

ในด้านกายภาพมีความพึงพอใจสีของผลิตภัณฑ์ และลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์ในระดับมากโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจที่ 3.72 และ 4.04 ตามลำดับ ในด้านการใช้งานมีความพึงพอใจเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย ผลิตภัณฑ์ซิมง่ายสูผิว ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา และผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว ในระดับมากโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจที่ 4.27, 3.86, 3.81 และ 4.40 ตามลำดับ ในด้านประสิทธิภาพมีความพึงพอใจเกี่ยวกับรู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้ รู้สึกผิวนุ่มขึ้นหลังการใช้ และความพึงพอใจโดยรวม ในระดับมากโดยมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจที่ 4.22, 4.04 และ 4.14 ตามลำดับ ซึ่งจากผลความพึงพอใจทั้งหมดพบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.98

5.1.9 ผลการถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชน

ผลการทดสอบความรู้ก่อนและหลังการอบรม พบว่า ค่าคะแนนเฉลี่ยของคะแนนสอบ หลังการอบรมสูงกว่าคะแนนสอบก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ซึ่งแสดงว่า หลังจากที่ถูกกลุ่มตัวอย่างได้เข้ารับการถ่ายทอดเกี่ยวกับการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิว พบว่า กลุ่มตัวอย่างมีความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้น และผลการทดสอบความพึงพอใจในการอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า ผู้เข้าร่วมอบรมมีความพึงพอใจในการอบรมมากที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.87

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

ในการแบ่งชนิดของข้าวโดยทั่วไปมักนิยมแบ่งข้าวโดยใช้ปริมาณอะไมโลสเป็นหลัก ข้าวเจ้าและข้าวเหนียวแตกต่างกันที่ชนิดของแป้ง โดยข้าวเจ้าจะมีปริมาณอะไมโลสมากกว่าข้าวเหนียวมีผลทำให้แป้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียวมีคุณสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์แตกต่างกัน ทำให้มีผลการย่อยแป้ง (Starch) ในเมล็ดด้วยโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodine) โดยแป้งที่ย้อมติดสีน้ำเงิน แสดงว่าเป็นข้าวเจ้า และติดสีน้ำตาล แสดงว่าเป็นข้าวเหนียว เนื่องจากความสามารถในการจับไอโอดีนของแป้งข้าวเจ้าจะมีมากกว่าแป้งข้าวเหนียว ซึ่งมีปริมาณอะไมโลสในแป้งข้าวเจ้ามากกว่าเป็นสาเหตุทำให้ข้าวเจ้าที่สุกมีความเหนียวลดลงหรือร่วนมากขึ้น และทำให้ข้าวนุ่มน้อยกว่าข้าวเหนียวที่สุก (พีรพันธ์ มาป็น สุพรรณิกา ตีบบัน ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย ดำเนิน กาละดี และศันศนีย์ จำจด, 2557) ในข้าวเจ้า และข้าวเหนียวหลายสายพันธุ์มีสารสี หรือรงควัตถุที่ถูกผลิตขึ้นตามธรรมชาติพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของข้าว โดยเฉพาะบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดเรียกว่าข้าวมีสี หรือข้าวสี สารรงควัตถุเหล่านี้ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันไม่ให้แสงอัลตราไวโอเล็ตหรือ ยูวี (UV) ผ่านเข้ามาทำลายสารอาหารที่เป็นประโยชน์ ทำให้เมล็ดข้าวสีมีสารอาหารสะสมอยู่มากกว่า และยาวนานกว่าในข้าวที่ไม่มีสี โดยสีที่เกิดขึ้นเกิดจากการสะสมของรงควัตถุ 3 ชนิดคือ แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอล และโพรแอนโทไซยานิน (Wiryasuk, 2005) สารแอนโทไซยานินในข้าวที่แสดงออกมีตั้งแต่สีแดงไปจนถึงสีม่วง และสีม่วงดำ (Matsuo, Futsuhara, Kikichi & Yamaguchi, 1997) ซึ่งสามารถแบ่งเฉดสีได้ 4 ระดับคือ Colorless, Rose red, Pansy purple, Blackish red purple (Nagao & Takahashi, 1947) ลักษณะของเฉดสีที่แสดงออกขึ้นอยู่กับชนิด และปริมาณของสารสีที่สะสม โดยพบว่าเมล็ดที่มีเยื่อหุ้มสีม่วง และสีม่วงดำ จะมีการสะสมของสารแอนโทไซยานินปริมาณมาก ในขณะที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง และสีน้ำตาลจะมีการสะสมของสารโพรแอนโทไซยานินปริมาณมาก (Furukawa et al., 2007) ซึ่งลักษณะของสีที่แสดงออกมานั้นมีเอ็นที่ควบคุมต่างกัน ในอภิชาติ วรรณวิจิตร (2563) กล่าวว่า รำข้าวเป็นเนื้อเยื่อบาง ๆ ที่ห่อหุ้มเมล็ดมีอยู่ 3 เฉดสี คือ สีน้ำตาล สีแดง และสีม่วงดำ รำข้าวที่มีสีแดงมีรงควัตถุสีแดงอิฐ (cyaniding-3-glucoside) ส่วนรำข้าวที่มีสีม่วงดำ ประกอบด้วยรงควัตถุสีแดงน้ำเงิน (delphinidin-3-glucoside) ปนกันในส่วนต่าง ๆ

ในงานวิจัยที่มีการสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากข้าวส่วนใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่มข้าวที่มีสี นิยมใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำนิยมใช้สกัดสารในกลุ่มที่มีขั้วลดลง เช่น ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในกลุ่มข้าวที่มีสี (Hansakul, Srisawat, Itharat & Lerdvuthisophon, 2011; Rukmana, Soesilo & Rumiayati, 2016) นอกจากนั้นสารแอนโทไซ

ยานินที่พบในข้าวสีม่วงถึงดำยังสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขี้ เช่น น้ำ (Finocchiaro, Ferrari & Gianinetti, 2010; Oki et al., 2002) โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดควรต้องมีความเป็นขี้ที่คล้ายคลึงกับสารสำคัญที่ต้องการสกัด เพราะตัวทำละลายอาจมีผลต่อปริมาณ และองค์ประกอบของสารสกัด อย่างเช่น สารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ที่พบในข้าว (Sopittummakhun & Rattanasinganchan, 2017) มีบางรายงานวิจัย พบว่า เอทานอลสามารถสกัดสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และโปรแอนโทไซยานินออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามได้ดีกว่าเมทานอลที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (Tsuda, Watanabe, Ohshima, Yamamoto, Kawakishi & Osawa, 1994)

จากการศึกษาปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบข้าวหมากข้าวมีสีของข้าวแต่ละสายพันธุ์ พบว่า ภายหลังจากหมักข้าวทุกสายพันธุ์มีมากกว่าก่อนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากกระบวนการหมักข้าวหมากเป็นกระบวนการหมักที่เกิดจากการกระทำของจุลินทรีย์ที่เป็นกระบวนการหมักที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติจากจุลินทรีย์ ได้แก่ ราในลูกแป้ง เช่น *Rhizopus oryzae*, *Mucor* spp., *Aspergillus* spp. หรือ *Amylomyces rouxii* สร้างเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) ออกมาย่อยแป้งในข้าวได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส กาแลกโตส และฟรุกโตส เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยจึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทำให้น้ำที่มีอยู่ซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว จากนั้นยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ที่อยู่ในลูกแป้งจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ รวมถึงมีแบคทีเรีย เช่น *Acetobacter* spp. และ *Gluconobacter* spp. ที่ผลิตกรดแอซิติก *Pediococcus* spp. และ *Lactobacillus* spp. ที่ผลิตกรดแลคติก นอกจากนี้ในลูกแป้งยังมีสมุนไพรร่างต่าง ๆ เช่น กระจี้ยมพริกไทย และ ข่า ที่มีส่วนช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค (Manosroi, Ruksiriwanich, Kietthanakorn, Manosroi & Manosroi, 2011) โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวจะสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในการช่วยย่อยโครงสร้างทางชีวโมเลกุลของข้าว ทำให้สารสำคัญออกมาได้มากที่สุด ซึ่งบางชนิดสามารถสกัดหรือละลายได้ออกมากับน้ำที่เกิดขึ้นภายหลังการหมัก และบางชนิดสามารถถูกสกัดได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อย่างเอทานอล นอกจากนั้นจากผลการทดลองพบว่า ข้าวเหนียวดำหม้อข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ ข้าวเหนียวดำ ข้าวมะลิ นิล ข้าวหอม นิล ข้าวก่ำตอย ข้าวลิ้มผิว ข้าวก่ำ ข้าวสุตบุตร ข้าวหอมมะลิดำ ซึ่งเป็นกลุ่มข้าวที่มีสีเข้มจะมีผลผลิตของสารสกัดหยาบมากกว่ากลุ่มข้าวที่มีสีแดง ซึ่งอาจเนื่องมาจากมีปริมาณของเปลือกหุ้มเมล็ดที่หนามากกว่า อย่างไรก็ตามปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบยังขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและวิธีการสกัดด้วย

จากการประเมินสีของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี ด้วยการวัดค่าความสว่าง โดยวัดค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าสีของสารสกัดข้าวในกลุ่มข้าวมีสีที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงถึงม่วง-ดำจะมีค่าความสว่าง (L^*) น้อยกว่ากลุ่มข้าวมีสีที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีแดง โดยในทุกตัวอย่างของสารสกัดข้าวมีค่าสีแดง (a^*) อยู่ในกลุ่มสีแดงทั้งหมด และมีค่าสีเหลือง (b^*) อยู่ในกลุ่มสีเหลืองทั้งหมด โดยพบว่าถ้าค่า (L^*) และ (b^*) ต่ำ แต่ (a^*) สูงจะมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูง ซึ่งในงานวิจัยของ วาสิณี พงษ์ประยูร และอติกร ปัญญา (2559) ในการศึกษาข้าวกล้องพันธุ์ปราจีนบุรี 1 และปราจีนบุรี 2 ผลการศึกษาพบว่าค่า L^* และ b^* ต่ำ แต่ a^* สูง ทั้ง 2 สายพันธุ์ จะมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูง นอกจากนั้น ในงานวิจัยของ อรุณทิพย์ เหมะธูลิน สกุลกานต์ สิมลา สุรศักดิ์ บุญแต่ง และสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น (2555) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของข้าวโพด ผลการศึกษา พบว่า ค่า L^* น้อย ค่า a^* สูง และค่า b^* ต่ำ มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูง ในงานวิจัย

ของ Pramai & Jiamyangyuen (2016) พบว่า ข้าวมีสีที่มีค่า L^* น้อยจะเป็นข้าวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี

สารสำคัญที่พบในข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสี ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มสารโพลีฟีนอลได้แก่ กรดฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์ โดยในธัญพืชจะกระจายอยู่ตามเอ็นโดสเปิร์มหรือเมล็ดข้าว และที่บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว (Pericarp) โดยพบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมจะมีมากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ข้าว โดยพบในเนื้อเยื่อส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว ร้อยละ 62 และพบที่บริเวณเมล็ดที่อยู่ในช่วง ร้อยละ 92-97 (กาญจนา เสือมัน และคณะ, 2019) นอกจากนี้ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ หรือสีม่วงจะมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าข้าวที่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง (Tian, Nakamura & Kayahara, 2004; Zhou, Robards, Helliwell & Blanchard, 2004) ซึ่ง Zhang et al. (2006) พบว่าสารประกอบ ฟีนอลิก รวมร้อยละ 70-90 พบบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวของข้าวที่มีสีม่วงดำ โดยทั่วไปสารประกอบ ฟีนอลิก จะมีทั้งรูปที่ละลายน้ำได้ (Soluble form) และรูปที่ละลายน้ำไม่ได้ (Insoluble form) ซึ่งพบว่า ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำและสีแดงจะสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูปที่ละลายน้ำได้ และมีปริมาณมากกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาล หรือข้าวกล้อง (Brown rice) และข้าวขัดขาว (Polished rice) (Walter, Marchesan, Massoni, da Silva, Sartori & Ferreira, 2013) นอกจากนี้ในกระบวนการสุกด้วยความร้อนตั้งแต่กระบวนการแช่ข้าว ช้าวข้าว และความร้อนที่ใช้ในการหุงข้าวจะมีผลทำให้ สารฟีนอลิกมีปริมาณลดลงเล็กน้อย (กาญจนา เสือมัน และคณะ, 2019) จากผลการทดลองพบว่าใน ข้าวทุกตัวอย่างเมื่อผ่านกระบวนการหมักเป็นข้าวหมักพบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้น ซึ่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sadabpod, Kangsadalampai & Tongyongk (2010) ที่ได้รายงาน ว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวเหนียวดำหมักมีมากกว่าข้าวหอมนิลหมัก โดยข้าวที่ผ่านการหมักจะมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าข้าวที่เป็นข้าวสาร และที่หุงสุก ส่วนฟลาโวนอยด์จัดอยู่ในกลุ่มของ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) (Lee, Woo, Kim, Son & Jeong, 2007) มีบทบาท สำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหนาม, 2554) โดยพบว่าฟลาโวนอยด์ที่พบในข้าว โดยเฉพาะข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำมี โครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ โกลโคไซด์ชนิดโมโนโกลโคไซด์ (Mono glucoside) เช่น Quercetin-3-O-glucoside, Isorhamnetin-3-O-glucoside และ Myricetin-7-O-glucoside (Srisadka, Wongpornchai & Rayanakorn, 2012) โดย Lee & Chou (2006) รายงานว่ากระบวนการหมักถั่วดำโดยเชื้อรามีส่วนเพิ่มปริมาณของส่วนอะไกลโคน (Aglycone) มากกว่าถั่วที่ไม่มีการหมัก ในงานวิจัยของ นวลอนงค์ เสมสังข์ และวีรพงษ์ จันทะชัย (2559) ที่ได้ ทำการศึกษาศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ และฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบของข้าวไทย 12 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 ข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียว ข้าวเหนียวดำพันธุ์ ลิ้มผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง ข้าวเหนียวดำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด ข้าวเจ้าพันธุ์หอมมะลิ 105 ข้าว เจ้าพันธุ์สินเหล็ก ข้าวเจ้าพันธุ์ชิดไต้เจ้าแปด ข้าวเจ้าแดงพันธุ์หอมมะลิแดง ข้าวเจ้าดำพันธุ์หอมนิล และข้าวเจ้าดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ พบว่าข้าวที่มีสีดำในกลุ่มของข้าวเหนียวดำมีปริมาณฟลาโวนอยด์ และฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบมากกว่ากลุ่มของข้าวเจ้าสีน้ำตาล-แดง โดยข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผัวมี ปริมาณฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบสูงที่สุด และพบว่ากลุ่มข้าวที่

มีม่วงดำ และแดงมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่ากลุ่มข้าวที่มีสีขาวยากกว่า 10 เท่า เนื่องจากรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวเป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ และฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบ

นอกจากนั้นจากผลการทดลองพบว่า โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มผิวมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กัญญา มหาธีรานนท์ (2563) ที่พบว่าข้าวพันธุ์ลิ้มผิวเป็นข้าวที่มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงมาก สูงกว่าข้าวพันธุ์อื่น ๆ โดยศึกษาวิจัย และทดสอบประสิทธิภาพ และได้กรรมวิธีการสกัดสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลจากข้าวที่มีสีดำที่ดีที่สุด โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบจาก ข้าวเก่า ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมนิล และข้าวลิ้มผิว โดยจากทดลองพบว่า ข้าวลิ้มผิวมีปริมาณสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดในการทดลองของ Rahman et al. (2013) พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงปานกลาง สีน้ำตาล และ สีขาว ตามลำดับ โดยแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง (Markakis, 1982) เป็นรงควัตถุที่ทำให้พืชมีสีพบได้ในพืชทั่วไป เช่น ผลไม้ ผัก เมล็ดธัญพืช ซึ่งส่วนใหญ่เป็นชนิดไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (Cyaniding-3-glucoside) โดย Abdel-Aal, Young, & Rabalski (2006) รายงานว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสี เช่น สีแดง และ สีดำ โดยเฉพาะข้าวสีดำจะมีปริมาณแอนโทไซยานินมากซึ่งเป็นชนิดไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ มากที่สุดรองลงมาคือชนิดพีโอนิดิน-3-กลูโคไซด์ (Peonidin- 3-glucoside) โดย Lee (2010) รายงานปริมาณชนิดแมลวอดิน (Malvadin) ที่พบในข้าว โดยในข้าวต่างชนิดกันจะมีปริมาณแอนโทไซยานินที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Chen, Nagao, Itani & Irifune (2012) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากข้าวที่มีสีม่วง-ดำ พบแอนโทไซยานินชนิดไซยานิดิน-3- กลูโคไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จรรย์จิต เฟ็งรัตน์ และสุวัฒน์ เจียรคงมั่ง (2552) ที่พบว่าแอนโทไซยานิน ชนิดที่พบในข้าวสีม่วงกลุ่มอินดิโก้ ซึ่งรวมถึงข้าวเก่าไทย คือไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด ในรายงานของ Mongkontanawat & Lertnimitmongkol (2015) พบว่าปริมาณของแอนโทไซยานิน ของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำจะลดลงในวันที่สามของการหมัก เนื่องจากกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักสามารถเข้าทำลายโครงสร้างของโมเลกุลแอนโทไซยานิน แต่หลังจากนั้นปริมาณของแอนโทไซยานินจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก Sompong, Siebenhandl-Ehn, Linsberger-Martin & Berghofer (2011) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวสีแดง และดำ จากประเทศไทย จีน และศรีลังกา จากการศึกษาพบว่า ในข้าวสีดำทั้ง 3 พันธุ์ที่ศึกษามีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 109.5-256.6 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าข้าวสีแดงทั้ง 9 พันธุ์ที่มีปริมาณแอนโทไซยานิน 0.3-1.4 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง Zhang et al. (2006) ได้รายงานไว้ในข้าวที่มีสีดามีสารแอนโทไซยานินร้อยละ 85 อย่างไรก็ตามปริมาณของแอนโทไซยานินในตัวอย่างข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ จากการทดลองนี้มีปริมาณค่อนข้างน้อย เนื่องจากการทำข้าวหมากต้องมีการนึ่งข้าวด้วยความร้อนก่อนทำการหมัก ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน โดยอัตราการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Rein, 2005) และมีรายงานว่าไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ จะสลายตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในสารละลายกรดอ่อน (pH 1-4) ทั้งสถานะที่มี และไม่มีออกซิเจน (Mercadante & Bobbio, 2008) นอกจากนี้ เนื่องจากงานวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์แอนโทไซยานินที่ละลายน้ำได้ หรือโมโนเมอร์แอนโทไซยานิน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าใน

ข้าวบางสายพันธุ์ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินน้อย อาจมีสารประกอบในรูปแบบอื่นแทน เช่น โพรแอนโทไซยานิน เป็นต้น

จากผลการทดลองตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจะเห็นว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากมีความสอดคล้องกันทั้งการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP คือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างข้าวหมากจะมีมากในสารสกัดข้าวหมากที่เป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม ได้แก่ ข้าวในกลุ่มสีม่วงดำ ซึ่งมีมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง และสอดคล้องกับปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณของสารแอนโทไซยานินของสารสกัดข้าวหมากที่เป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ และสีม่วงซึ่งมีมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง ซึ่งพบว่า ตัวอย่างข้าวหมากจากลิ้มผิวมีปริมาณสารดังกล่าวมากกว่าข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลองเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณสารดังกล่าวจะพบมากขึ้นภายหลังการหมักซึ่งอาจเนื่องมาจากว่าในระหว่างกระบวนการหมักจุลินทรีย์ที่ต่าง ๆ เกิดขึ้นจะเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนกลูโคไซด์ที่ไม่พร้อมทำงาน (Inactive glucosides) ให้เป็นไกลโคไซด์ที่พร้อมทำงาน (Active aglycones) (Plaitho, Kangsadalampai & Sukprasansap, 2013) ส่วน Yan & Asmah (2010) ได้รายงานว่าการประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากตามไปด้วย Suttajit, Immark, Teerajan, Suttajit & Chiyasut (2006) รายงานว่า เมล็ดข้าวกล้องสีดำ และแดง มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก เมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวกล้องสีขาว โดยที่ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าว และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Department of Science Service (2010) ที่พบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงนั้นจะแปรผันตรงกับปริมาณแอนโทไซยานิน เช่น ข้าวก่ำดอยมุเซอมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงถึง 336 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จะมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวสังข์หยดที่มีปริมาณแอนโทไซยานิน 87.46 และ 1.09 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ในรายงานของ Settapramote, Laokuldilok, Boonyawan & Utama-ang (2018); ศิริพร คำชุ่ม (2559) กล่าวว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีสารต้านอนุมูลอิสระ “แอนโทไซยานิน” ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลชนิดหนึ่ง เป็นรงควัตถุสีแดง ดำ หรือม่วง สะสมอยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ด Kaur & Kapoor (2001) รายงานว่าแอนโทไซยานินเป็นสารฟีนอลชนิดหนึ่ง ที่มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมเพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระในชั้นต่อเนื่อง (Chain reaction) นอกจากนี้สารแอนโทไซยานินที่พบในข้าวที่มีสี เช่น ข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นสารประกอบประเภทฟลิวโนล ที่ทำหน้าที่กำจัดสารต้านอนุมูลอิสระ และทำให้ข้าวมีสีม่วงแดง มักอยู่ร่วมกับโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต เรียกว่าไซยานิดิน-3-โอ-เบต้า-ดี-กลูโคไพแรนโนไซด์ (Cyanidin-3-O- beta-D-glucopyranoside) โครงสร้างของแอนโทไซยานินนั้นจะมีอะตอมของไฮโดรเจน เป็นจำนวนมากที่สามารถให้อนุมูลอิสระชนิด DPPH (กาญจนา เสือมัน และคณะ, 2019) เช่นเดียวกับ Welch, Wu & Simon (2008) ได้รายงานว่ามีโมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก 2 วง (วง A และวง B) และมี คาร์บอน 3 อะตอมคั่นกลาง (วง C) โดยมีน้ำตาลมาเกาะที่ C3 ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวชี้ให้เห็นความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidative activity) ที่มีผลมาจากคุณสมบัติการจับกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในวงแหวน Đorđević, Šiler-Marinković &

Dimitrijević-Branković (2010) ได้รายงานว่าการหมักจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าว ซึ่งนอกจากแอนโทไซยานินแล้วข้าวยังมีวิตามินอี และเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ในข้าวหมักที่ทำจากข้าวเหนียวดำจะมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์มากกว่าข้าวเหนียวขาว ได้แก่ “โอลิโกเมอริก โปรแอนโทไซยานิน” (Oligomeric Proanthocyanidins) หรือ OPCs ซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติที่อยู่ในกลุ่มของไบโอฟลาโวนอยด์ และละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระประสิทธิภาพสูง มีสรรพคุณช่วยชะลอการแก่ก่อนวัย และความเสื่อมถอยของร่างกาย ช่วยปกป้องเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายจากการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ รวมถึงมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินซีถึง 20 เท่า และมากกว่าวิตามินอีถึง 50 เท่า โดยสารไอพิจิ ที่พบในข้าวเหนียวดำเป็นสารชนิดเดียวกับสารสกัดที่ได้จากองุ่นดำ องุ่นแดง และเปลือกสน (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ ญัตติ ดนัย สิงห์ศิวธรรม และสุวินัย เกิดทับทิม, 2560) ในงานวิจัยอื่นที่ได้ทำการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในข้าวให้ผลการทดลองใกล้เคียงกัน คือข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีเข้มจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีอ่อนกว่า หรือไม่มีสี (Laokuldilok, Shoemaker, Jongkaewwattana, & Tulyathan, 2011; Nam, Choi, Kang, Koh, Kozukue & Friedman, 2006)

อย่างไรก็ตามพบว่าไม่พบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในตัวอย่างข้าวหมากทุกตัวอย่างทั้งก่อน และหลังหมักซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากในกระบวนการทำความหมักต้องมีการนึ่งข้าวก่อนที่จะทำการหมักโดยอาจจะมีผลทำให้อุณหภูมิไปทำลายคุณสมบัติดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีบางรายงานได้กล่าวว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระ และดอกสมป่อยไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (สุธิรา มณีฉาย และประสพอร รินทอง, 2559) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จันทิมา หอมกลบ สุพนิดา วินิจฉัย หทัยรัตน์ ริมศิริ นคร เหลืองประเสริฐ และวิชัย หฤทัยธนาสันติ (2554) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) จากผลมะขามป้อม พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แต่บางรายงานพบว่าสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ (Kim & Uyama, 2005) เช่น การศึกษาถึงฤทธิ์ของสารฟลาโวนอยด์ที่มีกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้แก่ กราบริน (Glabrene) และไอโซลิกิริจิทินิน (Isoliquiritigenin) ในรากชะเอม (*Glycyrrhiza glabra* L.) (Nerya, Vaya, Musa, Izrael, Ben-arie & Tamir, 2003) โนแรโทคาร์เพทิน (Norartocarpetin) จากเปลือก และรากของพืชตระกูลหม่อน (*Morus ihou*) (Jeong et al., 2009; Ryu, Ha, Curtis-Long, Ryu, Gal & Park, 2008) ทาซิโฟลีน (Taxifolin) จากต้นอ่อนของพืชจำพวกผักแว่น (*Polygonum hydropiper* L.) (Miyazawa & Tamura, 2007) ซึ่งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบในข้าวมีสีเป็นชนิด เควอซิทิน-3-โอ-กลูโคไซด์ (Quercetin-3-O-glucoside) ไอโซรามาเนทิน-3-โอ-กลูโคไซด์ (Isorhamnetin-3-O-glucoside) และไมริเซทิน-3-โอ-กลูโคไซด์ (Myricetin-7-O-glucoside) (Sriseadka, Wongpornchai & Rayanakorn, 2012) ฟลาโวนอยด์อื่น ๆ ที่มีรายงานการให้ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไทโรซิเนส เช่น กาแลนจิน (Galangin) ลูทีโอลิน (Luteolin) ไครซิน (Chrysin) และไบคาลีน (Baicalein) เป็นต้น โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีบทบาทสำคัญต่อ

ขบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจะลดกระบวนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินช่วยป้องกันการสะสมของเมลานิน จึงนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเพื่อทำให้ผิวขาว (พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ, 2544)

ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay ซึ่งเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast) ซึ่งเป็นเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในชั้นผิวหนัง ที่ทำหน้าที่สร้างเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ (Extracellular matrix) และคอลลาเจน (Collagen) ซึ่งจะรวมตัวกันเป็นกรอบโครงสร้าง (Structural framework) ของเนื้อเยื่อในสัตว์ และมนุษย์ ซึ่งเนื้อเยื่อเหล่านี้มีความสำคัญมากสำหรับผิวหนังโดยสามารถรวมตัวกับน้ำได้ดี จึงเป็นส่วนสำคัญในการรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง และอีลาสติน (Elastin) เป็นโปรตีนรูปกระสวยมักเรียงตัวอยู่ติดกับคอลลาเจน มีหน้าที่สำคัญคือยึดเหนี่ยวให้ความแข็งแรง และความยืดหยุ่นแก่ผิวหนัง ถ้าเซลล์เหล่านี้ได้รับความเสียหาย เช่น รังสียูวี (Ultraviolet) จากแสงแดด ที่สามารถลงไปทำลายชั้นผิวทำให้เซลล์ผิวหนังจึงเสียความยืดหยุ่น ความแข็งแรงและส่งผลให้เกิดรอยย่น (Wrinkles) ก่อนวัย (Nilforoushadeh et al., 2017) โดยการที่สารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มผิวไม่ความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ เนื่องจากจากการทดลองที่ผ่านมา พบว่า สารสกัดที่ได้เป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบมากบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวที่มีสีเข้มซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีผลการทดลองสอดคล้องกับหลายงานวิจัย (Lee, Woo, Kim, Son & Jeong, 2007; Shen, Jin, Xiao, Lu & Bao, 2009) ในงานวิจัยของ Chen, Nagao, Itani & Irifune (2012) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของรำข้าวหมากที่ปราศจากแอลกอฮอล์ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และยังคงคุณสมบัติในการยับยั้งเม็ดสีเมลานิน ลดเลือนริ้วรอยทำให้ขาว และทำให้ผิวชุ่มชื้น นอกจากนี้ ในการทดลองน้ำข้าวหมากที่ใช้ข้าวมีสีม่วงที่แตกต่างกันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และยับยั้งกิจกรรม MMP-2 ให้ผลความเป็นพิษต่ำเมื่อทดสอบกับเซลล์ปกติไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์โดยวิธี SRB assay (Manosroi, Boonpisuttinant, Winitchai, Manosroi, & Manosroi, 2011) ในสารสกัดรำข้าวหมากหุลาบของไทยที่ชักนำด้วย UVB เพื่อทดสอบริ้วรอยจากแสง พบว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (Yakaew et al., 2020) ในสารสกัดข้าวสีดำไม่มีผลต่อรูปร่างของเซลล์ และการมีชีวิตของ HaCaT และ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ เนื่องจากสารสกัดข้าวสีดำประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ เช่น ไซยานิดิน-3-โอ-เบต้า-ดี-กลูโคไซด์ (Cyanidin-3-O- β -D-glycoside) and ทาซิโฟลีน-7-โอ-กลูโคไซด์ (Taxifolin-7-O-glucoside) (Han, Bae, Ban, Shin Lee & Chung, 2018) ส่วน Kim et al. (2016) ได้ทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดข้าวที่ 25-100 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งพบว่า ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ และคิราติโนไซต์ และมีหลายงานวิจัยที่รายงานว่าไซเตียมลอริลซัลเฟตเป็นสารที่สามารถก่อให้เกิดการระคายเคืองได้โดยเฉพาะบริเวณผิวหนังชั้นคิราติโนไซต์ (Keratinocytes) และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ แต่ถ้าสัมผัสโดยตรงอาจทำให้เนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงและผิดปกติจนเกิดเนื้อร้ายได้ (Varani et al., 2007; Verhulst, Coiffard, Coiffard, Rivalland & De Roeck-Holtzhauer, 1998) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้เป็นเพียงการตรวจสอบเบื้องต้น (screening method) เท่านั้นเนื่องจากมีปัจจัยอีกหลายชนิดที่มีผลต่อการ

ทดลอง ดังนั้นควรมีการศึกษาวิจัยถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีอื่น ๆ การประเมินความปลอดภัยในสิ่งมีชีวิต (In Vivo) ด้วย

งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร หรือนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแครีเออร์ (Nanostructured Lipid Carriers ; NLCs) ซึ่งอนุภาคนาโนไขมันมีข้อดีกว่าอนุภาคนาโนแบบชนิดอื่น (Rungseevijitprapa, 2011) โดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100-300 นาโนเมตร ซึ่งการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันชนิด NLC ในการวิจัยนี้จะต้องเตรียมแยกที่ละระบบเพื่อทำให้เกิดอิมัลชันก่อน และต้องเป็นอิมัลชันที่มีขนาดหยดวิภาคภายในเล็กระดับนาโนเมตร ซึ่งตัวพาไขมันระดับนาโนที่เกิดขึ้นจากการทำอิมัลชันเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ หรือ Oil in water emulsions (O/W emulsions) ซึ่งทำได้โดยการเตรียมวิภาคน้ำมัน (Oil phase) ก่อนที่มีองค์ประกอบหลัก คือ ไขมันแข็งในงานวิจัยที่ใช้ คือ มอนทานอฟ 82 (Montanov 82) ที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิร่างกาย กับสารลดแรงตึงผิวคือ สเปน 80 (Span 80) และสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ซึ่ง ได้แก่ สารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผัว จากนั้นจึงค่อยเตรียมวิภาคน้ำ (Aqueous phase) ที่มีองค์ประกอบหลัก คือ ไขมันเหลวคือน้ำมันรำข้าว และ สารลดแรงตึงผิวทวิน 20 (Tween 20) เมื่อหลอมรวมสารละลายทั้งสองวิภาคจะต้องนำสารละลายจากวิภาคน้ำเทใส่ลงในวิภาคน้ำมันเพื่อป้องกันการระเหยของสารสำคัญ และต้องใช้อุณหภูมิในการหลอมละลายเดียวกันเท่านั้นในที่นี้คือ 70 องศาเซลเซียส เมื่อเย็นตัวลงจึงจะเกิดเป็นอนุภาคนาโน NLC ที่สมบูรณ์ (Selvamuthukumar & Velmurugan, 2012) โดยไขมันเหลวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ น้ำมันรำข้าว ซึ่งเหตุผลที่ใช้น้ำมันรำข้าวเป็นไขมันเหลว เนื่องจากสารออกฤทธิ์หลักที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้จากสารสกัดจากข้าวซึ่งการเลือกใช้น้ำมันพืชมาเป็นส่วนของไขมันเหลวในระบบอนุภาคนาโนไขมันแบบ NLC นอกจากจะทำให้ได้โครงสร้างของอนุภาคนาโนไขมันตามต้องการแล้วยังควรได้รับฤทธิ์ของน้ำมันจากพืชเหล่านั้นด้วย ซึ่งน้ำมันรำข้าวมีข้อดีหลายประการเนื่องจากมีสารในกลุ่มไฟโตสเตอรอล (Phytosterols) กลุ่มโพลีฟีนอล (Polyphenols) และวิตามินอี ทั้งชนิดโทโคเฟอรอล (Tocopherols) และโทโคไตรอินอล (Tocotrienol) สารเหล่านี้เป็นไขมันที่มีคุณค่าต่อสุขภาพจากการมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ในรำข้าวยังมีสควาลีน (Squalene) ซึ่งมีประโยชน์ต่อผิวหนัง (Qureshi, Sami & Khan, 2002) ในรายงานของ Hu, Jiang, Du, Yuan, Ye & Zeng (2005) ได้ทดลองเพิ่มปริมาณกรดโอเลอิกที่เป็นไขมันเหลวจะมีผลทำให้อนุภาคเล็กลงเนื่องจากไขมันเหลวจะไปช่วยลดความหนืดในอนุภาค NLC ส่งผลให้เกิดการลดของสารลดแรงตึงผิวทำให้อนุภาคที่เตรียมได้เล็กลง ส่วนในงานวิจัยของ Yuan, Wang, Du, You, Hu & Zeng (2007) พบว่าการเพิ่มสัดส่วนของปริมาณกรดโอเลอิกซึ่งเป็นไขมันเหลวในสูตรไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค แต่จะมีผลต่อปริมาณการกักเก็บสารภายในอนุภาค และความสามารถในการปลดปล่อยด้วยสำคัญ เพราะถ้ามีปริมาณมากจะไปลดพื้นที่การ หรือปริมาณการกักเก็บสารออกฤทธิ์ภายในอนุภาค ส่วนสารลดแรงตึงผิวเป็นสารที่ทำให้อนุภาคนาโนไขมันมีความคงตัวที่ดี กระจายตัวไม่มาเกาะรวมกันจนเกิดอิมัลชันที่สมบูรณ์ที่ทำให้อนุภาคไขมันกระจายอยู่ในวิภาคน้ำได้ ซึ่งจะมีผลต่อขนาดของอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค และค่าศักย์ซีต้า ซึ่งชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการเตรียมจะมีผลต่อลักษณะดังกล่าวมา ในงานวิจัยนี้ได้เลือกสารลดแรงตึงผิว 2 ชนิด ได้แก่ สเปน 80 และ ทวิน 20 ซึ่งเป็นชนิดที่มีความปลอดภัยต่อร่างกาย และเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (Non-ionic surfactant) คือไม่แตก

สอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวผสมระหว่างสเปน 80 และทวิน 80 โดยมีโพลีออกซาเมอร์ เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม

อนุภาคนาโนไขมันที่พัฒนาขึ้นมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อการกักเก็บสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ ซึ่งการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันแบบ NLC จะทำให้เกิดการรวมตัวกันของไขมันชนิดแข็งและไขมันชนิดเหลว ซึ่งจะไปทำให้เกิดการรบกวนโครงสร้างผลึกตาข่าย (Lattice defects) ที่ไขมันแข็งและไขมันเหลวสร้างเป็นเมทริกซ์ที่มีความไม่สมบูรณ์จนเกิดช่องว่างที่เป็นพื้นที่ที่ทำให้สารสำคัญถูกกักเก็บไว้ภายในมากขึ้น โดยเฉพาะถ้าสารสำคัญนั้นสามารถละลายได้ดีในไขมันเหลวประสิทธิภาพการกักเก็บจะมากขึ้น โดยสารสำคัญที่พัฒนาได้จากงานวิจัยนี้คือ สารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่มีการฤทธิ์ทางชีวภาพบางประการมาแล้วก่อนหน้านี้ จากนั้นมาพัฒนาต่อเพื่อเป็นอนุภาคนาโนไขมันที่มีการเตรียมด้วยเทคนิค NLC ซึ่งในสูตรการเตรียมอนุภาคของงานวิจัยนี้ มีใช้ตัวทำละลายทรานส์คูทอล (transcutol) ที่ทำหน้าที่ในการสร้างอนุภาคของระบบ NLC ที่เป็นตัวดึงให้สารสำคัญอยู่ในอนุภาคนาโนในส่วนที่เป็นแกนกลาง (Core) ของอนุภาค ซึ่งการเพิ่มขนาดของอนุภาคอาจเกิดจากการที่สารสำคัญเกิดการรวมตัวกับอนุภาค โดยปริมาณสารสำคัญต้องมีความเหมาะสมกับปริมาณไขมันที่ใช้ในการห่อหุ้ม ซึ่งปริมาณสารสำคัญมีมากเกินไป จะทำให้ไขมันไม่สามารถกักเก็บได้และเกิดการปลดปล่อยออกมาภายนอกอนุภาค (Das, Ng & Tan, 2012) ในงานวิจัยของ Yuan, Wang, Du, You, Hu & Zeng (2007) ได้ทำการเตรียมอนุภาคนาโนไขมัน NLC จากกรดสเตียริก ร่วมกับ โมโนสเตียเรต และกรดโอเลอิก กักเก็บฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนจะทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บจะลดลง อนุภาคจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และอนุภาคมีความคงตัวลดลง นอกจากนี้อัตราการปลดปล่อยฮอร์โมนจะเร็วขึ้นเนื่องจากสามารถแทรกผ่านไขมันเหลวคือกรดโอเลอิกออกมาได้ดี ในงานวิจัยของ ขวัญศิริ อุไรวรรณ (2554) ได้ทำการศึกษากการแปรผันปริมาณวิตามินอีที่การกักเก็บในอนุภาค NLC พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บจะลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวิตามินอี เนื่องจากมีปริมาณไขมันที่มาห่อหุ้มไม่เพียงพอ

ตำรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมที่พัฒนาขึ้น 2 สูตรที่แตกต่างกันได้มีการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี พบว่าสูตรที่ 1 มีค่าความหนืดน้อยกว่า เนื่องจากมีปริมาณอนุภาคนาโนสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่มากกว่า นอกจากนั้นทั้ง 2 สูตรยังมีตำรับเบสเซรัมที่แตกต่างกันซึ่งจากการที่สูตรที่ 1 มีปริมาณอนุภาคนาโนสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่มากกว่าย่อมมีผลทำให้เซรัมมีสีม่วงอ่อนหรือสีชมพูกะปิ และมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า ส่วนคุณสมบัติการคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะปกติ และที่สภาวะเร่งพบว่าในเดือนที่ 1 ทั้ง 2 สูตรมีลักษณะการคงตัวที่ดี คือไม่เกิดการแยกชั้นและไม่ตกตะกอน ส่วนเดือนที่ 2 และ 3 ทั้ง 2 สูตรเกิดการแยกชั้นเล็กน้อยและไม่เกิดการตกตะกอนซึ่งอาจเนื่องมาจากสารสำคัญคือ สารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่เป็นองค์ประกอบหลักในผลิตภัณฑ์เมื่อสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมเป็นระยะเวลานานอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สลายตัวและ/หรือประสิทธิภาพของสารนั้นลดลง เป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรูปลักษณะเปลี่ยนไป เช่น สีเข้มขึ้น กลิ่นเปลี่ยนไปจากเดิม หรือ เกิดการแยกชั้นได้ ซึ่งอาจทำให้ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ลดลง ดังนั้นจำเป็นต้องใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์บางชนิด เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาซึ่งก่อผลเสียดังกล่าว โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำ ๆ และอาจใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน

(Antioxidation synergists) บางชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ และลดความเข้มข้นที่ต้องใช้ (เสาวนีย์ กระสานตีสุข และหทัยชนก รุณรงค์, 2549)

การระคายเคืองต่อผิวหนัง (Irritation dermal toxicity) เป็นการแสดงการเกิดอันตรายต่อผิวหนังชนิดที่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้หลังจากที่มีการทดสอบกับสารทดสอบ เพื่อประเมินความปลอดภัยต่อการสัมผัสผลิตภัณฑ์ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธี Patch test เป็นการทดสอบมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบผื่นแพ้สัมผัส (Allergic contact dermatitis) ที่เกิดจากการแพ้สัมผัสสาร หรือวัตถุที่สัมผัสกับภายนอกของร่างกาย ซึ่งจะช่วยในการประเมินการแพ้ การระคายเคืองในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ชนิดต่าง ๆ และสามารถทำการทดสอบได้ง่าย มีความแม่นยำ และน่าเชื่อถือ ส่งผลให้เกิดความปลอดภัยต่อผิวหนังมนุษย์ ซึ่งผลการทดสอบครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผิวไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองบริเวณผิวหนังหลังการรับสัมผัสจากการทดสอบด้วยวิธี Patch test เนื่องจากใช้สารสกัดจากธรรมชาติและส่วนผสมของวัตถุดิบที่เป็นเกรดเครื่องสำอาง จึงไม่ระคายเคือง และปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน ในส่วนของอนุภาคนาโนไขมันที่กักเก็บสารสกัด พบว่าเป็นไขมันที่สามารถย่อยสลายและเข้ากันได้ดีกับร่างกาย นอกจากนี้ได้มีการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ซึ่งผู้ทดสอบมีความพึงพอใจในทุกด้านอยู่ในระดับมาก ส่วนด้านกลิ่นอยู่ในระดับปานกลาง เนื่องจากผู้ทดสอบบางคนได้ให้ข้อเสนอแนะว่ามีกลิ่นของแอลกอฮอล์ที่เป็นกลิ่นเฉพาะของข้าวหมากที่เป็นส่วนผสมหลักของผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่ม โดยแบบประเมินข้อความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัยได้ผ่านตรวจสอบด้วยการพิจารณาความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของงานวิจัยจากผู้ทรงคุณวุฒิ และผ่านการวิเคราะห์หาความเชื่อมั่นที่แสดงว่าแบบสอบถามชุดนี้มีความเชื่อมั่นสูงสามารถนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างได้

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้จัดอบรมเชิงปฏิบัติการโดยการสร้างชุดฝึกอบรม เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิว ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ไปถ่ายทอดความรู้ และอบรมเชิงปฏิบัติการให้แก่ผู้สนใจ โดยให้ผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาร่างแบบชุดฝึกอบรมว่ามีความสอดคล้อง กับวัตถุประสงค์ หรือตัวแปรของการวิจัยเรื่องนี้หรือไม่ และให้ผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาร่างแบบสอบถามความพึงพอใจในการอบรมหลังการอบรม แล้วนำผลมาหาค่าดัชนีความสอดคล้อง หรือ Index of Item-Objective Congruence (IOC) ที่หมายถึงความสอดคล้องระหว่างข้อความคำถามกับวัตถุประสงค์ มีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง -1 ข้อคำถามที่มีความตรงตามเนื้อหาจะมีค่า IOC เข้าใกล้ 1.0 ถ้าข้อใดมีค่า IOC ต่ำกว่า 0.5 ควรจะปรับปรุงข้อความใหม่ให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ที่ต้องการวัด ซึ่งแบบสอบถามความพึงพอใจในการอบรมหลังการอบรมได้ผ่านการวิเคราะห์หาความเชื่อมั่นที่แสดงว่าแบบสอบถามชุดนี้มีความเชื่อมั่นสูงสามารถนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างได้ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (Alpha Coefficient) มากกว่า 0.7 ถือได้ว่าแบบสอบถามฉบับนี้มีความน่าเชื่อถือซึ่งการหาค่าความเชื่อมั่นจากค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาจะใช้กับแบบสอบถามชนิดประมาณค่า (Rating scale) (ศิริชัย กาญจนวาสี, 2554)

การวิเคราะห์คุณภาพของข้อสอบจะวิเคราะห์รายชื่อเพื่อคัดเลือกข้อที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ โดยพิจารณาจากค่าความยาก (P) ที่หมายถึง ร้อยละของจำนวนผู้สอบที่สามารถทำข้อสอบข้อนั้นได้ถูกต้องที่หาได้จากการนำจำนวนของผู้สอบที่ตอบข้อสอบข้อนั้นถูกมาหารด้วยจำนวนผู้เข้าสอบทั้งหมด เช่น ข้อสอบข้อใดมีผู้ตอบถูกร้อยละ 80 ของจำนวนผู้เข้าสอบทั้งหมด หรือค่า P เท่ากับ

0.8 แสดงว่าข้อสอบนั้นง่ายเนื่องจากเป็นข้อที่มีผู้ตอบถูกมาก เป็นต้น นอกจากนี้ยังพิจารณาจากค่าค่าอำนาจจำแนก (R) ที่หมายถึงข้อสอบข้อเดียวกันนำไปใช้สอบกับกลุ่มเก่ง และกลุ่มอ่อน ซึ่งกลุ่มเก่งควรจะทำข้อสอบนั้นถูกต้องมากกว่ากลุ่มอ่อน ยิ่งค่า R มีค่ามากจะบ่งบอกถึงอำนาจในการจำแนกผู้สอบออกเป็นกลุ่มเก่ง และกลุ่มอ่อนได้มาก กล่าวคือกลุ่มอ่อนตอบข้อนั้นผิดหมดทุกคน และกลุ่มเก่งตอบข้อนั้นถูกหมดทุกคน แสดงว่าข้อสอบข้อนั้นจำแนกได้ดี โดยข้อสอบที่ถือว่ามีความดีคือข้อสอบที่มีค่าอำนาจจำแนกตั้งแต่ 0.20 ขึ้นไป นอกจากนี้ยังได้ทำการหาค่าความเชื่อมั่นของแบบทดสอบโดยวิธี KR-20 ของคูเดอร์ – ริชาร์ดสัน (Kuder-Richardson) ซึ่งเหมาะกับข้อสอบแบบเลือกตอบ (ประสพชัย พสุนนท์, 2557)

จากผลการทดสอบความรู้ก่อน และหลังการอบรมพบว่าค่าคะแนนเฉลี่ยของคะแนนสอบหลังการอบรมสูงกว่าคะแนนสอบก่อนอบรม เนื่องจากผู้อบรมได้มีการปฏิบัติกรอบรมด้วยตัวเองโดยมีผู้วิจัยได้ทำการอธิบายขั้นตอนโดยละเอียด และมีการตอบข้อซักถาม รวมถึงมีการอภิปรายเพื่อเสริมสร้างความรู้ความเข้าใจแก่ผู้อบรมมากยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความพึงพอใจในการอบรมเชิงปฏิบัติการที่พบว่าผู้เข้าร่วมอบรมมีความพึงพอใจในการอบรมมากที่สุด

5.3 ข้อเสนอแนะ

- 5.3.1 ควรมีการศึกษาตัวทำละลายที่และวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด
- 5.3.2 ควรศึกษาเพิ่มเติมในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์
- 5.3.3 ควรเพิ่มการตรวจวัดค่าการลดเลือนรีวรอยของผิวหนัง

GRAD VRU

บรรณานุกรม

- กรมการข้าว. (2562). **องค์ความรู้เรื่องข้าว**. สืบค้นจาก <http://www.brrd.in.th/rkb/>
- กรมการข้าว. (2563). **องค์ความรู้เรื่องข้าว**. สืบค้นจาก <http://brrd.ricethailand.go.th/rkb2/varieties/index.php.htm>
- กรณีการ แจ่มศักดิ์. (2549). **การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าข้าวว่านนางคำต่อการยับยั้งผลของรังสีอัลตราไวโอเล็ตในการกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของสีผิว**. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.
- กัญญา มหาธีรานนท์. (2563). **ธัญโอสธ ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผิวจากอาหารทรงคุณค่าสู่ชาเปี่ยมคุณประโยชน์**. สืบค้นจาก <https://www.chiangmainews.co.th/page/archives/992645/>
- กาญจนา เสือมัน และคณะ. (2019). การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมดอกมะลิ 105. **PSRU Journal of Science and Technology**. 4(3), 95-108.
- การันต์ ผึ้งบรรหาร มารุต เมี้ยนเทศ วาสนา กีบสนเทียะ และชนิรัตน์ ผึ้งบรรหาร. (2559, กรกฎาคม). ผลของความแตกต่างระดับความสูงพื้นที่ปลูกต่อลักษณะคุณภาพเมล็ดข้าวพันธุ์ลิ้มผิว. ใน **การประชุมวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ราชธานีวิชาการ ครั้งที่ 1**, 311-317. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยราชธานี.
- กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ**. 3(1), 85-93.
- เกศริน แก้วมณี และวัชรีย์ หาญเมืองใจ. (2558, เมษายน). การผลิต และการทดสอบประสิทธิภาพสัมผัสของข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก. ใน **การประชุมวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัย ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6**, 89-100. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- เกสรีย์ กลิ่นสุคนธ์ อุดมลักษณ์ สุขอืดตะ ประภัสสร รักษาวรร และลลิตา คชารัตน์. (2559, กุมภาพันธ์). การศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 54**, 849-856. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ขวัญศิริ อุไรวรรณ. (2554). การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดงาด้วยวิธี **Melt-emulsification**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จรัญจิต เพ็งรัตน์ และสุวัฒน์ เจียรคงมั่น. (2552, มิถุนายน). “ข้าวเหนียวดำ” หลากประโยชน์ หลายแนวคิด เสริมเศรษฐกิจไทย สู่อสากล. ใน **การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552**, 325-342. ชลบุรี: กรมการข้าว.

จันทิมา หอมกลบ สุพนิดา วินิจฉัย หทัยรัตน์ ริมศิริ นคร เหลืองประเสริฐ และวิชัย หฤทัยนาสันติ. (2554, กุมภาพันธ์). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตตจากผลมะขามป้อมจากแหล่งในประเทศไทย. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**, 91-99. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฬารณณ์ เลิศบวรวงศ์. (2554). บทบาทและการตรวจวัดกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในอาหารตามธรรมชาติ. **วารสารอาหาร**. 41(1), 39-49.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มา และกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์**. 1, 59-70.

เขาวนิพร ชีพประสพ หาสันต์ สาเหล็ม และฤทัยทิพ อโนมณี. (2560). องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณอะไมโลสในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง. **Progress in Applied Science and Technology**. 7(2), 84-97.

ณัฐนันท์ อยู่สถิตย์ และชญาดา กลิ่นจันทร์. (2559, ธันวาคม). การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในใบสะระแหน่ ใบทับทิม และใบว่านแร้งคอดำเพื่อแปรรูปเป็นชาสมุนไพร. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 3**, 322-338. กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

ณัฐินี ตั้งศรีอนุกุล. (2551). ผลของวิธีการทำแห้งและภาวะการเก็บรักษาต่อปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากข้าวกล้องหอมมะลิแดง *Oryza sativa L.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดวงเดือน วัฒนานุกรักษ์. (2564). องค์ประกอบทางเคมีของข้าวหมากจากข้าวมีสีพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้ลูกแป้ง จากแป้งข้าวเจ้าสำเร็จรูป. **วารสารวิจัยและพัฒนาโลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 16(2), 1-14.

ดวงเดือน วัฒนานุกรักษ์ ศศมล ผาสุข และวีระพงษ์ แสง-ชูโต. (2561, มิถุนายน). สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสี. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบันครั้งที่ 6**, 582-588. สมุทรปราการ: มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

ดำเนิน กาละดี พันธิพา พงษ์เพ็ญจันทร์ และศันสนีย์ จำจด. (2543). พันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- ทองจุล ชันขาว. (2554). **ข้าวหมากอาหารโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ**. สืบค้นจาก <http://www.thongjoon.com/2011/10/blog-post.html>
- ไทยรัฐฉบับพิมพ์. (2560). **มะลิตำ..หนองคาย ัญญโอสถพันธุ์ใหม่**. สืบค้นจาก <https://www.thairath.co.th/content/1149287>
- ธนกร อำนวนยกิจ. (2552). เวชสำอาง. **วารสารไทยเภสัชศาสตร์ และวิทยาการสุขภาพ**. 4(1), 94-110.
- ธีรศักดิ์ อุ่นอารมย์เลิศ. (2549). **เครื่องมือวิจัยทางการศึกษา: การสร้างและการพัฒนา**. นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- นวลอนงค์ เสมสังข์ และวีรพงษ์ จันทะชัย. (2559). **ปริมาณฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวไทย**. (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นิธิยา รัตนพานนท์. (2544). **หลักการแปรรูปอาหารเบื้องต้น**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- นิธิศ แสงอรุณ และคณะ. (2553, พฤษภาคม). **ข้าวเหนียวดำมีสีพันธุ์พื้นเมืองสายพันธุ์ดีเด่นภาคใต้ข้าวเหนียวดำช่อไม้ไผ่ (PTNC96004-49) ข้าวเหนียวดำหมอ (PTNC96051-37) ข้าวเหนียวดำต้นดำใบดำ (PTNC96071-39) และข้าวเหนียวแดงกรมแดง (PTNC96059-61)**. ใน **การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคใต้ ประจำปี 2553**, 19-23. สงขลา: กรมการข้าว.
- เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรื่องวิริยะชัย. (2557). **การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องต้มน้ำผลไม้**. **วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา)**. 14(4), 69-79.
- เนติ วรรณุช. (2559). **นาโนเทคโนโลยีและสมุนไพรไทย: ศักยภาพสู่อุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอาง**. **การประชุมวิชาการประจำปี สวทช. ครั้งที่ 12** กรุงเทพฯ.
- บังอร ศรีพานิชกุลชัย. (2559). **นาโนเทคโนโลยีและสมุนไพรไทย: ศักยภาพสู่อุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง**. **การประชุมวิชาการประจำปี สวทช. ครั้งที่ 12** กรุงเทพฯ.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์. (2556). **อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 21(3), 275-286.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (2559). **เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559**. สืบค้นจาก <https://www.thaicosmetic.org/index.php/2-uncategorised/7-2017-01-05-11-12-46>
- ประสพชัย พสุนนท์. (2557). **ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม ในการวิจัยเชิงปริมาณ**. **วารสารปาริชาติ**. 27(1), 145-163.
- ปรีชา เมียนเพชร. (2548). **ข้าวสังข์หยด ข้าวสุขภาพ**. **การสัมมนาทางวิชาการเรื่องธุรกิจ ข้าวไทยอนาคตของคนรุ่นใหม่**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- พรวนิช เจริญพุทธคุณ และชนะเศรษฐ์ ง้าวหรือพัฒนา. (2557). การประยุกต์นาโนสตรักเจอร์ลิปิด แครีเออร์ในการนำส่งยา. **ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ**. 9(4), 222–227.
- พัชรภรณ์ รัตนธรรม ญัฐฐา เลาทกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2556). สารประกอบฟีนอลิกแอนโทไซยานินและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องสีงอก. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 44(2) (พิเศษ), 441-444.
- พิชานันท์ ปัญญาเหลือ จูริมาศ ฉลาดมาก และภัทราภรณ์ แก้วกุล. (2556, กรกฎาคม). ขนมหินจากแป้งข้าวกล้องงอกเนียงกว. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ครั้งที่ 5**, 1287-1291. นครปฐม: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธยา รัตนานนท์. (2560). **Phenolic compounds/สารประกอบฟีนอล**. สืบค้นจาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธยา รัตนานนท์. (2563). **Flour/แป้ง**. <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0324/flour-แป้ง>
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. (2544). **เครื่องสำอางสำหรับผิวหน้า**. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พรีนันท์ มาป็น, สุพรรณิกา ตีบขัน, ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย, ดำเนิน กาละดี และ ศันศินีย์ จำจด. (2557). การคัดเลือกในข้าวต้นเพื่อลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดและปทุมธานี 1. **วารสารนเรศวรพะเยา**. 7(2), 160-171.
- ภัทรวัดน์ มณีวัฒนภิญโญ. (2559). **การเตรียมสารสกัดหอมแดงบรรจุในอนุภาคนาโนไขมันสำหรับประยุกต์ใช้ทางเวชสำอางวิทยาลัยเภสัชศาสตร์** (รายงานผลการวิจัย). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรังสิต.
- มนต์ชัย เทียนทอง. (2545). **มัลติมีเดียและหลักการออกแบบบทเรียนคอมพิวเตอร์ช่วยสอนแบบมัลติมีเดีย**. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- ยศพร พลายนโ. (2559). ฤทธิ์การป้องกันภาวะเครียดจากออกซิเดชันในเซลล์ลำไส้มนุษย์ ของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผิว. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ฉบับพิเศษ)**. 24(5), 814-830.
- ธมชัย ช่างศรี กรรณิกา นากลาง ณราวุฒิ ปิโยชาติสกุลชัย ธาณี ชื่นบาน และทรงชัย วัฒนพ่ายกุล. (2551). ข้าวต่างสีสายพันธุ์ดีของศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์. **แก่นเกษตร 36 (ฉบับพิเศษ 2551)**. 91-97.

- ราตรี นันทสุนทร. (2554). การวิจัยในชั้นเรียน และการวิจัยพัฒนาการเรียนการสอน. กรุงเทพฯ : จุดทอง.
- ฤทธิพันธ์ รุ่งเรือง จรัสฟ้า โหมตสุวรรณ นภาพรณ์ แซ่ลี้ ณิชฐพล ไช้แสงศรี อรพิน เกิดชูชื่น และ ณิชฐา เลาทกุลจิตต์. (2561). ผลของพีเอชต่อการสกัดแอนโธไซยานิน และสารต้านอนุมูลอิสระของข้าวทับทิมชุมแพ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ). 49(2), 225-228.
- วรวิร์ วิทยา. (2558). ข้าวลิ้มผิว. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 60(2), 1-15.
- วรัมพา สุวรรณรัตน์. (2554). การศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1 เรื่องความปลอดภัยของสารสกัดตำรับยาเบญจโลก วิเชียร (หาราก) และสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของตำรับ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วรางคณา ไตรยศุทธิ์ อรุณพร อิฐรัตน์ พัลลภ จักรวิทย์ธำรง และภุริทัต กนกกั้งสดาล. (2559). การก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังของสารสกัดแอลกอฮอล์ดีป्लीในอาสาสมัครสุขภาพดี. ธรรมศาสตร์เวชสาร. 16(4), 608-615.
- วัชรีย์ หาญยิ่ง. (2549). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในกลไกของการเกิดมะเร็ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 34(3), 199-208.
- วาสนีย์ พงษ์ประยูร และอดิกร ปัญญา. (2559). ลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาคศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ด ข้าวขึ้น และข้าวน้ำลึกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. (รายงานผลการวิจัย). พะเยา: มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วิภพ สุทนต์. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของพลาไวโนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. ศรีนครินทร์เวชสาร. 28(4), 567-582.
- ศิริชัย กาญจนวาสี. (2554). การเลือกใช้สถิติที่เหมาะสมสำหรับการวิจัย. กรุงเทพฯ: บุญศิริการ พิมพ์.
- ศิริพันธ์ พุทธลา รจเรขา วรณศรี สุนิดา คำหาม ทรงพร จึงมั่นคง และวันดี รังสิวิจิตรประภา. (2554, กุมภาพันธ์). น้ำมันรำข้าวในรูปแบบ Nanostructure lipid carrier (NLC) เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นผิว. ใน งานประชุมวิชาการ ระดับชาติ The 3rd annual northeast pharmacy research conference. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ศิริพร คำชุ่ม อุทัยวรรณ ฉัตรธง และเกตุการ ดาจันทร์. (2558, กุมภาพันธ์). สารประกอบฟีนอล แอนโธไซยานิน และการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหมาก. ใน การประชุมวิชาการ “พิบูลสงครามวิจัย”, 177-183. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (ส่วนวังจันทร์).
- ศิริพร คำชุ่ม. (2559). การพัฒนาเครื่องต้มข้าวหมากจากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

ศิริพร โอโกโนกิ. (2561). **อนุภาคนาโนของสารออกฤทธิ์จากพืช**. กรุงเทพฯ: โอ เอส พรีนติ้งเฮ้าส์.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2561). **ข้าวไรซ์เบอร์รี่**. สืบค้นจาก

<http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/articles-rice-rsc-rgdu-knowledge/29-2015-03-27-02-04-15/53-riceberry>.

สมพร สีนธารา. (2544). **การแยก การจัดจำแนก และการเก็บรักษายีสต์และราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าของไทย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัณชัย ยอดมณี. (2552). **คุณภาพของข้าวพื้นเมืองมีสีภาคใต้ของประเทศไทย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร และโภชนาการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำเร็จ แซ่ตัน. (2550, มีนาคม). **ข้าวพันธุ์แรก: สิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (GI) ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง. ใน การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี 2550, 237-244. กรุงเทพฯ: กรมการข้าว**

สุธิตา อินทรโม และสุนันท์ ฉันทสุวรรณ. (2560). **การพัฒนาระบบนาส่งเปปไทด์ในรูปแบบไขมันขนาดนาโนสำหรับเครื่องสำอางต้านริ้วรอย**. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุธิรา มณีฉาย และประสพอร รินทอง. (2559). **ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อย**. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 44(1), 142-152.

เสาวนีย์ กระสานตีสุข และหทัยชนก รุณรงค์. (2549). **การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว**. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

อภิชาติ เนินพลับ อัจฉรา ณ ลำปาง เนินพลับ พจน์ วัจนะภูมิ และพงศา สุขเสริม. (2553, มีนาคม). **ข้าวเหนียวพันธุ์ “ลิ้มผิว” พันธุ์กรรมข้าวอนุรักษ์เพื่อคุณค่าทางโภชนาการ. ใน การสัมมนาวิชาการ กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือ ตอนบนและภาคกลางตอนล่าง ประจำปี 2553, 187-197. พิษณุโลก: กรมการข้าว**.

อภิชาติ วรรณวิจิตร. (2563). **ข้าวสีและสารสำคัญเพื่อสุขภาพและความงามจากภายใน**. สืบค้นจาก <https://dna.kps.ku.ac.th/>

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ ณัฐดนัย สิงห์คสิวรรณ และสุวินัย เกิดทับทิม. (2560). **การสร้างตู๋บ่มลูกแป้งและการแปรรูปกัมมีเยลลี่จากข้าวหมากผสมสมุนไพร เพื่อเป็นขนมเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและใช้เป็นผลิตภัณฑ์ชุมชน**. (รายงานผลการวิจัย). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

- อรุณทิพย์ เหมะธูลิน สกฤตกานต์ สิมลา สุรศักดิ์ บุญแต่ง และสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น. (2555). ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (L^* , a^* และ b^*) กับปริมาณแอนโทไซยานินในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 40(4), 59-64.
- อรุษา เขาวนลิขิต. (2554). การสกัด และวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. **วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ(สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)**. 3(6), 26-36.
- อิศเรศ ปัญญา. (2561). **การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดบัวบก**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล ชุตินุช สุจริต และนพรัตน์ วงศ์หิรัญเดชา. (2555, ธันวาคม). คุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสังข์หยดพัทลุง. ใน **การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9**, 2361-2369. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- เอกพล ลิ้มพงษ์ นภักดิ์ ใจภักดี และศิริรัตน์ ตีศีลธรรม. (2014). การตั้งตำรับและประเมินผลิตภัณฑ์พอกหน้าเตรียมจากข้าวหอมมะลิไทย. **KKU Research Journal**. 19(6), 905-915.
- An, S., Ham, H., Choi, E., Shin, M., An, S., Kim, H., & Koh, J. (2014). Primary irritation index and safety zone of cosmetics: retrospective analysis of skin patch tests in 7440 Korean women during 12 years. **International journal of cosmetic science**. 36(1), 62-67.
- Abd Razak, D. L., Abd Rashid, N. Y., Jamaluddin, A., Sharifudin, S. A., & Long, K. (2015). Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. 4(1), 33-38.
- Abdel-Aal, E.-S. M., Young, J. C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. **Journal of agricultural and food chemistry**. 54(13), 4696-4704.
- Aditya, N., Shim, M., Lee, I., Lee, Y., Im, M.-H., & Ko, S. (2013). Curcumin and genistein coloaded nanostructured lipid carriers: in vitro digestion and antiprostata cancer activity. **Journal of agricultural and food chemistry**. 61(8), 1878-1883.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 90(17), 7915-7922.

- An, S. M., Ham, H., Choi, E. J., Shin, M. K., Kim, H. O., & Koh, J. S. (2013). Primary irritation index and safety zone of cosmetics: retrospective analysis of Skin Patch tests in 7440 Korean women during 12 years. **International Journal of Cosmetic Science**. 36(1), 62-67.
- Aramaki, J., Kawana, S., Effendy, I., Happle, R., & Löffler, H. (2002). Differences of skin irritation between Japanese and European women. **British Journal of Dermatology**. 146(6), 1052-1056.
- Bae-Harboe, Y. S. C., & Park, H. Y. (2012). Tyrosinase: a central regulatory protein for cutaneous pigmentation. **Journal of Investigative Dermatology**. 132(12), 2678-2680.
- Balamurugan, K., & Chintamani, P. (2018). Lipid nano particulate drug delivery: An overview of the emerging trend. **Pharma Innovation Journal**. 7, 779-789.
- Belitz, H. D., & Groesch, W. (1999). **Food Chemistry**. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Buddeen, M. (2018). **Optimization, Stability and Characterization of Face serum Formulaion**. Master of Engineering Divisions: Chemical and Energy Engineering Universiti Teknologi Malaysia, Johor.
- Bunjes, H., Koch, M. H., & Westesen, K. (2003). Influence of emulsifiers on the crystallization of solid lipid nanoparticles. **Journal of pharmaceutical sciences**. 92(7), 1509-1520.
- Cassidy, A., Mukamal, K. J., Liu, L., Franz, M., Eliassen, A. H., & Rimm, E. B. (2013). High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. **Circulation**. 127(2), 188-196.
- Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Somwongin, S., Marsup, P., Lee, K.-H., Lin, W.-C., & Lue, S.-C. (2020). Dermal Delivery Enhancement of Natural Anti-Ageing Compounds from *Ocimum sanctum* Linn. Extract by Nanostructured Lipid Carriers. **Pharmaceutics**. 12(4), 309.
- Chakuton, K., Puangpronpitag, D., & Nakornriab, M. (2012). Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars. **Asian Journal of Plant Sciences**. 11(6), 285-293.

- Chen, X. Q., Nagao, N., Itani, T., & Irifune, K. (2012). Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. **Food Chemistry**. 135(4), 2783-2788.
- Cheng, K. C., Khoo, Z. S., Lo, N. W., Tan, W. J., & Chemmangattuvalappil, N. G. (2020). Design and performance optimisation of detergent product containing binary mixture of anionic-nonionic surfactants. **Heliyon**. 6(5), e03861.
- Choi, H.-K., Lim, Y.-S., Kim, Y.-S., Park, S.-Y., Lee, C.-H., Hwang, K. W., & Kwon, D. Y. (2008). Free-radical-scavenging and tyrosinase-inhibition activities of Cheonggukjang samples fermented for various times. **Food Chemistry**. 106(2), 564-568.
- Cornish, M. L., & Garbary, D. J. (2010). Antioxidant from microalgae: potential application in human health and nutrition. **Free Radical Biology & Medicine**. 25, 155-171.
- Das, S., Ng, W. K., & Tan, R. B. (2012). Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. 47(1), 139-151.
- De Llanos, R., Querol, A., Pemán, J., Gobernado, M., & Fernández-Espinar, M. T. (2006). Food and probiotic strains from the *Saccharomyces cerevisiae* species as a possible origin of human systemic infections. **International journal of food microbiology**. 110(3), 286-290.
- DeNigris, J. (2020). **Top 7 Reasons To Consider Zeta-Potential (Zetasizer) And On-Line Zeta-Potential (Zetasizer WT) For Coagulation Dose Control**. Retrieved from <https://www.materials-talks.com/blog/2020/08/27/top-7-reasons-to-consider-zeta-potential-for-coagulant-dose-control/>
- Department of Science Service. (2010). **Anthocyanin**. Ministry of Science and Technology. (in Thai), Bangkok.
- Đorđević, T. M., Šiler-Marinković, S. S., & Dimitrijević-Branković, S. I. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. **Food Chemistry**. 119(3), 957-963.

- Ebanks, J. P., Wickett, R. R., & Boissy, R. E. (2009). Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration. **International Journal of Molecular Sciences**. 10(9), 4066-4087.
- Fang, J. (2015). Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects. **Nutrition**. 31(11-12): 1301-1306.
- Fathi, M., Mozafari, M. R., & Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in food science & technology**. 23(1), 13-27.
- Finocchiaro, F., Ferrari, B., & Gianinetti, A. (2010). A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. **Journal of Cereal Science**. 51(1), 28-34.
- Freitas, C., & Müller, R. H. (1998). Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. **International journal of pharmaceuticals**. 168(2), 221-229.
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and pro-oxidant activity of phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**. 48, 3597-3604.
- Furukawa, T., et al. (2007). The Rc and Rd genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. **The Plant Journal**. 49(1), 91-102.
- Ghodrati, M., Farahpour, M. R., & Hamishehkar, H. (2019). Encapsulation of Peppermint essential oil in nanostructured lipid carriers: In-vitro antibacterial activity and accelerative effect on infected wound healing. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 564, 161-169.
- Gregorio, G. B. (2002). Progress in breeding for trace minerals in staple crops. **The Journal of nutrition**. 132(3), 500S-502S.
- Griffin, S. P., & Bhagooli, R. (2004). Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 302(2), 201-211.

- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition research**. 23(12), 1719-1726.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft matter**. 12(11), 2826-2841.
- Han, M., Bae, J. S., Ban, J. J., Shin, H. S., Lee, D. H., & Chung, J. H. (2018). Black rice (*Oryza sativa* L.) extract modulates ultraviolet-induced expression of matrix metalloproteinases and procollagen in a skin cell model. **International journal of molecular medicine**. 41(5), 3073-3080.
- Hansakul, P., Srisawat, U., Itharat, A., & Lerdvuthisophon, N. (2011). Phenolic and flavonoid contents of Thai rice extracts and their correlation with antioxidant activities using chemical and cell assays. **Journal of the Medical Association of Thailand**. 94, S122-130.
- Hemmati, M., Ghasemzadeh, A., Haji Malek-kheili, M., Khoshnevisan, K., & Koochi, M. K. (2016). Investigation of acute dermal irritation/corrosion, acute inhalation toxicity and cytotoxicity tests for Nanobiocide®. **Nanomedicine Research Journal**. 1(1), 23-29.
- Hidayat, M. A., Sari, P., & Kuswandi, B. (2018). Simple scanometric assay based on DPPH immobilized on pharmaceutical blister for determination of antioxidant capacity in the herbal extracts. **Journal of Research in Pharmacy**. 22, 134-143.
- Hu, F.-Q., Jiang, S.-P., Du, Y.-Z., Yuan, H., Ye, Y.-Q., & Zeng, S. (2005). Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 45(3-4), 167-173.
- Inagaki, S., Kato, T., Mori, S., & Fujita, T. (2013). Composition and Antioxidant Activity of Rice Fermented with Saccharifying Organisms from Asian Countries. **Food Science and Technology Research**. 19(5), 893-899.
- Iqbal, S., Bhangar, M., & Anwar, F. (2005). Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**. 93(2), 265-272.

- Jeong, S. H., et al. (2009). Tyrosinase inhibitory polyphenols from roots of *Morus lhou*. **Journal of agricultural and food chemistry**. 57(4), 1195-1203.
- Jez, J. M., Bowman, M. E., Dixon, R. A., & Noel, J. P. (2000). Structure and mechanism of the evolutionarily unique plant enzyme chalcone isomerase. **Nature structural biology**. 7(9), 786-791.
- Johansen, J. D., et al. (2015). European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing—recommendations on best practice. **Contact dermatitis**. 73(4), 195-221.
- Jong-Hwei, P., Wen-Rou, W., Tomohiro, H., Takashi, Y., & Tzu-Ya, C. (2011). Up-regulation of tight junction-related proteins and increase of human epidermal keratinocytes barrier function by *Saccharomyces* ferment filtrate. **Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications**. 1(1), 15-24.
- Kalaycıoğlu, Z., & Erim, F. B. (2017). Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. **Food Chemistry**. 221, 496-507.
- Kannasood, P., Rimkeeree, H., Winitchai, S., & Tadakittisarn, S. (2015, February). Development of cleansing serum containing niosome of riceberry bran oil. In **The 53rd Kasetsart University Annual Conference, Bangkok (Thailand)**, 978-986. Bangkok: Kasetsart University.
- Kanto, H., et al. (2013). Optimal patch application time in the evaluation of skin irritation. **The Journal of dermatology**. 40(5), 363-369.
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. **International journal of food science & technology**. 36(7), 703-725.
- Kim, Y.-J., & Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. **Cellular and molecular life sciences CMLS**. 62(15), 1707-1723.
- Kim, Z.-H., et al. (2016). Evaluation of the wound-healing activity of rice cell extracts in vitro. **Microbiology and Biotechnology Letters**. 44(3), 285-292.
- Kligman, A. M. (2000). Cosmetics: a dermatologist looks to the future: promises and problems. **Dermatologic clinics**. 18(4), 699-709.

- Krambeck, K., et al (2021). Design and characterization of Nanostructured lipid carriers (NLC) and Nanostructured lipid carrier-based hydrogels containing *Passiflora edulis* seeds oil. **International journal of pharmaceutics**. 600, 120444.
- Kupski, L., Cipolatti, E., Rocha, M. D., Oliveira, M. D. S., Souza-Soares, L. D. A., & Badiale-Furlong, E. (2012). Solid-state fermentation for the enrichment and extraction of proteins and antioxidant compounds in rice bran by *Rhizopus oryzae*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 55(6), 937-942.
- Laokuldilok, T., Shoemaker, C. F., Jongkaewwattana, S., & Tulyathan, V. (2011). Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. **Journal of agricultural and food chemistry**. 59(1), 193-199.
- Larson, R. A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969-978.
- Lazzè, M. C., et al. (2004). Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. **Carcinogenesis**. 25(8), 1427-1433.
- Lee, I.-H., & Chou, C. C. (2006). Distribution profiles of isoflavone isomers in black bean kojis prepared with various filamentous fungi. **Journal of agricultural and food chemistry**. 54(4), 1309-1314.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC international**. 88(5), 1269-1278.
- Lee, J. H. (2010). Identification and quantification of anthocyanins from the grains of black rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Science and Biotechnology**. 19(2), 391-397.
- Lee, Y.-R., Woo, K.-S., Kim, K.-J., Son, J.-R., & Jeong, H.-S. (2007). Antioxidant activities of ethanol extracts from germinated specialty rough rice. **Food Science and Biotechnology**. 16(5), 765-770.
- Li, P., Dai, Y. N., Zhang, J. P., Wang, A. Q., & Wei, Q. (2008). Chitosan-alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. **International journal of biomedical science**. 4(3), 221.
- Li, Y., Zhang, T., & Chen, G. Y. (2018). Flavonoids and colorectal cancer prevention. **Antioxidants**. 7(12), 187.

- Lima, P. A., Rampazo, C. A., Costa, A. F., Rodrigues, T., Watashi, C. M., & Durán, N. (2017). **Natural lipids in nanostructured lipid carriers and its cytotoxicity.** Paper presented at the Journal of Physics: Conference Series.
- Mahdavi, H., Kermani, Z., Faghihi, G., Asilian, A., Hamishehkar, H., & Jamshidi, A. (2006). Preparation and evaluation of cosmetic patches containing lactic and glycolic acids. **Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology.** 72(6), 432.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition.** 79(5), 727-747.
- Manosroi, A., Boonpisuttinant, K., Winitchai, S., Manosroi, W., & Manosroi, J. (2011). Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of Physic Nut (*Jatropha curcas* Linn.) seed oil entrapped in niosomes. **Current Nanoscience.** 7(5), 825-829.
- Manosroi, A., Ruksiriwanich, W., Kietthanakorn, B. O., Manosroi, W., & Manosroi, J. (2011). Relationship between biological activities and bioactive compounds in the fermented rice sap. **Food research international.** 44(9), 2757-2765.
- Markakis, P. (1982). **Anthocyanins as food colors.** New York: Academic Press.
- Martínez-Castillo, M., et al. (2018). Flavonoids as a natural treatment against *Entamoeba histolytica*. **Frontiers in cellular and infection microbiology** 8, 209.
- Mason, T. (1992). Industrial sonochemistry: potential and practicality. **Ultrasonics.** 30(3), 192-196.
- Matsuo, T., Futsuhara, Y., Kikichi, F., & Yamaguchi, H. (1997). Science of the rice plant. **Food and Agriculture Policy research Center.** 318.-336.
- Mercadante, A., & Bobbio, F. (2008). Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties. **Food colorants: Chemical and functional properties.** 1, 241-276.
- Miyazawa, M., & Tamura, N. (2007). Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade). **Biological and Pharmaceutical Bulletin.** 30(3), 595-597.

- Moko, E., Purnomo, H., Kusnadi, J., & Ijong, F. (2014). Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. **International Food Research Journal**. 21(3), 1017.
- Mongkontanawat, N., & Lertnimitmongkol, W. (2015). Product development of sweet fermented rice (Khao-Mak) from germinated native black glutinous rice. **Journal of Agricultural Technology**. 11(2), 501-515.
- Moon, J.-K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of agricultural and food chemistry**. 57(5), 1655-1666.
- Nagao, S., & Takahashi, M. (1947). Genetic studies on rice plant. VI. Experimental studies on genetic of anthocyanin coloration in rice. **Japan Journal of Genetics**. (Supp.1), 1-27.
- Nam, S. H., Choi, S. P., Kang, M. Y., Koh, H. J., Kozukue, N., & Friedman, M. (2006). Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. **Food Chemistry**. 94(4), 613-620.
- Naseri, N., Valizadeh, H., & Zakeri-Milani, P. (2015). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: structure, preparation and application. **Advanced pharmaceutical bulletin**. 5(3), 305.
- Nerya, O., Vaya, J., Musa, R., Izrael, S., Ben-Arie, R., & Tamir, S. (2003). Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. **Journal of agricultural and food chemistry** 51(5), 1201-1207.
- Nilforoushzadeh, M. A., et al. (2017). Dermal fibroblast cells: biology and function in skin regeneration. **Journal of Skin and Stem Cell**. 4(2).
- Nilsuwankosit, P., Suwansichon, T., Winitchai, S., & Rimkeeree, H. (2014, February). Development of facial treatment serum product containing niosome of fibroin hydrolysate from Eri silk cocoon. In **The Agricultural Sciences: Leading Thailand to World Class Standards. Proceedings of the 52nd Kasetsart University Annual Conference**, 348-355. Bangkok: Kasetsart University (Thailand).
- Oki, T., et al. (2002). Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. **Journal of agricultural and food chemistry**. 50(26), 7524-7529.

- Palumbo, A., Poli, A., Di Cosmo, A., & D'Ischia, M. (2000). N-Methyl-D-aspartate receptor stimulation activates tyrosinase and promotes melanin synthesis in the ink gland of the cuttlefish *Sepia officinalis* through the nitric oxide/cGMP signal transduction pathway: a novel possible role for glutamate as physiologic activator of melanogenesis. **Journal of Biological Chemistry**. 275(22), 16885-16890.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**. 2(5), 270-278.
- Pardeike, J., Hommoss, A., & Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International journal of pharmaceuticals**. 366(1-2), 170-184.
- Pardeike, J., & Müller, R. H. (2007). Coenzyme Q10-loaded NLCs: preparation, occlusive properties and penetration enhancement. **Pharmaceutical Technology Europe**. 19(7): 46-9.
- Parveen, S., Misra, R., & Sahoo, S. K. (2012). Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**. 8(2), 147-166.
- Pekal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. **Food Analytical Methods**. 7(9), 1776-1782.
- Piao, L. Z., Park, H. R., Park, Y. K., Lee, S. K., Park, J. H., & Park, M. K. (2002). Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. **Chemical and pharmaceutical bulletin**. 50(3), 309-311.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. **Journal of natural products**. 63(7), 1035-1042.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., & Namasivayam, V. (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**. 32(1), 403-425.
- Plaitho, Y., Kangsadalampai, K., & Sukprasansap, M. (2013). The protective effect of Thai fermented pigmented rice on urethane induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Medicinal Plants Research**. 7(2), 91-98.

- Ponce, M. (1992). In vitro cultured human skin cells as alternatives to animals for skin irritancy screening. **International journal of cosmetic science**. 14(6), 245-264.
- Pornputtapitak, W., Pantakitcharoenkul, J., Panpakdee, R., Teeranachaideekul, V., & Sinchaipanid, N. (2018). Development of γ -oryzanol rich extract from Leum Pua glutinous rice bran loaded nanostructured lipid carriers for topical delivery. **Journal of oleo science**. 67(2), 125-133.
- Pramai, P., & Jiamyangyuen, S. (2016). Chemometric classification of pigmented rice varieties based on antioxidative properties in relation to color. **Songklanakarin Journal of Science & Technology**. 38(5).
- Qureshi, A. A., Sami, S. A., & Khan, F. A. (2002). Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. **The Journal of nutritional biochemistry**. 13(3), 175-187.
- Rahman, M. M., et al. (2013). The genetic constitutions of complementary genes Pp and Pb determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. **Journal of Plant Biology**. 56(1), 24-31.
- Rapalli, V. K., et al. (2020). Curcumin loaded nanostructured lipid carriers for enhanced skin retained topical delivery: optimization, scale-up, in-vitro characterization and assessment of ex-vivo skin deposition. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. 152, 105438.
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.
- Rukmana, R. M., Soesilo, N. P., & Rumiayati, P. R. (2016). The effect of ethanolic extract of black and white rice bran (*Oryza sativa* L.) on cancer cells. **Indonesian Journal of Biotechnology**. 21(1), 63-69.
- Rungseevijitprapa, W. (2011). **Solid lipid nanoparticles (SLN) for drug and cosmetic delivery**. Ubonratchathani: Ubonratchathani university press.
- Ryu, Y., Ha, T., Curtis-Long, M., Ryu, H., Gal, S., & Park, K. (2008). Inhibitory effects on mushroom tyrosinase by flavones from the stem barks of *Morus lhou* (S.) Koidz. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**. 23(6), 922-930.

- Sadabpod, K., Kangsadalampai, K., & Tongyonk, L. (2010). Antioxidant activity and antimutagenicity of Hom Nil rice and black glutinous rice. **Journal of Health Research**. 24(2), 49-54.
- Schmidt, C. G., Gonçalves, L. M., Prietto, L., Hackbart, H. S., & Furlong, E. B. (2014). Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. **Food Chemistry**. 146, 371-377.
- Scott, D., Poston, R., Wilson, R., Coward, P., & Palmer, R. (2005). The influence of vitamin C on systemic markers of endothelial and inflammatory cell activation in smokers and non-smokers. **Inflammation Research**. 54(3), 138-144.
- Selvamuthukumar, S., & Velmurugan, R. (2012). Nanostructured lipid carriers: a potential drug carrier for cancer chemotherapy. **Lipids in health and disease**. 11(1), 1-8.
- Selwyn, M. (2011). **Serums and Moisturizers**. Retrieved from <http://voices.yahoo.com/serums-vs-moisturizers-8377517.html>
- Settapramote, N., Laokuldilok, T., Boonyawan, D., & Utama-ang, N. (2018). Physicochemical, antioxidant activities and anthocyanin of riceberry rice from different locations in Thailand. **Food and Applied Bioscience Journal**. 6 (Special), 84-94.
- Shahidi, F., & Ho, C. (2005). **Phenolic compounds in foods and natural health products**. American Chemical Society.
- Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., & Beta, T. (2014). Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. **Food Chemistry**. 143, 90-96.
- Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y., & Bao, J. (2009). Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**. 49(1), 106-111.
- Skehan, P., et al. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**. 82(13), 1107-1112.
- Solano, F., Briganti, S., Picardo, M., & Ghanem, G. (2006). Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. **Pigment cell research**. 19(6), 550-571.

- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G., & Berghofer, E. (2011). Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**. 124(1), 132-140.
- Sopittummakhun, K., & Rattanasinganchan, P. (2017). Extraction and determination of antioxidant activity in herbal plant. **Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal**. 3(1), 86-93.
- Souto, E., Wissing, S., Barbosa, C., & Müller, R. (2004). Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**. 58(1), 83-90.
- Priseadka, T., Wongpornchai, S., & Rayanakorn, M. (2012). Quantification of flavonoids in black rice by liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**. 60(47), 11723-11732.
- Sutharut, J., & Sudarat, J. (2012). Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. **International Food Research Journal**. 19(1).
- Suttajit, M., Immark, S., Teerajan, S., Suttajit, S., & Chiyasut, C. (2006). Antioxidative activity and polyphenol content in different varieties of Thai rice grains. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**. 15, s78.
- Thongdeeying, P., Kitsiripipat, J., Ruangnoo, S., Pibanpaknatee, P., & Itharat, A. (2017). Cytotoxic activity of Samhannachan recipe and its ingredients against lung cancer cell. **Thammasat Medical Journal**. 17(4), 565-573.
- Tian, J., et al. (2007). Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. **ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery**. 2(1), 129-136.
- Tian, S., Nakamura, K., & Kayahara, H. (2004). Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of agricultural and food chemistry**. 52(15), 4808-4813.
- Tirasarot, J., & Thanomwong, C. (2015). Production of healthy beverage from "Homnil" rice. **KKU Science Journal**. 43, 395-402.
- Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Yamamoto, A., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1994). Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**. 42(12), 2671-2674.

- Üner, M. (2006). Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier systems. **Die pharmazie-an International Journal of Pharmaceutical Sciences**. 61(5), 375-386.
- USDA. (2008). **USDA commodity requirements: CSB13, corn-soy blend for use in export programs. US; DA**. Retrieved from https://www.fsa.usda.gov/Internet/FSA_File/csb13_110507.pdf
- Vajrabhaya, L.O., & Korsuwannawong, S. (2018). Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine B (SRB) assays. **Journal of Analytical Science and Technology**. 9(1), 1-6.
- Varani, J., Perone, P., Spahlinger, D. M., Singer, L. M., Diegel, K. L., Bobrowski, W. F., & Dunstan, R. (2007). Human skin in organ culture and human skin cells (keratinocytes and fibroblasts) in monolayer culture for assessment of chemically induced skin damage. **Toxicologic pathology**. 35(5), 693-701.
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of agricultural and food chemistry**. 46(10), 4113-4117.
- Verhulst, C., Coiffard, C., Coiffard, L. J., Rivalland, P., & De Roeck-Holtzhauer, Y. (1998). In vitro correlation between two colorimetric assays and the pyruvic acid consumption by fibroblasts cultured to determine the sodium laurylsulfate cytotoxicity. **Journal of pharmacological and toxicological methods**. 39(3), 143-146.
- Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature protocols**. 1(3), 1112.
- Walter, M., Marchesan, E., Massoni, P. F. S., da Silva, L. P., Sartori, G. M. S., & Ferreira, R. B. (2013). Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing. **Food research international**. 50(2), 698-703.
- Wang, L. S., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer letters**. 269(2), 281-290.

- Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., & Awad, T. (2008). Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. **Food biophysics**. 3(2), 146-154.
- Welch, C. R., Wu, Q., & Simon, J. E. (2008). Recent advances in anthocyanin analysis and characterization. **Current analytical chemistry**. 4(2), 75-101.
- Wiriyasuk, K. (2005). **Regulation of genes controlling grain anthocyanin and proanthocyanin (condensed tannins) accumulation in rice**. Master' Thesis of Science field Genetics Engineering Kasetsart University.
- Yakaew, S., Phimmuan, P., Tiensomjit, K., Nakyai, W., Nuengchamnon, N., Ross, G., & Viyoch, J. (2020). Hom-Kularb-Dang rice bran extract for the prevention of UVB-damage against human skin fibroblast. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**. 19(1), 34-50.
- Yan, S., & Asmah, R. (2010). Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. **International Food Research Journal**. 17(2), 417-423.
- Yuan, H., Huang, L.-F., Du, Y.-Z., Ying, X.-Y., You, J., Hu, F.-Q., & Zeng, S. (2008). Solid lipid nanoparticles prepared by solvent diffusion method in a nanoreactor system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 61(2), 132-137.
- Yuan, H., Wang, L.-L., Du, Y.-Z., You, J., Hu, F.-Q., & Zeng, S. (2007). Preparation and characteristics of nanostructured lipid carriers for control-releasing progesterone by melt-emulsification. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 60(2), 174-179.
- Zhai, F.-H., Wang, Q., & Han, J.-R. (2015). Nutritional components and antioxidant properties of seven kinds of cereals fermented by the basidiomycete *Agaricus blazei*. **Journal of Cereal Science**. 65, 202-208.
- Zhang, L., Gao, W., Chen, X., & Wang, H. (2014). The effect of bioprocessing on the phenolic acid composition and antioxidant activity of wheat bran. **Cereal chemistry**. 91(3), 255-261.
- Zhang, M., et al. (2006). Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**. 5(6), 431-440.

- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**. 64(4), 555-559.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2004). The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**. 87(3), 401-406.



GRAD VRU



ภาคผนวก

GRAD VRU



ภาคผนวก ก
รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ
และผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง

GRAD VRU

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ

ชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ	ตำแหน่ง
อาจารย์ณรงค์ฤทธิ์ หล้าพันธ์	อาจารย์ประจำสาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย ราชภัฏพระนคร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพรรณ อาสา	อาจารย์ประจำสาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย ราชภัฏพระนคร
อาจารย์จันทร์รัตน์ จาริกสกุลชัย	อาจารย์ประจำสาขาวิชาสุขภาพและความงาม มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ดร.ปองเดช กวินปัลย์	ผู้บริหารโรงเรียนโรงเรียนศึกษาศิลปะ และเทคนิคการแต่งหน้า กรรมการบริหารบริษัท เมคอัพอาร์ต จำกัด Formulatorบริษัท เมคอัพอาร์ต จำกัด
นางสาววันทนา ติดชัย	ผู้ช่วยผู้จัดการแผนกพัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัท บลัช บิวตี้ (ไทย) จำกัด
อาจารย์ ดร.ธันยธร ตินภาพ	สาขาวิชาการจัดการธุรกิจค้าปลีก มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์หรรษา เวียงวะลัย	อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์เบญจางค์ อัจฉริยะโพธา	อาจารย์ประจำสาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ	ตำแหน่ง
อาจารย์ ดร.บุษยา จูงาม	อาจารย์ประจำสาขาวิชาอาชีวอนามัยและความปลอดภัย มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
อาจารย์ ดร.มัทนภรณ์ ใหม่คามิ	รองผู้อำนวยการสำนักส่งเสริมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์



GRAD VRU

แบบการประเมินข้อความที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีผัว

การตรวจสอบข้อความโดยผู้เชี่ยวชาญ หรือผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาความสอดคล้องของข้อความที่ตรงตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย และกรอกผลการพิจารณาดัชนีความสอดคล้อง (Index of Item-Objective Congruence; IOC) ระหว่างคำถามรายข้อกับวัตถุประสงค์ หรือจุดประสงค์ที่ต้องการวัด โดยผู้เชี่ยวชาญต้องประเมินด้วยคะแนน 3 ระดับคือ

- +1 แน่ใจว่าข้อความของเครื่องมือนี้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 0 ไม่แนใจว่าข้อความของเครื่องมือนี้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 1 แน่ใจว่าข้อความของเครื่องมือนี้ไม่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

ข้อความความพึงพอใจต่อ ผลิตภัณฑ์	คะแนนของผู้เชี่ยวชาญ			
	+1	0	-1	ข้อเสนอแนะ
ด้านกายภาพ				
1. สีของผลิตภัณฑ์				
2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์				
3. ลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์				
ด้านการใช้งาน				
4. ผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย				
5. ผลิตภัณฑ์ซึ่มง่ายสู่ผิว				
6. ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา				
7. ผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว				
ด้านประสิทธิภาพ				
8. รู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้				
9. รู้สึกผิวนุ่มขึ้นหลังการใช้				
10. ความพึงพอใจโดยรวม				

GRAD VRU

ผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง
แบบการประเมินข้อความที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรามิกจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่ว

ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์	ผลการพิจารณาของผู้ทรงคุณวุฒิ					ผลรวมของคะแนน ΣR	ค่า $IOC = \frac{\Sigma R}{N}$	ผลการพิจารณา
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5			
ด้านกายภาพ								
1. สีของผลิตภัณฑ์	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
3. ลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
ด้านการใช้งาน								
4. ผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย	1	1	1	1	0	4	0.8	สอดคล้อง
5. ผลิตภัณฑ์ซึมง่ายสู่ผิว	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
6. ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา	1	0	1	1	1	4	0.8	สอดคล้อง
7. ผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
ด้านประสิทธิภาพ								
8. รู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
9. รู้สึกผิวเนียนนุ่มขึ้นหลังการใช้	1	1	1	0	1	4	0.8	สอดคล้อง
10. ความพึงพอใจโดยรวม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง

การวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์โดยวิธีหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (α - Coefficient) หาค่าความเชื่อมั่นโดยการทดสอบค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach)

กลุ่มทดลอง	ข้อที่ 1	ข้อที่ 2	ข้อที่ 3	ข้อที่ 4	ข้อที่ 5	ข้อที่ 6	ข้อที่ 7	ข้อที่ 8	ข้อที่ 9	ข้อที่ 10	X	X ²
1	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	47	2209
2	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	47	2209
3	4	5	4	4	4	4	4	4	5	5	43	1849
4	2	3	3	3	3	2	3	2	2	5	28	784
5	4	5	3	5	3	4	4	3	2	2	35	1225
6	4	5	4	4	4	4	4	4	5	5	43	1849
7	5	5	2	2	2	4	5	5	5	4	39	1521
8	2	3	3	3	2	2	2	5	5	4	31	961
9	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	47	2209
10	4	5	4	4	4	4	4	4	5	5	43	1849
11	2	3	3	3	3	2	3	2	2	5	28	784
12	4	5	3	5	3	4	4	3	2	2	35	1225
13	5	5	2	2	2	2	2	2	5	4	31	961
14	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	47	2209
15	2	3	3	3	3	2	3	2	2	5	28	784

กลุ่ม ทดลอง	ข้อที่ 1	ข้อที่ 2	ข้อที่ 3	ข้อที่ 4	ข้อที่ 5	ข้อที่ 6	ข้อที่ 7	ข้อที่ 8	ข้อที่ 9	ข้อที่ 10	X	X ²
16	2	3	3	3	3	2	3	2	2	5	28	784
17	5	2	2	2	4	2	2	5	5	4	33	1089
18	5	2	2	2	4	4	2	2	5	4	32	1024
19	5	5	2	2	4	4	2	2	5	4	35	1225
20	5	4	4	2	2	5	2	5	5	5	39	1521
Σx	80	83	67	69	66	67	69	72	82	84	739	28271
S_i²	1.50	1.23	1.13	1.45	0.61	1.03	1.35	1.74	1.89	0.76	12.68	

การทดสอบความเชื่อมั่น (Reliability) ได้นำแบบสอบถามไปปรับปรุงก่อนเก็บข้อมูลจริงกับกลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเหมือนกับกลุ่มที่ศึกษาวิจัยโดยนำไปทดสอบ (Pre-test) กับนักศึกษาเพศหญิง ชั้นปีที่ 4 ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 20 คน จากนั้นได้นำมาวิเคราะห์หาความเชื่อมั่นโดยการทดสอบค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของครอนบาค (Cronbach's reliability coefficient alpha) โดยหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (Alpha coefficient) ตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach, 1970) ดังนี้

จากสูตรการคำนวณ

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_i^2}{s_t^2} \right\}$$

เมื่อ

α คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม

n คือ จำนวนข้อของแบบสอบถาม

S_i^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามรายข้อ

S_t^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามทั้งฉบับ

แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} S_t^2 &= \frac{(20 \times 28271) - (739 \times 739)}{(20 \times 20)} \\ &= \frac{565420 - 546121}{400} \\ &= \frac{19299}{400} \end{aligned}$$

$$s_t^2 = 48.24$$

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_t^2}{s_t^2} \right\}$$

แทนค่า

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{10}{10-1} \left\{ 1 - \frac{12.68}{48.24} \right\} \\ &= 1.11 \times (1 - 0.26) \\ &= 1.11 \times 0.74 \\ &= 0.82 \end{aligned}$$

จากค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาที่คำนวณได้มีค่า 0.82 แสดงว่าแบบสอบถามชุดนี้มีค่าความเชื่อมั่นสูง สามารถนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างได้

GRAD VRU

แบบสอบถามความพึงพอใจของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมาก

วิธีการ

ตอนที่ 1 ข้อมูลพื้นฐาน กรุณาเติมข้อมูลลงในช่องว่าง

วัน/เดือน/ปีที่ทดสอบ.....

รหัสอาสาสมัคร.....อายุ.....ระดับการศึกษา.....อาชีพ.....

ตอนที่ 2 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์

1. คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ดมกลิ่นและทาบางอย่างที่ผิว
2. ประเมินความพึงพอใจโดยการทำเครื่องหมาย \checkmark ในช่องว่างที่กำหนดให้
(ระดับความพึงพอใจ น้อยที่สุด = 1 คะแนน, มากที่สุด = 5 คะแนน)

ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์	ระดับความพึงพอใจ				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
ด้านกายภาพ					
1. สีของผลิตภัณฑ์					
2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์					
3. ลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์					
ด้านการใช้งาน					
4. ผลิตภัณฑ์เกลี่ยง่าย					
5. ผลิตภัณฑ์ซึมง่ายสู่ผิว					
6. ผลิตภัณฑ์ไม่เหนอะหนะหลังทา					
7. ผลิตภัณฑ์ไม่ทิ้งคราบบนผิว					
ด้านประสิทธิภาพ					
8. รู้สึกผิวชุ่มชื้นหลังการใช้					
9. รู้สึกผิวนุ่มขึ้นหลังการใช้					
10. ความพึงพอใจโดยรวม					

แบบการประเมินข้อคำถามความพึงพอใจในการอบรม

การตรวจสอบข้อคำถามโดยผู้เชี่ยวชาญ หรือผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาความสอดคล้องของข้อคำถามที่ตรงตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย และกรอกผลการพิจารณาดัชนีความสอดคล้อง (Index of Item-Objective Congruence; IOC) ระหว่างคำถามรายข้อกับวัตถุประสงค์ หรือจุดประสงค์ที่ต้องการวัด โดยผู้เชี่ยวชาญต้องประเมินด้วยคะแนน 3 ระดับคือ

- +1 แน่ใจว่าข้อคำถามของเครื่องมือที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 0 ไม่แน่ว่าข้อคำถามของเครื่องมือที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 1 แน่ใจว่าข้อคำถามของเครื่องมือที่ไม่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

ลำดับ	รายการ	คะแนนของผู้เชี่ยวชาญ			
		+1	0	-1	ข้อเสนอแนะ
ด้านกระบวนการ/ขั้นตอนการให้บริการ					
1.	ความเหมาะสมของเนื้อหาสาระในการอบรม				
2.	ความเหมาะสมของเอกสารประกอบการอบรม				
3.	ความเหมาะสมของกิจกรรมการอบรม				
4.	ความเหมาะสมของระยะเวลาในการฝึกอบรม				
ด้านเจ้าหน้าที่ผู้ให้บริการ					
5.	ความสามารถในการถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร				
ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก					
6.	ความเหมาะสมของสถานที่ที่ใช้ในการอบรม				
7.	ความเหมาะสมของอุปกรณ์และสื่อทัศนูปกรณ์				
ด้านคุณภาพการบริการ					
8.	ความรู้ และประโยชน์ในการเข้ารับการอบรม				
9.	ความสามารถนำความรู้จากการอบรมไปใช้ได้จริง				
10.	ความพึงพอใจต่อการอบรมโดยภาพรวม				

ผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง
แบบการประเมินข้อความที่มีต่อความพึงพอใจในการอบรม

รายการประเมิน	ผลการพิจารณาของผู้ทรงคุณวุฒิ					ผลรวม ของ คะแนน ΣR	ค่า IOC = $\frac{\Sigma R}{N}$	ผลการ พิจารณา
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5			
ด้านกระบวนการ/ขั้นตอนการให้บริการ								
1. ความเหมาะสมของเนื้อหาสาระในการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
2. ความเหมาะสมของเอกสารประกอบการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
3. ความเหมาะสมของกิจกรรมการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
4. ความเหมาะสมของระยะเวลาในการฝึกอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
ด้านเจ้าหน้าที่ผู้ให้บริการ								
5. ความสามารถในการถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก								
6. ความเหมาะสมของสถานที่ที่ใช้ในการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
7. สถานที่ที่ใช้ในการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
ด้านคุณภาพการบริการ								
8. ความรู้ และประโยชน์ในการเข้ารับการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
9. ความสามารถนำความรู้จากการอบรมไปใช้ได้จริง	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง
10. ความพึงพอใจต่อการอบรมโดยภาพรวม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง

การวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นของแบบสอบถามความพึงพอใจโดยวิธีหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (α – Coefficient) หาค่าความเชื่อมั่นโดยการทดสอบค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach)

กลุ่มทดลอง	ข้อที่ 1	ข้อที่ 2	ข้อที่ 3	ข้อที่ 4	ข้อที่ 5	ข้อที่ 6	ข้อที่ 7	ข้อที่ 8	ข้อที่ 9	ข้อที่ 10	X	X ²
1	5	4	5	4	5	5	5	5	5	4	47	2209
2	5	4	4	4	4	4	5	5	4	4	43	1849
3	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	49	2401
4	5	5	4	4	4	5	5	5	4	4	45	2025
5	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	42	1764
6	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	47	2209
7	4	5	5	4	5	4	5	5	4	5	46	2116
8	5	4	4	5	4	5	5	5	5	5	47	2209
9	4	5	5	5	5	4	4	5	5	5	47	2209
10	4	4	4	5	4	5	5	5	5	4	45	2025
11	4	5	4	4	4	4	4	4	5	5	43	1849
12	3	5	4	4	5	5	4	5	4	4	43	1849
13	4	5	4	4	3	5	4	4	4	5	42	1764
14	5	4	4	5	4	4	4	5	5	4	44	1936
15	4	5	5	5	4	5	4	5	4	4	45	2025
16	5	5	5	5	5	5	4	5	5	4	48	2304
17	4	5	4	4	4	5	5	3	4	5	43	1849
18	4	4	4	3	4	5	5	4	4	3	40	1600
19	4	5	3	5	3	4	4	3	2	2	35	1225
20	2	3	3	3	3	2	3	2	2	5	28	784
ΣX	85	92	85	86	83	89	90	89	85	85	869	38201
S_i^2	0.59	0.34	0.39	0.41	0.43	0.55	0.35	0.75	0.79	0.59	5.17	

การทดสอบความเชื่อมั่น (Reliability) ได้นำแบบสอบถามไปปรับปรุงก่อนเก็บข้อมูลจริงกับกลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเหมือนกับกลุ่มที่ศึกษาวิจัยโดยนำไปทดสอบ (pre-test) กับประชาชนตำบลบ้านเกาะ อำเภอบางไทร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จำนวน 20 คน จากนั้นได้นำมาวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นโดยการทดสอบค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของครอนบาค (Cronbach's reliability coefficient alpha) โดยหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา (Alpha coefficient) ตามวิธีการของครอนบาค (Cronbach, 1970) ดังนี้

จากสูตรการคำนวณ

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_i^2}{s_t^2} \right\}$$

เมื่อ

α คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม

n คือ จำนวนข้อของแบบสอบถาม

s_i^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามรายข้อ

s_t^2 คือ ความแปรปรวนของแบบสอบถามทั้งฉบับ

แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} s_t^2 &= \frac{(20 \times 38201) - (869 \times 869)}{(20 \times 20)} \\ &= \frac{764020 - 755161}{400} \\ &= \frac{8859}{400} \\ s_t^2 &= 22.14 \end{aligned}$$

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left\{ 1 - \frac{\sum s_i^2}{s_t^2} \right\}$$

แทนค่า

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{10}{10-1} \left\{ 1 - \frac{5.17}{22.14} \right\} \\ &= 1.11 \times (1 - 0.23) \\ &= 1.11 \times 0.76 \\ &= 0.84 \end{aligned}$$

จากค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาที่คำนวณได้มีค่า 0.84 แสดงว่าแบบสอบถามชุดนี้มีค่าความเชื่อมั่นสูง สามารถนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างได้

แบบการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง
เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่อง การทำลูกแบ่งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัว

คำชี้แจง ขอความกรุณาท่านผู้ทรงคุณวุฒิหรือท่านผู้เชี่ยวชาญ ช่วยพิจารณาร่างเอกสารว่ามีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์หรือตัวแปรของการวิจัยเรื่องนี้หรือไม่ ด้วยการให้คะแนนในแต่ละข้อคำถามดังนี้

- +1 แน่ใจว่าข้อคำถามของเครื่องมือนี้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 0 ไม่แน่ใจว่าข้อคำถามของเครื่องมือนี้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์
- 1 แน่ใจว่าข้อคำถามของเครื่องมือนี้ไม่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

หัวข้อพิจารณา	ผลการพิจารณาของผู้ทรงคุณวุฒิ					ข้อเสนอแนะ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5	
1. เนื้อหาครอบคลุมเรื่องที่อบรม						
2. ความถูกต้องของเนื้อหา						
3. กิจกรรมการอบรม						

GRAD VRU

ผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง
เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่อง การทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว

หัวข้อพิจารณา	ผลการพิจารณาของผู้ทรงคุณวุฒิ					ผลรวม ของ คะแนน ΣR	ค่า $IOC = \frac{\Sigma R}{N}$	ผล การ พิจารณา
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5			
1. เนื้อหาครอบคลุมเรื่อง ที่อบรม	1	1	1	0	1	4	0.8	ปรับ เนื้อหา
2. ความถูกต้องของ เนื้อหา	1	1	1	1	0	4	0.8	ปรับ เนื้อหา
3. กิจกรรมการอบรม	1	1	1	1	1	5	1	สอดคล้อง

GRAD VRU

แบบประเมินความพึงพอใจในการผู้อบรม
โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว
บรรยายโดย นางดวงเดือน วัฒนานุรักษ์

ตอนที่ 1 ข้อมูลพื้นฐาน

1. เพศ ชาย หญิง
 2. อายุ 20-30 31-40 41-50 51-60 61-70 70 ขึ้นไป

ตอนที่ 2 คำชี้แจง กรุณาใส่เครื่องหมาย ✓ ลงในช่องว่างตามระดับความพึงพอใจที่ท่านได้รับ

- 5 หมายถึง มากที่สุด 4 หมายถึง มาก
 3 หมายถึง ปานกลาง 2 หมายถึง น้อย
 1 หมายถึง น้อยที่สุด

ลำดับ	รายการ	ระดับความพึงพอใจ				
		มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
ด้านกระบวนการ/ขั้นตอนการให้อบรม						
1.	ความเหมาะสมของเนื้อหาสาระในการอบรม					
2.	ความเหมาะสมของเอกสารประกอบการอบรม					
3.	ความเหมาะสมของกิจกรรมการอบรม					
4.	ความเหมาะสมของระยะเวลาในการฝึกอบรม					
ด้านวิทยากรผู้ให้การอบรม						
5.	ความสามารถในการถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร					
ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก						
6.	ความเหมาะสมของสถานที่ที่ใช้ในการอบรม					
7.	ความเหมาะสมของอุปกรณ์และสื่อทัศนูปกรณ์					
ด้านคุณภาพการบริการ						
8.	ความรู้ และประโยชน์ในการเข้ารับการอบรม					
9.	ความสามารถนำความรู้จากการอบรมไปใช้ได้จริง					
10.	ความพึงพอใจต่อการอบรมโดยภาพรวม					

ข้อเสนอแนะ

.....



ภาคผนวก ข

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัย

GRAD VRU

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัย เรื่อง การทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว

หลักการและเหตุผล

ข้าวหมาก (Sweetened rice) เป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทยเป็นกระบวนการในการแปรสภาพข้าวให้มียีสหวาน ที่เกิดจากภูมิปัญญาพื้นบ้านของไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ และถือเป็นการถนอมอาหารวิธีหนึ่งส่วนใหญ่ทำจากข้าวเหนียว โดยการนำมานึ่งแล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากหรือแป้งเชื้อ (Mold bran) ที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิดที่ช่วยควบคุมจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ เมื่อเชื้อเจริญบนข้าวเชื้อราที่อยู่ในลูกแป้งจะผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ส่วนยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ ข้าวหมากถือว่าเป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่มีประโยชน์ต่อการส่งเสริมสุขภาพโดยเฉพาะการเป็นอาหารโพรไบโอติกส์ (Probiotics) และช่วยป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อโรครทางเดินอาหารไม่ให้เจริญได้ง่าย ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานปกติส่งผลทำให้การดูดซึมวิตามินและสารอาหารมีประสิทธิภาพ ข้าวหมากส่วนใหญ่ทำจากข้าวเหนียวขาว อย่างไรก็ตามพบว่าข้าวเหนียวมีสีหลายสายพันธุ์ที่มีสีดำ หรือสีแดง เช่น ข้าวกำดอย ข้าวเหนียวแดง ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลิ้มผั่ว เป็นต้น โดยสารสีเหล่านี้พบมากบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นรงควัตถุชนิดแอนโทไซยานิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ข้าวกลุ่มนี้ยังเป็นแหล่งรวมของธาตุอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากการวิจัยพบว่าการนำข้าวในกลุ่มข้าวมีสีทั้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียวมาหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากเป็นหัวเชื้อจะทำให้เพิ่มปริมาณสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะสารสกัดจากข้าวเหนียวลิ้มผั่วพบว่าที่พบว่ามีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่ช่วยป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ร่างกาย ทำให้มีส่วนช่วยลดริ้วรอย ความหมองคล้ำของผิว และชะลอความเสื่อมของเซลล์ได้ จึงได้มีการวิจัยเป็นอนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติกักเก็บสารสำคัญที่ดีขึ้น และพัฒนาเป็นนาโนแคปซูลบรรจุผิวหน้า ซึ่งเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากข้าวที่น่าสนใจและเพื่อสร้างมูลค่าของข้าวในเชิงพาณิชย์และอุตสาหกรรมต่อไป

ลูกแป้งที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักจะมีความแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่นขึ้นอยู่กับ ชนิด และปริมาณของสมุนไพร เครื่องเทศ ตลอดจนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในลูกแป้งที่เป็นเชื้อผสม (Mixed culture) ทั้งเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย การใช้ลูกแป้งที่ดีเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ข้าวหมากมีคุณภาพดี รสชาติอร่อยจากกลิ่นรสที่ดี และเมื่อเจริญบนข้าวจะผลิตสารที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย ในกระบวนการผลิตลูกแป้งแบบดั้งเดิมทำได้โดยการนำข้าวสารมาบด และนำมานวดจากนั้นจะนำไปหมักเป็นเวลา 2-3 วันก่อนนำมาผสมกับสมุนไพร ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะใช้เวลานานและอาจทำให้เกิดลูกแป้งที่มีคุณภาพไม่ดีจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

โครงการนี้จึงได้ทำการอบรมเชิงปฏิบัติการในการทำลูกแป้งจากแป้งสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการทำหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว เพื่ออนุรักษ์ภูมิปัญญาการทำข้าวหมากที่มีมาแต่

โบราณให้คงอยู่ และมีมูลค่าเพิ่มมากขึ้นโดยนำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิวไปพัฒนานาโน เซอร์มิบารุงผิว นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยให้ชุมชนท้องถิ่นเห็นคุณค่าของการใช้ประโยชน์จากข้าว ร่วมกับการส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่น ซึ่งจะช่วยส่งเสริมเศรษฐกิจฐานรากในชุมชนให้มีความเข้มแข็ง มั่นคง นำไปสู่การพึ่งพาตนเองและช่วยพัฒนาคุณภาพชีวิตในชุมชนได้อย่างยั่งยืน

วัตถุประสงค์

เพื่อถ่ายทอดความรู้จากผลงานงานวิจัยสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การทำ ลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิว

กลุ่มเป้าหมาย

ด้านปริมาณ ผู้เข้าอบรมเชิงปฏิบัติการ 25 คน

ด้านคุณภาพ หลังการอบรมผู้เข้าอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้นแตกต่างจากก่อนการการอบรม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และมีความพึงพอใจในการเข้ารับการอบรมมีค่าเฉลี่ยไม่น้อย กว่า 3.50

สถานที่

ตำบลจี่วราย อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี

งบประมาณ

งบประมาณ 3,500 บาท

การดำเนินงาน

1. สํารวจกลุ่มบุคคลที่จะเข้ารับการอบรม
2. เขียนโครงการอบรม
3. จัดเตรียมเอกสาร อุปกรณ์ สถานที่
4. ดำเนินการจัดการอบรม
5. ทดสอบความรู้ก่อนและหลังจากการอบรม และความพึงพอใจในการเข้ารับการอบรม
6. ประเมินผล และรายงานผล

การประเมินผล

1. การทดสอบด้วยแบบทดสอบก่อน และหลังอบรม
2. การตอบแบบสำรวจความพึงพอใจในการอบรม

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผู้เข้ารับการอบรมได้รับความรู้เพิ่มขึ้นจากการอบรม
2. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถนำความรู้ และทักษะในการทำลูกแป้งข้าวหมากสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการทำหัวเชื้อในการทำข้าวหมากไปพัฒนาต่อยอดและเป็นอาชีพได้

ผู้รับผิดชอบโครงการ

นางดวงเดือน วัฒนารักษ์ นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา



GRAD VRU

กำหนดการอบรม
โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัย
เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว
วันที่ 24 เดือน เมษายน พ.ศ 2564

08.00-08.30 น.	ลงทะเบียน
08.30-09.00 น.	พิธีเปิด
09.00-09.30 น.	ผู้เข้าร่วมอบรม ทำแบบทดสอบก่อนการอบรม
09.30-10.30 น.	บรรยายความรู้ เรื่องข้าวหมากในเชิงวิทยาศาสตร์
10.30-10.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
10.45-12.00 น.	ผลการวิจัยเรื่อง การพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจาก สารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี
12.00-13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน
13.00-15.00 น.	ปฏิบัติการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการ ทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว
15.00-15.15 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
15.15-15.30 น.	ผู้เข้าร่วมอบรม ทำแบบทดสอบหลังการอบรม และประเมินความพึงพอใจ
15.30-16.00 น.	ปิดการอบรม

GRAD VRU

เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ
การถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลงานวิจัย
เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมาก
จากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว



GRAD VRU

สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

1. ข้าวหมาก

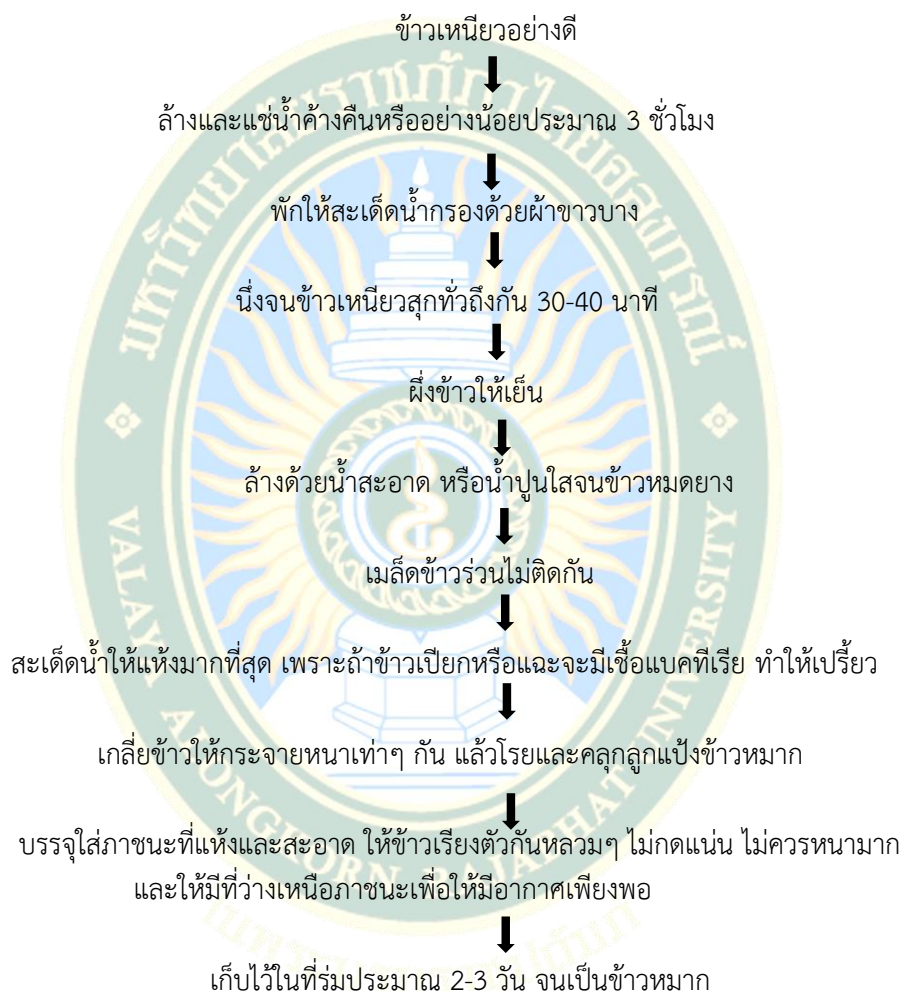
ข้าวหมากเป็นอาหารพื้นบ้านประเภทอาหารหวานของไทยที่มีมาแต่โบราณ ข้าวหมากหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือ ข้าวเหนียวดำ ที่ผ่านการล้าง นำ มาล้าง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 2 วันถึง 3 วัน จึงสามารถนำมารับประทานได้ โดยในลูกแป้งข้าวหมากจะมีเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งในข้าวเหนียวให้เป็นน้ำตาล เช่น กลูโคส กาแลกโตส และฟรุคโตส เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยจึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทำให้น้ำที่มีอยู่ซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าวและถ้าหมักไว้นาน 1 สัปดาห์จะมีกลิ่นเหล้าอ่อน ๆ เนื่องจากยีสต์บางชนิดจะหมักน้ำตาลในข้าวหมากเป็นแอลกอฮอล์ จึงควรเก็บข้าวหมากไว้ในตู้เย็นเมื่อหมักได้ที่แล้ว และแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการหมักข้าวหมากจะมีแบคทีเรียกรดแลคติกสร้างกรดที่ทำให้ข้าวหมากมีรสเปรี้ยว และมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำลงจนสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาสั้นขึ้น

ในการทำข้าวหมากจะต้องใช้ลูกแป้งข้าวหมากที่มีลักษณะเป็นก้อนแป้งครึ่งวงกลม สีขาวนวล น้ำหนักเบา ในลูกแป้งข้าวหมากจะมีเชื้อราสกุล *Mucor* sp., *Amylomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus oryzae* และยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* sp., ในข้าวหมากยังพบยีสต์ *Hansenula* ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนเป็นเอสเทอร์ ซึ่งเป็นกลิ่นรสที่ดีของข้าวหมาก มีรายงานวิจัยที่บ่งชี้ว่า *Amylomyces* sp. เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญในการหมักข้าวหมากโดยสามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์ และเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีกว่าเชื้อราชนิดอื่น และให้กลิ่นหอมหวานเฉพาะตัวกับข้าวหมาก ส่วนแบคทีเรียที่พบในลูกแป้ง เช่น แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ได้แก่ สกุล *Pediococcus*, *Lactobacillus* และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแอสติก (acetic acid bacteria) ได้แก่ *Acetobacter* และ *Gluconobacter* โดยมีส่วนผสมของเครื่องเทศ เช่น กระเทียม ชিং ข่า ชะเอม และพริกไทย ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ ลูกแป้งผลิตจากภูมิปัญญาพื้นบ้านที่สืบทอดจากบรรพบุรุษ คุณภาพของลูกแป้งข้าวหมากมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับวัตถุดิบ และกรรมวิธีการในการผลิตส่งผลให้ข้าวหมากที่ผลิตได้ในแต่พื้นที่มีลักษณะสี กลิ่นและรสชาติที่แตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก เชื้อยีสต์ในข้าวหมากเป็น โพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์ต่อร่างกายโดย ทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานเป็นปกติ และดูดซึมวิตามินดีและแคลเซียมดีขึ้น กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงมะเร็งลำไส้ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง ความหวานของข้าวหมากเป็นการหวานด้วยการหมักโดยวิธีธรรมชาติ เนื่องจากน้ำตาลในข้าวหมากส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ได้ทันทีโดยไม่ต้องผ่านการย่อย เมื่อรับประทานข้าวหมากไปจึงทำให้รู้สึกสดชื่น และแป้งที่เหลือจากการย่อยยังสามารถให้พลังงานแก่ร่างกายได้

ข้าวหมากที่ทำจากข้าวกล้องยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสูงมากกว่าข้าวขาวหรือข้าวสาร เพราะข้าวกล้องยังคงมีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว และคัพกะ (Rice germ) ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และใยอาหาร ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังพบสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกหลายชนิด เช่น แกมมาออริซานอล (Gamma oryzanol) วิตามินอี ซึ่งเป็นสารประเภทต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความแก่ และกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (Gamma

aminobutyric acid) หรือเรียกย่อๆ ว่ากาบา (GABA) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง

วิธีการทำข้าวหมาก



ภาพภาคผนวก ข.1 วิธีการทำข้าวหมาก

2. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในข้าวหมาก

ในลูกแป้งข้าวหมากจะมีเชื้อราสกุล *Mucor* sp. *Amylomyces* sp. *Aspergillus* sp. *Rhizopus oryzae* และยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* sp. *Hansenula* ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนเป็นเอสเทอร์ ซึ่งเป็นกลิ่นรสที่ดีของข้าวหมาก และมีส่วนผสมของเครื่องเทศ เช่น กระเทียม ขิง ข่า ขะเอม และพริกไทย ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ โดยเชื้อยีสต์ในข้าวหมากเป็นโปรไบโอติกส์ชนิดหนึ่งที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ภูมิคุ้มกันมะเร็ง ช่วยระบบทางเดินอาหารให้ทำงานเป็นปกติและดูดซึมวิตามินดีขึ้น ผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และช่วยในการดูดซึมแคลเซียมดี ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง

1. เรา จะทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอตมีลักษณะเป็น เส้นใย แต่ละเส้นเรียกว่า ไฮฟา เราส่วนใหญ่สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีขนาดเล็ก เบา และทนต่อความแห้ง แหล่งคาร์บอนของรานนอกจากได้จากคาร์โบไฮเดรต อาจได้จากพวกไขมัน กรดอินทรีย์ เราต้องการไนโตรเจนเพื่อนำไปใช้ในการสร้างกรดอะมิโน เราส่วนใหญ่เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต เราที่พบคือ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae*

2. ยีสต์ จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งโดยเรา ให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ โดยผ่านกระบวนการหมักที่เรียกว่า กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (Alcoholic fermentation) ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดได้ดีในสภาวะที่ไร้อากาศ (Anaerobic condition) ยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ได้แก่ ยีสต์ในกลุ่ม Ascomycetes ซึ่งยีสต์ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *Saccharomyces sp.* *Endomycopsis sp.* และ *Hansenula* โดยยีสต์กลุ่มนี้เหมาะสำหรับใช้ในการหมักข้าวหมาก เพราะเจริญได้เร็ว ทนต่อความเป็นกรด ความเข้มข้นของน้ำตาล และแอลกอฮอล์

3. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) มีบทบาทมากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็น กรดอินทรีย์ และเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ประโยชน์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกระบวนการทำข้าวหมาก คือ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ต่างลดลง ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ต่างที่เหมาะสม ต่อการเจริญและการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ และทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่น ๆ เจริญได้ช้าลง ดังนั้นแลคติกแอซิดแบคทีเรีย จึงมีความบทบาทสำคัญในกระบวนการทำข้าวหมาก

จุลินทรีย์อื่น ๆ นอกเหนือจากจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ในบางครั้งอาจพบจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการหลายชนิดปนเปื้อนอยู่ในลูกแป้ง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ในสาโท จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ *Acetobacter sp.* *Gluconobacter sp.* *Bacillus sp.* *Fusarium sp.* และ *Pichai sp.* เป็นต้น ดังนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้ง เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ยังมีอยู่ในปริมาณมากเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ปนเปื้อน ซึ่งคุณลักษณะของจุลินทรีย์ที่ดี และมีประโยชน์เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ที่ไม่ดีและไม่มีประโยชน์

3. มาตรฐานชุมชนของข้าวหมาก (มผช.162/2546)

1. ลักษณะทั่วไป เมล็ดข้าวเหนียวยังคงรูปเดิม ปริมาณน้ำพอกท่วมก้อนข้าวเหนียว น้ำมีลักษณะใสไม่ปรากฏเชื้อราเด่นชัด
2. สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้
3. กลิ่นรส มีรสเปรี้ยว และแอลกอฮอล์เล็กน้อยปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์
4. ลักษณะเนื้อสัมผัสต้องนุ่ม ไม่เป็นไตแข็ง
5. สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์
6. เอทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก
7. วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้วัตถุกันเสียและสีทุกชนิด
8. ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ต้องอยู่ระหว่างร้อยละ 40 ถึงร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก
9. ความเป็นกรด-ต่าง ต้องอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 4.5

4. ลูกแป้งข้าวหมาก

ลูกแป้งข้าวหมาก คือ กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculums) ที่เก็บในรูปแบบเชื้อแห้ง ใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในทวีปแถบเอเชีย กล้าเชื้อจะมีชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นของแต่ละประเทศ การใช้ประโยชน์จะคล้ายคลึงกันเป็นส่วนใหญ่ คือใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมเปลี่ยนแปลงในวัตถุดิบประเภทธัญพืช และพืชหัว ให้เป็นน้ำตาลเพื่อผลิตอาหารประเภทข้าวหมาก เช่น กระแช่ สาโท เป็นต้น ลูกแป้งสามารถจำแนกเป็นชนิดใหญ่ ๆ คือ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายชู และลูกแป้งเทมเป้

ลักษณะทั่วไปของลูกแป้งข้าวหมาก

ลูกแป้งข้าวหมาก มีลักษณะเป็นก้อนแข็งครึ่งวงกลม สีขาวนวล เนื้อแป้งโปร่งมีเส้นใยของเชื้อราเกาะอยู่ทั่วไป เมื่อมีอายุมากจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น ลูกแป้งแต่ละแหล่งจะมีเชื้อรา และยีสต์ต่างสายพันธุ์กันลูกแป้งที่ดีควรมีน้ำหนักเบา สีขาวนวล ไม่มีรอยแตกร้าว ก้อนแป้งโปร่งมีรูพรุน ซึ่งการพรุนนี้เกิดจากการบ่ม เมื่อขยี้ควรยุ่ยเป็นผง ไม่มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร สีของลูกแป้งขึ้นอยู่กับอายุการเก็บของลูกแป้ง ชนิดของเครื่องเทศ และปริมาณเครื่องเทศ ลูกแป้งที่ผลิตแต่ละแหล่งจะให้ข้าวหมากที่มีคุณภาพแตกต่างกันออกไป



ภาพภาคผนวก ข.2 ลูกแป้งข้าวหมาก

องค์ประกอบหลักของการผลิตลูกแป้ง

1. แป้ง

แป้งที่ใช้นำมาผลิตลูกแป้งนั้นควรใช้เป็นแป้งข้าวเจ้าล้วน ๆ จะมีคุณภาพดีกว่าที่ผลิตด้วยแป้งข้าวเหนียว หรือแป้งข้าวเจ้าผสมแป้งข้าวเหนียว เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจมีอยู่ในแป้ง การใช้แป้งสำเร็จควรเลือกผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์จากลูกแป้งที่เป็นเชื้อราและยีสต์

2. เครื่องเทศหรือสมุนไพร

ในแต่ละประเทศจะมีสูตรการผลิตลูกแป้งที่ต่างกันตามชนิดของสมุนไพรที่ใช้ในแต่ละตำรับของแต่ละประเทศ สมุนไพรที่ใช้เป็นองค์ประกอบพื้นฐาน ได้แก่ กระเทียม พริกไทย ขิง และข่า ส่วนชะเอม และดีปลีเป็นองค์ประกอบของลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าไทยเกือบทุกตำรับ ปริมาณองค์ประกอบในเครื่องเทศแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ตั้งแต่สายพันธุ์พืชการเพาะปลูก การบำรุงรักษา ความอ่อนแก่ของส่วนที่นำมาเตรียม ตลอดจนวิธีการเตรียม เนื่องจากในเครื่องเทศจะมี

น้ำมันหอมระเหยซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบหลายชนิดได้แก่แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ เทอร์ปีน ฟีนอล อัลคาลอยด์ เรซิน กรดอินทรีย์ สารประกอบที่มีกำมะถัน และสารอื่นๆ ซึ่งโดยทั่วไปน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการฆ่า การใส่เครื่องเทศ และสมุนไพร ต่างกัน ทั้งชนิด และปริมาณเป็นเหตุให้เกิดความแตกต่างกันของลูกแป้ง ซึ่งเป็นผลให้เกิดความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลูกแป้งด้วย แต่อย่างไรก็ตามการนำเครื่องเทศ และสมุนไพรที่นำมาใช้ต้องคำนึงถึงความสะอาด ความสด และความใหม่ รวมถึงไม่ควรบดเครื่องเทศก่อนการใช้งานนาน ๆ เพราะสิ่งเหล่านี้จะมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ และสมุนไพรเหล่านั้น

3. ปริมาณน้ำ

ปริมาณน้ำ มีความสำคัญมากในการควบคุมความชื้นของลูกแป้ง ถ้ามีความชื้นมากเกินไปทำให้ลูกแป้งเหม็นเปรี้ยว และเสียได้ หรือแห้งเกินไปจะทำให้ลูกแป้งแตกหรือราเจริญในลูกแป้งได้ไม่ดี ถ้าความชื้นในลูกแป้งเหมาะสมจะทำให้เก็บรักษาจุลินทรีย์ในลูกแป้งได้นาน

4. ลูกแป้งเดิม

ลูกแป้งเดิมใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ จะต้องเป็นลูกแป้งที่ไม่เก็บไว้นานจนเกินไปจนมอดกินหรือใช้ลูกแป้งที่มีเชื้อราอื่นปนเปื้อนภายนอกจนเห็นได้ชัด

5. การเรียงลูกแป้ง

การเรียงลูกแป้งที่ปั้นแล้วบนภาชนะกันโปร่ง และให้แต่ละลูกห่างกันเล็กน้อย เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญจะทำให้ลูกแป้งฟูขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยให้จุลินทรีย์ภายในก้อนแป้งมีโอกาสรับอากาศมากขึ้น

6. การโรยผงลูกแป้ง

การโรยผงลูกแป้งลงบนผิวหน้าของลูกแป้งใหม่ คลุมด้วยผ้าขาวบางประมาณ 48 ชั่วโมง แล้วนำไปตากแดดให้แห้ง เพื่อให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงไปบ้าง และป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ และยังทำให้สามารถเก็บลูกแป้งเอาไว้ได้นาน ควรเก็บลูกแป้งไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดเพื่อป้องกันมอดและแมลง

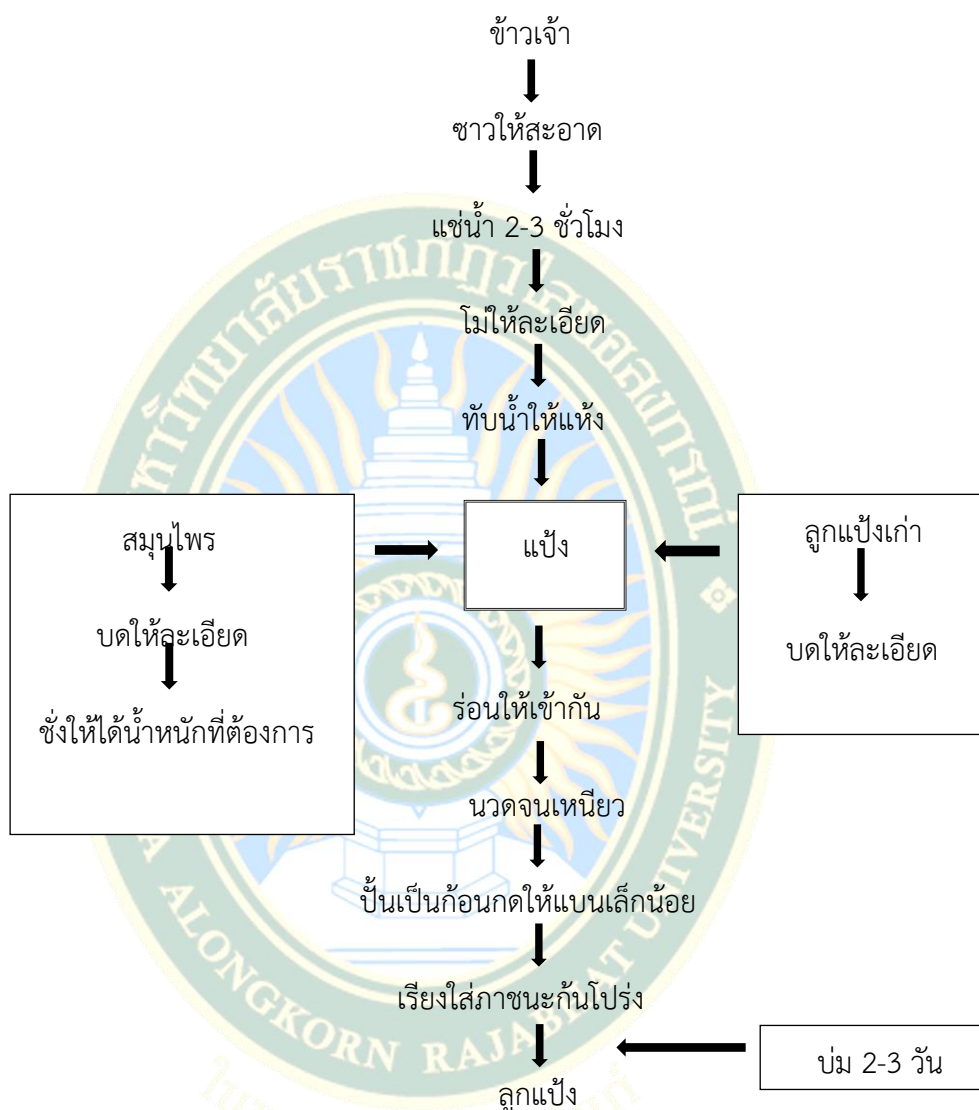
ตัวอย่างสูตรลูกแป้งข้าวหมาก

สูตรลูกแป้ง (ขุนกฤษณามรวิสิฐ)

1. ชะเอม	4	ตำลึง
2. กระเทียม	4	ตำลึง
3. ดีปลี	1	ตำลึง
4. ชিংแห้ง	1	ตำลึง
5. พริกไทย	1	ตำลึง
6. แป้ง	1,000	กรัม

สูตรลูกแป้ง (สิรินทรเทพ เต้าประยูร)

1. ชะเอม	3	ตำลึง
2. พริกไทย	1	ตำลึง
3. ดีปลี	2	ตำลึง
4. กระเทียม	7	ตำลึง
5. ชิง	2	ตำลึง
6. ข้า	1	ตำลึง
7. ข้าวเจ้า	10	ชั่ง



ภาพภาคผนวก ข.3 ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งแบบดั้งเดิม

5. ข้าวเหนียวลิ้มผัว

ข้าวเหนียวลิ้มผัว (*Oryza sativa* L. variety Leum Phua) เดิมเป็นข้าวเหนียวดำหอมที่เป็นข้าวไร่ในป่าของกลุ่มชาติพันธุ์ชาวม้ง บ้านรวมไทยพัฒนาที่ 3 ตำบลรวมไทยพัฒนา อำเภอพบพระ จังหวัดตากและบนภูเขาอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ เนื่องจากทนแล้งไม่ต้องการน้ำมากจัดเป็นข้าวเหนียวที่มีสีม่วงดำทั้งเยื่อหุ้มเมล็ดและเนื้อเมล็ด ซึ่งเป็นสารสีในกลุ่มของแอนโทไซยานินชนิด แอนโทไซยานิน (anthocyanidin) เป็นข้าวเหนียวที่มีกลิ่นหอม รสชาติอร่อย และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวเหนียวที่บริโภคทั่วไปมาก มีสารสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กรดไขมันอิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า 3, 6 และ 9 วิตามินบี 3 วิตามินอี แคลเซียม แมงกานีส ธาตุเหล็ก และแกมมาโอไรซานอล ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจ การลดการแข็งตัวของเลือด ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ช่วยบำรุงตับ ป้องกันโรคสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์ ลดไขมันในเส้นเลือด โรคเบาหวาน รวมไปถึง

โรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศในชาย และหญิง นอกจากนั้นยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับวิตามินอี แต่มีคุณสมบัติดีกว่า และยังช่วยในเรื่องต่อกระดูก ใช้เป็นยารักษาโรคตามภูมิปัญญาท้องถิ่น เช่นโรคท้องร่วง โรคผิวหนัง มะเร็ง และต้มกับใบชาแก้อาการตกเลือดหลังคลอด เป็นต้น



ข้าวเหนียวลิ้มฟัว ตาก

ภาพภาคผนวก ข.4 เมล็ดข้าวเหนียวลิ้มฟัว

GRAD VRU

นวัตกรรมการนำข้าวหมากไปใช้ประโยชน์ที่เกิดจากงานวิจัย เรื่อง การพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการนำสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีชนิดต่างๆที่ปลูกในพื้นที่ที่แตกต่างกันในประเทศไทยทั้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียวแบ่งเป็นกลุ่มข้าวสีม่วงดำ ได้แก่ ข้าวเหนียวลิ้มฝัวจังหวัดตาก ข้าวเหนียวดำหอม จังหวัดพัทลุง ข้าวหอมมะลิดำ จังหวัดเชียงราย และข้าวสุตบุตร จังหวัดเชียงราย ข้าวเหนียวดำ จังหวัดบุรีรัมย์ ข้าวเก่า จังหวัดเชียงราย ข้าวเก่าดอย จังหวัดพะเยา ข้าวหอมนิล จังหวัดลพบุรี ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ์ จังหวัดอุบลราชธานี ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จังหวัดปทุมธานี และข้าวมะลินิล จังหวัดสุรินทร์ กลุ่มข้าวสีแดง ได้แก่ ข้าวเหนียวแดง จังหวัดเลย ข้าวหอมมะลิแดง จังหวัดสระบุรี ข้าวสังข์หยด จังหวัดพัทลุง ข้าวเนียงกวัง จังหวัดบุรีรัมย์ ข้าวทับทิมชุมแพ จังหวัดขอนแก่น โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในการสกัด โดยศึกษาปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อนและหลังหมักข้าวของสารสกัดข้าวมีสี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานิน และศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพก่อน และหลังหมักข้าวของสารสกัดของข้าวมีสี ได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเอนไซม์ไทโรซิเนส จากนั้นนำสารสกัดจากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุดไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay เพื่อนำไปพัฒนานาโนเซิร์มบำรุงผิวหน้าตำรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (lipid nanoparticles) ที่มีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรหรือนาโนสตรักเจอร์ ลิปิดแคเรียอร์ (Nanostructured Lipid Carriers; NLCs) จากนั้นนำนาโนเซิร์มตำรับที่พัฒนาขึ้นไปทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง และทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์จากอาสาสมัคร ซึ่งได้ทำการถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยสู่วิสาหกิจชุมชนและบุคคลทั่วไป โดยสามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังต่อไปนี้

1. ผลการศึกษาปริมาณของกลุ่มสารสำคัญก่อน และหลังหมักข้าวในสารสกัด ข้าวหมาก ข้าวมีสี

จากการวิจัยพบว่า ข้าวหลังการหมักมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าก่อนการหมักในทุกตัวอย่าง โดยข้าวในกลุ่มของข้าวสีม่วงดำมีปริมาณกลุ่มสารสำคัญดังกล่าวทั้งหมดมากกว่าข้าวในกลุ่มสีแดง โดยสารสกัดจากข้าวหมากข้าวลิ้มฝัวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ 45.66 mg GAE /g มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ 39.35 mgRE/g มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 3.37 mg/g

2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสี ก่อนและหลังหมักข้าว

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ผลการวิเคราะห์พบว่า สารสกัดข้าวในกลุ่มสีม่วงดำมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH มากกว่าข้าวกลุ่มสีแดง โดยค่า EC_{50} ของสารสกัดของข้าวหมากข้าวสีม่วงดำเท่ากับ 0.364 mg/ml ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า EC_{50} ของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน BHT ที่มีค่า EC_{50} 0.239 mg/ml ส่วนการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดข้าวหมากข้าวสีม่วงดำมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 28.018 mgFe(II)/g ดังนั้นสารสกัดข้าวหมากข้าวสีม่วงดำจึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดข้าวหมากจากข้าวชนิดอื่น ๆ นอกจากนั้นยังพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหลังการหมักในทุกสายพันธุ์มีมากกว่าก่อนการหมัก อย่างไรก็ตามพบว่าไม่พบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในตัวอย่างข้าวทุกตัวอย่างทั้งก่อน และหลังหมัก

3. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี SRB assay

จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวสีม่วงมีปริมาณกลุ่มสารสำคัญ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าข้าวสายพันธุ์อื่น ดังนั้นจึงนำสารสกัดดังกล่าวมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังมนุษย์ เนื่องจากจำเป็นต้องนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กับร่างกายจึงต้องมีการทดสอบเบื้องต้นว่าสารสกัดดังกล่าวมีผลในระดับเซลล์หรือไม่ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดข้าวหมากข้าวสีม่วงดำในความเข้มข้น (mg/ml) ได้แก่ 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 มีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เท่ากับ 105.17 105.82 103.54 103.49 และ 102.29 ตามลำดับ แสดงว่าเซลล์ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตสูง และลักษณะของเซลล์มีรูปร่างไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และมีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม

4. การพัฒนานาโนแคปซูลจากสารสกัดข้าวหมากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำสารสกัดข้าวหมากของข้าวเหนียวสีม่วงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มาพัฒนาสูตรตำรับอนุภาคนาโนที่มีการกักเก็บสารสกัดจากข้าวเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสังเคราะห์สารสกัดเป็นอนุภาคนาโนไขมัน (Lipid nanoparticles) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100-300 นาโนเมตร โดยทดสอบคุณสมบัติของอนุภาคนาโน ได้แก่ ขนาดของอนุภาค (Particle size) จากค่าตัวเลขที่วัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย การกระจายขนาดอนุภาค (Polydispersity index หรือ PDI) ประจุของอนุภาคหรือศักย์ซีต้า (Zeta potential) และทดสอบความคงตัวของอนุภาคนาโนกักเก็บสารสกัดจากข้าวที่มีความเสถียรโดยไม่แยกชั้น โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนชนิดตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร หรือนาโนสตรักเจอร์ลิปิดแคเรียอร์ (Nanostructured Lipid Carriers ; NLCs) ซึ่งอนุภาคนาโนไขมันมีข้อดีกว่าอนุภาคนาโนแบบชนิดอื่น และการพัฒนาอนุภาคที่ได้จะต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสมบางประการที่จะนำไปพัฒนาต่อเป็นนาโนแคปซูล ผลการทดลองพบว่าสูตรอนุภาคนาโนที่เหมาะสมประกอบด้วย

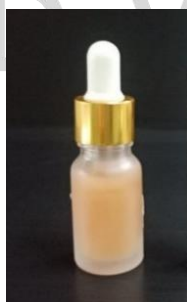
สารสกัดข้าวสีม่วง	10	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ไขมันเหลว (น้ำมันรำข้าว)	10	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ไขมันแข็ง (Montanov 82)	1	ร้อยละโดยน้ำหนัก
สารลดแรงตึงผิว		

- Sorbitan Oleate (Span 80 [®])	3	ร้อยละโดยน้ำหนัก
- Polysorbate 20 (Tween 20 [®])	3	ร้อยละโดยน้ำหนัก
- Poloxamer	1	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ตัวช่วยทำการละลาย		
- Glycerol	2	ร้อยละโดยน้ำหนัก
- Transcutol [®]	2	ร้อยละโดยน้ำหนัก
- น้ำในการปรับปริมาณให้ครบ	100	ร้อยละโดยน้ำหนัก

5. ผลการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์นาโนเซรัม

จากการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาอนุภาคนาโนจากสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคนิคการเตรียมแบบนาโนสตรีกเจอร์ลิปิดแครีเออร์ซึ่งทำให้ได้อนุภาคเล็กระดับนาโนที่มีความคงตัว ซึ่งในขั้นตอนต่อไปของงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์นาโนเซรัม เนื่องจากต้องการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อบางเบาแบบเซรัมที่มีความเหลวที่สามารถซึมลงสู่โครงสร้างผิวชั้นนอกได้ดี และรวดเร็ว ผลการทดลองพบว่าสูตรต้นแบบนาโนเซรัมมีความหนืด 19.5 cm/30sec จากผลการทดลองความคงตัวโดยการพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพ/เคมี พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในเชิงลักษณะทางกายภาพ/เคมี เช่น ลักษณะของเนื้อสัมผัส สี/กลิ่น ค่าpH การตกตะกอน ของตัวผลิตภัณฑ์เมื่อทดสอบในสภาวะเร่ง (ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 %RH ระยะเวลา 3 เดือน) และสภาวะปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนการแยกชั้นเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงเดือนที่ 2-3 โดยที่สภาวะเร่งจะเกิดการแยกชั้นที่มากกว่าสภาวะปกติ และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ และโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ โดยสูตรตำรับนาโนเซรัมมีดังนี้

1. อนุภาคนาโนกักเก็บสารสำคัญจากข้าว	95.00	ร้อยละโดยน้ำหนัก
2. Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA)	0.30	ร้อยละโดยน้ำหนัก
3. Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0.70	ร้อยละโดยน้ำหนัก
4. PEG 40 Hydrogenated Castor Oil	3.00	ร้อยละโดยน้ำหนัก
5. chlorphenesin/phenoxyethanol	1.00	ร้อยละโดยน้ำหนัก
6.		



ภาพภาคผนวก ข.5 ผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมจากสารสกัดข้าวหมากข้าวสาลีในขวดบรรจุภัณฑ์

6. ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังจากนาโนเซรั่มที่พัฒนาขึ้น

ผลการทดสอบการก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังแก่อาสาสมัครโดยกำหนดเกณฑ์การคัดอาสาสมัครเป็นเพศหญิง อายุระหว่าง 25 - 55 ปี จำนวน 22 คนที่มีสุขภาพดี ซึ่งเป็นการทดลองทางคลินิกโดยวิธีการปิดสารทดสอบบนผิวหนัง (Closed patch test under occlusion) ของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่ว และเบสเซรั่ม เปรียบเทียบกับความถี่ของการเกิดผลบวกของสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate; SDS) ร้อยละ 3 ที่เป็นสารควบคุมบวก (Positive control) และน้ำกลั่นเป็นสารควบคุมลบ (Negative control) จากนั้นสังเกตอุบัติการณ์การก่อการระคายเคืองต่อผิวหนังในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ แล้วแปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านผิวหนัง พบว่า นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วมีค่าดัชนีการระคายเคืองของผิวหนังเท่ากับ 0.02 ซึ่งพบน้อยกว่า 0.20 ซึ่งแปลผลว่าไม่มีความระคายเคืองแก่อาสาสมัคร

7. ผลการยอมรับผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมาก

จากการสอบถามความคิดเห็นที่มีต่อผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่พัฒนาขึ้น ซึ่งเป็นแบบสอบถามที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นเองและมีผู้ทรงคุณวุฒิในการประเมินแบบสอบถามของเครื่องมือวิจัยนี้ โดยใช้อาสาสมัครที่ผ่านการทดสอบการระคายเคืองระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ผิวหนังคือเพศหญิงกลุ่มที่มีอายุระหว่าง 25-55 ปีจำนวน 22 คน ใช้แบบสอบถามซึ่งแบ่งเป็นความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในด้านกายภาพ ในด้านการใช้งาน และในด้านประสิทธิภาพ ผลการสอบถามพบว่าอาสาสมัครส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในทุกด้านอยู่ในระดับมาก ดังนั้นผลิตภัณฑ์นาโนเซรั่มจากสารสกัดข้าวหมากข้าวลิ้มผั่วที่ได้พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้จึงมีความเหมาะสมในการนำไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ตลอดจนเป็นการช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรในการหันมาสนใจพันธุ์ข้าวพื้นเมืองโดยเฉพาะพันธุ์ข้าวเหนียวลิ้มผั่วที่สามารถสร้างมูลค่าได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

GRAD VRU

การปฏิบัติการ

เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว

หลักการและเหตุผล

ข้าวหมาก เป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทย ทำจากข้าวเหนียวทั้งข้าวเหนียวธรรมดา และข้าวเหนียวดำ โดยผ่านการล้าง การนึ่งมานึ่งและล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมาก ในระยะเวลา 2 วัน ถึง 3 วัน เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล เช่น กลูโคส กาแลกโตส และฟรุกโตส ข้าวหมากถือว่าเป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยเฉพาะการเป็นสารโปรไบโอติกส์ และสารต้านอนุมูลอิสระ ในการทำข้าวหมากต้องอาศัยลูกแป้ง ชนิด ปริมาณและสัดส่วนของสมุนไพรและเครื่องเทศ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ลูกแป้งของแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกัน ซึ่งลูกแป้งที่ดีต้องมีลักษณะเป็นก้อนแป้งครึ่งวงกลมขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร ประกอบด้วยเนื้อแป้งสีขาวนวล ไม่มีรอยแตก เนื้อแป้งจะมีจุลินทรีย์หรือยีสต์ประเภทเปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์อยู่จำนวนมาก มีเชื้อราสกุล *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae* ซึ่งมีความสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะหมักน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำที่ซึมออกมาเรียกว่าน้ำด้อย มีความหวานประมาณ 30-40 องศาบริกซ์ ไม่มีกลิ่นเปรี้ยว แป้งควรใช้เป็นแป้งข้าวเจ้าล้วนจะมีคุณภาพดีที่สุด ข้าวที่ใช้ต้องไม่ขึ้นราหรือเก่า ทั้งนี้เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และหลีกเลี่ยงกรดโพทิโอนิกที่เป็นสารยับยั้งเชื้อราซึ่งมักใส่ลงไป แป้งสำเร็จ

ปัจจุบันพบว่าการทำข้าวหมากเป็นวิธีที่ง่าย แต่การทำข้าวหมากให้มีคุณภาพดีทำได้ ไม่ถายนัก ซึ่งลูกแป้งที่นำมาอาจไม่ดีเมื่อนำไปหมัก เนื่องจากลูกแป้งเสียจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มีเชื้อรา และยีสต์ปนเปื้อนมาก หรือการหุงข้าวไม่สุก อาจทำให้ข้าวหมากเปรี้ยวหรือมีกลิ่นรสผิดไปจากปกติ เพราะข้าวหมากที่ได้บางครั้ง มีกลิ่นรสไม่ดี ไม่มีรสหวานเท่าที่ควร มีรสเปรี้ยวมาก มีน้ำมากเกินไป เมล็ดข้าวไม่สวย บางครั้งมีสีแดง หรือมีสปอร์ราสีดำ สีน้ำตาลเกิดขึ้น จึงต้องอาศัยลูกแป้งที่มีคุณภาพ โดยลูกแป้งแต่ละแหล่งจะมีความแตกต่างกันไป การผลิตลูกแป้งขึ้นเองนั้นจะช่วยลดต้นทุนการซื้อ อีกทั้งยังควบคุมกระบวนการผลิตได้เอง ลดอัตราการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมที่ปนมากับลูกแป้ง ลูกแป้งที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักจะมีความแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่นขึ้นอยู่กับชนิด และปริมาณของสมุนไพร เครื่องเทศ ตลอดจนสายพันธุ์จุลินทรีย์ในลูกแป้งที่เป็นเชื้อผสม (Mixed culture) ทั้งเชื้อรา ยีสต์และแบคทีเรีย การใช้ลูกแป้งที่ดีเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ข้าวหมากมีคุณภาพดี รสชาติอร่อยจากกลิ่นรสที่ดี และเมื่อเจริญบนข้าวจะผลิตสารที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย ในกระบวนการผลิตลูกแป้งแบบดั้งเดิมทำได้โดยการนำข้าวสารมาบด และนำมานวดจากนั้นจะนำไปหมักเป็นเวลา 2-3 วันก่อนนำมาผสมกับสมุนไพร ซึ่งกระบวนการดังกล่าวอาจทำให้เกิดลูกแป้งที่มีคุณภาพไม่ดีจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

โครงการนี้จึงได้ทำการอบรมเชิงปฏิบัติการการทำลูกแป้งจากแป้งสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการทำหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิว เพื่อส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากข้าวตลอดจนอนุรักษ์ภูมิปัญญาการทำข้าวหมากที่มีมาแต่โบราณให้มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น โดยการสกัดจากข้าวเหนียวลิ้มผิวไปพัฒนานาโนเซรามบำรุงผิวซึ่งเป็นนวัตกรรมเครื่องสำอางจากสารธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ และปลอดภัยเป็นการพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นที่นำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผิว

วัตถุดิบทำลูกแป้ง

1. แป้งข้าวเจ้า 1 กิโลกรัม
2. ลูกแป้งหัวเชื้อสด 10 กรัม
3. ผงสมุนไพร (พริกไทย 8 กรัม ดีปลี 8 กรัม ขิง 25 กรัม ข่า 25 กรัม กระเทียม 25 กรัม ชะเอม 25 กรัม)

วิธีทำลูกแป้ง

1. นำแป้งข้าวเจ้ามาคลุกผสมกับผงสมุนไพรและลูกแป้ง
2. เติมน้ำสะอาด 850 มิลลิลิตร นวดจนเป็นเนื้อเดียวกัน
3. ปั้นแป้งเป็นก้อนครึ่งวงกลมนำมาเรียงบนถาด หรือภาชนะที่สะอาดโรยด้วยแป้งเพื่อทับอีกครั้ง ปิดด้วยผ้าขาวบาง และตั้งทิ้งไว้ในร่ม 1 คืน ก่อนนำออกตากแดดให้แห้งหรือถ้าไม่มีแดดให้ผึ่งในที่ที่มีอากาศถ่ายเทเป็นเวลา 4-5 วันจนกว่าจะแห้ง (ไม่ควรทำลูกแป้งในช่วงวันฝนตก) เก็บในขวดโหล หรือภาชนะที่มีฝาปิดสนิท (ลักษณะลูกแป้งที่ดีต้องแห้ง เบา สีขาวนวล ไม่มีกลิ่นฉุนแรง ไม่มีราขึ้นปกคลุม ไม่มีรอยแตก)



ภาพภาคผนวก ข.6 ลูกแป้งข้าวหมาก

ข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มผิว

วัตถุดิบในการทำข้าวหมาก

1. ข้าวเหนียวลิ้มผิว 1 กิโลกรัม
2. ลูกแป้ง 4 กรัม

วิธีทำทำข้าวหมาก

1. ล้างข้าวเหนียวลิ้มผิว และแช่น้ำประมาณ 4-6 ชั่วโมง เอาขึ้นสะเด็ดน้ำรองด้วยผ้าขาวบาง
2. นึ่งจนข้าวเหนียวสุกทั่วถึงกัน ถ้านึ่งนานจะแฉะ
3. ผึ่งข้าวให้เย็น
4. ล้างด้วยน้ำสะอาดประมาณ 2 ครั้ง จนข้าวหมดยาง เมล็ดข้าวร่วนไม่ติดกัน (ถ้าล้างตอนข้าวเหนียวร้อนจะทำให้แฉะ)
5. ผึ่งสะเด็ดน้ำให้แห้งมากที่สุด เพราะถ้าข้าวเปียกหรือแฉะจะมีเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ข้าวหมากเปรี้ยวได้ง่าย
6. เกลี่ยข้าวให้กระจายหนาเท่า ๆ กัน แล้วโรยและคลุกลูกแป้งข้าวหมาก บดละเอียดแล้วให้สม่ำเสมอเบา ๆ
7. บรรจุใส่ภาชนะที่แห้งและสะอาด เช่น กถ่อง หรือท่อใบตองให้ข้าวเรียงตัวกันหลวม ๆ ไม่กดแน่น ไม่ควรหนามาก และให้มีที่ว่างเหนือภาชนะเพื่อให้มีอากาศเพียงพอ
8. เก็บไว้ในที่ร่มประมาณ 2-3 วัน จนเป็นข้าวหมาก



ภาพภาคผนวก ข.7 ข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มผิว

แบบทดสอบความเข้าใจ ก่อนและหลัง
โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่อง การทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัว

ชื่อ.....นามสกุล.....

คำชี้แจง จง x ข้อที่ถูกที่สุดเพียงข้อเดียว

1. ในลูกแป้งจะมีจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อในการทำให้ข้าวหมากมีรสหวานคือ

ก. แบคทีเรีย	ข. ยีสต์
ค. รา	ง. ถูกทุกข้อ
2. ในลูกแป้งจะมีจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อในการทำให้ข้าวหมากมีกลิ่นแอลกอฮอล์คือ

ก. แบคทีเรีย	ข. ยีสต์
ค. รา	ง. ถูกทุกข้อ
3. เหตุใดจึงต้องใส่สมุนไพรเป็นส่วนผสมในการทำลูกแป้ง

ก. เพื่อช่วยให้ข้าวหมากมีรสชาติดียิ่งขึ้น	
ข. เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรค	
ค. เพื่อส่งเสริมให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งเจริญมากขึ้น	
ง. เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่ไม่ต้องการในลูกแป้ง	
4. ข้อใดไม่ใช่ประโยชน์ของการรับประทานข้าวหมากข้าวมีสี

ก. เป็นยาอายุวัฒนะ ทำให้สดชื่นแข็งแรง	
ข. ป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินอาหารไม่ให้เจริญได้ง่าย	
ค. มีสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ	
ง. ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานปกติ	
5. สารสีในข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มผัวมีชื่อว่าอะไร

ก. คลอโรฟิลล์	ข. แคโรทีน
ค. แอนโทไซยานิน	ง. แซนโทฟิลล์
6. ตามมาตรฐานชุมชนของข้าวหมาก (มพช.162/2546) ต้องมีแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละเท่าไรโดยน้ำหนัก

ก. 2.0	ข. 1.5
ค. 1.0	ง. 0.5
7. ข้อใดเป็นลักษณะของลูกแป้งที่ดี

ก. มีกลิ่นแอลกอฮอล์แรง	ข. มีรอยแตก มีราขึ้น
ค. สีขาวนวล น้ำหนักเบา	ง. มีกลิ่นเปรี้ยวคล้ายน้ำสมสายชู

14. สารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิมผ้วถ้ามาพัฒนาด้านเวชสำอางจะมีฤทธิ์ในด้านใดมากที่สุดต่อผิวหนัง

- ก. ทำให้ผิวขาว
 ข. ลดฝ้า กระ
 ค. ลดเลือนริ้วรอย
 ง. รักษาสิว

15. สารมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจะพบมากบริเวณส่วนใดของเมล็ด

- ก. เยื่อหุ้มเมล็ด
 ข. จมูกข้าว
 ค. เมล็ดข้าว
 ง. เปลือกข้าว

16. ข้าวเหนียวลิมผ้วเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมของจังหวัดใด

- ก. ตาก
 ข. เพชรบูรณ์
 ค. แพร่
 ง. น่าน

17. ผลิตภัณฑ์นาโนเซรัมต่างจากเซรัมทั่วไปอย่างไร

- ก. มีการกักเก็บกลิ่นหอมได้นานกว่า
 ข. มีสารออกฤทธิ์อนุภาคขนาดเล็กที่คงตัว และซึมผิวได้ดีกว่า
 ค. มีอายุการเก็บได้นานกว่า
 ง. มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำทำให้มีราคาถูก

18. คำว่า “อนุภาคนาโน” หมายถึงอนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงข้อใด

- ก. หยดน้ำ
 ข. ปลายเส้นผม
 ค. ฝุ่นละอองในอากาศ
 ง. เล็กกว่าแบคทีเรีย

19. ข้อใดจึงเลือกใช้สารสกัดจากข้าวที่ต้องมาหมักเป็นข้าวหมากมาพัฒนาเป็นนาโนเซรัม

- ก. ได้นาโนเซรัมที่มีกลิ่นแอลกอฮอล์อ่อน ๆ
 ข. ได้นาโนเซรัมที่มีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์
 ค. ได้นาโนเซรัมที่มีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากขึ้น
 ง. ได้นาโนเซรัมที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์

20. นาโนเซรัมมีข้อดีกว่านาโนครีมอย่างไร

- ก. เนื้อบางเบากว่า
 ข. ซึมดีกว่า
 ค. มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สำคัญที่สูง
 ง. ถูกทุกข้อ

เฉลยแบบทดสอบความเข้าใจ ก่อนและหลัง
การอบรมเชิงปฏิบัติการ

เรื่อง การทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัว

1. ค
2. ข
3. ง
4. ก
5. ข
6. ง
7. ค
8. ข
9. ก
10. ก
11. ง
12. ก
13. ก
14. ค
15. ก
16. ก
17. ข
18. ง
19. ค
20. ง



GRAD VRU



ภาคผนวก ค
ผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

GRAD VRU

ตารางภาคผนวก ค.1 การวิเคราะห์แบบทดสอบเพื่อประเมินดัชนีความสอดคล้องระหว่าง
แบบทดสอบกับวัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
1. ในลูกแป้งจะมีจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อในการทำให้ข้าวหมากมีรสหวานคือ ก. แบคทีเรีย ข. ยีสต์ ค. รา ง. ถูกทุกข้อ	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้
2. ในลูกแป้งจะมีจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อในการทำให้ข้าวหมากมีกลิ่นแอลกอฮอล์คือ ก.แบคทีเรีย ข. ยีสต์ ค. รา ง. ถูกทุกข้อ	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
3. ในลูกแป้งจะมีจุลินทรีย์ที่ทำให้ข้าวหมากมีความเปรี้ยวคือ ก.แบคทีเรีย ข. ยีสต์ ค. รา ง. ถูกทุกข้อ	1	1	0	1	1	0.68	ใช้ได้
4. เหตุใดจึงต้องใส่สมุนไพรเป็นส่วนผสมในการทำลูกแป้ง ก. เพื่อช่วยให้ข้าวหมากมีรสชาติดียิ่งขึ้น ข. เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรค ค. เพื่อส่งเสริมให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งเจริญมากขึ้น ง. เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นเพื่อนที่ไม่ต้องการในลูกแป้ง	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้
5. ข้อใดเป็นลักษณะของลูกแป้งที่ดี ก. มีกลิ่นแอลกอฮอล์แรง ข. มีรอยแตก มีราขึ้น ค. สีขาวนวล น้ำหนักเบา ง. มีกลิ่นเปรี้ยวคล้ายน้ำสมสายชู	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้
6. สมุนไพรชนิดใดที่ไม่ใส่ลงไปลูกแป้ง ก. รากผักชี ข. ดีปลี ค. ชะเอม ง. ข่า	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้

ตารางภาคผนวก ค.1 (ต่อ)

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
7. แป้งที่ใช้ในการทำลูกแป้งนิยมใช้แป้งชนิดใด ก. แป้งข้าวเจ้า ข. แป้งข้าวเหนียว ค. แป้งมันสำปะหลัง ง. แป้งสาลี	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
8. ในการอบรมครั้งนี้มีการใช้ปริมาณลูกแป้งกี่กรัมต่อข้าวเหนียว 1 กิโลกรัมในการทำข้าวหมาก ก. 4 กรัม ข. 6 กรัม ค. 8 กรัม ง. 10 กรัม	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
9. ข้อใดไม่ใช่ประโยชน์ของการรับประทานข้าวหมากข้าวมีสี ก. เป็นยาอายุวัฒนะ ทำให้สดชื่นแข็งแรง ข. ป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินอาหารไม่ให้เจริญได้ง่าย ค. มีสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ง. ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานปกติ	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้
10. ตามมาตรฐานชุมชนของข้าวหมาก (มผช. 162/2546) ต้องมีแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละเท่าไรโดยน้ำหนัก ก. 2.0 ข. 1.5 ค. 1.0 ง. 0.5	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้
11. ข้าวหมากปกติจะใช้เวลาในการหมักกี่วัน ก. 2 วัน ข. 3 วัน ค. 4 วัน ง. 5 วัน	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้

ตารางภาคผนวก ค.1 (ต่อ)

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
12. เหตุใดจึงต้องล้างยางข้าวออกให้หมดก่อน คลุกกับลูกแป้ง ก. ช่วยไม่ให้ข้าวหมากเปรี้ยวง่าย ข. ช่วยไม่ให้ข้าวหมากเมล็ดติดกันในช่วง การหมัก ค. ช่วยให้จุลินทรีย์เจริญดีขึ้น ง. ช่วยให้เก็บได้นานยิ่งขึ้น	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
13. ข้าวหมากกับสาโทต่างกันอย่างไร ก. ชนิดลูกแป้ง ข. วิธีการทำ ค. ปริมาณแอลกอฮอล์ ง. ถูกทุกข้อ	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
14. ในการหมักข้าวหมากใส่ภาชนะไม่ควรใส่ แน่นเนื่องจากสาเหตุใด ก. เพื่อให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งใช้อากาศในการ เจริญเติบโต ข. เพื่อให้ข้าวเรียงเมล็ดสวยงาม ค. เพื่อให้เกิดการกระจายตัวของกลิ่นรสที่เป็น เอกลักษณ์ ง. เพื่อประหยัดวัตถุดิบในแง่ของการตลาด	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
15. สารสีในข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มฝั่วมีชื่อ ว่าอะไร ก. คลอโรฟิลล์ ข. แคโรทีน ค. แอนโทไซยานิน ง. แซนโทฟิลล์	1	1	1	0	1	0.80	ใช้ได้
16. สารสกัดข้าวหมากข้าวเหนียวลิ้มฝั่วมถ้ามา พัฒนาด้านเวชสำอางจะมีฤทธิ์ในด้านใดมากที่สุดต่อผิวหนัง ก. ทำให้ผิวขาว ข. ลดฝ้า กระ ค. ลดเลือนริ้วรอย ง. รักษาสิว	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้

ตารางภาคผนวก ค.1 (ต่อ)

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
17. สารมีสีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจะพบมากบริเวณส่วนใดของเมล็ด ก. เยื่อหุ้มเมล็ด ข. จมูกข้าว ค. เมล็ดข้าว ง. เปลือกข้าว	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้
18. ข้าวเหนียวลิ้มผัวเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมของจังหวัดใด ก. ตาก ข. เพชรบูรณ์ ค. แพร่ ง. น่าน	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้
19. ข้าวในข้อใดมีสีแตกต่างจากข้ออื่น ก. สังข์หยด ข. ข้าวลิ้มผัว ค. ไรซ์เบอร์รี่ ง. หอมนิล	1	1	1	0	1	0.80	ใช้ได้
20. กลุ่มสารสำคัญที่พบมากที่สุดของข้าวมีสีคือข้อใด ก. ฟลาโวนอยด์ ข. แทนนิน ค. กรดโคจิก ง. อาร์บูติน	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
21. ผลิตภัณฑ์นาโนเซรามต่างจากเซรามทั่วไปอย่างไร ก. มีการกักเก็บกลิ่นหอมได้นานกว่า ข. มีสารออกฤทธิ์อนุภาคขนาดเล็กที่คงตัว และซึมผิวได้ดีกว่า ค. มีอายุการเก็บได้นานกว่า ง. มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำทำให้มีราคาถูก	0	1	1	1	1	0.80	ใช้ได้
22. คำว่า “อนุภาคนาโน” หมายถึงอนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงข้อใด ก. หยดน้ำ ข. ปลายเส้นผม ค. ผุ่นละอองในอากาศ ง. เล็กกว่าแบคทีเรีย	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้

ตารางภาคผนวก ค.1 (ต่อ)

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
23. ประสิทธิภาพที่ดีของนาโนเซิร์มคือข้อใด ก. เกิดการแยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ ข. มีความคงตัว ไม่ตกตะกอน ค. เปลี่ยนสีเล็กน้อย เมื่อโดนความร้อน ง. มีกลิ่นแอลกอฮอล์อ่อนๆ	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้
24. ข้อใดจึงเลือกใช้สารสกัดจากข้าวที่ต้องมาหมักเป็นข้าวหมากมาพัฒนาเป็นนาโนเซิร์ม ก. ได้นาโนเซิร์มที่มีกลิ่นแอลกอฮอล์อ่อนๆ ข. ได้นาโนเซิร์มที่มีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ค. ได้นาโนเซิร์มที่มีสาระสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากขึ้น ง. ได้นาโนเซิร์มที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์	0	1	1	1	1	0.80	ใช้ได้
25. อนุภาคนาโนที่พัฒนาได้จากการวิจัยเตรียมแบบใด ก. นาโนอิมัลชัน ข. ไมโครอิมัลชัน ค. ไมเซลล์ล่า ง. นาโนไขมัน	1	1	0	1	1	0.80	ใช้ได้
26. เครื่องสำอางที่ไม่ได้มาตรฐานมีลักษณะอย่างไร ก. สีเปลี่ยน ข. ตกตะกอน ค. แยกชั้น ง. ถูกทุกข้อ	1	1	1	1	1	1.00	ใช้ได้
27. นาโนเซิร์มมีข้อดีกว่านาโนครีมอย่างไร ก. เนื้อบางเบากว่า ข. ซึมดีกว่า ค. มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สำคัญที่สูง ง. ถูกทุกข้อ	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
28. อนุภาคลิโอสโรมมีผลต่อเซลล์ร่างกายอย่างไร ก. เกิดริ้วรอย ข. ขะลอกความเสื่อม ค. ทำให้ผิวขาว ง. เพิ่มความแข็งแรง	1	1	1	0	1	0.80	ใช้ได้

ตารางภาคผนวก ค.1 (ต่อ)

แบบทดสอบ	คะแนนประเมินผู้เชี่ยวชาญ					IOC	แปล ความ
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	คนที่ 5		
29. อาการเบื้องต้นที่เกิดจากแพ้เครื่องสำอาง คือข้อใด ก. เวียนศีรษะ ข. ผื่นรอยแดง ค. มีตุ่มน้ำ แสบร้อน ง. บวม ช้ำ	1	0	1	1	1	0.80	ใช้ได้
30. อนุภาคนาโนหมายถึงอนุภาคขนาดเท่าใด ก. 1×10^{-3} เมตร ข. 1×10^{-6} เมตร ค. 1×10^{-9} เมตร ง. 1×10^{-12} เมตร	0	1	1	1	1	0.80	ใช้ได้



GRAD VRU

ตารางภาคผนวก ค.2 ตารางวิเคราะห์ค่าความยากง่าย (P) และค่าอำนาจจำแนกของแบบทดสอบ (R)

ข้อที่	ค่าความยากง่าย (P)	ค่าอำนาจจำแนก (R)	แปลผล
1	0.70	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
2	0.65	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
3	0.90	0.20	ไม่ควรนำไปใช้
4	0.65	0.50	เป็นข้อสอบที่ดี
5	0.65	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
6	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
7	0.65	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
8	0.85	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
9	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
10	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
11	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
12	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
13	0.65	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
14	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
15	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
16	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
17	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
18	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
19	0.70	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
20	0.95	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
21	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
22	0.75	0.30	เป็นข้อสอบที่ดี
23	0.85	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
24	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
25	0.45	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
26	0.45	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
27	0.80	0.40	เป็นข้อสอบที่ดี
28	0.65	0.10	ไม่ควรนำไปใช้
29	0.90	0.20	ไม่ควรนำไปใช้
30	0.90	0.00	ไม่ควรนำไปใช้

การหาค่าความเชื่อมั่น (Reliability) ของแบบทดสอบโดยวิธีของ คูเดอร์ – ริชาร์ดสัน (Kuder-Richardson) KR-20 จากสูตรคำนวณ

$$rtt = \frac{k}{k-1} \left\{ 1 - \frac{\sum pq}{s^2} \right\}$$

เมื่อ	rtt	แทน	ค่าความเชื่อมั่นของแบบทดสอบ
	k	แทน	จำนวนแบบทดสอบ
	p	แทน	สัดส่วนของผู้ที่ตอบถูก
	q	แทน	สัดส่วนของผู้ที่ตอบผิด
	S ²	แทน	ค่าความแปรปรวนของคะแนนทั้งหมด

โดยที่

$$s^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N}$$

X	แทน	คะแนนรวม
\bar{X}	แทน	ค่าเฉลี่ยของคะแนนทั้งหมด
N	แทน	จำนวนผู้สอบทั้งหมด

หาค่าความเชื่อมั่นของแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ได้จาก

$$k = 20$$

$$\sum pq = 4.82$$

$$S^2 = 24.28$$

$$rtt = \frac{20}{20-1} \left\{ 1 - \frac{4.82}{24.28} \right\}$$

$$= \frac{20}{19} \{ 1 - 0.19 \}$$

$$= 1.05 \times 0.81$$

$$= 0.83$$

ค่าความเชื่อมั่นของแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์การอบรมมีค่าเท่ากับ 0.83

ตารางภาคผนวก ค.3 คะแนนการทำแบบทดสอบก่อนการอบรมและหลังการอบรม

คนที่	คะแนนจากการทำแบบทดสอบ (คะแนนเต็ม 20 คะแนน)		ผลต่าง $D = (X_2 - X_1)$	(ผลต่าง) ² D^2
	ก่อนอบรม (X_1)	หลังอบรม (X_2)		
1	7	17	10	100
2	5	14	9	81
3	8	15	7	49
4	7	12	5	25
5	6	14	8	64
6	8	12	4	16
7	7	14	7	49
8	9	15	6	36
9	8	14	6	36
10	9	14	5	25
11	9	16	7	49
12	7	14	7	49
13	8	15	7	49
14	9	12	3	9
15	6	14	8	64
16	10	17	7	49
17	8	12	4	16
18	7	15	8	64
19	9	16	7	49
20	10	16	6	36
21	8	15	7	49
22	8	15	7	49
23	9	15	6	36
24	8	16	8	64
25	9	14	5	25
รวม	199	363	164	1138

คำนวณหาคะแนนผลสัมฤทธิ์ก่อนและหลังอบรม

การวิเคราะห์หาผลสัมฤทธิ์จากการอบรมก่อนและหลังอบรม ใช้แบบแผนการวิจัยแบบ One Group Pretest – Posttest Design วิเคราะห์ผลสัมฤทธิ์ก่อนอบรม และหลังอบรมของกลุ่มตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผลสัมฤทธิ์จากการอบรมของกลุ่มตัวอย่างก่อน และหลังการทดลอง จะใช้การทดสอบ t แบบ t-test (Dependent)

$$1. H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$2. H_1 : \mu_1 < \mu_2$$

$$3. \alpha = .05$$

$$4. \text{จากตารางค่า } t \text{ ที่ } \alpha = .05 \text{ df} = 25 - 1 = 24 : t = 1.71$$

$$5. \text{จากสูตร} \quad t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{N \sum D^2 - (\sum D)^2}{N - 1}}}$$

แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} t &= \frac{164}{\sqrt{\frac{25 \times 1138 - (26896)}{25 - 1}}} \\ &= \frac{164}{\sqrt{\frac{1154}{24}}} \\ &= \frac{164}{8.04} \\ &= 20.39 \end{aligned}$$

6. สรุปผลค่าที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าค่า t ในตาราง ดังนั้นจึงปฏิเสธ H_0 ยอมรับ H_1 นั่นคือค่าคะแนนเฉลี่ยของคะแนนสอบหลังการอบรมสูงกว่าคะแนนสอบก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ซึ่งแสดงว่าหลังจากที่กลุ่มตัวอย่างได้เข้ารับการถ่ายทอดเกี่ยวกับการทำลูกแป็ง ข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มฝัวแล้วกลุ่มตัวอย่างมีความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้น

ตารางภาคผนวก ค.4 ผลการประเมินความพึงพอใจในการอบรมของผู้เข้ารับการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องการทำลูกแป้งข้าวหมากเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผั่ว

ลำดับ	หัวข้อการประเมิน	ระดับความพึงพอใจ		
		ค่าเฉลี่ย	S.D	เกณฑ์การประเมิน
1.	ความเหมาะสมของเนื้อหาสาระในการอบรม	4.50	0.56	มากที่สุด
2.	ความเหมาะสมของเอกสารประกอบการอบรม	4.33	0.55	มาก
3.	ความเหมาะสมของกิจกรรมการอบรม	4.66	0.53	มากที่สุด
4.	ความเหมาะสมของระยะเวลาในการฝึกอบรม	4.13	0.67	มาก
5.	ความสามารถในการถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร	4.93	0.65	มากที่สุด
6.	ความเหมาะสมของสถานที่ที่ใช้ในการอบรม	4.16	0.55	มาก
7.	ความเหมาะสมของอุปกรณ์และวัสดุอุปกรณ์	4.16	0.41	มาก
8.	ความรู้ และประโยชน์ในการเข้ารับการอบรม	4.73	0.63	มากที่สุด
9.	ความสามารถนำความรู้จากการอบรมไปใช้ได้จริง	4.50	0.52	มากที่สุด
10.	ความพึงพอใจต่อการอบรมโดยภาพรวม	4.46	0.41	มาก
	เฉลี่ย	4.87	0.60	มากที่สุด

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน ค่าเฉลี่ย 5.00-4.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมากที่สุด

ค่าเฉลี่ย 4.49-3.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมาก

ค่าเฉลี่ย 3.49-2.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับปานกลาง

ค่าเฉลี่ย 2.49-1.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อย

ค่าเฉลี่ย 1.49-1.00 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อยที่สุด



ภาพภาคผนวก ค.1 กิจกรรมการอบรมเชิงปฏิบัติการ



ภาพภาคผนวก ค.2 กิจกรรมการอบรมเชิงปฏิบัติการ



ภาคผนวก ง
การเตรียมสารเคมี

GRAD VRU

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
ซั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เเทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
2. การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃) ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์
ซั่งสารโซเดียมคาร์บอเนต 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. การเตรียมโซเดียมไนไตรต์ (NaNO₂) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์
ซั่งโซเดียมไนไตรต์ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl₃) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
ซั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 99.99% ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร
5. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์
ซั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร
6. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)
ซั่งสารมาตรฐานแกลลิก 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 99.99 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเจือจางความเข้มข้นด้วยเอทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
7. การเตรียมสารละลายมาตรฐานรูทีน (Rutin hydrate)
ซั่งสารมาตรฐานรูทีน 10 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำมาเตรียมความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
8. การเตรียมสารละลาย 0.025 M โพแทสเซียมคลอไรด์บัพเฟอร์ pH 1.0
ซั่ง โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 1.86 กรัม และละลายตัวอย่างในน้ำกลั่นปริมาตร 980 มิลลิลิตร ใน ปีกเกอร์ วัด pH และปรับจนได้ 1.0 ด้วย กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl) จากนั้นเปลี่ยนใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำ และผสมให้เข้ากัน
9. การเตรียมสารละลาย 0.4 M โซเดียมอะซิเตตบัพเฟอร์ pH 4.5
ซั่ง โซเดียมอะซิเตต (CH₃CO₂Na.3H₂O) 54.43 กรัม และละลายตัวอย่างในน้ำกลั่น ปริมาตร 960 มิลลิลิตร ในปีกเกอร์ วัด pH และปรับจนได้ 4.5 ด้วย กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จากนั้นเปลี่ยนใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำ และผสมให้เข้ากัน
10. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)
ซั่งสารมาตรฐาน BHT 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 99.99 เปอร์เซ็นต์ 40 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาทีเพื่อช่วยในการละลาย นำมาเจือจางด้วยเอทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้น 31.25, 62.50, 125, 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
11. การเตรียมสารละลายอนุโมลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
ซั่งสาร DPPH 0.0237 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 99.99 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้ stock solution ความเข้มข้น 6 × 10⁻³ โมลาร์ เมื่อจะนำมาใช้เจือจางให้เป็น 6 × 10⁻⁵ โมลาร์ โดยปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

12. การเตรียมสารละลายเอพอาร์เอพี (FRAP reagent)

12.1. เตรียมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 40 มิลลิโมล

ปิเปตจากกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc.) 170 ไมโครลิตร ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 50 มิลลิลิตร

12.2. เตรียม TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) [MW= 314.34 กรัมต่อโมล] ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล

ชั่ง TPTZ 0.0195 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลปริมาตร 50 มิลลิลิตร

12.3. เตรียมเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) [MW=270.26 กรัมต่อโมล] ความเข้มข้น 20 มิลลิโมล

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.27 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

12.4. เตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรดต่าง 3.6

ชั่งโซเดียมอะซิเตท ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) 7.75 กรัม จากนั้นเติมกรดแอซติก (Glacial Acetic Acid; CH_3COOH) 40 มิลลิลิตร คนให้ละลายจนหมดแล้วปรับ ปริมาตรด้วยน้ำ กลั่นปราศจากไอออนให้มีปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย B+C+D ผสมเข้า ด้วยกันจะได้ FRAP reagent

12.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

ชั่งเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.0280 กรัม ทำการละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนและปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร (stock 1,000 ไมโครโมลต่อลิตร) จากนั้นทำการเจือจางสารละลายเฟอร์รัสไอออนให้มีความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลต่อลิตร

12.6 การทำกราฟมาตรฐานสารละลายเฟอร์รัสไอออน

ปิเปต สารละลาย FRAP ปริมาตร 3,800 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 200 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 มาพลอตกราฟกับค่าความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเฟอร์รัสไอออนเพื่อหาสมการเส้นตรงจากกราฟ มาตรฐานสำหรับใช้ในการคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

13. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก

ชั่งสารมาตรฐานกรดโคจิก 0.010 กรัม นำไปละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที เพื่อช่วยละลาย จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้น 500, 250 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

14. การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8)

ชั่ง $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.44 กรัม และชั่ง $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.39 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

15. การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส

ชั่งเอนไซม์ไทโรซิเนส 0.2 มิลลิกรัม ละลายด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 5 มิลลิลิตร

16. การเตรียมสารละลายแอล-โดปา

ซิ่งแอล-โดปา 0.32 มิลลิกรัม ละลายด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 5 มิลลิลิตร



GRAD VRU

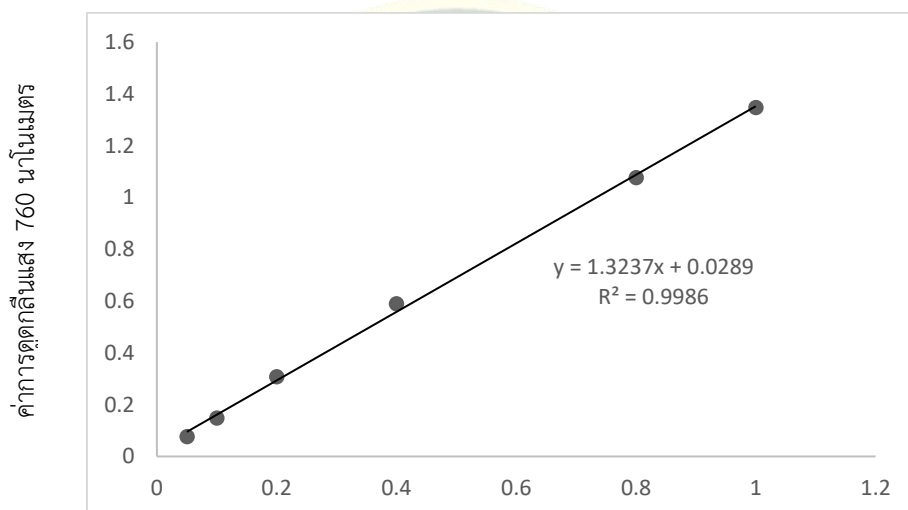


ภาคผนวก จ
กราฟมาตรฐาน

GRAD VRU

1. กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

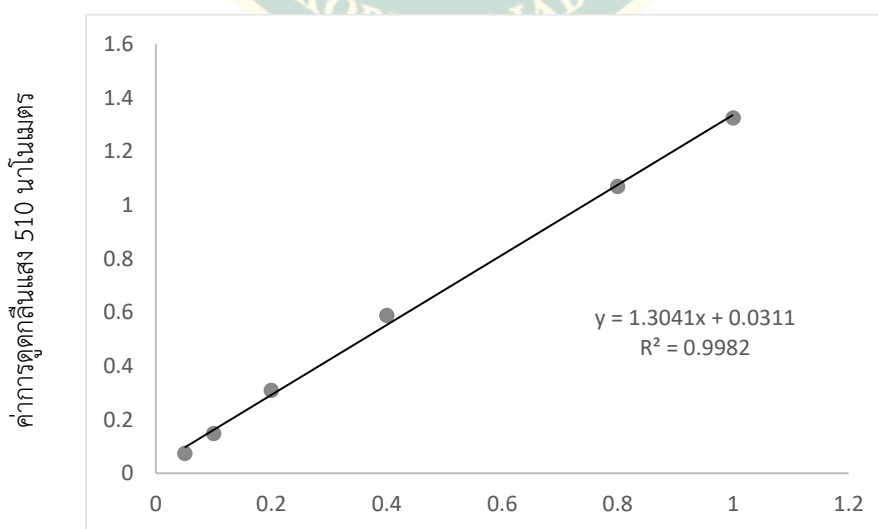
สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

2. กราฟมาตรฐานของสารละลายรูทีน

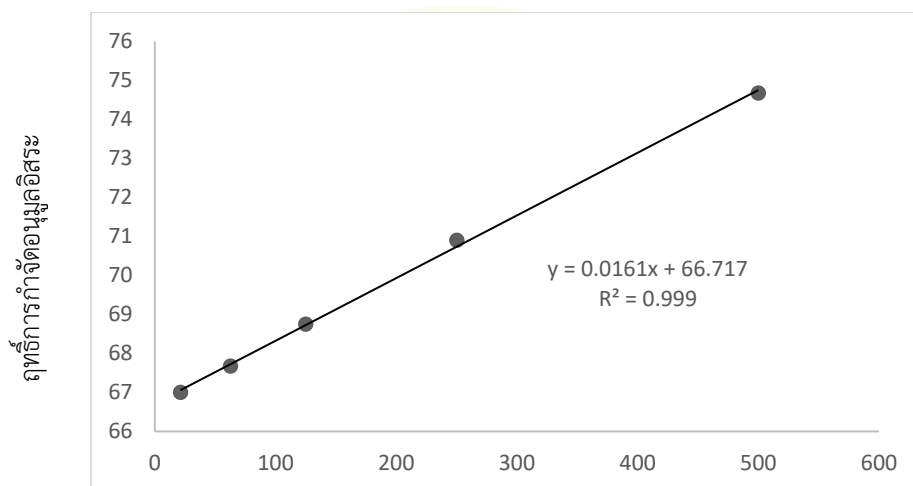
สารละลายมาตรฐานรูทีน ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ความเข้มข้นของสารละลายรูทีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3. กราฟมาตรฐาน BHT

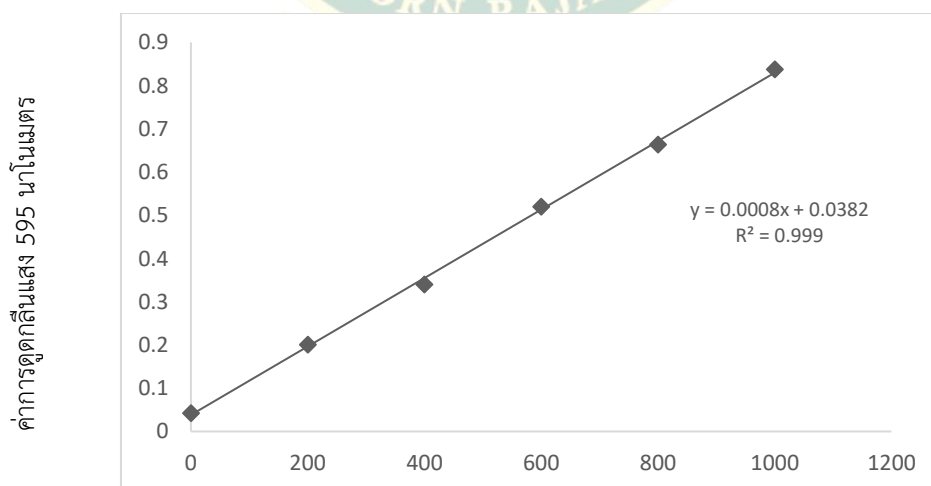
สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 31.25, 62.5, 125, 250, 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BHT (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

4. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออน

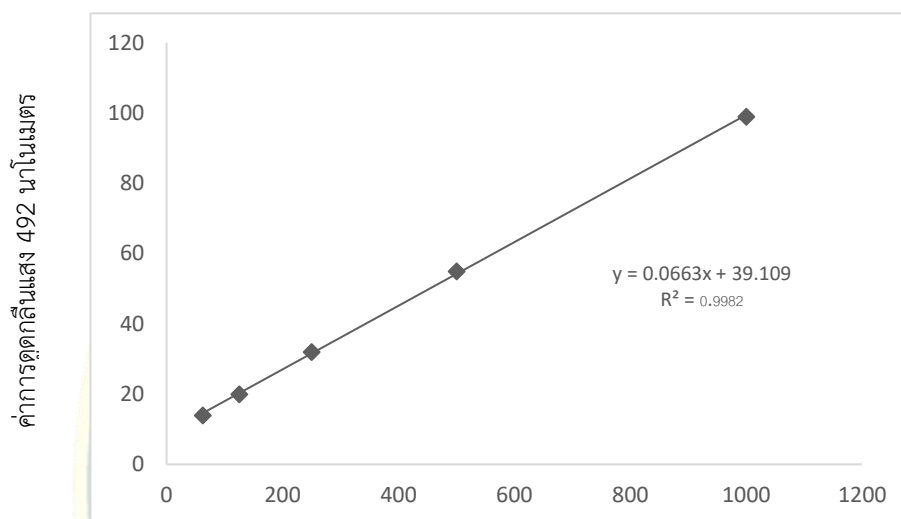
สารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออนความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลต่อลิตร



ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสไอออน (ไมโครโมลต่อลิตร)

5. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก

สารละลายมาตรฐานกรดโคจิกความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ความเข้มข้นของกรดโคจิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

GRAD VRU

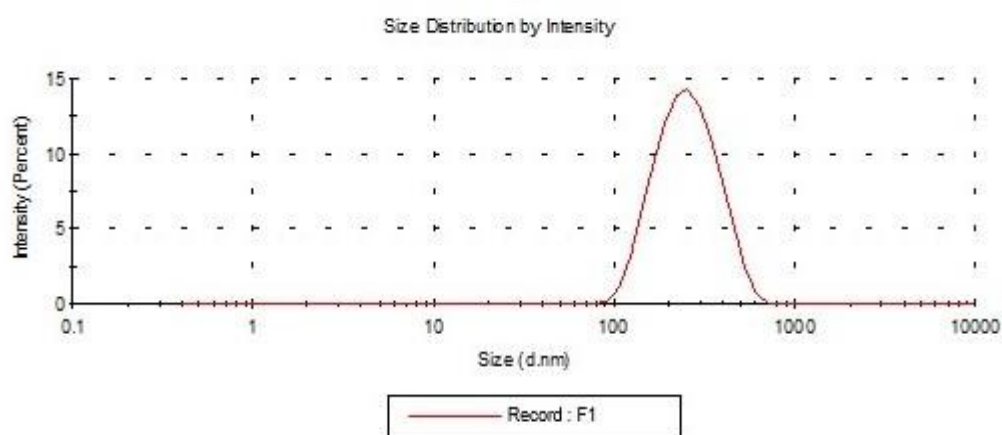


ภาคผนวก ฉ
รายงานผลการวิเคราะห์ขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัว
และประจุบนพื้นผิวของอนุภาคนาโน

GRAD VRU

ตารางภาคผนวก ฉ.1 ขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัว และประจุบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS)

สูตร	อุณหภูมิ (°C)	ขนาดอนุภาค (nm)	ค่าการกระจายตัว	ประจุบนพื้นผิว (mV)
F1	25	235.6	0.357	-32.4
F1	25	234.7	0.348	-34.3
F1	25	230.7	0.349	-33.4
ค่าเฉลี่ย		233.6	0.351	-33.4
SD		24.67	0.001	0.48



ภาพภาคผนวก ฉ1 กราฟการกระจายตัวของอนุภาคนาโนที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS)

GRAD VRU



ภาคผนวก ช

การคำนวณค่า Hydrophilic-lipophilic balance (HLB)

GRAD VRU

การคำนวณหาค่า Total HLB ของสารลดแรงตึงผิว

จากสูตรการเตรียมอนุภาคนาโน

1. น้ำมันรำข้าวร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก (HLB เท่ากับ 9)
2. มอนทานีออฟ 82 ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก (HLB เท่ากับ 10)

รวม ร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก

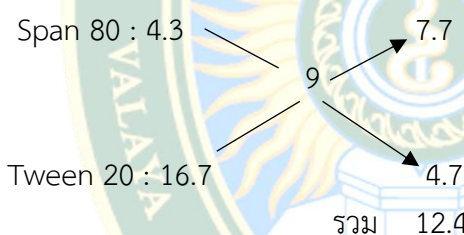
คำนวณหาค่า HLB ของระบบ ดังนี้

$$\text{น้ำมันรำข้าว} = (10/11) \times 9 = 8.1$$

$$\text{มอนทานีออฟ 82} = (1/11) \times 10 = 0.9$$

ดังนั้นค่า HLB ของระบบ คือ 9

สารลดแรงตึงผิวที่ใช้คือ สเปน 80 และทวิน 20 มีค่า HLB เท่ากับ 4.3 และ 16.7 ตามลำดับ
คำนวณสัดส่วนของสเปน 80 และทวิน 20 ดังนี้



ในตำรับใช้สารลดแรงตึงผิวร้อยละ 6

สารลดแรงตึงผิว 12.4 ส่วน ใช้ สเปน 80 = 7.7 ส่วน ใช้ ทวิน 20 = 4.7 ส่วน

สารลดแรงตึงผิวร้อยละ 6 ใช้ สเปน 80 $(7.7 \times 6)/12.4 = 3.72$

ใช้ ทวิน 20 $(4.7 \times 6)/12.4 = 2.28$

รวม = 6.00

ดังนั้นใช้สารลดแรงตึงผิวในตำรับจะใช้ สเปน 80 ร้อยละ 3.72 และทวิน 20 ร้อยละ 2.28

Total HLB ของสารลดแรงตึงผิว ของสารลดแรงตึงผิวคำนวณได้ดังนี้

$$\frac{(4.3 \times 3.72) + (16.7 \times 2.28)}{6} = 9.0$$

ดังนั้น Total HLB ของสารลดแรงตึงผิว = 9.0



ภาคผนวก ซ
เอกสารรับรองโครงการวิจัย

GRAD VRU

COA No. 0009/2563

REC No. 0018/2563



คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage Research Ethics Committee

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัย ตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : การพัฒนานาโนเซรัมบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดของข้าวหมากข้าวมีสี
Study Title : THE DEVELOPMENT OF NANO FACIAL SERUM FROM KHAOW-MAK EXTRACTS OF PIGMENTED RICE

ผู้วิจัยหลัก : นางดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์
Principal investigator : Mrs.Duangduan Wattanuruk

สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ผู้ร่วมวิจัย : รองศาสตราจารย์.ดร. ศศมล ผาสุก
ผู้ร่วมวิจัย : Associate Professor Dr. Sasamon Phasuk

Co-investigators : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
Co-investigators : ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.ปณิชนุช นิลแสง
Co-investigators : Assistant Professor Dr. Punyanuch Nilasang

สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิธีทบทวน : แบบเร่งรัด

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือ ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง

1. AF 01-10 เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
2. AF 02-10 เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
3. AF 03-10 เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
4. AF 04-10 เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
5. AF 05-10 เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
6. สรุปลงโครงการเพื่อการพิจารณาทางจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
7. โครงการวิจัยฉบับเต็ม เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
8. ประวัตินักวิจัย เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563
9. เครื่องมือวิจัย เวอร์ชัน 1.0 วันที่ วันที่ 23 กรกฎาคม 2563

ลงนาม: _____

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศพร ชูศักดิ์)   จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

รองประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ (ประจำสาขาวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ)
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

วันที่รับรอง : วันที่ 23 กรกฎาคม 2
Date of Approval : 23 July 2020
วันหมดอายุ : 23 กรกฎาคม 2564
Approval Expire Date : 23 July 2021

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางดวงเดือน วัฒนารักษ์
วัน เดือน ปี เกิด	22 กรกฎาคม 2515
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2536 วิทยาศาสตรบัณฑิต (วทบ.) สาขา ชีววิทยา เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน พ.ศ. 2544 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วทม.) สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ที่อยู่ปัจจุบัน	เลขที่ 63 หมู่ 11 ถนน พหลโยธิน ตำบลนิคมสร้างตนเอง อำเภอเมืองลพบุรี จังหวัดลพบุรี
ผลงานตีพิมพ์	Wattanuruk, D., Phasuk S. Nilsang, P., & Takolpuckdee, P. (2020). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activities of Khaow-Mak extracts from various colored rice. Journal of Food Health and Bioenvironmental Science, 13(1), 10-18. Wattanuruk, D., Phasuk S. Nilsang, P., & Takolpuckdee, P. (2020). Cytotoxicity Activity of Crude Extracts of Leum Phua Khaow-Mak (<i>Oryza sativa</i> L. variety Leum Phua) against Fibroblast Cell. Journal of Food Health and Bioenvironmental Science, 13(2), 28-35.

GRAD VRU