Published online: 18 October 2019

# การรักษาความเสถียรของลูทีนโดยการกักเก็บในไลโปโซม

# STABILIZATION OF LUTIEN BY ENTRAPMENT IN LIPOSOME

**นางสาวรัตน์ติมา ลาภธนชัย**

fern_toon5925@hotmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง

punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติและความเสถียรของลูทีนเชิงการค้าตลอดจนการเพิ่มความคงตัวของลูทีนด้วยการกักเก็บด้วยไลโปโซม จากการศึกษาพบว่าลูทีนสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลาย C12-15 Alkyl benzoate และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของลูทีนด้วยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ301.03±0.20ไมโครกรัม/มิลลิลิตรแต่อย่างไรก็ตาม ลูทีนไม่มีความเสถียรต่อสภาวะเร่งที่ทำการทดสอบต่างๆ ได้แก่ สภาวะที่อุณหภูมิร้อน/สลับเย็นอุณหภูมิห้องที่มีแสงสว่างอุณหภูมิห้องที่มืดอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะสภาวะอุณหภูมิห้องที่มีแสงสว่างและอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 วัน แสดงให้เห็นว่า ลูทีนไม่มีความคงตัวต่อแสงและความร้อน การเพิ่มความคงตัวของลูทีนด้วยการกักเก็บในโลโปโซม พบว่า ลูทีนสามารถกักเก็บในไลโปโซม โดยมีประสิทธิภาพการกักเก็บสูงสุดร้อยละ 86 เมื่อใช้สารละลายลูทีน เข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อทดสอบความคงตัวของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม พบว่า มีความคงตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายลูทีนในทุกสภาวะการทดสอบ ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่า ไลโปโซมสามารถรักษาความคงตัวของลูทีนได้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีความคงตัวได้

**คำสำคัญ** : ความคงตัว/ไลโปโซม/ลูทีน/สภาวะเร่ง/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

**Abstract**

In the present work, properties and stability of commercial lutein were examined. In addition, increment of liposome stability by entrapping in liposome was also studied. The results showed that lutein can be mostly soluble in C12-15 alkyl benzoate and had ability to absorb wavelength at 445 nm. The lutein provided $IC_{50}$ value of 301.03±0.20μg/ml as determined by DPPH radical scavenging activity.However, it had instability under the all accelerated conditions including heating/cooling cycle for 4 cycles, as well as ambient temperature with and without light, 4°C and 45°C for 30 days. It can be clearly observed that the room temperature with light and 45°C mostly affected the fade of color, indicating instability of lutein. This indicated sensitivity on light and heat of lutein. An attempt to increasing stability of liposome was further carried out and the results revealed that lutein can be entrapped by liposome. The highest efficiency (86%) of loading was accomplished in the presence of 0.5% w/v lutein solution. Stability test of lutein-loaded liposomes revealed that they were stable under the all accelerated conditions. Therefore, it can be concluded that lutein-loaded liposome had more stable and could be potential to be used as active ingredient in cosmetic products.

**Keywords :** Accelerated Conditions, Anti-oxidant, Liposome, Lutein, Stability

**บทนำ**

สารสีจากพืช (Pigments) สารสีที่มีความสำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) พบในพืชหลายชนิด ลูทีน (Lutein) มีชื่อมาจากภาษาลาตินว่า ลูเทียส (Luteus) หมายถึงสีเหลือง สารลูทีนพบมากในกลีบดอกดาวเรืองซึ่งมีลักษณะเป็นสารสีเหลือง ที่ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ (Non-provitamin A carotenoids) โดยทั่วไปหรือเรียกอีกอย่างว่าเป็นกลุ่มแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) ลูทีนเป็นสารสะสมอยู่บริเวณม่านตา เพื่อป้องกันตาจากกระบวนการออกซิเดชั่นร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสร้างสารประกอบได้ ทราบกันดีว่ามีประโยชน์ต่อดวงตาของคนเราและยังมีรายงานการวิจัยว่าสารลูทีนช่วยป้องกันผิวหนังจากรังสียูวี และยังช่วยชะลอความเสื่อมวัยและริ้วรอยของผิวหนังได้ แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับลูทีนว่า เป็นสารที่ไวต่อแสง ความร้อนและสภาวะอื่น ๆ (Sumita, Sharma&Sood, 2013) ดังนั้น สีจึงไม่มีความคงตัว ซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์

จากข้อมูลข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาองค์ประกอบของสารประกอบลูทีนศึกษาความเสถียร ทดสอบดูความคงตัว การเปลี่ยนแปลงของสี การดูดกลืนแสง และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

Mae Fah Luang University

ของสารลูทีนที่ได้ และนำไปพัฒนาหาวิธีเพื่อรักษาความเสถียรและความคงตัว เพื่อนำสารลูทีนที่ได้มาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอางต่อไป

**วัตถุประสงค์ของการศึกษา**

1. เพื่อศึกษาความเสถียรและทดสอบความคงตัวของสารลูทีน
2. เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารลูทีน
3. พัฒนาการกักเก็บสารลูทีนด้วยไลโปโซมเพื่อเพิ่มความเสถียร

**ขอบเขตของการศึกษา**

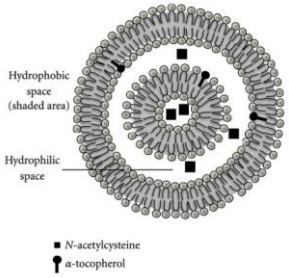
การเตรียมสารลูทีนที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เหมาะสม การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระตลอดจนศึกษาความเสถียรและทดสอบความคงตัวเพื่อเปรียบเทียบระหว่างสารลูทีนกับสารลูทีนที่ถูกกักเก็บในรูปของไลโปโซม เพื่อการรักษาประสิทธิภาพของสารลูทีน

**การทบทวนวรรณกรรม**

ลูทีนเป็นสารสำคัญที่พบในดอกดาวเรือง เป็นสารให้สีในกลุ่มแคโรทีนอยด์พบประมาณร้อยละ 88 ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอในร่างกายได้ (Non-provitamin A carotenoids) เรียกสารกลุ่มนี้ว่าแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย สารอาหารลูทีนนี้ ร่างกายของคนเราไม่สามารถสังเคราะห์สารลูทีนขึ้นมาใช้เองได้ จะต้องกินเข้าไปเท่านั้น นอกจากนี้ลูทีนยังทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในดวงตาของคนเราอีกด้วย เพราะดวงตาของเราจะมีสารอนุมูลอิสระอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งจะเป็นตัวทำลายเซลล์รับภาพและทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับจอประสาทตาทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ได้

เทคโนโลยีไลโปโซมคืออนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าระดับไมครอน(Submicron) มีลักษณะเป็นถุงกลมๆ ของสารไขมันโดยสารไขมันเหล่านี้เป็นสารชนิดแอมฟิพาติก (Amphipathic) กล่าวคือมีทั้งกลุ่มมีขั้ว (Polar) ชอบน้ำและกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุล (Hydrophobic) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไขมันประเภท Phospholipids ทั้งจากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้นเช่น Phosphatidyl-choline (Lecithin), Phosphatidyl-ethanolamine, Phosphatidyl-glycerol และ Phosphatidyl-ionositol เป็นต้น เมื่อผสมลงในสารละลายน้ำโมเลกุลของสารไขมันประเภท Phospholipids สามารถจัดเรียงตัวเป็นชั้นสลับกับชั้นโมเลกุลของน้ำในสารละลายน้ำได้ เพราะโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยทั้งส่วนมีขั้ว (Polar) ชอบน้ำ (Hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้ว (Nonpolar) ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เมื่ออยู่ในน้ำจะจัดเรียงตัวโดยนำส่วนที่มีขั้วหรือมีประจุหันออกหาโมเลกุลน้ำในขณะเดียวกันจะเอาส่วนที่ไม่มีขั้วหันเข้าหาส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลพวกเดียวกันโดยจะอยู่ในลักษณะของการเรียงตัวเป็นแถวของโมเลกุลไขมันซ้อนกันเป็นผนังสองชั้นหรือ Lipid bilayer

Mae Fah Luang University




**ภาพที่ 1** ไลโปโซมที่มีสารฟอสโฟไลปิด (phospholipids) เป็นองค์ประกอบ

กลไกการทำงานของไลโปโซมบริเวณผิวหนังไม่ได้เกิดขึ้นเพียงกลไกใดกลไกหนึ่ง แต่มีหลายกลไกประกอบกันในการช่วยเพิ่มการดูดซึมสารผ่านผิวหนัง กลไกที่มีการนำเสนอในหลายงานวิจัย ก็คือชั้นไขมันสองชั้นในไลโปโซมบางส่วนจะถูกทำลาย เมื่อน้ำระเหยไปจะเกิดเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ บนผิวหนังและสารที่กักเก็บอยู่จะถูกปล่อยออกมาพร้อมกันใต้แผ่นฟิล์มโดยแผ่นฟิล์มไขมันจะช่วยป้องกันการระเหยของน้ำบนผิวหนัง ทำให้หนังกำพร้าอุ้มน้ำได้มากขึ้นและทำให้เกิดการดูดซึมสารเข้าผิวหนังได้ดีขึ้น

**วิธีการดำเนินการวิจัย**

**1. การทดสอบการละลายของลูทีน**

นำสารลูทีนแบบผงละเอียดแห้ง มาจากบริษัท TainjinJianfeng Natural Product R&D Co., Ltd. ประเทศจีนนำเข้าโดยบริษัทบรอนสันแอนด์ จาคอบส์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ความเข้มข้น 10 %(Marigold flower extract (Lutein Powder 10%)) ชั่งน้ำหนักสารลูทีนแบบผงละเอียดแห้ง 0.05 กรัม ลงไปในหลอดทดลองขนาดเล็ก 10 mlจำนวน 11หลอด เติมตัวทำละลาย 11ชนิด คือน้ำ ,โพรพิลีน ไกลคอล, มิเนรัลออย, 1,3 บิวทีลีน ไกลคอล, ไอโซ โพรพิล ไมริสเตท, น้ำมันมะกอก, น้ำมันรำข้าว, C 12-15 แอลคิล เบนโซเอท, กลีเซอริน, คาพริลิค/คาปริก ไตรกลีเซอไรด์ และเอทานอล ให้ได้ 5 w/v ตามลำดับ ปิดฝาด้วยแผ่นพาราฟิล์มและปิดทับอีกชั้นด้วยแผ่นฟรอยด์จากนั้นเขย่าเป็นระยะเวลา 3 นาทีแล้วนำไปเข้าเครื่อง Sonicator เวลา 20 นาที จากนั้นนำสารสกัดมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เปรียบเทียบดูการละลายที่ดีที่สุดของสารลูทีน เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสม

**2. การทดสอบความเสถียรของลูทีน (Lutein Stability)**

เตรียมสารละลายลูทีนความเข้มข้นร้อยละ1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยนำสารลูทีนแบบผงละเอียดแห้ง ชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัม ละลายในตัวทำละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1แบ่งใส่ขวดโหลแก้ว ขวดละ 30 มิลลิลิตร แล้วดูดตัวอย่างสารละลายลูทีนจำนวน 1 มิลลิลิตรผสมกับ ตัวทำละลายที่คัดเลือกอีก 9 มิลลิลิตร โดยนำไปตั้งทิ้งไว้ที่สภาวะต่างๆ ดังนี้ สภาวะที่อุณหภูมิร้อน/สลับเย็น ทำการทดสอบ

Mae Fah Luang University

4 วงจร โดย 1 วงจรเท่ากับการวางที่ร้อน 24 และเย็น 24 ชั่วโมง อุณหภูมิห้องที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิห้องที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบความเสถียรของสีของลูทีนทุกๆ 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดเวลาในแต่ละสภาวะที่ตั้งทิ้งไว้จึงนำมาวิเคราะห์ผลสังเกตผลและบันทึกภาพ เพื่อวัดค่าเริ่มต้นของค่าสี และการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer จนครบทุกช่วงเวลา

**3. การวิเคราะห์คุณภาพสารสกัดทางเคมีด้วยวิธี DPPH assay**

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารลูทีนด้วยวิธี DPPH assay

เตรียมสารโดยนำสารละลายตัวมาตรฐาน Trolox 0.125 mg/ml โดยชั่งสาร Trolox 0.001 กรัม ละลายด้วย 95% Ethanol จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ละลายสาร DPPH 0.0395 mg/ml โดยชั่ง 0.0198 กรัม กับ 95% Ethanol ปริมาณ 300 มิลลิลิตร จากนั้นปรับเป็น 500 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox 0.125 mg/ml ในการใช้สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย DPPH 0.0395 mg/ml ในการผสมจากนั้นผสมเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่ห้องมืด ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

**4. การศึกษาการกักเก็บลูทีนด้วยไลโปโซม**

ทำตัวกักเก็บสาระสำคัญ โดยที่แบ่งทำเป็นตัว Free - Liposome และ Lutein - loaded liposome ความเข้มข้น 0.1 g (0.5%), 0.25 g (1.25%), 0.5 g (2.5%) ตามลำดับ โดยการกักเก็บลูทีนด้วยไลโปโซมทำได้โดยผสมลูทีนกับ เลซิติน, คลอเลสเตอรอล และ Tween 80 ปริมาณ 1 g, 0.15 g และ 0.25 g ตามลำดับ จากนั้นนำไปละลายในสารละลายคลอโรฟอร์ม : เมทานอล จนหมด

แล้วนำไปทำให้ระเหยจนได้ฟิล์มแห้งบาง ที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้จนระเหยและแห้งสนิท จากนั้นค่อยๆเติมบัฟเฟอร์ลงไปจนตัวอย่างละลายหรือกระจายออกมาจนหมด จึงนำตัวอย่างไปเข้าเครื่องส่งคลื่นความถี่สูง อีกประมาณ 20 นาที จึงเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ต่อไป

**5. การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารลูทีนในไลโปโซม (Loading Efficiency)**

นำตัวอย่างไลโปโซมลูทีน ผสมกับคลอโรฟอร์ม แล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนหรือแยกชั้น จึงดูดเอาส่วนใสไปเข้าเครื่องปั่นความเร็วสูง จึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวควบคุม จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าความสามารถในการกักเก็บสารสำคัญวิเคราะห์และรายงานผลเทียบกับกราฟมาตรฐานของลูทีน

**6. การทดสอบความเสถียรของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม (Liposome Lutein Stability)**

ดูดตัวอย่างไลโปโซมลูทีน 1 มิลลิลิตรเติม (1) น้ำกลั่น (DI Water) 9 มิลลิลิตร (2) C12-15 แอลคิลเบนโซเอท (C12-15 alkyl benzoate) 9 มิลลิลิตร

Mae Fah Luang University

โดยนำไปตั้งทิ้งไว้ที่สภาวะต่างๆ ดังนี้ สภาวะที่อุณหภูมิร้อน/สลับเย็นอุณหภูมิห้องที่มีแสงสว่างอุณหภูมิห้องที่มืดอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

จากนั้นทดสอบความคงตัวของสีทุกๆ 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนการทดสอบสภาวะที่อุณหภูมิร้อน/สลับเย็น ทำการทดสอบ 4 วงจร โดย 1 วงจรเท่ากับการวางที่ร้อน 24 ชั่วโมง และเย็น 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาในแต่ละสภาวะที่ตั้งทิ้งไว้จึงนำมาสังเกตผลและบันทึกภาพเพื่อวัดค่าเริ่มต้นของค่าสี และการดูดกลืนแสง ทั้งส่วนน้ำ และส่วนไลโปโซมจนครบทุกช่วงเวลา

**7. การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic Determination)**

**ผลวิจัย**

**1. ความสามารถในการละลายของสารลูทีน**

ทำการศึกษาความสามารถในการละลายของผงลูทีนทางการค้าในตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยลูทีนมีลักษณะที่ปรากฏเป็นผงละเอียดสีส้มออกเหลือง ไม่มีกลิ่น เมื่อนำสารลูทีนมาทดสอบการละลายกับตัวทำละลาย 11 ชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักจากการศึกษา ตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการละลาย คือ C12-15 Alkyl benzoate ซึ่งเป็นน้ำมันที่สามารถละลายลูทีนได้ดีที่สุด ได้สะลายสีส้มใส ไม่มีตะกอน รองลงมาเป็น ไอโซ โพรพิล ไมริสเตท ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำมันกลุ่มเอสเตอร์เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการเป็นตัวทำละลาย ขณะที่น้ำเป็นตัวทำละลายที่ไม่เหมาะสมที่ไม่สามารถละลายลูทีนได้ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของลูทีนซึ่งเป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีโครงสร้างเป็น fatty-acid ester

**2. การทดสอบคุณสมบัติเคมีกายภาพของลูทีน**

2.1 ความสามารถในการดูดกลืนแสง

ทำการศึกษาความสามารถในการดูดกลืนแสงของลูทีนโดยเตรียมสารละลายลูทีน 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้ C12-15 alkyl benzoate เป็นตัวทำละลายจากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 200 – 800 นาโนเมตร พบว่ามีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ประมาณ 450 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ที่รายงานว่าลูทีนมีค่ามาตรฐานการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร

2.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารลูทีน

นำสารลูทีนมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งในการศึกษานี้เลือกใช้วิธีกวาดจับอนุมูล DPPH (DPPH Radical scavenging activity) โดยใช้สารละลายทรอลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐาน โดยนำสารมาตรฐานมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ(% inhibition) เพื่อหา $IC_{50}$ ซึ่งพบว่าลูทีนมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 301.03±0.20 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายทรอลอกซ์ พบว่า สารละลายทรอลอกซ์มีค่า $IC_{50}$ ต่ำกว่าเท่ากับ 1±0.00µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลูทีนมีความ

Mae Fah Luang University

สามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดกวาดจับอนุมูล DPPH แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ที่ได้มีค่าสูงกว่าสารมาตรฐานทรอลอกซ์ประมาณ 300 เท่า

**3. การทดสอบความคงตัวของลูทีน**

การทดสอบความคงตัวของสีในสภาวะเร่งต่างๆ ได้แก่ สภาวะที่อุณหภูมิร้อน/สลับเย็น อุณหภูมิห้องที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิห้องที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการศึกษาพบว่า สารละลายลูทีนไม่มีความคงตัวในทุกสภาวะที่ทำการทดสอบ แสดงให้เห็นว่า ลูทีนไม่มีความคงตัวและไวต่อสภาวะแวดล้อมค่อนข้างสูง เมื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของค่า L*, a*, b* และค่า Hue พบว่าค่าที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละสภาวะเร่งที่ทดสอบสอดคล้องกับสีที่เปลี่ยนแปลงไปที่ทดสอบด้วยสายตา แต่อย่างไรก็ตาม จะสังเกตเห็นได้ว่าสภาวะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของสีได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอื่น โดยที่สภาวะทดสอบที่อุณหภูมิห้องและมีแสงสว่าง และสภาวะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะเร่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่า ลูทีนไม่คงตัวต่อแสงและความร้อนมากที่สุด

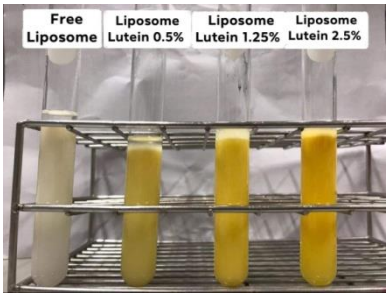
**4. การเพิ่มความคงตัวของลูทีนด้วยการกักเก็บด้วยไลโปโซม**

ในการทดลองนี้ได้เตรียมลูทีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.25 และ 2.5 เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพการกักเก็บลูทีนที่เตรียมจากความเข้มข้นต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความความยาวคลื่น 445 nm พบว่า การใช้ลูทีนที่ 0.5% สามารถกักเก็บไลโปโซมได้ถึงร้อยละ 86 ขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของลูทีนส่งผลให้ประสิทธิภาพการกักเก็บลดลง ดังแสดงในตารางที่ 1 และลักษณะของตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 2

**ตารางที่ 1** ประสิทธิภาพการกักเก็บลูทีนด้วยไลโปโซม

| ปริมาณลูทีนที่ใช้ (% w/v) | ความเข้มข้นของลูทีน (mg/ml) | ความเข้มข้นของลูทีนที่กักเก็บ (mg/ml) | ร้อยละการกักเก็บ |
|---|---|---|---|
| 0.5% | 5 | 4.3 | 86 |
| 1.25% | 12.5 | 6.8 | 54.4 |
| 2.5% | 25 | 9.9 | 39.6 |

Mae Fah Luang University

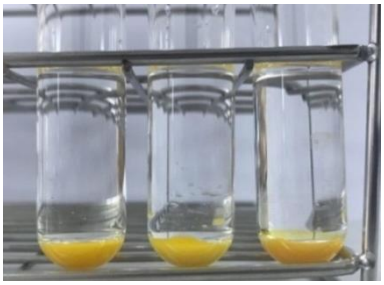



**ภาพที่ 2** ลักษณะภายนอกของไลโปโซมเปล่า และไลโปโซมที่กักเก็บสารลูทีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.25, 2.5 ตามลำดับ

**5. การทดสอบความคงตัวและการเปลี่ยนแปลงของสารลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม**

นำลูทีนที่ถูกกักเก็บในไลโปโซม(lutein loaded liposome)ที่ใช้ลูทีนความเข้มข้นต่างๆ (0.5% 1.25% และ 2.5%) นำมาเจือจางในน้ำกลั่นและ C12-15 Alkyl Benzoateจะได้สารละลายดังภาพที่ 3 และ 4

**ภาพที่ 3** ลักษณะการกระจายตัวของลูทีนที่ถูกกับเก็บในไลโปโซมในสารละลายน้ำ 10 เท่าความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.25และ 2.5% ตามลำดับ (จากซ้ายไปขวา)



**ภาพที่ 4** ลักษณะการละลายลูทีนที่ถูกกับเก็บในไลโปโซมโดยใช้C12-15 Alkyl Benzoate ปริมาตร10 เท่าของไลโปโซมความเข้มข้นร้อยละ0.5,1.25 และ 2.5% ตามลำดับ(จากซ้ายไปขวา)

Mae Fah Luang University

เมื่อประเมินและวิเคราะห์ความคงตัวของสี ระหว่างลูทีนในไลโปโซมกับสารละลายลูทีนในสภาวะต่างๆ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบในสภาวะร้อนสลับเย็น (ตารางที่ 2) พบว่า ลูทีนในไลโปโซมมีความคงตัวมากกว่าสารละลายลูทีน โดยพิจารณาจากค่า$\Delta E$ที่ลดลง เมื่อประเมินค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 445 นาโนเมตร พบว่า ลูทีนมีค่าการเปลี่ยนแปลงที่ต่ำมาก ขณะที่สารละลายลูทีนมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 88.81

**ตารางที่ 2** การเปรียบเทียบค่า L*, a*, b*, h*และ $\Delta E$ของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมในสภาวะที่เปลี่ยนไปด้วยวิธีร้อน/สลับเย็น

| | | Free Lutein 1% | Liposome Lutein in DI water | | | Liposome Lutein in upper phase | | | Liposome Lutein in lower phase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% |
| $C_0$ | L* | 50.22 | 48.81 | 49.09 | 48.45 | 50.28 | 50.86 | 51.81 | 51.91 | 51.58 | 49.75 |
| | a* | 7.71 | 1.21 | 2.13 | 2.35 | 1.31 | 1.34 | 1.29 | 0.65 | 0.96 | 0.97 |
| | b* | 17.22 | 8.54 | 15.04 | 16.20 | -0.21 | -0.35 | -0.20 | 7.87 | 11.76 | 15.21 |
| | H | 44.19 | 81.95 | 81.93 | 81.75 | 349.66 | 343.76 | 350.43 | 84.18 | 85.1 | 84.41 |
| $C_1$ | L* | 52.21 | 51.49 | 50.46 | 50.11 | 51.17 | 51.91 | 50.86 | 51.65 | 50.63 | 49.50 |
| | a* | 8.19 | 1.05 | 1.14 | 1.47 | 1.25 | 1.33 | 1.27 | 0.77 | 0.94 | 1.02 |
| | b* | 16.43 | 6.97 | 10.36 | 12.80 | -0.23 | -0.39 | -0.21 | 7.51 | 10.96 | 14.48 |
| | H | 63.49 | 81.42 | 83.46 | 83.46 | 349.66 | 343.76 | 350.43 | 84.18 | 85.1 | 84.41 |
| $C_2$ | L* | 54.70 | 51.08 | 48.94 | 49.38 | 51.20 | 51.62 | 50.59 | 51.03 | 49.41 | 49.66 |
| | a* | 9.67 | 1.05 | 1.02 | 1.24 | 1.16 | 1.28 | 1.33 | 0.85 | 0.89 | 1.14 |
| | b* | 25.81 | 6.89 | 9.25 | 11.90 | 0.61 | -0.07 | -0.36 | 6.83 | 10.91 | 13.09 |
| | H | 67.57 | 81.36 | 83.73 | 84.05 | 351.27 | 357.64 | 344.91 | 82.86 | 85.32 | 85.03 |
| $C_3$ | L* | 55.84 | 51.38 | 50.81 | 51.09 | 52.14 | 52.12 | 51.63 | 51.52 | 50.81 | 50.19 |
| | a* | 8.08 | 1.02 | 0.96 | 0.95 | 1.33 | 1.33 | 1.30 | 0.72 | 0.67 | 1.02 |
| | b* | 26.39 | 5.75 | 8.17 | 9.75 | -0.36 | -0.34 | -0.31 | 6.6 | 8.67 | 11.55 |
| | H | 73.02 | 80.01 | 83.31 | 84.45 | 344.68 | 345.69 | 346.80 | 83.77 | 85.56 | 84.94 |
| $C_4$ | L* | 56.53 | 50.48 | 50.31 | 51.74 | 51.23 | 51.25 | 50.37 | 50.86 | 51.24 | 51.32 |
| | a* | 7.72 | 1.23 | 0.93 | 0.98 | 1.42 | 1.25 | 1.46 | 0.83 | 0.75 | 1.05 |
| | b* | 27.39 | 4.64 | 9.34 | 8.26 | -0.42 | -0.26 | -0.33 | 7.76 | 8.74 | 10.36 |
| | H | 78.24 | 82.51 | 85.61 | 82.35 | 342.43 | 348.54 | 332.25 | 87.43 | 87.45 | 82.57 |
| | $\Delta E^*$ | 29.81 | 4.24 | 5.95 | 8.70 | 0.92 | 0.41 | 1.54 | 1.07 | 3.05 | 5.10 |

**หมายเหตุ.** *คำนวณจากค่า L*, a* และ b* ที่ $C_0$ และ $C_4$

Mae Fah Luang University

เมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิห้องและมีแสงสว่างเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมยังคงมีความคงตัวมากกว่าสารละลายลูทีน(Free lutein) โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔEน้อยกว่าทุกความเข้มข้นของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม ดังแสดงในตารางที่ 3 และเมื่อทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการวัดที่ความยาวคลื่นที่ 445 เปรียบเทียบกับวันที่ 0 และวันที่ 30 พบว่า ลูทีนในไลโปโซม มีความคงตัวร้อยละ 100 เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ขณะที่สารละลายลูทีนมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 99.80

**ตารางที่ 3** การเปรียบเทียบค่า L*,a*,b*,h* และ $\Delta E$ของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมในสภาวะที่เปลี่ยนไปที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (แสงสว่าง)

| | | Free Lutein 1% | Liposome Lutein in DI water | | | Liposome Lutein in upper phase | | | Liposome Lutein in lower phase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% |
| $D_0$ | L* | 54.22 | 51.72 | 50.19 | 48.40 | 50.46 | 50.97 | 50.44 | 51.64 | 50.44 | 48.38 |
| | a* | 17.67 | 1.06 | 2.16 | 2.33 | 1.37 | 1.36 | 1.28 | 1.06 | 2.14 | 2.51 |
| | b* | 17.20 | 8.53 | 15.04 | 16.30 | -0.27 | -0.36 | -0.32 | 8.54 | 15.06 | 16.40 |
| | H | 44.22 | 81.64 | 81.89 | 81.72 | 349.30 | 342.96 | 350.31 | 81.76 | 81.78 | 81.73 |
| $D_7$ | L* | 57.43 | 50.95 | 52.00 | 50.57 | 51.66 | 50.84 | 51.80 | 48.45 | 48.07 | 48.18 |
| | a* | 4.57 | 1.22 | 1.09 | 1.78 | 1.32 | 1.22 | 1.39 | 1.16 | 1.46 | 1.95 |
| | b* | 29.98 | 8.63 | 10.16 | 10.07 | -0.31 | -0.38 | -0.35 | 7.54 | 11.18 | 9.64 |
| | H | 81.33 | 77.80 | 83.86 | 80.00 | 346.68 | 345.66 | 345.06 | 81.25 | 82.57 | 78.57 |
| $D_{14}$ | L* | 58.59 | 53.97 | 53.61 | 52.03 | 51.89 | 51.49 | 52.14 | 50.03 | 49.69 | 48.64 |
| | a* | -2.57 | 1.29 | 1.04 | 1.78 | 1.36 | 1.34 | 1.31 | 1.00 | 1.01 | 2.05 |
| | b* | 22.99 | 4.21 | 6.53 | 8.47 | -0.35 | -0.34 | -0.21 | 4.53 | 7.76 | 9.03 |
| | H | 96.41 | 72.97 | 80.95 | 78.12 | 345.68 | 345.87 | 350.68 | 77.52 | 82.6 | 77.22 |
| $D_{21}$ | L* | 60.55 | 53.38 | 53.15 | 51.21 | 51.67 | 51.59 | 52.27 | 48.63 | 48.84 | 48.12 |
| | a* | -3.40 | 1.27 | 1.14 | 1.85 | 1.34 | 1.37 | 1.31 | 1.01 | 1.09 | 2.13 |
| | b* | 11.40 | 3.79 | 5.39 | 7.45 | -0.52 | -0.45 | -0.41 | 4.37 | 8.36 | 8.36 |
| | H | 106.61 | 71.43 | 78.00 | 76.03 | 339.08 | 341.57 | 342.48 | 77.01 | 82.55 | 76.34 |
| $D_{28}$ | L* | 60.76 | 50.45 | 52.46 | 45.61 | 52.79 | 52.84 | 52.39 | 49.09 | 48.32 | 48.25 |
| | a* | -4.18 | 1.12 | 1.23 | 2.29 | 1.36 | 1.36 | 1.36 | 1.01 | 1.21 | 2.37 |
| | b* | 2.70 | 3.91 | 5.31 | 9.07 | -0.23 | -0.39 | -0.35 | 5.40 | 8.51 | 9.19 |
| | H | 93.81 | 74.22 | 77.07 | 75.85 | 350.66 | 344.04 | 343.60 | 79.39 | 81.88 | 75.51 |
| | $\Delta E^*$ | 23.91 | 4.79 | 10.03 | 7.75 | 2.33 | 1.87 | 1.95 | 4.05 | 6.95 | 7.22 |

**หมายเหตุ.** *คำนวณจากค่า L*, a* และ b* ที่ $D_0$ และ $D_{28}$

Mae Fah Luang University

เมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิห้องและมีสภาพมืดเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมยังคงมีความคงตัวมากกว่าสารละลายลูทีน(Free lutein) โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่า $\Delta E$น้อยกว่าทุกความเข้มข้นของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม ดังแสดงในตารางที่ 4 และเมื่อทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการวัดที่ความยาวคลื่นที่ 445 เปรียบเทียบกับวันที่ 0 และวันที่ 30 พบว่า ลูทีนในไลโปโซม มีความคงตัวร้อยละ 100 เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ขณะที่สารละลายลูทีนมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 96.41

**ตารางที่ 4** การเปรียบเทียบค่า L*,a*,b*,h*และ $\Delta E$ ของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมในสภาวะที่เปลี่ยนไปที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (ที่มืด)

| | | Free Lutein 1% | Liposome Lutein in DI water | | | Liposome Lutein in upper phase | | | Liposome Lutein in lower phase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% |
| $D_0$ | L* | 60.18 | 50.54 | 51.84 | 48.43 | 50.50 | 50.85 | 51.55 | 51.46 | 50.62 | 49.33 |
| | a* | 17.60 | 1.06 | 2.37 | 1.38 | 1.36 | 1.44 | 1.75 | 1.26 | 2.15 | 2.53 |
| | b* | 17.15 | 7.35 | 15.15 | 14.27 | 0.35 | 0.46 | 0.27 | 8.54 | 15.75 | 16.55 |
| | H | 44.27 | 80.65 | 80.20 | 79.54 | 349.26 | 343.65 | 350.85 | 81.75 | 81.35 | 80.67 |
| $D_7$ | L* | 54.54 | 52.61 | 51.90 | 48.84 | 51.41 | 51.96 | 51.83 | 48.33 | 48.70 | 46.95 |
| | a* | 11.46 | 1.47 | 1.21 | 1.79 | 1.35 | 1.36 | 1.36 | 1.66 | 1.31 | 2.59 |
| | b* | 25.53 | 9.10 | 7.48 | 10.70 | 0.31 | 0.18 | 0.18 | 11.28 | 12.35 | 12.56 |
| | H | 65.83 | 80.85 | 80.84 | 80.53 | 346.95 | 345.86 | 345.04 | 81.63 | 79.87 | 78.36 |
| $D_{14}$ | L* | 56.10 | 53.95 | 53.31 | 51.01 | 51.83 | 52.24 | 52.30 | 49.72 | 48.98 | 48.70 |
| | a* | 7.14 | 1.19 | 1.09 | 1.68 | 1.34 | 1.32 | 1.31 | 1.16 | 1.30 | 2.16 |
| | b* | 27.26 | 6.96 | 6.46 | 9.23 | -0.39 | -0.42 | -0.42 | 7.79 | 8.00 | 10.13 |
| | H | 75.31 | 80.32 | 80.41 | 79.67 | 343.89 | 342.60 | 353.09 | 81.70 | 80.81 | 77.97 |
| $D_{21}$ | L* | 58.61 | 53.69 | 52.72 | 51.41 | 51.58 | 52.27 | 52.21 | 49.14 | 47.90 | 48.55 |
| | a* | 1.81 | 1.11 | 1.06 | 1.42 | 1.33 | 1.31 | 1.31 | 1.09 | 1.31 | 2.14 |
| | b* | 29.34 | 5.98 | 6.01 | 7.50 | -0.52 | -0.48 | -0.22 | 7.12 | 7.96 | 10.32 |
| | H | 86.48 | 79.46 | 80.02 | 79.26 | 339.52 | 339.91 | 350.43 | 81.32 | 80.64 | 78.28 |
| $D_{28}$ | L* | 59.93 | 51.55 | 50.79 | 49.10 | 51.61 | 52.29 | 52.26 | 49.08 | 48.29 | 47.90 |
| | a* | -1.60 | 1.14 | 1.13 | 1.75 | 1.37 | 1.37 | 1.37 | 0.97 | 1.18 | 2.16 |
| | b* | 27.68 | 6.01 | 6.10 | 8.81 | -0.28 | -0.31 | -0.19 | 7.58 | 7.16 | 10.22 |
| | H | 93.32 | 79.28 | 79.51 | 78.77 | 348.45 | 347.20 | 349.49 | 82.74 | 80.63 | 78.05 |
| | $\Delta E^*$ | 21.90 | 1.68 | 9.19 | 5.51 | 1.28 | 1.63 | 0.93 | 2.58 | 8.96 | 6.50 |

**หมายเหตุ.** *คำนวณจากค่า L*, a* และ b* ที่ $D_0$ และ $D_{28}$

Mae Fah Luang University

เมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมยังคงมีความคงตัวมากกว่าสารละลายลูทีน(Free lutein) โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔE น้อยกว่าทุกความเข้มข้นของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม ดังแสดงในตารางที่ 5และเมื่อทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการวัดที่ความยาวคลื่นที่ 445 เปรียบเทียบกับวันที่ 0 และวันที่ 30 พบว่า ลูทีนในไลโปโซม มีความคงตัวร้อยละ 100 เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ขณะที่สารละลายลูทีนมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 29.41

**ตารางที่ 5** การเปรียบเทียบค่า L*,a*,b*,h*และ $\Delta E$ของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมในสภาวะที่เปลี่ยนไปที่สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

| | | Free Lutein 1% | Liposome Lutein in DI water | | | Liposome Lutein in upper phase | | | Liposome Lutein in lower phase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% |
| $D_0$ | L* | 60.31 | 51.59 | 50.44 | 48.34 | 50.59 | 51.38 | 51.76 | 51.75 | 48.35 | 49.86 |
| | a* | 17.78 | 2.54 | 2.55 | 1.54 | 1.45 | 2.08 | 1.33 | 1.34 | 1.42 | 2.04 |
| | b* | 17.35 | 8.35 | 14.26 | 16.71 | 1.51 | 1.04 | 1.30 | 11.35 | 12.58 | 12.62 |
| | H | 44.29 | 82.46 | 81.77 | 80.33 | 341.64 | 351.89 | 381.72 | 82.26 | 79.63 | 80.04 |
| $D_7$ | L* | 56.32 | 51.72 | 51.55 | 50.17 | 50.10 | 50.48 | 52.47 | 48.62 | 47.66 | 47.38 |
| | a* | 18.05 | 1.67 | 1.68 | 2.02 | 1.09 | 0.79 | 1.24 | 1.71 | 2.11 | 2.60 |
| | b* | 18.4 | 11.23 | 14.57 | 12.82 | 10.76 | 1.72 | 2.53 | 9.78 | 12.97 | 12.71 |
| | H | 45.54 | 81.54 | 83.41 | 81.03 | 336.07 | 365.19 | 363.89 | 80.09 | 80.77 | 78.42 |
| $D_{14}$ | L* | 57.09 | 51.57 | 52.56 | 51.54 | 51.81 | 52.05 | 51.93 | 49.64 | 49.16 | 47.67 |
| | a* | 16.62 | 1.43 | 1.30 | 2.89 | 1.33 | 1.27 | 1.26 | 1.34 | 1.48 | 5.84 |
| | b* | 17.65 | 9.25 | 11.86 | 10.58 | -0.25 | -0.28 | 0.51 | 8.48 | 11.08 | 14.34 |
| | H | 46.78 | 81.22 | 83.74 | 84.68 | 349.53 | 347.75 | 322.69 | 81.00 | 82.41 | 67.79 |
| $D_{21}$ | L* | 56.96 | 46.71 | 51.45 | 53.52 | 51.05 | 52.00 | 52.06 | 47.32 | 47.87 | 49.40 |
| | a* | 17.03 | 2.41 | 1.11 | 1.27 | 1.22 | 1.32 | 1.30 | 4.46 | 1.63 | 1.30 |
| | b* | 17.92 | 9.05 | 9.85 | 8.32 | 0.04 | -0.46 | 0.37 | 13.93 | 12.03 | 8.52 |
| | H | 46.45 | 75.09 | 83.59 | 81.29 | 340.65 | 340.76 | 334.26 | 71.95 | 82.19 | 81.44 |
| $D_{28}$ | L* | 61.28 | 49.83 | 50.23 | 54.42 | 51.21 | 50.60 | 50.45 | 50.27 | 49.46 | 48.62 |
| | a* | 17.23 | 1.26 | 1.08 | 1.19 | 1.36 | 1.29 | 1.26 | 1.14 | 1.21 | 1.18 |
| | b* | 18.75 | 8.01 | 10.19 | 8.04 | -0.18 | 0.00 | 0.21 | 7.86 | 10.05 | 9.52 |
| | H | 47.42 | 81.08 | 83.98 | 80.73 | 352.56 | 359.85 | 354.47 | 81.77 | 83.14 | 82.62 |
| | $\Delta E^*$ | 1.79 | 2.20 | 4.33 | 10.60 | 1.80 | 1.52 | 1.71 | 3.80 | 2.77 | 3.45 |

**หมายเหตุ.** *คำนวณจากค่า L*, a* และ b* ที่ $D_0$ และ $D_{28}$

Mae Fah Luang University

เมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งที่สภาวะอุณหภูมิ 45องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมยังคงมีความคงตัวมากกว่าสารละลายลูทีน(Free lutein) โดยมีการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔEน้อยกว่าทุกความเข้มข้นของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซม ดังแสดงในตารางที่ 6และเมื่อทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการวัดที่ความยาวคลื่นที่ 445 เปรียบเทียบกับวันที่ 0 และวันที่ 30 พบว่า ลูทีนในไลโปโซม มีความคงตัวร้อยละ 100 เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว ขณะที่สารละลายลูทีนมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 100

**ตารางที่ 6** การเปรียบเทียบค่า L*,a*,b*,h*และ ΔEของลูทีนที่กักเก็บในไลโปโซมในสภาวะที่เปลี่ยนไปที่สภาวะอุณหภูมิ 45องศาเซลเซียส

| | | Free Lu tein 1% | Liposome Lutein in DI water | | | Liposome Lutein in upper phase | | | Liposome Lutein in lower phase | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% | 0.5% | 1.25% | 2.5% |
| $D_0$ | L* | 50.32 | 57.32 | 51.55 | 50.34 | 61.81 | 61.86 | 60.27 | 47.54 | 48.75 | 49.44 |
| | a* | 17.80 | 2.06 | 1.16 | 1.33 | 1.64 | 1.53 | 1.24 | 1.45 | 1.17 | 1.36 |
| | b* | 17.40 | 6.53 | 4.04 | 5.30 | 9.56 | 9.52 | 8.56 | 7.53 | 6.04 | 4.30 |
| | H | 44.34 | 78.65 | 79.18 | 80.75 | 355.36 | 353.66 | 352.29 | 80.46 | 82.77 | 81.33 |
| $D_7$ | L* | 59.29 | 52.57 | 51.09 | 48.84 | 61.85 | 61.69 | 59.79 | 49.46 | 48.33 | 46.85 |
| | a* | -1.21 | 1.08 | 1.30 | 2.05 | 1.26 | 1.26 | 1.41 | 0.86 | 1.38 | 2.86 |
| | b* | 28.12 | 5.35 | 5.97 | 10.90 | -0.21 | 0.06 | 7.22 | 5.75 | 7.29 | 12.31 |
| | H | 92.47 | 78.54 | 77.75 | 79.32 | 350.69 | 349.51 | 348.65 | 81.52 | 79.29 | 76.89 |
| $D_{14}$ | L* | 59.51 | 53.07 | 51.17 | 49.83 | 61.89 | 62.10 | 61.59 | 49.96 | 48.91 | 47.84 |
| | a* | -3.16 | 1.14 | 1.27 | 1.89 | 1.32 | 1.32 | 1.33 | 0.65 | 1.44 | 2.69 |
| | b* | 21.83 | 3.91 | 5.31 | 9.52 | -0.39 | -0.29 | 0.15 | 4.90 | 7.58 | 11.00 |
| | H | 98.25 | 73.76 | 76.51 | 78.79 | 343.60 | 347.52 | 349.20 | 82.50 | 79.25 | 76.26 |
| $D_{21}$ | L* | 60.65 | 51.76 | 51.12 | 48.35 | 61.95 | 60.86 | 60.93 | 47.54 | 49.40 | 48.37 |
| | a* | -3.08 | 1.08 | 1.16 | 1.77 | 1.39 | 1.34 | 1.41 | 4.20 | 1.09 | 1.97 |
| | b* | 14.02 | 3.26 | 4.86 | 8.25 | -0.93 | -0.62 | -0.70 | 13.20 | 7.17 | 6.44 |
| | H | 102.41 | 71.56 | 76.61 | 77.90 | 326.44 | 335.45 | 333.63 | 72.07 | 81.29 | 79.60 |
| $D_{28}$ | L* | i60.50 | 49.28 | 47.30 | 48.53 | 61.28 | 60.76 | 60.76 | 50.62 | 49.66 | 48.66 |
| | a* | -4.79 | 1.14 | 1.18 | 1.21 | 1.37 | 1.35 | 1.36 | 0.57 | 1.23 | 1.05 |
| | b* | 11.56 | 3.34 | 5.53 | 4.48 | -0.28 | -0.16 | -0.25 | 4.58 | 7.66 | 5.36 |
| | H | 103.56 | 71.13 | 77.96 | 73.68 | 348.63 | 353.28 | 335.87 | 82.95 | 80.86 | 79.39 |
| | $\Delta E^*$ | 25.46 | 8.70 | 4.50 | 1.99 | 9.86 | 9.74 | 8.82 | 4.35 | 1.86 | 1.35 |

**หมายเหตุ.** *คำนวณจากค่า L*, a* และ b* ที่ $D_0$ และ $D_{28}$

Mae Fah Luang University

**6. การประเมินลักษณะของลูทีนที่กักเก็บด้วยไลโปโซมส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic Determination)**

**สรุปผลการทดลอง**

การทดสอบการละลายของลูทีนเชิงการค้า พบว่า C12-15 Alkyl benzoateเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดเนื่องด้วยลูทีนเป็นสารที่ละลายได้ในน้ำมัน และละลายได้ดีที่สุดในปริมาณความเข้มข้น

เมื่อทำการทดสอบคุณสมบัติเคมีกายภาพของลูทีน พบว่า ลูทีนสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ช่วงความยาวคลื่น 445 นาโนเมตร และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจสอบด้วยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่าต้านอนุมูลอิสระในรูป ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 301.03+0.20 µg/ml เมื่อทดสอบความคงตัวของลูทีน พบว่า ลูทีนที่มีคุณสมบัติไวต่อแสงและไม่ทนความร้อนสูง ไม่มีความเสถียรต่อสภาวะเร่งที่ทดสอบด้วยวิธีร้อน/สลับเย็นจำนวน 4 รอบ รวมไปถึงอุณหภูมิห้อง(แสงสว่าง) อุณหภูมิห้อง(ที่มืด) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ทดสอบเป็นระยะเวลา 30 วัน

การเพิ่มความคงตัวของลูทีนด้วยการกักเก็บในไลโปโซม พบว่า ลูทีนสามารถกักเก็บในไลโปโซมได้ จากการศึกษาความเข้มข้นของลูทีนที่เหมาะสมต่อการกักเก็บไลโปโซม พบว่า ความเข้มข้นลูทีน 5 mg/ml มีความสามารถในการกักเก็บลูทีนได้สูงสุดเท่ากับร้อยละ 86 เมื่อประเมินความคงตัวของลูทีนในไลโปโซมในสภาวะเร่งต่าง ๆ ได้แก่ วิธีร้อน/สลับเย็นจำนวน 4 รอบ รวมไปถึงอุณหภูมิห้อง(แสงสว่าง) อุณหภูมิห้อง(ที่มืด) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่ทดสอบเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ลูทีนมีความคงตัวมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายลูทีน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า เทคนิคการกักเก็บลูทีนด้วยไลโปโซมสามารถเพิ่มความคงตัวของไลโปโซม

**ข้อเสนอแนะ**

สามารถนำไปพัฒนาเป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีความคงตัวต่อไปได้ในอนาคต

**รายการอ้างอิง**

วิมลศรีสุข.(2557). *กินอะไร...ชะลอจอประสาทตาเสื่อม.* สืบค้นเมื่อ 17 มกราคม 2562, จาก http://www.phamacy.mahidol.ac.th/th/Knowledge/article/189/ชะลอจอประสาทตาเสื่อมต้องกินอะไร/

Mae Fah Luang University

สุชาดา มานอกและปวีณา ลิ้มเจริญ. (2558).การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับหอมเทพจิตร. *วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,15*(1),106-117.

อรุณทิพย์เหมะธุลิน, สกุลกานต์สิมลา, สุรศักดิ์บุญแต่งและสุดาทิพย์อินทร์ชื่น. (2555). ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (L*, a* และ b*) กับปริมาณแอนโทไซยานิน ในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง.*แก่นเกษตร,40*(ฉบับพิเศษ 4), 59-64.

อำพล ไมตรีเวช, ณรงค์ สาริสุต, ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี, วสุ วิฑูรย์สฤษฏ์ศิลป์และโกศล แซ่ติ้ง. (2555). *การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่ง*.สืบค้นเมื่อ 5 มีนาคม 2562, จาก https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/112/การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่งตอนที่1/

Bangham, A. D. (1993). Liposomes: the Babrahamconnection. *Chemistry and Physics of Lipids.. 64*(1-3), 275-285.

Buckton, G. H. (1995). *Interfacial phenomena in drug delivery and targeting*. Switzerland: Academic Publishers.

Schrooyen, P. M., van der Meer, R.&DeKruif, C. G. (2001). Microencapsulation: Its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society., 60*(4), 475-479.

Shahidi, F.,& Han, X. Q.(1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 33*(6), 501-547.

Sumita, S., K., Sharma, A. &Sood, D. R. (2013). Effect of light and heat on stability of crude carotenoid extract form natural sources. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 4*(6), 2415-2418.

Suntres, Z. E. (2011). Liposomal antioxidants for protection against oxidant-induced damage. *The Journal of Toxicological Sciences, 152474*, 1-16.

Mae Fah Luang University