

**Thesis Title** Development of Nanoemulsion Products from Indigenous Plant Oils with Antioxidant Activity

**Author** Miss Umaporn Pusod

**Degree** Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

**Thesis Advisory Committee**

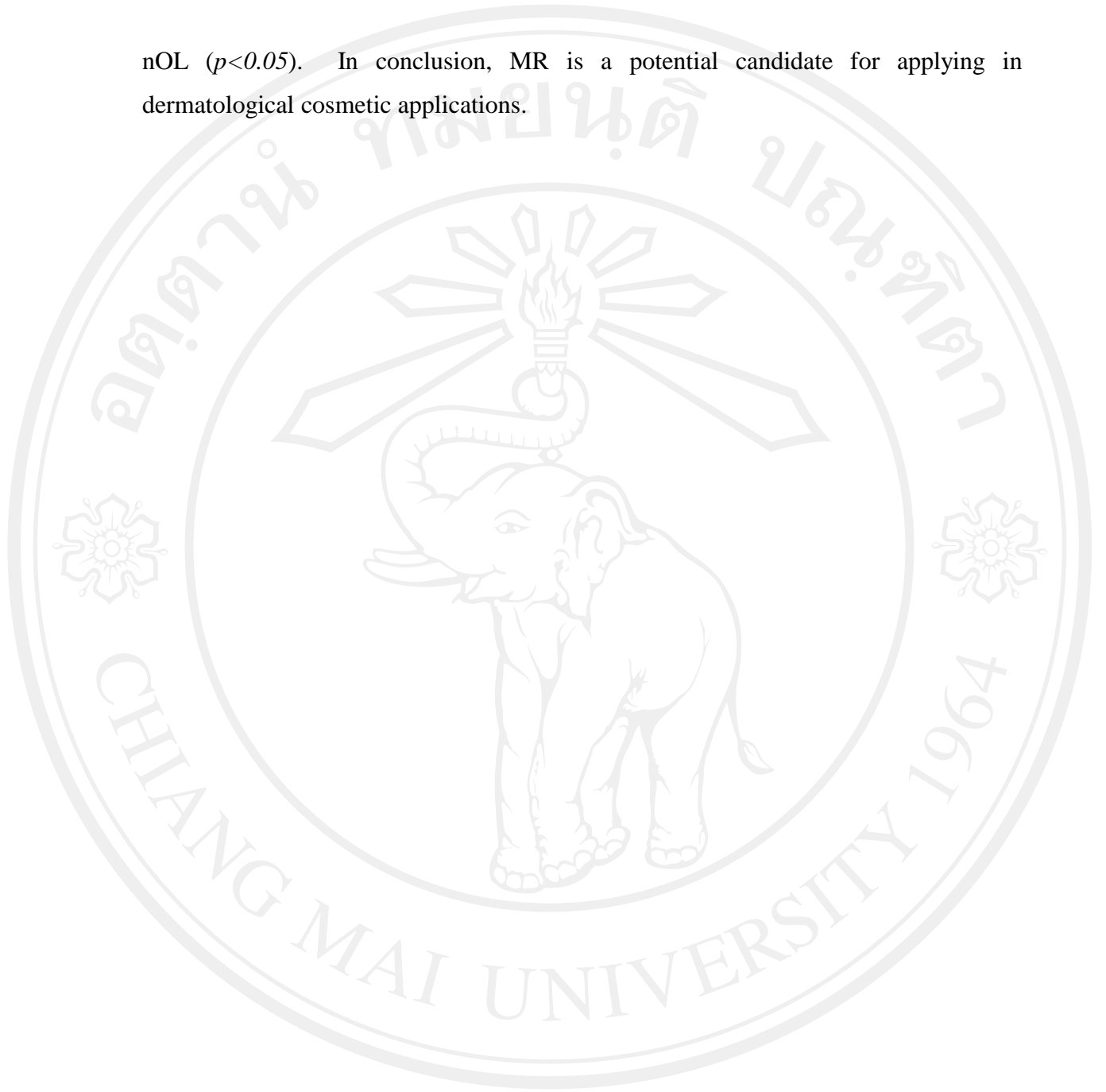
Asst. Prof. Dr. Songwut Yotsawimonwat	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Sunee Chansakaow	Co-advisor

**ABSTRACT**

The objectives of the research were to develop indigenous plant oil nanoemulsion lotions which have good antioxidant activity and to evaluate the moisturizing and wrinkle-reducing efficacy of the formulations for skin. Four varieties of Thai indigenous plant seed oils, namely moringa (MR), roselle (RS), rice bran (RB) and kapok (KP) produced by cold-pressed method were examined for their physicochemical properties, fatty acid compositions, tocopherol profile, and antioxidant activity. Plant oil nanoemulsions were produced by high-energy emulsification methods, i.e. high pressure homogenization. The experiment started with investigation of RHLB (Required Hydrophile-Lipophile Balance) of each plant oil. Then, the highest concentration of plant oils that could be incorporated into the formulations, the suitable surfactant concentration and the appropriate number of homogenization cycle were investigated. The quality of the formulations was evaluated, including appearance by visual observation, droplet size, size distribution and zeta potential using Zetasizer<sup>®</sup>, viscosity using Brookfield<sup>®</sup> rheometer and pH.  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol contents were quantified by the

HPLC. The antioxidant activity was determined by 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. The stability of tocopherols and antioxidant activity of plant oils and their nanoemulsion products were investigated at 4, 30 and 40°C for 90 days. The moisturizing and wrinkle-reducing effects on skin were tested in 30 volunteers after using the products continuously for 3 months. The results showed that all plant oils had similar refractive index, saponification values and esterification values. MR had the lowest iodine value and this correlated well with its low polyunsaturated fatty acid content of 1.21% while other plant oils contained more than 30% of polyunsaturated fatty acids. KP had the highest  $\gamma$ -tocopherol content ( $501.55 \pm 3.25$  mg/kg), RB oil had the highest  $\alpha$ -tocopherol content ( $331.42 \pm 1.11$  mg/kg) and RS oil had the highest total tocopherol content ( $662.46 \pm 12.95$  mg/kg). RB oil showed the highest antioxidant activity ( $IC_{50} = 1.56 \pm 0.26$  mg/mL) and KP oil showed the lowest antioxidant activity ( $IC_{50} = 15.64 \pm 0.72$  mg/mL). The RHLB values of all oils were 6. The maximum concentration of oil that could be incorporated into a nanoemulsion formulation was 40%. The optimum formula contained 40% of plant oil, 15% of mixed surfactants between Tween 80 and Span 80 and the appropriate condition for homogenization was 8 cycles under a pressure of 1,000 bars at 25°C. The obtained plant oil nanoemulsion lotions were white in color, and had a smooth texture with light plant oil odor. All plant oil nanoemulsions had average droplet sizes in the range of 176-182 nm and close zeta potentials in the range of (-42)–(-47) mV. The physical properties of the formula, i.e. particle size, zeta potential and viscosity remained almost unchanged after storage at 4, 30 and 40°C for at least 90 days. RB oil and RB oil nanoemulsion (nRB) showed the highest antioxidant activity among their groups, but tocopherol in nRB degraded relatively quickly. Tocopherols in MR oil and MR oil nanoemulsion (nMR) exhibited the highest stability. nMR, nRB, nMR which supplemented with 1% of alpha-tocopherol (nMRE) were tested for dermatological efficacy in comparison with olive oil nanoemulsion (nOL). All products did not develop any skin irritation, demonstrated good absorption capability into skin and had high efficacy to increase skin hydration level ( $p < 0.05$ ). nMRE could reduce wrinkle (volume and Ra parameters) significantly when compared to

nOL ( $p < 0.05$ ). In conclusion, MR is a potential candidate for applying in dermatological cosmetic applications.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันจากน้ำมันพืชท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน		
ผู้เขียน	นางสาวอุมาพร ภูสศ		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)		
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ทรงวุฒิ	ยศวิมลวัฒน์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รศ. ดร. ศิริพร	โอโกโนกิ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ. ดร. ชฎารัตน์	อัมพะเสวต	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ. ดร. สุนีย์	จันทร์สกว	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับโลชันที่ได้จากน้ำมันพืชท้องถิ่นในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดี และประเมินประสิทธิภาพของตำรับที่ได้พัฒนาขึ้นในการเพิ่มความชุ่มชื้นและลดริ้วรอยของผิวหนัง โดยเลือกใช้น้ำมันบีบเย็นจากเมล็ดพืชของไทยจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ มะรุม, กระจับ, รำข้าว และนุ่น โดยนำมาศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมี, องค์ประกอบที่เป็นกรดไขมัน, โทโคเฟอรอล และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมัน นาโนอิมัลชันถูกเตรียมขึ้นโดยการทำอิมัลชันโดยใช้พลังงานสูง ด้วยเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวความดันสูง (High Pressure Homogenizer) โดยเริ่มจากการศึกษาค่า RHLB (Required Hydrophile-Lipophile Balance) ของน้ำมันแต่ละชนิด, ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่สามารถใส่ในตำรับ ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม และจำนวนรอบในการผ่านเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวความดันสูง โดยพิจารณาคุณภาพของตำรับจากลักษณะภายนอกซึ่งประเมินด้วยตา, ขนาดหยดอนุภาค, การกระจายตัวของขนาดหยดอนุภาคและค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาโดยใช้เครื่อง Zetasizer<sup>®</sup>, ความหนืดโดยใช้เครื่อง Brookfield<sup>®</sup> rheometer, ความเป็นกรดเบส, ปริมาณสารสำคัญของน้ำมันในตำรับ ได้แก่ แอลฟาโทโคเฟอรอล และแกมมาโทโคเฟอรอล โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging

assay ศึกษาความคงสภาพของโทโคเฟอร์รอลและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันและตำรับนาโนอิมัลชัน ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 90 วัน จากนั้นประเมินประสิทธิภาพของตำรับนาโนอิมัลชันในการเพิ่มความชุ่มชื้นและลดริ้วรอยของผิวหนัง โดยทดสอบในอาสาสมัครจำนวน 30 คน ภายหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันทุกชนิดที่นำมาศึกษามีค่า การหักเหของแสง, ค่าซาปอนนิฟิเคชัน (Saponification value) และค่าเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification value) ใกล้เคียงกัน น้ำมันจากเมล็ดมะรุมมีค่าไอโอดีนต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งซึ่งพบในน้ำมันจากเมล็ดมะรุมในปริมาณค่อนข้างน้อยโดยมีเพียงร้อยละ 1.21 ในขณะที่น้ำมันชนิดอื่นมีค่ามากกว่าร้อยละ 30 น้ำมันจากเมล็ดงุ่นมีปริมาณแกมมาโทโคเฟอร์รอลสูงที่สุด ( $501.55 \pm 3.25$  mg/kg) น้ำมันรำข้าวมีปริมาณแอลฟาโทโคเฟอร์รอลสูงที่สุด ( $331.42 \pm 1.11$  mg/kg) น้ำมันจากเมล็ดกระเจียวมีปริมาณรวมของแอลฟาโทโคเฟอร์รอลและแกมมาโทโคเฟอร์รอลสูงที่สุด ( $662.46 \pm 12.95$  mg/kg) น้ำมันรำข้าวมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด ( $IC_{50} = 1.56 \pm 0.26$  mg/mL) และน้ำมันจากเมล็ดงุ่นมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันน้อยที่สุด ( $IC_{50} = 15.64 \pm 0.72$  mg/mL) ค่า RHLB ของน้ำมันพืชที่นำมาศึกษาทุกชนิดเท่ากับ 6 ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่สามารถใส่ได้ในตำรับนาโนอิมัลชันเท่ากับร้อยละ 40 ปริมาณสารลดแรงตึงผิวผสมระหว่าง Tween 80 และ Span 80 ที่เหมาะสมคือร้อยละ 15 และสภาวะในการเตรียมที่เหมาะสม คือใช้จำนวนรอบในการผ่านเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวความดันสูงเท่ากับ 8 รอบ ภายใต้อัตราความดัน 1,000 บาร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยตำรับ โลชันของน้ำมันจากเมล็ดพืชในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวสีขาว เนื้อเนียน และมีกลิ่นเฉพาะตัวของน้ำมันอย่างอ่อน ขนาดหยดอนุภาคเฉลี่ยของตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันที่นำมาศึกษาทุกชนิดมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 176-182 นาโนเมตร และมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง (-42)–(-47) มิลลิโวลต์ หลังจากเก็บผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันที่เตรียมได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 90 วัน พบว่าตำรับ โลชันของน้ำมันจากเมล็ดพืชในรูปแบบนาโนอิมัลชันทุกชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพได้แก่ ขนาดอนุภาค, ศักย์ไฟฟ้าซีตา และความหนืด น้ำมันรำข้าวและนาโนอิมัลชันของน้ำมันรำข้าวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด แต่มีการสลายตัวของโทโคเฟอร์รอลค่อนข้างเร็ว น้ำมันมะรุมและนาโนอิมัลชันของน้ำมันจากเมล็ดมะรุมมีความคงตัวของโทโคเฟอร์รอลค่อนข้างดี จึงได้คัดเลือกตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันจากเมล็ดมะรุม, ตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันรำข้าว และตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันจากเมล็ดมะรุมที่เติมวิตามินอีร้อยละ 1 เพื่อใช้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์โดยเปรียบเทียบกับตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันมะกอก พบว่าตำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันทั้งสี่ตำรับไม่ก่อให้เกิดการแพ้หรือการระคายเคืองในอาสาสมัครและซึมซาบเข้าสู่ผิวได้ดี

สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ต่ำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันจากเมล็ดมะรุมที่มีการเติมวิตามินอีร้อยละ 1 มีความสามารถในการลดริ้วรอยที่แสดงโดยค่า volume และ Ra ของผิวหนังเหนือกว่าต่ำรับนาโนอิมัลชันของน้ำมันมะกอกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) จึงกล่าวโดยสรุปได้ว่าน้ำมันมะรุมมีความเหมาะสมต่อการนำมาประยุกต์ทางเครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง