



ศักยภาพของน้ำมันกานพลูในการต้านออกซิเดชันในหลอดทดลองและปัจจัย
ที่มีผลต่อการเก็บกักน้ำมันกานพลูในอนุภาคไขมันแข็ง

Potential of Clove Oil on *In Vitro* Antioxidant Activity and Factors Affecting Oil Encapsulation Efficiency in Solid Lipid Particles

พนิตตา สัตตะนกุล และวัชร คุณกิตติ*

Panitta Satthanakul and Watcharee Khunkitti*

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* Correspondent author: watkhu@kku.ac.th

Received June 9, 2010

Accepted May 1, 2011

บทคัดย่อ

อนุมูลอิสระอาจทำให้เกิดการเสื่อมสลายของคอลลาเจนและอีลาสติน ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย น้ำมันหอมระเหยกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งน่าจะมีศักยภาพทางเครื่องสำอางสำหรับลดริ้วรอย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี thiobarbituric acid reactive substances assay (TBARS) และวิธี 2,2-diphenyl-1-1-picrylhydrazyl (DPPH) test ศึกษาคุณลักษณะของระบบนำส่งชนิดอนุภาคไขมันแข็งของน้ำมันกานพลูโดยวิธี solvent emulsification diffusion method และออกแบบการทดลองแบบ 2³ full factorial design โดยทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัย 3 ชนิด คือ tween 80, benzyl alcohol และ polyvinyl alcohol ต่อคุณลักษณะของอนุภาคไขมันแข็งที่เก็บกักน้ำมันกานพลู ได้แก่ ขนาดอนุภาค zeta potential และเปอร์เซ็นต์การเก็บกักน้ำมัน จากการศึกษพบว่าในจำนวน 8 ตำรับที่ศึกษา อนุภาคไขมันแข็งสามารถเก็บกักน้ำมันกานพลูได้สูงที่สุดคือ ร้อยละ 96.6 โดยปริมาณ benzyl alcohol และ Tween 80 เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่าขนาดอนุภาคไขมันแข็ง และค่า zeta potential อย่างมีนัยสำคัญ

Abstract

Free radicals may cause dermal elastin and collagen damages leading to early wrinkle formation. Clove oil possesses a powerful antioxidant activity which might have a potential for anti-wrinkle cosmetics. The aims of this study were to investigate on antioxidant activity of clove oil by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay and 2,2-diphenyl-1-1-picrylhydrazyl (DPPH) test and study the characteristics of clove oil solid lipid particle (SLP) delivery system prepared by solvent emulsification diffusion method using 2³ Full factorial design. The effects of 3 factors which were tween 80, benzyl alcohol and polyvinyl alcohol on characteristics of SLP including, particle size, Zeta potential and percent oil entrapment were investigated. Of the 8 tests formula, the maximal

percentage of oil entrapment was up to 96.6%. Benzyl alcohol and tween 80 were significantly affected the particle size of SLP and their zeta potential.

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหยกานพลู ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อนุภาคไขมันแข็ง

Keywords: clove oil, antioxidant, solid lipid particles (SLPs)

1. บทนำ

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย โดยอนุมูลอิสระสามารถทำลายเซลล์ผิวหนังทำให้เกิดการเสื่อมสลายของคอลลาเจนและอีลาสติน ส่งผลให้ผิวหนังเก็บกักความชุ่มชื้นได้ลดลง ทำให้ผิวแห้งและเกิดริ้วรอยได้ง่าย (1) ในปัจจุบันมีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาสารชะลอความแก่จากธรรมชาติ มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้ชะลอความแก่และลดเลือนริ้วรอยได้ (2) โดยสารสกัดจากพืชเหล่านี้สามารถชะลอกระบวนการออกซิเดชันอันเป็นสาเหตุของการเกิดริ้วรอย (2)

กานพลู (*Syzygium aromaticum*, syn., *Eugenia aromaticum*, *Eugenia caryophyllata*) เป็นพืชในวงศ์ Myrtaceae กานพลูใช้ในทางอายุรเวชและแพทย์แผนจีน เพื่อใช้ขับลม กระตุ้นการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยกานพลูยังใช้ในการรักษาโรคในทางทันตกรรม ในทางเครื่องสำอางยังมีรายงานการใช้น้ำมันกานพลูในการรักษาสิว หูด แผลเป็น ตลอดจนการใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำหอม และสารแต่งกลิ่น รส และใช้เป็นยาทาภายนอกเพื่อบรรเทาอาการปวดและช่วยสมานแผล นอกจากนี้ น้ำมันกานพลูยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้านการอักเสบ (3-4) น้ำมันกานพลูมีลักษณะสีเหลืองใสถึงสีเหลืองอ่อน ได้จากการกลั่นไอน้ำ มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว มีค่าความถ่วงจำเพาะที่ 1.045 จุดเดือดที่ 250 องศาเซลเซียส มีการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของน้ำมันกานพลูในตัวทำละลาย ethanol ต่อ diethyl pathalate (1:3) โดยการวิเคราะห์ด้วย

local lymph node พบว่าน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ เนื่องจากค่าดัชนีที่บ่งชี้ว่าจะก่อให้เกิดอาการแพ้มีค่าต่ำ (< 3) และค่าความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูที่อาจก่อให้เกิดอาการแพ้คือ ร้อยละ 7.1 (5)

อนุภาคไขมันแข็งเป็นระบบนำส่งยาที่เกิดจากการเติมสารสำคัญลงผสมกับไขมันที่ถูกห่อหุ้มด้วยความร้อน แล้วเปลี่ยนสภาพเป็นไขมันแข็งเมื่ออุณหภูมิของส่วนผสมลดต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของไขมันชนิดนั้น เทคนิคที่นิยมใช้ในการเตรียมอนุภาคไขมันแข็งให้มีขนาดเล็กได้แก่การใช้เครื่องปั่นลดขนาดแรงดันสูง (high pressure homogenizer) ซึ่งต้องใช้ความร้อนเป็นเวลานานในกระบวนการเตรียม (6) อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เลือกใช้เทคนิค solvent emulsification-evaporation ตามวิธีของ Trotta et al. (7) เพื่อหลีกเลี่ยงความร้อนในกระบวนการเก็บกักน้ำมันกานพลูในอนุภาคไขมันแข็งเป็นการป้องกันการเสื่อมสภาพ และลดอัตราการระเหยของน้ำมันกานพลู โดยการเตรียมอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลูและไขมันแข็งละลายในตัวทำละลายที่เข้ากับน้ำได้ มีพิษต่ำ เช่น benzyl alcohol เมื่อนำอิมัลชันที่เตรียมได้มาเจือจางด้วยน้ำ ไขมันแข็งจะเก็บกักน้ำมันกานพลูทันที เมื่อตัวทำละลายแพร่เข้าไปในน้ำได้อนุภาคไขมันแข็ง

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยกานพลู โดยศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูในการต้านอนุมูลอิสระ และเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระบบนำส่งแบบอนุภาคไขมันแข็งเพื่อช่วยเพิ่มความคง

ตัวของน้ำมันกานพลู ลดอัตราการระเหยของน้ำมันกานพลู และบดบั้งกลั่น ปัจจัยที่ศึกษามี 3 ปัจจัย คือ tween 80, benzyl alcohol และ polyvinyl alcohol (PVA) ที่มีผลต่อขนาดอนุภาคไขมันแข็ง ค่า zeta potential และประสิทธิภาพในการเก็บกักน้ำมันกานพลู โดยออกแบบการทดลองด้วย full factorial experiment และวิเคราะห์ผลโดยเทคนิคในการหาพื้นที่การตอบสนอง (response surface methodology: RSM) ด้วยสถิติ analysis of variance (ANOVA)

2. วิธีการวิจัย

2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษามีดังนี้ น้ำมันหอมระเหยกานพลู (clove oil) (บริษัทเครื่องหอมไทยจีน, ประเทศไทย) glyceryl monostearate (GMS) (เอกตรงเคมีภัณฑ์, ประเทศไทย), polysorbate 80 (tween 80) (เอกตรงเคมีภัณฑ์, ประเทศไทย), potassium chloride (KCl) (เอกตรงเคมีภัณฑ์, ประเทศไทย), sodium lauryl sulphate (SLS) (เอกตรงเคมีภัณฑ์, ประเทศไทย) สารเคมีอื่นๆ เป็น analytical grade ดังนี้ acetic acid (Scharian, Spain), benzyl alcohol (Riedel de Haën, Germany), butylated hydroxytoluene (BHT) (Riedel de Haën, Germany), 2,2-azobis-(2-aminopropane)-dihydrochloride (ABAP) (Aldrich, Germany), polyvinyl alcohol (PVA) (Aldrich, Germany), butanol (Lab Scan, Thailand) dichloromethane (DCM) (Lab Scan, Thailand), 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) (Fluka, Germany), ethanol (Merck, Germany), methanol (BDH, USA), thiobarbituric acid (TBA) (Sigma Aldrich, Germany)

2.2 การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูด้วยเทคนิค gas chromatography/mass spectro-

scopy (GC/MS)

ศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูโดยเครื่อง mass spectrometer (CN 10402086, Agilent, USA) และ gas chromatography (US 35120381, Agilent, China) ด้วยคอลัมน์ DB-5ms (0.25 ไมครอน, 30 เมตร $\times$ 0.25 มิลลิเมตร) ใช้ helium (He) เป็น carrier gas ด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิตร/นาที่ ปริมาณตัวอย่างที่ฉีด 1 ไมโครลิตร และใช้โปรแกรมควบคุมอุณหภูมิดังนี้ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วปรับเป็น 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียส/นาที่ จากนั้นเพิ่มเป็น 270 ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียส/นาที่ ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 53.67 นาที และใช้ Software MSD Chem Station ในการควบคุมการทำงานและประเมินผล นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับ mass spectra index ของ Wiley 7n.l MS Search และคำนวณปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟ

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลู

2.3.1 การทดสอบการยับยั้ง lipid peroxidation ของน้ำมันหอมระเหยกานพลู ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARs)

เติมไข่แดงความเข้มข้น ร้อยละ 10 ในสารละลาย KCL เข้มข้น ร้อยละ 1.15 ปริมาณ 0.5 มิลลิตร จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยกานพลู ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตร/มิลลิตร (ซึ่งละลายใน methanol) ปริมาณ 0.1 มิลลิตร และน้ำกลั่น 0.4 มิลลิตร แล้วตามด้วยสารละลาย ABAP (2,2 azobis (2-aminopropane) dihydrochloride) เข้มข้น 0.07 โมลาร์ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร และสารละลาย acetic acid (pH 3.5) เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1.5 มิลลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลาย TBA (thiobarbituric acid) เข้มข้น ร้อยละ 0.8 ปริมาณ 1.5 มิลลิตร แล้วนำไปอุ่นในอ่างอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศา

เซลล์ซีส เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น สกัดด้วย butanol นำส่วนที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 523 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่เติม ABAP (blank) และหลอดควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันกานพลู ซึ่งทำการทดลองในทำนองเดียวกัน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย) สำหรับสารมาตรฐาน BHT และ α -tocopherol acetate ทำการทดลองดังขั้นตอนเดียวกัน นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยกานพลู และสารมาตรฐานได้จากสมการที่ (1)

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - (\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{blank}})}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100 \quad (1)$$

$\text{Abs}_{\text{control}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม

$\text{Abs}_{\text{sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันกานพลู หรือสารมาตรฐาน

$\text{Abs}_{\text{blank}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank

2.3.2 การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยกานพลู (free radical scavenging) ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-1-picrylhydrazil (DPPH)

เติมน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ความเข้มข้น 20 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (ซึ่งละลายใน methanol) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงใน microtiter plate 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-1-picrylhydrazil) เข้มข้น 0.0004 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม ผสมกันในแต่ละหลุมเป็นเวลา 5 นาที และนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 25 นาที แล้วนำไป

วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลาย DPPH และค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันกานพลู ซึ่งทำการทดลองในทำนองเดียวกัน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย) สำหรับสารมาตรฐาน BHT และ α -tocopherol acetate สามารถทดสอบได้ตามขั้นตอนเดียวกัน นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยกานพลู และสารมาตรฐาน ได้จากสมการที่ (1)

2.4 ศึกษาการเตรียม solid lipid particles (SLP) ของน้ำมันหอมกานพลู ด้วยวิธี solvent-emulsification-diffusion technique

2.4.1 การเตรียมอนุภาคไขมันแข็ง โดยมีส่วนประกอบในการเตรียมแสดงในตารางที่ 1 มีขั้นตอนดังนี้

ซึ่ง glyceryl monostearate (GMS) ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม benzyl alcohol และ tween 80 จากนั้นเติมน้ำหรือสารละลาย PVA 10 มิลลิลิตร ตามสูตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จน GMS หลอมละลาย เติมน้ำมันกานพลู 200 มิลลิลิตร นำไปผสมกันเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมน้ำอย่างรวดเร็วจนครบปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2.4.2 การประเมินลักษณะทางกายภาพของอนุภาคไขมันแข็ง

2.4.2.1 การหาขนาดอนุภาค และ zeta potential ของอนุภาคไขมันแข็ง

นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวัดหาขนาดอนุภาคได้ด้วยเครื่อง Mastersizer 2000 (Malvern, UK) และค่า zeta potential ด้วยเครื่อง Zetasizer (Malvern, UK)

2.4.2.2 การหาปริมาณน้ำมันกานพลูที่ถูกเก็บกักในอนุภาคไขมันแข็ง

ตารางที่ 1. ส่วนประกอบในอนุภาคไขมันแข็ง

สาร	ปริมาตร/ปริมาณ	ประโยชน์ในตำรับ
น้ำมันกานพลู	200 ไมโครลิตร	สารสำคัญ
GMS	0.25 กรัม	ผนังแคปซูล
Tween 80	0.1 – 0.25 กรัม	สารก่ออิมัลชัน
Benzyl alcohol	1-2 มิลลิลิตร	ตัวทำละลาย GMS
PVA (ร้อยละ 1)	0 – 10 มิลลิลิตร	สารเพิ่มความหนืด
น้ำ	qs to 50 มิลลิลิตร	สารช่วยเจือจาง

ปีเปตอนุภาคไขมันแข็งที่เตรียมได้มา 3 มิลลิลิตร เติมสารละลาย CaCl_2 เข้มข้น ร้อยละ 10 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.22 ไมครอน แล้วนำสารละลายที่กรองได้มา 0.750 มิลลิลิตร มาเติมใน dichloromethane (DCM) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันนาน 1 นาที คูณสารละลายชั้นล่างไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 285.1 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ blank ที่ทำตามขั้นตอนเดียวกัน คำนวณหาปริมาณน้ำมันกานพลูที่เหลืออยู่ในตำรับแล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเก็บกักน้ำมันดังสมการที่ (2)

$$\% \text{ entrapment} = \frac{\text{Clove oil}_{\text{int}} - \text{Clove oil}_{\text{fin}}}{\text{Clove oil}_{\text{int}}} \times 100 \quad (2)$$

โดย $\text{Clove oil}_{\text{int}}$ คือ ปริมาณน้ำมันกานพลูเริ่มต้นที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคไขมันแข็ง

$\text{Clove oil}_{\text{fin}}$ คือ ปริมาณน้ำมันกานพลูที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคไขมันแข็ง

2.5 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณลักษณะของอนุภาคไขมันแข็ง โดยใช้ 2^3 full factorial design

ในการศึกษาเบื้องต้น พบว่าปัจจัยที่น่าจะมีผลทำให้ได้อนุภาคไขมันแข็งที่มีคุณลักษณะที่ดีมี 3 ปัจจัย คือ tween 80 (x_1), benzyl alcohol (x_2) และ PVA (x_3) ความเข้มข้นร้อยละ 1 กำหนด

ปริมาณของปัจจัยที่ศึกษา 2 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 ได้ตำรับที่ต้องศึกษา 8 ตำรับ โดยมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 3

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูด้วยเทคนิค GC/MS

จากการทดลองพบว่าน้ำมันกานพลูมี eugenol เป็นองค์ประกอบหลักซึ่งมีสูงถึง ร้อยละ 99.16 ส่วนผลการศึกษาของ Chaieb et al. (8) ซึ่งมีปริมาณ eugenol ร้อยละ 88.58 ส่วน caryophyllene มีปริมาณ ร้อยละ 0.30 ซึ่งน้อยกว่าการรายงานของ Chaieb et al. (8) ที่มีปริมาณของ caryophyllene เท่ากับ ร้อยละ 1.39 โดยผลที่ได้มีค่าแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากน้ำมันกานพลูที่ใช้ได้มาจากแหล่งผลิตที่ต่างกัน ทำให้องค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลู

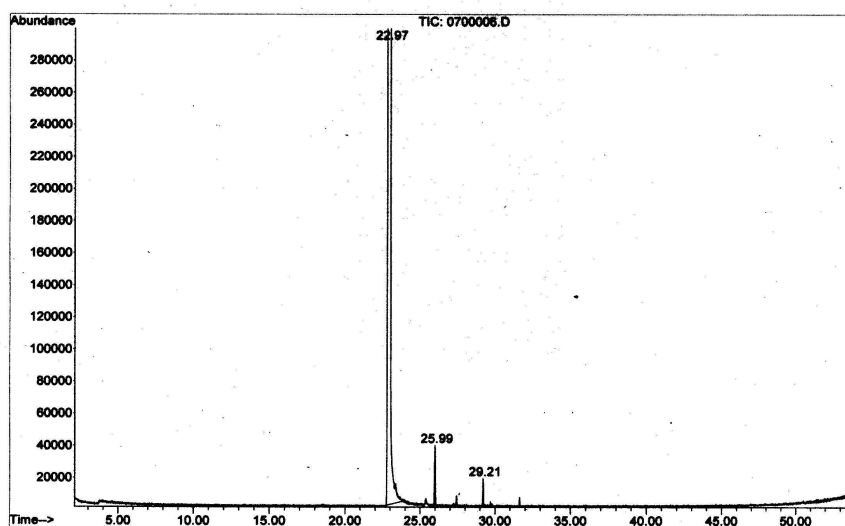
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี พบว่าน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน BHT และ α -tocopherol acetate ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ruberto and Baratta (9) ที่พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ eugenol ดังนั้นน้ำมันกานพลูน่าจะมีศักยภาพ ในการนำมาพัฒนาเป็นเครื่องสำอางลดริ้วรอยได้ ซึ่งจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ eugenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 1000, 500 และ 100

ตารางที่ 2. แสดงปัจจัยที่ส่งผลในการตั้งตำรับอนุภาคไขมันแข็งของน้ำมันกานพลู

ปัจจัย	สาร	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
A	Tween 80 (x ₁)	0.1	0.25
B	Benzyl alcohol (x ₂)	1	2
C	1% w/v PVA (x ₃)	10	20

ตารางที่ 3. การออกแบบการทดลองด้วย 2³ Full factorial experiment layout

ตำรับที่	Tween 80	Benzyl alcohol	PVA
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+



รูปที่ 1. โครมาโทแกรมส่วนประกอบในน้ำมันกานพลู

ตารางที่ 4. แสดงส่วนประกอบและปริมาณสารสำคัญในน้ำมันกานพลู

เวลาที่แสดงตำแหน่งของสาร (นาที)	สารประกอบ	สูตรเคมี	พื้นที่ (ร้อยละ)
22.97	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	99.161
25.99	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0.295
29.21	Butylated Hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	0.105

(หมายเหตุ total identification: 99.561)

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 81.2, 67.2 และ 64.7 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า น้ำมันกานพลูซึ่งมี eugenol ในปริมาณสูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดี แต่อย่างไรก็ตามในน้ำมันกานพลูยังมีสารอื่นๆเป็น องค์ประกอบ ซึ่งอาจให้ผลการทดลองที่แตกต่างไปจากการใช้ eugenol บริสุทธิ์ในการทดลอง

3.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณลักษณะของอนุภาคไขมันแข็งโดย 2^3 full factorial experiment

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า glyceryl monostearate (GMS) สามารถเก็บกักน้ำมันกานพลูได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไขมันแข็งชนิดอื่น โดยปัจจัยที่เลือกทำการศึกษาคือ ผลของปริมาณของ tween 80 ซึ่งเป็นสารก่ออิมัลชัน benzyl alcohol เป็นตัวทำละลาย และ PVA เป็นสารเพิ่มความหนืดให้วัตถุดิบ เพื่อช่วยลดอัตราการเกาะกันของอนุภาคน้ำมัน ทำการผสมเพื่อให้เกิดอิมัลชัน และเจือจางด้วยน้ำเพื่อให้ benzyl alcohol ที่อิมัลชันในน้ำแพร่ออกมา และ GMS ก่อตัวเป็นผนังหุ้มอนุภาคของน้ำมัน ตารางที่ 6 แสดงลักษณะทางกายภาพของอนุภาคไขมันแข็ง ซึ่งพบว่าตำรับที่ 1 5 และ 6 สามารถเตรียมเป็นอนุภาคไขมันแข็งขนาดเล็กละเอียด เมื่อพิจารณาส่วนประกอบในตำรับในตารางที่ 3 พบว่าตำรับที่มีปริมาณ benzyl alcohol ระดับต่ำทั้งหมด เมื่อพิจารณาค่าการละลายของ benzyl alcohol ในน้ำพบว่ามีค่า 1 ต่อ 25 (10) ซึ่งมีความ

เข้มข้นน้ำมากพอที่จะดึงตัวทำละลายออกหมดทำให้ GMS จะสามารถเก็บกักน้ำมันได้ ในขณะที่ตำรับที่ 2 3 4 7 และ 8 ซึ่งมีปริมาณ benzyl alcohol ในระดับสูงประกอบกับสัดส่วนของ tween 80 และ PVA ที่ต่างกัน น่าจะส่งผลให้ GMS แยกตัวออกมาเป็นก้อน และเกิดการแยกชั้นของส่วนผสมในตำรับ เนื่องจากสัดส่วนของสารประกอบในตำรับไม่เหมาะสม benzyl alcohol ที่มีในปริมาณสูงไม่สามารถแพร่ออกมาได้หมด จึงทำให้ GMS สร้างผนังหุ้มอนุภาคของน้ำมันกานพลูไม่สมบูรณ์และแยกตัวออกมา

เนื่องจากการหาอัตราการเก็บกักน้ำมันกานพลูของตำรับที่แยกชั้นไม่สามารถวิเคราะห์ได้ ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์เฉพาะตำรับที่มีลักษณะการก่ออนุภาคที่ชัดเจน ซึ่งคุณลักษณะของอนุภาคไขมันแข็งที่วิเคราะห์ได้แสดงในตารางที่ 7 พบว่าตำรับที่เหมาะสมมีค่าร้อยละการเก็บกักน้ำมันกานพลูสูงที่สุดคือตำรับที่ 6 ซึ่งมีค่า ร้อยละ 96.6 และขนาดอนุภาคที่ d(0.5) เป็น 33.42 ไมครอน ซึ่งเล็กกว่าตำรับที่ 1 (60.58 ไมครอน) และตำรับที่ 5 (51.95 ไมครอน) เมื่อพิจารณาสัดส่วนของปัจจัยที่ศึกษาพบว่าตำรับนี้ มีปริมาณ tween 80 และ PVA ในระดับสูง และปริมาณ benzyl alcohol ในระดับต่ำ อธิบายได้ว่าปริมาณสารก่ออิมัลชันที่มากทำให้สามารถลดขนาดของวัตถุดิบได้ดี และการมี PVA ในระดับสูงจะเพิ่มความหนืดให้กับวัตถุดิบ ทำให้อนุภาคน้ำมันรวมตัวกันช้าลง ในขณะที่ benzyl alcohol สามารถแพร่ออกมารวมกับน้ำได้หมดทำให้ GMS สร้างผนังหุ้มน้ำมันกานพลูได้

ตารางที่ 5. เปอร์เซนต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูด้วยวิธี TBARS และ DPPH

สาร	% inhibition (mean $\pm$ SD)	
	TBARS	DPPH
Clove oil	65.8 $\pm$ 1.62	91.1 $\pm$ 0.97
BHT	61.8 $\pm$ 2.05	74.8 $\pm$ 1.56
α -tocopherol acetate	39.6 $\pm$ 3.50	48.3 $\pm$ 7.14

ตารางที่ 6. แสดงลักษณะทางกายภาพของอนุภาคไขมันแข็งที่เตรียมได้

ลำดับที่	ลักษณะทางกายภาพ
1	ลักษณะค่อนข้างใส มีตะกอนละเอียดสีขาวนวล
2	มีตะกอนละเอียดปนหยาบและมีก้อนแว็กซ์ขนาดใหญ่ปนกัน มีลักษณะแยกชั้นอย่างชัดเจน
3	มีตะกอนหยาบสีขาวนวล มีบางส่วนลอยบนผิวหน้า มีลักษณะแยกชั้นอย่างชัดเจน
4	มีตะกอนคล้ายก้อนแว็กซ์หยาบจับกันเป็นก้อน มีลักษณะแยกชั้นอย่างชัดเจน
5	ขาวขุ่น มีตะกอนละเอียดปนกัน
6	มีตะกอนละเอียดปนกัน
7	มีตะกอนหยาบปนกัน มีบางส่วนลอยบนผิวหน้า มีลักษณะแยกชั้นอย่างชัดเจน
8	มีตะกอนหยาบปนก้อนแว็กซ์ขนาดใหญ่ปนกัน มีลักษณะแยกชั้นอย่างชัดเจน

ตารางที่ 7. ขนาดอนุภาคที่ d(0.5), ขนาดอนุภาคที่ d(0.9), Zeta potential และร้อยละของการเก็บกักน้ำมันในอนุภาคไขมันแข็ง

ลำดับที่	ขนาดอนุภาคที่ d (0.5) (Y ₁)	ขนาดอนุภาคที่ d (0.9) (Y ₂)	span	Zeta potential (Y ₃)	เปอร์เซ็นต์ Entrapment (Y ₄)
1	60.580 ± 10.100	248.520 ± 3.662	4.094 ± 0.749	-36.6 ± 1.077	80.47 ± 0.08
2	23.680 ± 1.309	208.288 ± 0.911	8.730 ± 0.533	-17.1 ± 0.775	ND
3	14.281 ± 1.753	274.800 ± 22.314	19.458 ± 3.734	-39.9 ± 2.769	ND
4	18.639 ± 2.383	276.452 ± 18.760	14.822 ± 1.147	-37.4 ± 0.560	ND
5	51.954 ± 5.497	319.798 ± 12.412	6.120 ± 0.806	-29.3 ± 0.550	71.42 ± 0.09
6	33.424 ± 2.015	233.207 ± 6.612	6.908 ± 0.232	-15.9 ± 0.371	96.59 ± 0.07
7	21.514 ± 4.261	115.849 ± 57.801	5.763 ± 4.049	-40.1 ± 0.809	ND
8	11.045 ± 1.102	277.699 ± 47.296	24.942 ± 1.736	-25.4 ± 0.222	ND

หมายเหตุ

Y₁ : ขนาดอนุภาคที่ d(0.5) หมายถึงค่ากลางของขนาดของอนุภาคที่ ร้อยละ 50 ของตัวอย่าง (Volume median diameter)

Y₂ : ขนาดอนุภาคที่ d(0.9) หมายถึงค่ากลางของขนาดของอนุภาคที่ ร้อยละ 90 ของตัวอย่าง

Y₃ : zeta potential คือค่าความต่างศักย์ทางไฟฟ้าบริเวณ shear plane ของอนุภาค

Y₄ : เปอร์เซ็นต์การเก็บกัก (Entrapment)

Span : ค่าความกว้างของการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

ND : not determination

อนุภาคไขมันแข็งที่มีขนาดเล็ก อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการเตรียมโดยวิธีนี้ไม่ได้ใช้เครื่องมือวัดขนาดขนาดสมรรถนะสูง จึงทำให้ขนาดอนุภาคมีค่าการกระจายตัวที่สูง

จากผลการทดลองที่ได้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผล โดยใช้เทคนิคในการหาพื้นที่การตอบสนองด้วยสถิติ ANOVA เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย

3 ชนิด คือ tween 80 (x₁), benzyl alcohol (x₂) และ PVA (x₃) กับค่าสังเกต ได้แก่ ขนาดอนุภาค

ไขมันแข็งที่ d(0.5) (Y₁), d(0.9) (Y₂) และ zeta potential (Y₃) โดยใช้สมการทั่วไปแบบ polynomial ในการทำนายค่า Y_i ดังแสดงในสมการที่ (3) (11-12)

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{33}x_3^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 \quad (3)$$

เมื่อค่า Y_i คือ ค่าพารามิเตอร์ที่ทำนาย
β₀ คือ ค่าคงที่

β_1 , β_2 และ β_3 คือ สัมประสิทธิ์การถดถอยของ linear term

β_{11} , β_{22} และ β_{33} คือ สัมประสิทธิ์การถดถอยของ quadratic term

β_{12} , β_{13} และ β_{23} คือ สัมประสิทธิ์การถดถอยของ interaction term

x_1 , x_2 และ x_3 คือ ตัวแปรอิสระ

จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Design Expert V.7.1 (Stat-Ease, USA) เพื่อให้ได้แบบจำลองโครงสร้างที่ใช้ในการทำนายความสัมพันธ์ของตัวแปรต้นกับค่าสังเกตหรือพารามิเตอร์ที่วัด ซึ่งใช้อธิบายปัจจัยที่เป็นอิทธิพลหลัก (main effect) และปัจจัยที่เป็นอิทธิพลร่วม (interaction effect) แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับค่าสังเกตด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงพหุ (R^2) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงพหุที่นำมาปรับเพื่อให้สัมพันธ์กับจำนวนตัวแปรต้นในรูปแบบจำลอง (adjusted R^2) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงพหุระหว่างข้อมูลชุดใหม่กับรูปแบบจำลอง (predicted R^2) ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 8 และตารางที่ 9

3.3.1 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคที่ d (0.5)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับขนาดอนุภาคที่ d(0.5) พบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่มีอิทธิพลร่วม โดยเลือกแบบจำลองชนิด 2 factorial interaction (2FI) reduced model พบว่ามีค่า adjusted R^2 และค่า predicted R^2 เท่ากับ 0.8925 และ 0.7542 ตามลำดับ ซึ่งจะแสดงถึงความสามารถของแบบจำลองในการทำนายผลที่ได้ใกล้เคียงความจริงถึง ร้อยละ 75.42 และพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อขนาดอนุภาคที่ d(0.5) ซึ่งมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มากที่สุดคือ benzyl alcohol (x_2) รองลงมาคือ tween 80 (x_1) และอิทธิพลร่วมระหว่าง tween 80 และ benzyl alcohol (x_1x_2) ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ได้

สมการแสดงความสัมพันธ์ของแบบจำลองดังแสดงในสมการที่ (4)

$$Y_1 = 31.31 - 5.77x_1 - 14.56x_2 + 4.62x_1x_2 \quad (4)$$

จากสมการสามารถอธิบายได้ว่าอิทธิพลของ benzyl alcohol มีผลต่อขนาดอนุภาคที่ d(0.5) มากที่สุดโดยปริมาณ benzyl alcohol จะเป็นสัดส่วนผกผันกับขนาดอนุภาคที่ d(0.5) หมายถึง หากในตำรับมี benzyl alcohol สูง จะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง และหากมี benzyl alcohol น้อย จะทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น เช่นเดียวกับอิทธิพลของ tween 80 ซึ่งมีผลต่อขนาดอนุภาครองลงมาจาก benzyl alcohol แต่มีอิทธิพลร่วมระหว่าง benzyl alcohol และ tween 80 จะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อขนาดอนุภาคอย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถแสดงรูปของการทดลองแบบพหุที่มีการตอบสนองของอิทธิพลร่วม ระหว่าง tween 80 และ benzyl alcohol ในรูปที่ 2

3.3.2 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคที่ d (0.9)

จากการวิเคราะห์แบบจำลองชนิด 2 factor interaction (2FI) reduced model พบว่ามีค่า adjusted R^2 และค่า predicted R^2 เท่ากับ -0.3974 และ -11.7761 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าติดลบ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองของขนาดอนุภาคที่ d (0.9) ไม่สามารถใช้ในการทำนายได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนาดอนุภาคที่ d(0.9) นี้เป็นค่าการวัดขนาดอนุภาคที่ ร้อยละ 90 ของอนุภาคทั้งหมด ซึ่งมีอนุภาคจำนวนมาก ทำให้มีการกระจายของขนาดอนุภาคกว้าง

3.3.3 การวิเคราะห์ zeta potential

จากการวิเคราะห์พื้นที่การตอบสนองพบว่ามีความสัมพันธ์กันเชิงเส้นตรงชนิด reduced linear model มีค่า adjusted R^2 และค่า predicted R^2 เท่ากับ 0.8099 และ 0.7338 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงความสามารถของแบบจำลองว่า หากนำไปทำนายผลที่ได้จะใกล้เคียงความจริงถึง ร้อยละ 73.38

ตารางที่ 8. ค่า Regression coefficient, R^2 , adjusted R^2 และ predicted R^2 ของค่าสังเกต

Regression coefficient	ขนาดอนุภาคที่ $d(0.5)$ (μm , Y_1)	ขนาดอนุภาคที่ $d(0.9)$ (μm , Y_2)	Zeta potential (mV, Y_3)
β_0	31.31	243.18	-31.78
β_1	-5.77	3.44	4.70
β_2	-14.56	-17.20	-5.49
β_3	-	-11.25	-
β_1^2	-	-	-
β_2^2	-	-	-
β_3^2	-	-	-
β_{12}	4.62	27.22	-
β_{13}	-	10.67	-
β_{23}	-	-31.74	-
R^2	0.9385	0.8004	0.8099
R^2 (adj)	0.8925	-0.3974	0.7338
R^2 (pred)	0.7542	-11.7761	0.5133
p -value	0.0069	0.7329	0.0158

ตารางที่ 9. การวิเคราะห์ ANOVA แสดงค่า p -value และ F -ratio ของแบบจำลอง

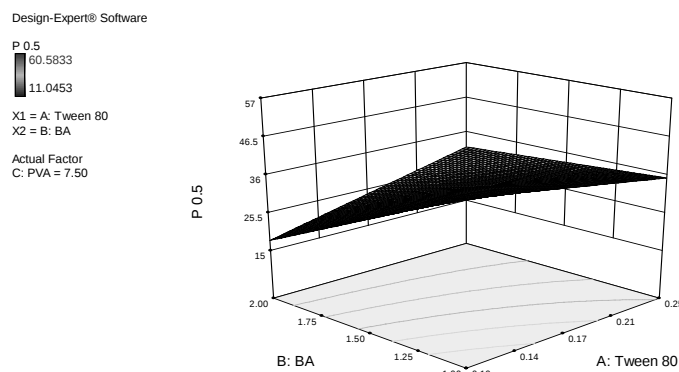
variables	Main effects			Interaction effects		
	x_1	x_2	x_3	x_1x_2	x_1x_3	x_2x_3
<i>Particle size $d(0.5)$ (Y_1)</i>						
p -value	0.0212	0.0025	-	0.0419	-	-
F -ratio	13.56	45.71	-	8.71	-	-
<i>Particle size $d(0.9)$ (Y_2)</i>						
p -value	0.8881	0.6348	0.7455	0.3937	0.6793	0.4348
F -ratio	0.032	0.42	0.18	1.98	0.30	1.51
<i>Zeta potential (Y_3)</i>						
p -value	0.0178	0.0287	-	-	-	-
F -ratio	12.05	9.25	-	-	-	-

หมายเหตุ : x_1 คือ tween 80 , x_2 คือ benzyl alcohol และ x_3 คือ 1% w/v PVA

และพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อ zeta potential ที่มีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มากที่สุดคือ tween 80 (x_1) รองลงมาคือ benzyl alcohol (x_2) ส่วน PVA (x_3) ไม่มีผลต่อค่า zeta potential ซึ่งจากการวิเคราะห์จะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ของแบบจำลอง ดังแสดงในสมการที่ (5)

$$Y_3 = -31.78 + 4.70x_1 - 5.49x_2 \quad (5)$$

ค่า zeta potential เป็นค่าความต่างศักย์ทางไฟฟ้าของอนุภาคบริเวณ shear plane ซึ่งขึ้นกับปริมาณประจุไฟฟ้าบนผิวของอนุภาค หากมีค่าสูงจะมีแรงผลักกันระหว่างประจุของอนุภาคมากทำให้อนุภาคสามารถแขวนลอยโดยไม่เข้ามาเกาะกลุ่มกัน หรือระบบการกระจายตัวของอนุภาคมีความคงตัวดีในสภาวะแวดล้อมเป็นน้ำปราศจากอิออน pH 7 และมีค่า zeta potential อยู่ระหว่าง -40 ถึง -50 mV ระบบจะคงตัวอยู่ได้อย่างน้อย 2 ปี



รูปที่ 2. พื้นที่การตอบสนองระหว่าง Tween 80 และ Benzyl alcohol

(13) จากสมการที่ (5) แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่มีผลต่อค่า zeta potential มากที่สุดคือ benzyl alcohol ซึ่งเป็นสัดส่วนผกผันกับค่า zeta potentials หมายความว่าหากตำรับมี benzyl alcohol มาก (ตำรับที่ 3 4 7 และ 8) จะทำให้ค่า zeta potential มีค่าเป็นลบมากกว่าตำรับที่ 1 2 5 และ 6 (ตารางที่ 3 และ 7) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า benzyl alcohol ในระดับสูงนอกจากจะทำให้ส่วนผสมไม่คงตัวเกิดการแยกชั้นแล้ว อนุภาคไขมันแข็งที่เตรียมได้มีขนาดเล็กซึ่งมีพื้นที่ผิวมากพอที่จะแสดงประจุลบบนอนุภาคมากขึ้นมีแรงผลักกันระหว่างอนุภาคมากขึ้น ในทางตรงข้ามปริมาณ tween 80 จะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อค่า zeta potential นั่นคือหากมีปริมาณ tween 80 สูง

ดังตำรับที่ 2 4 6 และ 8 ขนาดของอนุภาคไขมันแข็งจะมีขนาดเล็กกว่าตำรับที่มี tween 80 ในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบในระหว่างตำรับที่มีส่วนประกอบอื่นคล้ายกัน เนื่องจาก tween 80 เป็นสารก่อกอิมัลชันที่ไม่มีประจุ เมื่อมีปริมาณมากจึงอาจส่งผลให้อนุภาคไขมันแสดงประจุลบได้น้อยลง ส่งผลให้ค่า zeta potential แสดงค่าลบซึ่งต่ำกว่า ตำรับที่มี tween 80 ในระดับ

3.4 Verification of the models

ความเหมาะสมของสมการแสดงความสัมพันธ์ของแบบจำลองที่ได้ สามารถตรวจสอบได้จากการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและ ค่าที่ได้จากการทำนาย ($Y_0 - Y_i$) ซึ่งแสดงในตารางที่ 10 พบว่า

ตารางที่ 10. แสดงค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายของค่าพารามิเตอร์ที่ต้องการวัด

ตำรับ ที่	ขนาดอนุภาคที่ d(0.5) (μm , Y_1)			ขนาดอนุภาคที่ d(0.9) (μm , Y_2)			Zeta potential (Y_3 , mV)		
	Y_0	Y_i	$Y_0 - Y_i$	Y_0	Y_i	$Y_0 - Y_i$	Y_0	Y_i	$Y_0 - Y_i$
1	60.583	56.269	4.315	248.520	274.340	-25.820	-36.600	-30.988	-5.613
2	23.680	28.552	-4.872	208.288	182.468	25.820	-17.100	-18.463	1.363
3	14.281	17.897	-3.617	274.803	248.983	25.820	-39.900	-41.963	2.063
4	18.639	14.842	3.797	276.452	302.272	-25.820	-37.400	-29.438	-7.963
5	51.954	56.269	-4.315	319.798	293.978	25.820	-29.300	-30.988	1.688
6	33.424	28.552	4.872	233.207	259.027	-25.820	-15.900	-18.463	2.563
7	21.514	17.897	3.617	115.849	141.669	-25.820	-40.100	-41.963	1.863
8	11.045	14.842	-3.797	277.699	251.879	25.820	-25.400	-29.438	4.038

ค่าอนุภาคที่ d(0.9) ค่อนข้างแตกต่างกันเนื่องจากขนาดอนุภาคมีการกระจายตัวสูง หากความสัมพันธ์ได้ยากดังที่กล่าวมาแล้ว สำหรับแบบจำลองของขนาดอนุภาคที่ d(0.5) และ zeta potential มีค่าที่ได้จากการทดลองและค่าจากการทำนายใกล้เคียงกัน ดังนั้นสมการแสดงความสัมพันธ์ของแบบจำลองสำหรับ d(0.5) และ zeta potential สามารถใช้ในการทำนายได้ถูกต้อง

4. สรุป

จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันกานพลูมีปริมาณ eugenol เป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 99.16 รองลงมาคือ caryophyllene โดยมีปริมาณร้อยละ 0.30 ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูพบว่าน้ำมันกานพลูประสิทธิภาพในการอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐานทั้ง 2 วิธี ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บกักน้ำมันกานพลูและลักษณะทางกายภาพของอนุภาคไขมันแข็ง โดยออกแบบการทดลองแบบ 2³ full factorial experiment พบว่าสูตรตำรับที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพในการเก็บกักน้ำมันกานพลูสูงที่สุดคือ ประกอบด้วย GMS ร้อยละ 0.5, tween 80 ร้อยละ 0.6, benzyl alcohol ร้อยละ 2.0 และสารละลาย PVA เข้มข้นร้อยละ 1 ในปริมาณ ร้อยละ 40 ในตำรับ และในการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคที่ d(0.5) ได้แบบจำลองแบบ reduced 2FI model และได้สมการความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ที่แสดงให้เห็นว่า benzyl alcohol และ tween 80 จะเป็นสัดส่วนผกผันกับขนาดอนุภาคที่ d(0.5) อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคที่ d(0.9) ซึ่งมีค่าดัชนีการกระจายตัวของอนุภาคมากจึงไม่สามารถหาความสัมพันธ์กับแบบจำลองได้ การวิเคราะห์ค่า zeta potential ได้แบบจำลองแบบ reduced linear model โดยปัจจัยที่มีผลต่อ zeta potential คือ tween 80 ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรง และ benzyl alcohol จะเป็นสัดส่วนผกผันต่อค่า zeta potential อย่างมีนัยสำคัญ จากการทดลองนี้สามารถใช้ทำนายค่า

ขนาดอนุภาคที่ d(0.5) และค่า zeta potential ได้ความถูกต้องถึง ร้อยละ 89.25 และ ร้อยละ 73.38 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้โดยวิธีนี้มีขนาดมากกว่า 10 ไมครอน ดังนั้นระบบนำส่งนี้น่าจะใช้ในการลดการระเหยของน้ำมันกานพลู แต่ไม่สามารถนำส่งน้ำมันผ่านรูขนได้ ดังนั้นจึงต้องพัฒนาให้อนุภาคมีขนาดเล็กเพียงพอที่จะนำส่งน้ำมันไปในชั้นหนังแท้ได้มากขึ้น ขณะเดียวกันต้องทำการศึกษาถึงความคงตัวทางเคมีของอนุภาคไขมันแข็งน้ำมันกานพลูและการปลดปล่อยสารสำคัญต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากบัณฑิตวิทยาลัย และ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Lelapornpisit P. Cosmetics for skin. Chiangmai: Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Chiangmai University; 2001. Thai.
- (2) Kim BJ, Kim JH, Kim HP, Heo MY. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. Int J Cosmet Sci 1997; 19: 299-307.
- (3) Fu Y, Chen L, Zu Y, Liu Z, Liu X, Liu Y, et al. The antibacterial activity of clove essential oil against Propionibacterium acnes and its mechanism of action. Arch Dermatol 2009; 145: 86-8.
- (4) Saeed S, Tariq P. In vitro antibacterial activity of clove against Gram-negative bacteria. Pak J Bot. 2008; 40: 2157-60.
- (5) Lalko J, Api AM. Investigation of the dermal sensitization potential of various essential oils in the local lymph

- node assay. *Food Chem Toxicol.* 2006; 44: 739 - 46.
- (6) Müller RH, Runge SA. Solid lipid nanoparticles (SLN®) for controlled drug delivery. In: Benita S, editor. *Submicron emulsion in drug targeting and delivery*. The Netherlands: Harwood Academic Publishers; 1998. p. 219–34.
 - (7) Trotta M, Debernardi F, Caputo O. Preparation of solid lipid nanoparticles by solvent emulsification-diffusion technique. *Int J Pharm.* 2003; 257: 153-60.
 - (8) Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother Res.* 2007; 21: 501-6.
 - (9) Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem Toxicol.* 2000; 69: 167-74.
 - (10) Wade A, Weller PJ. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 2nd ed. London: The American Pharmaceutical Association; 1994.
 - (11) Mirhosseini H, Tan CP, Hamid NSA, Yusof S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on zeta potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2008; 315: 47-56.
 - (12) Mirhosseini H, Tan CP, Hamid NSA, Yusof S. Optimization of the contents of arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion. *Food hydrocol.* 2008; 22: 1212-23.
 - (13) Washington C. *Zeta potential in pharmaceutical formulation*. Department of Pharmacy, Nottingham: Malvern Instruments; 2003.