Published online: 26 July 2019

การเตรียมและความคงตัวไลโปโซมของสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู

Preparation and Stability of Butterfly Pea Extract and Clove Oil Loaded Liposome

ณัฐชาพร ชูชื่น
อีเมล์: 5851701259@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อำภา จิมไธสง อาจารย์ที่ปรึกษา
อีเมล์: ampa@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมไลโปโซมของสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู โดยได้ทำการสกัดดอกอัญชันสดด้วย เอทานอล 70% ความเข้มข้น และระเหยสารทำละลายบางส่วนออกโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบหมุนให้เป็นสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นที่มีปริมาตรเป็น 10% ของปริมาตรเริ่มต้น ซึ่งได้สารสกัดที่มีความข้นหนืด สีน้ำเงินเข้ม ไม่มีกลิ่นตัวทำละลายเหลืออยู่ แล้วนำมากักเก็บในถุงไลโปโซมสำเร็จรูปรวมกับน้ำมันกานพลู ในอัตราส่วนและวิธีการเตรียมที่เหมาะสม ซึ่งพบว่าสามารถกักเก็บสารสกัดดอกอัญชันได้ถึงร้อยละ 45 โดยน้ำหนัก และน้ำมันกานพลูได้ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ซึ่งสามารถกักเก็บสารสำคัญได้ถึงร้อยละ 99 จากปริมาณสารสำคัญทั้งหมด และทำการทดสอบความคงตัวโดยการเก็บใน 4 สภาวะคือ ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, 4 องศาเซลเซียส, 45 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิปกติ นาน 28 วัน ประเมินผลด้วยวิธีสังเกตลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และตรวจสอบผ่านกล้องจุลทรรศน์พบว่ายังคงคุณสมบัติในรูปไลโปโซมที่มีความคงตัวที่ดี ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงลดลงจากค่าเริ่มต้นเล็กน้อย ไม่พบการแยกชั้น ไม่พบการตกตะกอน สีเปลี่ยนจากสีน้ำเงินออกม่วงเข้ม เป็นสีน้ำเงินเข้ม

คำสำคัญ: ความคงตัว/น้ำมันกานพลู/ไลโปโซม/สารสกัดดอกอัญชัน

Abstract

This research aims to prepare the liposome of butterfly pea flower extract and clove oil. The fresh butterfly pea flower was extracted using 70% ethanol and then prepared into a concentrated extract by using a rotatory evaporator. The final volume of concentrated extract is 10% of initial volume. The concentrated extract was viscous , dark blue liquid with no solvent odor. The extract and clove oil were loaded in a pro liposome at 45% butterfly pea extract and 2% clove oil , The loading efficiency is 99% of active ingredient. The stability of liposome at 25 °C, 4°C, 45°C and ambient temperature was investigated by mean of physical changes in texture, color and phase separation. The pH was measured using pH meter. It was founded that the physical properties of liposome did not change. The microscopic examination of liposomes showed that the prepared liposome is stable. The pH showed only slight change from the initial. Threr was no separation or sedimentation. Color of the liposome changed from dark blue purple to dark blue.

Key words: Stability / Clove oil / Liposome / Butterfly pea flower extract.

1. บทนำ

สมุนไพร เป็นสิ่งที่คนไทยรู้จักและมีการนำมาใช้ในการดำรงชีวิตมาตั้งแต่สมัยโบราณ มีการนำสมุนไพรมาใช้ในการทำเครื่องประทินความงามอย่างชาญฉลาด ซึ่งคุณสมบัติสมุนไพรไทยมีชื่อเสียงและสืบทอดการใช้กันมายาวนาน ผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำสมุนไพรธรรมชาติของไทย ได้แก่ สารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู ที่ให้คุณสมบัติที่ช่วยให้บำรุงรากผมและรากขนให้เส้นขนเกิดการเจริญเติบโตและมีความดกดำขึ้น ซึ่งจากผลงานการวิจัยต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์สารสกัดดอกอัญชัน มีคุณสมบัติเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในหลอดเล็ก ๆ ทำให้เลือดไปเลี้ยงรากผมทำให้ผมนุ่มสลวยและดำเงางามอย่างเป็นธรรมชาติ ในดอกอัญชันสีม่วงนั้น มีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารที่ช่วยทำให้การไหลเวียนของเลือดไปเลี้ยงบริเวณรากขนคิ้วและรากผมมากขึ้น จึงทำให้คิ้วดก ผมดำขึ้น (กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553) ส่วนน้ำมันกานพลูช่วยละลายลิ่มเลือดและช่วยลดการจับตัวเป็นก้อนได้ กานพลูเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่นำมาใช้ในการย้อมสีผม ซึ่งจะให้สีผมที่ใกล้เคียงกับสีดำ เมื่อให้เลือดไหลเวียนได้ดีจึงทำให้มีเลือดไปหล่อเลี้ยงรูขุมขนได้ดียิ่งขึ้น มีผลทำให้รากขนอุดมสมบูรณ์ ดูดซับสารอาหารได้มากขึ้น จึงช่วยให้เส้นขนเจริญเติมโตได้ดีขึ้น (Mohammad, A. S., Atefeh, S.-H. & Leila, S., 2016) แต่สมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ยังมี

Mae Fah Luang University

ข้อเสียในการนำมาใช้งาน โดยสารสกัดดอกอัญชันจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีในสภาวะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำ จึงไม่เข้ากันกับน้ำมันกานพลูที่เป็นน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นที่อาจเกิดการระคายเคืองได้หากสัมผัสกับผิวโดยตรง ผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นการศึกษาในการเตรียมสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดให้อยู่ในรูปของไลโปโซม ที่มีลักษณะเป็นถุงกลมๆ ของสารไขมันที่มีอนุภาคขนาดเล็ก สามารถจัดเรียงตัวเป็นชั้นสลับกับชั้นโมเลกุลของน้ำในสารละลายน้ำได้ เพราะโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยทั้งส่วนมีขั้ว (polar) ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้ว (nonpolar) ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยจะอยู่ในลักษณะของการเรียงตัวเป็นแถวของโมเลกุลไขมันซ้อนกันเป็นผนังสองชั้นหรือ lipid bilayer ตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำจะกักเก็บอยู่ในส่วนของชั้นที่มีขั้ว ส่วนตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำจะแทรกอยู่ใน lipid bilayer โดยไลโปโซม เป็นไขมันชนิดเดียวกับผิวหนัง เมื่อเข้ากับชั้นผิวหนังแล้ว ก็จะปลดปล่อยสารสำคัญที่ถูกกักเก็บสู่ชั้นผิวที่ลึกขึ้น และมีประสิทธิภาพที่ดีในการช่วยรักษาคุณภาพของสารสกัดที่ถูกกักเก็บให้มีความคงตัวยาวนานมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยในการลดการระคายเคืองของผิวหนังจากการจากการสัมผัสสารสกัดที่มีความเข้มข้นโดยตรง งานวิจัยนี้จึงมุ่งหวังว่า สามารถเตรียมไลโปโซมที่คงด้วยวิธีที่ง่าย และมีความคงตัว

2. วัตถุประสงค์

2.1 พัฒนาสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู ให้อยู่ในรูปของไลโปโซม

2.2 ศึกษาความคงตัวของไลโปโซมที่เตรียม

3. ขอบเขตการวิจัย

3.1 เตรียมสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นจากดอกอัญชันสด

3.2 ศึกษาปริมาณและสัดส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดในการเตรียมไลโปโซม โดยประเมินจากลักษณะและขนาดของไลโปโซมที่เตรียมได้

3.3 ทดสอบความคงตัวของไลโปโซมที่เตรียมทางกายภาพ

4. การทบทวนวรรณกรรม

ดอกอัญชัน (Butterfly Pea) อัญชัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Clitoria ternatea* เป็นพืชล้มลุกปลูกได้ทั่วไปในเขตร้อน ลักษณะต้นเป็นไม้เถาเลื้อย เนื้ออ่อน อายุสั้น ใช้ยอดเลื้อยพัน ลำต้นมีขนปกคลุม ใบประกอบแบบขนนก เรียงตรงข้ามยาว 6-12 เซนติเมตร มีใบย่อยรูปไข่ 5-7 ใบ กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 3-5 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบมน ผิวใบด้านล่างมีขนหนาปกคลุม ดอกมีสี

Mae Fah Luang University

ขาว สีฟ้า และสีม่วง ดอกออกเดี่ยว ๆ รูปทรงคล้ายฝาหอยเชลล์ออกเป็นคู่ตามซอกใบ กลีบดอก 5 กลีบ ดอกบานเต็มที่ยาว 2.5-3.5 เซนติเมตรกลีบคลุมรูปกลม ปลายเว้าเป็นแอ่ง ตรงกลางมีสีเหลือง มีทั้งดอกซ้อนและดอกลาชั้นเดียว กลีบขั้นนอกมีขนาดใหญ่กลางกลีบสีเหลือง ส่วนกลีบชั้นใน ขนาดเล็กแต่ดอกซ้อนกลีบดอกมีขนาดเท่ากัน ซ้อนเวียนเป็นเกลียว กลีบนอกมีสีเขียว ออกดอก เกือบตลอดปี ผลเป็นฝักแบน ลักษณะแบนคล้ายฝักถั่ว กว้าง 1-1.5 เซนติเมตร ยาว 5-8 เซนติเมตร ซึ่งมีเมล็ดภายใน 5-10 เมล็ด (วีณา เชิดบุญชาติ, 2531)

ดอกอัญชันมีสารที่สำคัญคือ แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งเป็นสารสีที่พบได้ทั่วไป ในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีตั้งแต่สีแดงถึงน้ำเงินเข้ม จัดอยู่ใน กลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) ซึ่งเป็นสารที่ให้สี แดงและสีน้ำเงิน (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2010) ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นด่างหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็น ด่างสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน (อรุษา เชาวนลิขิต, 2554) แอนโทไซยานิน เป็นสาร ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากธรรมชาติ ช่วยชะลอการเกิดริ้วรอยแห่งวัย ช่วยเพิ่ม ประสิทธิภาพของตา เพิ่มความสามารถในการมองเห็น บำรุงสายตา แก้ตาอักเสบ ตาฟาง ตาแฉะ โดยมีการศึกษาวิจัยทางคลินิก เกี่ยวกับความสามารถของสารแอนโธไซยานิน ในการเพิ่ม ประสิทธิภาพของตา เช่น ตาเสื่อมจากโรคเบาหวาน โรคต้อหิน โรคต้อกระจก เป็นต้น (พิชานันท์ ลี แก้ว, 2560) มีรายงานวิจัยอีกว่า แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) สามารถช่วยกระตุ้นการไหลเวียน ของโลหิต เพิ่มการไหลเวียนในหลอดเลือดเล็กๆ ทำให้เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ได้ดีมากขึ้น เช่น หลอดเลือดส่วนปลาย ทำให้กลไกที่ทำงานเกี่ยวกับการมองเห็นแข็งแรงขึ้น เพราะมีเลือดไหลเวียน มาเลี้ยงมาขึ้น ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในหลอดเล็กๆ ทำให้เลือดไปเลี้ยงรากผม และนัยน์ตามากขึ้น ซึ่งสมัยโบราณนิยมนำมาบดแล้วเขียนคิ้วให้เด็กแรกเกิด ทำให้คิ้วดกดำเรียงตัว สวย หากนำมาหมักผมจะช่วยกระตุ้นหนังศีรษะ ทำให้ผมดกดำ ป้องกันผมหงอกก่อนวัย จึงนิยม นำมาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมทำให้ผมนุ่มสลวยและดำเงางามอย่างเป็นธรรมชาติ (ศิ ริมา มหัทธนาดุลย์, สุวิภา อึ้งไพบูลย์ และดวงแข มณีนวล, 2557)

น้ำมันกานพลู (Clove oil) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. จัดอยู่ในวงศ์ชมพู่ (MYRTACEAE) กานพลู นิยมนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายส่วน ไม่ว่าจะเป็นดอก ตูม ผล ต้น เปลือก ใบ รวมไปถึงน้ำมันดอกกานพลู อุดมไปด้วยสาร eugenol 72-90% ที่มีส่วนช่วย แก้อาการปวดฟัน แคลเซียม ฟอสฟอรัส และยังมีสารอื่นๆ ที่สำคัญอีกมากมาย ได้แก่ Vanillin, methyl salicylate, benzaldehyde และ rhamnetin (Thaicrudedrug, 2010) น้ำมันหอมระเหย

Mae Fah Luang University

(essential oil) ของกานพลู ช่วยทำให้ประสาทสงบ ใช้เป็นยาระงับอาการชักกระตุก ช่วยทำให้ผิวหนังชาเพราะมีสาร Eugenol ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาชาเฉพาะที่ ช่วยฆ่าเชื้อโรคจากบาดแผล แมลงสัตว์กัดต่อยได้ สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นเชื้อบิดชนิดไม่มีตัว เชื้อหนอง เชื้อโรคไทฟอยด์ เป็นต้น (ดอกตูม) (จตุรงค์ สุภาพพร้อม, ประดิษฐ์ ปิงกัน และฐิติพงษ์ คำเคน , 2552) โดยมีงานวิจัยพบว่าน้ำมันกานพลูสามารถช่วยละลายลิ่มเลือดและช่วยลดการจับตัวเป็นก้อนได้ กานพลูเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่แนะนำให้รับประทานของหญิงให้นมบุตรเพราะช่วยเพิ่มการไหลเวียนของโลหิต และทำให้มีน้ำนมเพิ่มมากขึ้น แต่สำหรับหญิงที่อยู่ระหว่างการตั้งครรภ์ควรหลีกเลี่ยงการใช้น้ำมันหอมระเหยกานพลู เว้นแต่จะได้รับคำแนะนำจากแพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญ และยังมีการใช้กานพลูเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่นำมาใช้ในการย้อมสีผม ซึ่งจะให้สีผมที่ใกล้เคียงกับสีดำ เมื่อให้เลือดไหลเวียนได้ดีจึงทำให้มีเลือดไปหล่อเลี้ยงรูขุมขนได้ดียิ่งขึ้น มีผลทำให้รากขนอุดมสมบูรณ์ ดูดซับสารอาหารได้มากขึ้น จึงช่วยให้เส้นขนเจริญเติมโตได้ดีขึ้น ลดการหลุดล่วงของเส้นผม (Mohammad, A. S., Atefeh, S.-H. & Leila, S., 2016)

ไลโปโซม (Liposome) เป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าระดับไมครอน (submicron) มีลักษณะเป็นถุงกลมๆ ของสารไขมัน โดยสารไขมันเหล่านี้เป็นสารชนิดแอมฟิพาติก (amphipathic) กล่าวคือมีทั้งกลุ่มมีขั้ว (polar) ชอบน้ำและกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุล (hydrophobic) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไขมันประเภท phospholipids ทั้งจากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้น เมื่อผสมลงในสารละลายน้ำ โมเลกุลของสารไขมันประเภท phospholipids สามารถจัดเรียงตัวเป็นชั้นสลับกับชั้นโมเลกุลของน้ำในสารละลายน้ำได้ เพราะโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยทั้งส่วนมีขั้ว (polar) ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้ว (nonpolar) ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เมื่ออยู่ในน้ำจะจัดเรียงตัวโดยนำส่วนที่มีขั้วหรือมีประจุหันออกหาโมเลกุลน้ำ ในขณะเดียวกันจะเอาส่วนที่ไม่มีขั้วหันเข้าหาส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลพวกเดียวกัน โดยจะอยู่ในลักษณะของการเรียงตัวเป็นแถวของโมเลกุลไขมันซ้อนกันเป็นผนังสองชั้นหรือ lipid bilayer ตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำจะกักเก็บอยู่ในส่วนของชั้นที่มีขั้ว ส่วนตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำจะแทรกอยู่ใน lipid bilayer โดยทั่วไปตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำจะถูกกักเก็บในไลโปโซม ได้มากกว่าพวกที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ กลไกการนำส่งตัวยาหรือสารสำคัญ ได้แก่ 1) ไลโปโซม จะถูกดูดซับและหลอมบนผิวหนังและเกิดการซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณลักษณะชอบไขมัน 2) ไลโปโซมจะซึมผ่านผิวหนังทางช่องเปิดหรือท่อบนผิวหนัง (appendageal pathways) หลอมรวมไปกับไขมันในผิวหนัง (sebum) และปล่อยตัวยาหรือสารสำคัญออกมา (อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย, 2550).

Mae Fah Luang University

ข้อดีของไลโปโซม คือ สารสำคัญจะถูกห่อหุ้มกักเก็บด้วยไลโปโซมที่เป็นถุงไขมันชนิดเดียวกันกับเซลล์ผิวหนังที่มีอนุภาคขนาดเล็ก จึงซึมผ่านผิวหนังได้อย่างง่ายดายรวดเร็ว นอกจากนี้ไลโปโซม ยังคงคุณค่าของสารบำรุงให้คงอยู่ได้ยาวนานโดยไม่เสื่อมสภาพ และค่อยๆ ปลดปล่อยสารบำรุงออกมาสู่เซลล์อย่างต่อเนื่อง ช่วยลดปัญหาการระคายเคืองและข้อแทรกซ้อน พร้อมทำให้เซลล์ผิวได้รับสารสำคัญอย่างเต็มที่ (วรานุช สรสุชาติ, 2559) มีงานวิจัยที่มีการนำ Liposome ไปใช้ในการเป็นระบบนำส่งต่างๆ มากมาย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีรายงานการวิจัยเรื่อง เทคโนโลยีนาโนและระบบนำส่งสารหรือยาผ่านทางผิวหนัง อธิบายกลไกการนำส่งสารหรือยาผ่านผิวหนังของไลโปโซม ได้มีการศึกษาทดลองโดยทำไลโปโซมที่เก็บกักเหล็กในรูปคอลลอยด์ (colloidal iron) บนผิวหนังของหนูตะเภา (guinea pig) พบว่าไลโปโซมสามารถซึมผ่านผิวได้ โดยตรวจพบไลโปโซมและเหล็กในรูปคอลลอยด์อิสระในผิวหนังชั้นหนังแท้ (dermis) ตัวยาซึ่งถูกเก็บกักในไลโปโซมจะไม่ถูกดึงดูดเข้ากระแสเลือด เนื่องจากไลโปโซมไม่ซึมผ่านหลอดเลือดได้ ไลโปโซมสามารถออกฤทธิ์แบบดีโพ (depot) คือปลดปล่อยตัวยาที่เก็บกักอยู่อย่างช้าๆ ออกมาในระหว่างผิวหนังชั้นหนังแท้ (dermis) ซึ่งจะช่วยรักษาระดับตัวยาในผิวหนังได้สูงกว่าการนำส่งตัวยาในรูปแบบอื่นๆ ดังนั้นจึงสามารถใช้ไลโปโซมควบคุมการปลดปล่อยยาผ่านทางผิวหนังได้ (อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย, 2550)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัย รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในผิวหนัง อีกหลากหลายรูปแบบ ซึ่งไลโปโซม เป็นวิธีการหนึ่ง เนื่องจากมีข้อดีหลายประการที่หมะสมกับการนำมาใช้ทางผิวหนัง เช่น ส่วนประกอบเป็นไขมันที่เข้ากับร่างกาย และสลายตัวได้ในร่างกายทำให้ความเป็นพิษที่ต่ำ ขนาดอนุภาคที่เล็ก ทำให้อนุภาคนั้นอยู่ใกล้กับผิวชั้นบนสุดหรือชั้นขี้ไคล (stratum corneum) มีคุณสมบัติในการปกป้องผิวหนังไม่เป็นมัน ทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นมากขึ้น และสามารถเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาผ่านผิวหนังได้ (อรนุช ธนเขตไพศาล, 2555)

5. วิธีดำเนินการวิจัย

5.1 การเตรียมสารสกัดดอกอัญชัน

ใช้ดอกอัญชันสดอัตราส่วน 1 : 2 โดยน้ำหนัก ในเอทานอล (ethanol) (เข้มข้นร้อยละ 70) หมักแช่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วนำสารสกัดมากรองผ่านผ้าขาวบาง แยกกากดอกอัญชันออกทิ้งไป จากนั้นนำสารสกัดดอกอัญชันที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน ให้เหลือปริมาณร้อยละ 10 ของปริมาณเริ่มต้น จะได้สารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น (concentrated extract) แล้วเติมสารกันเสีย phenoxyethanol 1%w/w และนำสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นเก็บในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดลองต่อไป

Mae Fah Luang University

5.2 พัฒนาสารสกัดให้อยู่ในรูปแบบของไลโปโซม

ทำการพัฒนาสารสกัดให้อยู่ในรูปแบบของไลโปโซมตามสูตรส่วนผสม (ตารางที่ 1) ด้วยวิธีการเติมไลโปโซมสำเร็จรูป (Lipobelle ST) ลงในภาชนะที่ 1 จากนั้นค่อยๆ เติม สารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นลงไป กวนเบาๆ จนเข้ากัน ให้ความร้อนเพื่อให้เข้ากันได้ดี , ในภาชนะที่ 2 เติมไลโปโซมสำเร็จรูป lipobelle ST จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำมันกานพลูที่ทำการละลายกับเอทานอล (ethanol) อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก กวนเบาๆ จนเข้ากัน ให้ความร้อนเพื่อให้เข้ากันได้ดี จากนั้นค่อยๆ เติมส่วนผสมจากภาชนะที่ 2 ลงในภาชนะที่ 1 แล้วกวนจนส่วนผสมเข้ากันดี หยุดกวน นำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที

ตารางที่ 1 สูตรตำรับเป็นผลิตภัณฑ์ไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู

Part	ส่วนประกอบ	% w/w
A	lipobelle ST	4
	น้ำมันกานพลู (1:1)	2
B	lipobelle ST	54
	สกัดดอกอัญชัน	40

5.2.1 ศึกษาวิธีการการเตรียมไลโปโซมที่เหมาะสม เกี่ยวกับลำดับการเติมสาร, ความเร็วรอบในการกวน ตั้งแต่ 10-2,500 รอบ/นาที, ระยะเวลาในการกวนช่วง 1-60 นาที, อุณหภูมิที่ใช้ ช่วง 25-50 องศาเซลเซียส และการลดขนาดของไลโปโซมให้มีอนุภาคเล็กลงโดยใช้เครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (sonicator) โดยใช้เวลา 10-20 นาที โดยเริ่มต้นเตรียมตามวิธีการที่ผู้จัดจำหน่ายถุงไลโปโซมเปล่าแนะนำ แล้วปรับปรุงวิธีการเตรียมจนได้รูปแบบที่เหมะสม

5.2.2 ศึกษาอัตราส่วนสูตรตำรับที่เหมาะสม และมีความคงตัวที่ดีในการเป็นไลโปโซมของสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู โดยศึกษาปริมาณส่วนผสมของถุงไลโปโซม, สารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น และสารละลายน้ำมันกานพลู ในอัตราส่วนที่เหมาะสม

5.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดในไลโปโซม นำสารสกัดในไลโปโซมแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนที่ถูกกักเก็บในไลโปโซมจะแข็งตัว ส่วนที่อยู่นอกไลโป

Mae Fah Luang University

โซมจะเป็นน้ำ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำของเหลวใสส่วนบน (supernatant) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด ด้วยเครื่องยูวีวิซิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาค่าร้อยละการกักเก็บ

5.4 ประเมินความคงตัวของไลโปโซม

ประเมินความคงตัวโดยการเก็บรักษาในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิปกติ (Ambient) , ตู้เย็น (4 °C) , ตู้อบ (45°C) และควบคุมอุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบผลที่ 0 , 7 , 14 , 21 และ 28 วัน ด้วยวิธีสังเกตด้วยตาเปล่า ดูการเปลี่ยนแปลง การแยกชั้น การตกตะกอน สี กลิ่น วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และการส่องกล้องจุลทรรศน์ดูความคงตัวในรูปแบบของถุงไลโปโซม

6. ผลและอภิปลายผลการวิจัย

6.1 การเตรียมสารสกัดดอกอัญชัน

นำดอกอัญชันสดที่แยกกลีบเลี้ยงออก (ภาพที่ 1ก) น้ำหนัก 350 กรัม แช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% ความเข้มข้น น้ำหนัก 700 กรัม หมักแช่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วนำสารสกัดมากรองผ่านผ้าขาวบาง แยกกากดอกอัญชันออกทิ้งไป เหลือสารสกัดเป็นของเหลวที่สีน้ำเงินเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัวของดอกอัญชันและมีกลิ่นเอทานอลปน นำไประเหยแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน Rotary Evaporator (EYELA Model N-1000) ได้สารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น (concentrated extract) ที่มีปริมาตรเป็น 10% ของปริมาตรเริ่มต้น ซึ่งได้สารสกัดที่มีความข้นหนืด สีน้ำเงินเข้ม ไม่มีกลิ่นตัวทำละลายเหลืออยู่ (ภาพที่ 1ข) คำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัด (%yield) ได้ร้อยละ 29.37 โดยเทียบกับปริมาณดอกอัญชันสดที่ใช้ จากนั้นเติมสารกันเสีย Phenoxyethanol 1%w/w นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้ 4.31 ± 0.00

(ก) (ข)

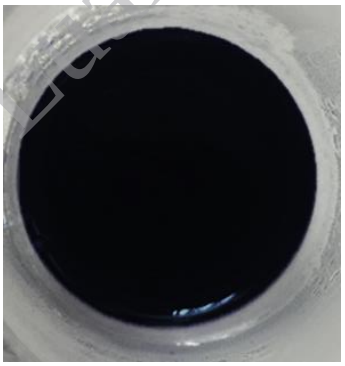
ภาพที่ 1 ดอกอัญชันสดที่แยกกลีบเลี้ยงออก (ก) และสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้น (ข)

Mae Fah Luang University

6.2 วิธีการเตรียมสารสกัดให้อยู่ในรูปของไลโปโซม

นำน้ำมันกานพลูที่ละลายด้วยเอทานอลก่อน เพื่อให้สามารถเข้ากันได้กับสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นที่ใช้เอทานอลในการสกัดและการเข้าสู่ชั้นของถุงไลโปโซม โดยปรับอัตราส่วนต่าง ๆ จนได้อัตราส่วนในการละลายที่เหมาะสมคือ อัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก ได้สารสะลายใสโดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูมากขึ้นจะมีลักษณะขุ่น

จากนั้นทำการเตรียมไลโปโซม ด้วยวิธีการดังนี้ ภาชนะที่ 1 บรรจุไลโปโซมสำเร็จรูป Lipobelle ST 4%w/w จากนั้นเติมน้ำมันกานพลูที่ละลายด้วยเอทานอลแล้ว 2%w/w กวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ได้สารละลายใส ภาชนะที่ 2 บรรจุถุงไลโปโซมสำเร็จรูป Lipobelle ST 54%w/w จากนั้นเติม จากนั้นค่อยๆเติมเติมสารสกัดดอกอัญชัน 40%w/w กวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดให้ความร้อน, จากนั้นเติมส่วนผสมจากภาชนะที่ 1 ลงในภาชนะที่ 2 กวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที พบว่าส่วนผสมเข้ากันดี ไม่พบไขมันลอย ไม่พบการตกตะกอนก้นภาชนะ จึงสรุปได้ว่าสูตรส่วนผสมและวิธีการเตรียมนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู (ภาพที่ 2)

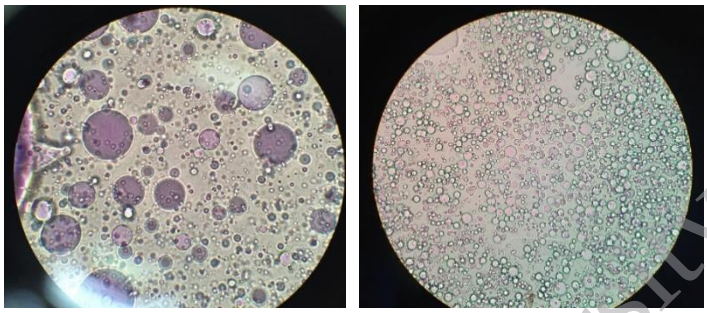


ภาพที่ 2 ไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลูหลังผสมเสร็จ

จากนั้น นำไลโปโซมที่เตรียมไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (MOTIC Model BA300) เพื่อดูลักษณะของไลโปโซม พบเป็นลักษณะทรงกลมล้อมรอบด้วยกรอบมีน้ำเงินสลับกับสีเทา ขนาดเล็กและใหญ่ปนกันไม่มีความสม่ำเสมอ จึงนำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง Sonicator (GREST Model 690DAE) โดยศึกษาระยะเวลาในการเขย่าที่ 10 นาทีและ 20 นาที แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูลักษณะของไลโซม พบว่าผลไม่แตกต่าง โดยได้เป็นลักษณะทรงกลมล้อมรอบด้วยกรอบมีน้ำเงินสลับกับสีเทา ขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า และมีความสม่ำเสมอ

Mae Fah Luang University

มากขึ้น (ภาพที่ 3) จึงเลือกวิธีการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง เป็นเวลา 10 นาที เพื่อช่วยลดขนาดของไลโปโซมให้เล็กลง



(ก) (ข)

ภาพที่ 3 รูปร่างของไลโปโซมที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยายขนาด 100 x 1.25 หลังผสมเสร็จ (ก) และ หลังเขย่าด้วยเครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (sonicator) 10 นาที (ข)

6.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดในไลโปโซม

นำไลโปโซมที่เตรียมบรรจุลงในหลอด eppendorf centrifuge ขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วนำแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนที่กักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซมที่มีลักษณะเป็นลิพิด (lipid) หรือสารชีวโมเลกุลที่ไม่ละลายในน้ำ (water-insoluble) จะแข็งตัวถูกห่อหุ้มไว้ ส่วนที่ไม่ถูกกักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซมจะไม่เกิดการแข็งตัวและคงสภาพเป็นของเหลว จากนั้นไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที จะพบว่าส่วนที่เป็นสารสกัดที่เป็นของเหลวไหลได้ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ถูกกักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซม มีการแยกตัวออกมาจากส่วนที่ถูกกักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซมลอยอยู่ด้านบนของหลอด นำของเหลวส่วนบน (supernatant) มาเจือจางด้วยน้ำปราศจากอิออนจากนั้นมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าดูดกลืนแสง 546 nm ในกรณีสารสกัดดอกอัญชัน แล้วคำนวนหา % สารที่ไม่ถูกกักเก็บ (untap active) ตามกราฟมาตรฐานที่มีค่าสมการ $Y = 1251+0.1742, R^2 = 0.9997$ คำนวณหาปริมาณที่ไม่ถูกกักเก็บได้ร้อยละ 0.4 แสดงว่าปริมาณสารสกัดดอกอัญชันที่ถูกกักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซมจึงมีปริมาณร้อยละ 99.60 ส่วนการหาปริมาณการกักเก็บน้ำมันกานพลูก็ทำเช่นเดียวกัน โดยนำมาทำเจือจางด้วยเอทานอล จากนั้นมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าดูดกลืนแสง 239 nm แล้วคำนวนหา % สารที่ไม่ถูกกักเก็บ ตามกราฟมาตรฐานที่มีค่าสมการ $Y = 1607+0.5348, R^2 = 0.9799$ คำนวณหาปริมาณที่ไม่ถูกกักเก็บได้ร้อยละ 0.03 แสดงว่าปริมาณน้ำมันกานพลูที่ถูกกักเก็บอยู่ในถุงไลโปโซมจึงมีปริมาณร้อยละ 99.93 สรุปได้ว่าสารสกัดสามารถถูกกักเก็บในถุงไลโปโซมได้มากกว่าร้อยละ 99 จากปริมาณสารเริ่มต้น

Mae Fah Luang University

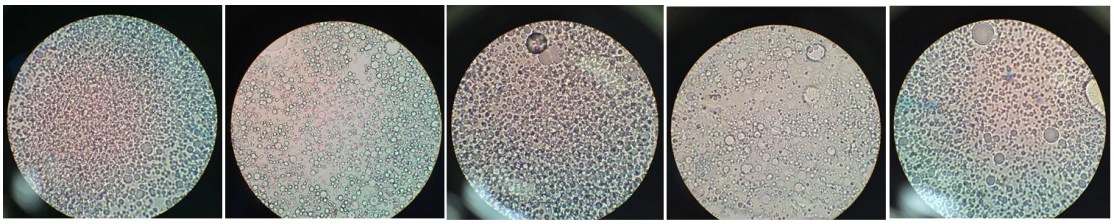
6.4 ประเมินความคงตัวของไลโปโซม

ประเมินความคงตัวโดยการเก็บรักษาในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิปกติ (ambient temperature) , ตู้เย็น (4 ˚C) , ตู้อบ (45˚C) และควบคุมอุณหภูมิ (25˚C) ตรวจสอบผลที่ 7 , 14 , 21 และ 28 วัน ด้วยวิธีสังเกตด้วยตาเปล่า ดูการแยกชั้น การตกตะกอน สี กลิ่น การเปลี่ยนแปลง วัดค่าความเป็น กรดด่างและการส่องกล้องจุลทรรศน์ดูความคงตัวในรูปไลโปโซมเปรียบเทียบผลเริ่มต้นที่ 0 วัน เมื่อครบระยะเวลาการทดสอบ 28 วัน พบว่า ไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู ยังคงสภาพปกติ ไม่พบการแยกชั้น ไม่พบการตกตะกอน สีเปลี่ยนจากเดิมสีน้ำเงินออกม่วงเข้ม เป็นสีน้ำเงินเข้ม กลิ่นปกติเป็นกลิ่นหอมน้ำมันกานพลูอ่อนๆ ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงลดลงจากค่าเริ่มต้น (ตารางที่ 2) โดยสภาวะที่เปลี่ยนแปลงชัดเจนคือที่สภาวะอุณหภูมิปกติ (ambient temperature) , ตู้อบ (45˚C) และควบคุมอุณหภูมิ (25˚C) ส่วนที่สภาวะตู้เย็น (4 ˚C) มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย สันนิษฐานว่าค่าที่ลดลงอาจเกิดจากความร้อนอาจมีผลทำให้ถุงไลโปโซมบางส่วนแตกตัวทำให้สารสกัดบางส่วนที่อยู่ในถุงหลุดออกมาเพราะอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือตู้อบ (45˚C) ซึ่งสอดคล้องกับผลการส่องกล้องจุลทรรศน์ดูความคงตัวในรูปไลโปโซมเปรียบเทียบผล เริ่มต้นที่ 0 วัน เมื่อครบระยะเวลาการทดสอบ 28 วัน สภาวะต่างๆ พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดของถุงไลโปโซมเล็กน้อย โดยผลการทดสอบที่ 28 วัน มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นกว่าวันที่เริ่มทดสอบ โดยสภาวะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ ตู้อบ (45˚C) และสภาวะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อย ที่สุดคือ ตู้เย็น (4 ˚C) สรุปผลโดยรวม ยังคงสภาพอยู่ในรูปของถุงไลโปโซมในทุกสภาวะ (ภาพที่ 5)

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของไลโปโซมที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ

ระยะเวลา (วันที่)	สภาวะการทดสอบ			
	อุณหภูมิห้อง	ตู้เย็น (4˚C)	ตู้อบ (45˚C)	ควบคุม (25˚C)
0	5.20 ± 0.20	5.22 ± 0.20	5.22 ± 0.20	5.22 ± 0.50
7	5.14 ± 0.10	5.04 ± 0.20	5.26 ± 0.00	5.28 ± 0.1.0
14	5.28 ± 0.10	5.15 ± 0.10	5.13 ± 0.10	5.14 ± 0.10
28	4.31 ± 0.00	5.18 ± 0.10	4.24 ± 0.00	4.96 ± 0.20

Mae Fah Luang University



ภาพที่ 5 รูปร่างของไลโปโซม ส่องกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 x 1.25 ที่ระยะเวลา 0 วัน และ 28 วัน

7. สรุปผลงานวิจัย

ผลการนำดอกอัญชันสด มาสกัดเป็นสารสกัดดอกอัญชันเข้มข้นได้ร้อยละ 29.37 โดยเทียบกับปริมาณดอกอัญชันสดที่ใช้ แล้วนำมาเตรียมด้วยวิธีการ แยกเป็น 2 phase โดยภาชนะที่ 1 บรรจุไลโปโซมสำเร็จรูป lipobelle ST 4%w/w จากนั้นเติมน้ำมันกานพลูที่ละลายด้วยเอทานอลแล้ว 2%w/w กวนด้วยเครื่อง Hot Plate with Magnetic Stirrer ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ได้สารละลายใส , ภาชนะที่ 2 บรรจุถุงไลโปโซมสำเร็จรูป lipobelle ST 54%w/w จากนั้นค่อยๆเติมสารสกัดดอกอัญชัน 40%w/w กวนด้วยเครื่อง Hot Plate with Magnetic Stirrer ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยุดให้ความร้อน, จากนั้นเติมส่วนผสมจากภาชนะที่ 1 ลงในภาชนะที่ 2 กวนด้วยเครื่อง Hot Plate with Magnetic Stirrer ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (sonicator) โดยศึกษาระยะเวลาในการเขย่าที่ 10 นาที เพื่อช่วยลดขนาดของไลโปโซมให้เล็กลง ได้เป็นไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลู การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดในไลโปโซม ที่มีลักษณะเป็นของเหลว สีน้ำเงินออกม่วงเข้ม ซึ่งทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดในไลโปโซม สารสกัดสามารถถูกกักเก็บในถุงไลโปโซมได้มากกว่าร้อยละ 99 จากปริมาณสารเริ่มต้น ผลการประเมินความคงตัวโดยการเก็บรักษาในสภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิปกติ (ambient temperature) , ตู้เย็น (4 °C) , ตู้อบ (45°C) และควบคุมอุณหภูมิ 25°C เป็นระยะเวลา 28 วัน มีความคงตัวที่ดี

8. ข้อเสนอแนะ

ลักษณะทางกายภาพของไลโปโซมสารสกัดอัญชันและน้ำมันกานพลูที่เตรียม มีลักษณะเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์ได้ โดยตรง โดยไม่ต้องทำการพัฒนาสูตรตำรับ โดยเลือกบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการใช้งานสามารถใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทาบำรุงคิ้วได้ หรือปรับความข้น

Mae Fah Luang University

เพิ่มขึ้นประยุกต์เป็นเจล เขียนคิ้วที่ให้คุณสมบัติบำรุงขนคิ้วด้วย หรือนำไลโปโซมสารสกัดดอกอัญชันและน้ำมันกานพลูที่เตรียมได้ไปประยุกต์ใช้กับเครื่องสำอางอื่น ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์บำรุงขนคิ้วหรือขนตา, ผลิตภัณฑ์ปลูกหนวด หรือ ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเส้นผม เป็นต้น

รายการอ้างอิง

จตุรงค์ สุภาพพร้อม, ประดิษฐ์ ปิงกัน และฐิติพงษ์ คำเคน. (2552). *การสังเคราะห์ยูจีนอลและอนุพันธ์*. พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

พิชานันท์ ลีแก้ว. (2560). *"อัญชัน" คุณค่าที่มีมากกว่าสีสัน*. กรุงเทพฯ: สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2010). *anthocyanin / แอนโทไซยานิน*. สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2560, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin-แอนโทไซยานิน

วรานุช สรสุชาติ. (2559). Liposome:การใช้ในยาและเครื่องสำอาง. *วารสารอาหารและยา FDA JOURNAL*, 67.

วีณา เชิดบุญชาติ. (2531). อัญชัน. *นิตยสารสารคดี ศาลาสมุนไพรดอกไม้ให้คุณ, 38*, 111.

ศิริมา มหัทธนาดุลย์, สุวิภา อึ้งไพบูลย์ และดวงแข มณีนวล. (2557). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดดอกอัญชันสำหรับเปลี่ยนสีผมและกระตุ้นการงอกของเส้นผม* .สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2553). *ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)*. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์บริการกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

อรนุช ธนเขตไพศาล. (2555). ระบบนำส่งนีโอโซมในทางเภสัชกรรม. ว. *เภสัชศาสตร์อีสาน, 8*(2), 12-26.

Mae Fah Luang University

อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย. (2550). เทคโนโลยีนาโนและระบบการนำส่งสารหรือยาผ่านผิวหนัง. *ผิวหนัง, 12*(1), 23-29.

อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย. (2550). *ไลโปโซมสำหรับยาผ่านทางผิวหนังและเครื่องสำอาง*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). *การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทร์ทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 3*(6), 26-36.

Mohammad, A. S., Atefeh, S.-H. & Leila, S. (2016). Preparation and evaluation of clove oil in emu oil self-emulsion for hair conditioning and hair loss prevention. *Journal of HerbMed Pharmacology, 5*(2), 72-77.

Thaicrudedrug. (2010). *กานพลู*. สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2562, จาก http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=18

Mae Fah Luang University