

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการเตรียมไลโปโซมที่บรรจุน้ำมันกานพลู แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกสกัดสารปนเปื้อนออกจากฟอสฟาติลโคลีน (PC) โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟี โดย PC ที่ได้มีการควบคุมคุณภาพโดยใช้ วิธีวิเคราะห์ตาม Bartlett's assay ขั้นที่สองเตรียมไลโปโซมจาก PC 3 แหล่ง คือ PC ที่สกัดจาก PC ความบริสุทธิ์ต่ำ (PPC) PC ความบริสุทธิ์ต่ำซึ่งซื้อมาจากบริษัทก่อนการสกัด (CPC) และ PC ความบริสุทธิ์สูง (HPC) ในการเตรียมไลโปโซมใช้ 2 เทคนิค คือ reverse phase evaporation และ thin film method เปรียบเทียบอัตราส่วนโดยโมลของฟอสฟาติลโคลีนต่อคอเลสเตอรอลที่ 1:0 1:1 7:3 และ 9:1 ขั้นตอนที่สามคือการวัดขนาดและควบคุมขนาดไลโปโซมที่เตรียมได้จากทั้ง 2 วิธี ขั้นตอนที่สุดท้ายไลโปโซมที่บรรจุน้ำมันกานพลูที่เตรียมได้มีการศึกษาทางกายภาพโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและการวิเคราะห์ทางเคมีโดยใช้ก๊าซโครมาโตกราฟีในการหาปริมาณสารยูจินอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันกานพลู

ผลการศึกษาพบว่า PPC CPC และ HPC มีปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ ร้อยละ $68.67 \pm 3.90\%$ $39.00 \pm 4.38\%$ และ $70.00 \pm 4.25\%$ ตามลำดับ วิธีการเตรียมไลโปโซมแบบ thin film ที่อัตราส่วน 1:1 ให้ไลโปโซมชนิดผนังหลายชั้น โดยขนาดอนุภาคของไลโปโซม คือ 204.32 ± 259.82 , 246.99 ± 125.16 และ 243.45 ± 165.76 นาโนเมตร ตามลำดับ และพบว่าไลโปโซมที่เตรียมจาก PPC และ CPC มีลักษณะของผนังหลายชั้นเหมือนกับ HPC แต่ลักษณะของไลโปโซมที่เตรียมจาก CPC มีลักษณะของผนังที่ไม่ค่อยสมบูรณ์และมีค่าการกระจายขนาดสูงกว่าไลโปโซมที่เตรียมจาก PPC และ HPC เมื่อทำการควบคุมขนาดของไลโปโซมโดยนำอนุภาคผ่าน liposome extruder พบว่าทำให้การกระจายตัวแคบลง โดยดูจากค่า poly dispersion index (PI) ที่ลดลงโดยมีขนาดของไลโปโซมของ extruded HPC extruded CPC และ extruded HPC 200.76 ± 0.58 , 200.23 ± 0.19 และ 200.35 ± 0.43 นาโนเมตร ตามลำดับ การศึกษาทางเคมีพบว่าไลโปโซมที่เตรียมได้จาก PPC สามารถบรรจุ Eugenol ได้ใกล้เคียงกับไลโปโซมที่เตรียมจาก HPC หลังศึกษาความคงตัวโดยเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 เดือน พบว่ารูปร่างของไลโปโซมที่เตรียมจากทุกแหล่งของ PC ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น PPC สามารถนำมาใช้เตรียมไลโปโซมที่มีความสามารถบรรจุน้ำมันกานพลูเท่ากับไลโปโซมที่เตรียมได้จาก HPC

Abstract

This research particularly focuses on preparation of liposomes which can efficiently maintain stability and quality of clove oil. The research method used in this study can be divided into four main steps. First, phosphatidylcholine (PC) was purified by using techniques called column chromatography and thin layer chromatography. Each source of PC was chemically evaluated using Bartlett's assay. Second, liposomes from three different sources of PC (i.e., purified PC from commercial PC (PPC), commercial PC (CPC) and commercial high-purified PC (HPC)) were prepared by using two different methods: thin film method and reverse evaporation. Four different molar ratios of PC to cholesterol: 1:0, 9:1, 7:3 and 1:1 were investigated. Third, size and size distribution control were analyzed by extruding liposomes obtained from the two techniques through syringe extruders. Finally, a physical study of liposome containing clove oil was performed using transmission electron microscopy (TEM), a chemical study of eugenol was performed using gas chromatography (GC) and a stability study was performed at a temperature of 4 degree Celsius for 3 months.,

The research results showed that PPC, CPC and HPC contained 68.67 ± 3.90 %, 39.00 ± 4.38 % and 70.00 ± 4.25 % of PC respectively (the amounts were calculated by weight using inorganic phosphorus). Thin film method and 1:1 molar ratio of PC to cholesterol showed multilamellar structure in the liposome from every source with size of 204.32 ± 259.82 , 246.99 ± 125.16 and 243.45 ± 165.76 nm. PPC, CPC and HPC respectively. The multilamellar structure of liposome analyzed by using TEM showed that liposome from PPC and CPC were similar to that from HPC while liposome prepared by CPC showed incomplete multilamellar structure and high polydispersion index (PI) with size of 200.76 ± 0.58 , 200.23 ± 0.19 and 200.35 ± 0.43 nm with extruded PPC, extruded CPC and extruded HPC respectively. The results showed that liposome extruded through a syringe extruder had low PI since size of liposome was controlled by membrane. In addition, results of the chemical study showed that the amount of eugenol contained in the liposome from PPC was nearly equivalent to that contained in the HPC. After storage, in 4 °C for 3 month the morphology of liposome from each type of PC did not change significantly. Liposome prepared by HPC or PPC could maintain eugenol after stability. Thus, PPC could be a good source for liposome as comparing to HPC in term of quality of containing substance and stability.