



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

“การพัฒนาแกรหนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพรา เพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหาร
ในสุกรอนุบาล”

โดย นาย สาธร พรตระกูลพิพัฒน์ และคณะ

11 พฤษภาคม 2552

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

“การพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพรา เพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกร
อนุบาล”

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- ผศ.ดร. สาธร พรตระกูลพิพัฒน์
- รศ.ดร. วัชร คุณกิตติ
- ผศ.ดร. ผดุงขวัญ จิตโรภาส

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Executive Summary

กระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชวงศ์ Labiatae มีชื่อสามัญ คือ holy basil, sacred basil มีสารประกอบที่สำคัญ คือ eugenol ซึ่งมีฤทธิ์ขับน้ำดี สารสกัดกระเพราสามารถลดไข้ ลดปวด ต้านการอักเสบ ลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารป้องกันเยื่อบุกระเพาะอาหาร ลดการบีบตัวของลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ยับยั้งการหลั่งสาร histamine จาก mast cell ป้องกันตับจากสารพิษ ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดท้องเสีย มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน กระตุ้นภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยกระเพรายังช่วยกระตุ้นความอยากอาหารในสัตว์ และช่วยลดปัญหาเรื่องเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสีย ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตและลดการนำเข้าสารเสริมอาหารในสัตว์ แต่น้ำมันหอมระเหยกระเพรามีลักษณะเป็นของเหลว ระเหยได้ง่าย หากนำไปผสมในอาหารสัตว์ จำเป็นต้องพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสม ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการพัฒนาการนุ้ลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกร เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกร จากการทดลองพบว่า องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่นำมาเตรียมผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย Eugenol 53.0 %, β -elemene 5.6%, methylisoeugenol 9.8%, Trans-caryphyllene 22.4%, และ unknown 9.2% และเมื่อศึกษาวิธีการ encapsulate volatile oil เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากการนุ้ล โดยทำการพัฒนาการนุ้ล 2 แบบคือแบบธรรมดาและแบบที่ทนต่อการดในกระเพาะอาหารพบว่า ได้การนุ้ล 3 ชนิดคือ ชนิดที่ไม่เคลือบ สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 74.47 % ชนิดที่เคลือบด้วย Hydroxy Propyl Methyl Cellulose (HPMC) สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 57.93 % และชนิดที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 ซึ่งเป็นชนิดทนกรดสามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 65.57 % และเมื่อนำการนุ้ลมาทดสอบความคงทนของสารในผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 3 นาทีพบว่า การนุ้ลที่เจือจางด้วยแอมันมี Tween 60 ปริมาณ 4 กรัมเป็นตำรับที่ดีที่สุดหลังอบที่ 80°C นาน 3 นาที น้ำมันหอมระเหยกระเพราหายไปน้อยที่สุดคือเพียง 7.49 % จากนั้นนำมาพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อให้เหมาะสมในการใช้เป็นอาหารสัตว์โดยการขยายการผลิตเป็น 15-20 กิโลกรัมพบว่า การนุ้ลกระเพราที่นำมาทำการขยายขนาดมีสูตรตำรับประกอบด้วย น้ำมันกระเพรา จำนวน 7 มิลลิลิตร สารยึดเกาะ (6.25% แป้งเปียก) จำนวน 50 กรัม Tween 60 จำนวน 4 กรัม แป้งมันสำปะหลัง 95 กรัม และทำการขยายการผลิตเป็น 24 กิโลกรัม แบ่งการนุ้ลออกเป็นอย่างละ 8 กิโลกรัม เพื่อนำไปเคลือบด้วยสารเคลือบ เก็บไว้ศึกษาการปลดปล่อยและความคงตัวอย่างละ 0.5 กิโลกรัม สำหรับความคงตัวของน้ำมันกระเพราในสภาวะแรงนั้น กระเพราการนุ้ลที่เคลือบด้วย HPMC จะเก็บได้นานอย่างน้อย 318.3 วัน ส่วนกระเพราการนุ้ลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 จะเก็บได้นานอย่างน้อย 202.4 วัน ในขณะที่ กระเพราการนุ้ลที่ไม่ได้เคลือบ จะเก็บได้เพียง 10.1 วัน

น้ำมันกระเพราที่นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อในหลอดทดลองสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ชนิดที่ก่อโรคในสุกรได้ดีโดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ F18 โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีที่ความเข้มข้น 2.5 μ l/ml นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง เชื้อ *E. coli* ซึ่งดื้อต่อยา colistin sulfate ได้

อีกด้วย สำหรับเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์อื่นๆ น้ำมันกระเพราก็สามารถยับยั้งได้เช่นกันแต่ที่ความเข้มข้นสูงกว่า และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลอน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสักรอนูบาลเปรียบเทียบระหว่างสักรอนูบาลที่ได้รับแกรนูลอนกระเพราชนิดที่เคลือบ HPMC และ Polyquid PA-30 ขนาด 20 และ 30 ppm ผสมในอาหารพบว่า น้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดที่เคลือบด้วย HPMC (สารไม่ทนกรด) ในอาหารสักรขนาด 20 ppm ให้ผลดีในแง่ของประสิทธิภาพการเจริญเติบโตคือมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ดีที่สุดและดีกว่ากลุ่มควบคุม

บทคัดย่อ

กระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชวงศ์ Labiatae มีชื่อสามัญ คือ holy basil, sacred basil มีสารประกอบที่สำคัญ คือ eugenol ซึ่งมีฤทธิ์หลายอย่างโดยเฉพาะฤทธิ์ขับน้ำดี กระตุ้นความอยากอาหารในสัตว์ และช่วยลดปัญหาเรื่องเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสีย ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตและลดการนำเข้าสารเสริมอาหารในสัตว์ แต่น้ำมันหอมระเหยกระเพรามีลักษณะเป็นของเหลว ระเหยได้ง่าย หากนำไปผสมในอาหารสัตว์ จำเป็นต้องพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสม ในการศึกษานี้จึงทำการพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกรเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกร จากการทดลองพบว่าเมื่อทำการ encapsulate volatile oil เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากแกรนูลโดยทำการพัฒนาแกรนูล 2 แบบคือแบบธรรมดาและแบบที่ทนต่อการดในกระเพาะอาหารพบว่าได้แกรนูล 3 ชนิดคือ ชนิดที่ไม่เคลือบ สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 74.47 % ชนิดที่เคลือบด้วย Hydroxy Propyl Methyl Cellulose (HPMC) สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 57.93 % และชนิดที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 ซึ่งเป็นชนิดทนกรด สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 65.57 % และเมื่อนำแกรนูลมาทดสอบความคงทนของสารในผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 3 นาทีพบว่าแกรนูลที่เจือจางด้วยเบงมันมี Tween 60 ปริมาณ 4 กรัมเป็นตัวรับที่ดีที่สุดหลังอบที่ 80°C นาน 3 นาที น้ำมันหอมระเหยกระเพราหายไปน้อยที่สุดคือเพียง 7.49 % สำหรับความคงตัวของน้ำมันกระเพราในสภาวะเร่งนั้น กระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย HPMC จะเก็บได้นานอย่างน้อย 318.3 วัน ส่วนกระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 จะเก็บได้นานอย่างน้อย 202.4 วัน ในขณะที่ กระเพราแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบ จะเก็บได้เพียง 10.1 วัน

น้ำมันกระเพราที่นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อในหลอดทดลองสามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ชนิดที่ก่อโรคในสุกรได้ดีโดยเฉพาะเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์ F18 โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้ที่มีความเข้มข้น 2.5 µl/ml นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง เชื้อ *E.coli* ซึ่งดื้อต่อยา colistin sulfate ได้อีกด้วย สำหรับเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์อื่นๆ น้ำมันกระเพราก็สามารถยับยั้งได้เช่นกันแต่ที่ความเข้มข้นสูงกว่า และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาลเปรียบเทียบระหว่างสุกรอนุบาลที่ได้รับแกรนูลกระเพราชนิดที่เคลือบ HPMC และ Polyquid PA-30 ขนาด 20 และ 30 ppm ผสมในอาหารพบว่า น้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดที่เคลือบด้วย HPMC (สารไม่ทนกรด) ในอาหารสุกรขนาด 20 ppm ให้ผลดีในแง่ของประสิทธิภาพการเจริญเติบโตคือน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ดีที่สุดและดีกว่ากลุ่มควบคุม

สัญญาเลขที่ RDG5020002

โครงการ

“การพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพรา เพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกรอนุบาล”

สรุปรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2

ส่วนที่ 1 ข้อมูลโครงการ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน: สารท พตระกูลพิพัฒน์

โครงการเริ่มวันที่ 1 พฤศจิกายน พ.ศ. 2549 รวมเวลาที่ทำวิจัยทั้งสิ้น 12 เดือน

รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2

ในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 เมษายน พ.ศ. 2550 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2550

ส่วนที่ 2 รายงานกระบวนการทำวิจัย

1. ในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมาท่านได้

☐ ติดต่อ สกว. หรือ สปว. 4 ครั้ง

☐ ประชุมทีมวิจัย 3 ครั้ง เป็นเรื่อง

a. ทบทวนและ วางแผนงาน 2 ครั้ง

b. หาหรือปัญหาการทำวิจัย 1 ครั้ง

2. ในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมาท่านได้ติดตามงานวิจัยโดย

☐ บันทึกการทำวิจัย จำนวน 28 หน้า

☐ อ่าน paper ที่เกี่ยวข้อง 30 ชิ้น

☐ ค้นหาข้อมูลทาง internet 20 ครั้ง

ส่วนที่ 3 รายงานเนื้อหา

ตามเอกสารที่แนบ

ลงนาม.....

(หัวหน้าโครงการ)

วันที่ 11 พฤษภาคม 2552

สัญญาเลขที่ RDG 5020002

โครงการ การพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกรอนุบาล

สรุปรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 26 ตุลาคม 2549 ถึงวันที่ 18 พฤศจิกายน 2551

ชื่อหัวหน้าโครงการ: ผศ. ดร. สาทร พรตระกูลพิพัฒน์

หน่วยงาน: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทดสอบผลการทำลายและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสุกรของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา
2. เพื่อพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกร
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกร

รายละเอียดผลการดำเนินงานของโครงการตามแผนงานโดยสรุป (พอสังเขป)

การพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสัตว์

ระยะเวลา 26 ตุลาคม 2549 ถึงวันที่ 18 พฤศจิกายน 2551

กิจกรรม (activities)	ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน
1. ตรวจสอบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดย GC /MS	ทราบองค์ประกอบและองค์ประกอบหลัก ที่มีในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา	องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่นำมาเตรียมผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย Eugenol 53.0 %, β -elemene 5.6%, methylisoeugenol 9.8%, Trans-caryophyllene 22.4%, unknown 9.2%
2. พัฒนารูปแบบการ encapsulate volatile oil เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากแกรนูล	2. แกรนูล 2 แบบคือ แบบธรรมดาและแบบที่ทนต่อกรดในกระเพาะอาหาร	ได้แกรนูล 3 ชนิดคือ ชนิดที่ไม่เคลือบสามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 74.47 % ชนิดที่เคลือบด้วย Hydroxy propyl methyl cellulose สามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 57.93 % และชนิดที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 ซึ่งเป็นชนิดทนกรดสามารถเก็บกักน้ำมันกระเพราได้ 65.57 %

3. ทดสอบความคงทนของสารในผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 80°C นาน 3 นาที	3. ทราบความคงทนของผลิตภัณฑ์	แกรนูลที่เจือจางด้วยแป้งมันโดยไม่เคลือบมี Tween 60 ปริมาณ 4 กรัมเป็นตำรับที่ดีที่สุดหลังอบที่ 80°C นาน 3 นาที น้ำมันหอมระเหยกระเพราหายไปน้อยที่สุดคือเพียง 7.49 %
4. พัฒนารูปแบบของผลิตภัณฑ์เพื่อให้เหมาะสมในการใช้ในอาหารสัตว์	4. ขยายการผลิตเป็น 15-20 กิโลกรัม	แกรนูลกระเพราที่นำมาทำการขยายขนาดมีสูตรตำรับประกอบด้วย น้ำมันกระเพรา จำนวน 7 มิลลิลิตร สารยึดเกาะ (6.25% แป้งเปียก) จำนวน 50 กรัม Tween 60 จำนวน 4 กรัม แป้งมันสำปะหลัง 95 กรัม และทำการขยายการผลิตเป็น 24 กิโลกรัม แบ่งแกรนูลออกเป็นอย่างละ 8 กิโลกรัม เพื่อนำไปเคลือบด้วยสารเคลือบ เก็บไว้ศึกษาการปลดปล่อยและความคงตัวอย่างละ 0.5 กิโลกรัม
5. ความคงตัวของน้ำมันกระเพราในสภาวะเร่ง	5. ทราบอายุของแกรนูล กระเพรา	กระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย HPMC จะเก็บได้นานอย่างน้อย 318.3 วัน ส่วนกระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 จะเก็บได้นานอย่างน้อย 202.4 วัน ในขณะที่ กระเพราแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบ จะเก็บได้เพียง 10.1 วัน
6. ทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา	6. ทราบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>E.coli</i> ที่พบในทางเดินอาหารสุกรป่วย	น้ำมันหอมระเหยกระเพราซึ่งละลายใน 10% Cetomacrogol สามารถยับยั้งเชื้อ <i>E.coli</i> ที่นำมาทดสอบได้ทั้งความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>E.coli</i> สายพันธุ์ F18 ได้ที่ความเข้มข้น 2.5 µl/ml นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง เชื้อ <i>E.coli</i> ซึ่งดื้อต่อยา colistin sulfate ได้อีกด้วย
7. การทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพ	7. ทราบผลของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของ	การผสมแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดที่เคลือบด้วยสารไม่ทนกรดในอาหารสุกรขนาด 20 ppm ให้ผลดีในแง่ของ ให้ผลดีในแง่ของ

การเจริญเติบโตของสุกร อนุบาล	สุกรอนุบาลซึ่งผสม อาหารให้สุกรกินสอง ชนิดและสองขนาดคือ ชนิดที่เคลือบด้วยสาร ไม่ทนกรด (HPMC) และชนิดที่เคลือบด้วย สารทนกรด (polyquid PA-30) โดยในแต่ละ ชนิดผสมอาหารให้กิน ต่างกัน 2 ขนาดคือ 20 ppm และ 30 ppm	ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตคือมี น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราการ เจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ดีที่สุด และดีกว่ากลุ่มควบคุม
---------------------------------	--	---

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะอื่นๆ ต่อ สกว.

หัวหน้าโครงการ

วันที่ 11 พฤษภาคม 2552

โครงการ

การพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพรา เพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกรอนุบาล

บทนำ

ปัจจุบันผู้เลี้ยงสุกรและไก่ มีการนำน้ำมันหอมระเหยมาพัฒนาเพื่อใช้เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของไก่และสุกร กระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชวงศ์ Labiatae มีชื่อสามัญ คือ holy basil, sacred basil มีสารประกอบที่สำคัญ คือ eugenol ซึ่งมีฤทธิ์ขับน้ำดี สารสกัดกระเพราสามารถลดไข้ ลดปวด ต้านการอักเสบ ลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารป้องกันเยื่อกระเพาะอาหาร ลดการบีบตัวของลำไส้ หนูตะเภา ยับยั้งการหลั่งสาร histamine จาก mast cell ป้องกันตับจากสารพิษ ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดท้องเสีย มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน กระตุ้นภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยกระเพรายังช่วยกระตุ้นการย่อยอาหารในสัตว์ และช่วยลดปัญหาเรื่องเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสีย ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตและลดการนำเข้าสารเสริมอาหารในสัตว์ แต่น้ำมันหอมระเหยกระเพรามีลักษณะเป็นของเหลว ระเหยได้ง่าย หากนำไปผสมในอาหารสัตว์ จำเป็นต้องพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาแกรนูลจากน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารในสุกร
2. เพื่อทดสอบผลการทำลายและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสุกรของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกร

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาผลของปริมาณสารยัดเกาะและปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

การเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารยัดเกาะและสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกัน

ส่วนประกอบของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารยัดเกาะและสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่ใช้ในการศึกษาผลของปริมาณ สารยัดเกาะและสารลดแรงตึงผิว

ส่วนประกอบ	แหล่งที่มา	ปริมาณสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรต่างๆ								
		A	B	C	D	E	F	G	H	I
Holy Basil oil (ml)	บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทยจีน	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Tween 60 (g)	บ.วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด	2	2	2	3	3	3	4	4	4
Tapioca paste (g)	หจก.เกรียงไกร คำแปง	20	50	80	20	50	80	20	50	80
แป้งข้าวเจ้า (g)	บ.อุตสาหกรรมแป้งไทย จำกัด	30	30	30	30	30	30	30	30	30
แป้งมัน (g)	หจก.เกรียงไกร คำแปง	90	90	90	90	90	90	90	90	90

การเตรียมแกรนูลที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียม tapioca paste ทำได้โดยการกระจายแป้งมัน 6.25 กรัม ในน้ำ 93.75 กรัม จากนั้นนำไปให้ความร้อน พร้อมกับคนอย่างสม่ำเสมอ จนกระทั่งเกิดเป็นของเหลวหนืดสีขาวขุ่น
2. นำ Holy Basil Oil ผสมกับ Tween 60 ให้เข้ากัน จากนั้นเติม tapioca paste ลงไป และผสมให้เข้ากัน
3. นำแป้งมันผสมกับส่วนผสมในข้อ 2 ให้เข้ากัน จากนั้นเติมแป้งข้าวเจ้าลงไป และผสมให้เข้ากัน จะได้สารที่มีลักษณะเปียกชื้น (damp mass) (ถ้าสูตรที่ไม่เกิดเป็นสารที่มีลักษณะเปียกชื้น ให้เติมน้ำจนกระทั่งได้สารที่มีลักษณะเปียกชื้น ถ้าสูตรที่เกิดเป็นสารที่มีลักษณะแฉะ ให้นำไปผึ่งที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 90 นาที)
4. นำสารที่มีลักษณะเปียกชื้น ไปแรงผ่านแรงที่มีขนาดรูเปิด 1 มิลลิเมตร
5. นำสารในข้อ 4 ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
6. นำสารในข้อ 5 ไปแรงผ่านแรงที่มีรูเปิด 1 มิลลิเมตร

การประเมินคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารยึดเกาะและสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกัน

นำแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ไปประเมินคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

1. ลักษณะภายนอกของแกรนูล (morphology) สังเกตลักษณะภายนอกของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราด้วยตาเปล่า บันทึกผล

2. ขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูล (size and size distribution)

ทำการวัดขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดยใช้เครื่องวัดขนาดสารที่ใช้เทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering technique) ทำได้โดยนำแกรนูล 20 กรัม ใส่ในเครื่องวัดขนาดสาร (Mastersizer® 2000) บันทึกผลของขนาดแกรนูลเฉลี่ย (d(0.5)) และการกระจายขนาดแกรนูล (d(0.1) ถึง d(0.9)) โดยทำการวัด 3 ครั้ง

d(0.1) หมายถึงขนาดอนุภาคที่ percentiles ที่ 10

d(0.5) หมายถึงขนาดอนุภาคที่ percentiles ที่ 50

d(0.9) หมายถึงขนาดอนุภาคที่ percentiles ที่ 90

3. ปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ (yield)

ทำได้โดยการนำค่าที่ได้จากการวัดขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูลซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณแกรนูลที่มีในแต่ละช่วงขนาด จากนั้นคำนวณหาปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ บันทึกผล

4. อัตราการไหลของแกรนูล (flow rate)

ทำการหาอัตราการไหลของแกรนูล โดยใช้เครื่องวัดอัตราการไหล (Flow meter) ทำได้โดยนำแกรนูล 20 กรัม ใส่ในเครื่องวัดอัตราการไหล ปลดปล่อยให้แกรนูลไหลผ่านช่องเปิดของเครื่องวัดอัตราการไหล บันทึกน้ำหนักแกรนูลและเวลาที่ใช้ในการไหลของแกรนูล คำนวณหาอัตราการไหล โดยคำนวณเป็นกรัมต่อวินาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5. ปริมาณความชื้นของแกรนูล (moisture content)

ทำการหาปริมาณความชื้นของแกรนูล โดยใช้เครื่องวัดความชื้น (moisture balance) ทำได้โดยนำแกรนูล 5 กรัม ใส่ในเครื่องวัดความชื้น บันทึกน้ำหนักแกรนูลเริ่มต้น ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที บันทึกน้ำหนักแกรนูลหลังการทดสอบ คำนวณหาปริมาณสารที่ระเหยได้ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ทำซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\% \text{ Moisture content} = \frac{(\text{น้ำหนักแกรนูลเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักแกรนูลหลัง})}{\text{น้ำหนักแกรนูลเริ่มต้น}} \times 100$$

หมายเหตุ ปริมาณความชื้นในที่นี้หมายถึงเปอร์เซ็นต์สารที่ระเหยได้ ซึ่งได้แก่น้ำและน้ำมันหอมระเหย

6. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบและปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (Holy Basil Oil content)

การหาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพราโดยวิธี Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC-MS-QP2010, Shimadzu) โดยละลายตัวอย่างในความเข้มข้น 10 $\mu\text{l/ml}$ ในตัวทำละลาย hexane
สภาวะที่ใช้ในการศึกษา มีดังนี้

Column : Rtx[®]-5 MS (30m x 0.25 mm id. X 0.25 μm film thickness)
Inlet temperature : 250 °C; Transfer line to MSD 250 °C
Oven Temperature : 80 to 230 °C at 10 °C/min hold for 1 min
Detector temperature : 300 °C
Carrier gas : Helium ใช้ constant flow rate ที่ 2 ml/min
Split ratio: 1:50; ionization 0.98 kV and Scanned m/z over 35-550 amu at 1111 amu/sec

องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพราหาโดยการเปรียบเทียบกับข้อมูลใน mass spectra data ของ NIST mass spectral libraries.

การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดยวิธี gas chromatography ทำได้ โดยบดแกรนูลให้ละเอียด ซึ่งแกรนูลที่บดละเอียด 1 กรัม ใส่ใน volumetric flask เติม absolute ethanol เพื่อละลายน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ปรับปริมาตรให้ครบ 10 ml ใน volumetric flask จากนั้นนำไปกรอง และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดยวิธี gas chromatography ทำซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่มีอยู่ในแกรนูลที่นำมาทดสอบ คำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
สภาวะที่ใช้ในการศึกษา มีดังนี้

Column : HP 5 ขนาด 30 cm x 0.32 mm i.d. x 0.25 μm filter thickness
Inlet temperature : 250 องศาเซลเซียส
Detector temperature : 300 องศาเซลเซียส
Carrier gas : Nitrogen ใช้ constant flow rate ที่ 2 ml/min
Injection volume : 1 μl

2. การศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

การเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับที่แตกต่างกัน

ส่วนประกอบของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับที่แตกต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

การเตรียมแกรนูลที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียม tapioca paste ทำได้โดยการกระจายแป้งมัน 6.25 กรัม ในน้ำ 93.75 กรัม จากนั้นนำไปให้ความร้อน พร้อมกับคนอย่างสม่ำเสมอ จนกระทั่งเกิดเป็นของเหลวหนืดสีขาวขุ่น
2. นำ Holy Basil Oil ผสมกับ Tween 60 ให้เข้ากัน จากนั้นเติม tapioca paste ลงไป และผสมให้เข้ากัน
3. นำแป้งมันหรือแป้งข้าวเจ้าผสมกับส่วนผสมในข้อ 2 ให้เข้ากัน จะได้สารที่มีลักษณะเปียกชื้น (damp mass)
4. นำสารที่มีลักษณะเปียกชื้น ไปแรงผ่านแรงที่มีขนาดรูเปิด 1 มิลลิเมตร
5. นำสารในข้อ 4 ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
6. นำสารในข้อ 5 ไปแรงผ่านแรงที่มีรูเปิด 1 มิลลิเมตร

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่ใช้ในการศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับ

ส่วนประกอบ	ปริมาณสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรต่างๆ					
	B-TS	E-TS	H-TS	B-RS	E-RS	H-RS
Holy Basil oil (ml)	7	7	7	7	7	7
Tween 60 (g)	2	3	4	2	3	4
Tapioca paste (g)	50	50	50	50	50	50
แป้งข้าวเจ้า (g)	-	-	-	95	95	95
แป้งมัน (g)	95	95	95	-	-	-

การประเมินคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับที่แตกต่างกัน

นำแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ไปประเมินคุณสมบัติต่างๆ ได้แก่ ลักษณะภายนอกของแกรนูล (morphology) ขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูล (size and size distribution) ปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ (yield) อัตราการไหลของแกรนูล (flow rate) ปริมาณความชื้นของแกรนูล (moisture content) และปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (Holy Basil Oil content) โดยทำการประเมินตามวิธีการประเมินในข้อ 1.2

3. การศึกษาความคงตัวของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

นำแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำแกรนูลที่ผ่านการอบแล้ว ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดยใช้วิธี gas chromatography ตามวิธีการประเมินในข้อ 1.2

4. การศึกษาผลของชนิดของสารเคลือบที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอม

ระเหยกระเพราชนิดเคลือบ

ทำการคัดเลือกแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่มีคุณสมบัติตามที่กำหนด ซึ่งสูตรตำรับส่วนประกอบด้วย Holy Basil Oil 7 กรัม Tween 60 4 กรัม tapioca paste 50 กรัม แป้งมัน 95 กรัม

เตรียมแกรนูลที่มีสูตรตำรับดังกล่าว ในปริมาณ 24 กิโลกรัม นำแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราไปประเมินคุณสมบัติต่างๆ ได้แก่ ขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูล (size and size distribution) อัตราการไหลของแกรนูล (flow rate) ความหนาแน่น (bulk density และ tapped density) ปริมาณความชื้นของแกรนูล (moisture content) การทดสอบความชื้นวิกฤต

โดยศึกษาที่ความชื้นแตกต่างกัน 3 ระดับ (Critical moisture content) และปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (Holy Basil Oil content) ตามวิธีการประเมินของแกรนูลชนิดเคลือบ

ทำการเคลือบแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ methacrylic acid copolymer (PA; Polyquid PA-30) และ hydroxypropyl methylcellulose (HPMC; Methocel E15LV) โดยเคลือบให้มีปริมาณพอลิเมอร์ 2 %w/w (2% dry weight increased) โดยเคลือบในสภาวะต่อไปนี้;

เครื่องมือ Conventional pan coater

Speed pan	35 rpm
Inlet air temperature	90 °C (50% flow)
Outlet temperature	30 °C
Spray pressure	25 Psi
Feed rate	4 rpm (Tube ID : OD = 3:5 mm)

เวลาที่ใช้ในการเคลือบ HPMC 70 min

เวลาที่ใช้ในการเคลือบ PA 40 min

ประเมินคุณสมบัติของแกรนูลชนิดเคลือบ ได้แก่ อัตราการไหลของแกรนูล (flow rate) ปริมาณความชื้นของแกรนูล (moisture content) โดยทำการประเมินตามวิธีการประเมินในข้อ 1.2

ขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูล (size and size distribution) โดยวิธี sieve analysis ทำการศึกษาโดยหาน้ำหนักของแกรนูลที่มีขนาดของแกรนูล 420-840 ไมครอน (โดยใช้ Standard Sieve No. 20 และ 40) และหาน้ำหนักของแกรนูลที่มีขนาดใหญ่กว่า 840 ไมครอน (แกรนูลที่ไม่สามารถผ่าน Standard Sieve No. 20 ได้) จากนั้นนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับน้ำหนักแกรนูลที่ใช้ในการทดสอบ

ความหนาแน่น (bulk density และ tapped density) โดยการใช้กระบอกตวง แบ่งออกเป็น

- Bulk density ทำการศึกษาโดยบรรจุแกรนูล 40 กรัม ใส่ในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร อ่านปริมาตรของแกรนูล และนำไปคำนวณความหนาแน่น (bulk density) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของแกรนูลเท่ากับน้ำหนักของแกรนูลหารด้วยปริมาตรของแกรนูล
- Tapped density ทำการศึกษาโดยบรรจุแกรนูล 40 กรัม ใส่ในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ทำการเคาะกระบอกตวง (ที่มีแกรนูลบรรจุอยู่ภายใน) อ่านปริมาตรของแกรนูล และนำไปคำนวณความหนาแน่น (tapped density) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของแกรนูลเท่ากับน้ำหนักของแกรนูลหารด้วยปริมาตรของแกรนูล

การทดสอบความชื้นวิกฤต โดยศึกษาความสามารถในการดูดความชื้นของแกรนูลที่ถูกเก็บไว้ในสภาวะที่มีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ 59%, 75% และ 84% และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักของแกรนูลที่เก็บไว้ในสภาวะต่างๆ

การทดสอบการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราในสารละลายตัวกลางชนิดกรด pH = 2.6 และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 โดยการชั่งแกรนูลจำนวน 1 กรัม ใส่ใน cello foil ทำการพันห่อตัวอย่างให้มิดชิดด้วยด้าย แล้วใส่ใน basket ที่ใช้ทดสอบ (basket หมุนด้วยความเร็ว 50 รอบต่อนาที) นำไปใส่ใน dissolution flask ที่มีสารละลายชนิดกรด pH= 2.6 หรือสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH=6.8 จำนวน 200 มิลลิลิตร (ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส) ทำการเก็บตัวอย่างสารละลายที่เวลาต่างๆ คือ 30, 60 และ 120 นาที (สำหรับสภาวะกรด) หรือ 30, 60 และ 180 นาที (สำหรับสภาวะ buffer) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลือยู่ภายในแกรนูลที่เวลาต่างๆ ด้วยวิธี gas chromatography (ตามวิธีการประเมินในข้อ 1.2) โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

5. การศึกษาความคงตัวของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ

นำแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา และแกรนูลชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด ไปเก็บไว้ในอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน ในทุกๆ 1 เดือน ทำการสุ่มแกรนูล ดังกล่าวมาทดสอบหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลือยู่ภายในแกรนูลด้วยวิธี gas chromatography

6. การทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

6.1 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

เชื้อที่นำมาทดสอบผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคประกอบไปด้วย เชื้อและแหล่งที่มาตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงเชื้อและที่มาของเชื้อที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

ลำดับ	หมายเลข	ที่มา	หมายเหตุ
1	SC003-1 (<i>E.coli</i>)	เชื้อ <i>E.coli</i> F18+ ซึ่งได้รับการตรวจยืนยันว่ามี fimbria ชนิด F18 และมี gene ซึ่งผลิต Heat Stable Toxin ในสักร Verotoxin 2 และ Edema Toxin โดยทดสอบด้วยวิธี PCR นอกจากนี้ยังทำการทดสอบในสักรหย่านม อายุ 3 สัปดาห์จำนวน 18 ตัวแล้วว่าก่อให้เกิดบวมหน้าและท้องเสียจริง	beta hemolysis
2	SC004 (<i>E.coli</i>)	แยกจากสักรป่วย	non-hemolysis
3	SC005 (<i>E.coli</i>)	แยกจาก lymph node สักรป่วย	non-hemolysis
4	SC009 (<i>E.coli</i>)	แยกได้จากสักรป่าท้องเสีย	non-hemolysis
5	SC011 (<i>E.coli</i>)	ATCC 25922	alfa hemolysis
6	SC022 (<i>E.coli</i>)	เชื้อดื้อยา colistin sulfate	beta hemolysis
7	68-2 Strep (<i>Streptococcus</i> spp)	แยกจากสมองสักรป่วย	-

6.2 ตัวทำละลายน้ำมันกระเพรา

ทดสอบการละลายของน้ำมันกระเพราในตัวทำละลายต่อไปนี้คือ

6.2.1.1 10% Cetomacrogol

6.2.1.2 10% DMSO

6.2.1.3 5% Tween80+5% Ethanol

6.3 การเตรียมแบคทีเรียเพื่อใช้ทดสอบในหลอดทดลอง

เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion broth (BHI) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 6-8 ชั่วโมง แล้วปั่นล้างเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % 2 ถึง 3 ครั้ง จากนั้นเตรียมเชื้อให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^8 CFU/ม.ล. โดยนำมาเจือจางด้วย Mueller Hinton Broth (MHB)

แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร ให้ OD=0.1 (Kanbutra et al., 2003) แล้วเจือจางเชื้อเป็น 10^6 CFU/ม.ล. เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

6.4 การทดสอบผลของน้ำมันกระเพราต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

หาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยใช้วิธี colorimetric micro-dilution plate technique ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ (Eloff, 1998) ดังนี้ เจือจางสารสกัดสมุนไพรในไมโครไทดเตอร์เพลทด้วย MHB ให้มีความเข้มข้นลดลงทีละครึ่ง (2-fold serial dilution) ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ม.ล. หลุมละ 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันดี เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ข้ามคืน (16-20 ชม) อ่านผลการเจริญของเชื้อโดยการเติม *p*-iodonitrotetrazolium violet (INT) ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้คือ MIC

7 ทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาล

7.1 สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกสุกรพันธุ์ผสม (แลนด์เรซ – ลาร์ตไวท์ x ดุริโอก) อายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 450 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 225 ตัว และ เพศเมีย 225 ตัว โดยมีกลุ่มการทดลองทั้งหมด 5 กลุ่ม แบ่งเป็นกลุ่มการทดลองละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ตัว รวมทั้งหมด 30 หน่วยการทดลอง ทำการทดลอง 3 ช่วงเวลา เนื่องจากข้อจำกัดด้านจำนวนสุกร โดยทำการทดลองช่วงเวลาละ 10 หน่วยการทดลอง ซึ่งในแต่ละช่วงเวลาจะมีกลุ่มการทดลองครบทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง

7.2 แผนการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้จะทำการสุ่มลูกสุกรหย่านม เพื่อเข้าสู่งการทดลองโดยจะใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และมีปัจจัยการทดลองจำนวน 5 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 (T1) สูตรอาหารควบคุม (เสริมยาปฏิชีวนะ Colistin Sulfate 120 ppm Amoxicillin 300 ppm Tiamulin 160 ppm และ คิวคาลัด 180 ppm) ไม่เสริมสมุนไพร
- กลุ่มที่ 2 (T2) สูตรอาหารควบคุมเสริมแกรนูลกระเพราชนิดทนกรดขนาด 20 ppm
- กลุ่มที่ 3 (T3) สูตรอาหารควบคุมเสริมแกรนูลกระเพราชนิดทนกรดขนาด 30 ppm
- กลุ่มที่ 4 (T4) สูตรอาหารควบคุมเสริมแกรนูลกระเพราชนิดไม่ทนกรดขนาด 20 ppm
- กลุ่มที่ 5 (T5) สูตรอาหารควบคุมเสริมแกรนูลกระเพราชนิดไม่ทนกรดขนาด 30 ppm

7.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

เริ่มต้นการทดลองเมื่อลูกสุกรอายุ 3 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของสุกรแต่ละคอก (ซ้ำ) ลูกสุกรจะได้รับน้ำและอาหารทดลองแบบเต็มที่ (*Ad libitum*) โดยได้รับสูตรอาหารอนุบาลสูตรที่ 1 เป็นเวลา 14 วัน จึงเปลี่ยนเป็นสูตรอาหารอนุบาลสูตรที่ 2 เป็นเวลา 19 วัน รวมเวลาทำการทดลอง 35 วัน น้ำหนักสุกรจะได้รับการชั่ง 3 ครั้ง ครั้งแรก ชั่งเมื่อเริ่มเข้าสู่งการ

ทดลอง ครั้งที่สองซึ่งเมื่อเปลี่ยนอาหารครั้งแรก และ ครั้งที่สามซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้ยังทำการชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือในแต่ละกลุ่มเมื่อมีการเปลี่ยนอาหารและสิ้นสุดการทดลอง คำนวณหาน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

7.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variances: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS, 1996) และวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

7.5 ระยะเวลาในการทดลอง

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 2 เดือน (กรกฎาคม – สิงหาคม 2550)

7.6 สถานที่ทำการทดลอง

- สถานที่ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- สถานที่เลี้ยงลูกสุกรหย่านมทดลอง ฟาร์มเคียงเส็ง ต.บ้านทุ่ม อ.เมือง จ.ขอนแก่น

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกสุกรหย่านมทดลองสูตรที่ 1

วัตถุดิบอาหารสัตว์ (% ของสูตร อาหาร)	กลุ่มการทดลอง				
	T1	T2	T3	T4	T5
ปลายข้าว	46.6	46.6	46.6	46.6	46.6
ถั่วหมัก (ESP500)	14.3	14.3	14.3	14.3	14.3
นมบอร์ซีแลค	10	10	10	10	10
นมพรีมาซัวร์	5	5	5	5	5
นมชง	5	5	5	5	5
whole milk	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
น้ำตาลแล็คโตส	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
ปลาป่น 65%	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8
น้ำมันรำ	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Lysine	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Methionine	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Threonine	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047
Vit C	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Choline Chloride	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Premix	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Amoxycillin	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Colistin sulfate	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Tiamulin	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
ควิกซาลด์	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
p 21	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43
หินฝุ่น	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07
vit E	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
สารจับเชื้อรา	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
แกรนูลน้ำมันกระเพราชนิดทนกรด	-	0.2	0.3	-	-
แกรนูลน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรด	-	-	-	0.2	0.3

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกสุกรหย่านมทดลองสูตรที่ 2

วัตถุดิบอาหารสัตว์ (% ของสูตรอาหาร)	กลุ่มการทดลอง				
	T1	T2	T3	T4	T5
ปลายข้าว	56	56	56	56	56
ถั่วหมัก (ESP500)	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
ถั่วอบ	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
นมบอร์ซีแลค	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2
นมพรีมาซัวร์	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
whole milk	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
น้ำตาลเด็กซ์โตส	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
ปลาป่น 65%	9	9	9	9	9
น้ำมันรำ	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25
Lysine	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Methionine	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Threonine	0	0	0	0	0
Vit C	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Choline Chloride	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Premix	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Amoxycillin	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Colistin sulfate	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Tiamulin	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
ควิกซาลด์	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
p 21	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
หินฝุ่น	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
vit E	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
สารจับเชื้อรา	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
แกรนูลน้ำมันกระเพราชนิดทนกรด	-	0.2	0.3	-	-
แกรนูลน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรด	-	-	-	0.2	0.3

ตารางที่ 6 คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้เลี้ยงลูกสุกรหย่านม
ทดลองสูตรที่ 1

องค์ประกอบทางโภชนาการ	เปอร์เซ็นต์
พลังงาน	3,754 Kcal/kg
โปรตีน	21
ไขมัน	9
เยื่อใย	2.19
แคลเซียม	1.2
ฟอสฟอรัสใช้ได้ในหมู	0.6
เกลือ	0.41
Lysine	1.4
Methionine+Cysteine	0.84
Methionine	0.61
Threonine	0.97
แล็คโตส	11.3

ตารางที่ 7 คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้เลี้ยงลูกสุกรหย่านม
ทดลองสูตรที่ 2

องค์ประกอบทางโภชนาการ	เปอร์เซ็นต์
พลังงาน	3,600 Kcal/kg
โปรตีน	21
ไขมัน	7.07
เยื่อใย	2
แคลเซียม	0.83
ฟอสฟอรัสใช้ได้ในหมู	0.55
เกลือ	0.4
Lysine	1.35
Methionine+Cysteine	0.81
Methionine	0.6
Threonine	0.9
แล็คโตส	6.25

ตารางที่ 8 ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง (ช่วงเดือน ก.ค.-ส.ค. 50)

วัตถุดิบอาหารสัตว์	ราคา (บาท/กก.)
ปลายข้าว	11
ถั่วหมัก (ESP500)	26
ถั่วอบ	21
นมบอร์ซีแลค	58
นมพรีมาซัวร์	80
นมชง	60
whole milk	62
น้ำตาลแลคโตส	120
น้ำตาลเดกซ์โตส	27
ปลาป่น 65%	40
น้ำมันรำ	36
Lysine	70
Methionine	105
Threonine	92
Vit C	550
Choline Choride	35
Premix	90.7
Amoxycillin	1,050
Colistin sulfate	350
Tiamulin	4,800
ควิกซาลด์	1,140
p 21	32
หินฝุ่น	1.5
vit E	850
สารจับเชื้อรา	237.5

ผลการวิจัย และ อภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองในเบื้องต้น พบว่าแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราควรประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหยกระเพรา สารยัดเกาะ สารลดแรงตึงผิว และสารดูดซับ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาผลของปริมาณสารยัดเกาะ ปริมาณสารลดแรงตึงผิว และชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของชนิดของสารเคลือบ รวมทั้งความคงตัวของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราและแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยชนิดเคลือบ

1. ผลของปริมาณสารยัดเกาะและสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

สูตรตำรับของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหยกระเพรา 7 มิลลิลิตร สารดูดซับ (แป้งมัน 90 กรัม และแป้งข้าวเจ้า 30 กรัม) สารยัดเกาะที่มีปริมาณแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 20, 50, 80 กรัม และสารลดแรงตึงผิวที่มีปริมาณแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 2, 3, 4 กรัม

ในขั้นตอนการเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา พบว่าสูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับปริมาณน้อย (20 กรัม) ทำให้สารผสมที่ได้มีลักษณะไม่เปียก (ไม่เป็น damp mass) จึงต้องเติมน้ำลงไปจนกระทั่งได้สารผสมที่มีลักษณะเปียกขึ้น (damp mass) สำหรับสูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับปานกลาง (50 กรัม) ทำให้สารผสมที่ได้มีลักษณะเปียกขึ้น (damp mass) แต่สูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับสูง (80 กรัม) ทำให้สารผสมที่ได้มีลักษณะเปียกมาก (แฉะ) จึงต้องผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที นอกจากนี้สารยัดเกาะที่เลือกใช้อยู่ในรูปแบบของเหลว การเพิ่มปริมาณสารยัดเกาะทำให้สารผสมมีความเปียกขึ้นมากขึ้นเมื่อนำแกรนูลเปียกไปอบแห้งทำให้ได้แกรนูลแห้งที่แข็งมาก จึงทำให้อัตราการร่อนแกรนูลแห้งค่อนข้างยาก (Fonner DE, et.al., 1981) ดังนั้นการเตรียมแกรนูลจำเป็นต้องเลือกใช้สารยัดเกาะในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารผสมที่มีลักษณะเปียกขึ้น (damp mass) นอกจากนี้ปริมาณสารยัดเกาะมีผลต่อลักษณะของแกรนูลได้อีกด้วย

ลักษณะภายนอก (morphology) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา พบว่าแกรนูลที่ได้มีสีขาวอมเหลืองอ่อนๆ สูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับปริมาณน้อย (20 กรัม) ทำให้แกรนูลที่ได้มีขนาดเล็กละเอียด มีความเปราะมาก สำหรับสูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับปานกลาง (50 กรัม) ทำให้แกรนูลที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น ไม่เปราะ แต่สูตรตำรับที่ใช้สารยัดเกาะระดับสูง (80 กรัม) ทำให้แกรนูลที่ได้มีขนาดใหญ่มากขึ้น มีความแข็งแรงมาก ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารยัดเกาะปริมาณน้อย ทำให้สารผสมเกิดการยัดเกาะกันไม่ดี เมื่อปริมาณสารยัดเกาะมากขึ้น ทำให้สารผสมเกิดการยัดเกาะได้มากขึ้น ขนาดแกรนูลใหญ่ขึ้น แกรนูลมีความแข็งแรงมากขึ้น (Fonner DE, et.al., 1981) ซึ่งลักษณะแกรนูลที่ดี ควรมีความแข็งแรงพอเหมาะ ไม่เกิดการแตกหักในระหว่างกระบวนการบรรจุ การขนส่ง และการนำไปใช้ สำหรับในกรณีที่ต้องนำแกรนูลนำไป

เคลือบเพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะนั้น แกรนูลที่เลือกใช้จำเป็นต้องมีความแข็งค่อนข้างมาก เนื่องจากในขั้นตอนของการเคลือบแกรนูล แกรนูลเกิดการเคลื่อนที่ภายในเครื่องเคลือบตลอดเวลาที่ทำการเคลือบ หากแกรนูลที่เลือกใช้มีความเปราะทำให้การเคลือบแกรนูลไม่สามารถเกิดขึ้นได้

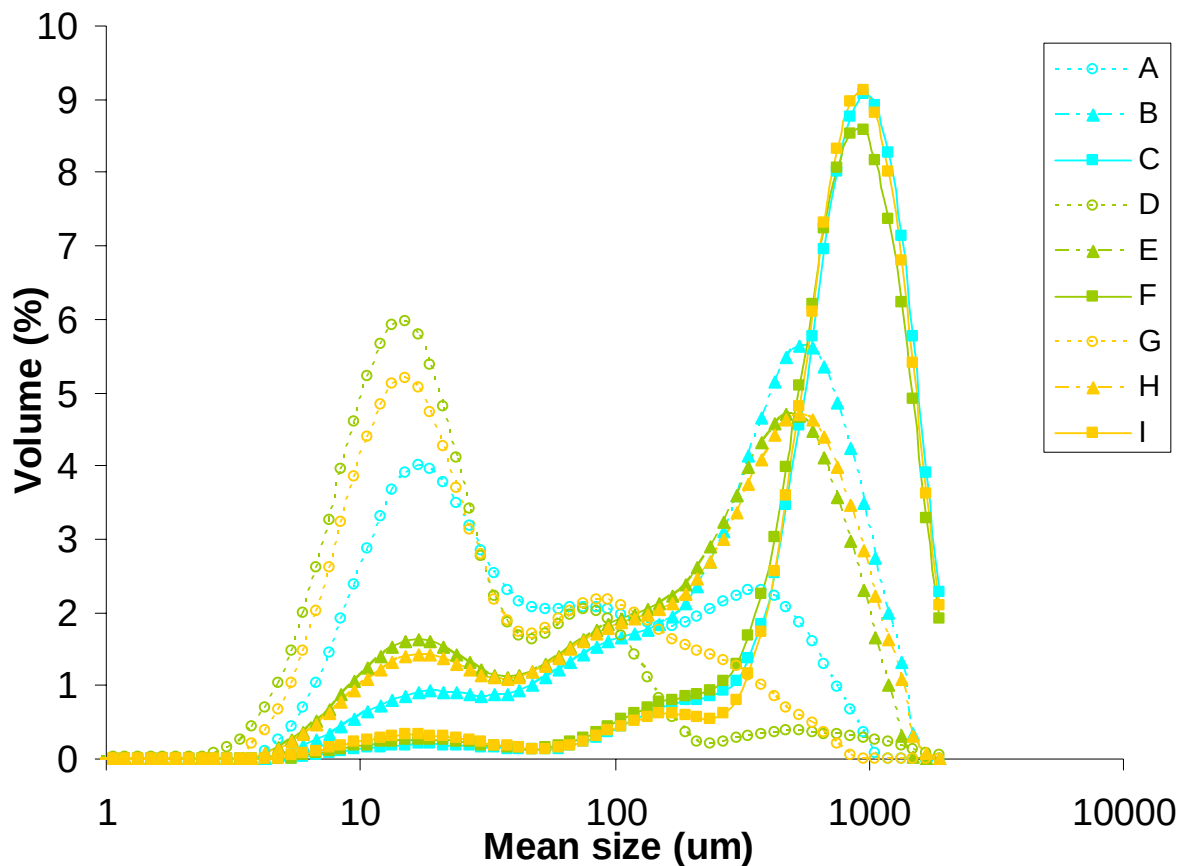
ขนาด (size) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยการใช้เครื่องวัดขนาดที่อาศัยเทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering technique) โดยขนาดของแกรนูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 9 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) ของแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) (ไมครอน)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	43.995	18.039	23.056
50	363.841	246.337	277.302
80	841.055	784.402	848.073

จากตารางที่ 9 เมื่อใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวเท่ากัน พบว่าการเพิ่มปริมาณ tapioca paste ทำให้ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) มีค่ามากขึ้น เนื่องจากในสูตรตำรับเหล่านี้ใช้ tapioca paste เป็นสารยัดเกาะทำหน้าที่ยัดเกาะอนุภาคของสารผสมเข้าด้วยกัน เกิดเป็นกลุ่มของอนุภาคซึ่งเรียกว่าแกรนูล ดังนั้นการเพิ่มปริมาณ tapioca paste ทำให้เกิดการรวมกลุ่มก้อนได้มากขึ้น จึงทำให้ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) มากขึ้น (Fonner DE, et.al., 1981) ในกรณีที่ใช้ปริมาณ paste เท่ากัน พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ระดับน้อยที่สุด ทำให้ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) ใหญ่ที่สุด อาจเนื่องจากสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ทำหน้าที่ช่วยให้น้ำมันหอมระเหยกระเพรากระจายตัวเข้ากันได้กับสารยัดเกาะ (tapioca paste) การใช้ Tween 60 ในปริมาณน้อยที่สุด ทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพรากระจายตัวเป็นหยดน้ำมันขนาดใหญ่ใน paste (Rieger MM, 1986) เมื่อนำไปผสมกับสารดูดซับ ทำให้สารดูดซับจัดเรียงตัวบริเวณ tapioca paste ซึ่งหุ้มหยดน้ำมันขนาดใหญ่ ทำให้เกิดการรวมกลุ่มก้อนของอนุภาคแบบหลวมๆ รอบหยดน้ำมัน แต่อย่างไรก็ตามการใช้ tapioca paste ระดับมากที่สุดนั้น และใช้ Tween 60 ในปริมาณที่แตกต่างกัน ทำให้ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) มีค่าใกล้เคียงกัน อาจเนื่องจากการใช้ tapioca paste ในปริมาณที่มาก ทำให้มี tapioca paste ที่เหลือจากการหุ้มรอบๆ หยดน้ำมัน มีปริมาณมาก ซึ่งสามารถแสดงคุณสมบัติในการยัดเกาะได้ ดังนั้นผลของสารยัดเกาะที่มีต่อขนาดอนุภาคของแกรนูลจึงมีมากกว่าผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิว

การกระจายขนาด (size distribution) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยใช้เครื่องวัดขนาดที่อาศัยเทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering technique) ซึ่งลักษณะของการกระจายขนาดของแกรนูลได้แสดงไว้ในรูปที่ 1 สำหรับการกระจายขนาดของแกรนูลโดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) ดังแสดงในตารางที่ 10



รูปที่ 1 ลักษณะของการกระจายขนาดของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา และใช้ส่วนผสมแป้งมันและแป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ

เนื่องจากแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา มีการกระจายขนาดแบบเบ้ (ไม่ใช่แบบปกติ) จึงแสดงการกระจายขนาดของแกรนูล โดยใช้ความสัมพันธ์ตามรูปที่ 1 พบว่าสูตรตำรับที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะการกระจายขนาดของแกรนูลแตกต่างกัน โดยใช้ tapioca paste ในปริมาณมาก ทำให้มีการกระจายขนาดที่กว้างกว่าการใช้ tapioca paste ในปริมาณน้อย

ตารางที่ 10 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อการกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูล ตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) ของแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	ช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) (ไมครอน)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	10.749-424.355	7.362-109.268	8.458-214.383
50	30.329-891.548	16.199-750.353	17.822-838.046
80	269.851-1467.045	216.420-1418.433	240.864-1446.673

จากตารางที่ 10 เมื่อใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวเท่ากัน พบว่าการเพิ่มปริมาณ tapioca paste ทำให้การกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) มีความกว้างขึ้น เนื่องจากการเพิ่มปริมาณ tapioca paste ทำให้แกรนูลเปียกมีขนาดยาวมากขึ้น ภายหลังจากอบแห้งทำให้ได้แกรนูลมีความแข็งมากขึ้น เมื่อนำแกรนูลมาแรงแห้ง (โดยใช้แรงที่มีรูเปิดเท่ากับการแรงแกรนูลเปียก) จึงทำให้แกรนูลมีการแตกหักเกิดเป็นอนุภาคใหญ่และเล็กผสมกัน จึงทำให้เกิดการกระจายขนาดกว้างขึ้น ในกรณีที่ใช้ปริมาณ tapioca paste เท่ากัน พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ระดับน้อยที่สุด ทำให้การกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) มีความกว้างที่สุด เนื่องจากขนาดของแกรนูลซึ่งสามารถอธิบายได้เช่นเดียวกับการเพิ่มปริมาณ tapioca paste แต่อย่างไรก็ตามการใช้ tapioca paste ระดับมากที่สุดนั้น และใช้ Tween 60 ในปริมาณที่แตกต่างกัน ทำให้การกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ d(0.1) ถึง d(0.9) มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสามารถอธิบายได้ในทำนองเดียวกันดังได้กล่าวมาแล้ว

ปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ (yield) หาได้โดยการนำค่าที่ได้จากการวัดขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูล มาคำนวณหาปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับแกรนูลทั้งหมด

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบเพื่อนำไปผสมกับอาหารสุกรซึ่งโดยปกติแล้วอาหารสุกรควรมีขนาดไม่น้อยกว่า 350 ไมครอนเพื่อป้องกันการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Cowart and Casteel 2001) ทำให้ขนาดของแกรนูล ต้องมีขนาดไม่น้อยกว่า 350 ไมครอนด้วย ซึ่งในการทดลองนี้จึงผลิตแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน ตารางที่ 5 ได้แสดงปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ

ตารางที่ 11 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณของแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน ไมครอน ไมครอน ของแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	ปริมาณของแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน (%)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	10.74	2.74	3.24
50	36.29	29.04	30.15
80	40.00	42.13	41.64

จากตารางที่ 11 เมื่อศึกษาโดยใช้ sieve analysis พบว่าปริมาณของแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน ไมครอน มีความสอดคล้องกับผลการประเมินคุณสมบัติด้านขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ซึ่งได้อภิปรายผลไว้แล้วข้างต้น

อัตราการไหล (flow rate) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยการบันทึกเวลาที่แกรนูลปริมาณที่แน่นอนไหลผ่านช่องเปิดของเครื่องวัดอัตราการไหล ซึ่งได้แสดงอัตราการไหลในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่ออัตราการไหลของแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	อัตราการไหล (g/sec)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	No flow*	No flow	No flow
50	3.81 (± 0.22)	No flow*	No flow*
80	4.96 (± 0.12)	4.67 (± 0.19)	4.73 (± 0.06)

* สามารถวัดอัตราการไหลได้ 1 ครั้ง แต่อีก 2 ครั้ง ไม่สามารถวัดอัตราการไหลได้

จากตารางที่ 12 เมื่อใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวเท่ากัน พบว่าการเพิ่มปริมาณ tapioca paste ทำให้อัตราการไหลเพิ่มขึ้น และเมื่อใช้ tapioca paste ระดับมากที่สุดนั้น พบว่าการใช้ Tween 60 ในปริมาณที่แตกต่างกัน ทำให้อัตราการไหลมีค่าใกล้เคียงกัน โดยผลการประเมินคุณสมบัติด้านอัตราการไหลของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีความสอดคล้องกับคุณสมบัติด้านขนาดของแกรนูล ซึ่งขนาดของแกรนูลที่แตกต่างกัน ทำให้อัตราการไหลแตกต่างกัน ในกรณีที่ขนาดของแกรนูลเล็กมากทำให้แกรนูลเกิดการเกาะอยู่ภายในเครื่องวัดอัตราการไหล จึงไม่เกิดการไหลของแกรนูล สำหรับกรณีที่ขนาดของแกรนูลเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราการไหลเพิ่มขึ้น แต่กรณีที่ขนาดของแกรนูลใหญ่เกินไปมาก อาจทำให้อัตราการไหลลดลงได้ เพราะอาจ

เกิดการขัดขวางการเคลื่อนที่ของแกรนูลผ่านช่องเปิดของเครื่องวัดอัตราการไหล (Fonner DE, et.al., 1981) ดังนั้นอัตราการไหลของแกรนูลขึ้นอยู่กับขนาดของแกรนูล

ปริมาณความชื้น (moisture content) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ทำได้โดยการให้ความร้อนกับแกรนูลเพื่อให้เกิดการระเหยของสาร ด้วยเครื่องมือสำหรับหาปริมาณความชื้นซึ่งไม่มีการใช้อากาศ (ลม) ช่วยในการระเหยของสาร และคำนวณหาปริมาณสารระเหยได้จากน้ำหนักของแกรนูลที่หายไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักของแกรนูลเริ่มต้น โดยน้ำหนักของแกรนูลที่หายไปนั้น ประกอบด้วยน้ำหนักของน้ำภายในแกรนูลและน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ซึ่งได้แสดงปริมาณความชื้นไว้ในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณความชื้นของแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	ปริมาณความชื้น (%)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	9.83 (± 0.03)	10.54 (± 0.16)	10.71 (± 0.14)
50	10.35 (± 0.26)	11.02 (± 0.14)	9.71 (± 0.26)
80	12.01 (± 0.38)	10.88 (± 0.22)	11.71 (± 0.65)

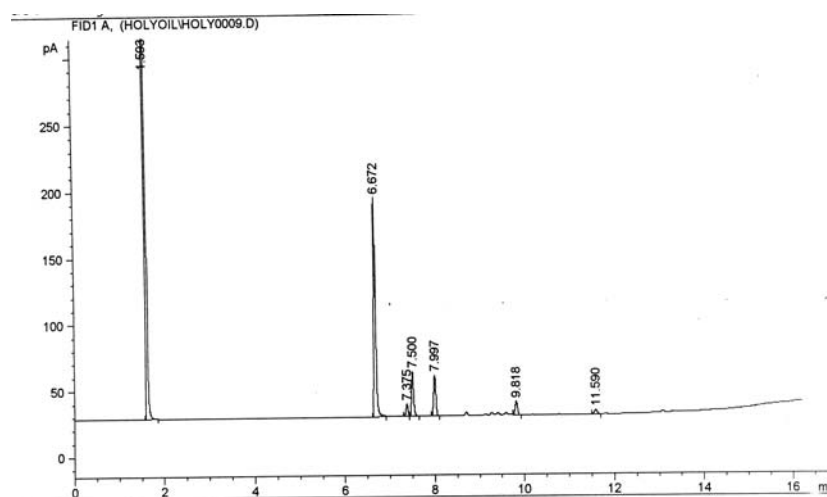
หมายเหตุ ปริมาณความชื้น หมายถึงปริมาณสารที่ระเหยได้ในแกรนูลได้แก่ น้ำและน้ำมันหอมระเหย

จากตารางที่ 13 พบว่าปริมาณสารยัดเกาะและปริมาณสารลดแรงตึงผิว ทำให้ปริมาณความชื้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กล่าวคือแกรนูลที่เตรียมโดยใช้สารยัดเกาะปริมาณน้อย (20 กรัม) พบว่าการใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณสารระเหยและความชื้นในแกรนูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากสารลดแรงตึงผิวที่เลือกใช้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นและเกิดอิมัลชันกับน้ำมันหอมระเหยได้ แต่แกรนูลที่เตรียมโดยใช้สารยัดเกาะปริมาณมาก (80 กรัม) นั้น พบว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิวทำให้ปริมาณความชื้นของแกรนูลแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับแกรนูลที่ใช้สารลดแรงตึงผิวปริมาณ 2 และ 4 กรัม พบว่าการใช้สารยัดเกาะปริมาณมาก (80 กรัม) ทำให้มีปริมาณความชื้นมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากสูตรตำรับดังกล่าวทำให้ได้แกรนูลที่มีขนาดใหญ่และมีความเหนียวมาก เมื่อนำมาสู่ขั้นตอนการอบแห้ง ทำให้ผิวของแกรนูลมีความแห้งเกิดขึ้น แต่อาจมีความชื้นเหลืออยู่ภายในแกรนูลได้ ดังนั้นปริมาณความชื้นของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราสูตรตำรับดังกล่าวจึงมีค่ามากกว่า (Zoglio, et.al., 1981)

องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและปริมาณน้ำมันกระเพรา (Holy Basil Oil content)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

การหาปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกระเพราโดยวิธีการ GCMS ได้ลักษณะของ peak ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะของ peak จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกระเพราด้วยวิธี gas chromatography

จากรูปที่ 2 พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีสารสำคัญ ได้แก่ eugenol 53.0 %, elemene 5.6 %, methylisoeugenol 9.8 %, trans-caryophyllene 22.4 % และสาร unknown 9.2 %

น้ำมันหอมระเหยที่มีในแกนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ทำได้โดยหาปริมาณน้ำมันด้วยวิธี gas chromatography ได้แสดงไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณน้ำมันกระเพราที่มีในแกนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า

Tapioca paste (กรัม)	ปริมาณน้ำมันกระเพรา (% label amount)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	58.91±1.21	70.61±0.93	74.23±1.43
50	60.94±1.18	68.76±1.27	74.07±2.12
80	58.37±1.56	61.91±0.91	71.33±1.47

จากตารางที่ 14 พบว่าการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิว ทำให้มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสามารถอธิบายได้คล้ายคลึงกับผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อขนาดแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) กล่าวคือในแต่ละสูตรตำรับของแกรนูลที่มีปริมาณน้ำมันกระเพราเท่ากัน แต่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน ซึ่งสารลดแรงตึงผิวสามารถหุ้มรอบหยดน้ำมันกระเพรา จึงช่วยทำให้น้ำมันกระเพราเข้ากันได้กับสารยึดเกาะ ถ้าสูตรตำรับที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นทำให้สารลดแรงตึงผิวสามารถหุ้มรอบน้ำมันกระเพราและทำให้เกิดเป็นหยดน้ำมันกระเพราที่มีขนาดเล็กลง จึงช่วยป้องกันการสูญเสีย (การระเหย) ของน้ำมันกระเพราได้มากขึ้น ดังนั้นจึงทำให้มีน้ำมันกระเพราถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูลมาก และค่า % label amount จึงมีค่ามาก แต่แกรนูลที่มีสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 2 และ 4 กรัม พบว่าการเพิ่มปริมาณสารยึดเกาะทำให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูลแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากผลของปริมาณสารยึดเกาะและสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา และความสะดวกในขั้นตอนการเตรียมแกรนูล จึงสรุปได้ว่าปริมาณสารยึดเกาะที่เหมาะสมคือ 50 กรัม

2. ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวและชนิดของสารดูดซับที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

สูตรตำรับของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหยกระเพรา 7 มิลลิลิตร สารดูดซับ (แป้งมัน 95 กรัม หรือแป้งข้าวเจ้า 95 กรัม) สารยึดเกาะ 50 กรัม และสารลดแรงตึงผิวที่มีปริมาณแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 2, 3, 4 กรัม

ในขั้นตอนการเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา พบว่าสารผสมที่เตรียมได้ในทุกสูตรตำรับ เป็นสารผสมที่ได้มีลักษณะเปียกชื้น (damp mass) ทำให้ไม่ต้องเติมน้ำและไม่ต้องผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้มีความสะดวกในการเตรียมแกรนูล และในขั้นตอนการร่อนแกรนูลแห้งทำได้ง่าย เนื่องจากสารยึดเกาะที่เลือกใช้มีปริมาณพอเหมาะ

ลักษณะภายนอก (morphology) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา พบว่าแกรนูลที่ใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับมีสีขาว แต่แกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับมีสีเหลือง แกรนูลที่ได้จากการใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับมีขนาดใหญ่กว่าและมีความเปราะน้อยกว่าแกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ เนื่องจากแป้งมันและแป้งข้าวเจ้ามีองค์ประกอบและคุณสมบัติที่ต่างกัน (Kadan RS, et.al., 1997) ดังนั้นเมื่อแป้งมันสัมผัสกับน้ำจะมีลักษณะเหนียวมากกว่าทำให้มีความสามารถในการยึดเกาะได้ดีกว่าแป้งข้าวเจ้า จึงทำให้ได้แกรนูลที่มีขนาดใหญ่กว่าและมีความเปราะน้อยกว่าแกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้า

ขนาด (size) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยใช้เครื่องวัดขนาดที่อาศัยเทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering technique) โดยขนาดของแกรนูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) ของแกรนูลที่ใช้สารยัดเกาะ 50 กรัม

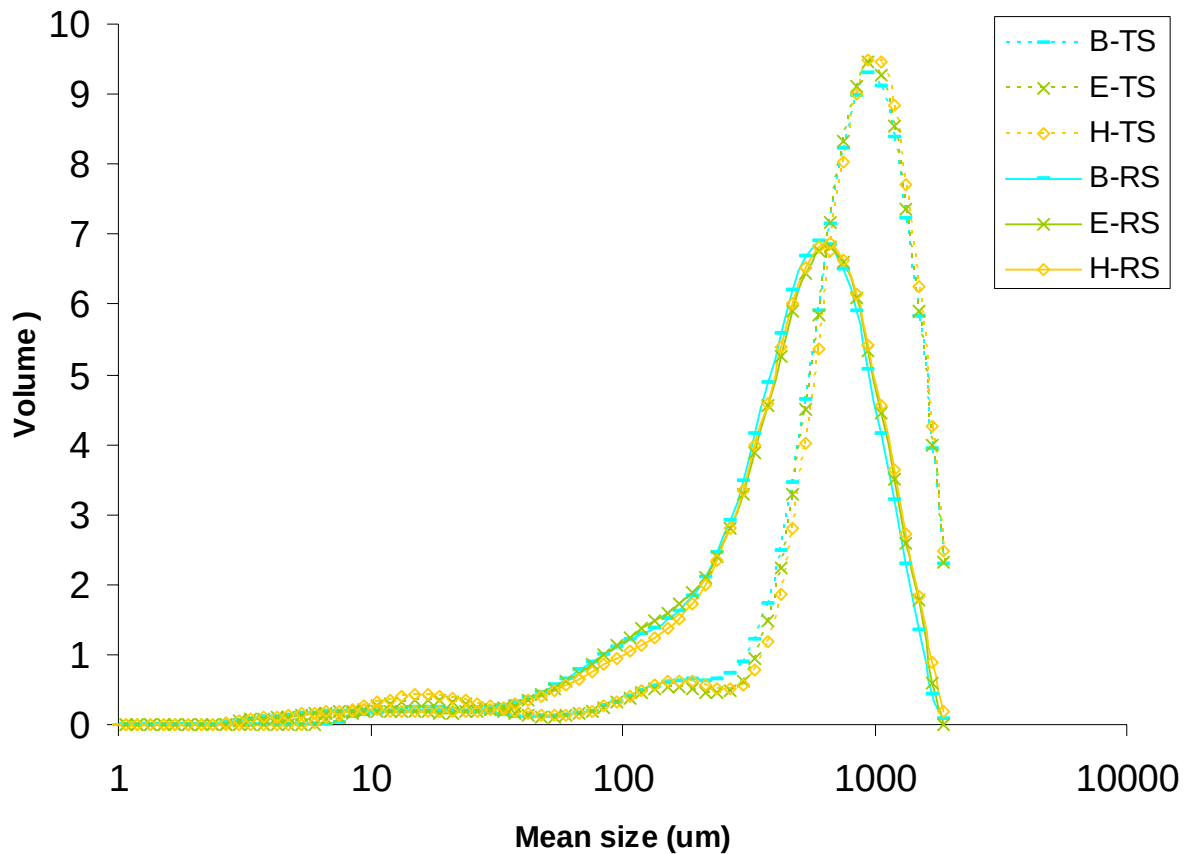
ชนิดของแป้ง	ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) (ไมครอน)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	850.059	858.937	876.968
แป้งข้าวเจ้า	497.587	511.668	523.369

จากตารางที่ 15 เมื่อใช้สารดูดซับชนิดเดียวกัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าการเพิ่มปริมาณ Tween 60 ทำให้ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยแบบ median ($d(0.5)$) มีค่ามากขึ้นเล็กน้อย สำหรับในกรณีที่ใช้ Tween 60 ปริมาณเท่ากัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าแกรนูลที่ใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับมีขนาดใหญ่กว่าแกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ ทั้งนี้เนื่องจากแป้งมันและแป้งข้าวเจ้ามีองค์ประกอบและคุณสมบัติที่แตกต่างกัน (Kadan RS, et.al., 1997) เมื่อแป้งมันสัมผัสกับน้ำจะมีลักษณะเหนียวมากกว่าทำให้มีความสามารถในการยัดเกาะได้ดีกว่าแป้งข้าวเจ้า เมื่อนำไปผ่านแรง จึงทำให้ได้แกรนูลที่มีขนาดใหญ่กว่า

การกระจายขนาด (size distribution) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยใช้เครื่องวัดขนาดที่อาศัยเทคนิคการกระเจิงของแสง (light scattering technique) ซึ่งลักษณะของการกระจายขนาดของแกรนูลได้แสดงไว้ในรูปที่ 4 สำหรับการกระจายขนาดของแกรนูลโดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ $d(0.1)$ ถึง $d(0.9)$ ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อการกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ $d(0.1)$ ถึง $d(0.9)$ ของแกรนูลที่ใช้สารยัดเกาะ 50 กรัม

ชนิดของแป้ง	ช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ $d(0.1)$ ถึง $d(0.9)$ (ไมครอน)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	310.782-1469.117	303.757-1473.295	218.870-1490.627
แป้งข้าวเจ้า	100.966-1043.567	105.265-1077.628	109.704-1103.330



รูปที่ 3 ลักษณะของการกระจายขนาดของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา และใช้ แป้งมันหรือแป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ

จากรูปที่ 3 พบว่าสูตรตำรับที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะการกระจายขนาดของแกรนูลแตกต่างกัน โดยการใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ ทำให้มีการกระจายขนาดที่กว้างกว่าการใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ

จากตารางที่ 16 เมื่อใช้สารดูดซับชนิดเดียวกัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าการเพิ่มปริมาณ Tween 60 ทำให้การกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ $d(0.1)$ ถึง $d(0.9)$ มีความกว้างขึ้นเล็กน้อย สำหรับในกรณีที่ใช้ Tween 60 ปริมาณเท่ากัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าแกรนูลที่ใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ มีการกระจายขนาดของแกรนูล โดยแสดงเป็นช่วงของขนาดแกรนูลตั้งแต่ $d(0.1)$ ถึง $d(0.9)$ มีความกว้างกว่าแกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับเล็กน้อย เนื่องจากแป้งมันสัมผัสกับน้ำจะมีลักษณะเหนียว เมื่อนำไปผ่านแรงทำให้แกรนูลเปื่อยกก็ได้มีขนาดยาวมากขึ้น ภายหลังการอบแห้งได้นำแกรนูลมาแรงแห้ง (โดยใช้แรงที่มีรูเปิดเท่ากับการแรงแกรนูลเปื่อยก) จึงทำให้แกรนูลมีการแตกหักเกิดเป็นอนุภาคใหญ่และเล็กผสมกัน จึงทำให้เกิดการกระจายขนาดกว้างกว่า

ปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ (yield) เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบเพื่อนำไปผสมกับอาหารหมูต่อไป ทำให้ขนาดของแกรนูลต้องมีขนาดค่อนข้างเล็กเพื่อให้สามารถนำไปผสมให้เข้ากันได้กับอาหารหมู ดังนั้นแกรนูลที่ต้องการควรมีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน ตารางที่ 17 ได้แสดงปริมาณแกรนูลที่มีขนาดตามต้องการ

ตารางที่ 17 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณของแกรนูลที่มีขนาดอนุภาค 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน ของแกรนูลที่ใช้สารยึดเกาะ 50 กรัม

ชนิดของแป้ง	ปริมาณของแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน (%)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	40.83	40.51	37.85
แป้งข้าวเจ้า	44.63	43.90	44.42

จากตารางที่ 17 พบว่าปริมาณของแกรนูลที่มีขนาด 399.052 ถึง 893.367 ไมครอน มีความสอดคล้องกับผลการประเมินคุณสมบัติด้านขนาดและการกระจายขนาดของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ซึ่งได้อภิปรายผลไว้แล้ว

อัตราการไหล (flow rate) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา หาได้โดยการบันทึกเวลาที่แกรนูลปริมาณที่แน่นอนไหลผ่านช่องเปิดของเครื่องวัดอัตราการไหล ซึ่งแสดงอัตราการไหลในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่ออัตราการไหลของแกรนูลที่ใช้สารยึดเกาะ 50 กรัม

ชนิดของแป้ง	อัตราการไหล (g/sec)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	3.83 (± 0.13)	3.93 (± 0.12)	4.12 (± 0.06)
แป้งข้าวเจ้า	3.47 (± 0.02)	3.51 (± 0.05)	3.90 (± 0.07)

จากตารางที่ 18 เมื่อใช้สารดูดซับชนิดเดียวกัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าการเพิ่มปริมาณ Tween 60 ทำให้อัตราการไหลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับในกรณีที่ใช้ Tween 60 ปริมาณเท่ากัน และใช้ tapioca paste ปริมาณ 50 กรัม พบว่าแกรนูลที่ใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับมีอัตราการไหลมากกว่าแกรนูลที่ใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ โดยผลการประเมินคุณสมบัติด้านอัตราการไหลของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีความสอดคล้อง

กับคุณสมบัติด้านขนาดของแกรนูล โดยขนาดของแกรนูลที่แตกต่างกัน ทำให้อัตราการไหลแตกต่างกัน ซึ่งได้อภิปรายผลไว้แล้ว

ปริมาณความชื้น (moisture content) ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ทำได้โดยการให้ความร้อนกับแกรนูลเพื่อให้เกิดการระเหยของสาร ซึ่งได้แสดงปริมาณความชื้นไว้ในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween60) ที่มีต่อปริมาณความชื้นของแกรนูลที่ใช้สารยี้ดเกาะ 50 กรัม

ชนิดของแป้ง	ปริมาณความชื้น (%)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	8.23 (± 0.43)	8.90 (± 0.39)	8.36 (± 1.02)
แป้งข้าวเจ้า	8.63 (± 0.42)	8.87 (± 0.32)	9.29 (± 0.08)

จากตารางที่ 19 พบว่าชนิดของสารดูดซับและปริมาณสารลดแรงตึงผิว ทำให้ปริมาณความชื้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากความชื้นภายในแกรนูลส่วนใหญ่เกิดจากสารยี้ดเกาะที่ใช้ ซึ่งแกรนูลเหล่านี้มีปริมาณสารยี้ดเกาะเท่ากัน คือ 50 กรัม นอกจากนี้ในการเตรียมแกรนูลมีขั้นตอนการอบแห้ง ดังนั้นปริมาณความชื้นของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราจึงมีค่าใกล้เคียงกัน

ปริมาณน้ำมันกระเพรา (Holy Basil Oil content) ที่มีในแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ทำได้โดยหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี gas chromatography ได้แสดงไว้ในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณ น้ำมันกระเพราที่มีในแกรนูลที่ใช้สารยี้ดเกาะ 50 กรัม

ชนิดของแป้ง	ปริมาณน้ำมันกระเพรา (% label amount)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	65.75 $\pm$ 0.54	71.30 $\pm$ 0.70	72.02 $\pm$ 1.35
แป้งข้าวเจ้า	69.07 $\pm$ 1.22	76.61 $\pm$ 1.18	79.51 $\pm$ 0.55

จากตารางที่ 20 พบว่าการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวทำให้มีน้ำมันกระเพราถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งได้อภิปรายไว้แล้ว แต่การใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับทำให้น้ำมันกระเพราถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูลมากกว่าการใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ เนื่องจากแป้งข้าวเจ้ามีลักษณะหยาบกว่าแป้งมันทำให้กักเก็บหยดน้ำมันกระเพราที่

ถูกหุ้มรอบด้วยสารลดแรงตึงผิวได้มากกว่า ทำให้แกรนูลที่เตรียมได้มีน้ำมันกระเพาะถูกกักเก็บไว้ได้มากกว่า

3. ผลของความคงตัวของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

เมื่อทดสอบความคงตัวของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา โดยการอบแกรนูลที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที โดยใช้ตู้อบแห้ง (hot air oven) ซึ่งตู้อบแห้งมีการให้ความร้อน และมีอากาศ (ลม) เข้าสู่ตู้อบแห้งได้ แล้ววิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันกระเพราด้วยวิธี gas chromatography จากนั้นนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหยกระเพราที่มีอยู่เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (เริ่มต้น) ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 21 และ 22 พบว่ามีปริมาณน้ำมันกระเพราภายในแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราหลังการทดสอบความคงตัวมีค่าน้อยกว่าก่อนการทดสอบความคงตัว (ตารางที่ 14 และ 20 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราในตารางที่ 14 และ 21 ซึ่งเป็นปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราภายในแกรนูลก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว พบว่าแกรนูลก่อนการทดสอบความคงตัวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราอยู่ในช่วง 58.37-74.23% (เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (เริ่มต้น)) และแกรนูลหลังการทดสอบความคงตัวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราอยู่ในช่วง 33.78-58.58% (เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (เริ่มต้น)) แสดงว่าแกรนูลมีการสูญเสียน้ำมันหอมระเหยกระเพราภายหลังการทดสอบความคงตัว โดยสูตรที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวมีความแตกต่างกันน้อยถือว่ามีปริมาณคงตัวมาก ได้แก่ สูตรที่ใช้ Tween 60 จำนวน 4 กรัม และใช้สารยึดเกาะ 20 กรัม

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราในตารางที่ 20 และ 22 ซึ่งเป็นปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราภายในแกรนูลก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว พบว่าแกรนูลก่อนการทดสอบความคงตัวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราอยู่ในช่วง 65.70-79.51% (เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (เริ่มต้น)) และแกรนูลหลังการทดสอบความคงตัวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราอยู่ในช่วง 40.84-65.47% (เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (เริ่มต้น)) แสดงว่าแกรนูลมีการสูญเสียน้ำมันหอมระเหยกระเพราภายหลังการทดสอบความคงตัว โดยสูตรที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวมีความแตกต่างกันน้อยถือว่ามีปริมาณคงตัวมาก ได้แก่ สูตรที่ใช้ Tween 60 จำนวน 4 กรัม และใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ ถึงแม้ว่าหลังการทดสอบความคงตัวของแกรนูลสูตรดังกล่าวมีน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลืออยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าสูตรที่ใช้ Tween 60 จำนวน 4 กรัม และใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับ แต่มีความน่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาต่อไป

ผลการทดลองในตารางที่ 21 และ 22 แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวทำให้มีน้ำมันกระเพราเหลืออยู่ภายในแกรนูลมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงมีความคงตัว

ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยมากกว่า ซึ่งสามารถอธิบายได้คล้ายคลึงกับผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อปริมาณน้ำมันกระเพราที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในแกรนูล

ตารางที่ 21 ผลของปริมาณสารยัดเกาะ (tapioca paste) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณน้ำมันกระเพราที่มีในแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า (หลังการทดสอบความคงตัว)

Tapioca paste (กรัม)	ปริมาณน้ำมันกระเพรา (% label amount)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
20	37.18 $\pm$ 2.06	53.16 $\pm$ 2.29	58.22 $\pm$ 1.48
50	39.25 $\pm$ 2.41	46.58 $\pm$ 0.50	54.98 $\pm$ 1.00
80	33.78 $\pm$ 0.11	39.24 $\pm$ 0.59	58.58 $\pm$ 1.29

ตารางที่ 22 ผลของชนิดของสารดูดซับ (แป้ง) และสารลดแรงตึงผิว (Tween 60) ที่มีต่อปริมาณน้ำมันกระเพราที่มีในแกรนูลที่ใช้สารยัดเกาะ 50 กรัม (หลังการทดสอบความคงตัว)

ชนิดของแป้ง	ปริมาณน้ำมันกระเพรา (% label amount)		
	Tween 60 2 กรัม	Tween 60 3 กรัม	Tween 60 4 กรัม
แป้งมัน	40.84 $\pm$ 0.23	58.01 $\pm$ 0.62	64.53 $\pm$ 1.82
แป้งข้าวเจ้า	52.48 $\pm$ 4.00	62.75 $\pm$ 1.21	65.47 $\pm$ 1.74

สำหรับตารางที่ 21 แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราซึ่งเตรียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณน้อยและปานกลางนั้น พบว่าการเพิ่มปริมาณสารยัดเกาะมีแนวโน้มทำให้น้ำมันกระเพราเหลืออยู่ภายในแกรนูลน้อยกว่า อาจเกิดเนื่องจากหยดน้ำมันกระเพราที่ถูกหุ้มรอบด้วยสารลดแรงตึงผิวและกระจายอยู่ในสารยัดเกาะ แต่สูตรตำรับที่มีสารยัดเกาะปริมาณมากนั้น ของผสม (น้ำมันกระเพรา สารลดแรงตึงผิว และสารยัดเกาะ) ดังกล่าว ไม่สามารถดูดซับบนสารดูดซับได้ทั้งหมด จึงมีบางส่วนอยู่ที่ผิวของสารดูดซับ เกิดเป็นสารที่มีลักษณะเปียกมาก (และ) (Summers MP, 1990) เมื่อนำไปทดสอบความคงตัวของแกรนูล ทำให้เกิดการสูญเสีย (การระเหย) ของน้ำมันหอมระเหย ดังนั้นจึงมีน้ำมันกระเพราเหลืออยู่ภายในแกรนูลน้อย

สำหรับตารางที่ 22 แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราซึ่งเตรียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณน้อยและปานกลางนั้น พบว่าการใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารดูดซับทำให้น้ำมันกระเพราถูกกักเก็บอยู่มีแกรนูลมากกว่าการใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ เนื่องจากแป้งข้าวเจ้ามีลักษณะหยาบกว่าแป้งมัน ดังได้อภิปรายผลไว้แล้ว

จากผลการทดลองเกี่ยวกับผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิว ปริมาณสารยัดเกาะ และชนิดของสารดูดซับที่มีต่อปริมาณน้ำมันกระเพราที่ถูกกักเก็บในแกรนูล รวมทั้งการทดสอบ

ความคงตัวของแกรนูล พบว่าการใช้สารยึดเกาะในปริมาณปานกลาง ทำให้มีความสะดวกในการเตรียมแกรนูลและในขั้นตอนการแรงแกรนูลแห้งทำได้ง่าย นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณมากที่สุด ทำให้ปริมาณน้ำมันกระเพราที่ถูกกักเก็บมีปริมาณมากที่สุด เมื่อพิจารณาถึงชนิดของสารดูดซับพบว่าแกรนูลที่ใช้แป้งมันหรือแป้งข้าวเจ้าเพียงอย่างเดียว นั้น มีปริมาณน้ำมันกระเพราที่ถูกกักเก็บในแกรนูลมากกว่าแกรนูลที่ใช้ส่วนผสมของแป้งมันและแป้งข้าวเจ้า แต่แกรนูลที่ใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับเพียงอย่างเดียวมีลักษณะภายนอกดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันกระเพราก่อนอบที่ 80 °C นาน 3 นาที (ตารางที่ 20) และหลังอบที่ 80 °C นาน 3 นาที (ตารางที่ 22) พบว่าปริมาณน้ำมันกระเพราที่ดูดซับบนแป้งมันที่มี Tween 60 ปริมาณ 2, 3, และ 4 กรัมในตำรับ หายไป 24.91, 13.29 และ 7.49 % ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณน้ำมันกระเพราที่ดูดซับบนแป้งข้าวเจ้าที่มี Tween 60 ปริมาณ 2, 3, และ 4 กรัมในตำรับ หายไป 16.59, 13.86 และ 14.04 % ตามลำดับ นอกจากนี้แป้งมันมีราคาต่ำกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณมาก สารยึดเกาะในปริมาณปานกลาง และใช้แป้งมันเป็นสารดูดซับ สำหรับใช้เตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา เพื่อนำไปเคลือบด้วยพอลิเมอร์ต่อไป

4. ผลของชนิดของสารเคลือบที่มีต่อคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ

การศึกษาผลของชนิดของสารเคลือบที่มีคุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยชนิดเคลือบนั้น ได้ทำการเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราปริมาณมาก คือ เตรียมจำนวน 4 batch โดย batch ละ 6 กิโลกรัม จากนั้นนำมาผสมรวมกันและวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยก่อนการเคลือบ แล้วแบ่งแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยออกเป็น 2 ส่วน เพื่อนำไปเคลือบด้วยสารเคลือบ 2 ชนิด ต่อไป

แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมได้มีคุณสมบัติดังแสดงไว้ในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 คุณสมบัติของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา และแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์

คุณสมบัติของแกรนูล	แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา		
	ชนิดไม่เคลือบ	เคลือบด้วย HPMC	เคลือบด้วย PA
ขนาดแกรนูล 420-840 μm (%)*	19.70	13.72	21.42
ขนาดแกรนูลใหญ่กว่า 840 μm * (%)	77.88	86.12	76.75
อัตราการไหล (กรัมต่อวินาที)	4.428 $\pm$ 0.011	3.712 $\pm$ 0.007	4.635 $\pm$ 0.048
Bulk density (กรัมต่อมิลลิลิตร)	0.503 $\pm$ 0.003	0.489 $\pm$ 0.003	0.517 $\pm$ 0.008
Tapped density (กรัมต่อมิลลิลิตร)	0.564 $\pm$ 0.004	0.556 $\pm$ 0.000	0.570 $\pm$ 0.004
ปริมาณความชื้น (%)	12.52 $\pm$ 0.16	8.30 $\pm$ 0.05	13.61 $\pm$ 0.80
Holy Basil Oil Content (%LA)	74.47 $\pm$ 0.63	57.93 $\pm$ 0.63	65.57 $\pm$ 0.45

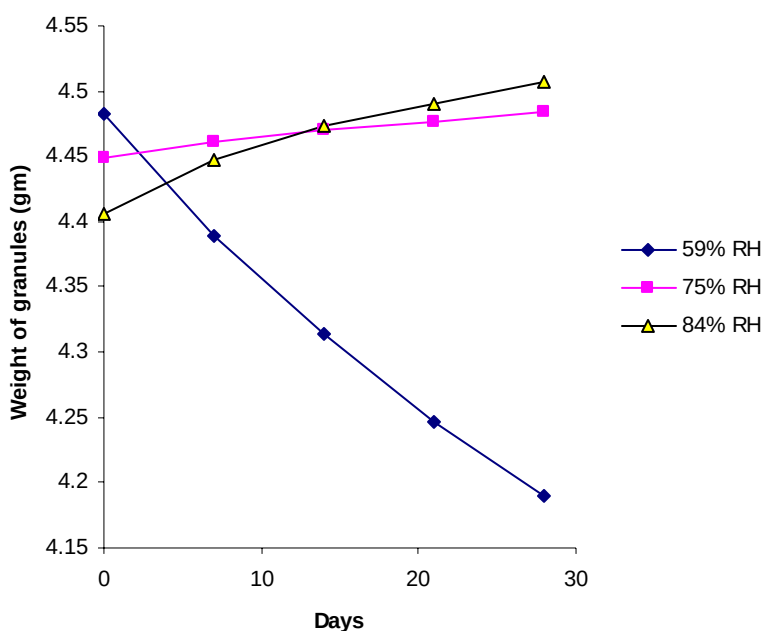
* % แกรนูลในแต่ละช่วงหาโดยวิธี sieve analysis

จากตารางที่ 23 พบว่าแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราทั้งชนิดเคลือบและไม่เคลือบมีค่า tapped density ใกล้เคียงกัน สำหรับแกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC นั้นมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA และแกรนูลชนิดไม่เคลือบ อาจเนื่องมาจาก HPMC ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนืดมากกว่า PA เมื่อนำมาเคลือบบนแกรนูลทำให้แห้งยากกว่า จึงเกิดความเหนียวมากกว่าและอาจทำให้แกรนูลเล็กลง มาเกาะรวมกันเป็นแกรนูลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้ แต่แกรนูลมีรูปร่างไม่แน่นอน (irregular shape) ซึ่งอาจส่งผลให้อัตราการไหลน้อยกว่าและมีค่า bulk density น้อยกว่าแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA และแกรนูลชนิดไม่เคลือบ จากคุณสมบัติของ HPMC ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนืด เมื่อนำมาเคลือบแกรนูลจึงจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิในการทำให้แกรนูลแห้ง จึงส่งผลทำให้แกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC มีปริมาณความชื้นน้อยกว่า แกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA และแกรนูลชนิดไม่เคลือบ

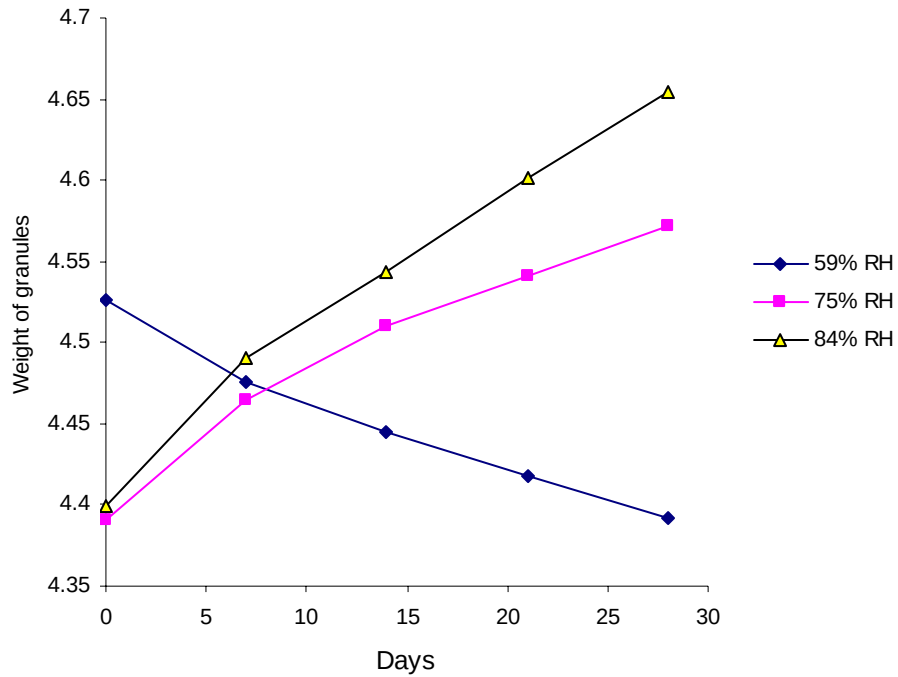
การเตรียมแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ โดยใช้สารเคลือบ 2 ชนิด คือ hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชนิดละลายน้ำ และ polymethacrylate (PA) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชนิดไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในสภาวะที่มี pH มากกว่า 6 แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ผลการทดลองพบว่าแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย PA มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรา มากกว่าแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย HPMC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากสารเคลือบชนิด PA มีความหนืดน้อยกว่าสารเคลือบชนิด HPMC เมื่อสารเคลือบถูกพ่น (spray) ออกมาจากหัวสเปรย์พร้อมกับมีความดันที่ใช้ในการพ่น (atomization pressure) ทำให้สารเคลือบชนิด PA เกิดเป็นละอองฝอยที่มีขนาดเล็กกว่าสารเคลือบชนิด HPMC เมื่อละอองฝอยไปสัมผัสกับผิวของแกรนูลและมีอากาศร้อน (อุณหภูมิประมาณ 40 องศา

เซลเซียส) ผ่านไปที่ผิวของแกรนูล จึงทำให้สารเคลือบชนิด PA เกิดการระเหยได้เร็วกว่าสารเคลือบชนิด HPMC ดังนั้นแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วยสารเคลือบชนิด PA จึงสัมผัสกับอากาศร้อน (อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลาสั้นกว่าแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วยสารเคลือบชนิด HPMC จึงทำให้มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่า

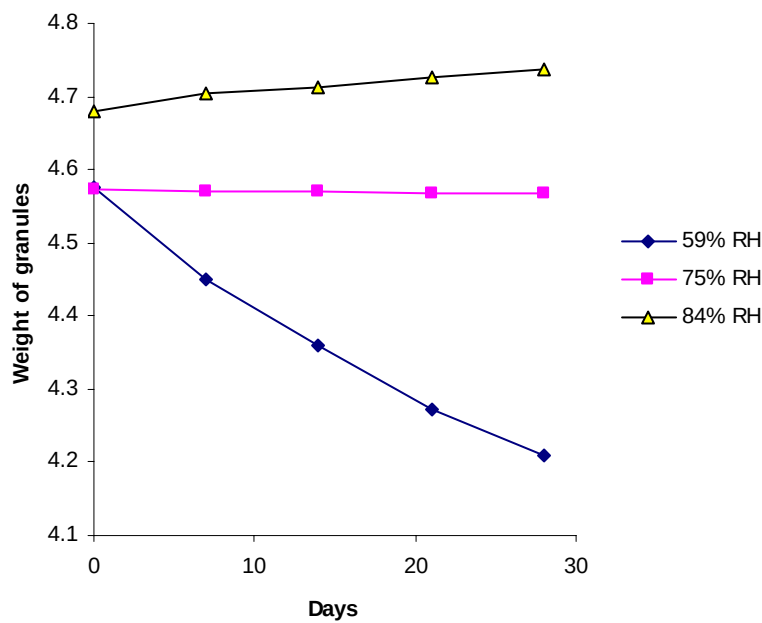
ความชื้นสัมพัทธ์และจุดความชื้นวิกฤต ของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดไม่เคลือบ ชนิดเคลือบด้วย HPMC และชนิดเคลือบด้วย PA ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4-6 ตามลำดับ



รูปที่ 4 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อน้ำหนักแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดไม่เคลือบที่เวลาต่างๆ



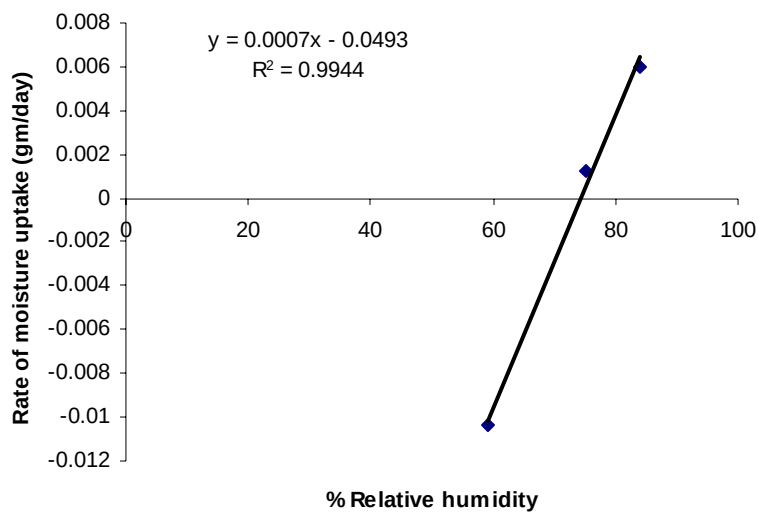
รูปที่ 5 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อน้ำหนักแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยชนิดเคลือบด้วย HPMC ที่เวลาต่างๆ



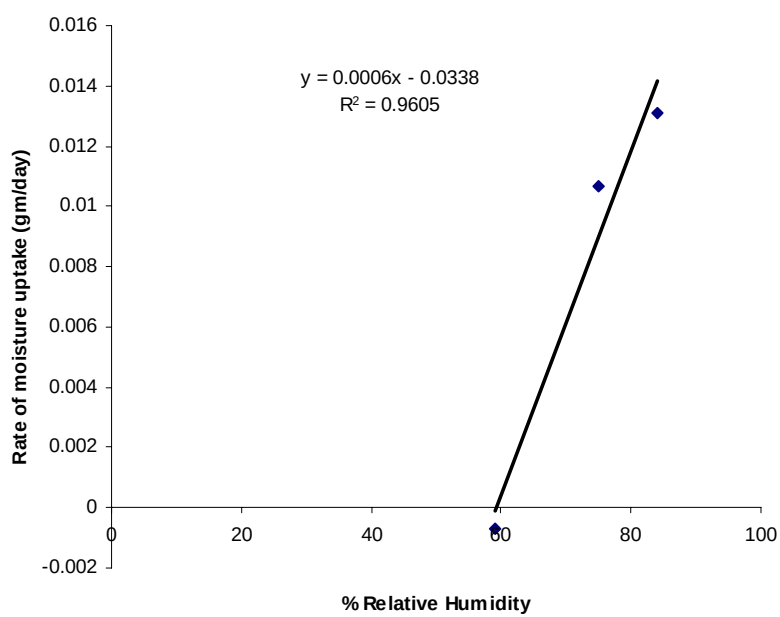
รูปที่ 6 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อน้ำหนักแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเปาะชนิดเคลือบด้วย PA ที่เวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4-6 พบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 59 % น้ำหนักแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราทั้ง 3 ชนิดลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากที่ความชื้นสัมพัทธ์ 59 % เป็นความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศทำให้ความชื้นในแกรนูลลดลง ส่วนที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % พบว่าอัตราเร็วในการดูดซับความชื้นของแกรนูลชนิดไม่เคลือบ แกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC และแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA มีค่าเท่ากับ 1.2, 10.7 และ 0 มิลลิกรัมต่อวันตามลำดับ ส่วนที่ความชื้นสัมพัทธ์ 84 % พบว่าอัตราเร็วในการดูดซับความชื้นของแกรนูลชนิดไม่เคลือบ แกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC และแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA มีค่าเท่ากับ 6, 13.1 และ 1.9 มิลลิกรัมต่อวันตามลำดับ หรืออาจกล่าวได้ว่าเมื่อความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นแกรนูลจะดูดซับความชื้นได้เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณความชื้นที่ดูดซับในแกรนูลจะมากหรือน้อยต่างกัน ขึ้นกับวัสดุที่ใช้ในการเคลือบ โดยพบว่าแกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC จะดูดซับความชื้นได้มากกว่าแกรนูลชนิดไม่เคลือบและแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA จะดูดซับความชื้นได้น้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก HPMC เป็นพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ ดังนั้นในสภาวะที่มีความชื้นสูง HPMC จะดูดซับน้ำไว้บนสายพอลิเมอร์ได้ดีประกอบกับแป้งมันก็สามารถดูดซับความชื้นไว้ได้บางส่วนทำให้ปริมาณความชื้นที่ถูกดูดซับโดยแกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC จึงสูงกว่าแกรนูลชนิดไม่เคลือบ (Rowe et al, 2005) ส่วนการดูดซับความชื้นของแกรนูลชนิดไม่เคลือบเกิดจากแป้งที่ใช้เป็นสารเจือจางเท่านั้น และการที่แกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA ดูดซับความชื้นได้น้อยที่สุด อาจเนื่องมาจาก PA เป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำเมื่อเคลือบลงบนแกรนูลทำให้สามารถสร้างฟิล์มที่ทำให้ความชื้นซึมผ่านได้น้อย (Rowe et al, 2005)

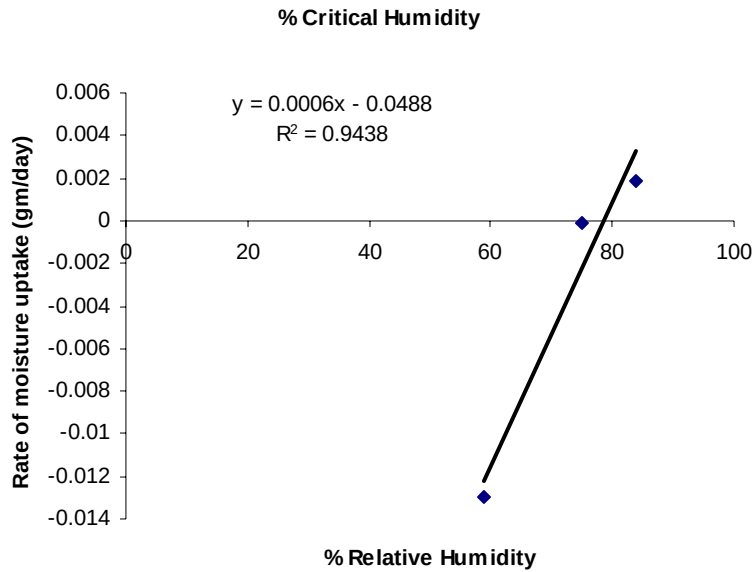
เมื่อนำกระเพราแกรนูลทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ แกรนูลชนิดไม่เคลือบ แกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC และแกรนูลชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่ทนกรดหรือ PA หาความสามารถของตัวอย่างเพื่อหาจุดความชื้นวิกฤต (critical relative humidity) หรือความชื้นสัมพัทธ์ที่ทำให้ตัวอย่างมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Kuu et al., 1998) โดยนำความชื้นสัมพัทธ์ มาหาความสัมพันธ์กับอัตราเร็วในการดูดซับความชื้นได้ผลดังแสดงในรูปที่ 7-9 เมื่อทำการเปรียบเทียบจุดความชื้นวิกฤตของแกรนูลทั้ง 3 ชนิด พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ทำให้ตัวอย่างมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 70.4, 56.3 81.3 ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นว่าแกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC มีจุดความชื้นวิกฤตที่ต่ำที่สุด ส่วนแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA มีจุดความชื้นวิกฤตที่สูงที่สุด ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นควรออกแบบภาชนะบรรจุให้มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่าจุดความชื้นวิกฤตของแกรนูลแต่ละชนิด



รูปที่ 7 จุดความชื้นวิกฤตของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดไม่เคลือบ

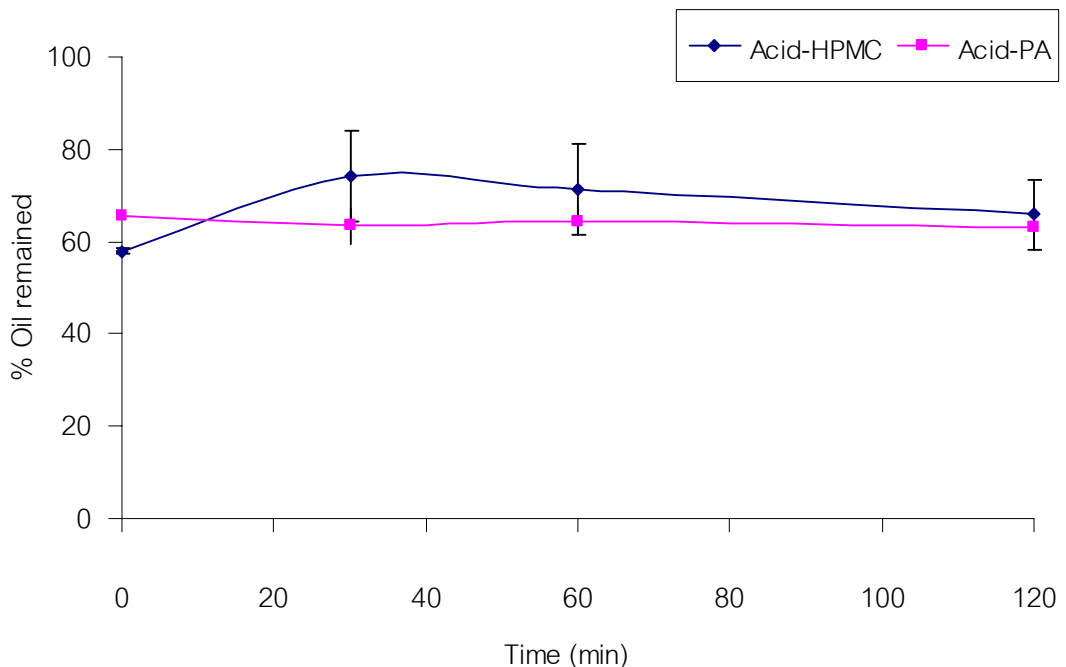


รูปที่ 8 จุดความชื้นวิกฤตของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย HPMC

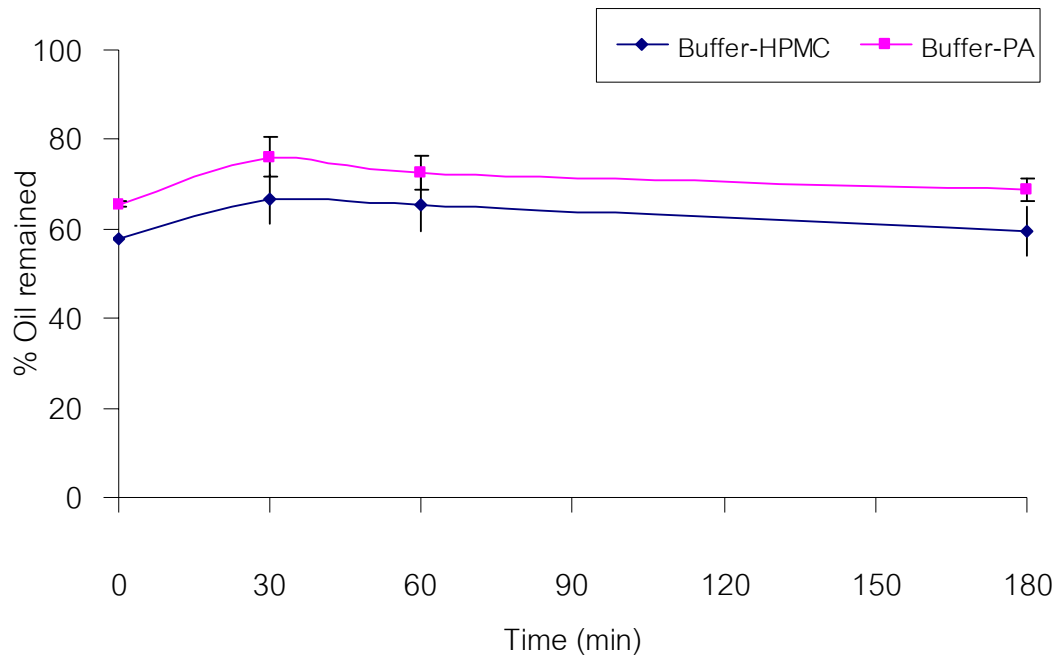


รูปที่ 9 จุดความชื้นวิกฤตของแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย PA

สำหรับคุณสมบัติในการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราจากแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ ในสารละลายตัวกลาง 2 ชนิด คือ 0.1 N hydrochloric acid และ phosphate buffer pH 7.4 ได้แสดงผลในรูปที่ 10 และ 11 ตามลำดับ



รูปที่ 10 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลืออยู่ในแกรนูลชนิดเคลือบหลังจากการทดสอบการปลดปล่อยในสารละลายตัวกลางชนิดกรด pH=2.6



รูปที่ 11 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลืออยู่ในแกรนูลชนิดเคลือบหลังจากการทดสอบการปลดปล่อยในสารละลายตัวกลางชนิดฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8

จากรูปที่ 10 และ 11 แสดงการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราจากแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ โดยบันทึกผลเป็นปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ แต่จากกราฟมีข้อสังเกตคือ ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลืออยู่ในแกรนูลที่เวลาต่างๆ มีค่ามากกว่าปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราเริ่มต้น ถึงแม้ว่าการหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธี Gas Chromatography แต่เนื่องจากสภาวะที่ใช้หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีความแตกต่างกัน กล่าวคือแกรนูลชนิดเคลือบที่เตรียมขึ้น (เริ่มต้น) ไม่มีอิทธิพลของตัวกลางที่ใช้ในการทดสอบการละลาย และแกรนูลที่ทดสอบการปลดปล่อยมีอิทธิพลของตัวกลางที่ใช้ในการทดสอบการละลาย จึงไม่สามารถนำข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราในแต่ละตัวกลางมาเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำมันหอมระเหยเริ่มต้นได้ ดังนั้นการอภิปรายผลในครั้งนี้จึงเป็นการเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่เหลืออยู่ในแกรนูลที่เวลาต่างๆ ในแต่ละตัวกลางที่ใช้ทดสอบเท่านั้น

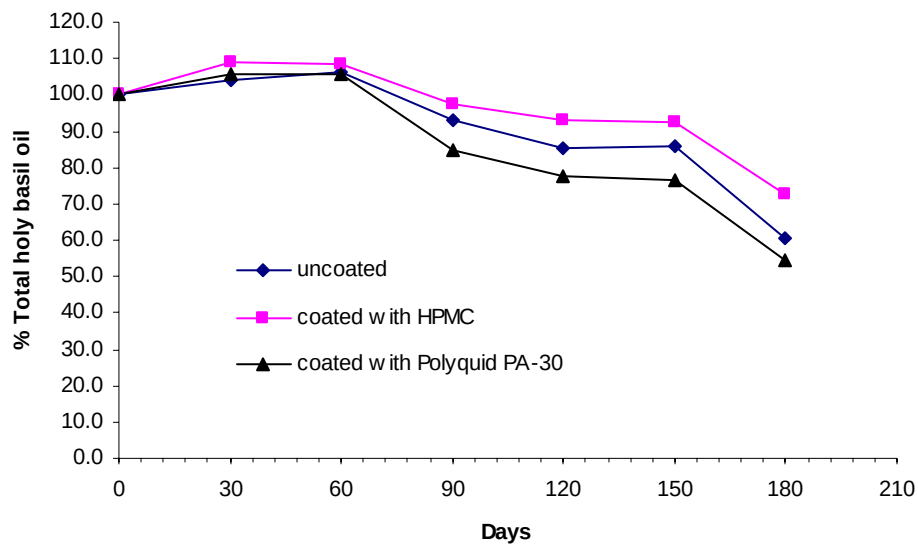
การปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราจากแกรนูลชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ PA และ HPMC โดยการใช้ 0.1 N hydrochloric acid เป็นสารละลายตัวกลาง เป็นการทดสอบการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยในสภาวะของกระเพาะอาหาร โดยวิเคราะห์เป็นปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่ภายในแกรนูลชนิดเคลือบ ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาที พบว่า การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทดสอบการปลดปล่อยจากแกรนูลชนิดเคลือบด้วย PA ทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่มีปริมาณแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก PA เป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติไม่ละลายในกรด เมื่อนำมาเคลือบบนแกรนูลที่มีน้ำมัน

หอมระเหยกระเพรา แล้วนำไปทดสอบการปลดปล่อยในสารละลายกรด จึงช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพรา แต่การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทดสอบการปลดปล่อยจากแกรนูลชนิดเคลือบด้วย HPMC ทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่มีปริมาณลดลง เพราะ HPMC เป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำและกรด เมื่อนำมาเคลือบบนแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา แล้วนำไปทดสอบการปลดปล่อยในสารละลายกรด จึงไม่สามารถช่วยป้องกันการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราได้ (Rowe et al, 2005) จากผลการทดลองข้างต้น สรุปได้ว่าการใช้แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย PA ไม่ทำให้มีการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราในสภาวะของกระเพาะอาหาร จึงช่วยป้องกันมิให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราถูกทำลายโดยกรดจากกระเพาะอาหาร

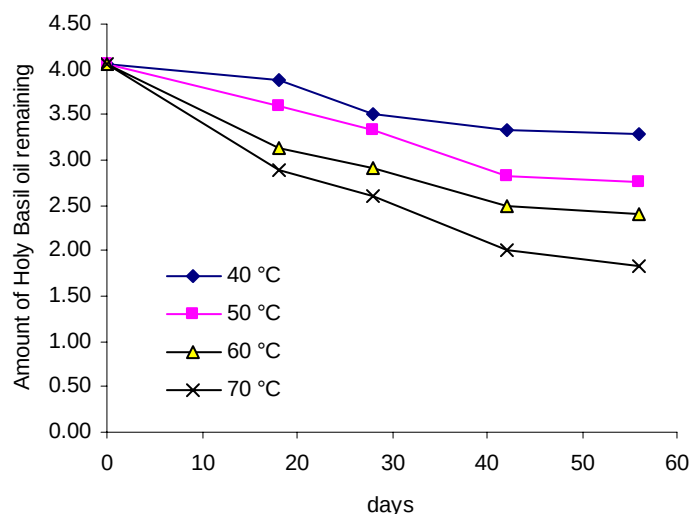
การปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราจากแกรนูลชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ PA และ HPMC โดยการใช้ phosphate buffer pH 6.8 เป็นสารละลายตัวกลาง เป็นการทดสอบการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยในสภาวะของลำไส้เล็ก โดยวิเคราะห์เป็นปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่ภายในแกรนูลชนิดเคลือบ ที่เวลา 30, 60 และ 180 นาที พบว่า การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทดสอบการปลดปล่อยจากแกรนูลชนิดเคลือบด้วยพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด ทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราส่วนที่เหลืออยู่มีปริมาณลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติในการละลายได้ที่ pH 6.8 เมื่อนำมาเคลือบบนแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพรา แล้วนำไปทดสอบการปลดปล่อยในสารละลาย phosphate buffer pH 6.8 จึงไม่สามารถช่วยป้องกันการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราได้ (Rowe et al, 2005) จากผลการทดลองข้างต้น สรุปได้ว่าการใช้แกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบด้วย PA และ HPMC ทำให้มีการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราในสภาวะของลำไส้เล็กได้ จึงทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถออกฤทธิ์ต่อไปได้

จากการศึกษาการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยกระเพราจากแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ ในสารละลายตัวกลางของสภาวะกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก เป็นผลมาจากชนิดของพอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบ แต่พอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิดนี้ สามารถทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยในลำไส้เล็กได้ จึงคาดว่าสามารถนำมาผสมกับอาหารหมู เมื่อหมูกินเข้าไปทำให้เกิดการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อไป แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนาแกรนูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระเพราชนิดเคลือบ สำหรับนำไปผสมกับอาหารหมู ยังต้องมีการทดสอบความคงตัวของแกรนูลดังกล่าวต่อไป

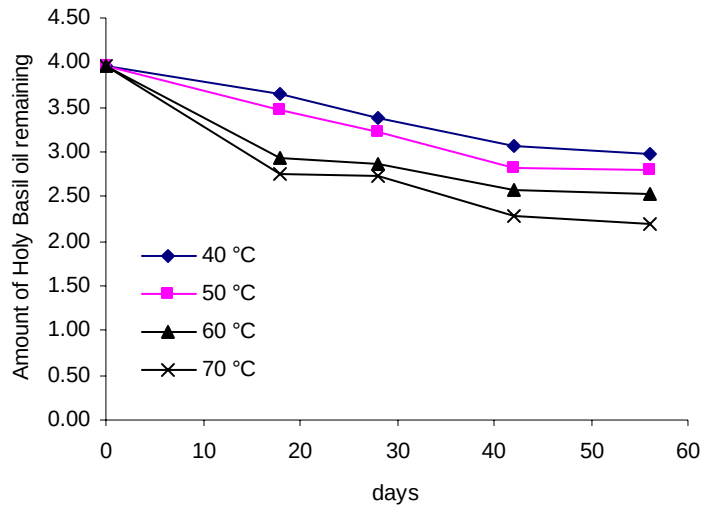
5. การทำนายความคงตัวของกระเปาะแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบชนิดต่าง ๆ



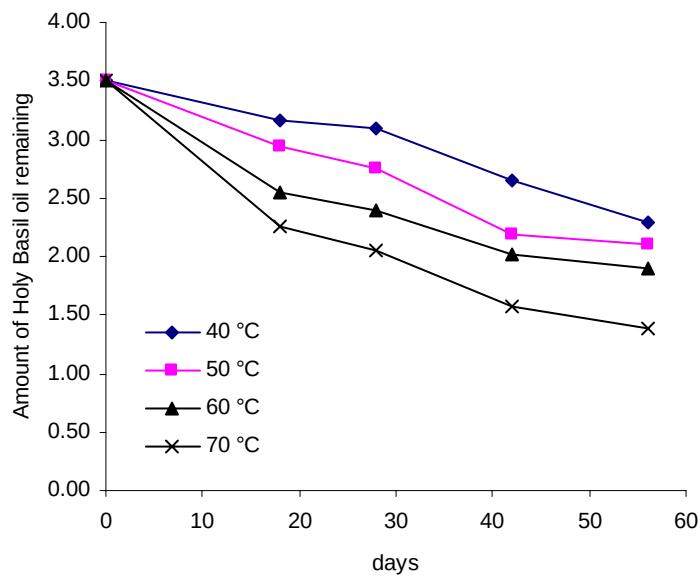
รูปที่ 12 การทดสอบความคงตัวของกระเปาะแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบ HPMC และ Polyquid PA-30 เปรียบเทียบกับแกรนูลกระเปาะที่ไม่ได้เคลือบ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 °C และ 75% RH



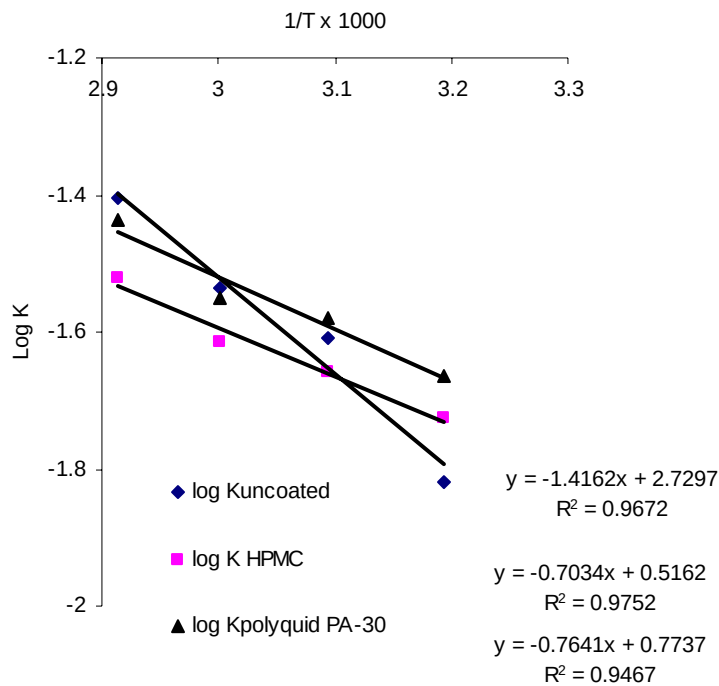
รูปที่ 13 การทดสอบความคงตัวของกระเปาะแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ



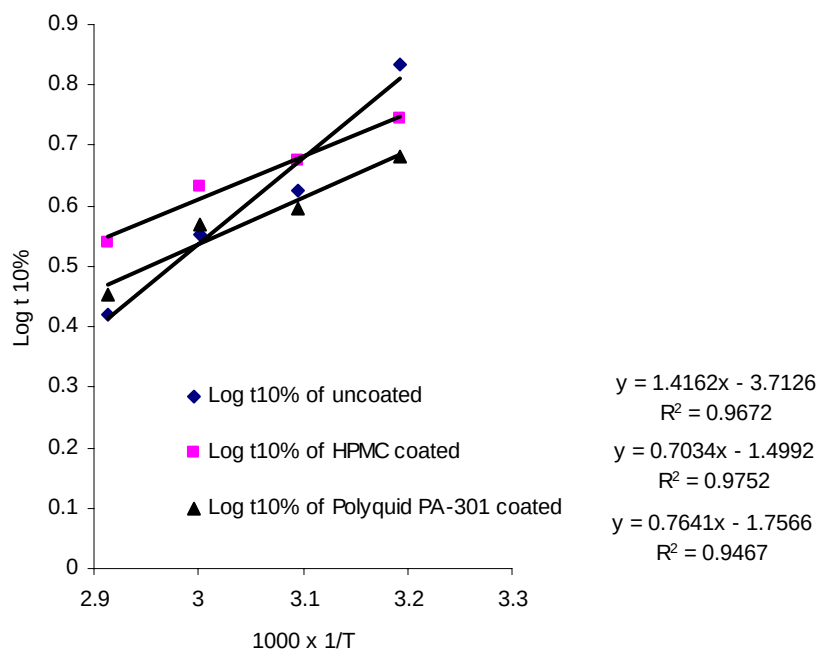
รูปที่ 14 การทดสอบความคงตัวของกระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบ HPMC เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 15 การทดสอบความคงตัวของกระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบ Polyquid PA-30 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 16 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของกระเพาะแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบ HPMC และ Polyquid PA-30 เปรียบเทียบกับกระเพาะแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบ



รูปที่ 17 กราฟใช้ในการทำนายความคงตัวของกระเพาะแกรนูลที่เคลือบด้วยสารเคลือบ HPMC และ Polyquid PA-30 เปรียบเทียบกับกระเพาะแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบที่อุณหภูมิสมบูรณ์ ต่างๆ

ตารางที่ 24 สมการเส้นตรงที่ได้จาก รูปที่ 13-15

สารเคลือบกระเพราแกรนูล						
°C	ไม่ได้เคลือบ		HPMC		Polyquid PA-30	
	สมการ	r ²	สมการ	r ²	สมการ	r ²
40	y = -0.0152x + 4.0459	0.92 24	y = -0.0188x + 3.9476	0.97 32	y = -0.0217x + 3.5669	0.9692
50	y = -0.0247x + 4.0205	0.96 38	y = -0.022x + 3.8845	0.94 69	y = -0.0263x + 3.4536	0.9681
60	y = -0.0292x + 3.8388	0.91 38	y = -0.0243x + 3.6755	0.81 74	y = -0.0281x + 3.2846	0.9086
70	y = -0.0394x + 3.8111	0.93 81	y = -0.0301x + 3.6549	0.85 09	y = -0.0367x + 3.2104	0.9056

ตารางที่ 25 ข้อมูลที่ใช้เพื่อการทำนายระยะเวลาที่กระเพราแกรนูลสลายตัวไป 10 % (t_{10%})

Temp (°C)	T (°K)	1000X1/T	Slope (K)			t _{10%}		
			Uncoated	HPMC	Polyquid PA	Uncoated	HPMC	Polyquid PA
40	313.15	3.19	0.0152	0.0188	0.0217	6.84	5.53	4.79
50	323.15	3.09	0.0247	0.022	0.0263	4.21	4.73	3.95
60	333.15	3.00	0.0292	0.0243	0.0281	3.56	4.28	3.70
70	343.15	2.91	0.0394	0.0301	0.0367	2.63	3.46	2.83

การหาความคงตัวของกระเพราแกรนูลที่สภาวะเร่ง

เมื่อทำการศึกษาหาปริมาณน้ำมันกระเพราในแกรนูลที่อุณหภูมิ 45 °C ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 75% และนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำมันในแกรนูลต่อเวลา (รูปที่ 12) พบว่าปริมาณน้ำมันกระเพราในแกรนูลลดลง 10 % หรืออายุของการเก็บรักษาเมื่ออ่านค่าจากกราฟเป็นดังนี้ แกรนูลที่ไม่เคลือบมีอายุ 80 วัน แกรนูลที่เคลือบด้วย HPMC สามารถเก็บได้นาน 160 วัน และแกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 สามารถเก็บได้นาน 105 วัน และปริมาณของน้ำมันกระเพราในแกรนูลทั้ง 3 ชนิด เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 40 50 60 และ 70 °C ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 13-15 และตารางที่ 24) โดยอัตราการสลายตัวของน้ำมันกระเพรามีแนวโน้มเป็น แบบ first order แสดงว่าอัตราการสลายตัวของน้ำมันกระเพราที่เติมลงใน

แกรนูลเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันกระเพรา (Lachman et al.,1986) เมื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเสื่อมสลายของกระเพราแกรนูลที่ไม่เคลือบ เคลือบด้วย HPMC และ เคลือบด้วย Polyquid PA-30 (รูปที่ 16) พบว่ามีค่า activation energy (E_a) เป็น 6.48 3.22 และ 3.50 Kcal/mole ตามลำดับ แสดงว่าการเสื่อมสลายของน้ำมันกระเพราในกระเพราแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบจะขึ้นกับอุณหภูมิมากที่สุดรองลงมาได้แก่ กระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 และ HPMC ตามลำดับ และเมื่อนำมาทำนายอายุการเก็บรักษาของแกรนูลเมื่อเก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 30 °C จากความสัมพันธ์ระหว่าง $\log t_{10\%}$ กับ $1/T$ จากสมการเส้นตรงดังแสดงในรูปที่ 17 และตารางที่ 25 พบว่า กระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย HPMC จะเก็บได้นานอย่างน้อย 318.3 วัน ส่วนกระเพราแกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 จะเก็บได้นานอย่างน้อย 202.4 วัน ในขณะที่ กระเพราแกรนูลที่ไม่ได้เคลือบ จะเก็บได้เพียง 10.1 วัน จากผลการศึกษาอธิบายได้ว่าการเคลือบแกรนูลกระเพราจะช่วยลดอัตราการระเหยของน้ำมันกระเพราได้ โดยอายุการเก็บรักษากระเพราแกรนูลจะขึ้นกับชนิดของสารที่ใช้ในการเคลือบแกรนูล จากการศึกษาพบว่าหากเคลือบด้วย HPMC จะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าการเคลือบด้วย Polyquid PA-30 ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า Polyquid PA-30 เป็นพอลิเมอร์ที่เตรียมจากส่วนผสมระหว่าง methacrylic acid และ ethyl acrylate ในตัวกลางที่เป็นน้ำที่ผสมกับ POLYSORBATE 80 and sodium lauryl sulfate (<http://www.sanyo-chemical.co.jp/product/polyquid/eng/polyquid1j.htm>) เป็นสารที่ใช้ในการเคลือบยาเม็ดเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวยากถูกปลดปล่อยในกระเพาะอาหาร แต่จะปลดปล่อยในลำไส้ซึ่งมีสภาวะแวดล้อมเป็นด่าง ซึ่งจากคุณสมบัติของ methacrylic acid copolymer ผงแห้งจะคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 °C ที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 °C จะจับตัวเป็นก้อนและแตกออกได้ง่าย (Wade and Weller, 1994) ส่งผลให้แกรนูลที่เคลือบด้วย Polyquid PA-30 มีความเปราะแตกง่ายหรือมีรูพรุนมากขึ้นเมื่อเก็บไว้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ทำให้น้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถระเหยออกมาได้เร็วกว่าแกรนูลที่เคลือบด้วย ในขณะที่ HPMC ซึ่งเป็นคอลลอยด์ที่พองตัวได้ในน้ำ ไม่มีประจุ ใช้เป็นสารเคลือบเมื่อยาและควบคุมการปลดปล่อยยาได้ เมื่อนำมาเคลือบกระเพราแกรนูลซึ่งมีน้ำมันกระเพราเป็นสารสำคัญทำให้ฟิล์มของ HPMC ที่เคลือบสามารถป้องกันไม่ให้น้ำมันระเหยได้ดี

6. ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (MIC)

การทดสอบการละลายได้ของน้ำมันกระเพราในตัวทำละลายสามชนิดคือ 10%Cetomacrogol, 10%DMSO และ 5%Tween + 5%Ethanol มีจุดประสงค์ต้องการที่จะทราบว่าตัวทำละลายใดที่สามารถละลายน้ำมันกระเพราได้ดีที่สุดซึ่งพบว่า 10%Cetomacrogol เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายน้ำมันกระเพราได้ดีที่สุดคือ 40 μ l/ml และที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายทุกชนิดที่ใช้ทดสอบไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* F18+ ได้ (ตารางที่ 26)

จากผลการหาค่า MIC ของน้ำมันกระเพราในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ทดสอบกับเชื้อ *E.coli* F18+ พบว่ามีค่า MIC ใกล้เคียงกันคือ 2.09 -2.5 µl/ml (ตารางที่ 26) และเนื่องจากผลการทดสอบที่พบว่าตัวทำละลายทั้งสามชนิดไม่มีผลต่อเชื้อทำให้มั่นใจได้ว่าตัวทำละลายทั้งสามชนิดสามารถนำมาใช้ทดสอบในการทดลองต่อไปได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยเลือกที่จะใช้ 10% Cetomacrogol เป็นตัวทำละลายเนื่องจากมีความสามารถในการละลายได้สูงที่สุดทำให้การทดสอบ MIC ได้ค่าความเข้มข้นสูงสุดสูงกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่น

ตารางที่ 26 ค่า MIC ของน้ำมันกระเพราในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ทดสอบกับเชื้อ *E.coli* F18+

สารที่ทดสอบ	ค่าการละลายสูงสุด ของน้ำมันกระเพรา ในตัวทำละลาย (µl/ml)	ค่า MIC (µl/ml)
น้ำมันกระเพรา+10% Cetomacrogol	40	2.5
น้ำมันกระเพรา+10%DMSO	16.7	2.09
น้ำมันกระเพรา+5% Tween+5% Ethanol	20	2.5
10% Cetomacrogol	-	ND
10%DMSO	-	ND
5% Tween+5% Ethanol	-	ND

ND= ไม่ปรากฏผลในการยับยั้งเชื้อ

ตารางที่ 27 ค่า MIC ของน้ำมันกระเพราซึ่งละลายใน 10% Cetomacrogol ทดสอบกับเชื้อชนิดต่างๆ

เชื้อ	ค่า MIC (µl/ml)
SC003-1 (<i>E.coli</i>)	2.5
SC004 (<i>E.coli</i>)	10
SC005 (<i>E.coli</i>)	10
SC009 (<i>E.coli</i>)	10
SC011 (<i>E.coli</i>)	5
SC022 (<i>E.coli</i>)	5
68-2 Strep (<i>Streptococcus</i> spp)	20

ค่า MIC ของน้ำมันกระเพราซึ่งละลายใน 10% Cetomacrogol ซึ่งทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ 2 ชนิดคือ *E.coli* และ *Streptococcus* spp. แสดงไว้ในตารางที่ 27 ซึ่งพบว่าค่า MIC ต่อเชื้อ SC003-1 (*E.coli*) มีค่าต่ำที่สุดคือ 2.5 µl/ml ส่วน MIC ต่อเชื้อ SC011 (*E.coli*) และ SC022 (*E.coli*) มีค่า 5 µl/ml สำหรับ MIC ต่อเชื้อ SC004 (*E.coli*) SC005 (*E.coli*) และ SC009 (*E.coli*) มีค่า 10 µl/ml และ เชื้อ 68-2 Strep (*Streptococcus* spp) มีค่า MIC สูงที่สุดคือ 20 µl/ml

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำมันกระเพราออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *E.coli* F18+ (SC003-1 (*E.coli*)) ได้ดีที่สุด และออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา colistin sulfate (SC022) ถึงแม้จะให้ค่า MIC สูงกว่า *E.coli* F18+ (SC003-1 (*E.coli*)) ก็ตาม ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าการใช้น้ำมันกระเพราผสมในอาหาร จะมีประโยชน์ในกรณีที่สุกรได้รับเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา colistin sulfate ซึ่งปัจจุบันเริ่มพบเปอร์เซ็นต์เชื้อที่ดื้อยามากขึ้น ส่วนการที่เชื้อ 68-2 Strep (*Streptococcus* spp.) มีค่า MIC ค่อนข้างสูงแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มว่าน้ำมันกระเพราออกฤทธิ์ได้ดีเฉพาะต่อ *E.coli* อย่างไรก็ตามการจะสรุปให้ได้ผลแน่นอนต้องการตัวอย่างเชื้อมากกว่านี้จากการทดลองนี้พบการป่วยจากท้องเสียเพียง 1 หรือ 2 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง (data not show) ซึ่งถือว่าดีมากทั้งนี้ไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นผลจากแกรนูลน้ำมันกระเพราเนื่องจากทุกกลุ่มการทดลองมีการเติมยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการท้องเสียอยู่แล้ว เนื่องจากการทดลองในฟาร์มเอกชน การที่จะยกเลิกการเติมยาในอาหารสุกรช่วงนี้ค่อนข้างยากเพราะเกษตรกรจะกังวลและมักไม่เต็มใจที่จะยกเลิกการเติมยาในอาหารสุกรช่วงนี้

7. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาล

ในช่วง 14 วันแรกของการทดลองพบว่าสุกรมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักใกล้เคียงกันใน T1 ถึง T4 คือ 5.49, 5.44, 5.27 และ 5.82 กิโลกรัมต่อตัว ตามลำดับ ส่วนสุกรใน T5 นั้นมีการเพิ่มของน้ำหนักเพียง 4.71 กิโลกรัมต่อตัว เท่านั้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณา อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) พบว่าสุกรใน T5 มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันน้อยกว่าสุกรในกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ นั่นคือ 336 กรัม/ตัว/วัน ส่วนอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกรใน T1, T2, T3 และ T4 นั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะเห็นว่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกรใน T4 นั้นมีค่าสูงที่สุดสอดคล้องกับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กิโลกรัม/ตัว) ซึ่งมีค่าสูงสุดเช่นเดียวกัน และเมื่อดูประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของสุกรในกลุ่ม T4 มีค่าน้อยที่สุดซึ่งถือว่าดี (ตารางที่ 28)

ตารางที่ 28 ผลการเสริมแกรนูลน้ำมันหอยกระเพาะต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาลช่วงที่ได้รับอาหารอนุบาลสูตรที่ 1

สมรรถนะการผลิตของลูกสุกร	กลุ่มการทดลอง					SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
จำนวนลูกสุกรที่เข้างานทดลอง (ตัว)	90	90	90	90	90	
จำนวนสุกรที่ตาย (ตัว)	0	1	0	0	0	
จำนวนวันที่เลี้ยงทั้งหมด (วัน)	14	14	14	14	14	
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม/ตัว)	8.59	8.43	8.55	8.89	7.1	
น้ำหนักสุดท้าย (กิโลกรัม/ตัว)	14.08	13.87	13.82	14.71	11.81	
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กิโลกรัม/ตัว)	5.49	5.44	5.27	5.82	4.71	
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	391 ^a	388 ^a	376 ^a	415 ^a	336 ^b	0.026
ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ย(กิโลกรัม/ตัว)	10.52	10.03	9.80	10.29	9.18	0.55
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed : Gain)	1.92	1.84	1.86	1.77	1.95	0.12

ในช่วง 19 วันต่อมาของการทดลองพบว่าสุกรมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักใกล้เคียงกันใน T1 ถึง T4 คือ 11.79, 11.61, 11.84 และ 11.92 กิโลกรัมต่อตัว ตามลำดับ ส่วนสุกรใน T5 นั้นมีการเพิ่มของน้ำหนักเพียง 11.04 กิโลกรัมต่อตัว เท่านั้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณา อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลอง แต่จะเห็นว่าสุกรใน T4 มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงที่สุดคือ 627 กรัมต่อวัน และเมื่อดูประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 29)

ตารางที่ 29 ผลการเสริมแกรนูลน้ำมันหอยกระเพาะต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของ
สุกรอนุบาลช่วงที่ได้รับอาหารอนุบาลสูตรที่ 2

สมรรถนะการผลิตของลูกสุกร	กลุ่มการทดลอง					SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
จำนวนลูกสุกรที่เข้างานทดลอง (ตัว)	90	90	90	90	90	
จำนวนสุกรที่ตาย (ตัว)	0	1	0	0	0	
จำนวนวันที่เลี้ยงทั้งหมด (วัน)	19	19	19	19	19	
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม/ตัว)	14.08	13.87	13.82	14.71	11.81	
น้ำหนักสุดท้าย (กิโลกรัม/ตัว)	25.87	25.48	25.66	26.63	22.85	
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กิโลกรัม/ตัว)	11.79	11.61	11.84	11.92	11.04	
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	620	611	623	627	581	0.67
ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ย(กิโลกรัม/ตัว)	21.73	21.35	22.05	21.73	20.43	0.98
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed : Gain)	1.84	1.84	1.86	1.82	1.85	0.15

ผลการทดสอบรวมทั้งช่วงที่ได้รับอาหารสูตร 1 และ สูตร 2 รวม 35 วันพบว่าสุกรมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักใกล้เคียงกันใน T1 ถึง T4 คือ 17.28, 17.36, 17.24 และ 17.45 กิโลกรัมต่อตัว ตามลำดับ ส่วนสุกรใน T5 นั้นมีการเพิ่มของน้ำหนักเพียง 15.75 กิโลกรัมต่อตัว เท่านั้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณา อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลอง โดยพบว่า อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกรในกลุ่ม T4 แตกต่างจาก อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของสุกรในกลุ่ม T5 อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อดูประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 30)

ตารางที่ 30 ผลการเสริมแกรนูลน้ำมันหอยกระเพาะต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาลช่วงที่ได้รับอาหารอนุบาลสูตรที่ 1 และ 2

สมรรถนะการผลิตของลูกสุกร	กลุ่มการทดลอง					SEM
	T1	T2	T3	T4	T5	
จำนวนลูกสุกรที่เข้างานทดลอง (ตัว)	90	90	90	90	90	
จำนวนสุกรที่ตาย (ตัว)	0	1	0	0	0	
จำนวนวันที่เลี้ยงทั้งหมด (วัน)	35	35	35	35	35	
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม/ตัว)	8.59	8.43	8.55	8.89	7.1	
น้ำหนักสุดท้าย (กิโลกรัม/ตัว)	25.87	25.48	25.66	26.63	22.85	
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กิโลกรัม/ตัว)	17.28	17.05	17.11	17.74	15.75	
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	493 ^{ab}	487 ^{ab}	489 ^{ab}	507 ^a	450 ^b	0.66
ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ย (กิโลกรัม/ตัว)	31.44	30.73	31.19	31.24	29.03	1.43
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed : Gain)	1.82	1.80	1.82	1.76	1.84	0.08

ช่วง 14 วันแรกของการทดลองซึ่งสุกรได้รับอาหารอนุบาลสูตร 1 นั้นพบว่าสุกรในกลุ่ม T4 ซึ่งได้รับแกรนูลน้ำมันกระเพาะชนิดไม่ทนกรดขนาด 20 ppm มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) สูงที่สุดนั่นคือ 415 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งพบว่าสูงกว่าสุกรในกลุ่ม T1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักยังมีค่าในทำนองเดียวกัน นั่นคือ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของสุกรในกลุ่ม T4 ซึ่งได้รับแกรนูลน้ำมันกระเพาะชนิดไม่ทนกรดขนาด 20 ppm มีค่าดีที่สุด ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มว่า แกรนูลน้ำมันกระเพาะชนิดไม่ทนกรดขนาด 20 ppm ให้ผลดีในเรื่อง growth performance แก่ลูกสุกรในช่วงหย่านมใหม่ๆ ส่วนสุกรในกลุ่มที่ได้รับแกรนูลน้ำมันกระเพาะขนาด 30 ppm ทั้งชนิดทนกรดและไม่ทนกรดนั้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันน้อยกว่า ซึ่งเป็นไปได้ว่ารสของอาหารที่ผสมแกรนูลน้ำมันกระเพาะในขนาด 30 ppm นั้นเปลี่ยนแปลงไป สัตว์จึงกินได้น้อยกว่า แต่สำหรับลูกสุกรในกลุ่ม T5 ซึ่งได้รับแกรนูลน้ำมันกระเพาะชนิดไม่ทนกรดขนาด 30 ppm น่าจะมีปัจจัยอื่นเช่นน้ำหนักตัวเริ่มต้นซึ่งน้อยกว่าลูกสุกรกลุ่มอื่นๆ รวมด้วยจึงทำให้ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ต่ำกว่าลูกสุกรในกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามหากดูที่ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักจะพบว่าสุกรที่ได้รับแกรนูลน้ำมันหอยให้ค่าที่

ดีกว่ากลุ่มควบคุมถึงแม้ว่าค่าในกลุ่ม T5 ซึ่งได้รับแกรนูลอน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรดขนาด 30 ppm จะมีค่ามากกว่าแต่ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมมากทำให้เห็นแนวโน้มว่าการเติมแกรนูลอนของน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีส่วนช่วยให้ลูกสุกรมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักดีขึ้นกว่าสุกรกลุ่มที่ไม่ได้รับซึ่งจะเห็นได้ชัดจากสุกรในกลุ่ม T5 ซึ่งได้รับแกรนูลอนน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรดขนาด 30 ppm ซึ่งในอนาคตหากทำให้ลูกสุกรกินอาหารที่มีการเติมแกรนูลอนน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ได้มากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกสุกรดีขึ้นชัดเจนกว่านี้

ในช่วง 19 วันต่อมาจะเห็นว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ของสุกรที่อยู่ในกลุ่ม T4 ซึ่งได้รับแกรนูลอนน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรดขนาด 20 ppm มีค่าดีที่สุด ถึงแม้ว่าจะไม่แตกต่างทางสถิติก็ตาม ที่น่าสนใจก็คือสุกรในกลุ่ม T3 ซึ่งได้รับแกรนูลอนน้ำมันกระเพราชนิดทนกรดขนาด 30 ppm ซึ่งมีการเจริญเติบโตที่ไม่ดีในช่วง 14 วันแรกกลับเจริญเติบโตดีขึ้นเนื่องจากกินอาหารได้มากขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการที่สุกรเริ่มชินกับรสของอาหารและสามารถกินอาหารได้มากขึ้น

เมื่อมองภาพรวมตลอดช่วงของการทดลองนั่นคือ 35 วันแล้วพบว่าการผสมแกรนูลอนน้ำมันกระเพราแบบไม่ทนกรดขนาด 20 ppm ให้ผลดีในแง่ของ growth performance คือ มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ดีที่สุดและดีกว่ากลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองปรากฏว่าแกรนูลอนน้ำมันกระเพราชนิดไม่ทนกรดให้ผลดีกว่าแกรนูลอนน้ำมันกระเพราชนิดทนกรดนั้น จากการศึกษาเพื่อหาความคงตัวของแกรนูลอนที่ไม่เคลือบ ที่เคลือบด้วยสารไม่ทนกรด (HPMC) และ เคลือบด้วยสารทนกรด (polyquid PA-30) พบว่า กระเพราแกรนูลอนที่เคลือบด้วย HPMC จะเก็บได้นานอย่างน้อย 318.3 วัน ส่วนกระเพราแกรนูลอนที่ไม่เคลือบด้วย polyquid PA-30 จะเก็บได้นานอย่างน้อย 202.4 วันในขณะที่ กระเพราแกรนูลอนที่ไม่ได้เคลือบ จะเก็บได้เพียง 10.1 วัน เมื่อนำไปผสมอาหารซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำมันรำข้าวและนมแล้วเก็บไว้เลี้ยงสุกรนาน 7 วัน อาจเป็นไปได้ว่า polyquid PA-30 ถูกสารที่เป็นน้ำมันในสูตรอาหารที่ 1 และ 2 ทำลายทำให้กระเพราแกรนูลอนมีอายุการเก็บรักษาสั้นลงมากและทำให้สูญเสียความสามารถในการทนกรดในกระเพาะอาหารส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตไม่ต่างจากอาหารที่ไม่ได้ผสมแกรนูลอน ถึงแม้ว่าจากแกรนูลอนที่เคลือบด้วยสารทนกรดสามารถป้องกันการปลดปล่อยน้ำมันในกระเพาะอาหารได้ก็ตาม

อีกเหตุผลหนึ่งที่ไม่ควรมองข้ามก็คือ การทดลองนี้ไม่สามารถยกเลิกการเติมยาปฏิชีวนะในสูตรอาหารสุกรได้เนื่องจากการทดลองในฟาร์มเอกชน ทำให้ผลที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Cowart RP and Casteel SW (2001) An outline of swine diseases; A handbook. 2nd ed. Iowa State University Press, A Blackwell Science Company: 191 p.
- Eloff JN. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med*, 64(8): 711-3
- Fonner DE, Anderson NR, Banker GS. (1981) Granulation and tablet characteristics. In: Lieberman HA, Lachman L., editors. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* Vol 2. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel : 185-267.
- Kadan RS, Champagne ET, Ziegler GM, Richard AO. (1997) Amylose and protein contents of rice cultivars as related to texture of rice-based fries. *J of Food Science*; 62 (4): 701-3.
- Kanbutra K., Porntrakulpipat S., Borisutpeth P., Sarachoo K., Jivakanon J., Aromdee C. and Wongkham S. 2003. Anti-bacterial Activity of Thai Medicinal Plants on *Escherichai coli* (F18+). Proceeding of the 2nd International Conference on Medicinal Mushroom and The International Conference of Biodiversity and Bioactive Compounds. 17-19 July 2003. PEACH, Pattaya, Thailand.
- Kuu, W., Chilamkurti, R., and Chen C. (1998) Effect of relative humidity and temperature on moisture sorption and stability of sodium bicarbonate powder. *International Journal of Pharmaceutics*, 166(2) : 167-175.
- Lachman L., Lieberman H and Kanig JL. (1986) The theory and practice of industrial pharmacy, 3rd ed. Philadelphia:Lea & Febiger.
- Polyquid PA-30 Technical data
<http://www.sanyo-chemical.co.jp/product/polyquid/eng/polyquid1j.htm>
- Rieger MM. Emulsions. (1986) In: Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL., editors. *The Theory and Practice in Industrial Pharmacy*. Lea&Febiger. Philadelphia : 502-533.
- Rowe RC., Sheskey, P.J., Owen SC. (2005) *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 5th ed. New York : APhA Publications.
- SAS, 1996. SAS/STAT[®] User's Guide (Release 6.12). SAS Inst. Inc., Carey, NC.
- Steel RGD, Torrie JH. 1980. Analysis of covariance, In: *Principles and Procedures of Statistics: a Biometrical Approach*, pp. 401-437. McGraw-Hill, New York.

- Summers MP. (1990) Granulation. In: Aulton ME., editor. *Pharmaceutics : The Science of Dosage Form Design*. Longman Group (FE) Ltd. Hong Kong : 616-628.
- Wade A and Weller PJ. (1994) *Handbook of pharmaceutical excipients*, 2nd ed. London: Pharmaceutical Press.
- Zoglio MA, Carstensen JT. (1981) Drying. In: Lieberman HA, Lachman L., editors. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Vol 2*. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel : 55-75.