



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผัก ผลไม้
เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย

โดย ผศ.ดร. มัลลิกา ชมนาวัง และคณะ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

กุมภาพันธ์ 2557

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผัก ผลไม้ เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร. มัลลิกา ชมนาวัง

รศ.ดร. วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ

ดร. ปิยทิพย์ ชันตยาภรณ์

สังกัด

ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ภาควิชาเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	iv
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	v
บทคัดย่อ	vi
Abstract	vii
สารบัญรูปภาพ	viii
สารบัญตาราง	xii
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
บทที่ 2 การตั้งตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้จากน้ำมันหอมระเหย	
2.1 การศึกษาชนิดของสารเพิ่มความหนืด (thickening agent)	
ต่อความเข้ากันได้ (compatibility) กับสารในตำรับ	3
2.2 การศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารในตำรับ	6
2.3 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยต่อลักษณะ	
ทางเคมีและกายภาพของตำรับ	9
2.4 การทดสอบความใสของตำรับ (transparency)	12
2.5 การทดสอบรูปแบบการไหล (flow type) และความหนืดของตำรับ	
(viscosity)	13
2.6 สรุปผลการทดลอง	14
บทที่ 3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย	
3.1 การหาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเปรียบเทียบกับ	
สารมาตรฐาน	15
3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของน้ำมันตะไคร้	

และน้ำมันโหระพา	21
3.3 สรุปผลการทดลอง	24
บทที่ 4 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำยาล้างผักและผลไม้	
4.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำยาล้างผัก และผลไม้ด้วยวิธี disc diffusion	25
4.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำยาล้างผัก และผลไม้ด้วยวิธี agar diffusion	27
4.3 การหาค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) และ MBC (Minimum bactericidal oncentration) ของน้ำยาล้างผัก และผลไม้ด้วยวิธี broth dilution	31
4.4 การทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อของน้ำยาล้างผักและ ผลไม้โดยเลียนแบบการใช้งานจริง	35
4.5 สรุปผลการทดลอง	37
บทที่ 5 การประเมินความคงตัวของตำรับน้ำยาล้างผักจากน้ำมันหอมระเหย	
5.1 การเตรียมตำรับน้ำยาล้างผักจากน้ำมันหอมระเหย	38
5.2 การประเมินความคงตัวทางกายภาพของตำรับ	40
5.3 การประเมินความคงตัวทางเคมี	62
5.4 การประเมินความคงตัวทางชีวภาพ	89
5.5 สรุปผลการทดลอง	97
เอกสารอ้างอิง	98
ตารางกิจกรรมการดำเนินงาน	99
ภาคผนวก	100

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สามารถดำเนินการลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือและสนับสนุนจากผู้ร่วมงานทุกท่าน และหน่วยงานต่างๆ ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยมหิดลซึ่งเป็นผู้สนับสนุนทุนวิจัย อันเป็นจุดเริ่มต้นให้โครงการนี้เกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ในส่วนของโครงการดำเนินการ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.ดร. นันทวัน บุญยะประกฤษ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการมาโดยตลอด ขอขอบคุณ ศ.ดร. วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ ที่ให้ความร่วมมือและสนับสนุนในส่วนของการผลิตภัณฑ์ นางสาวเบญจพร คุณากรวิชัย นางสาวอัชราภรณ์ รัตนมณีรัมย์ นางสาววริยา แยมประยูรสวัสดิ์ นางสาวพนิดา พานทอง นางสาวปัทมพรรณ โลมะรัตน์ ที่ให้ความช่วยเหลืองานวิจัยนี้เป็นอย่างดี ขอขอบคุณบุคคลากรภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยในทุกๆ ด้าน ผู้วิจัยหวังว่าผลงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้เกี่ยวข้อง และเป็นข้อมูลเบื้องต้นอันจะก่อให้เกิดการพัฒนาต่อไปในอนาคต

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

การปนเปื้อนของผักและผลไม้สดจากแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหาร สามารถก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้หลายลักษณะ โดยเรียกรวมกันว่าโรคในกลุ่ม foodborne diseases ซึ่งจะมีการท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน และอาจมีอาการข้างเคียงอื่นๆ ร่วมด้วย ซึ่งอาจนำไปสู่ความเจ็บป่วยที่รุนแรงต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล นอกจากนี้ การปนเปื้อนของสารเคมีที่ตกค้างจากปุ๋ยหรือยาฆ่าแมลง ไซยาไนด์หรือแมลงบางชนิด อาจทำให้ผู้บริโภคได้รับสิ่งตกค้างเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย และหากรับประทานอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดการสะสมและเป็นพิษต่อผู้บริโภค ดังนั้นการล้างผักให้สะอาดจะช่วยลดปริมาณสารเคมีที่ตกค้างในผักและผลไม้สด โดยการใช้ น้ำยาล้างผักและผลไม้สามารถลดสารพิษได้มากกว่าการล้างด้วยน้ำเปล่า เนื่องจากทำให้สารเคมีที่ตกค้างซึ่งเกาะติดอยู่บริเวณก้านผิวใบและผิวของผลไม้หลุดออกมาได้ ในปัจจุบัน น้ำยาล้างผักและผลไม้ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมักมีการเติมสารเคมีเข้าไปเป็นส่วนประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารลดแรงตึงผิว ซึ่งทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารเคมีบนผัก และอาจส่งผลเสียต่อร่างกายได้ ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาตำรับน้ำยาล้างผักผลไม้โดยสารออกฤทธิ์ที่จะนำมาพัฒนาในตำรับนั้น จะเลือกใช้ไขมันหอมระเหยในพืชอาหาร โดยไขมันหอมระเหยที่นำมาใช้ในการทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารได้ผ่านการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น โดยชุดโครงการภายใต้ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชพื้นเมืองระยะที่ 1 การนำไขมันหอมระเหยมาใช้ในโครงการนี้ นอกจากจะเป็นการต่อยอดการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าให้พืชพื้นเมืองแล้วนั้น การใช้ไขมันหอมระเหยที่สกัดจากธรรมชาติยังเป็นการลดการปนเปื้อนของสารเคมีซึ่งจะมีความแตกต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์ในการล้างผักและผลไม้ชนิดอื่น อีกทั้งการเลือกใช้สารจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งทำให้เกิดความปลอดภัย และก่อให้เกิดความมั่นใจแก่ผู้บริโภคอีกด้วย

ในการพัฒนาปรับปรุงสูตรตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่มีไขมันตะไคร้และไขมันโหระพาเป็นส่วนประกอบทั้งหมด 17 ตำรับ และทำการคัดเลือกตำรับที่ให้ผลดี ได้แก่ ตำรับที่ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% และ 4% รวมทั้งผลิตภัณฑ์น้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ PEG 4000 เป็น thickening agent และตำรับที่ผสมน้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ xanthan gum เป็น thickening agent และสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 1:1 และสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 2:0.5 เมื่อนำตำรับทั้งหมดมาศึกษาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพเพื่อดูความคงตัว พบว่า ตำรับทั้งหมดที่พัฒนามีความคงตัวอยู่ในเกณฑ์ดีเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยตำรับที่ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% เป็นตำรับที่มีความน่าใช้มากที่สุด โดยสัดส่วนที่แนะนำให้ใช้ คือ 1:100 และใช้เวลาแช่อย่างน้อย 20-30 นาที จึงให้ผลลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุด

บทคัดย่อ

ผักและผลไม้สดเป็นอาหารที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย เพราะอุดมไปด้วยไฟเบอร์ วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆที่ร่างกายต้องการ อย่างไรก็ตามมักพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ สารเคมีที่ตกค้างจากปุ๋ย หรือยาฆ่าแมลง ไข่พยาธิหรือแมลงบางชนิด ซึ่งการรับประทานผักและผลไม้สดที่ไม่ได้ล้างทำความสะอาดอาจทำให้ผู้บริโภคได้รับสิ่งตกค้างเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย และหากรับประทานอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดการสะสม และเป็นพิษต่อผู้บริโภค ดังนั้นการล้างผักให้สะอาดจะช่วยลดปริมาณสารเคมีที่ตกค้างในผักและผลไม้สด เนื่องจากทำให้สารเคมีที่ตกค้างซึ่งเกาะติดอยู่บริเวณก้านผิวใบและผิวของผลไม้หลุดออกมา ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาตำรับน้ำยาล้างผักผลไม้โดยสารออกฤทธิ์ที่จะนำมาพัฒนาในตำรับนั้น จะเลือกใช้น้ำมันหอมระเหยในพืชอาหารที่นิยมบริโภคกันอยู่แล้ว ซึ่งจากการทดลองได้ผลิตภัณฑ์ล้างผักและผลไม้หลายตำรับ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% และ 4% น้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ PEG 4000 เป็น thickening agent และตำรับที่ผสมน้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ xanthan gum เป็น thickening agent นอกจากนี้ยังนำสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 1:1 และสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 2:0.5 ซึ่งเมื่อนำตำรับทั้งหมดมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อสีของตำรับที่มีส่วนผสมน้ำมันตะไคร้ โดยพบว่าการเก็บที่สภาวะ $5\pm3^{\circ}\text{C}$ ทำให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพดังกล่าวไม่พบในตำรับที่มีน้ำมันโหระพาเป็นส่วนประกอบ อีกทั้งไม่พบการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ เช่น ความใส การแยกชั้น และเมื่อนำตำรับต่างๆ ไปเจือจางด้วยน้ำ เพื่อให้มีความใกล้เคียงกับสภาวะการใช้งานจริงที่อัตราส่วน 1: 100 พบว่า ตำรับทั้งหมดมีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีตะกอน และเป็นเนื้อเดียวกัน ตำรับทั้งหมดที่นำมาทดสอบมีความคงตัวของสารสำคัญอยู่ในเกณฑ์ที่ดี และไม่มีตำรับใดที่มีสารสำคัญลดลงต่ำกว่า 80% Label amount เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียในภาพรวม พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษาตลอด 4 เดือน ไม่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย เช่นเดียวกับอุณหภูมิในการเก็บรักษา คือ $5\pm3^{\circ}\text{C}$, $30\pm5^{\circ}\text{C}$ และ $45\pm2^{\circ}\text{C}$ ไม่พบว่าผลที่เด่นชัดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ นอกจากนี้พบว่า ตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยเดี่ยวมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าตำรับที่เป็นสูตรผสม โดยตำรับที่ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% เป็นตำรับที่มีความน่าใช้มากที่สุดและมีต้นทุนประมาณ 25.8 บาท ต่อ 100 กรัม จึงเป็นตำรับที่น่าจะนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

Abstract

Fresh vegetables and fruits are healthy foods for human body due to high fibers, vitamins and minerals. However, contaminations by microorganisms, chemicals, fertilizer, pesticides, and helminth eggs are usually detected. Consumption of contaminated products leads to long term accumulation which causes toxicity. Washing process is important and can reduce the contaminants. Therefore, this research was aimed to develop vegetable and fruit washing solution using essential oils from edible herbs. The formulations containing 3% and 4% lemongrass oil, 2% sweet basil oil using PEG 4000 as thickening agent and formulation containing 2% sweet basil oil using xanthan gum as thickening were tested. The mixed formulation of lemongrass and sweet basil at the ratio of 1:1 and 2:0.5 were also examined for their stability in terms of physical, chemical, and biological properties at various temperatures for 4 months. The results showed that temperature affected the color of formulations containing lemongrass oil. The least color change was detected on formulations stored at $5\pm 3^{\circ}\text{C}$. However, this physical change was not observed in sweet basil oil formulations. Additionally, no others physical instability such as transparency or separation could be observed. To mimic the real usage condition, all formulations were diluted with water at the ratio of 1:100. The data showed that all formulations were clear, no precipitation, and homogenous. The active ingredients of all tested formulations were stable with no less than 80% label amount. There were no significant effects on antimicrobial activity after stored for 4 months. The same result was observed when stored at $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ and $45\pm 2^{\circ}\text{C}$. It is noteworthy that single oil formulations were more effective than mixed formulations. In conclusion, the formulation containing 3% lemongrass oil is the most possible preparation which can be promoted commercially and the production cost is about 25.8 bahts per 100 grams.

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำยาล้างผักตำรับต่างๆ	8
รูปที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี lemongrass oil ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0% w/w ตามลำดับ	10
รูปที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี sweet basil oil ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% w/w ตามลำดับ	10
รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี mixed oil ระหว่าง lemongrass oil: sweet basil oil ในอัตราส่วน 1.0:0.5, 1.0:1.0 และ 2.0:0.5% w/w ตามลำดับ	11
รูปที่ 5 รูปแบบการไหล (flow type) และค่าความหนืด (viscosity) ของแต่ละตำรับที่วัดได้ในช่วง shear rate 0 – 500 sec ⁻¹	13
รูปที่ 6 Chromatogram ของน้ำมันตะไคร้	17
รูปที่ 7 Chromatogram ของ Citral ซึ่งประกอบด้วย Z-citral และ E-citral	18
รูปที่ 8 Chromatogram ของน้ำมันโหระพา	19
รูปที่ 9 Chromatogram ของ Methyl chavicol	20
รูปที่ 10 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral	22
รูปที่ 11 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol	23
รูปที่ 12 ตัวอย่างผลการทดสอบน้ำยาล้างผักและผลไม้กับเชื้อชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี disc diffusion	26
รูปที่ 13 ตัวอย่างผลการทดสอบน้ำยาล้างผักและผลไม้ต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี agar diffusion	29
รูปที่ 14 ลักษณะของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 3%w/w (ตำรับ 1) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	41
รูปที่ 15 ลักษณะของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 4%w/w (ตำรับ 2) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	42
รูปที่ 16 ลักษณะของตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2%w/w (สูตร 1) (ตำรับ 3) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	43
รูปที่ 17 ลักษณะของตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1 (ตำรับ 4) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	44
รูปที่ 18 ลักษณะของตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5 (ตำรับ 5) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	45
รูปที่ 19 ลักษณะของสารละลายสูตร 1 ซึ่งไม่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (ควบคุม 1) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	46
รูปที่ 20 ลักษณะของตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2%w/w (สูตร 1) (ตำรับ 6) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน	47

รูปที่ 21	ลักษณะของสารละลายสูตร 2 ซึ่งไม่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (ควบคุม2) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน	48
รูปที่ 22	ลักษณะทางกายภาพของทุ้ดูดซับภายหลังที่เจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:100	49
รูปที่ 23	รูปแบบการไหลของทุ้ดูดซับน้ำมันหอมระเหยและผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด	50
รูปที่ 24	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 1 (น้ำมันตะไคร้ 3%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	53
รูปที่ 25	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 2 (น้ำมันตะไคร้ 4%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	54
รูปที่ 26	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 3 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	54
รูปที่ 27	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 4 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 1:1 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	55
รูปที่ 28	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 5 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 2:0.5 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	55
รูปที่ 29	ค่าความหนืดของทุ้ดูดซับ 6 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 2) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	56
รูปที่ 30	pH ของทุ้ดูดซับ 1 (น้ำมันตะไคร้ 3%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	58
รูปที่ 31	pH ของทุ้ดูดซับ 2 (น้ำมันตะไคร้ 4%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	59
รูปที่ 32	pH ของทุ้ดูดซับ 3 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	59
รูปที่ 33	pH ของทุ้ดูดซับ 4 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	60
รูปที่ 34	pH ของทุ้ดูดซับ 5 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	60
รูปที่ 35	pH ของทุ้ดูดซับ 6 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 2) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ	61
รูปที่ 36	Chromatogram ของน้ำมันตะไคร้	64
รูปที่ 37	Chromatogram ของ Citral ซึ่งประกอบด้วย Z-citral และ E-citral	65
รูปที่ 38	Chromatogram ของน้ำมันโหระพา	66
รูปที่ 39	Chromatogram ของ Methyl chavicol	67
รูปที่ 40	กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0	70
รูปที่ 41	กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ 5±3°C)	71
รูปที่ 42	กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ	

Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0	72
รูปที่ 43 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	73
รูปที่ 44 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0	74
รูปที่ 45 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 0	76
รูปที่ 46 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	77
รูปที่ 47 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	78
รูปที่ 48 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	79
รูปที่ 49 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	80
รูปที่ 50 %Label Amount ของ E-citral ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับ น้ำมันตะไคร้เดี่ยว	85
รูปที่ 51 %Label Amount ของ E-citral ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับ น้ำมันผสม	86
รูปที่ 52 %Label Amount ของ Methyl chavicol ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ ตำรับน้ำมันโหระพาเดี่ยว	87
รูปที่ 53 %Label Amount ของ Methyl chavicol ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ ตำรับน้ำมันผสม	88

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมตำรับเมื่อใช้ thickening agent ชนิดต่างๆ	4
ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมตำรับที่ใช้ xanthan gum เป็น thickening agent	6
ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่เป็นส่วนประกอบในตำรับ	9
ตารางที่ 4 ค่า pH ของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน	11
ตารางที่ 5 การประเมินความใสของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน	12
ตารางที่ 6 ค่าความหนืดของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน	14
ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันตะไคร้เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS	18
ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันโหระพาเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS	20
ตารางที่ 9 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral	22
ตารางที่ 10 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา กับพื้นที่ได้กราฟของ methyl chavicol	23
ตารางที่ 11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของน้ำยาล้างผักทั้ง 12 ชนิดต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยวิธี agar diffusion	28
ตารางที่ 12 ผลการทดสอบของน้ำยาล้างผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ทดสอบ	32
ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้	36
ตารางที่ 14 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยในตำรับ	38
ตารางที่ 15 ค่าความหนืดของตำรับแต่ละชนิดที่มีส่วนผสมต่างกัน และผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด	51
ตารางที่ 16 ความหนืดของตำรับน้ำมันหอมระเหยเมื่อถูกเก็บที่สภาวะต่างๆ เพื่อทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ที่ shear rate 105.7 sec^{-1}	52
ตารางที่ 17 pH ของตำรับน้ำมันหอมระเหยเมื่อถูกเก็บที่สภาวะต่างๆ เพื่อทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์	57
ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันตะไคร้เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS	65
ตารางที่ 19 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันโหระพาเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS	67
ตารางที่ 20 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0	70
ตารางที่ 21 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)	71
ตารางที่ 22 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)	72
ตารางที่ 23 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)	73

ตารางที่ 24	ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	74
ตารางที่ 25	ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 0	76
ตารางที่ 26	ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	77
ตารางที่ 27	ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	78
ตารางที่ 28	ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	79
ตารางที่ 29	ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)	80
ตารางที่ 30	สารสำคัญในการวิเคราะห์หาปริมาณของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด ในแต่ละอุณหภูมิ	81
ตารางที่ 31	ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและ %Label amount ของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผัก และผลไม้ตำรับน้ำมันชนิดเดียวที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ	83
ตารางที่ 32	ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและ %Label amount ของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผัก และผลไม้ตำรับน้ำมันผสมที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ	84

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ/ที่มาของปัญหา

ผักและผลไม้สดเป็นอาหารที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย เพราะอุดมไปด้วยไฟเบอร์ วิตามินและแร่ธาตุต่างๆที่ร่างกายต้องการ อย่างไรก็ตามมักพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ สารเคมีที่ตกค้างจากปุ๋ยหรือยาฆ่าแมลง ไซยาไนด์หรือแมลงบางชนิด ซึ่งการรับประทานผักและผลไม้สดที่ไม่ได้ล้างทำความสะอาดอาจทำให้ผู้บริโภคได้รับสิ่งตกค้างเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย และหากรับประทานอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดการสะสมและเป็นพิษต่อผู้บริโภค ดังนั้นการล้างผักให้สะอาดจะช่วยลดปริมาณสารเคมีที่ตกค้างในผักและผลไม้สด โดยการใช้ น้ำยาล้างผักและผลไม้สามารถลดสารพิษได้มากกว่าการล้างด้วยน้ำเปล่า เนื่องจากทำให้สารเคมีที่ตกค้างซึ่งเกาะติดอยู่บริเวณก้านผิวใบและผิวของผลไม้หลุดออกมา

น้ำยาล้างผักและผลไม้มีส่วนประกอบหลักคือ สารลดแรงตึงผิว ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ เช่น sodium lauryl sulfate, sodium dodecyl sulphate และ/หรือสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ เช่น polyoxyethylene alcohol, alkyl polyglycoside อย่างไรก็ตาม การใช้ น้ำยาล้างผักที่มีส่วนประกอบของ sodium polyoxyethylene fatty alcohol, sodium alkyl benzene sulfonate ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารเคมีบนผัก และอาจส่งผลเสียต่อร่างกายได้ (1) ดังนั้น การเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุ จึงมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ นอกจากนั้น สารลดแรงตึงผิวควรได้มาจากธรรมชาติและสามารถย่อยสลายได้ด้วยตัวเอง เพื่อป้องกันการตกค้างหลังจากการใช้ น้ำยาล้างผักและผลไม้ หรือส่วนประกอบอื่นๆ ในน้ำยาล้างผักและผลไม้ ได้แก่ สารเพิ่มความหนืดสารแต่งสีและสารแต่งกลิ่น เป็นต้น

สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม alkyl polyglycoside เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ได้มาจากพืชธรรมชาติจำพวก ข้าวโพด มันฝรั่ง ข้าวสาลี และ fatty alcohol จากมะพร้าวและน้ำมันปาล์ม ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ และสามารถย่อยสลายได้ด้วยตัวเองจึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กโทรไลต์และอุณหภูมิได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวกลุ่มอื่นๆ ทำให้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร(2,3) ดังนั้น จึงเป็นการเหมาะสมที่จะนำ alkyl polyglycoside มาพัฒนาใช้เป็นตัวรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ในโครงการนี้

การปนเปื้อนของผักและผลไม้สดจากแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารสามารถก่อให้เกิดอาการป่วยได้หลายอย่าง โดยเรียกรวมกันว่าโรคในกลุ่ม foodborne diseases ซึ่งจะมีอาการท้องเสีย คลื่นไส้ และอาจมีอาการข้างเคียงอื่นๆ รวมด้วย โดยโรคในกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกได้เป็นอีกสองประเภทคือ โรคอาหารเป็นพิษ และโรคติดเชื้อจากอาหาร ข้อมูลจากองค์การอนามัยโลก กล่าวว่า ข้อมูลการเกิดโรคในกลุ่ม foodborne diseases นั้นไม่สามารถประมาณการณได้ แต่มีรายงานว่าเพียงในปีค.ศ. 2005 เพียงปีเดียวมีรายงานการเสียชีวิตจากโรคท้องร่วงถึง 1.8 ล้านคน (4) ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการประมาณการว่าประชากรในประเทศ 1 ใน 6 คนจะประสบกับปัญหาอาหารเป็นพิษอย่างน้อยปีละหนึ่งครั้ง นอกจากนี้ยังพบการระบาดของใหญ่อีกหลายครั้งส่วนมากมักเกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. หรือ *Escherichia coli* (5) ในประเทศไทยในได้มีการสำรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด ซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากซูเปอร์มาร์เก็ตและตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรี พบว่าร้อยละ 90.7 ของผักสดมีการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่ม coliforms มากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ร้อยละ 45.4 มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli* มากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด และ

ร้อยละ 16.5 ตรวจพบ *Salmonella* spp. มากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด และยังพบเชื้อชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น *Vibrio* spp., *Listeria* spp. เป็นต้น (6)

สำหรับสารออกฤทธิ์ที่จะนำมาพัฒนาในตำรับนั้นจะเลือกใช้น้ำมันหอมระเหย โดยน้ำมันหอมระเหยที่นำมาใช้ในการทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารได้ผ่านการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นโดยชุดโครงการภายใต้ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชพื้นเมืองระยะที่ 1 การนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในโครงการนี้นอกจากจะเป็นการต่อยอดการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าให้พืชพื้นเมืองแล้ว การใช้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากธรรมชาติยังเป็นการลดการปนเปื้อนของสารเคมีซึ่งจะมีความแตกต่างจากการใช้ผลิตภัณฑ์ในการล้างผักและผลไม้ชนิดอื่น อีกทั้งการเลือกใช้สารจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งทำให้เกิดความปลอดภัย และก่อให้เกิดความมั่นใจแก่ผู้บริโภคอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับล้างผักและผลไม้จากน้ำมันหอมระเหย
- 1.2.2 เพื่อทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารของผลิตภัณฑ์ล้างผักและผลไม้จากน้ำมันหอมระเหย

บทที่ 2

การตั้งตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้จากน้ำมันหอมระเหย

โครงการวิจัยในส่วนแรกนี้จะเน้นการเตรียมตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ โดยจะทำการปรับปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยให้ครอบคลุมค่า minimal inhibitory concentration (MIC) เพื่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียปนเปื้อน และปรับปริมาตรของสารลดแรงตึงผิว รวมทั้งส่วนประกอบอื่นๆในตำรับ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุดเพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติในการทำละลายเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้ต่อไป

2.1 การศึกษาชนิดของสารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ต่อความเข้ากันได้ (compatibility) กับสารในตำรับ

ส่วนประกอบของสารในตำรับแสดงไว้ตามตารางที่ 1

1. วิธีการเตรียมthickening agent

- 1.1 Sodium chloride (NaCl): เตรียมให้เป็นสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร
- 1.2 Methyl cellulose 4000 (MC): ค่อยๆ โปรม MC ลงในน้ำร้อน (70-90°C) คนด้วยแท่งแก้วเพื่อให้ MC กระจายตัว จากนั้นเติมน้ำเย็น (2-8°C) ลงไปเพื่อช่วยให้ MC ละลายคนด้วยแท่งแก้วจนได้สารใสและลักษณะข้นหนืด
- 1.3 Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC): ค่อยๆ โปรม HPMC ลงในน้ำที่อุณหภูมิห้องคนด้วยแท่งแก้วจนกระทั่ง HPMC ละลายหมดและจะได้สารใสและลักษณะข้นหนืด
- 1.4 Hydroxyethylcellulose (HEC): ค่อยๆ โปรม HEC ลงในน้ำที่อุณหภูมิห้องคนด้วยแท่งแก้วจนกระทั่ง HEC ละลายหมดและจะได้สารลักษณะใสและข้นหนืด
- 1.5 Xanthan gum: ละลาย xanthan gum ในน้ำร้อน (70-90°C) เพื่อช่วยให้ละลายง่ายและเร็วขึ้น คนด้วยแท่งแก้วจน xanthan gum พองตัวเต็มที่ จะได้สารที่ข้นหนืดแต่ไม่ใสมากนัก

2. วิธีการเตรียมตำรับ

- 2.1 เติม decylglucoside ลงในบีกเกอร์ที่เตรียม thickening agent ไว้แล้ว คนด้วยแท่งแก้วให้สารผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน (ตำรับที่ใช้ NaCl เป็น thickening agent จะเติม NaCl หลังจากผสม decylglucoside กับ glycerin แล้ว)
- 2.2 เติม glycerin ลงไป คนด้วยแท่งแก้วให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
- 2.3 หยด paraben conc. ลงไป ผสมให้เข้ากัน
- 2.4 บันทึกลักษณะทางกายภาพที่เกิดขึ้นหลังจากตั้งตำรับเสร็จ และเมื่อตั้งทิ้งไว้

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมตำรับเมื่อใช้ thickening agent ชนิดต่างๆ

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	ปริมาณสารในตำรับ
------------	----------------	------------------

		(%w/w หรือกรัมใน 100 กรัม)					
		1	2	3	4	5	6
Decylglucoside	Surface-active agent	40	40	40	40	30	40
NaCl	Thickening agent	0.5	1	-	-	-	-
Methylcellulose	Thickening agent	-	-	2	-	-	-
Hydroxypropylehtyl-cellulose	Thickening agent	-	-	-	2	-	-
Hydroxyethylcellulose	Thickening agent	-	-	-	-	2	-
Xanthan gum	Thickening agent	-	-	-	-	-	1
Glycerin	Solubilzer, Solvent	20	20	20	20	20	20
Paraben conc.	Preservative agent	1	1	1	1	1	1
Water	Vehicle	38.5	38	37	37	37	38

ผลการทดลอง

เมื่อตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของตัวรับที่เตรียมได้ทั้งหมด ให้ผลการทดลองเป็นดังนี้

ตัวรับที่ 1 และ 2: NaCl ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0%w/w

ลักษณะตัวรับที่ 1 หลังเตรียมเสร็จมองเห็นเป็นเนื้อเดียวกัน มีความใสเหมือนน้ำ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaCl ในตัวรับที่ 2 จาก 0.5 เป็น 1.0%w/w ความหนืดไม่เพิ่มขึ้น

ตัวรับที่ 3: MC

หลังจากที่เตรียมตัวรับเสร็จ พบว่าเริ่มเห็นสารแบ่งเป็นสองวัฏภาคที่ไม่ผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง สารเริ่มแยกชั้นกัน และมองเห็นสารแยกเป็น 2 ชั้น เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน สารชั้นบนมีลักษณะใสเหมือนน้ำและไม่มีความหนืด ส่วนสารชั้นล่างมีลักษณะขุ่นกว่าชั้นบนเล็กน้อย และมีความหนืดมากกว่า เมื่อลองเขย่าให้สารกลับมาผสมกันอีก พบว่าสารกลับมาแยกเป็น 2 ชั้นภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง

ตัวรับที่ 4: HPMC

ตัวรับที่ได้มีลักษณะเช่นเดียวกับ MC คือ เริ่มเห็นสารแบ่งเป็นสองวัฏภาคที่ไม่ผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง สารเริ่มแยกชั้นกัน และมองเห็นสารแยกเป็น 2 ชั้น เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน สารชั้นบนมีลักษณะใสเหมือนน้ำและไม่มีความหนืด ส่วนสารชั้นล่างมีลักษณะขุ่นกว่าชั้นบนเล็กน้อย เมื่อลองเขย่าให้สารกลับมาผสมกันอีก พบว่าสารกลับมาแยกเป็น 2 ชั้นภายในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง

ตัวรับที่ 5: HEC

ตัวรับมีความใสมากกว่าการใช้ MC หรือ HPMC เนื้อสารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง พบว่าสารเริ่มแยกชั้นกัน เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน พบว่าสารแยกชั้นกันอย่างชัดเจน

ตัวรับที่ 6: Xanthan gum

ตัวรับมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ไม่ใส มีความหนืดสูงมากคล้ายเจล ไหลออกจากขวดช้ามาก แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าลักษณะเนื้อสารยังคงเดิมไม่มีการแยกชั้นกัน

จากการทดลองนี้พบว่า xanthan gum มีความคงตัวมากที่สุดเนื่องจากสามารถเข้ากันได้กับสารต่างๆ ในตัวรับ อย่างไรก็ตามพบว่าตัวรับนี้มีความหนืดและความใสยังไม่เหมาะสม จึงต้องปรับสัดส่วนของสารในตัวรับต่อไปให้เหมาะสมมากขึ้นในการทดลองที่ 2.2

2.2 การศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารในตำรับ

ส่วนประกอบของสารในตำรับแสดงไว้ตามตารางที่ 2

1. วิธีการเตรียมตำรับ

- 1.1 ละลาย xanthan gum ในน้ำร้อน (ประมาณ 70-90°C) คนด้วยแท่งแก้วจน xanthan gum พองตัวเต็มที่ ซึ่งจะได้สารที่ข้นหนืดแต่ไม่ใสมากนัก
- 1.2 เติม decylglucoside และ glycerin ผสมให้เข้ากันตามลำดับ
- 1.3 ผสม Cremophor RH-40 และ polyethylene (PEG) 400 (สำหรับตำรับที่ผสม PEG)
- 1.4 นำน้ำมันหอมระเหยมาละลายใน CremophorRH-40และ PEG 400 ในข้อ 1.3
- 1.5 ค่อยๆ เทสารในข้อ 1.2ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำมันหอมระเหยที่ละน้อย พร้อมกับคนไปด้วย จนได้สารเป็นเนื้อเดียวกัน
- 1.6 เติม paraben conc. ลงไป ผสมให้เข้ากัน

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมตำรับที่ใช้ xanthan gum เป็น thickening agent

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	ปริมาณสารในตำรับ					
		(%w/w หรือกรัมใน 100 กรัม)					
		7	8	9	10	11	12
Lemon grass oil	Active ingredient	4	4	4	4	4	4
Decylglucoside	Surface-active agent	20	20	20	20	20	20
Xanthan gum	Thickening agent	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4
Glycerin	Solubilizer, Solvent	20	20	20	20	20	20
PEG 400	Solubilizing agent	-	15	20	10	10	10
	Thickening agent						
Cremophor RH-40	Solubilizing agent	-	5	2	10	10	10
Paraben conc.	Preservative agent	1	1	1	1	1	1
Water	Vehicle	44.8	34.8	33.8	34.8	34.7	34.6

ผลการทดลอง

เมื่อตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของตำรับที่เตรียมเพิ่มเติม ได้ผลการทดลองเป็นดังนี้

ตำรับที่ 7: Xanthan gum 0.2%w/w

การลดความเข้มข้นของ xanthan gum ของตำรับที่ 6 ที่ใช้ความเข้มข้นเท่ากับ 1%w/w เป็น 0.2%w/w เนื่องจากพบว่าตำรับที่ 6 มีความหนืดสูงเกินไป เมื่อต้องการเทออกจากขวดจะไหลช้ามาก สำหรับตำรับที่ 6 พบว่าตำรับมีความหนืดพอดี เทออกจากขวดได้ง่ายขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่า ตำรับที่ได้มีความใสไม่เหมาะสม นอกจากนี้พบว่าสารเริ่มแยกชั้นกันอย่างช้าๆ หลังจากตั้งทิ้งไว้สองสัปดาห์ โดยชั้นบนมีสีเหลืองของ lemongrass oil มีความหนืดน้อย ส่วนชั้นล่างมีลักษณะเป็นสารที่มีสีเหลืองอ่อนกว่า มีความขุ่นเล็กน้อย และหนืดมากกว่าชั้นบน เมื่อเขย่าพบว่าสารกลับมาเป็นเนื้อเดียวกันได้เหมือนเดิม และเริ่มแยกชั้นกันอีกเมื่อตั้งทิ้งไว้ จากตำรับนี้อาจเป็นไปได้ว่าวัตถุน้ำมันยังเข้ากันไม่ได้กับวัตถุน้ำในตำรับ ทำให้น้ำมันหอมระเหยเกิดการแยกชั้นออกจากวัตถุน้ำ นอกจากนี้ปัญหาของการใช้ xanthan gum คือ ตำรับที่ได้มีลักษณะขุ่น ไม่นำใช้

ตำรับที่ 8: Xanthan gum 0.2%w/w, PEG 400 15%w/w และ Cremophor RH-40 5%w/w

การเติม PEG 400 และ cremophor RH-40 ในตำรับเพื่อช่วยเพิ่มการละลายของน้ำมัน นอกจากนี้ PEG 400 ยังช่วยเพิ่มความหนืดให้แก่ตำรับได้ด้วย จากการทดลองพบว่าตำรับที่ได้มีลักษณะเหลือง มีความใสมากกว่าตำรับที่ 6 และมีความหนืดพอดี เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลามากกว่า 2 สัปดาห์พบว่าตำรับยังคงสภาพเดิม ไม่เกิดการแยกชั้น อย่างไรก็ตามความใสของตำรับยังไม่เป็นที่น่าพอใจ เพื่อให้ตำรับมีความสวยงามและนำใช้มากขึ้น จึงทำการปรับความเข้มข้นของ solubilizing agent ทั้งสองชนิดในตำรับที่ 9

ตำรับที่ 9: Xanthan gum 0.2%w/w, PEG 400 20%w/w และ Cremophor RH-40 2%w/w

สำหรับตำรับนี้ได้ปรับ PEG 400 เพิ่มขึ้นจากตำรับที่ 7 เป็น 20%w/w และ cremophor RH-40 เป็น 2.0%w/w เนื่องจากคาดว่า การเพิ่ม PEG 400 จะช่วยให้ตำรับมีความใสมากขึ้น และปรับลด cremophor RH-40 ลง จากการทดลองพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ PEG 400 ไม่ได้ทำให้ความใสของตำรับเพิ่มขึ้น และการลดความเข้มข้นของ cremophor RH-40 ทำให้ความใสของตำรับลดลง นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของ PEG 400 พบว่าตำรับเกิดฟองอากาศแทรกที่เนื้อสารเป็นจำนวนมาก ความหนืดของตำรับหลังเตรียมเสร็จมีความพอดี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วันพบว่าตำรับมีความหนืดสูงขึ้นและมีลักษณะก่อรูปได้คล้ายเจล ทำให้เทออกจากขวดไม่ได้

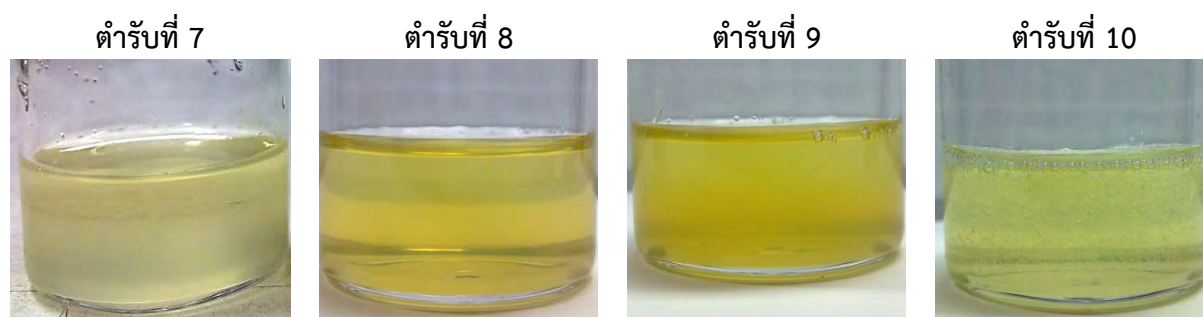
ตำรับที่ 10: Xanthan gum 0.2%w/w, PEG 400 10%w/w และ Cremophor RH-40 10%w/w

การปรับลดความเข้มข้นของ PEG 400 เป็น 10% w/w และเพิ่มความเข้มข้นของ cremophor RH-40 เป็น 10% w/w พบว่าตำรับมีลักษณะเหลืองใสมากกว่าตำรับที่ 7, 8 และ 9 ความหนืดพอดี เมื่อตั้งทิ้งไว้นานกว่า 2 สัปดาห์พบว่าตำรับยังคงสภาพเดิม ไม่มีการแยกชั้นของน้ำมันออกจากน้ำ

ตำรับที่ 11 และ 12: Xanthan gum 0.3%w/w และ 0.4%w/w ตามลำดับ, PEG 400 10%w/w และ Cremophor RH-40 10%w/w

การปรับความเข้มข้นของ xanthan gum จากสูตรตำรับที่ 10 พบว่าหลังเตรียมเสร็จ ตำรับมีลักษณะหนืดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ xanthan gum ที่เพิ่มขึ้น ตำรับมีลักษณะเหลือง แต่มีความใสน้อยกว่าตำรับที่ 10 พบตะกอนเกิดขึ้นหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่ 7, 8, 9 และ 10 ถูกแสดงไว้ในรูปที่ 1 และจากผลการศึกษานี้พบว่าตำรับที่ 10 เป็นตำรับที่ดีที่สุด เนื่องจากมีความหนืดพอดีเหมาะสมกับการเทออกจากขวดเมื่อนำไปประยุกต์ใช้งานจริง มีความใสมากกว่าตำรับอื่น และมีความคงตัวเมื่อตั้งทิ้งไว้ ดังนั้นจึงเลือกตำรับที่ 10 ในการศึกษาต่อไปในการทดลองที่ 2.3



รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำยาล้างผักตำรับต่างๆ

2.3 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยต่อลักษณะทางเคมีและกายภาพของตำรับ

ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (Lemongrass oil หรือ Sweet basil oil) ในตำรับแสดงไว้ตามตารางที่ 3 และวิธีการเตรียมตำรับเป็นวิธีเดียวกับการทดลองที่ 2.2

สูตรตำรับ

น้ำมันหอมระเหย	 %w/w
Decylglucoside	20 %w/w
Xanthan gum	0.2 %w/w
PEG 400	10 %w/w
Glycerin	20 %w/w
Cremophor RH-40	10 %w/w
Paraben conc.	1 %w/w
Water qs to	70 g

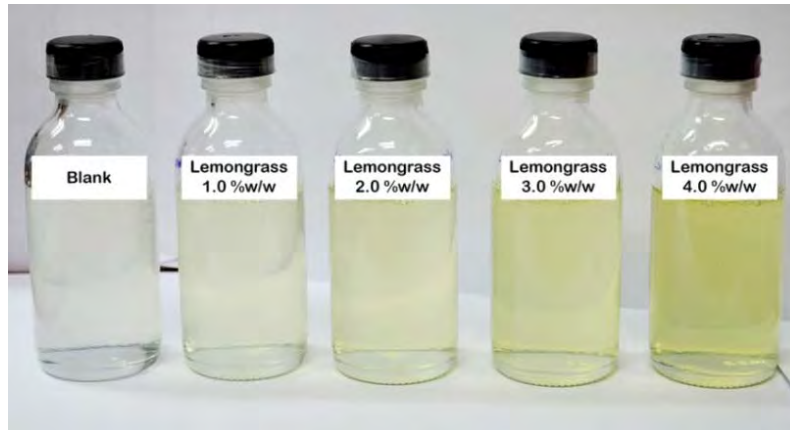
ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่เป็นส่วนประกอบในตำรับ

ชนิดน้ำมันหอมระเหย	ความเข้มข้น (%w/w)			
Lemongrass oil	1.0	2.0	3.0	4.0
Sweet basil oil	0.5	1.0	1.5	2.0
Mixed oil (Lemongrass: Sweet basil)	1.0:0.5	1.0:1.0	2.0:0.5	-

ผลการทดลอง

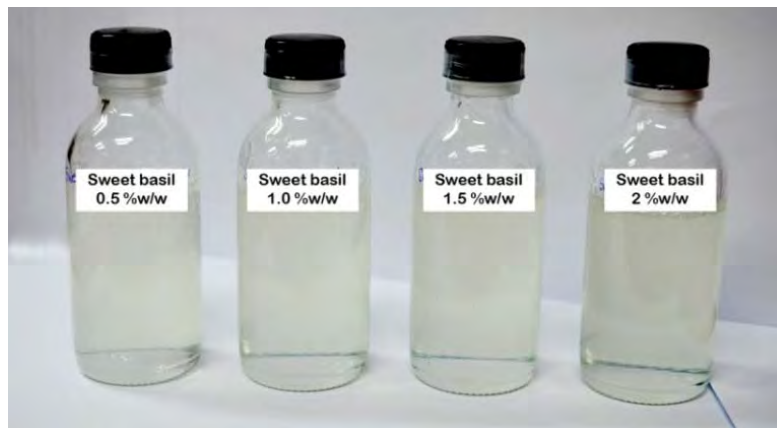
1. ลักษณะทางกายภาพ

1.1 Lemongrass oil



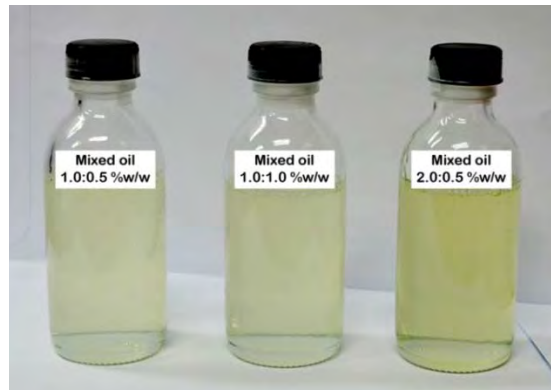
รูปที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี lemongrass oil ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0% w/w ตามลำดับ

1.2 Sweet basil oil



รูปที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี sweet basil oil ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% w/w ตามลำดับ

1.3 Mixed oil (lemongrass oil : sweet basil oil)



รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของตำรับที่มี mixed oil ระหว่าง lemongrass oil: sweet basil oil ในอัตราส่วน 1.0:0.5, 1.0:1.0 และ 2.0:0.5 % w/w ตามลำดับ

2. ค่า pH ของตำรับ

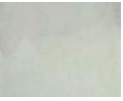
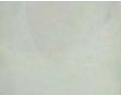
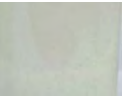
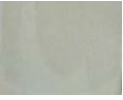
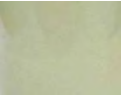
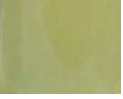
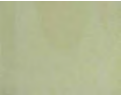
ตารางที่ 4 ค่า pH ของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน

สูตรตำรับ	pH [*]
Blank	10.00±0.01
Lemongrass oil 1.0 %w/w	9.93±0.02
Lemongrass oil 2.0 %w/w	9.93±0.02
Lemongrass oil 3.0 %w/w	9.97±0.01
Lemongrass oil 4.0 %w/w	9.94±0.02
Sweet basil oil 0.5 %w/w	10.12±0.01
Sweet basil oil 1.0 %w/w	10.04±0.02
Sweet basil oil 1.5 %w/w	10.12±0.03
Sweet basil oil 2.0 %w/w	10.15±0.02
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	10.10±0.01
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 1.0 %w/w	10.08± 0.01
Lemongrass oil 2.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	10.07± 0.01
Commercially available product A	2.66±0.01

^{*} Mean ± SD

2.4 การทดสอบความใสของตำรับ (Transparency)

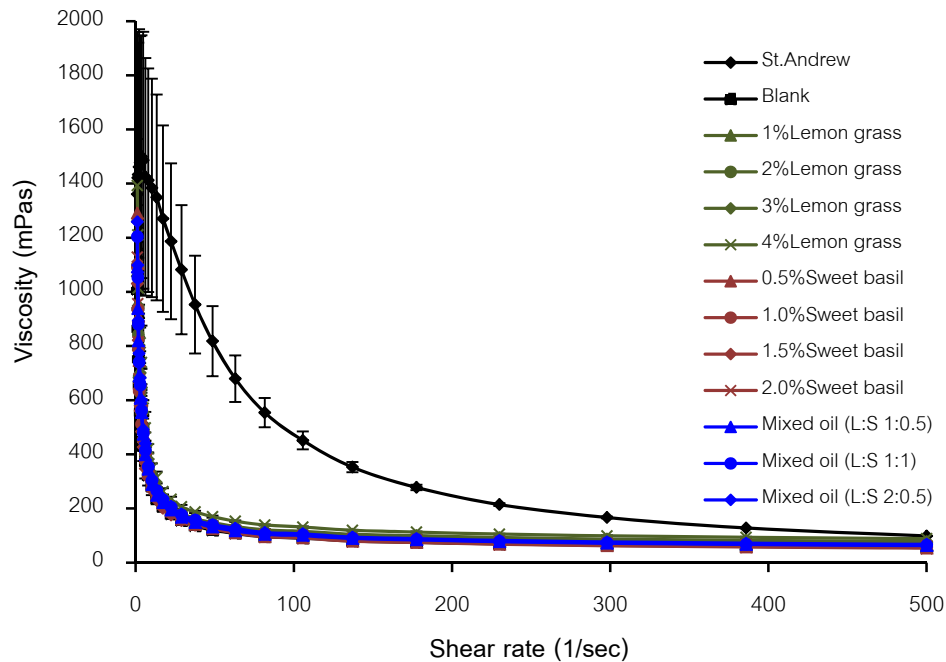
ตารางที่ 5 การประเมินความใสของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน

สูตรตำรับ	ความใส				สี
	1	2	3	เฉลี่ย	
Blank	1	1	1	1	
Lemongrass oil 1.0 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 2.0 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 3.0 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 4.0 %w/w	1	1	1	1	
Sweet basil oil 0.5 %w/w	1	1	1	1	
Sweet basil oil 1.0 %w/w	1	1	1	1	
Sweet basil oil 1.5 %w/w	1	1	1	1	
Sweet basil oil 2.0 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 1.0 %w/w	1	1	1	1	
Lemongrass oil 2.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	1	1	1	1	
Commercially available product A	0	0	0	0	

ในการทดลองนี้ใช้เกณฑ์ประเมิน transparency ดังนี้

0 = ใสคล้ายน้ำเปล่า, 1 = ขุ่นเล็กน้อย, 2 = ขุ่นปานกลาง, 3 = ขุ่นเห็นตะกอนชัดเจน, 4 = ขุ่นทึบแสง

2.5 การทดสอบรูปแบบการไหล (flow type) และความหนืดของตำรับ (viscosity)



รูปที่ 5 รูปแบบการไหล (flow type) และค่าความหนืด (viscosity) ของแต่ละตำรับที่วัดได้ในช่วง shear rate 0 – 500 sec^{-1}

จากการทดลองพบว่า ทุกตำรับมีลักษณะการไหลไม่แตกต่างกันเมื่อใช้ค่า shear rate จาก 0 ไปถึง 500 sec^{-1} โดยค่าความหนืดของสารจะลดลงเมื่อค่า shear rate เพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด (Commercially available product) พบว่าการใช้ shear rate ที่ค่าต่ำๆ (ช่วง 0-300 sec^{-1}) ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดมีความหนืดมากกว่าตำรับที่มีน้ำมันหอมระเหยที่เตรียม อย่างไรก็ตาม รูปแบบการไหลของน้ำยาล้างผักทุกตำรับมีลักษณะเป็น Non-Newtonian ชนิด shear thinning

ตารางที่ 6 ค่าความหนืดของตำรับน้ำยาล้างผักที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน

สูตรตำรับ	Viscosity (mPas) [*]
Blank	90 ± 1
Lemongrass oil 1.0 %w/w	100 ± 2
Lemongrass oil 2.0 %w/w	107 ± 2
Lemongrass oil 3.0 %w/w	116 ± 3
Lemongrass oil 4.0 %w/w	131 ± 3
Sweet basil oil 0.5 %w/w	91 ± 2
Sweet basil oil 1.0 %w/w	95 ± 6
Sweet basil oil 1.5 %w/w	93 ± 3
Sweet basil oil 2.0 %w/w	99 ± 3
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	100 ± 1
Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 1.0 %w/w	106 ± 2
Lemongrass oil 2.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w	103 ± 1
Commercially available product A	451 ± 33

^{*} หมายเหตุ shear rate ที่ใช้ เท่ากับ 105.7 sec^{-1}

2.6 สรุปผลการทดลอง

เมื่อทำการทดลองตั้งตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้สูตรต่างๆ และทำการทดสอบทางเคมีกายภาพพบว่า ตำรับที่มีความเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาทดสอบความคงตัวต่อไป คือ สูตรตำรับที่มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

น้ำมันหอมระเหย	XX %w/w
Decylglucoside	20 %w/w
Xanthan gum	0.2 %w/w
PEG 400	10 %w/w
Glycerin	20 %w/w
Cremophor RH-40	10 %w/w
Paraben conc.	1 %w/w
Water qs to	70 g

บทที่ 3

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

3.1 การหาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การศึกษานี้จะทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาและน้ำมันตะไคร้ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ในการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยอ้างอิงวิธีการจาก “โครงการเครือข่ายวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชพื้นเมืองระยะที่ 1 (อ. นันทวันและคณะ)” โดยใช้ Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC-MS) เครื่องมือที่ใช้คือ GCMS-QP 2010 gas chromatograph mass spectrometer (Shimadzu) โดยใช้ Electron Impact (EI) mode ที่ 70 eV ซึ่งต่อกับ spitless injector (200°C) และ flame ionization detector (250°C), Ion source temperature 250°C, Interface temperature 250°C ในการวิเคราะห์นี้ใช้ Helium เป็น carrier gas โดยมีค่า linear velocity เท่ากับ 30.0 cm/sec, pressure 29.2 kPa, total flow 7.1 mL/min และ column flow 0.68 mL/min โดยใช้ column ชนิด DB-5ms bonded phase fused silica capillary column (30m x 0.25mm, film thickness 0.25 µm; J&W Scientific, Folsom, CA)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาโดยเปรียบเทียบ retention time กับสารสำคัญที่เป็น standard marker ซึ่งในที่นี้คือ methyl chavicol โดย GC condition ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์น้ำมันโหระพา และ methyl chavicol คือ

Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
-	60.0	3.00
4.0	91.0	0.00
0.5	92.0	0.00
5.0	115.0	0.00
0.5	118.0	0.00
5.0	145.0	0.00
0.1	146.0	0.00
5.0	180.0	5.00

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้โดยเปรียบเทียบ retention time กับสารสำคัญที่เป็น standard marker ซึ่งในที่นี้คือ z-citral และ e-citral โดย GC condition ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์น้ำมันตะไคร้ คือ

Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
---------------	------------------	-----------------

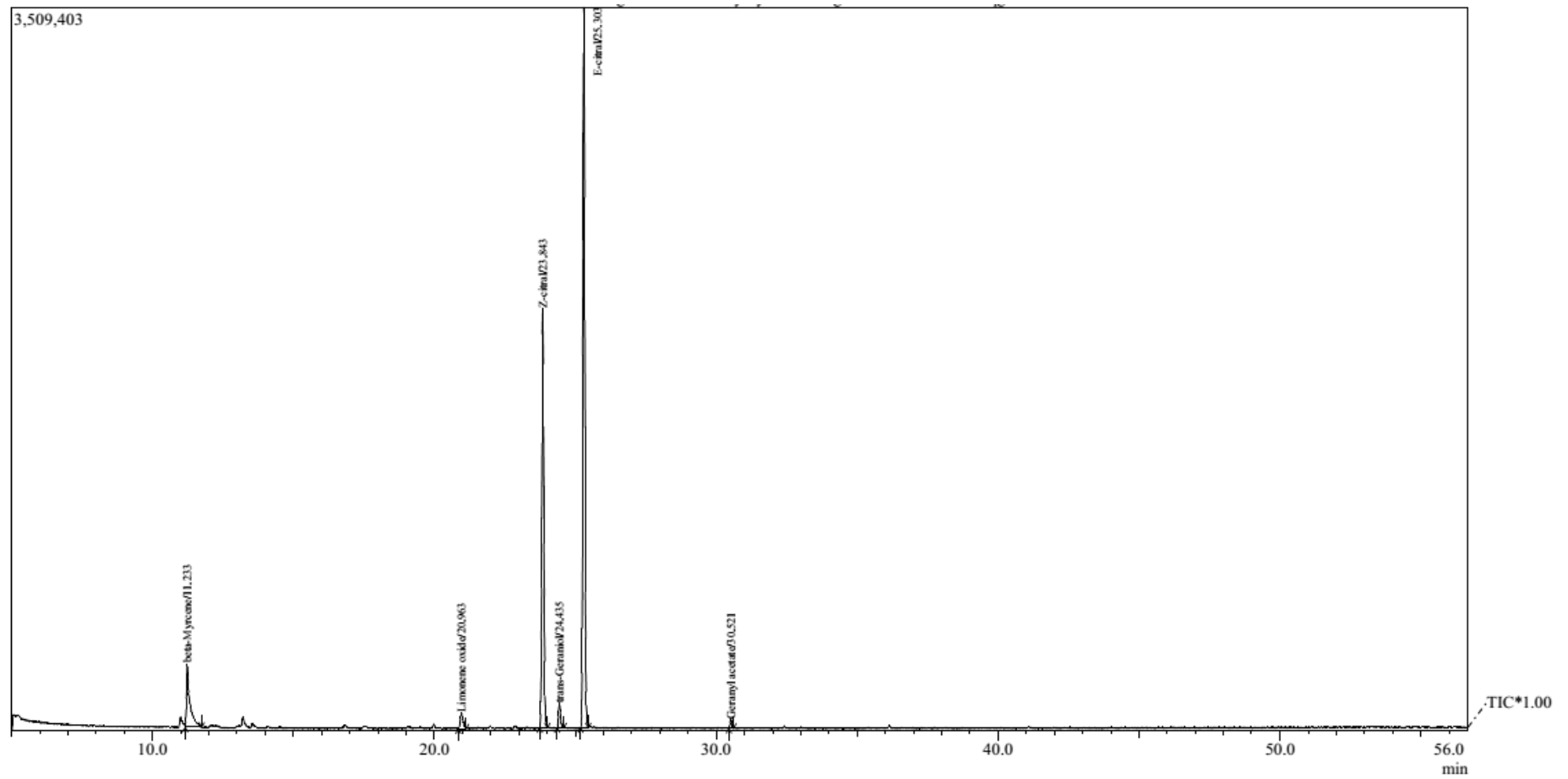
-	60.0	5.00
3.0	200.0	5.00

ผลการทดลอง

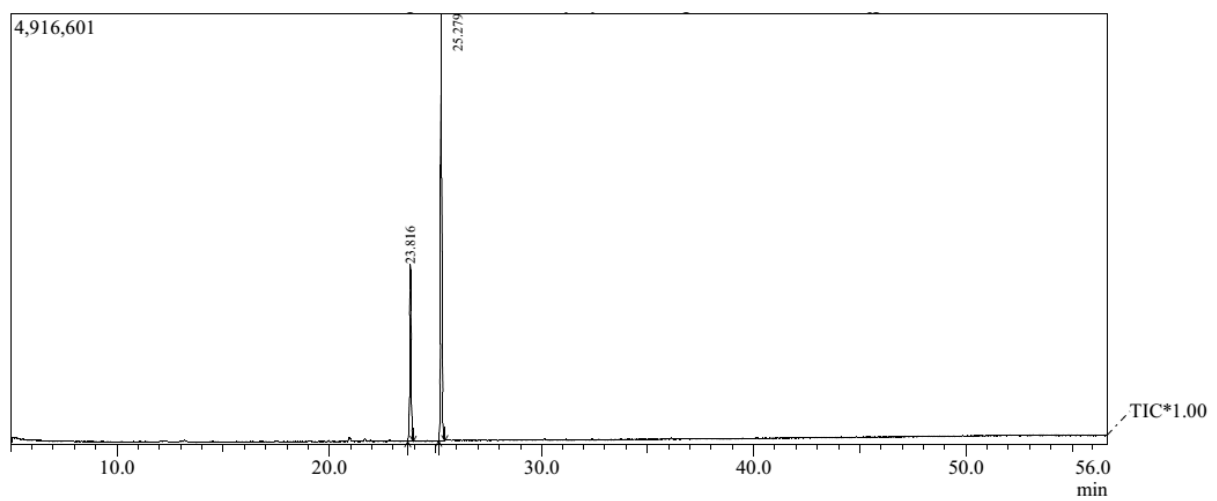
การวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้ด้วย GC-MS พบว่าน้ำมันตะไคร้มี chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 6 และมีส่วนประกอบทางเคมีตามที่แสดงในตารางที่ 7 ซึ่งสารสำคัญที่เป็น standard marker ในน้ำมันตะไคร้คือ Z-citral และ E-citral และเมื่อเปรียบเทียบกับ chromatogram ของ standard marker ดังแสดงในรูปที่ 7 พบว่า Z-citral และ E-citral มี retention time ที่ 23.8 และ 25.3 นาทีตามลำดับซึ่งตรงกับสารสำคัญหลักในน้ำมันตะไคร้

การวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาด้วย GC-MS พบว่าน้ำมันโหระพามี chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 8 และมีส่วนประกอบทางเคมีตามที่แสดงในตารางที่ 8 ซึ่งสารสำคัญที่เป็น standard marker ในน้ำมันตะไคร้คือ methyl chavicol และเมื่อเปรียบเทียบกับ chromatogram ของ standard marker ดังแสดงในรูปที่ 9 methyl chavicol มี retention time ที่ 18.2 นาทีซึ่งตรงกับสารสำคัญหลักในน้ำมันโหระพา

รูปที่ 6 Chromatogram ของน้ำมันตะไคร้



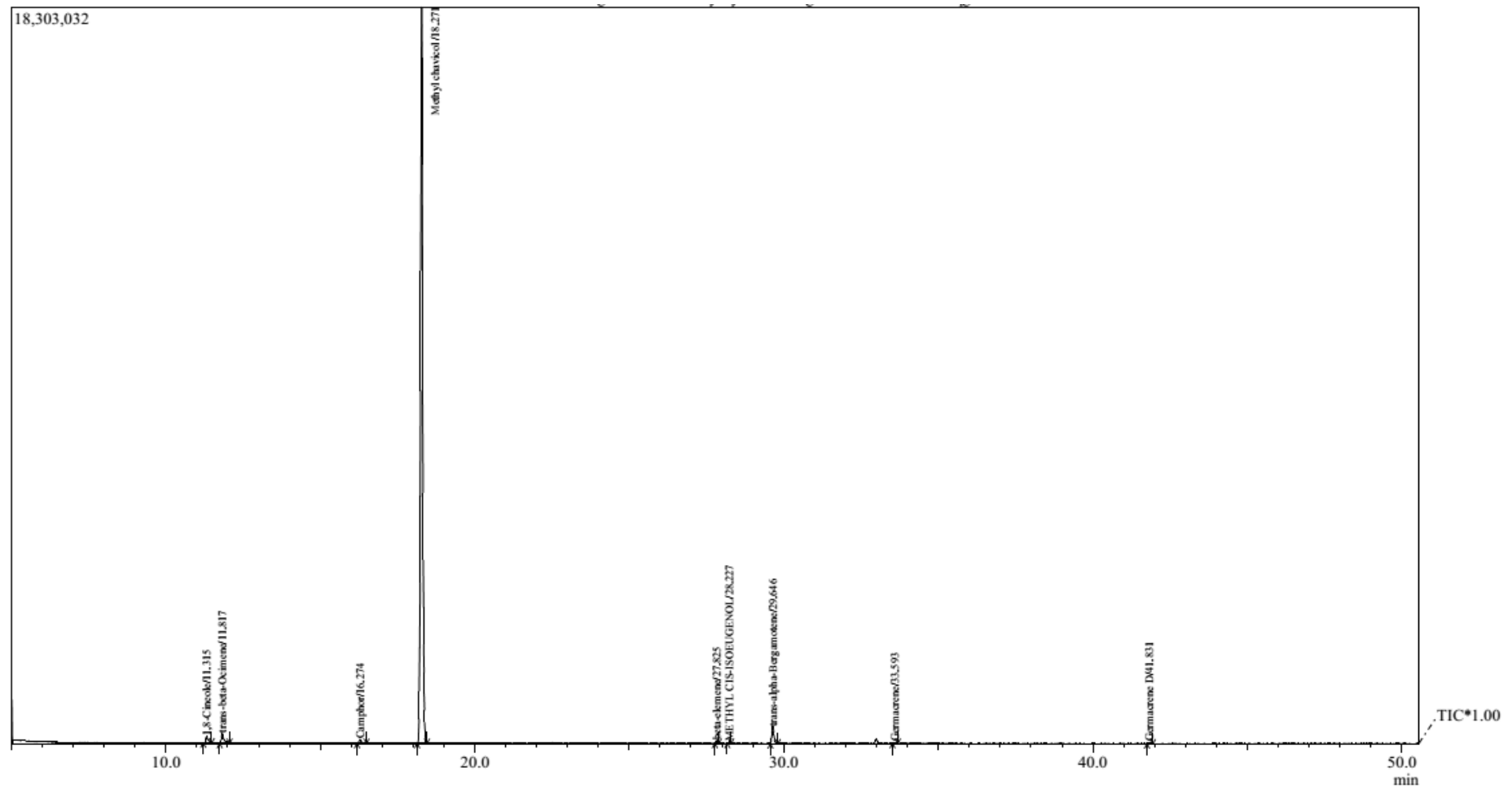
รูปที่ 7 Chromatogram ของ Citral ซึ่งประกอบด้วย Z-citral และ E-citral



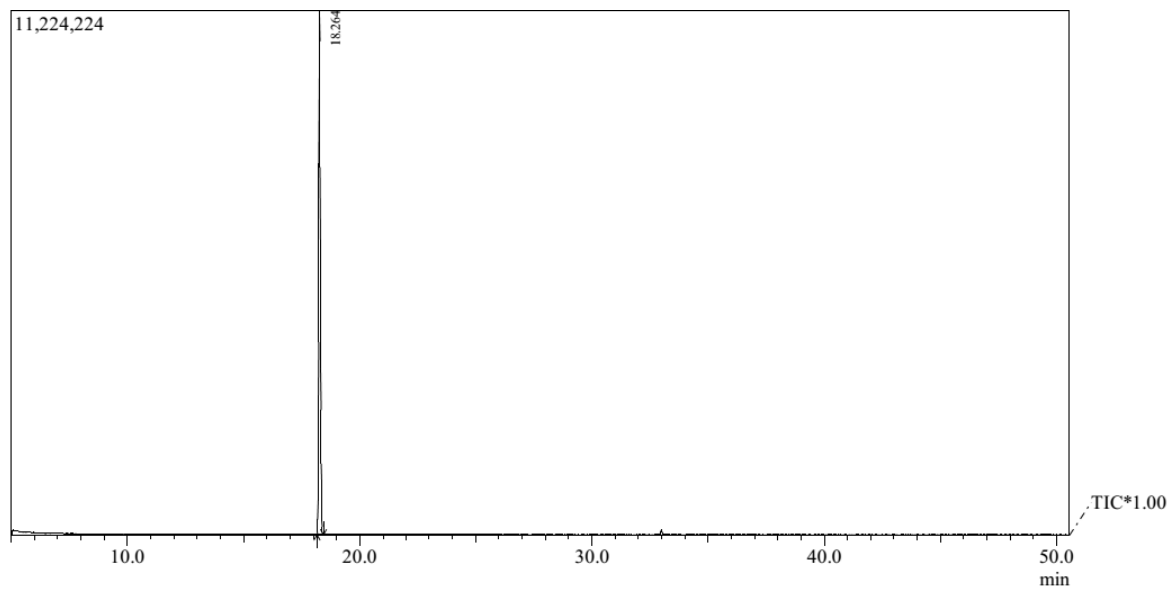
ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันตะไคร้เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS

Peak#	Retention time (min)	Area%	Name
1	11.233	8.82	beta-Myrcene
2	20.963	1.78	Limonene oxide
3	23.843	32.07	Z-citral or Neral
4	24.435	1.96	Geraniol
5	25.303	54.80	E-citral or Geranial
6	30.521	0.57	Geranyl acetate

รูปที่ 8 Chromatogram ของน้ำมันโหระพา



รูปที่ 9 Chromatogram ของ Methyl chavicol



ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันโหระพาเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS

Peak#	Retention time (min)	Area%	Name
1	11.315	1.01	1,8-Cineole
2	11.817	1.58	trans-beta-Ocimene
3	16.274	0.56	Camphor
4	18.271	94.06	Methyl chavicol
5	27.825	0.29	Beta-Elemene
6	28.227	0.16	Methyl cis-isoeugenol
7	29.646	2.00	trans-alpha-Bergamotene
8	33.593	0.16	Germacrene
9	41.831	0.18	Germacrene D

3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันโหระพา

เตรียมน้ำมันตะไคร้และน้ำมันโหระพาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นโดยใช้ hexane GC grade ในการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นดังกล่าว จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS จากนั้นคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญที่เป็น standard marker แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้กราฟ

ผลการทดลอง

จากค่าพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในน้ำมันตะไคร้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 9 สามารถนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกับพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญดังแสดงในรูปที่ 10 และสามารถสร้างเป็นสมการได้ดังนี้

น้ำมันตะไคร้ – Z-citral

$$y = 547,605.6037x - 4,630,316.8398$$

$$R^2 = 0.9958$$

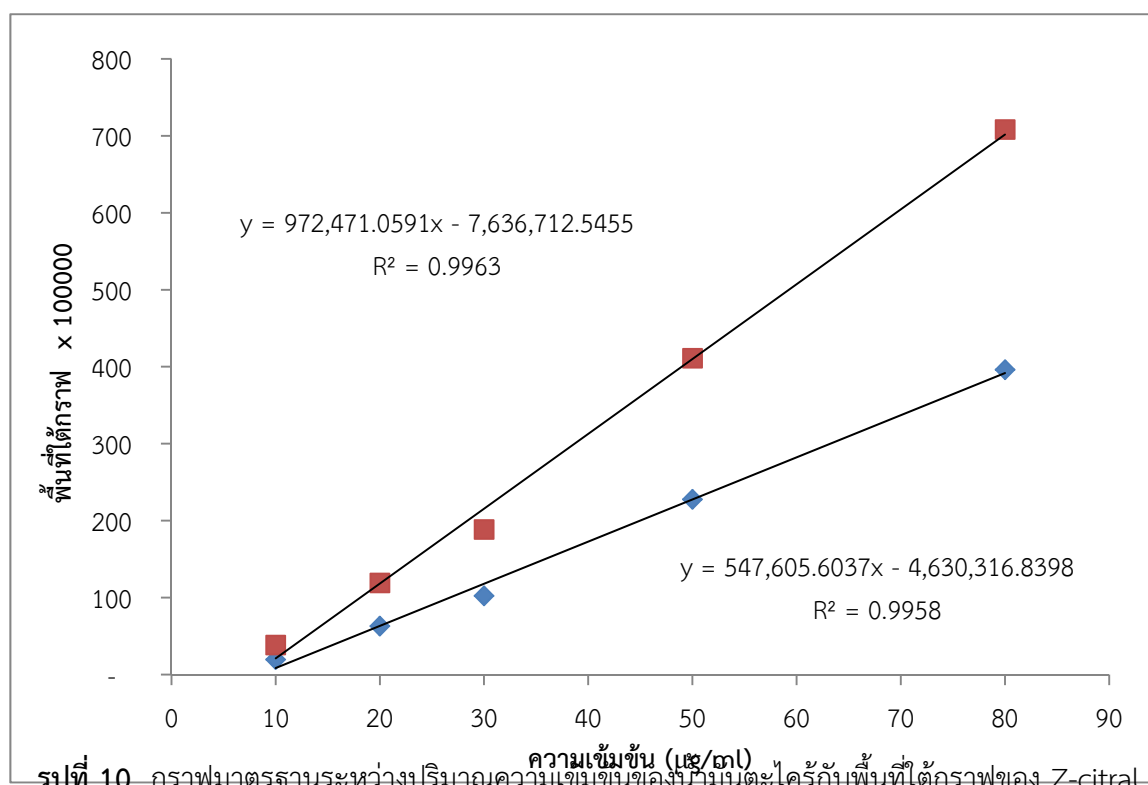
น้ำมันตะไคร้ – E-citral

$$y = 972,471.0591x - 7,636,712.5455$$

$$R^2 = 0.9963$$

ตารางที่ 9 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ได้กราฟของ Z-citral และ E-citral

ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ได้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ได้กราฟของ E-citral
10	1,966,490	3,849,649
20	6,307,077	11,922,058
30	10,234,045	18,864,577
50	22,770,660	41,112,362
80	39,615,209	70,837,294



จากค่าพื้นที่ได้กราฟของ methyl chavicol ในน้ำมันโหระพาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 10 สามารถนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกับพื้นที่ได้กราฟของสารสำคัญดังแสดงในรูปที่ 11 และสามารถสร้างเป็นสมการได้ดังนี้

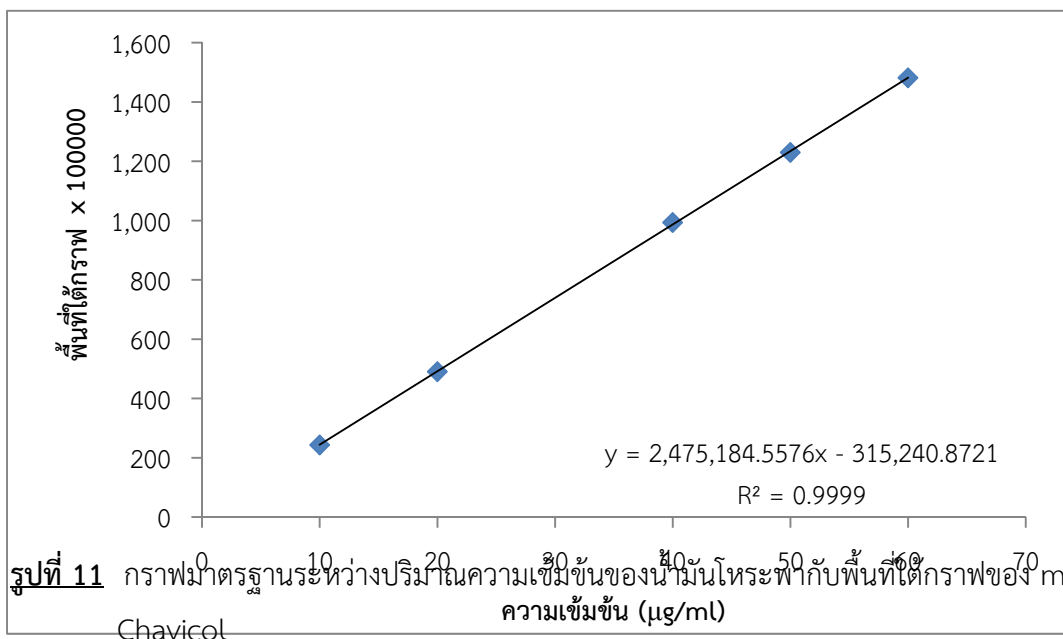
น้ำมันโหระพา – Methyl chavicol

$$y = 2,475,184.5576x - 315,240.8721$$

$$R^2 = 0.9999$$

ตารางที่ 10 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol

ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
10	24,366,707
20	49,036,018
40	99,384,939
50	123,017,594
60	148,151,749



3.3 สรุปผลการทดลอง

ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี GC-MS เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของตำรับผลิตภัณฑ์ พบว่า ตำรับที่มีน้ำมันโหระพาเป็นส่วนประกอบจะใช้ methyl-chavicol เป็นสารมาตรฐานในการอ้างอิง ส่วนตำรับที่มีน้ำมันตะไคร้จะใช้ citral เป็นสารมาตรฐานในการอ้างอิง ซึ่งการทดสอบดังกล่าวนี้จะนำมาใช้เพื่อตรวจสอบความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยในตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับต่างๆ ในการทดลองขั้นต่อไป

บทที่ 4

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำยาล้างผักและผลไม้

เมื่อได้ดำนํ้ายาล้างผักและผลไม้สูตรต่างๆแล้ว ผลิตภัณฑ์ทั้งหมดได้ถูกนำมาทดสอบเพื่อตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารที่อาจปนเปื้อนได้ โดยทำการทดลองดังต่อไปนี้

4.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำยาล้างผักและผลไม้ด้วยวิธี disc diffusion

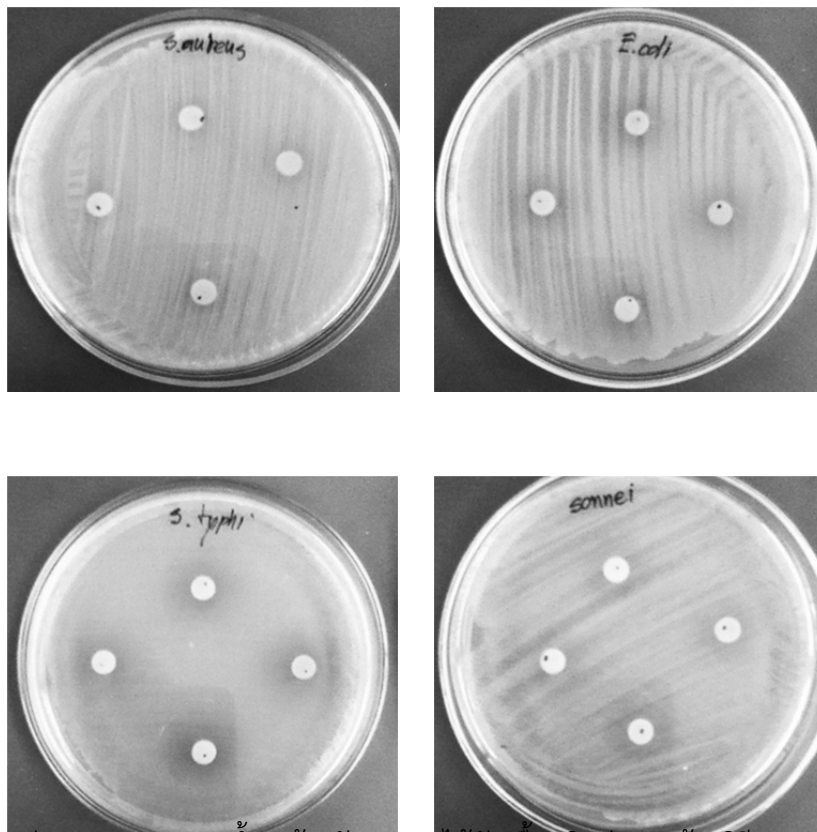
ในงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในทางเดินอาหาร (Food borne pathogens) คือ *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ซึ่งประกอบด้วย *S. enterica* serovar *Choleraesuis*, *S. enterica* serovar *Typhi*, *S. enterica* serovar *Typhimurium* และ *Shigella sonnei* นอกจากนี้ยังมี *Staphylococcus aureus* โดยเชื่อดังกล่าวนี้นํามาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth (TSB) ซึ่งใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อประมาณ 24 ชั่วโมง ที่ 37°C ก่อนนำมาทำการทดสอบ

น้ำยาล้างผักและผลไม้จะถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี disc diffusion โดยหลักการของวิธีนี้คืออาศัยหลักการแพร่ของสารเพื่อไปยับยั้งเชื้อ โดยทำการทดสอบดังนี้

1. เตรียมแผ่นยาเปลา่มาตรฐานซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หยอดน้ำยาล้างผักและผลไม้ในสูตรต่าง ๆ ลงไป โดยอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบฤทธิ์คือ Mueller Hinton medium (MHA) เป็น agar base
2. ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ตามค่ามาตรฐานคือที่ McFarland 0.5 (ประมาณ 10^8 cfu/ml) แล้วใช้ cotton swab เชื้อลงไปบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. หลังจาก swab เชื้อแล้วภายใน 30 นาที จะต้องนำแผ่นยาที่หยอดน้ำยาล้างผักและผลไม้แล้ว มาวางบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการลงเชื้อไว้แล้วด้วยวิธี aseptic technique โดยใน 1 เพลทจะวางแผ่นยาไม่เกิน 5 แผ่น
4. นำไปบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อนั้นๆ ที่ อุณหภูมิ 37°C 18 – 24 ชั่วโมงการอ่านค่า ผลการทดลองจะดูจากขนาดของวงใสที่เกิดขึ้นเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบด้วยวิธีการ disc diffusion โดยใช้ปริมาณน้ำยาล้างผักและผลไม้ พบว่าไม่มีน้ำยาล้างผักและผลไม้สูตรใดสามารถยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้ง 6 ชนิดได้ (รูปที่ 12) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าใช้ปริมาณน้ำยาล้างผักและผลไม้ไม่เพียงพอ จึงไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ หรือเกิดการแพร่ได้น้อยเนื่องจากสูตรน้ำยามีความหนืด ดังนั้นการจะเพิ่มปริมาณทดสอบโดยหยดลงบนแผ่นยามาตรฐานแล้วทำการทดสอบด้วยวิธีเดิมนั้นอาจไม่เหมาะสม จึงได้ปรับเปลี่ยนวิธีการทดสอบเป็นวิธี agar diffusion ในการทดลองที่ 4.2



รูปที่ 12 ตัวอย่างผลการทดสอบน้ำยาล้างผักและผลไม้กับเชื้อชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี disc diffusion

4.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้ด้วยวิธี agar diffusion

น้ำยาล้างผักและผลไม้จะถูกนำมาตรวจดูฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี agar diffusion โดยหลักการของวิธีนี้คือ อาศัยหลักการแพร่ของสารเพื่อไปยับยั้งเชื้อเช่นเดียวกับวิธี disc diffusion แต่สามารถทดสอบกับปริมาณของตัวอย่างได้มากขึ้นโดยวิธีการทดสอบเป็นดังนี้

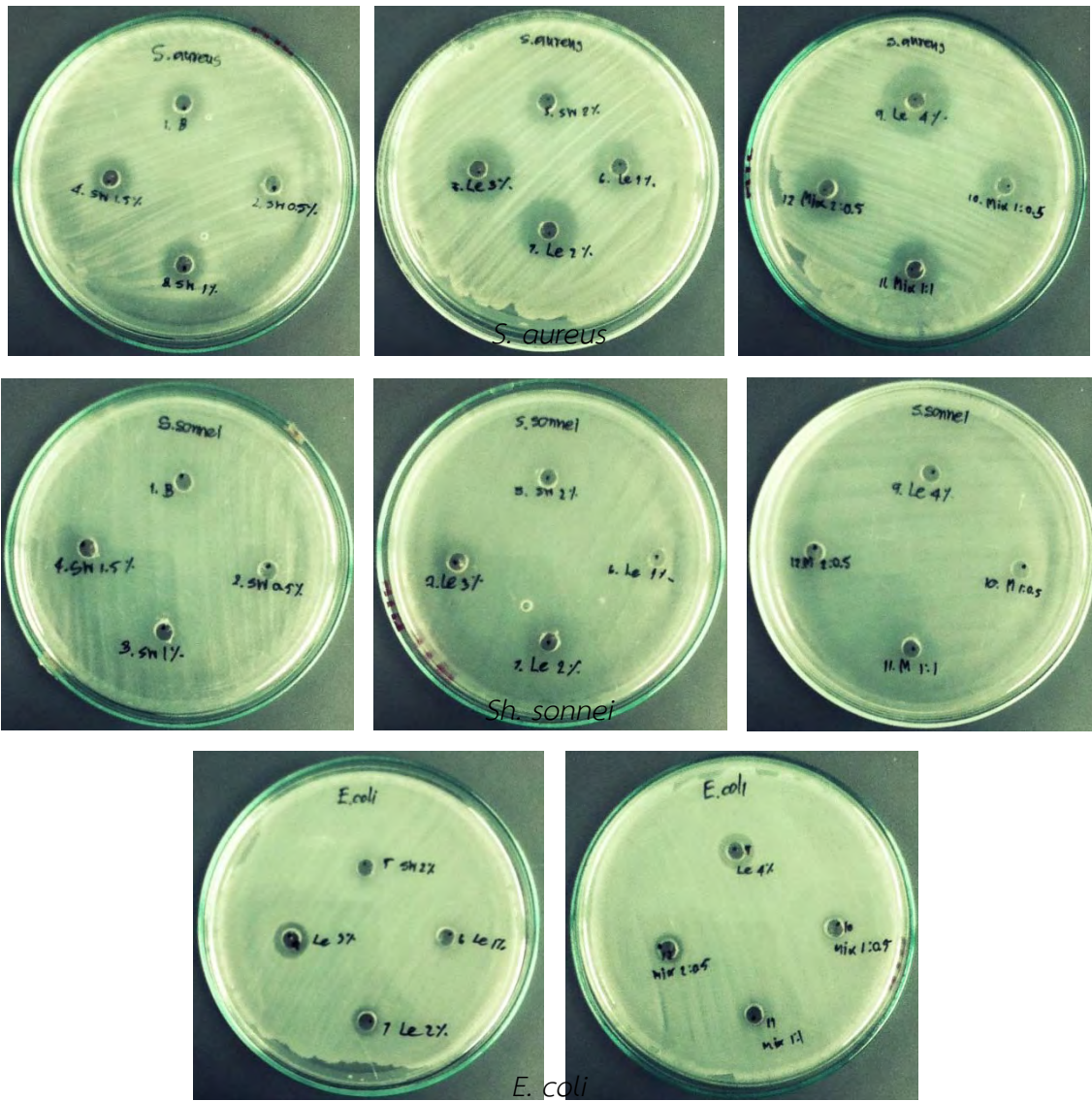
1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบฤทธิ์คือ Mueller Hinton medium (MHA) ที่เป็น agar base
2. ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ตามค่ามาตรฐานคือที่ McFarland 0.5 (ประมาณ 10^8 cfu/ml) แล้วใช้ cotton swab เชื้อลงไปในผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. หลังจากเตรียมเชื้อและผิวหน้าอาหารแห้งดีแล้ว ใช้ cork borer ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรและผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการเผาไฟ หลังจาก cork borer เย็นแล้ว ใช้เจาะลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้ว หลังจากนั้นใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยวิธีเดียวกันมาคีบอาหารส่วนที่เจาะออก
4. หลังจาก swab เชื้อและเจาะหลุมแล้วภายใน 30 นาที จะต้องหยอดน้ำยาล้างผักและผลไม้ในสูตรต่าง ๆ ลงไป โดยใน 1 เฟลทจะทำไม่เกิน 5 หลุม
5. นำไปบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อนั้นๆ ที่ อุณหภูมิ 37°C 18–24 ชั่วโมงการอ่านค่าผลการทดลองจะดูจากขนาดของวงใสที่เกิดขึ้นเทียบกับยามาตรฐานและผลิตภัณฑ์น้ำยาที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ผลการทดลอง

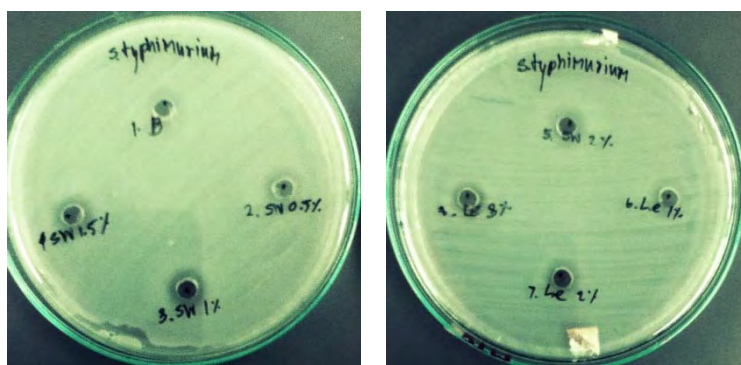
ในการทดสอบใช้หลักการเช่นเดียวกับวิธี disc diffusion แต่วิธีทดสอบนี้สามารถเพิ่มปริมาณของสารทดสอบได้มากขึ้น โดยในการทดลองนี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 1 ชนิด ซึ่งพบว่าการใช้ปริมาณของน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่เพิ่มขึ้นนั้น ทำให้สามารถยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ดีขึ้น โดยน้ำยาล้างผักและผลไม้จะมีประสิทธิภาพที่ดีกับ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเพียงชนิดเดียวในกลุ่มเชื้อที่ทดสอบ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่พัฒนาขึ้นนี้มีสารออกฤทธิ์ที่เป็นในกลุ่มน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีความสามารถในการละลายและแพร่ไปในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีส่วนประกอบหลักเป็นน้ำได้ต่ำ ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของน้ำยาล้างผักและผลไม้ นั้นจึงมีขนาดเล็ก ดังนั้นในการทดสอบนี้จึงไม่อาจบ่งชี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้ได้ดีนัก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของโซนใสของเชื้อ *S. aureus* ต่อน้ำยาล้างผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 11 และภาพแสดงผลการทดลองการทำ agar diffusion ต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 13

ตารางที่ 11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของน้ำยาล้างผักทั้ง 12 ชนิดต่อเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี agar diffusion

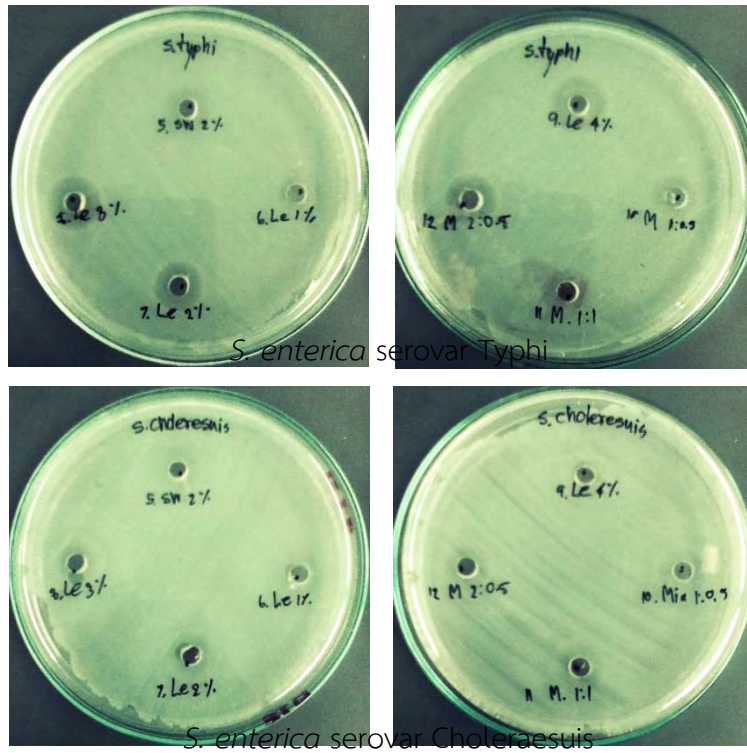
ชนิดของน้ำยาล้างผักและผลไม้	เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(mm)	
	10 μ l	20 μ l
Sweet basil 0.5 % w/w	-	7.0
Sweet basil 1.0 % w/w	7.0	7.2
Sweet basil 1.5 % w/w	-	7.2
Sweet basil 2.0 % w/w	-	7.7
Lemon grass 1.0 % w/w	-	8.8
Lemon grass 2.0 % w/w	8.3	11.2
Lemon grass 3.0 % w/w	9.7	12.2
Lemon grass 4.0 % w/w	11.7	14.8
Mix 1:0.5	-	8.4
Mix 1:1	-	8.4
Mix 2:0.5	9.3	11.5



รูปที่ 13 ตัวอย่างผลการทดสอบน้ำยาล้างผักและผลไม้ต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี agar diffusion



S. enterica serovar Typhimurium



รูปที่ 13 (ต่อ) ตัวอย่างผลการทดสอบน้ำยาล้างผักและผลไม้ต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี agar diffusion

4.3 การหาค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) และ MBC (Minimum bactericidal concentration) ของน้ำยาล้างผักและผลไม้ด้วยวิธี broth dilution

จากผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นด้วยวิธี diffusion ในแบบต่างๆนั้น อาจไม่เหมาะสมต่อการรับที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ ดังนั้น จึงทำการทดสอบเพิ่มโดยน้ำยาล้างผักและผลไม้จะถูกนำมาเจือจางเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี broth dilution และทำการอ่านผลเพื่อหาค่า MIC จากนั้นทำการทดลองเพื่อหาค่า MBC โดยทำตามวิธีดังนี้

1. ทำการเจือจางน้ำยาล้างผักและผลไม้ให้ได้ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1:3.125, 1:6.25, 1:12.5, 1:25, 1:50, 1:100 และ 1:200
2. ปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้ประมาณ 0.2 ที่ 600 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer (มีเชื้อประมาณ 10^8 cfu/ml) แล้วนำไปเจือจางก่อนหยดลงในแต่ละหลุมทดสอบและให้มีเชื้ออยู่ที่ประมาณ 10^5 cfu/well ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นสุดท้ายของแต่ละหลุมเป็น 1:6.25, 1:12.5, 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 และ 1:400 ตามลำดับ
3. นำไปบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื่อนั้นๆ ที่ อุณหภูมิ 37°C 18 – 24 ชั่วโมงการอ่านค่าผลการทดลองจะดูจากความขุ่นของสารละลายในแต่ละหลุม โดยหลุมที่มีความเข้มข้นของน้ำยาล้างผักและผลไม้ต่ำที่สุดและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ จะอ่านค่าของหลุมดังกล่าวเป็นค่า MIC โดยในการทดสอบนี้จะมีการเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์น้ำยาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดด้วย
4. การหาค่า MBC ทำได้โดยการนำสารละลายในหลุมที่ใสมาทดสอบต่อโดยการ streak สารละลายนั้นลงบน MHA แล้วนำไปบ่มในสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื่อนั้นๆ ที่อุณหภูมิ 37°C 18–24 ชั่วโมง โดยสังเกตผลโดยดูจากการเจริญของเชื้อ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้คือค่า MBC

ผลการทดลอง

การทดลองนี้ทำโดยการเจือจางปริมาณของน้ำยาล้างผักและผลไม้ลงตามลำดับ จากนั้นจะเติมเชื้อที่ทำการทดสอบลงในหลุมที่ทดสอบเท่า ๆ กันทุกหลุม เพื่อหาระดับความเข้มข้นของน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยได้ทดสอบดูระดับความสามารถของน้ำยาล้างผักและผลไม้ หลังจากนั้นจะมีการนำสารละลายที่ทดสอบมาหาค่าความเข้มข้นของน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่สามารถฆ่าเชื้อได้ โดยในการทดลองนี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบแปรตามความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ และพบว่าผลที่ได้เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีค่า MIC และ MBC ค่อนข้างดีกว่าอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบของน้ำยาล้างผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ใช้ทดสอบ

ชนิดของน้ำยา	เชื้อทดสอบ	MIC	MBC
1. Sweet basil 0.5% w/w	<i>E. coli</i>	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:6.25	1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:100	>1:50
	<i>S. aureus</i>	1:100	>1:50
2. Sweet basil 1% w/w	<i>E. coli</i>	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:6.25	1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:100	>1:50
	<i>S. aureus</i>	1:200	>1:100
3. Sweet basil 1.5% w/w	<i>E. coli</i>	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:12.5	1:12.5
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:25	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:100	>1:50
	<i>S. aureus</i>	1:100	>1:50
4. Sweet basil 2% w/w	<i>E. coli</i>	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:25	1:25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:12.5	1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:100	>1:50
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:50

ชนิดของน้ำยา	เชื้อทดสอบ	MIC	MBC
5. Lemongrass 1% w/w	<i>E. coli</i>	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:25	1:25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:6.25	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:200	1:100
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:100
6. Lemongrass 2% w/w	<i>E. coli</i>	1:25	1:12.5
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:50	1:50
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:25	1:12.5
	<i>Sh. sonnei</i>	1:200	1:100
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:200
7. Lemongrass 3% w/w	<i>E. coli</i>	1:50	1:50
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:12.5	1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:50	1:50
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:50	1:25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:200	1:200
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:200
8. Lemongrass 4% w/w	<i>E. coli</i>	1:100	1:50
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:25	1:12.5
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:100	1:100
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:50	1:25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:400	1:400
	<i>S. aureus</i>	1:400	1:400
9 . Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 0.5 %w/w (Mix 1:0.5)	<i>E. coli</i>	1:12.5	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:25	1:25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:12.5	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:100	1:50
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:200
10. Lemongrass oil 1.0 %w/w + Sweet basil oil 1.0 %w/w (Mix 1:1)	<i>E. coli</i>	1:12.5	1:12.5
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	1:25	1:25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:12.5	1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:200	1:100
	<i>S. aureus</i>	1:200	1:100
11. Lemongrass oil 2.0	<i>E. coli</i>	1:25	1:25

ชนิดของน้ำยา	เชื้อทดสอบ	MIC	MBC
%w/w + Sweet basil oil	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	1:12.5	1:6.25
0.5 %w/w	<i>S. enterica</i> Typhi	1:50	1:50
(Mix 2:0.5)	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:12.5	1:12.5
	<i>Sh. sonnei</i>	1:200	1:100
	<i>S. aureus</i>	1:400	1:100
12. Preparation without oil	<i>E. coli</i>	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	1:50	>1:25
	<i>S. aureus</i>	1:100	>1:50
13. Commercially available Product A	<i>E. coli</i>	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Cholerasuis	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhi	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. enterica</i> Typhimurium	1:12.5	>1:6.25
	<i>Sh. sonnei</i>	>1:6.25	>1:6.25
	<i>S. aureus</i>	1:50	1:12.5

4.4 การทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้โดยเลียนแบบการใช้งานจริง

การศึกษานี้จะใช้ตัวอย่างผักที่ซื้อมาจากตลาดสด ทำการเติมแบคทีเรียที่ทราบปริมาณ แล้วทำไปแช่ในน้ำยาล้างผักที่ทำการเจือจางแล้วที่ระยะเวลาต่างๆ หลังจากนั้นทำการสุ่มตรวจหาปริมาณเชื้อคงเหลือ เพื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารล้างผักและผลไม้ที่พัฒนาขึ้นเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายทางการค้า 2 ชนิด ดังนี้

วิธีการทดลอง

1. ทำการล้างผักกาดหอมให้ได้อยู่ในช่วง 4-5 กรัม
2. เติมเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ที่ปรับความเข้มข้นจนมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^6 CFU/ml ลงบนใบผัก
3. นำมาทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมในการแช่ผัก โดยใช้อัตราส่วนในการทำละลายน้ำยาล้างผักและผลไม้ชนิดต่างๆ เท่ากับ 1:100 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เลือกเพื่อแนะนำให้ใช้จริง ส่วนน้ำยาล้างผักที่มีจำหน่ายทางการค้า จะใช้ปริมาณตามคำแนะนำบนฉลาก
4. จากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทดสอบการหาปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในใบผักที่เวลา 0, 5, 10, 20, และ 30 นาที ด้วยวิธี total plate count
 - วิธีการหาปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในใบผัก
 - นำใบผักที่ผ่านการแช่น้ำยาล้างผัก มาตัดขนาดให้เป็นชิ้นเล็ก
 - หลังจากนั้นนำสารละลาย 1% peptone 50ml ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ มาผสมกับใบผักที่ตัดเรียบร้อยแล้ว แล้วจึงผสมให้เข้ากันด้วยวิธีเขย่า (ทำโดยวิธีการทำให้ปลอดเชื้อ)
 - ดูดตัวอย่างด้วย micro-pipette ปริมาตร 100 μ l มาทำการเจือจาง ด้วยวิธี serial two-fold dilution ด้วยสารละลาย 0.9% NaCl
 - นำตัวอย่างที่ผ่านการทำการเจือจางที่ dilution ต่างมาทำการหาปริมาณเชื้อด้วยวิธี total plate count โดยใช้เทคนิค spread plate ลงบน TSA plate
5. หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วจึงนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น เพื่อหาปริมาณ CFU/ml ต่อไป

** ทำการหาปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในผักโดยไม่ผ่านการแช่น้ำยาล้างผัก เพื่อใช้เป็น control

ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยการศึกษาที่สภาวะเลียนแบบการใช้งานจริง โดยจากผลการทดลองพบว่า ตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่มีส่วนประกอบของ sweet basil oil 2% สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดหลังจากผ่านการแช่ ไป 20 นาที ซึ่งลดไปถึง 3.01 log₁₀CFU/ml ส่วนตำรับที่มีส่วนประกอบของ lemongrass oil 4% สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดหลังจากผ่านการแช่ไป 20 นาที ซึ่งลดไปถึง 2.83 log₁₀CFU/ml ส่วนตำรับที่เป็นสูตรผสมระหว่าง Lemongrass oil 2% และ Sweet basil oil 0.5% ในอัตราส่วน 2:0.5 สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดหลังจากผ่านการแช่ ไป 30 นาที ซึ่งลดไปถึง 2.66 log₁₀CFU/ml

นอกจากนี้ ในการศึกษายังได้ทำการทดสอบกับน้ำยาล้างผักที่มีจำหน่ายทางการค้าอีก 2 ชนิด ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์ A สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดเพียง 1.45 log₁₀CFU/ml หลังจากผ่านการแช่ ไป 30 นาที และผลิตภัณฑ์ B สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุดหลังจากผ่านการแช่ ไป 20 นาที คิดเป็น 2.24 log₁₀CFU/ml (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อของน้ำยาล้างผักและผลไม้

ตำรับ	Log ₁₀ CFU/ml				
	0 นาที	5 นาที	10 นาที	20 นาที	30 นาที
Sweet basil oil 2%	7.32	6.11	5.45	4.31	4.75
Lemongrass oil 4%	7.32	5.66	4.75	4.49	5.26
Lemongrass oil 2% + Sweet basil oil 0.5%	7.32	6.01	5.57	5.89	4.66
Commercially available product A	7.32	6.12	6.57	6.32	5.87
Commercially available product B	7.32	6.40	5.73	5.08	6.96

4.5 สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารของตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้สูตรต่างๆ พบว่า การทดสอบด้วยวิธี broth dilution ให้ค่าที่มีความน่าเชื่อถือและยังบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักและผลไม้ในเชิงปริมาณ จึงเลือกใช้วิธีทดสอบนี้ในการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในการทดลองขั้นต่อไป นอกจากนี้จากผลการทดลองที่ได้ จะเห็นได้ว่า ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารของตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้จะดีขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหยขึ้น จึงทำการคัดเลือกสูตรตำรับเพื่อนำไปปรับปรุงและทดสอบความคงตัวดังต่อไปนี้

น้ำมันโหระพา 2% w/w

น้ำมันตะไคร้ 3% และ 4% w/w

- สูตรผสม
- 1) น้ำมันตะไคร้ 1% และน้ำมันโหระพา 1% w/w
 - 2) น้ำมันตะไคร้ 2% และน้ำมันโหระพา 0.5% w/w

บทที่ 5

การประเมินความคงตัวของตำรับน้ำยาล้างผักจากน้ำมันหอมระเหย

5.1 การเตรียมตำรับน้ำยาล้างผักจากน้ำมันหอมระเหย

5.1.1 สูตรตำรับ

สูตรที่ 1		สูตรที่ 2	
ส่วนประกอบ	ปริมาณ	ส่วนประกอบ	ปริมาณ
น้ำมันหอมระเหย	XXX %w/w	น้ำมันหอมระเหย	XXX %w/w
Decylglucoside	20 %w/w	Decylglucoside	20 %w/w
PEG 400	8 %w/w	PEG 400	10 %w/w
PEG 4000	2 %w/w	Xanthan gum	0.2 %w/w
Glycerin	20 %w/w	Glycerin	20 %w/w
Cremophor RH-40	10 %w/w	Cremophor RH-40	10 %w/w
Paraben concentrates	1 %w/w	Paraben concentrates	1 %w/w
0.1 M Citric buffer solution	pH 6.5	0.1 M Citric buffer solution	pH 6.5
Water	q.s. to 100 g	Water	q.s. to 100 g

ตารางที่ 14 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยในตำรับ

ชนิดน้ำมันหอมระเหย	สูตรที่ 1					สูตรที่ 2		
	ตำรับ 1	ตำรับ 2	ตำรับ 3	ตำรับ 4	ตำรับ 5	ควบคุม 1	ตำรับ 6	ควบคุม 2
น้ำมันตะไคร้	3%w/w	4%w/w	-	1%w/w	2%w/w	-	-	-
น้ำมันโหระพา	-	-	2%w/w	1%w/w	0.5%w/w	-	2%w/w	-

5.1.2 วิธีเตรียมตำรับ (7-9)

สูตรที่ 1

Phase 1

1. ละลายcitric acid anhydrous และ trisodium citrate ในน้ำปริมาณ3/4 ของปริมาตรน้ำทั้งหมดเพื่อเตรียมเป็นสารละลาย citrate buffer
2. ละลาย PEG 400 และ PEG 4000 ในสารละลาย citrate buffer ผสมให้เข้ากันจนได้สารละลายใส
3. เติม glycerin และ decylglucosideผสมให้เข้ากันตามลำดับ

Phase 2

4. ผสมน้ำมันหอมระเหยใน Cremophor RH-40
5. ค่อยๆ เทสาร phase 1 ลง phase 2 ทีละน้อยและคนจนได้สารเป็นเนื้อเดียวกัน
6. เติม paraben concentratesลงไป ผสมให้เข้ากัน
7. ปรับน้ำหนักตำรับด้วยน้ำจนได้น้ำหนักสุดท้ายที่ต้องการ

สูตรที่ 2

Phase 1

1. ละลายPEG 400 กับน้ำปริมาณ 1/4 ของปริมาตรน้ำทั้งหมด
2. เติม glycerin และ decylglucoside ผสมให้เข้ากันตามลำดับ

Phase 2

3. โปรรี xanthan gum ลงในน้ำอุณหภูมิประมาณ 70-90 °Cปริมาณ 2/4 ของปริมาตรน้ำทั้งหมด คนด้วยแท่งแก้วจน xanthan gum พองตัวเต็มที่จะได้สารที่ข้นหนืด
4. ค่อยๆ เทสาร phase 1 ลง phase 2 ทีละน้อยและคนจนได้สารเป็นเนื้อเดียวกัน

Phase 3

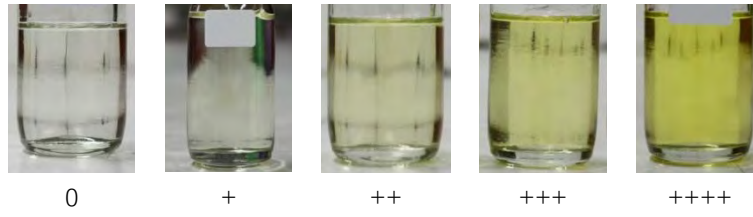
5. ผสมน้ำมันหอมระเหยใน Cremophor RH-40
6. ผสมสาร phase 1, 2 และ 3 เข้าด้วยกัน และคนจนได้สารเป็นเนื้อเดียวกัน
7. เติม paraben concentrates ลงไป ผสมให้เข้ากัน
8. ปรับน้ำหนักตำรับด้วยน้ำจนได้น้ำหนักสุดท้ายที่ต้องการ
9. ปรับ pH ด้วย citric acid monohydrate ให้ได้ pH 6.5

5.2 การประเมินความคงตัวทางกายภาพของตำรับ

ผลิตภัณฑ์ทั้งหมดถูกบรรจุในภาชนะขวดแก้วกันแสงขนาด 50 มิลลิลิตร และถูกเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ ที่ 3 สภาวะการทดสอบ ได้แก่ ที่อุณหภูมิและความชื้น 5 ± 3 °C, 30 ± 5 °C และ 45 ± 2 °C / 75 ± 5 %RH เป็นระยะเวลา 4 เดือน จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในเดือนที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 ดังนี้

5.2.1 การสังเกตลักษณะของตำรับด้วยตาเปล่า ได้แก่

5.2.1.1 สีแบ่งเกณฑ์การประเมินดังนี้



5.2.1.2 ความใสและการเกิดตะกอน



(ใส เป็นเนื้อเดียวกัน) (ขุ่น ไม่มีตะกอน เป็นเนื้อเดียวกัน) (มีตะกอน/แยกชั้น)

ผลการทดลอง

ตำรับ 1 (สูตร 1) น้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 3% w/w

จากการศึกษาความคงตัวของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 3% w/w พบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน อย่างไรก็ตาม พบว่าสีของตำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองอ่อนเพียงเล็กน้อยที่อุณหภูมิ 5 ± 3 และ 30 ± 5 °C และเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นมาก เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 °C/75±5 %RH แสดงในรูปที่ 14

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี	-	+	++	++	++
ความใส/ตะกอน	-	0	0	0	0
$30\pm 5^{\circ}\text{C}$					
สี	+	++	++	++	++
ความใส/ตะกอน	0	0	0	0	0
$45\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี	-	+++	+++	+++	++++
ความใส/ตะกอน	-	0	0	0	0

รูปที่ 14 ลักษณะของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 3%w/w (ตำรับ 1) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับ 2 (สูตร 1) น้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 4% w/w

จากการศึกษาความคงตัวของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 4% w/w พบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน อย่างไรก็ตาม พบว่าสีของตำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองอ่อนเล็กน้อยที่อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, ที่อุณหภูมิ $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ ตำรับเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นปานกลางตั้งแต่เดือนที่ 3 และที่อุณหภูมิ $45\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{RH}$ พบว่าตำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นมากในเดือนที่ 4 แสดงในรูปที่ 15

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี	-	++	++	++	++
ความใส/ตะกอน	-	0	0	0	0
$30\pm 5^{\circ}\text{C}$					
สี	+	++	++	+++	+++
ความใส/ตะกอน	0	0	0	0	0
$45\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี	-	+++	+++	+++	++++
ความใส/ตะกอน	-	0	0	0	0

รูปที่ 15 ลักษณะของตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 4%w/w (ตำรับ 2) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0,1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับ 3 (สูตร 1) น้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2% w/w

จากการศึกษาความคงตัวของตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2% w/w พบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน และสีของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน แสดงในรูปที่ 16

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
5±3°C	-				
สี		+	+	+	+
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0
30±5°C					
สี	+	+	+	+	+
ความใส/ตะกอน	0	0	0	0	0
45±3°C	-				
สี		+	+	+	+
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0

รูปที่ 16 ลักษณะของตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2%w/w (สูตร 1) (ตำรับ 3) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับ 4 (สูตร 1) น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1

จากการศึกษาความคงตัวของตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1 พบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน อย่างไรก็ตาม พบว่าสีของตำรับ

เปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองอ่อนเล็กน้อยที่อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, ที่อุณหภูมิ $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ ดำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นปานกลางตั้งแต่เดือนที่ 3 และที่อุณหภูมิ $45\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{RH}$ พบว่าดำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นมากตั้งแต่เดือนที่ 4 แสดงในรูปที่ 17

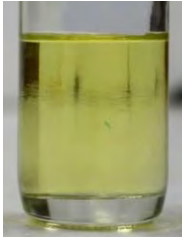
สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี		+	+	++	++
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0
$30\pm 5^{\circ}\text{C}$					
สี	+	++	++	++	+++
ความใส/ตะกอน	0	0	0	0	0
$45\pm 3^{\circ}\text{C}$	-				
สี		++	++	+++	+++
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0

รูปที่ 17 ลักษณะของดำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1 (ดำรับ 4) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ดำรับ 5 (สูตร 1) น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5

จากการศึกษาความคงตัวของดำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5 พบว่าทุกดำรับมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน อย่างไรก็ตาม พบว่าสีของดำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองอ่อนเล็กน้อยที่อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, ดำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นปานกลางในเดือนที่ 4

ที่อุณหภูมิ $30\pm5^{\circ}\text{C}$ และที่อุณหภูมิ $45\pm2^{\circ}\text{C}/75\pm5\% \text{RH}$ พบว่าตำรับเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มขึ้นมาก ตั้งแต่เดือนที่ 3 แสดงในรูปที่ 18

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5\pm3^{\circ}\text{C}$	-				
สี		++	++	++	++
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0
$30\pm5^{\circ}\text{C}$					
สี	+	++	++	++	+++
ความใส/ตะกอน	0	0	0	0	0
$45\pm3^{\circ}\text{C}$	-				
สี		++	+++	++++	++++
ความใส/ตะกอน		0	0	0	0

รูปที่ 18 ลักษณะของตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5 (ตำรับ 5) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับควบคุม 1 (สูตร 1)

จากการศึกษาความคงตัวของตำรับที่ไม่มีน้ำมันผสมพบว่าทุกตำรับมีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีตะกอนตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน ยกเว้นที่อุณหภูมิ $5\pm3^{\circ}\text{C}$ พบการแยกตัวของสารบางตัวในตำรับที่เดือนที่ 4 ลักษณะเป็นของเหลวสีขาวลอยอยู่บริเวณผิว แต่เมื่อเขย่าหรือตั้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าลักษณะตำรับดังกล่าวก็คืนกลับมาเป็นลักษณะตำรับปกติ ซึ่งอาจเกิดจากการที่ Cremophor RH-40เกิดการเปลี่ยนสภาพเมื่ออุณหภูมิลดลง แสดงในรูปที่ 19

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
5±3°C	-				
สี	-	0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	-	+	+	+	++
30±5°C					
สี	0	0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	+	+	+	+	+
45±3°C	-				
สี	-	0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	-	+	+	+	+

รูปที่ 19 ลักษณะของสารละลายสูตร 1 ซึ่งไม่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (ควบคุม 1) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับ 6 (สูตร 2) น้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2% w/w

ลักษณะของตำรับโดยทั่วไปของตำรับโหระพา ความเข้มข้น 2% w/w เป็นเนื้อเดียวกัน ชั้นหนืดโปร่งแสงเนื่องจากมีส่วนผสมของ xanthan และตำรับไม่มีสีจากการศึกษาความคงตัวของตำรับ พบว่าลักษณะของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับเดือนที่ 0 ตลอดการทดสอบที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน แสดงในรูปที่ 20

สภาวะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
-------	------------	------------	------------	------------	------------

5±3°C	-					
สี		0	0	0	0	
ความใส/ ตะกอน	-	+	+	+	+	
30±5°C						
สี	0	0	0	0	0	
ความใส/ ตะกอน	+	+	+	+	+	
45±3°C	-					
สี		0	0	0	0	
ความใส/ ตะกอน	-	+	+	+	+	

รูปที่ 20 ลักษณะของตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2%w/w (สูตร 1) (ตำรับ 6) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, และ 4 เดือน

ตำรับควบคุม 2 (สูตร 2)

ลักษณะของตำรับโดยทั่วไปของตำรับที่ไม่มีน้ำมันผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ชั้นหนืด โปร่งแสงเนื่องจากมีส่วนผสมของ xanthan และตำรับไม่มีสีพบว่าลักษณะของตำรับไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับเดือนที่ 0 แสดงในรูปที่ 21

สถานะ	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
5±3°C	-				
สี		0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	-	+	+	+	+
30±5°C					
สี	0	0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	+	+	+	+	+
45±3°C	-				
สี		0	0	0	0
ความใส/ตะกอน	-	+	+	+	+

รูปที่ 21 ลักษณะของสารละลายสูตร 2 ซึ่งไม่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย (ควบคุม2) ที่สภาวะการทดสอบต่างๆ เป็นเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพจากการประเมินด้วยตาเปล่า ได้แก่ สี ความใส และการเกิดตะกอนสูตร 1 พบว่าลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงมีเพียงสีเท่านั้น ชนิดของน้ำมันและอนุภาคมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของตำรับ โดยตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันตะไคร้จะมีสีเหลืองมากกว่าการนำน้ำมันโหระพาที่

สภาวะอุณหภูมิต่างๆ กล่าวคือสีของตำรับที่มีน้ำมันตะไคร้จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในขณะที่ตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันโหระพาเพียงอย่างเดียว ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสีที่อุณหภูมิทดสอบต่างๆ อย่างไรก็ตามไม่พบการแยกชั้น หรือการเกิดตะกอนในตำรับที่มีน้ำมันตะไคร้หรือโหระพาเป็นส่วนประกอบ สำหรับลักษณะทางกายภาพของตำรับสูตร 2 พบว่า ตำรับมีลักษณะโปร่งแสง ไม่มีสี สภาวะอุณหภูมิต่างๆ ไม่มีผลทำให้ตำรับเปลี่ยนสี หรือเกิดตะกอน ตลอดช่วงการทดลอง

เมื่อการศึกษาการลักษณะทางกายภาพของตำรับเมื่อนำไปเจือจางด้วยน้ำเพื่อให้มีความใกล้เคียงกับสภาวะการใช้งานจริง โดยเจือจางด้วยน้ำ ในอัตราส่วน ตำรับ : น้ำ เท่ากับ 1 : 100 พบว่าตำรับมีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีตะกอน และเป็นเนื้อเดียวกัน (รูปที่ 22) นอกจากนี้เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์พบว่าลักษณะทางกายภาพดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลง

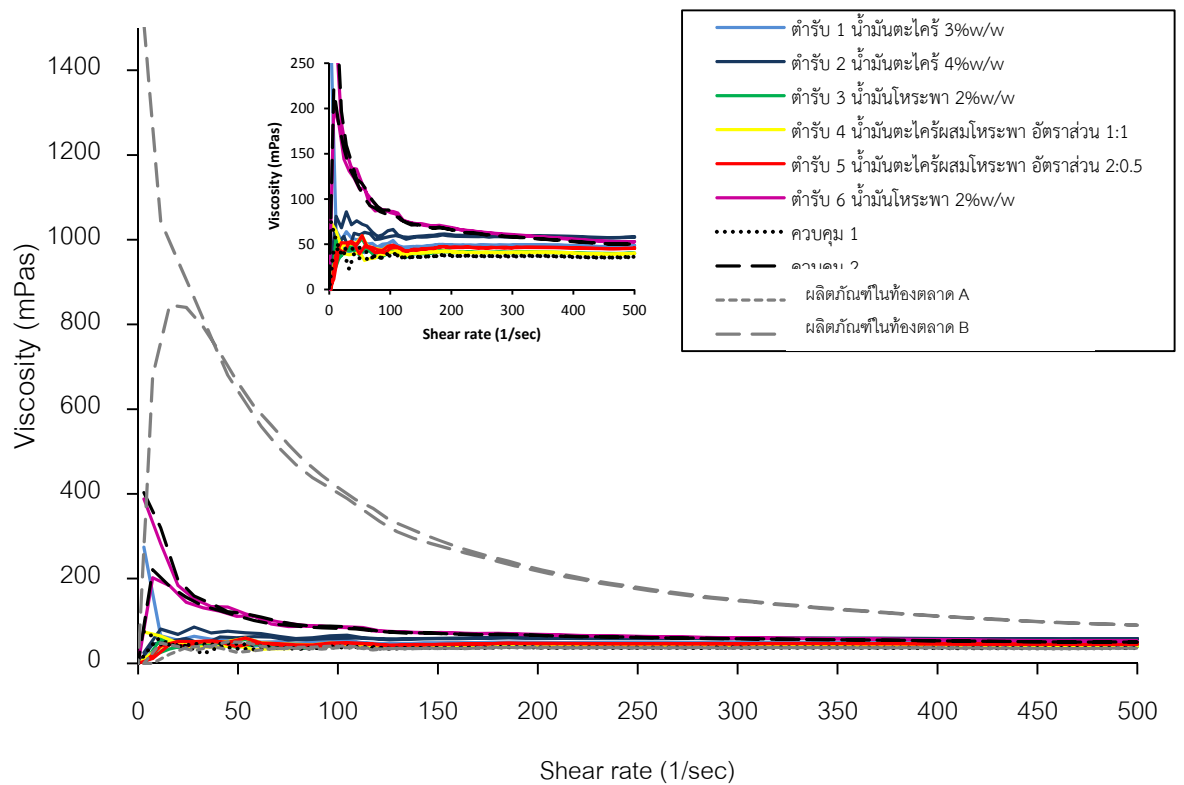


รูปที่ 22 ลักษณะทางกายภาพของทุกตำรับภายหลังที่เจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:100

5.2.2 การศึกษารูปแบบการไหล (flow type) และความหนืด (viscosity)

5.2.2.1 รูปแบบการไหล (flow type)

จากการศึกษารูปแบบการไหลของสาร โดยทดสอบที่ shear rate 0-500 1/sec พบว่าสูตร 1 (ตำรับ 1-5 และควบคุม 1) สารมีความหนืดคงที่เมื่อเพิ่มค่า shear rate ซึ่งมีลักษณะการไหลเป็นแบบนิวโตเนียน (Newtonian) สำหรับสูตร 2 (ตำรับ 6 และควบคุม 2) ซึ่งมี xanthan เป็นส่วนประกอบ พบว่าสารมีความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มค่า shear rate จึงมีลักษณะการไหลแบบ shear thinning และเมื่อทดสอบการไหลขณะเพิ่มและลด shear rate (loop test) พบว่าสารไม่มีความเป็นทิกโซโทรปิก (thixotropic) ต่อมาเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดพบว่า ตำรับ 1 มีลักษณะการไหลคล้ายกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด A คือมีการไหลแบบ Newtonian และมีความหนืดใกล้เคียงกัน (ช่วงค่าความหนืด 40-65 mPas ที่ shear rate 105 sec^{-1}) สำหรับตำรับ 2 มีลักษณะการไหลคล้ายกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด B คือมีการไหลแบบ shear thinning ที่ไม่มีความเป็น thixotropic แต่มีค่าความหนืดต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด B แสดงในตารางที่ 15 และรูปที่ 23



รูปที่ 23 รูปแบบการไหลของดํารับนํ้ามันหอมระเหยและผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด

5.2.2.2 ความหนืด (viscosity)

เมื่อทำการศึกษาความหนืดโดยใช้ viscometer ชนิด cone โดยหยด sample ลงบน sample plate ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 25°C โดยทดสอบที่ shear rate จาก 0 – 500 sec⁻¹ ผลการศึกษาความหนืดของดํารับ พบว่า ความเข้มข้นของนํ้ามัน และชนิดของสารช่วยเพิ่มความหนืด (thickening agent) มีผลต่อค่าความหนืดของดํารับ พบว่าสูตร 1 ที่ใช้ PEG4000 เป็นสาร thickening agent มีความหนืดต่ำกว่าสูตร 2 ที่ใช้ xanthan เป็น thickening agent นอกจากนี้ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของนํ้ามันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด มีสัดส่วนโดยตรงกับการเพิ่มความหนืดของดํารับ ดังแสดงในตารางที่ 16 โดยทุกดํารับมีความหนืดที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์ท้องตลาด B แต่มีความหนืดที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด A ทั้งนี้ไม่สามารถปรับให้ดํารับมีความหนืดที่สูงกว่านี้ได้ เนื่องจากเกิดความไม่เข้ากันระหว่างนํ้ามันกับสารเพิ่มความหนืดในดํารับ

ตารางที่ 15 ค่าความหนืดของตำรับแต่ละชนิดที่มีส่วนผสมต่างกัน และผลผลิตในท้องตลาด

ชนิดตำรับ	ความหนืด (mPas) ^{***}
ตำรับ 1 น้ำมันตะไคร้ 3%w/w (สูตร 1)	53.14±0.77
ตำรับ 2 น้ำมันตะไคร้ 4%w/w (สูตร 1)	62.41±0.25
ตำรับ 3 น้ำมันโหระพา 2%w/w (สูตร 1)	43.37±0.46
ตำรับ 4 น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 1:1 (สูตร 1)	44.24±1.11
ตำรับ 5 น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 2:0.5 (สูตร 1)	53.56±0.41
ตำรับ 6 น้ำมันโหระพา 2%w/w (สูตร 2)	88.36±2.68
ควบคุม 1 (สูตร 1)	40.09±0.46
ควบคุม 2 (สูตร 2)	85.97±1.95
ผลผลิตในท้องตลาด A	451.23 ± 33.57
ผลผลิตในท้องตลาด B	35.77 ±2.10

* Mean ± SD, ** shear rate ที่ใช้ เท่ากับ 105.7 sec⁻¹

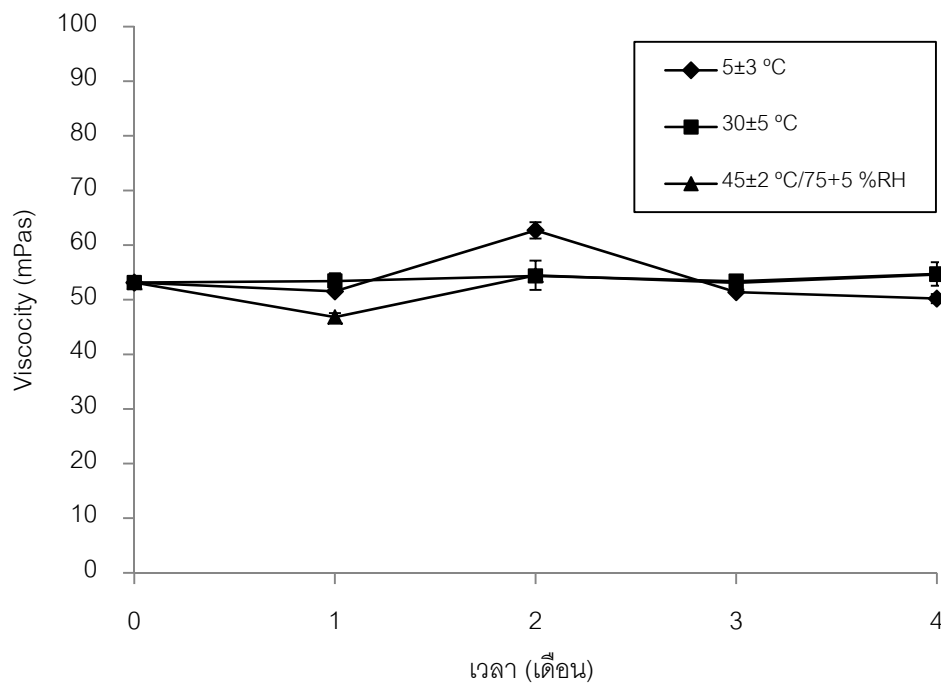
นอกจากนี้ เมื่อทำการศึกษาความหนืดของตำรับที่ถูกเก็บเพื่อทดสอบความคงตัว เมื่อผลผลิตถูกเก็บไว้ที่สภาวะ 5±3°C, 30± 5°C และ 45± 2°C /75± 5 %RH ในเดือนที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 พบว่าค่าความหนืดแต่ละตำรับเปลี่ยนแปลงไม่เกิน ± 10 mPas และอุณหภูมิของการทดสอบดังกล่าวไม่มีผลทำให้ค่าความหนืดของตำรับเปลี่ยนไป แสดงในตารางที่ 16 และรูปที่ 24-29

ตารางที่ 16 ความหนืดของตำรับน้ำมันหอมระเหยเมื่อถูกเก็บที่สภาวะต่างๆ เพื่อทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ที่ shear rate 105.7 sec^{-1}

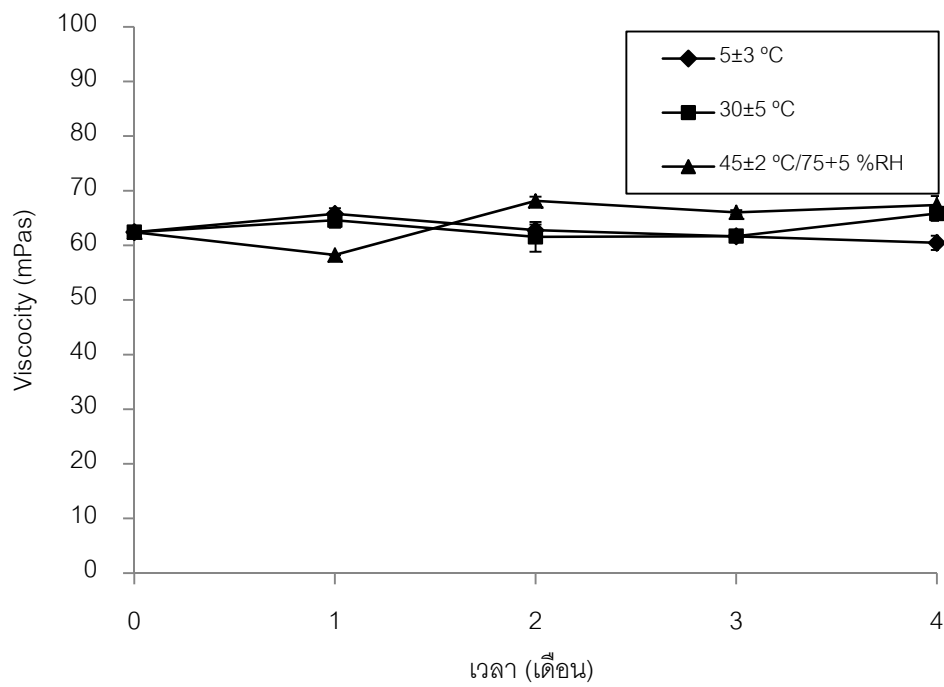
สภาวะ	สูตรตำรับ	ความหนืดของตำรับ*				
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5 \pm 3^{\circ}\text{C}$	ตำรับที่ 1	-	51.53 ± 0.10	54.33 ± 1.02	51.38 ± 0.20	50.21 ± 0.83
	ตำรับที่ 2	-	65.76 ± 1.04	62.77 ± 1.04	61.65 ± 0.94	60.45 ± 1.31
	ตำรับที่ 3	-	43.37 ± 0.46	48.85 ± 2.67	46.80 ± 1.78	43.92 ± 1.72
	ตำรับที่ 4	-	44.24 ± 1.11	45.84 ± 0.60	45.49 ± 1.90	44.74 ± 2.91
	ตำรับที่ 5	-	47.73 ± 0.41	52.99 ± 1.46	51.68 ± 0.78	49.25 ± 0.68
	ตำรับที่ 6	-	83.03 ± 1.17	87.25 ± 3.87	84.07 ± 2.46	76.36 ± 0.59
	ควบคุม 1	-	37.39 ± 1.02	42.36 ± 1.58	40.61 ± 1.22	40.50 ± 1.57
	ควบคุม 2	-	80.57 ± 1.82	83.39 ± 0.68	84.92 ± 1.17	75.99 ± 0.71
$30 \pm 5^{\circ}\text{C}$	ตำรับที่ 1	53.14 ± 0.77	53.42 ± 1.41	54.33 ± 1.02	53.08 ± 0.30	54.71 ± 2.14
	ตำรับที่ 2	62.41 ± 0.25	64.59 ± 1.38	61.54 ± 2.73	61.68 ± 0.73	65.82 ± 1.32
	ตำรับที่ 3	43.37 ± 0.46	45.45 ± 5.01	45.37 ± 2.55	43.55 ± 1.91	44.21 ± 1.86
	ตำรับที่ 4	44.24 ± 1.11	42.86 ± 1.30	42.57 ± 0.22	45.98 ± 0.54	49.55 ± 2.11
	ตำรับที่ 5	53.56 ± 0.41	48.91 ± 1.28	49.94 ± 1.78	49.11 ± 0.29	55.04 ± 0.63
	ตำรับที่ 6	88.36 ± 2.68	85.99 ± 0.46	82.22 ± 1.52	85.08 ± 2.02	88.25 ± 1.11
	ควบคุม 1	40.09 ± 0.46	38.84 ± 0.93	38.11 ± 0.42	38.74 ± 2.00	41.29 ± 1.48
	ควบคุม 2	85.97 ± 1.95	82.47 ± 0.79	80.25 ± 2.44	80.98 ± 0.59	84.17 ± 1.54
$45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ /75 $\pm$ 5 %RH	ตำรับที่ 1	-	46.82 ± 0.72	54.47 ± 2.69	53.08 ± 0.30	54.62 ± 0.47
	ตำรับที่ 2	-	58.24 ± 0.06	68.14 ± 0.76	66.05 ± 0.39	67.39 ± 1.64
	ตำรับที่ 3	-	39.59 ± 0.23	45.32 ± 2.37	45.12 ± 0.75	45.16 ± 1.75
	ตำรับที่ 4	-	38.28 ± 0.45	47.81 ± 0.13	45.42 ± 0.83	45.06 ± 1.14

สภาวะ	สูตรตำรับ	ความหนืดของตำรับ*				
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
	ตำรับที่ 5	-	46.83±0.66	51.93±1.80	52.89±2.05	53.30±1.58
	ตำรับที่ 6	-	85.26±1.38	89.90±1.13	84.80±0.85	99.33±0.44
	ควบคุม 1	-	35.56±0.99	42.23±0.88	40.27±0.41	43.95±0.10
	ควบคุม 2	-	88.80±2.04	86.70±5.78	84.88±0.61	90.55±2.05

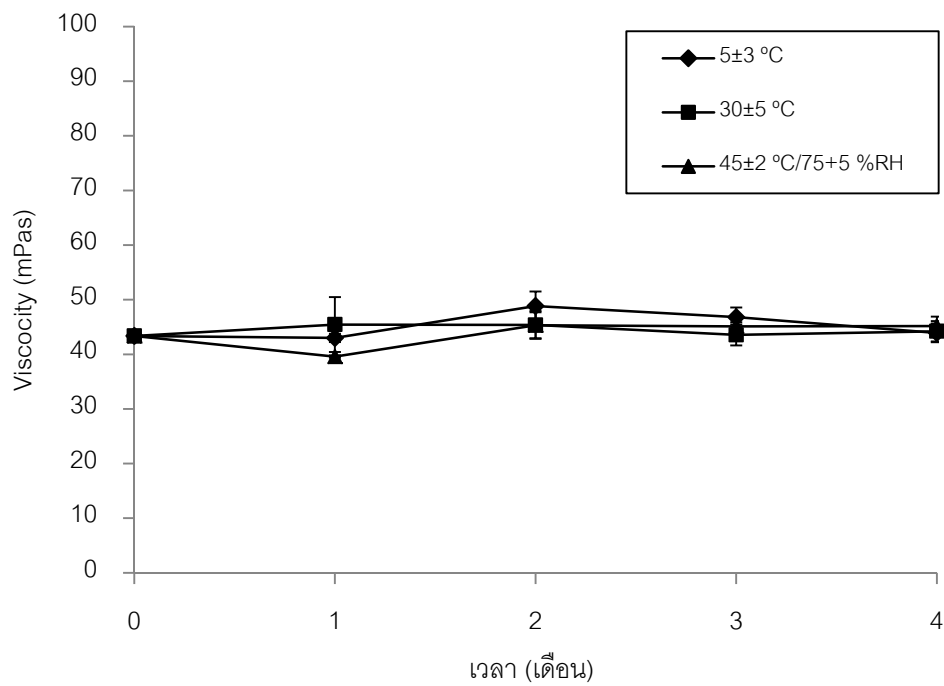
* Mean ± SD



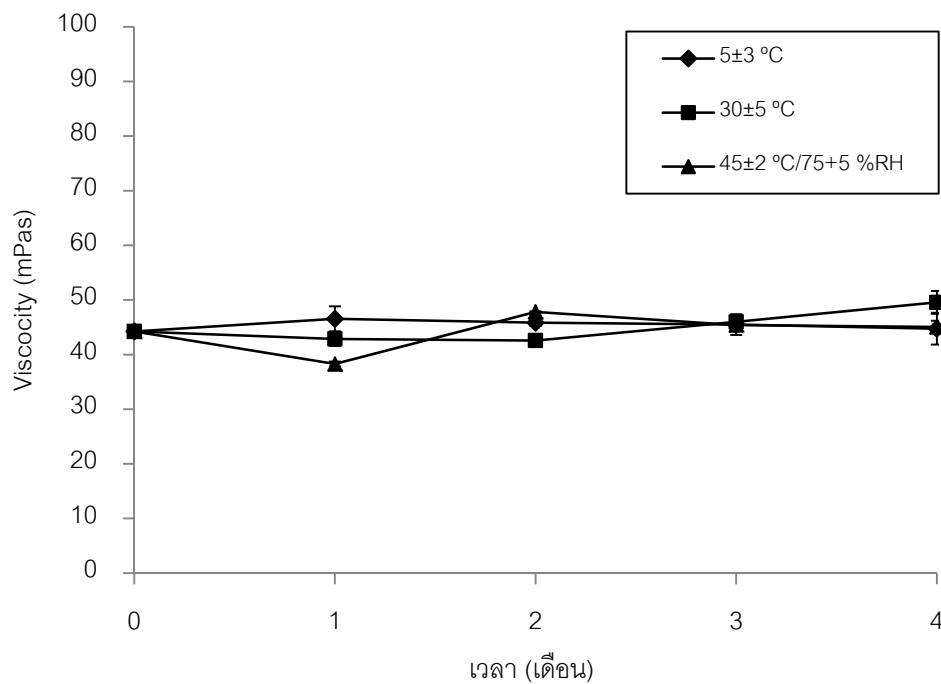
รูปที่ 24 ค่าความหนืดของตำรับ 1 (น้ำมันตะไคร้ 3%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



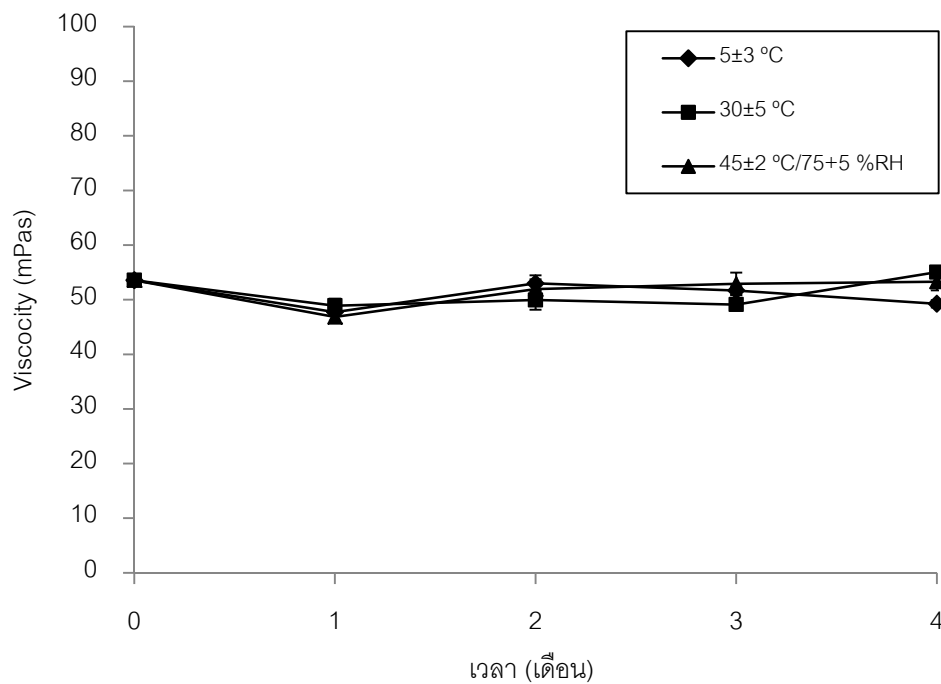
รูปที่ 25 ค่าความหนืดของตำรับ 2 (น้ำมันตะไคร้ 4%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



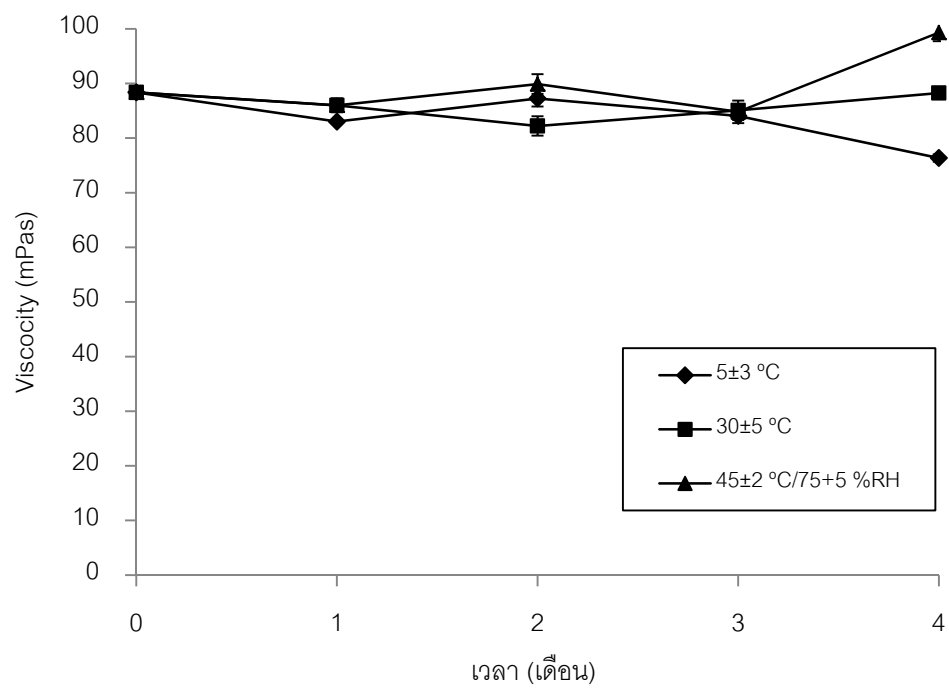
รูปที่ 26 ค่าความหนืดของตำรับ 3 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 27 ค่าความหนืดของตำรับ 4 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 1:1 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 28 ค่าความหนืดของตำรับ 5 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา อัตราส่วน 2:0.5 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 29 ค่าความหนืดของตำรับ 6 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 2) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ

5.2.3 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตำรับ

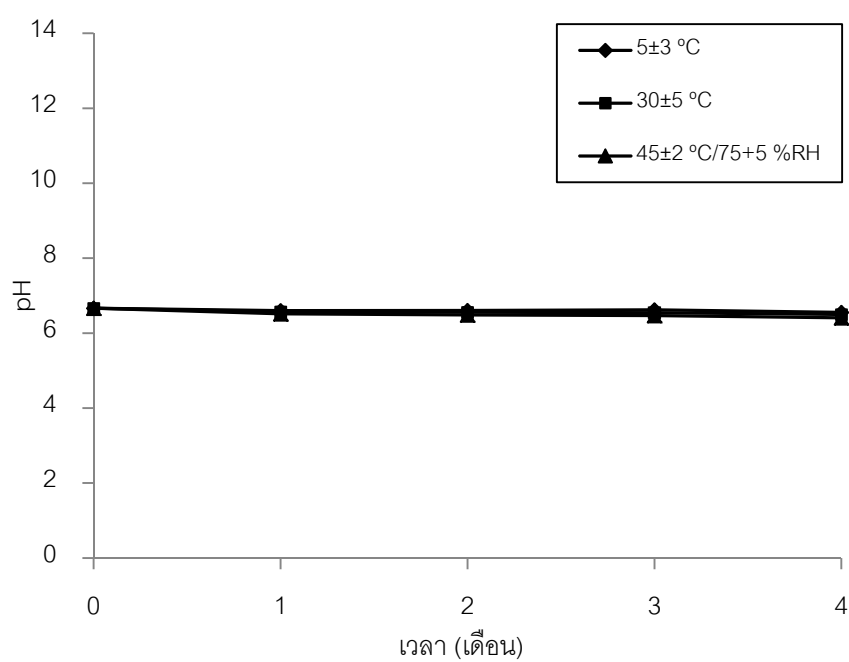
จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพ โดยการวัดค่าพีเอช (pH) ของตำรับในเดือนที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 เมื่อผลิตภัณฑ์ถูกเก็บไว้ที่สภาวะ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, $30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ และ $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $75 \pm 5\% \text{RH}$ พบว่า pH เมื่อถูกเก็บที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน ไม่เปลี่ยนแปลงดังแสดงในตารางที่ 17 และรูปที่ 30-35

ตารางที่ 17 pH ของตำรับน้ำมันหอมระเหยเมื่อถูกเก็บที่สภาวะต่างๆ เพื่อทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

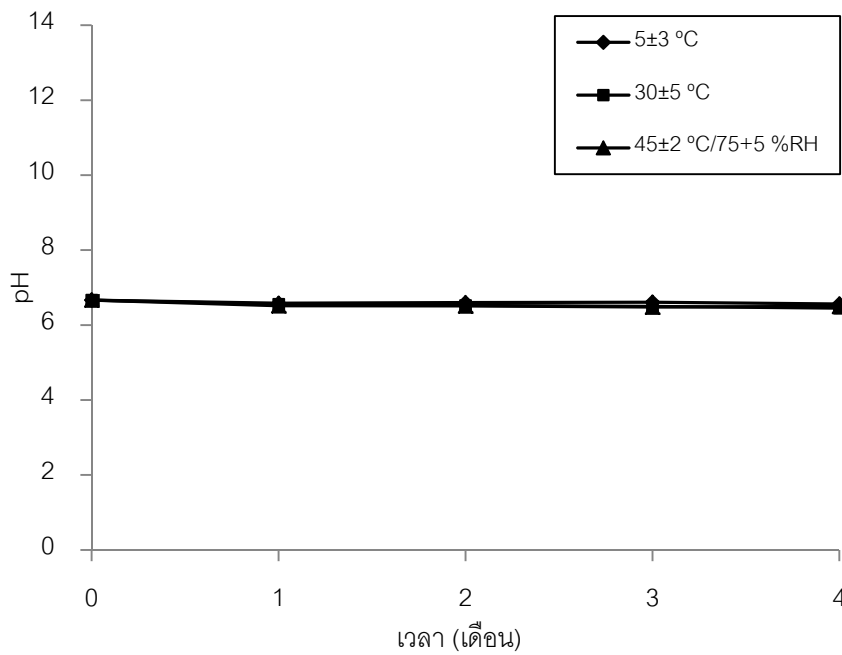
สภาวะ	สูตรตำรับ	ค่าพีเอชของตำรับ*				
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
$5 \pm 3^{\circ}\text{C}$	ตำรับที่ 1	-	6.60 ± 0.00	6.60 ± 0.02	6.62 ± 0.02	6.55 ± 0.01
	ตำรับที่ 2	-	6.58 ± 0.01	6.60 ± 0.01	6.61 ± 0.02	6.56 ± 0.03
	ตำรับที่ 3	-	6.50 ± 0.01	6.54 ± 0.03	6.55 ± 0.04	6.49 ± 0.02
	ตำรับที่ 4	-	6.46 ± 0.01	6.52 ± 0.01	6.54 ± 0.03	6.47 ± 0.02
	ตำรับที่ 5	-	6.52 ± 0.02	6.56 ± 0.02	6.55 ± 0.03	6.50 ± 0.02
	ตำรับที่ 6	-	6.65 ± 0.01	6.65 ± 0.03	6.75 ± 0.02	6.57 ± 0.08
	ควบคุม 1	-	6.59 ± 0.01	6.54 ± 0.02	6.57 ± 0.02	6.53 ± 0.01
	ควบคุม 2	-	6.51 ± 0.05	6.60 ± 0.02	6.64 ± 0.03	6.57 ± 0.01
$30 \pm 5^{\circ}\text{C}$	ตำรับที่ 1	6.66 ± 0.01	6.57 ± 0.02	6.56 ± 0.02	6.55 ± 0.03	6.50 ± 0.01
	ตำรับที่ 2	6.67 ± 0.04	6.56 ± 0.02	6.52 ± 0.01	6.50 ± 0.01	6.45 ± 0.02
	ตำรับที่ 3	6.57 ± 0.01	6.57 ± 0.02	6.50 ± 0.01	6.53 ± 0.02	6.48 ± 0.01
	ตำรับที่ 4	6.61 ± 0.02	6.48 ± 0.03	6.53 ± 0.01	6.52 ± 0.02	6.45 ± 0.02
	ตำรับที่ 5	6.64 ± 0.02	6.53 ± 0.02	6.52 ± 0.01	6.48 ± 0.03	6.47 ± 0.02
	ตำรับที่ 6	6.57 ± 0.01	6.57 ± 0.00	6.58 ± 0.07	6.59 ± 0.02	6.53 ± 0.01
	ควบคุม 1	6.62 ± 0.04	6.56 ± 0.01	6.59 ± 0.01	6.55 ± 0.02	6.55 ± 0.01
	ควบคุม 2	6.64 ± 0.01	6.45 ± 0.03	6.47 ± 0.02	6.46 ± 0.05	6.42 ± 0.02
$45 \pm 2^{\circ}\text{C}$	ตำรับที่ 1	-	6.51 ± 0.02	6.48 ± 0.01	6.47 ± 0.03	6.41 ± 0.01

สภาวะ	สูตรตำรับ	ค่าพีเอชของตำรับ*				
		เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
/75± 5 %RH	ตำรับที่ 2	-	6.51±0.01	6.51±0.02	6.48±0.02	6.50±0.02
	ตำรับที่ 3	-	6.44±0.02	6.44±0.02	6.46±0.01	6.39±0.02
	ตำรับที่ 4	-	6.48±0.01	6.46±0.01	6.44±0.01	6.34±0.02
	ตำรับที่ 5	-	6.49±0.02	6.48±0.02	6.48±0.01	6.37±0.01
	ตำรับที่ 6	-	6.48±0.02	6.51±0.01	6.57±0.01	6.50±0.02
	ควบคุม 1	-	6.52±0.01	6.55±0.03	6.57±0.02	6.50±0.01
	ควบคุม 2	-	6.32±0.02	6.48±0.03	6.48±0.01	6.48±0.02

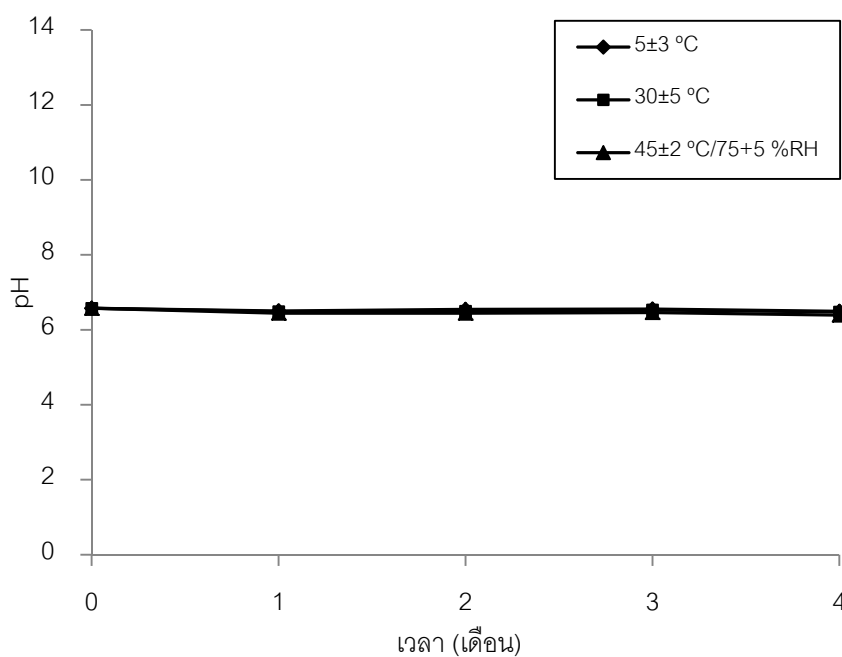
* Mean ± SD



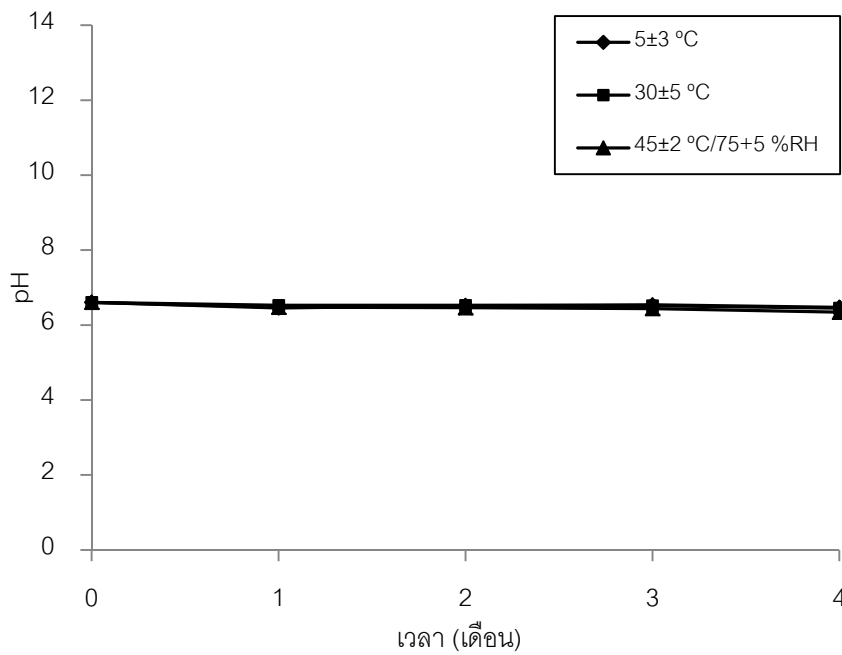
รูปที่ 30 pH ของตำรับ 1 (น้ำมันตะไคร้ 3%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



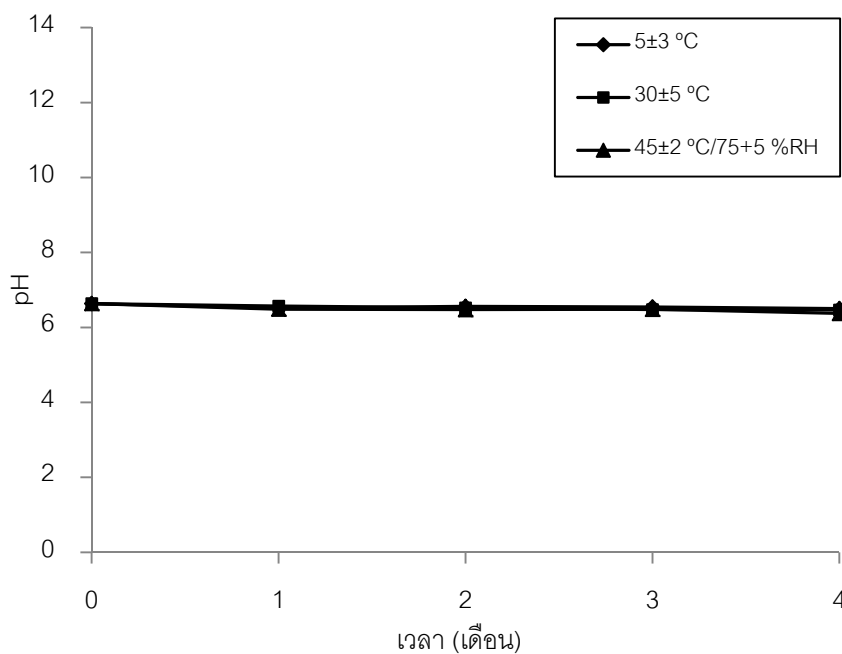
รูปที่ 31 pH ของตำรับ 2 (น้ำมันตะไคร้ 4%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



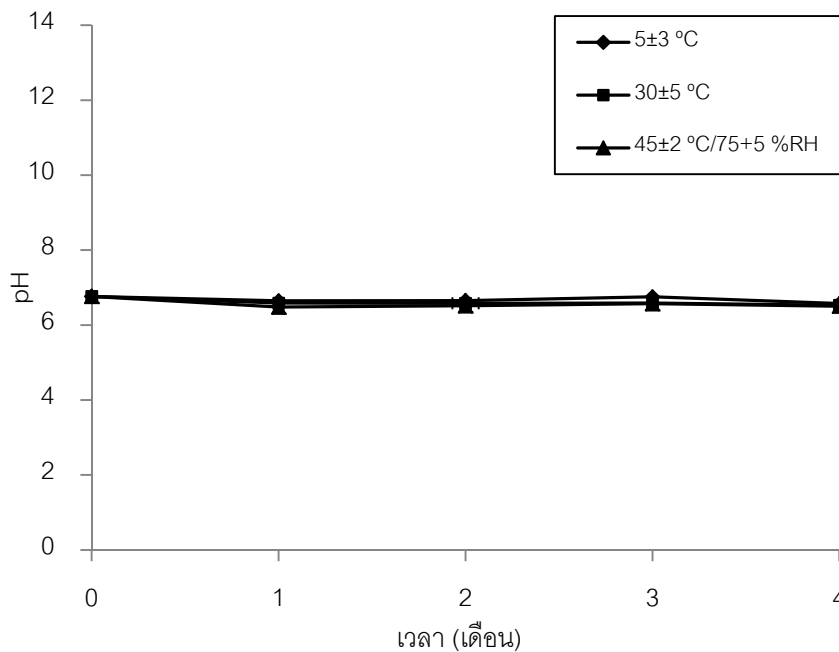
รูปที่ 32 pH ของตำรับ 3 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 33 pH ของตำรับ 4 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 34 pH ของตำรับ 5 (น้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5 สูตร 1) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ



รูปที่ 35 pH ของตำรับ 6 (น้ำมันโหระพา 2%w/w สูตร 2) ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวต่างๆ

จากผลการทดลองที่ได้พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบสภาวะคงตัวมีผลทำให้ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สีของตำรับที่มีส่วนผสมน้ำมันตะไคร้เกิดการเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าการเก็บที่สภาวะ $5\pm3^{\circ}\text{C}$ ทำให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด และการเก็บที่สภาวะ $45\pm2^{\circ}\text{C}/75\pm5\% \text{ RH}$ ทำให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงมากที่สุด อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพดังกล่าวไม่พบในตำรับที่มีเฉพาะน้ำมันโหระพาเป็นส่วนประกอบ

ส่วนลักษณะทางกายภาพอื่นๆ ได้แก่ ความใส การเกิดตะกอน และความหนืด ไม่พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในตำรับที่มีน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หรือน้ำมันโหระพา หรือแบบสูตรผสม อย่างไรก็ตาม พบว่า กลุ่มควบคุม 1 พบการแยกชั้นของสารจากตำรับ เมื่อเก็บที่สภาวะ $5\pm3^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 4 เดือน แต่สารละลายก็จะกลับมาใสเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และไม่พบการเปลี่ยนแปลง pH ของตำรับในสภาวะการทดสอบความคงตัวทั้ง 3 สภาวะ

5.3 การประเมินความคงตัวทางเคมี

5.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยและเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การศึกษานี้จะทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาและน้ำมันตะไคร้โดยอ้างอิงวิธีการจาก “โครงการเครือข่ายวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชพื้นเมืองเฟสที่ 1 (อ. นันทวันและคณะ)” โดยใช้ Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC-MS)

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้โดยเปรียบเทียบ retention time กับสารสำคัญที่เป็น standard marker ซึ่งในที่นี้คือ z-citral และ e-citral โดย GC condition ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์น้ำมันตะไคร้ คือ

Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
-	60.0	5.00
3.0	200.0	5.00

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาโดยเปรียบเทียบ retention time กับสารสำคัญที่เป็น standard marker ซึ่งในที่นี้คือ methyl chavicol โดย GC condition ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์น้ำมันโหระพาและ methyl chavicol คือ

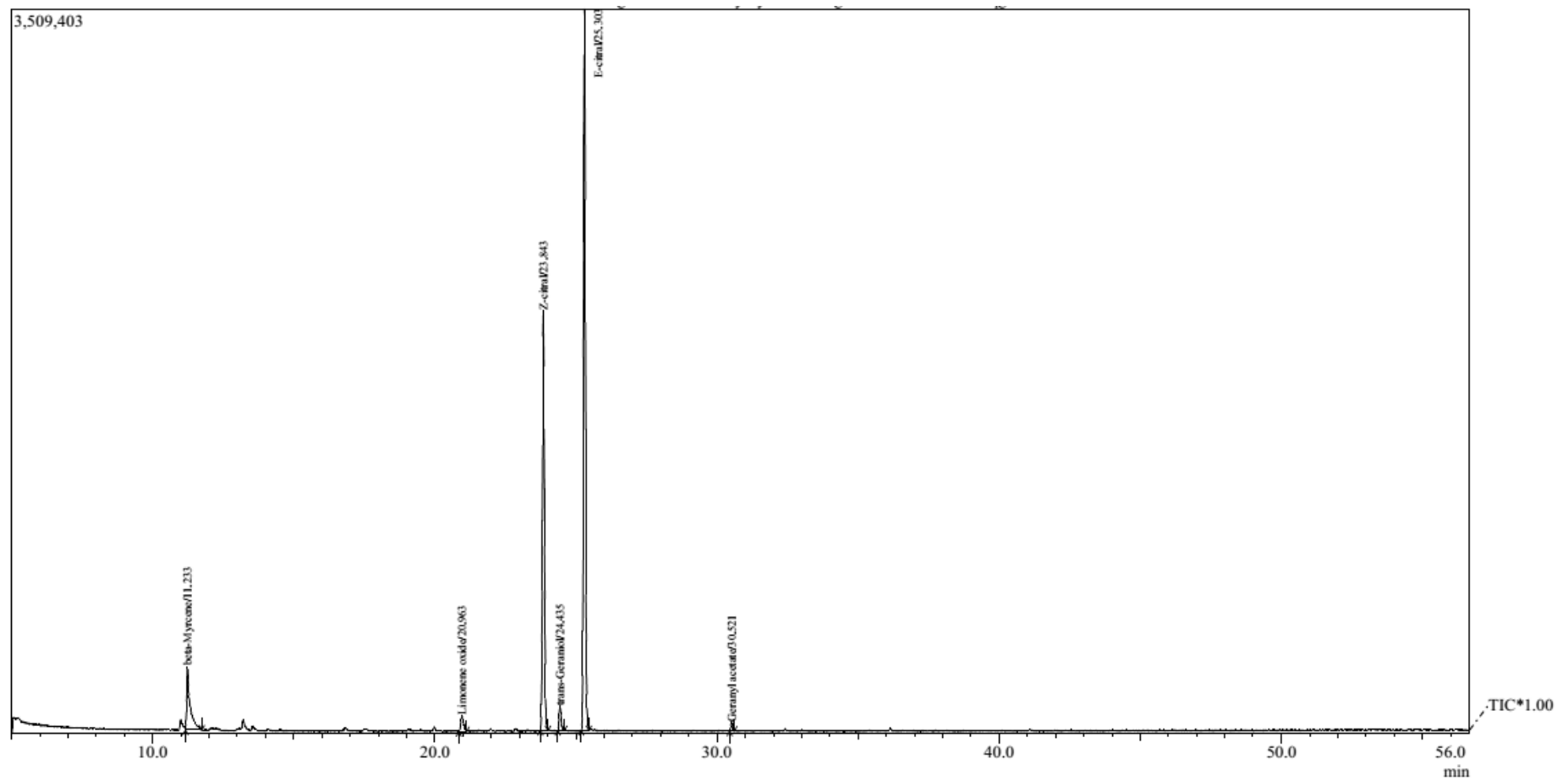
Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
-	60.0	3.00
4.0	91.0	0.00
0.5	92.0	0.00
5.0	115.0	0.00
0.5	118.0	0.00
5.0	145.0	0.00
0.1	146.0	0.00
5.0	180.0	5.00

ผลการทดลอง

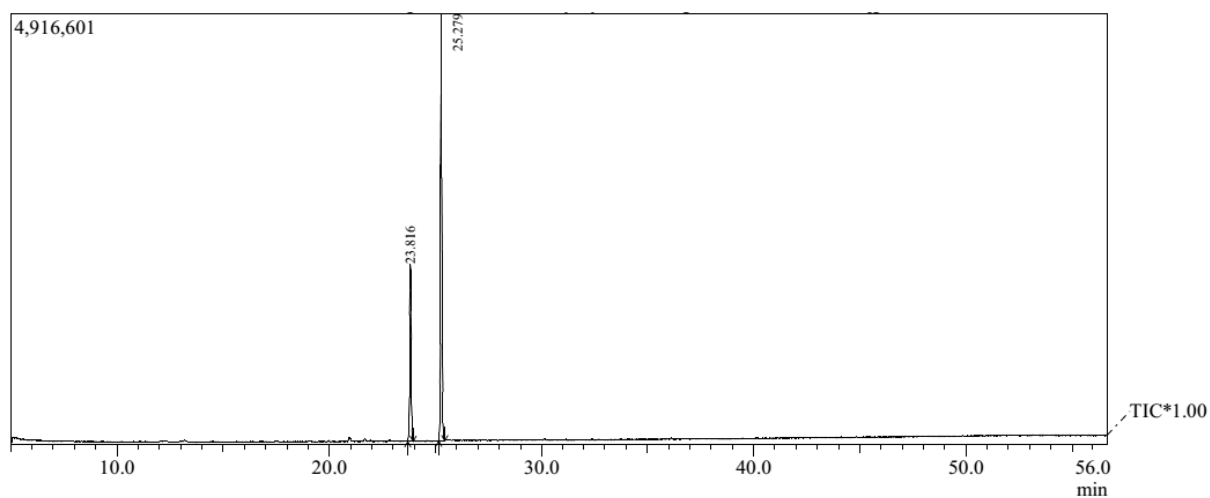
การวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้ด้วย GC-MS พบว่าน้ำมันตะไคร้มี chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 36 และมีส่วนประกอบทางเคมีตามที่แสดงในตารางที่ 18 ซึ่งสารสำคัญที่เป็น standard marker ในน้ำมันตะไคร้คือ Z-citral และ E-citral เมื่อเปรียบเทียบกับ chromatogram ของ standard marker ดังแสดงในรูปที่ 37 พบว่า Z-citral และ E-citral มี retention time ที่ 23.8 และ 25.3 นาทีตามลำดับซึ่งตรงกับสารสำคัญหลักในน้ำมันตะไคร้

การวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันโหระพาด้วย GC-MS พบว่าน้ำมันโหระพามี chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 38 และมีส่วนประกอบทางเคมีตามที่แสดงในตารางที่ 19 ซึ่งสารสำคัญที่เป็น standard marker ในน้ำมันตะไคร้คือ methyl chavicol และเมื่อเปรียบเทียบกับ chromatogram ของ standard marker ดังแสดงในรูปที่ 39 พบว่า methyl chavicol มี retention time ที่ 18.2 นาทีซึ่งตรงกับสารสำคัญหลักในน้ำมันโหระพา

รูปที่ 36 Chromatogram ของน้ำมันตะไคร้



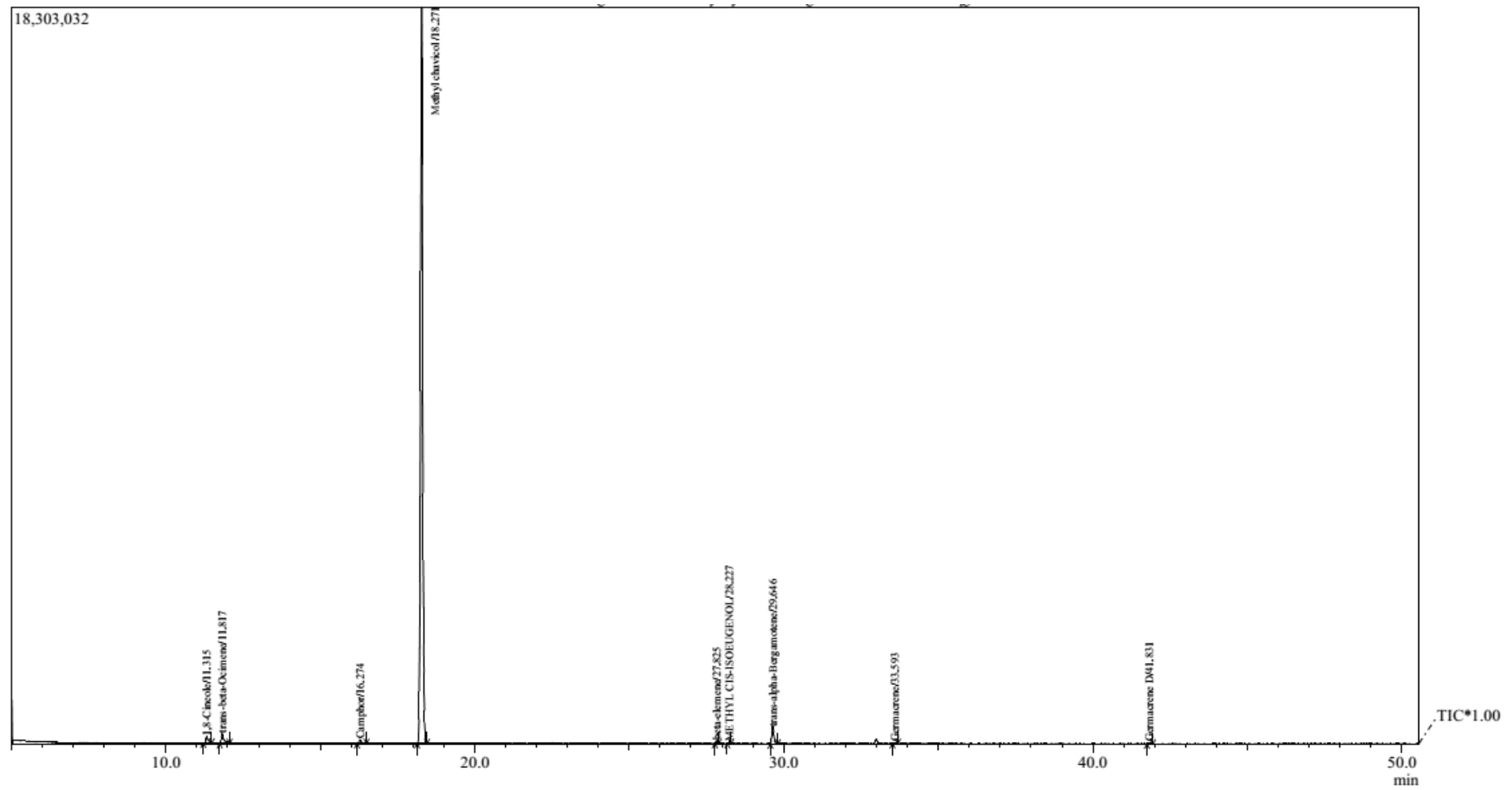
รูปที่ 37 Chromatogram ของ Citral ซึ่งประกอบด้วย Z-citral และ E-citral



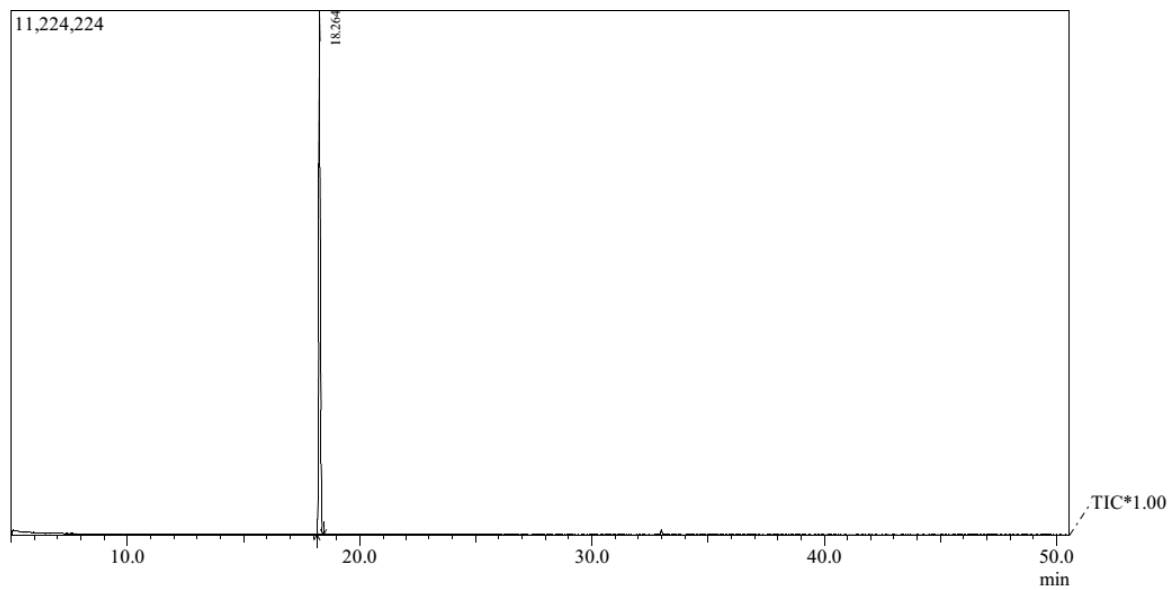
ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันตะไคร้เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS

Peak#	Retention time (min)	Area%	Name
1	11.233	8.82	beta-Myrcene
2	20.963	1.78	Limonene oxide
3	23.843	32.07	Z-citral or Neral
4	24.435	1.96	Geraniol
5	25.303	54.80	E-citral or Geranial
6	30.521	0.57	Geranyl acetate

รูปที่ 38 Chromatogram ของน้ำมันโหระพา



รูปที่ 39 Chromatogram ของ Methyl chavicol



ตารางที่ 19 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันโหระพาเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS

Peak#	Retention time (min)	Area%	Name
1	11.315	1.01	1,8-Cineole
2	11.817	1.58	trans-beta-Ocimene
3	16.274	0.56	Camphor
4	18.271	94.06	Methyl chavicol
5	27.825	0.29	Beta-Elemene
6	28.227	0.16	Methyl cis-isoeugenol
7	29.646	2.00	trans-alpha-Bergamotene
8	33.593	0.16	Germacrene
9	41.831	0.18	Germacrene D

5.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันโหระพา

เตรียมน้ำมันตะไคร้และน้ำมันโหระพาที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นโดยใช้ hexane GC grade ในการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นดังกล่าว จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS จากนั้นคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญที่เป็น standard marker แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้กราฟ

ผลการทดลอง

จากค่าพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในน้ำมันตะไคร้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่เดือนที่ 0 และเดือนที่ 1 – 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$) ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 20 - 24 และสามารถนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกับพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญดังแสดงในรูปที่ 40 - 44 และสามารถสร้างเป็นสมการได้ดังนี้

น้ำมันตะไคร้

เดือนที่ 0

$$\text{Z-citral} \quad y = 1,777,905.8300x - 5,583,778.5000$$

$$R^2 = 0.9971$$

$$\text{E-citral} \quad y = 2,585,214.4400x - 5,873,964.4000$$

$$R^2 = 0.9994$$

เดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

$$\text{Z-citral} \quad y = 5,255,460.1000x - 9,550,061.9000$$

$$R^2 = 0.9919$$

$$\text{E-citral} \quad y = 8,026,976.5600x - 11,596,028.0000$$

$$R^2 = 0.9856$$

เดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

$$\text{Z-citral} \quad y = 3,182,268.0000x - 4,113,826.8000$$

$$R^2 = 0.9915$$

$$\text{E-citral} \quad y = 4,930,465.4600x - 5,334,410.3000$$

$$R^2 = 0.9951$$

เดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

$$\text{Z-citral} \quad y = 5,933,431.8800x - 4,556,798.8000$$

$$R^2 = 0.9972$$

$$\text{E-citral} \quad y = 9,545,611.0800x - 4,645,137.4000$$

$$R^2 = 0.9978$$

เดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Z-citral

$$y = 3,885,903.4400x + 499,485.8000$$

$$R^2 = 0.9968$$

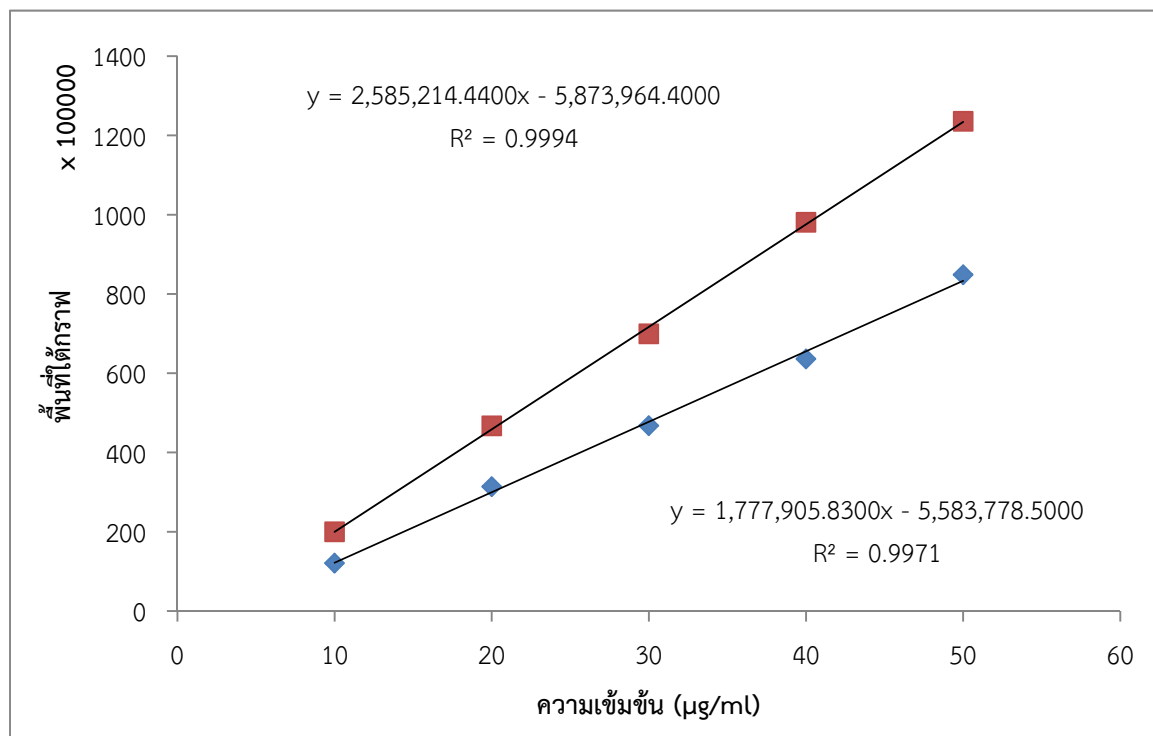
E-citral

$$y = 6,585,160.6400x - 1,054,981.0000$$

$$R^2 = 0.9992$$

ตารางที่ 20 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0

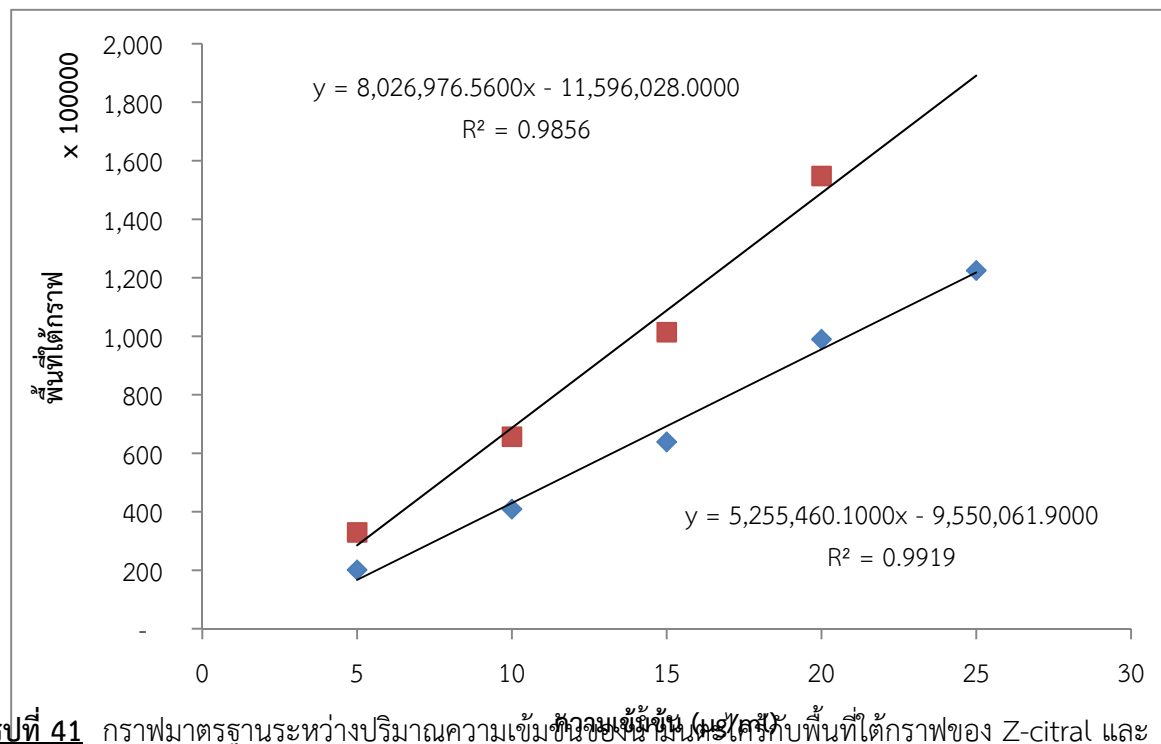
ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ใต้กราฟของ E-citral
10	12,089,084	20,016,769
20	31,412,774	46,747,595
30	46,763,354	69,948,986
50	63,622,015	98,095,411
80	84,879,755	123,603,583



รูปที่ 40 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 0

ตารางที่ 21 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

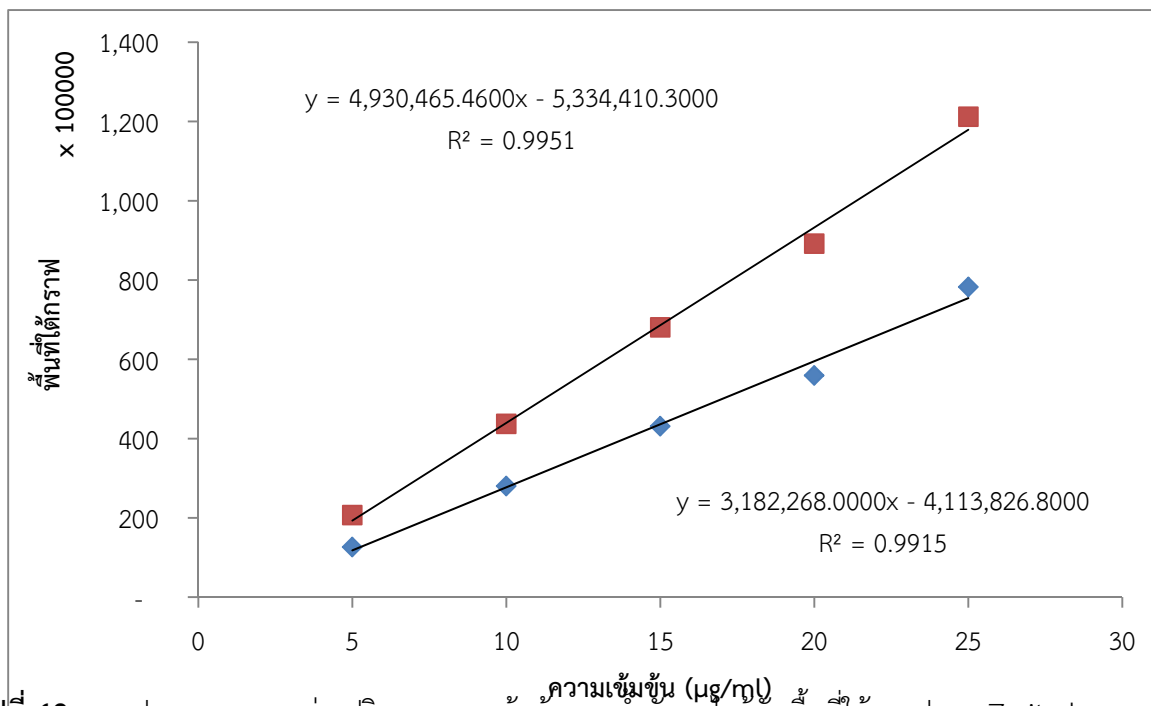
ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ใต้กราฟของ E-citral
5	20,128,182	32,984,289
10	40,910,219	65,694,223
15	63,923,403	101,431,347
20	98,955,200	154,854,857
25	122,492,194	



รูปที่ 41 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ตารางที่ 22 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

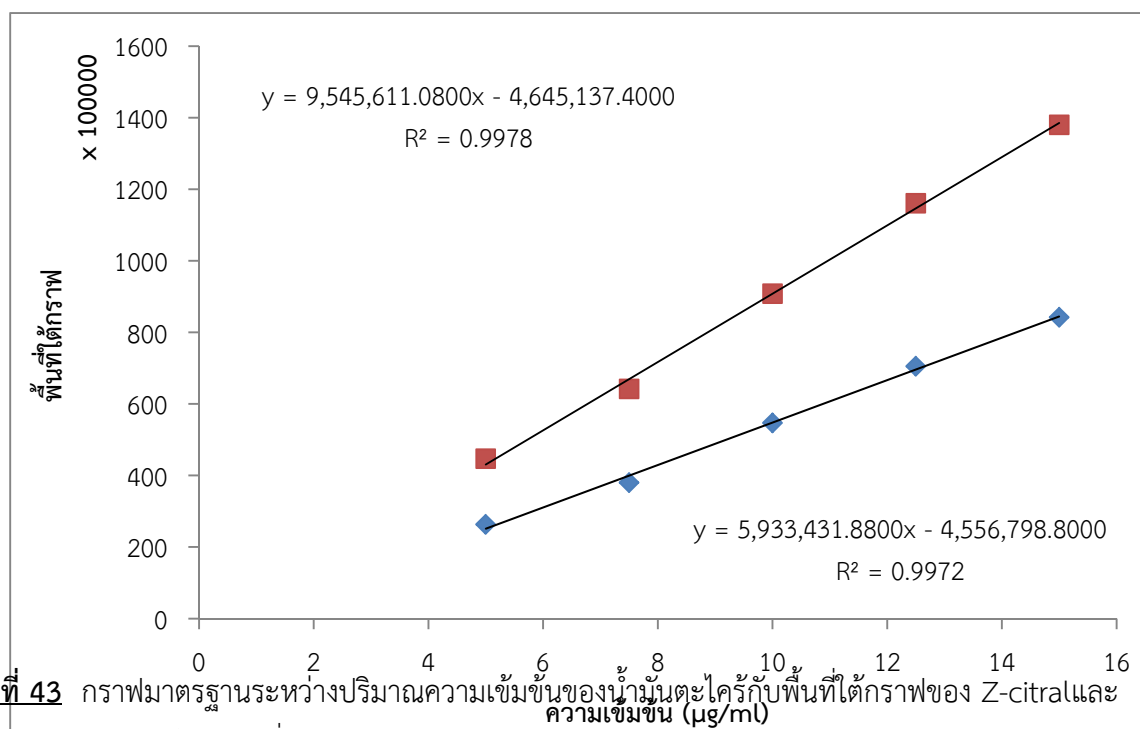
ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ใต้กราฟของ E-citral
5	12,653,584	20,735,506
10	28,062,496	43,762,341
15	43,165,045	68,116,146
20	55,956,618	89,241,104
25	78,263,223	121,257,761



รูปที่ 42 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ตารางที่ 23 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

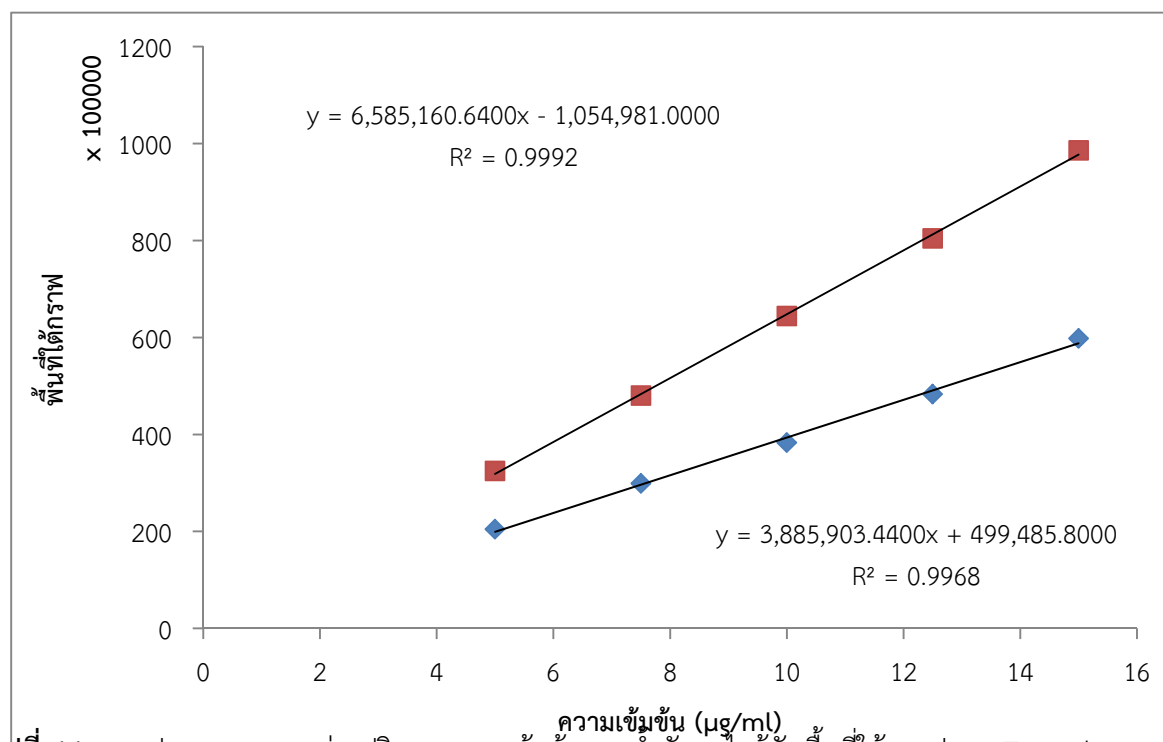
ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ใต้กราฟของ E-citral
5	26,339,304	44,729,305
7.5	38,025,578	64,229,187
10	54,719,751	90,855,581
12.5	70,565,951	116,153,514
15	84,237,016	138,087,280



รูปที่ 43 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ตารางที่ 24 ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)

ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral	พื้นที่ใต้กราฟของ E-citral
5	20,452,750	32,488,442
7.5	29,891,067	48,034,549
10	38,310,341	64,419,406
12.5	48,332,733	80,441,011
15	59,805,710	98,599,719



รูปที่ 44 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้กับพื้นที่ใต้กราฟของ Z-citral และ E-citral ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)

จากค่าพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในน้ำมันโหระพาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่เดือนที่ 0 และเดือนที่ 1 – 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$) ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 25 - 29 สามารถนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกับพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญดังแสดงในรูปที่ 45 - 49 และสามารถสร้างเป็นสมการได้ดังนี้

น้ำมันโหระพา

เดือนที่ 0

Methyl chavicol	$y = 5,967,404.6405x - 5,250,631.6486$
	$R^2 = 0.9901$

เดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Methyl chavicol	$y = 15,534,509.5067x - 2,913,739.0456$
	$R^2 = 0.9971$

เดือนที่ 2 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Methyl chavicol	$y = 10,365,135.5200x - 5,055,552.6000$
	$R^2 = 0.9985$

เดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

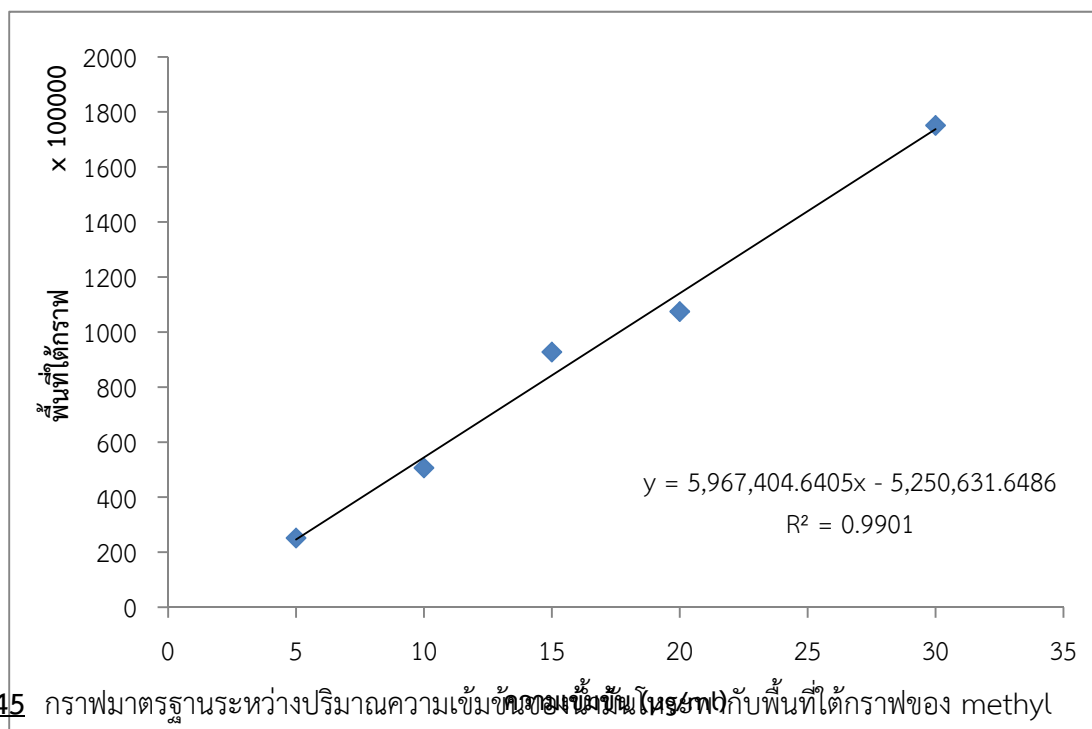
Methyl chavicol	$y = 22,213,752.2759x + 4,506,455.8207$
	$R^2 = 0.9996$

เดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Methyl chavicol	$y = 18,301,096.1000x - 416,360.1000$
	$R^2 = 0.9992$

ตารางที่ 25 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 0

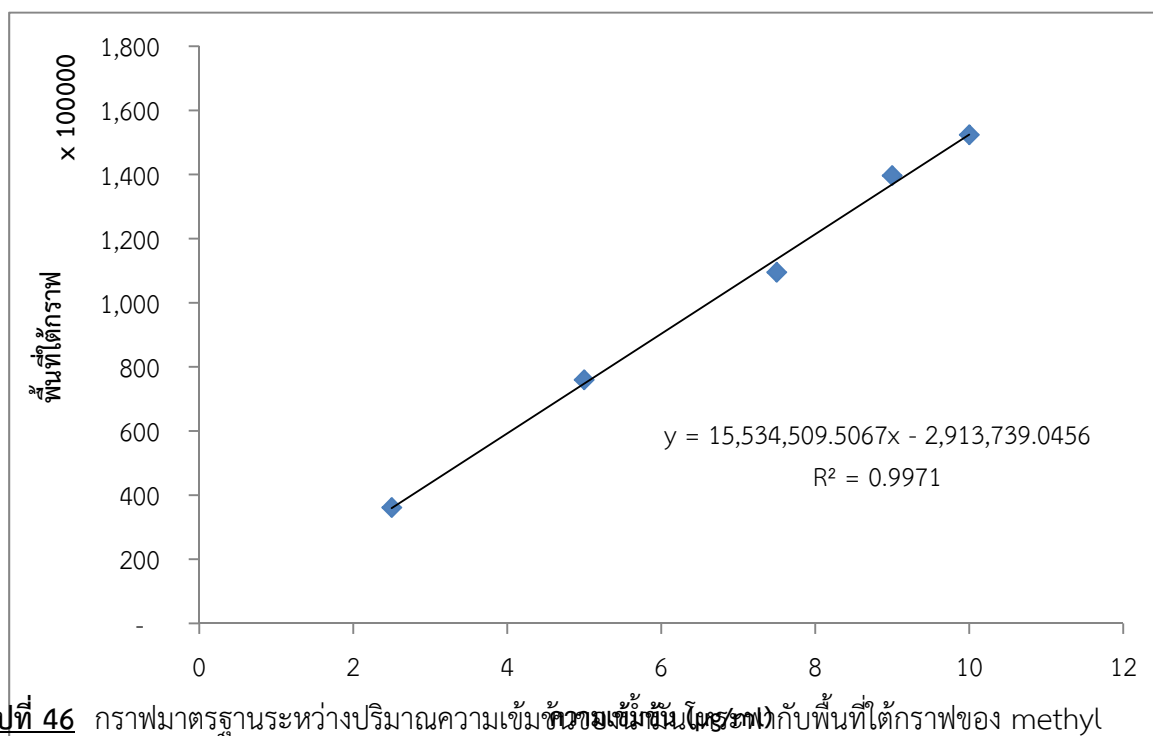
ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
5	25,153,303
10	50,654,061
15	92,757,766
20	107,472,898
30	175,101,185



รูปที่ 45 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา กับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 0

ตารางที่ 26 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 1
(อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)

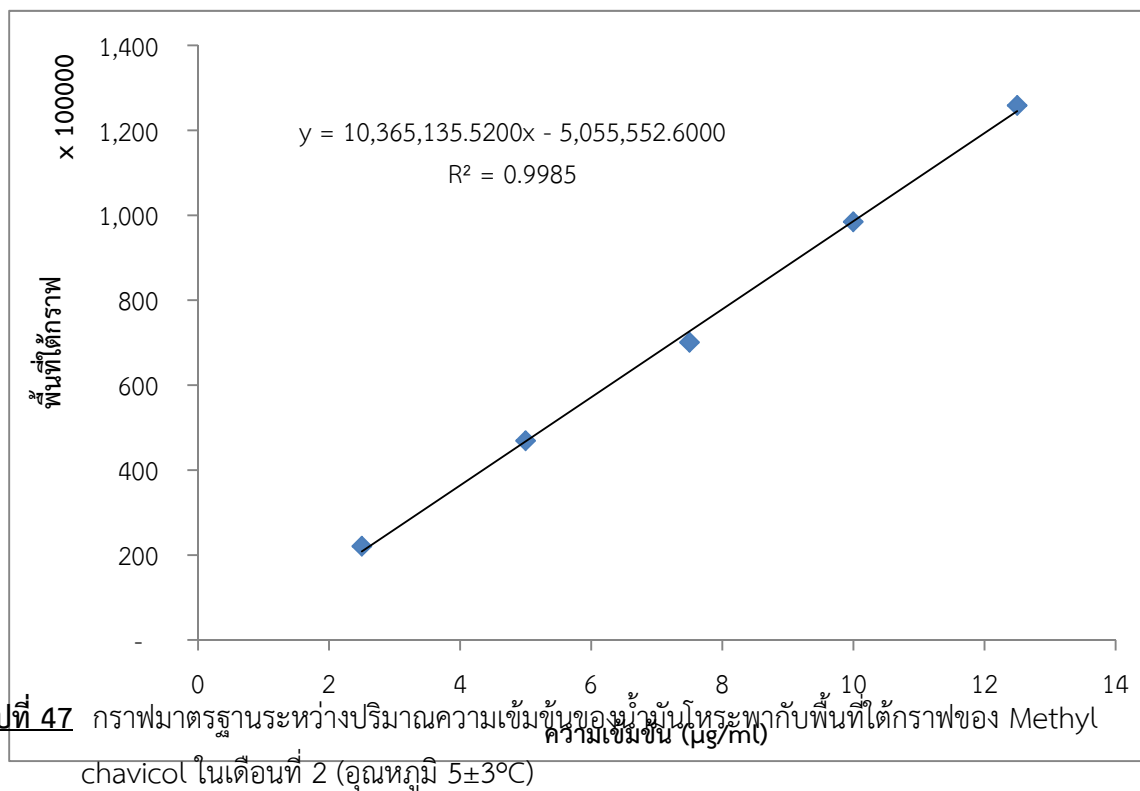
ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
2.5	36,124,127
5	75,955,607
7.5	109,493,221
9	139,655,565
10	152,376,108



รูปที่ 46 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา (x) กับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 1 (อุณหภูมิ $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$)

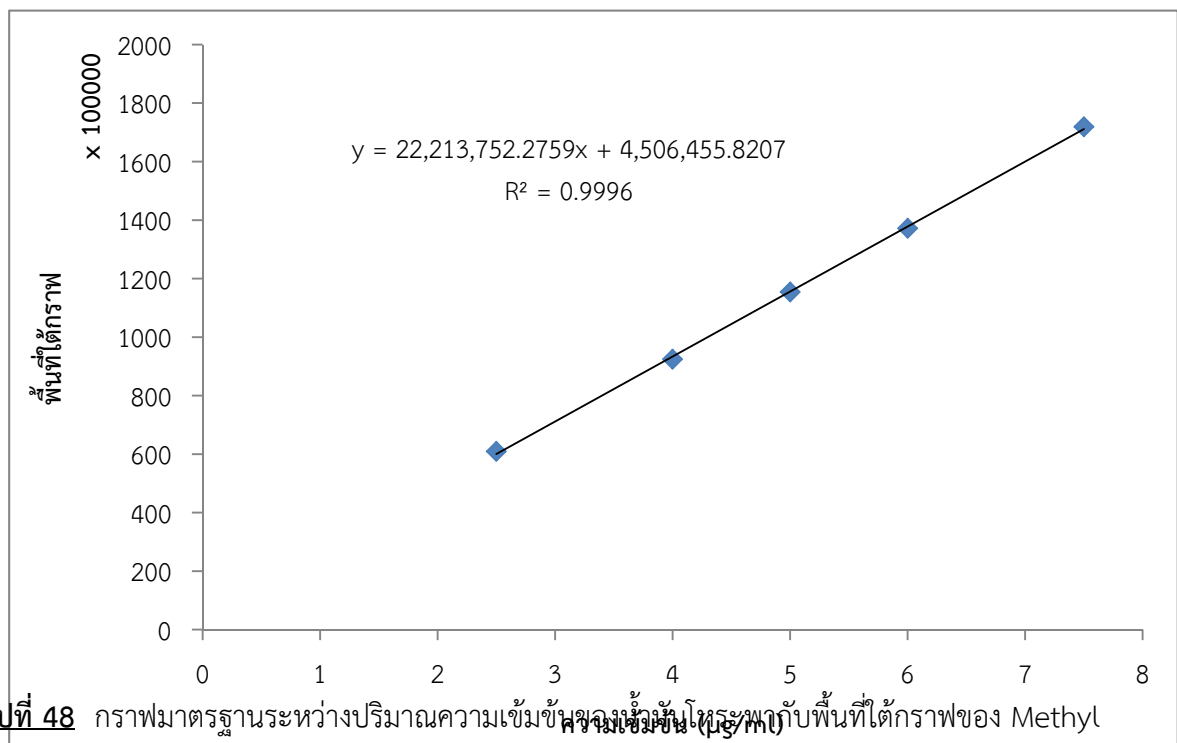
ตารางที่ 27 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 2
(อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ความเข้มข้นของ น้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
2.5	36,124,127
5	75,955,607
7.5	109,493,221
9	139,655,565
10	152,376,108



ตารางที่ 28 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 3
(อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

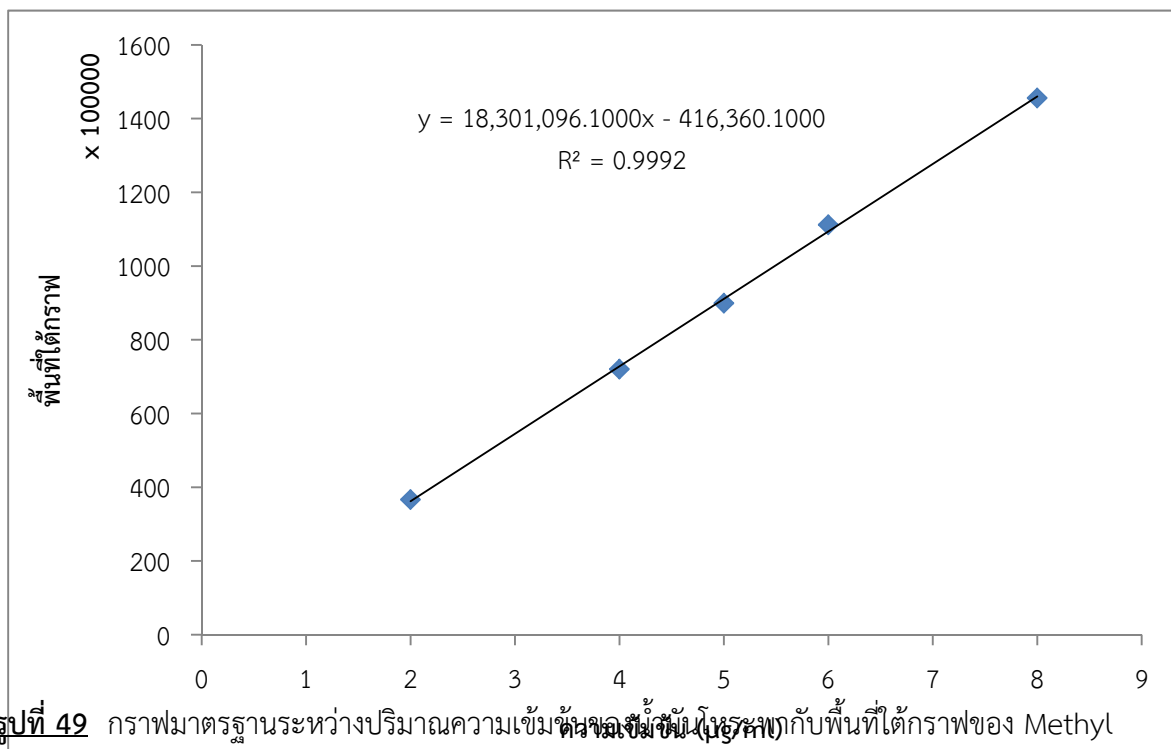
ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
2.5	60931876
4	92463962
5	115410485
6	137187565
7.5	171882198



รูปที่ 48 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol ในเดือนที่ 3 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ตารางที่ 29 ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ methyl chavicol ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

ความเข้มข้นของน้ำมันโหระพา ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol
2	36,646,268
4	72,056,799
5	89,932,026
6	111,207,001
8	145,603,508



รูปที่ 49 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันโหระพากับพื้นที่ใต้กราฟของ Methyl chavicol ในเดือนที่ 4 (อุณหภูมิ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$)

5.3.3 การทดสอบหาปริมาณของน้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ที่อุณหภูมิ ต่างๆ

การทดสอบหาปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้จะทำโดยนำค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัดที่ได้คำนวณหาปริมาณสารสำคัญเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน หลังจากนั้นจะนำไปคำนวณเป็นปริมาณ %Label amount ของผลิตภัณฑ์ในแต่ละเดือนและแต่ละอุณหภูมิ โดยคำนวณหาสารสำคัญในแต่ละตำรับและอุณหภูมิดังแสดงในตารางที่ 30

ตารางที่ 30 สารสำคัญในการวิเคราะห์หาปริมาณของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดในแต่ละอุณหภูมิ

เดือนที่ 0		°C	เดือนที่ 1-4
Lemongrass 3%	E-citral	5±3	E-citral
		30±5	E-citral
		45±2	E-citral
Lemongrass 4%	E-citral	5±3	E-citral
		30±5	E-citral
		45±2	E-citral
Sweet Basil 2% Xanthan	Methyl Chavicol	5±3	Methyl Chavicol
		30±5	Methyl Chavicol
		45±2	Methyl Chavicol
Sweet Basil 2% PEG	Methyl Chavicol	5±3	Methyl Chavicol
		30±5	Methyl Chavicol
		45±2	Methyl Chavicol
Mix	E-citral	5±3	E-citral , Methyl Chavicol
Lemongrass 1%	Methyl Chavicol	30±5	E-citral , Methyl Chavicol
Sweet Basil 1%		45±2	E-citral , Methyl Chavicol
Mix	E-citral	5±3	E-citral , Methyl Chavicol
Lemongrass 2%	Methyl Chavicol	30±5	E-citral , Methyl Chavicol
Sweet Basil 0.5%		45±2	E-citral , Methyl Chavicol

โดยมีขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ ดังนี้

1. ชั่งผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ 250 mg
2. เติม hexane GC grade ปริมาตร 1,250 μ l
3. นำหลอดทดลองไปเขย่าเป็นเวลา 3 นาที
4. นำหลอดทดลองไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 7 นาที
5. ดูดเฉพาะสารสกัดส่วนใสรวบรวมไว้
6. ทำซ้ำขั้นตอนตั้งแต่ 3.2– 3.5 อีก 3 ครั้ง
7. ปรับปริมาตรสารสกัดที่ได้ให้เป็น 5 ml
8. เจือจางสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟมาคำนวณหาปริมาณสารสำคัญโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำมันหอมระเหยที่เก็บไว้ที่ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ ของแต่ละ

เดือน

ผลการทดลอง

จากการคำนวณหาปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์แต่ละตำรับ สามารถคำนวณหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่มีอยู่และ % Label amount ได้ตามตารางที่ 31-32 และกราฟแสดงค่า %Label amount ของผลิตภัณฑ์ในแต่ละตำรับแสดงในรูปที่ 50-53

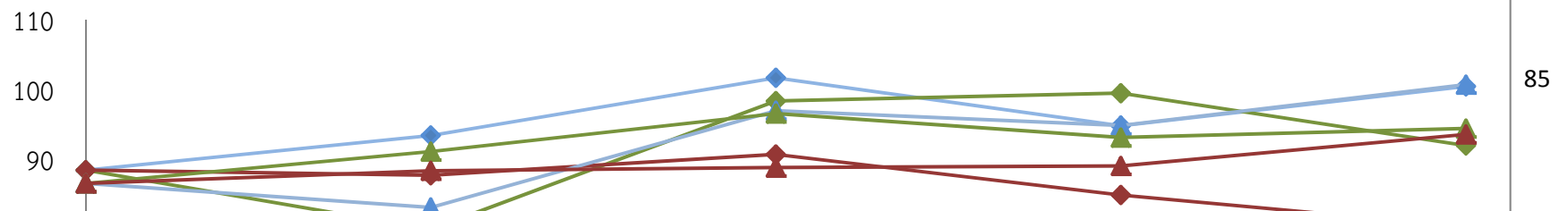
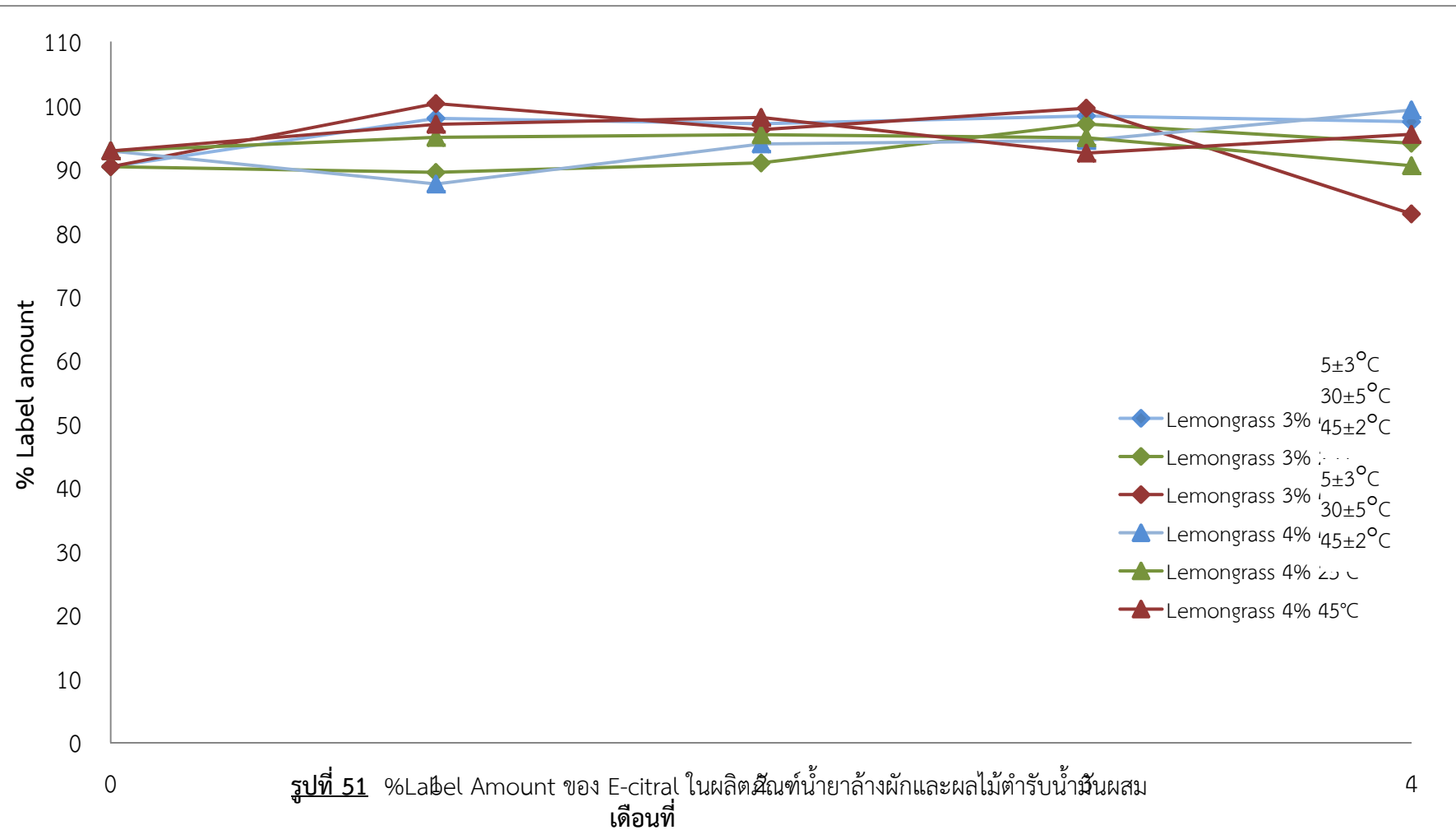
ตารางที่ 31 ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและ %Label amount ของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับ
น้ำมันชนิดเดียวที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ตำรับ	สารสำคัญ	เดือนที่ 0	°C	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
Lemongrass 3%	E-citral	2.71	5±3	2.94	2.91	2.95	2.92
		(90.36)		(97.94)	(97.09)	(98.31)	(97.41)
				30±5	2.68	2.73	2.91
					(89.46)	(90.94)	(97.05)
				45±2	3.01	2.88	2.99
					(100.27)	(96.17)	(99.53)
Lemongrass 4%	E-citral	3.71	5±3	3.51	3.76	3.78	3.97
		(92.84)		(87.64)	(93.94)	(94.48)	(99.27)
				30±5	3.80	3.81	3.80
					(94.96)	(95.36)	(94.90)
				45±2	3.88	3.92	3.70
					(97.01)	(98.09)	(92.48)
Sweet Basil 2% Xanthan	Methyl Chavicol	1.84	5±3	1.67	1.71	1.89	1.85
		(91.89)		(83.39)	(85.75)	(94.64)	(92.61)
				30±5	1.71	1.81	1.80
					(85.34)	(90.65)	(89.81)
				45±2	1.80	1.95	1.88
					(89.99)	(97.57)	(94.18)
Sweet Basil 2% PEG	Methyl Chavicol	1.80	5±3	1.97	1.72	1.82	1.84
		(90.15)		(98.53)	(85.87)	(91.11)	(91.75)
				30±5	1.81	1.78	1.82
					(90.54)	(89.20)	(91.21)
				45±2	1.84	1.85	1.85
					(92.05)	(92.35)	(92.68)

ตารางที่ 32 ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและ %Label amount ของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับ
น้ำมันผสมที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

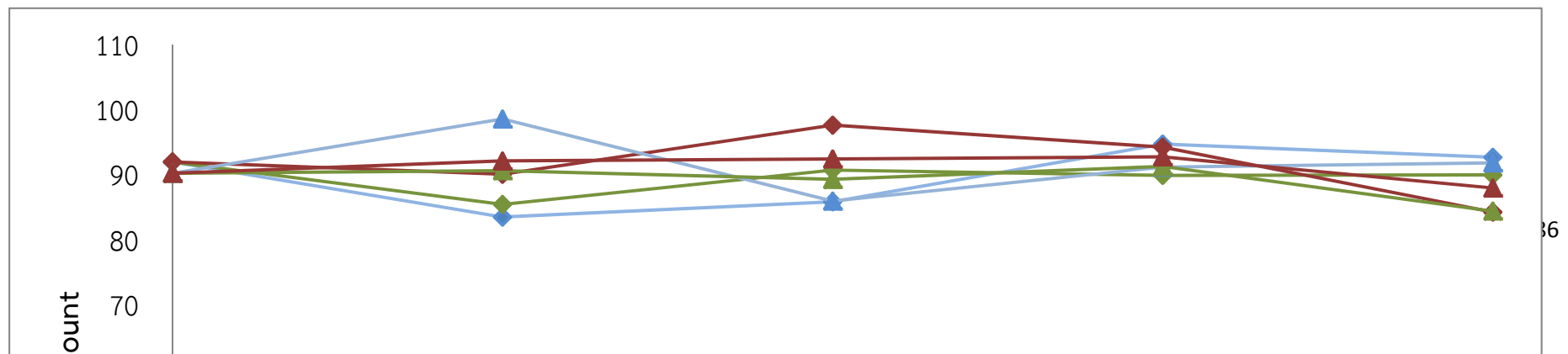
ตำรับ	สารสำคัญ	เดือนที่ 0	°C	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
Mix	E-citral	0.88	5±3	0.93	1.02	0.95	1.00
Lemongrass		(88.42)		(93.39)	(101.66)	(94.78)	(100.42)
1%			30±5	0.80	0.98	0.99	0.92
Sweet Basil				(79.94)	(98.33)	(99.45)	(91.95)
1%			45±2	0.88	0.91	0.85	0.80
				(87.69)	(90.67)	(84.86)	(80.34)
	Methyl	0.88	5±3	0.93	0.81	0.90	0.88
	Chavicol	(88.44)		(93.49)	(81.10)	(90.32)	(88.15)
			30±5	0.76	0.85	0.90	0.89
				(76.22)	(84.60)	(89.60)	(89.50)
			45±2	0.88	0.75	0.83	0.86
				(87.92)	(75.44)	(82.85)	(86.19)
Mix	E-citral	1.73	5±3	1.66	1.94	1.90	2.01
Lemongrass		(86.52)		(83.08)	(96.94)	(94.81)	(100.68)
2%			30±5	1.82	1.93	1.86	1.89
Sweet Basil				(91.08)	(96.52)	(93.09)	(94.39)
0.5%			45±2	1.77	1.78	1.78	1.87
				(88.32)	(88.79)	(89.02)	(93.54)
	Methyl	0.51	5±3	0.50	0.47	0.48	0.50
	Chavicol	(101.81)		(100.45)	(94.22)	(95.21)	(100.84)
			30±5	0.50	0.48	0.46	0.54
				(100.50)	(96.48)	(92.01)	(108.30)
			45±2	0.50	0.44	0.47	0.48
				(100.31)	(88.61)	(93.65)	(95.54)

รูปที่ 50 %Label Amount ของ E-citral ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับน้ำมันตะไคร้เดี่ยว



$5\pm3^{\circ}\text{C}$
 $30\pm5^{\circ}\text{C}$
 $45\pm2^{\circ}\text{C}$
 $5\pm3^{\circ}\text{C}$
 $30\pm5^{\circ}\text{C}$
 $45\pm2^{\circ}\text{C}$

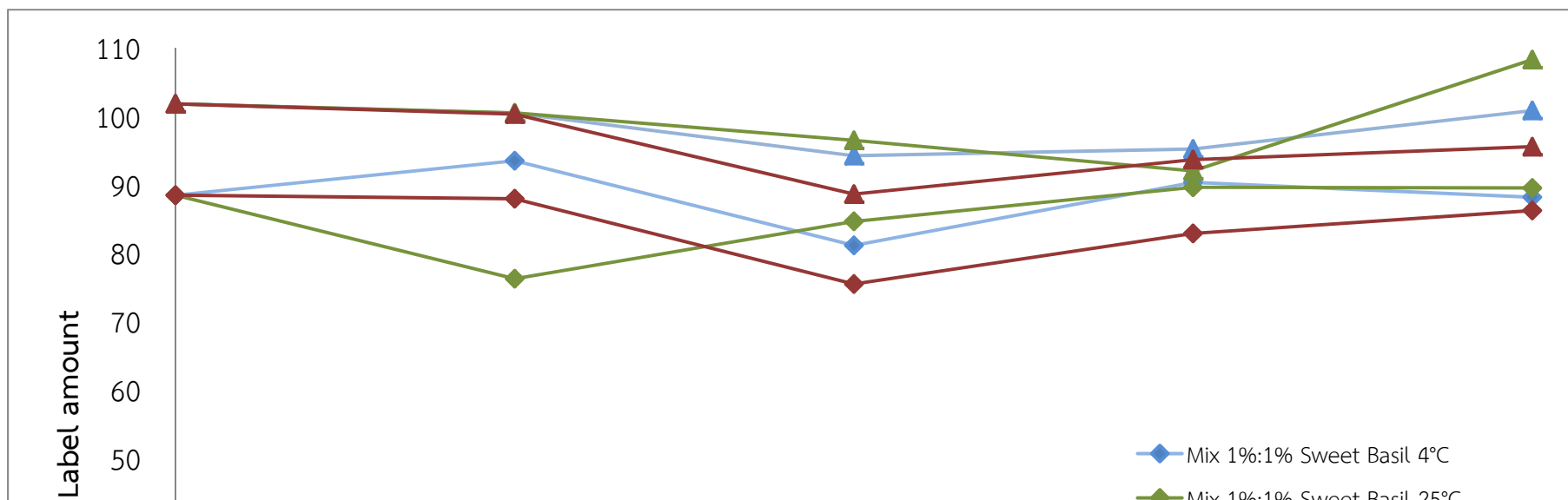
รูปที่ 52 %Label Amount ของ Methyl chavicol ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ดำรับน้ำมันโหระพาเดี่ยว



5±3°C
30±5°C
45±2°C

5±3°C
30±5°C
45±2°C

รูปที่ 53 %Label Amount ของ Methyl chavicol ในผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ดำนับน้ำมันผสม



$5\pm 3^{\circ}\text{C}$

$30\pm 5^{\circ}\text{C}$

$45\pm 2^{\circ}\text{C}$

$5\pm 3^{\circ}\text{C}$

$30\pm 5^{\circ}\text{C}$

$45\pm 2^{\circ}\text{C}$

5.4 การประเมินความคงตัวของชีวภาพ

1. ตำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2%w/w PEG

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:25	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:12.5	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:50	1:25	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:50	1:12.5	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:100	1:25	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:25	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	<1:400	1:50	1:100	1:25	1:200	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:25	1:50	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:50	1:50	1:200	1:50	1:100	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:12.5	1:6.25	1:6.25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	>1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:100	1:50	1:100	1:25	1:100	1:25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:50	1:50	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:50	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:100	1:200	1:100	1:100	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	<1:400	<1:400	<1:400	<1:400	<1:400	<1:400
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:25	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:100	1:50	1:100	1:100	1:100	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:50	1:50	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:25	1:50	1:25	1:50	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:100	1:100	1:50	1:6.25	1:100	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:25	1:25	>1:6.25	1:25	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:12.5	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:25	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:50	1:25
	<i>Escherichia coli</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25

2. ตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 3% w/w PEG

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC

เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:100	1:25	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:25	1:25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:200	1:50	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:50	1:50	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:400	1:50	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:50	1:50	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:50	1:25	<1:400	1:100	<1:400	1:100
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:12.5	1:12.5	1:50	1:50	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:100	1:100	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:200	1:400	1:400	1:400	1:400
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:25	1:25	1:25	1:12.5
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:200	1:50	1:200	1:100	1:200	1:200
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:100	1:100	1:50	1:100	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:200	1:200	1:200	1:200	1:200
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:100	1:100
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:400	1:400	1:200	1:400	1:200
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:200	1:200	1:100	1:200	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:100	1:50	1:100	1:100	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:100	1:400	1:100	1:400	1:400
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:100	1:200	1:100	1:200	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5

3. ตำรับน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 4% w/w PEG

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:200	1:100	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:25	1:25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:200	1:100	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:100	1:50	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:400	1:100	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:100	1:100	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	1:25	1:25	-	-

เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:50	<1:400	1:100	1:200	1:100
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:25	1:25	1:25	1:50	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:100	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:100	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:400	1:400	1:50	1:50	1:400	1:400
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:25	1:50	1:50	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:200	1:50	1:200	1:50	1:200	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:200	1:200	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:200	1:200	1:200	1:200	1:200
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:400	1:400	1:400	1:400	1:400
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:25	1:50	1:25	1:50	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:100	1:200	1:200	1:100	1:100
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:100	1:100	1:25	1:100	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:100	1:200	1:200	1:200	1:200
	<i>Escherichia coli</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:400	1:400	1:400	1:400	1:400
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:25	1:50	1:25	1:50	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:200	1:100	1:400	1:200	1:200	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:25	1:25	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5

4. ดำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 1:1

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:50	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:25	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:50	1:50	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:50	1:50	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:50	>1:6.25	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:12.5	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:100	1:50	<1:400	1:100	<1:400	1:100
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:12.5	1:12.5	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:400	1:100	1:400	1:400	1:200	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:25	1:25	1:25

	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:200	1:100	1:200	1:200	1:200	1:100
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:100	1:100	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:6.25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25

5. ดำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพา ที่อัตราส่วน 2:0.5

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:100	1:50	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:25	1:25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:100	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:100	1:50	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:200	>1:6.25	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:50	1:50	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	1:6.25	1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:50	1:200	1:50	<1:400	1:100
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:12.5	1:12.5	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:50	1:50	1:50	1:25	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:100	1:100	1:50	1:400	1:400
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:12.5	>1:6.25	1:12.5	>1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:25	1:25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100

	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:400	1:400	1:400	1:400	1:200	1:200
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:25	1:25	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:50	1:50
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:50	1:50	1:100	1:50	1:50	1:50
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	1:50	1:50	1:50	1:50	1:50	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:6.25
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:200	1:100	1:200	1:50	1:200	1:50
เดือนที่ 4	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:25	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:100
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5

6. ดำรับน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 2% w/w xanthan

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:200	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:12.5	1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	1:12.5	>1:6.25	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:25	1:12.5	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	>1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:200	1:50	1:100	1:25	1:25	>1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Shigella sonnei</i>	1:50	1:25	1:25	1:25	1:50	1:12.5
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:25	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:50	1:25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25

	<i>Shigella sonnei</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:50	1:25	1:50	1:25	1:50	1:25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25

7. น้ำมันโหระพาความเข้มข้น 2% w/w

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:12.5	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:12.5	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	1:12.5	1:6.25	-	-
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	>1:6.25	>1:6.25	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:12.5	>1:6.25	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:25	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	>1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:12.5	>1:6.25	1:50	1:25	1:50	1:50
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:6.25	1:6.25	1:25	1:12.5	1:12.5	1:12.5
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:12.5	1:6.25	1:6.25
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:50	1:25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Escherichia coli</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:6.25	1:6.25	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella Typhi</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25

	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:12.5
	<i>Escherichia coli</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25

8. น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 2% w/w

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ชื่อเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา					
		5±3°C		30±5°C		45±2°C	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
เดือนที่ 0	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:100	1:25	-	-
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	1:6.25	>1:6.25	-	-
	<i>Salmonella</i> Typhi	-	-	1:50	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	-	-	1:25	1:6.25	-	-
	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	1:50	1:25	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	1:50	1:12.5	-	-
	<i>Salmonella braenderub</i>	-	-	>1:6.25	>1:6.25	-	-
เดือนที่ 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:50	1:25	1:12.5	>1:6.25	1:12.5	>1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	>1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhi	1:25	1:25	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1:25	1:12.5	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:50	1:25	1:50	1:50	1:50	1:50
	<i>Escherichia coli</i>	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25	1:25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:12.5	<1:400	<1:400	<1:400	<1:400
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:12.5	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhi	1:12.5	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1:12.5	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:25	1:25	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Escherichia coli</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:12.5	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:25	1:12.5	1:25	1:12.5	1:50	1:25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhi	1:25	1:12.5	1:25	1:6.25	1:25	1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25	1:25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Escherichia coli</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25	>1:6.25
เดือนที่ 4	<i>Staphylococcus aureus</i>	1:6.25	1:6.25	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella cholerasuis</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhi	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	1:6.25
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25
	<i>Shigella sonnei</i>	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:6.25	1:12.5	1:12.5
	<i>Escherichia coli</i>	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:6.25	1:12.5	1:6.25
	<i>Salmonella braenderub</i>	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25	1:6.25	>1:6.25

5.5 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ล้างผักและผลไม้ นั้น ได้ทำการคัดเลือกผลิตภัณฑ์ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% และ 4% รวมทั้งน้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ PEG 4000 เป็น thickening agent และตำรับที่ผสมน้ำมันโหระพา 2% โดยใช้ xanthan gum เป็น thickening agent นอกจากนี้ยังนำสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 1:1 และสูตรผสมตำรับน้ำมันผสมตะไคร้กับโหระพาที่อัตราส่วน 2:0.5 มาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อสีของตำรับที่มีส่วนผสมน้ำมันตะไคร้ โดยพบว่า การเก็บที่สภาวะ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ ทำให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด และการเก็บที่สภาวะ $45\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%\text{RH}$ ทำให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงมากที่สุด อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพดังกล่าวไม่พบในตำรับที่มีน้ำมันโหระพาเป็นส่วนประกอบ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ เช่น ความใส การแยกชั้น และเมื่อนำตำรับต่างๆ ไปเจือจางด้วยน้ำ เพื่อให้มีความใกล้เคียงกับสภาวะการใช้งานจริงที่อัตราส่วน 1: 100 พบว่า ตำรับทั้งหมดมีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีตะกอน และเป็นเนื้อเดียวกัน

ตำรับทั้งหมดที่นำมาทดสอบมีความคงตัวของสารสำคัญอยู่ในเกณฑ์ที่ดี เมื่อทำการศึกษาปริมาณสารสำคัญ พบว่า ทุกตำรับที่ทุกอุณหภูมิมีปริมาณสารสำคัญเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนักเมื่อเก็บไว้ตลอด 4 เดือน และไม่มีตำรับใดที่มีสารสำคัญลดลงต่ำกว่า 80% Label amount

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียในภาพรวม พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษาตลอด 4 เดือน ไม่มีผลลดความสามารถในการยับยั้งเชื้อส่วนใหญ่ เช่นเดียวกับ อุณหภูมิในการเก็บรักษา คือ $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ และ $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ ไม่พบว่ามีผลที่เด่นชัดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ

โดยสรุป ตำรับน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยเดี่ยวมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าตำรับที่เป็นสูตรผสม อาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่เข้มข้นลดลงมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่ลดลงด้วย ซึ่งตำรับที่ผสมน้ำมันตะไคร้ 3% เป็นตำรับที่มีความน่าใช้มากที่สุดและมีต้นทุนประมาณ 25.8 บาทต่อ 100 กรัม จึงเป็นตำรับที่น่าจะนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Juang GP, Zou YG. Washing agent for removing residual pesticide of vegetables. United State Patent, No. U.S.6,998,370 B2, Dated Feb.14, 2006.
2. Song MG, Kim JY, Kim JD. The dispersion properties of precipitated calcium carbonatesuspensions adsorbed with alkyl polyglycoside in aqueous medium. J Colloid Interface Sci 2000; 226(1): 83-90.
3. Kim JY, Song MG, Kim JD. Zeta potential of nanobubbles generated by ultrasonication in aqueous alkyl polyglycoside solutions. J Colloid Interface Sci 2000; 223(2): 285-291.
4. World Health Organization. Food safety and foodborne illness. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> [accessed on November 2012]
5. Centers for Disease Control and Prevention. Foodborne Disease Outbreak Surveillance. http://www.cdc.gov/outbreaknet/surveillance_data.html [accessed on November 2012]
6. ปรีชา จีงสมานกุล, นวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต และกมลวรรณ กันตัง. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด. ว กรรมวิทย์ พ 2553; 52 (1-2): 30-39.
7. Main AR, jolly CL. Formulation of natural shampoo. Int J Cosmetic Sci. 2001; 23:59-62.
8. Alameda EJ, Rodriguez VB, Vaz DA. Effectiveness of starch removal in a bath-substrate-flow (BSF) device using surfactants and alpha-amylase. Food Hydrocolloid. 2011;25:647-53.
9. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. Washington Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009.

ตารางกิจกรรมการดำเนินงาน

วัตถุประสงค์	กิจกรรมการดำเนินงาน	ผลที่ได้รับ
1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับล้างผักและผลไม้จากน้ำมันหอมระเหย	1.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับต่างๆ 1.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับต่างๆ	ได้สูตรตำรับของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักผลไม้ที่มีคุณสมบัติทางกายภาพดี
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สำหรับล้างผักและผลไม้	2.1 การทดสอบหาค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) และ MBC (Minimum bactericidal concentration) ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้ตำรับต่างๆ 2.2 การประเมินความสามารถในการกำจัดเชื้อต่างๆ เมื่อนำไปเจือจางในสภาวะเสมือนกับการใช้งานทั่วไป	ได้ตำรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักผลไม้ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ
3. เพื่อทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สำหรับล้างผักและผลไม้	3. การประเมินความคงตัวของตำรับ 3.1 คุณลักษณะทางกายภาพทั่วไป 3.2 ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย 3.3 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเพื่อดูความคงตัวด้วยวิธี GC-MS	ได้ตำรับผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักผลไม้ทั้งสูตรเดียวและสูตรผสมที่มีความคงตัวทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ

ภาคผนวก

ตารางการประเมินต้นทุนตำรับน้ำยาล้างผักจากน้ำมันหอมระเหย

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 1												สูตรที่ 2			
	ตำรับ 1	ต้นทุน	ตำรับ 2	ต้นทุน	ตำรับ 3	ต้นทุน	ตำรับ 4	ต้นทุน	ตำรับ 5	ต้นทุน	ควบคุม 1	ต้นทุน	ตำรับ 7	ต้นทุน	ควบคุม 2	ต้นทุน
Lemongrass	3%w/w	8.1 บาท	4%w/w	10.8 บาท	-		1%w/w	2.7 บาท	2%w/w	5.4 บาท	-	-	-	-	-	-
Sweet basil	-	-	-		2%w/w	7.4 บาท	1%w/w	3.7 บาท	0.5%w/w	1.9 บาท	-	-	2%w/w	7.4 บาท	-	-
Decylglucoside	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท	20%w/w	3.3 บาท
PEG 400	8%w/w	1.9 บาท	8%w/w	1.9 บาท	8%w/w	1.9 บาท	8%w/w	1.9 บาท	8%w/w	1.9 บาท	8%w/w	1.9 บาท	10%w/w	2.4 บาท	10%w/w	2.4 บาท
PEG 4000	2%w/w	0.6 บาท	2%w/w	0.6 บาท	2%w/w	0.6 บาท	2%w/w	0.6 บาท	2%w/w	0.6 บาท	2%w/w	0.6 บาท	-	-	-	-
Xanthan gum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2%w/w	0.2 บาท	0.2%w/w	0.2 บาท
Glycerin	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท	20%w/w	5.6 บาท
Cremophor RH40	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท	10%w/w	4.3 บาท
Paraben concentrate	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท	1%w/w	0.3 บาท

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 1												สูตรที่ 2			
	ตำรับ 1	ต้นทุน	ตำรับ 2	ต้นทุน	ตำรับ 3	ต้นทุน	ตำรับ 4	ต้นทุน	ตำรับ 5	ต้นทุน	ควบคุม 1	ต้นทุน	ตำรับ 7	ต้นทุน	ควบคุม 2	ต้นทุน

Citric buffer	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท	-	1.7 บาท
รวม	100 g	25.8 บาท	100 g	28.5 บาท	100 g	25.1 บาท	100 g	24.1 บาท	100 g	25 บาท	100 g	17.7 บาท	100 g	25.2 บาท	100 g	17.8 บาท

หมายเหตุ

สูตรที่ 1: PEG4000

ตำรับ 1: น้ำมันตะไคร้ 3%w/w 25.8 บาท ต่อ 100 กรัม (0.258 บาทต่อกรัม)

ตำรับ 2: น้ำมันตะไคร้ 4%w/w 28.5 บาท ต่อ 100 กรัม (0.285 บาทต่อกรัม)

ตำรับ 3: น้ำมันโหระพา 2%w/w 25.1 บาท ต่อ 100 กรัม (0.251 บาทต่อกรัม)

ตำรับ 4: น้ำมันผสม (น้ำมันตะไคร้ : น้ำมันโหระพา อัตราส่วน 1 : 1) 24.1 บาท ต่อ 100 กรัม (0.241 บาทต่อกรัม)

ตำรับ 5: น้ำมันผสม (น้ำมันตะไคร้ : น้ำมันโหระพา อัตราส่วน 2 : 0.5) 25 บาท ต่อ 100 กรัม (0.25 บาทต่อกรัม)

ตำรับควบคุม 1: 17.7 บาท ต่อ 100 กรัม (0.177 บาทต่อกรัม)

สูตรที่ 2: Xanthan gum

ตำรับ 7: น้ำมันโหระพา 2%w/w 25.2 บาท ต่อ 100 กรัม (0.252 บาทต่อกรัม)

ตำรับควบคุม 2: 17.8 บาท ต่อ 100 กรัม (0.178 บาทต่อกรัม)