

การพัฒนาฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมันสะระแหน่
Mentha piperita

นางสาวเกวณีน รัตนจรัสกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2555
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILM FROM CARBOXYMETHYL CELLULOSE
INCORPORATED WITH PEPPERMINT *Mentha piperita* OIL

Miss Kelwalin Rattanacharatkun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมันสะระแหน่ <i>Mentha piperita</i>
โดย	นางสาวเกวณีน รัตนจรัสกุล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หรรหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สายวรุฬห์ ชัยวานิชศิริ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. จันทรเพ็ญ จันทรเจ้า)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร. สุวิมล อริยะประกาย)

เกวณีน รัตนจรัสกุล : การพัฒนาฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมัน
 สระระแห่น *Mentha piperita*. (DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILM FROM
 CARBOXYMETHYL CELLULOSE INCORPORATED WITH PEPPERMINT *Mentha piperita* OIL)
 อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ดร.พาสวดี ประทีปะเสน, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม :
 ผศ.ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา, ผศ. ดร. ชาลิดา บรมพิชัยชาติกุล , 85 หน้า.

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการใช้ประโยชน์จากน้ำมันสระระแห่นซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติที่ถูกต้องให้อยู่ใน
 General recognized as safe (GRAS) จากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาและพบว่ามีฤทธิ์ในการ
 ยับยั้งแบคทีเรีย โดยเตรียมให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสระระแห่นที่กระจายในน้ำ โดยใช้ตัวทำอิมัลชันที่
 สามารถบริโภคได้แก่ polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20) และเลซิทินพบว่าผลิตภัณฑ์
 ซึ่งมีน้ำมันสระระแห่นบรรจุในไมเซลล์ของ Tween 20 ที่ละลายน้ำมีขนาดของอนุภาคต่ำกว่า 10 นาโนเมตร เมื่อ
 ใช้ น้ำมันสระระแห่นความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 5 ในสารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 และน้ำมัน
 สระระแห่นเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 8 ร่วมกับสารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 30 เมื่อปริมาณน้ำมันสระระแห่น
 มากขึ้นกว่านี้ได้อิมัลชันชนิดน้ำมันสระระแห่นในน้ำซึ่งมีขนาดอนุภาคระหว่าง 3-5 ไมโครเมตร และอิมัลชันไม่
 สามารถเกิดได้เมื่อมีน้ำมันสระระแห่นมากกว่าร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก และไลโปโซมเมื่อใช้เลซิทินร้อยละ 0.7
 ร่วมกับน้ำมันสระระแห่นร้อยละ 8-23 โดยน้ำหนัก มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 1-5 ไมโครเมตร จากการทดสอบ
 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียน้ำมันสระระแห่นและผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสระระแห่นโดยพิจารณาจากวงใสที่เกิดขึ้น น้ำมัน
 สระระแห่นมีขนาดวงใส 17.68, 14.78 และ 12.32 มิลลิเมตร สำหรับ *Lactobacillus* sp. TISTR 593,
Staphylococcus aureus ATCC 25923 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์น้ำมัน
 สระระแห่นต้องมีความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นอย่างน้อยร้อยละ 5, 8 และ 7 (วงใสที่กว้างกว่า 8 มิลลิเมตร) *E.*
coli, *S. aureus* และ เชื้อ *Lactobacillus* sp. ตามลำดับ สำหรับ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ไม่
 พบวงใสที่เกิดจากน้ำมันสระระแห่น แต่พบวงใสเมื่อเตรียมน้ำมันสระระแห่นมากกว่าร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก ในรูป
 ไมเซลล์ มากกว่าร้อยละ 8 ในรูปอิมัลชันและร้อยละ 23 ในรูปไลโปโซม จึงคัดเลือกน้ำมันสระระแห่นร้อยละ 23
 ในรูปไลโปโซมเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ตามลำดับ โดยเติมลงในสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เพื่อผลิต
 ฟิล์มต้านเชื้อจุลินทรีย์จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส พบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะใส มีความหนาแน่นระหว่าง 0.02 – 0.2
 มิลลิเมตร มีความยืดหยุ่นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.4-9 มีความต้านทานแรงดึงขาดระหว่าง 0.2 – 37 เมกะปาสคาล
 และอัตราการซึมผ่านไอน้ำในช่วง 0.4 – 3 (10^{-6} g m /m² d) และไม่พบวงใสสำหรับเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4
 สายพันธุ์

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อ.....

ปีการศึกษา.....2555.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5272230423 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : ANTIBACTERIAL, PEPPERMINT OIL, BIODEGRADABLE FILM

KELWALIN RATANACHARATKUN : DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILM FROM CARBOXYMETHYL CELLULOSE INCORPORATED WITH PEPPERMINT *Mentha piperita* OIL.

ADVISOR : ASST. PROF. PASAWADEE PRADIPASENA, Sc.D., CO-ADVISOR :

ASST. PROF. CHEUNJIT PRAKITCHAIWATTANA, Ph.D.,

ASST. PROF. CHALEEDA BOROMPICHAICHARTKUL, Ph.D. 85 pp.

Three forms (micellar solution, emulsion and liposome) of water-based antibacterial products were formulated using peppermint oil (PO) as active ingredient. Food grade emulsifiers were polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20) for micellar solution and emulsion, and soy lecithin for liposome. The results showed that transparent micellar solutions with volume moment mean diameter, $D[4,3]$, less than 10 nm could be formulated at PO concentrations of ≤ 5 and ≤ 8 %wt in 25 and 30 %wt Tween 20 solution, respectively. The higher content of PO resulted in oil-in-water emulsions with $D[4,3]$ of 3-5 μm . Emulsion could not form at $\text{PO} > 9$ %wt. Liposome could be formulated using 8-23 %wt PO with 0.7 %wt soy lecithin. Liposome aggregates had $D[4,3]$ of 1-5 μm . Antibacterial activity (in term of clear zone diameter, D_c) for pure PO was found to be 17.68, 14.78 and 12.32 mm for *Lactobacillus* sp. TISTR539, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 and *Escherichia coli* ATCC25922, respectively. For the formulated products, the minimum PO concentrations of 8, 7 and 5 %wt were required for inhibition ($D_c \geq 8$ mm) of *Lactobacillus* sp., *S. aureus* and *E. coli*, respectively. For *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027, pure PO did not show antibacterial activity, but the formulated products (micelle solution of ≥ 7 %wt PO, emulsion of ≥ 8 %wt PO and liposome of 23 %wt PO) had antibacterial activity. Selected the liposome content 23 % of PO incorporated with carboxymethyl cellulose solution for form the antibacterial biodegradable film. That results the film was clear thickness between 0.02-0.2 mm elongation value 0.4-9 % tensile strength between 0.2-37 MPa and water vapor permeability rate 0.4-3 (10^{-6} g m /m² d) and were not found the antibacterial activity of any film products.

Field of Study : ...BIOTECHNOLOGY... Student's Signature.....

Academic Year : ...2012..... Advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยในระดับปริญญาโทสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีได้นั้น ด้วยความช่วยเหลือ และคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่สละเวลาให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องในการดำเนินงานวิจัยตลอดมา ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สายวรุฬห์ ชัยวานิชศิริ ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. จันทรพีฎ จันทรเจ้า และดร. สุวิมล อริยประกาย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ที่สนับสนุน เป็นกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มอบทุนอุดหนุนงานวิจัยในการดำเนินงานวิจัย งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่อนุเคราะห์ค่าวิเคราะห์ขนาดอนุภาคในระดับนาโน ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ขนาดอนุภาคระดับไมครอน

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ วัสดุ และอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย และขอขอบพระคุณพี่ๆปริญญาเอก ห้องปฏิบัติการดุขภูมิตถและเพื่อนๆ ทั้งภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดการดำเนินงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์และแนวทางสำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยฉบับนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	3
2.2 น้ำมันสะระแหน่.....	6
2.3 การกักเก็บสารสำคัญทางชีวภาพเพื่อให้สามารถกระจายในน้ำได้.....	10
2.3.1 อิมัลชัน.....	11
2.3.2 ไลโปโซมเอนแคปซูลเลชัน (Liposome encapsulation).....	14
2.4 ประสิทธิภาพการต้านการเจริญของแบคทีเรียของสารที่ถูกกักเก็บ.....	15
2.5 แบคทีเรีย.....	18
2.6 ฟิล์มถนอมอาหาร.....	18
2.7 ฟิล์มต้านจุลินทรีย์.....	19
2.8 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	20
2.8.1 โครงสร้างของพอลิเมอร์.....	21
2.8.2 ความเข้มข้นของสารละลาย.....	22
2.8.3 ตัวทำละลาย.....	22
2.8.4 การขจัดตัวทำละลาย.....	22
2.9 สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม.....	23
2.9.1 ความหนา.....	23
2.9.2 ความต้านทานแรงดึงขาด.....	23
2.9.3 ความยืดหยุ่น.....	24
2.9.4 อัตราการซึมผ่านไอน้ำ.....	24
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	25

หน้า

3.1	วัตถุประสงค์ เพื่อจุลินทรีย์ สารเคมีและอุปกรณ์	25
3.1.1	วัตถุประสงค์.....	25
3.1.2	จุลินทรีย์.....	25
3.1.3	สารเคมี.....	25
3.1.4	วัสดุ และอุปกรณ์.....	26
3.2	ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	27
3.2.1	การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของน้ำมันสะระแห่น.....	27
3.2.2	การศึกษาผลของปริมาณน้ำมันสะระแห่นและตัวทำอิมัลชัน (Tween 20 และ Soy lecithin) ต่อการเกิดไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซม	28
3.2.3	การศึกษาผลของความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มี น้ำหนักโมเลกุลคงที่ (700 kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฟิล์ม.....	31
บทที่ 4	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
4.1	ผลของประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันสะระแห่น.....	35
4.2	ผลของปริมาณน้ำมันสะระแห่นและตัวทำอิมัลชัน (Tween 20 และ Soy lecithin) ต่อการเกิดไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซม.....	36
4.3	ผลของความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุล คงที่ (700kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	46
บทที่ 5	สรุปผลการทดลอง	54
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	54
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	55
	รายการอ้างอิง.....	56
	ภาคผนวก.....	65
	ภาคผนวก ก	66
	ภาคผนวก ข.....	69

หน้า

ภาคผนวก ค.....	71
ภาคผนวก ง.....	74
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดและสารสำคัญของพืชที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์.....	4
2.2 ประสิทธิภาพของน้ำมันสะระแหน่ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	7
2.3 ขนาดของวงใสต่อการยับยั้งจุลินทรีย์.....	8
2.4 ประสิทธิภาพของน้ำมันสะระแหน่ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	8
2.5 องค์ประกอบและความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ของน้ำมันสะระแหน่ต่อเชื้อ <i>E. coli</i>	10
2.6 สารเคมีที่ปนเปื้อนลงสู่อาหารและปริมาณควบคุม.....	19
3.1 องค์ประกอบของสารละลายไมเซลล์และอิมัลชัน.....	29
3.2 รายละเอียดปริมาณสารละลายเลขิตินใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ สำหรับไลโปโซมที่มีองค์ประกอบต่างๆ.....	30
3.3 องค์ประกอบของของผสมสำหรับขึ้นรูปฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ผสมหรือไม่ผสมผลิตภัณฑ์ด้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย.....	33
4.1 ค่า MBC ของน้ำมันสะระแหน่ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ.....	36
4.2 สมบัติทางกายภาพของอนุภาคน้ำมันสะระแหน่ในรูปอิมัลชันและไลโปโซม.....	39
4.3 ขนาดวงใสของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่.....	45
4.4 ความหนา ความยืดหยุ่น แรงต้านการดึงขาดและอัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม.....	50
ง1 องค์ประกอบ และการกระจายของอิมัลชัน.....	75
ง2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของขนาดวงใส.....	80

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยต่อแบคทีเรีย.....	5
2.2 โครงสร้างของ menthol.....	9
2.3 การเกิดอิมัลชัน.....	11
2.4 phase diagram ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันสะระแห่น Tween 20 และน้ำ.....	12
2.5 ลักษณะการกักเก็บสารสำคัญในอิมัลชันและไมเซลล์.....	13
2.6 กลไกการแยกชั้นของอิมัลชัน.....	14
2.7 ลักษณะอนุภาคของไลโปโซมและอิมัลชัน.....	15
2.8 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของไลโปโซม.....	16
2.9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ที่ถูกทำลายด้วยอิมัลชัน	17
2.10 กลไกการดูดซับและการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ที่ถูกกักเก็บไว้ในพอลิเมอร์.....	20
2.11 ลักษณะการจับกันของพอลิเมอร์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	21
2.12 การเกิด junction zones ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	24
4.1 ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ของน้ำมันสะระแห่น.....	38
4.2 ลักษณะของอนุภาคน้ำมันสะระแห่นมรูปร่างอิมัลชันที่กำลังขยาย 400 และ 1000 เท่า.....	41
4.3 ลักษณะของอนุภาคน้ำมันสะระแห่นในรูปร่างอิมัลชันที่กำลังขยาย 200 เท่า.....	42
4.4 อนุภาคไลโปโซมที่บรรจุน้ำมันสะระแห่นที่กำลังขยาย 1,000 เท่า.....	42
4.5 วงใสที่เกิดจากไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นเทียบกับไลโปโซมชุดควบคุม ต่อเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	44
4.6 ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	47
4.7 ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ผสมที่มีน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก และ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก.....	48
4.8 แบบจำลองการเกิดโครงร่างตาข่ายของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	49
4.9 ฟิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุม ของเชื้อ <i>Lactobacillus</i> sp. TISTR 593.....	51
4.10 ฟิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุม ของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	52

รูปที่	หน้า
4.11	
ฟิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระเหนียวลดละ 23 และฟิล์มชุดควบคุม	
ของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	52
4.12	
ฟิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระเหนียวลดละ 23 และฟิล์มชุดควบคุม	
ของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	53

บทที่ 1

บทนำ

บรรรจุภัณฑ์อาหาร ทำหน้าที่ปกป้องอาหารที่อยู่ภายในโดยจะต้องสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมลงสู่อาหาร และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วได้บางส่วน เนื่องจากฟิล์มจะลดปริมาณออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนลดลง จึงชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญต่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งถ้าเกิดการปนเปื้อนลงสู่อาหารแล้วจะทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร และก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาบรรรจุภัณฑ์อาหาร เช่น ฟิล์มถนอมอาหารที่มีการเติมสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์ลงในฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ แต่ปัจจุบันผู้บริโภคมีตระหนักในการใช้สารสังเคราะห์มากขึ้น เนื่องจากมีผลเสียต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ดังนั้น ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยเฉพาะสารที่ได้มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยที่ไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ สิ่งแวดล้อม จึงเป็นทางเลือกที่ผู้บริโภคนิยมมากขึ้น

ดังนั้นจึงเกิดแนวคิดในการพัฒนาฟิล์มห่อหุ้มอาหารจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่มีความปลอดภัยสามารถบริโภคได้ ละลายน้ำได้ดี และสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะ ผิวสัมผัสเรียบ ยืดหยุ่น โปร่งใส และไม่มีกลิ่นรส โดยเติมน้ำมันสาระแนซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียจาก เมนทอล ซึ่งได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคในด้านกลิ่นที่ดี และถูกจัดให้อยู่ใน General recognized as safe (GRAS) จากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา แต่เนื่องจากเป็นตัวทำละลายของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ซึ่งน้ำมันสาระแนไม่สามารถกระจายตัวในน้ำ จึงจำเป็นต้องใช้ตัวทำอิมัลชันเพื่อให้ไขมันสาระแนกระจายตัวในรูปของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และ/หรือไลโปโซม โดยในการวิจัยนี้ใช้ตัวทำอิมัลชันที่ได้รับการยอมรับให้ใช้ในอาหารได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพัฒนาฟิล์มจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยใช้น้ำมันสาระแนเป็นสารออกฤทธิ์

ขอบเขตงานวิจัย

- ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหน่
- พัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่ที่กระจายในน้ำโดยใช้ตัวทำอิมัลชันที่ใช้ในอาหารและทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์
- พัฒนาฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ผสมกับผลิตภัณฑ์ข้างต้นที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงสุดและทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

พืชหลากหลายชนิดที่เป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีการใช้บริโภคกันมาอย่างยาวนาน บางชนิดมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ใช้ในการถนอมอาหารและปรับปรุงกลิ่นของอาหาร Tajkarimi และคณะ (2010) พบว่าพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดรวมถึงน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการพัฒนาโดยการนำมาสกัดสารสำคัญและศึกษาฤทธิ์จากพืชสมุนไพรและพืชอาหารอย่างแพร่หลาย ทางด้านเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนมากสามารถละลายน้ำได้ สารกลุ่มฟีนอลิกซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ reducing agent บางชนิดเป็น chelating agent (Proestos, 2008) เนื่องจากเชื่อว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่าสารสังเคราะห์ทางเคมี เช่น ซิง ออริกาโน โรสแมรี่ ขมิ้น ลูกจันทร์เทศ อบเชย ตะไคร้ สะระแหน่ กระเทียม และกานพลู Tajkarimi และคณะ (2010) รายงานไว้ว่าพืชอาหารและเครื่องเทศส่วนใหญ่รวมถึงน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชเหล่านั้นเป็นสารถนอมอาหารจากธรรมชาติที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย การสกัดสารสำคัญออกจากพืชส่วนมากใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ ซึ่งสารเคมีที่พบในน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Terpenoids, sesquiterpenes และ diterpenes ที่มีความแตกต่างกันของหมู่ฟังก์ชันเช่นมี aliphatic hydrocarbon, acids และแอลกอฮอล์ เช่นในกระเทียมพบ Thiosulfates ออกฤทธิ์ได้ดีกับแบคทีเรียแกรมลบ โดยประสิทธิภาพของการยับยั้งแบคทีเรียของพืชขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ โครงสร้างทางเคมีของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัดนั้น ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันขึ้นกับชนิดและปริมาณสารสำคัญในพืชแตกต่างกันไปตามสถานะที่ปลูก สภาพแวดล้อม สายพันธุ์ ช่วงเวลาหรือฤดูการเก็บเกี่ยว วิธีการสกัดรวมถึงวิธีการตรวจสอบชนิดและปริมาณของสาร และองค์ประกอบของผนังเซลล์จุลินทรีย์ (Tajkarimi *et al.*, 2010 : Deans, 2006)

ตารางที่ 2.1 ชนิดและสารสำคัญของพืชที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

ชนิด	สารสำคัญ	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย(%)
ออริกาโน	Carvacol/thymol	75-100
โรสแมรี่	Camphor/ borneol /1,8-cineole	75-100
กานพลู	eugenol	75-100
โหระพา	Carvacol/thymol	75-100
มัสตาร์ด	Allyl isothiocynate	50-75
อบเชย	Cinnamic aldehyde/eugenol	75-100

(ที่มา : Tajkarimi *et al.*, 2010)

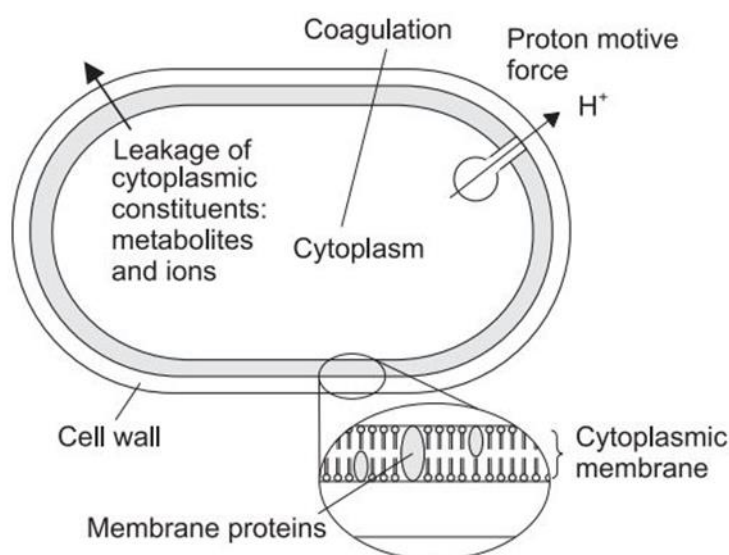
ในงานวิจัยนี้จึงสนใจการนำสารสกัดจากสะระแหน่ในรูปแบบน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีรายงานว่ามียุทธินในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เป็นสารออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียในงานวิจัย

2.1.1 กลไกการออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย

กลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันสะระแหน่ต่อจุลินทรีย์ยังไม่มีข้อมูลยืนยัน กลไกที่แน่ชัด เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากธรรมชาติประกอบด้วยสารเคมีหลากหลายกลุ่ม ซึ่งมีรายงานว่าอาจเกิดขึ้นได้หลายกลไกเช่น 1. ทำลายไซโตพลาสซึมเมมเบรน 2. ทำให้ผนังเซลล์ขาดและองค์ประกอบของเซลล์รั่วไหลออกภายนอก 3. ทำลายโปรตีนที่เซลล์เมมเบรน 4. ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ตกตะกอน และ 5. ส่งผลต่อการส่งผ่านไอออน (รูปที่ 2.1) เนื่องจากโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของสารออกฤทธิ์เข้าทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งขึ้นกับความสามารถในการละลายอยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำมันหอมระเหย เข้าทำลาย phospholipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์ รบกวนระบบเอนไซม์และการสังเคราะห์สารพันธุกรรมของจุลินทรีย์ (Burt, 2004 : Tajkarimi *et al.*, 2010)

โดยทั่วไปพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกไวต่อสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วย peptidoglycan ซึ่งมีโปรตีนแทรกอยู่ระหว่างชั้นของผนังเซลล์ เมื่อสัมผัสกับสารต้านจุลินทรีย์ เข้าไปจะส่งผลต่อโปรตีนที่ผนังเซลล์ทำให้ถูกทำลาย เป็นผลให้ผนังเซลล์เกิดเป็นรู และองค์ประกอบภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมา ทำให้เซลล์ตาย ส่วนแบคทีเรียแกรมลบที่มี lipopolysaccharide เป็น outer

membrane ที่มีการจัดเรียงตัวแบบ phospholipid bilayer และผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีประจุลบ ทำหน้าที่จำกัดสารที่ผ่านเข้าออกเซลล์ เป็นจึงมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่งผลให้แบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่น้ำมันสะระแห่นเป็นน้ำมันมีความเป็น hydrophobicity ต่ำทำให้น้ำมันหอมระเหยสามารถเข้าไปในส่วนของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์และไม่โตคอนเดียร์ได้ ทำลายความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารเคมีทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบของเซลล์และทำให้เซลล์ตายได้ (Burt, 2004 : Tajkarimi *et al.*, 2010, Deans, 2006, Mahboubi and Haghi, 2008, Gupta *et al.*, 2008)



รูปที่ 2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยต่อแบคทีเรีย
(ที่มา : Burt, 2004)

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจการนำน้ำมันสะระแห่นที่ใช้ในอาหารและมีกลิ่นที่ผู้บริโภคยอมรับซึ่งมีรายงานว่ามียุทธิในการยับยั้งจุลินทรีย์มาเป็นสารออกฤทธิ์ในการด้านการเจริญของแบคทีเรีย โดยการเตรียมให้อยู่ในรูปของอิมัลชันและฟิล์มจากอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

2.2 น้ำมันสะระแหน่

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mentha piperita* อยู่ในวงศ์ Lamiaceae เป็นสายพันธุ์ลูกผสมที่เกิดจาก water mint (*Mentha aquatica*) และ spearmint (*Mentha spicata*) โดยนำทั้งต้นของน้ำมันสะระแหน่มาการสกัดด้วยไอน้ำ น้ำมันสะระแหน่มีการใช้ในอาหารมาอย่างยาวนาน มีความปลอดภัย และได้รับการจัดให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารประเภท General recognized as safe (GRAS) โดยองค์การอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา (Deans, 2006) น้ำมันสะระแหน่มีลักษณะของเหลว มีความหนาแน่น 0.904 มีสีเหลืองใส สามารถระเหยได้ง่าย มีกลิ่นหอม ซึ่งประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด (ตารางที่ 2.3) โดยชนิดและปริมาณขององค์ประกอบในน้ำมันสะระแหน่อาจแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ขึ้นส่วนที่นำมาสกัด วิธีการสกัด และวิธีการตรวจสอบ (Burt, 2004) ซึ่งประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ด้านการเจริญของน้ำมันสะระแหน่ขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี หมู่ฟังก์ชัน ของสารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันสะระแหน่ Deans (2006) กล่าวว่าสารออกฤทธิ์ในกลุ่มฟีนอล เช่น carvocal และ thymol มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่พบว่าสารทั้งสองมีความสามารถในการกระจายตัวในน้ำได้ต่ำ เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลในวงฟีนอล พบว่า terpenoids มีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยหมู่ฟังก์ชันที่ชอบไขมันบนโครงสร้างของ terpenoids ที่มีความสามารถกระจายตัวในน้ำ ออกฤทธิ์ต่อ phospholipid bilayer บนผนังเซลล์ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการขนถ่ายอิเล็กตรอน การสังเคราะห์โปรตีน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เช่น ATPase โดยกลไกและประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์แบคทีเรียอาจเกิดขึ้นได้หลายกลไกพร้อมๆกันซึ่งยังไม่เป็นที่เข้าใจ โดยจะขึ้นกับโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์และโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรีย (Deans, 2006 : Gupta *et al.*, 2008)

ตารางที่ 2.2 ชนิดและปริมาณสารสำคัญของน้ำมันสะระแหน่

สารสำคัญ	ปริมาณ	อ้างอิง
menthol	63.5 %	Inouye <i>et al.</i> , 2001
p -menthone	19.5 %	
pluegone	42.9-45.4 %	Stoyanova <i>et al.</i> , 2005
pluegone	73.4 %	Lorenzo <i>et al.</i> , 2002
isomenthone	12.9 %	
pulegone	43.5 %	El-Ghorab, 2006
piperitone	12.2 %	
Menthol	30-35 %	Gupta <i>et al.</i> , 2006
Menthone	15-32 %	
Menthyl acetate	3-10 %	
piperitone	38.0 %	Mahboubi and Haghi, 2008
piperitenone	33.0 %	
α -terpeneol	4.7%	
pulegone	2.3 %	

การนำน้ำมันสะระแหน่ไปใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์สามารถใช้ได้หลายรูปแบบ (ตารางที่ 2.2) เช่น Inouye, Takizawa และ Yamaguchi (2001) ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ใช้ไธระเหยของน้ำมันสะระแหน่ พบว่าสามารถทำลายเชื้อใช้หวัด *Haemophilus influenza* ATCC 33391 ได้ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตรของอากาศ Gupta และคณะ (2008) ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิดที่สกัดจากพืชได้แก่ น้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู น้ำมันสะระแหน่ และน้ำมันลูกจันทร์เทศในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารได้แก่ *S. aureus* และ *E. coli* โดยทดสอบวงใสของน้ำมันอบเชยได้ค่า 20.0, 16.0 มิลลิเมตรและค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งร้อยละ 2.5 และ 1.25ตามลำดับ น้ำมันกานพลูวงใส 18.0, 17.0 มิลลิเมตรและค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งร้อยละ 5 และ 5 ตามลำดับ น้ำมันสะระแหน่วงใส 15.0 และ 10.0 มิลลิเมตรและค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งร้อยละ 6.25 และ 50 ตามลำดับ น้ำมันลูกจันทร์เทศวงใส 14.0 และ 15.0 มิลลิเมตรและค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งร้อยละ 12.5 และ 50 ตามลำดับ ส่วน *Ps. aeruginosa* พบว่าน้ำมันกานพลู น้ำมัน

สระระแห่น และน้ำมันลูกจันท์เทศไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้ยกเว้นน้ำมันอบเชยที่สามารถยับยั้งการเจริญได้โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 16.0 มิลลิเมตรและที่ค่าความเข้มข้นร้อยละ 5

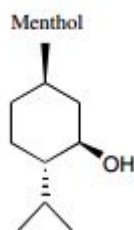
ตารางที่ 2.3 ขนาดของวงใสต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	ขนาดวงใส	อ้างอิง
<i>S. aureus</i>	12 mm	Aridogan <i>et al.</i> , (2002)
<i>E. coli</i>	-	
<i>Ps. aeruginosa</i>	-	
<i>E. coli</i>	10 mm	Agarkar and Garode, (2002)
<i>Ps. aeruginosa</i>	30 mm	
<i>S. aureus</i>	15 mm	
<i>Salmonella typhi</i>	15 mm	
<i>S. aureus</i>	21 mm	Mahboubi and Haghi, (2008)
<i>E. coli</i>	-	

ตารางที่ 2.4 ประสิทธิภาพของน้ำมันสระระแห่นต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	ความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์	อ้างอิง
<i>Haemophilus influenza</i> ATCC 33391	12.5 mg/ L air	Inouye <i>et al.</i> , (2001)
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	25 mg/ L air	
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	>1600 mg/ L air	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5 mg/ml	Mahboubi and Haghi, (2008)
<i>Escherichia coli</i>	4.0 mg/ml	
<i>Salmonella typhi</i>	20,000 mg/L	Deans, (2006)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5,000 mg/L	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000 mg/L	
<i>Escherichia coli</i>	2 %	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 %	

สารสำคัญที่ได้รับการรายงานว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียคือ เมนทอล (รูปที่ 2.2) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของ monoterpenes ในกลุ่มของแอลกอฮอล์ และ menthone ซึ่งอยู่ในกลุ่มของคีโตนซึ่งจะออกฤทธิ์แบบไม่เฉพาะเจาะจง เช่น menthol ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอลกอฮอล์ต่อโปรตีนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย กลุ่มของฟีนอลออกฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ทำลายความสามารถในการนำสารเข้า - ออกเซลล์ และเอนไซม์ ATPase (Deans, 2006) โดยออกฤทธิ์ต่อ outer membrane ของแบคทีเรียแกรมลบ และสาร Menthone ที่สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium sporogenes* ได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียระหว่างน้ำมันสะระแหน่ menthol และ menthone พบว่า menthone มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli*, *S. aureus* และ *Ps. aeruginosa* ได้ดีกว่าน้ำมันสะระแหน่และ menthol นอกจากนี้ Inouye และคณะ (2001) พบว่าเมนทอลที่ความเข้มข้นของไอระเหย 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรอากาศ สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดสายพันธุ์ *H. influenza* ATCC 33391 ได้ และยับยั้ง *E. coli* NIHJ และ *S. aureus* 209P ได้ที่ความเข้มข้น >50 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรอากาศ ตามลำดับ Deans (2006) รายงานว่าที่น้ำมันสะระแหน่ความเข้มข้น 800 ppm สามารถทำลาย *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *Lactobacillus innocus* ได้ภายในเวลา 6.2 18.7 14.2 24.8 38.3 และ 17.4 ชั่วโมงตามลำดับ



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ menthol
(ที่มา : Bakkali et al., 2008)

น้ำมันสะระแหน่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันในอาหารเช่น ใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อโยเกิร์ต *Streptococcus thermophiles* ยับยั้ง *Salmonella enteritidis* ใน Tzatziki ยับยั้ง *Listeria monocytogens* ใน Pate (Burt, 2004) ในเครื่องสำอางค์ เครื่องอุปโภค เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก โดย Deans (2006) รายงานว่าน้ำมันสะระแหน่สามารถทำลายเชื้อที่ทำให้เกิดปัญหาช่องปากได้ โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่อย่างน้อย 600- 2000 ppm และยังใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นในอาหาร ลูกอม หมากฝรั่ง เป็นต้น แต่เนื่องจากน้ำมันสะระแหน่อยู่ในรูปน้ำมัน

หอมระเหยซึ่งสามารถเสื่อมสลายได้ง่ายและไม่สามารถกระจายตัวในน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของอาหารจึงจำเป็นต้องเตรียมให้อยู่ในรูปที่กระจายตัวในน้ำได้ เช่น อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และกระบวนการเอนแคปซูเลชัน ด้วยตัวทำอิมัลชันที่มีความปลอดภัยและได้รับการยอมรับให้ใช้ในอาหารได้

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบและความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ของน้ำมันสะระแหน่
ต่อเชื้อ *E. coli* O 157:H7

สารสำคัญ	ความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์
Peppermint oil	400 $\mu\text{g/ml}$
Menthol	400 $\mu\text{g/ml}$
Menthone	400 $\mu\text{g/ml}$
Neomenthol	200 $\mu\text{g/ml}$
Menthofuran	>800 $\mu\text{g/ml}$
Limonene	>800 $\mu\text{g/ml}$
Piperitone	>800 $\mu\text{g/ml}$
Piperitol	800 $\mu\text{g/ml}$
Eugenol	200 $\mu\text{g/ml}$
Carvacrol	>800 $\mu\text{g/ml}$
2-Ethylfuran	>800 $\mu\text{g/ml}$

(ที่มา : Deans, 2006)

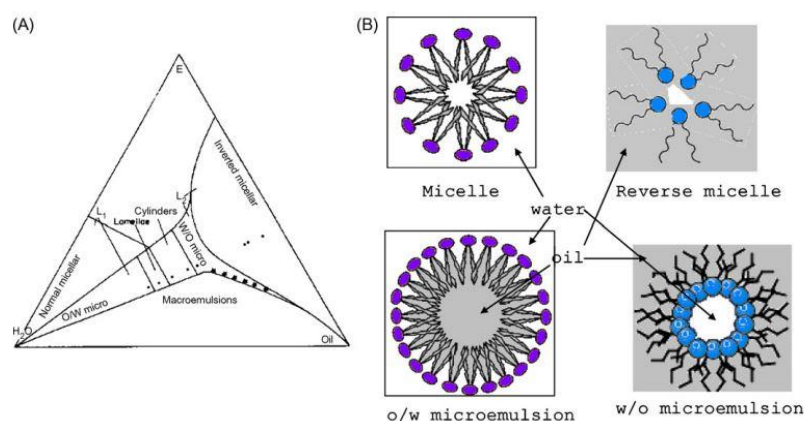
2.3 การกักเก็บสารสำคัญทางชีวภาพที่ไม่ชอบน้ำเพื่อให้สามารถกระจายในน้ำได้

เนื่องจากน้ำมันสะระแหน่อยู่ในรูปน้ำมันหอมระเหย ไม่สามารถกระจายตัวในน้ำ และสลายตัวได้ง่าย ซึ่งตัวทำละลายของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสคือน้ำ จึงจำเป็นต้องกักเก็บน้ำมันสะระแหน่ในตัวทำอิมัลชันเพื่อช่วยในการกระจายตัวในน้ำ แบ่งเป็น อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ซึ่งใช้ Tween 20 เป็นตัวทำอิมัลชันและชนิดอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำโดยใช้เลซิตินจากถั่วเหลืองเป็นตัวทำอิมัลชัน และ Deans (2006) กล่าวว่าประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันสะระแหน่จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการลดแรงตึงระหว่างผิวของเฟสที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ

ในงานวิจัยนี้ใช้การกักเก็บสารสำคัญโดยการเตรียมน้ำมันสาระแห่นให้อยู่ในรูปอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและอิมัลชันเชิงซ้อนชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ เนื่องจากต้องการให้น้ำมันกระจายตัวในน้ำ

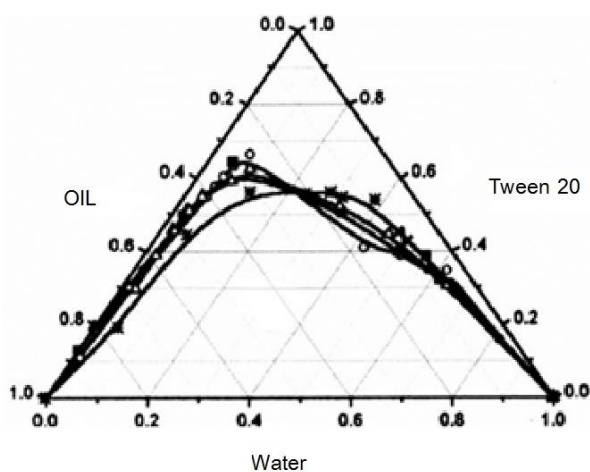
2.3.1 อิมัลชัน

อิมัลชันมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เกิดขึ้นจากของผสมของสารอย่างน้อย 2 ชนิดซึ่งโดยปกติไม่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ เนื่องจากมีความแตกต่างกันทางด้านสมบัติการละลาย ความมีขั้วของสาร ซึ่งสามารถทำให้ละลาย/กระจายตัวในอีกตัวทำละลายโดยใช้ตัวทำอิมัลชัน ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเป็น Amphiphilic คือมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ (Gupta *et al.*, 2006) อิมัลชันจากธรรมชาติเช่น นม ตัวทำอิมัลชันเป็นสารที่สามารถลดแรงตึงระหว่างผิวของสารทั้งสอง และทำให้กระจายตัวด้วยพลังงานกล เช่นการตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นความเร็วสูง หรือใช้คลื่นเหนือเสียงในการสั่นสะเทือนทำให้โมเลกุลของตัวถูกละลาย (วัฏภาคกระจาย) แยกเป็นขนาดเล็กกลมและมีโมเลกุลของตัวทำอิมัลชันมาล้อมรอบไว้ทำให้สารสามารถแขวนลอยอยู่ในตัวทำละลาย(วัฏภาคต่อเนื่อง)ได้ ซึ่งลักษณะของอนุภาคที่เกิดขึ้นเกิดได้หลายรูปแบบ (รูปที่ 2.3) ความคงตัวของอิมัลชันขึ้นกับขนาดของอนุภาคและการกระจายของอนุภาคในวัฏภาคต่อเนื่อง การจำแนกชนิดของอิมัลชันขึ้นอยู่กับความมีขั้วและความสามารถในการกระจายตัวในอีกวัฏภาคหนึ่ง แบ่งเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อมีน้ำมันกระจายตัวอยู่ในสารละลายของตัวทำอิมัลชันที่เป็นน้ำ (Chiarantini *et al.*, 2003)



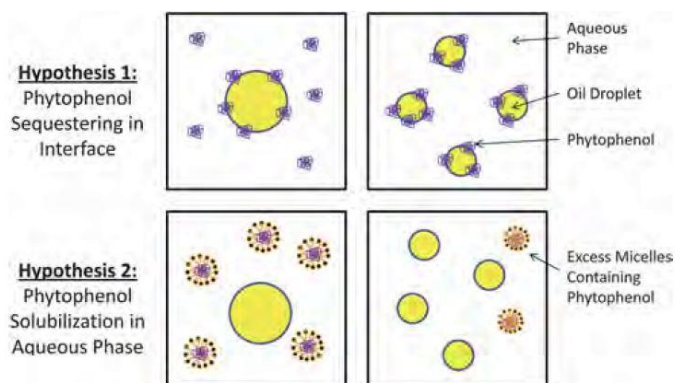
รูปที่ 2.3 การเกิดอิมัลชัน (A) phase diagram บอกชนิดและการเกิดอิมัลชันลักษณะต่างๆ (B) ลักษณะอนุภาคของไมเซลล์ และอิมัลชัน ทั้งชนิดน้ำมันในน้ำ และน้ำในน้ำมัน (ที่มา : Narang, *et al.*, 2007)

การเกิดอิมัลชันรูปแบบต่างๆสามารถทำนายได้จาก phase diagram ของระบบที่ประกอบด้วย น้ำมัน น้ำ และตัวทำอิมัลชันและ/หรือตัวทำอิมัลชันร่วม โดยขึ้นกับชนิดและปริมาณองค์ประกอบของอิมัลชันทั้ง 3 เช่นในระบบของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำ เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง น้ำมันสระแห้งเป็นวัฏภาคกระจายและทำให้เกิดการกระจายตัวด้วยตัวทำอิมัลชัน Tween 20 (รูปที่ 2.4) ซึ่งอิมัลชันลักษณะนี้เรียกว่า อิมัลชันระบบน้ำมันในน้ำ (oil-in-water emulsion) เป็นการให้น้ำมันสามารถรวมกับน้ำได้ เกิดเป็นอิมัลชันที่มีความคงตัวเมื่อปริมาณและองค์ประกอบของวัฏภาคกระจายพอดีกับวัฏภาคต่อเนื่อง



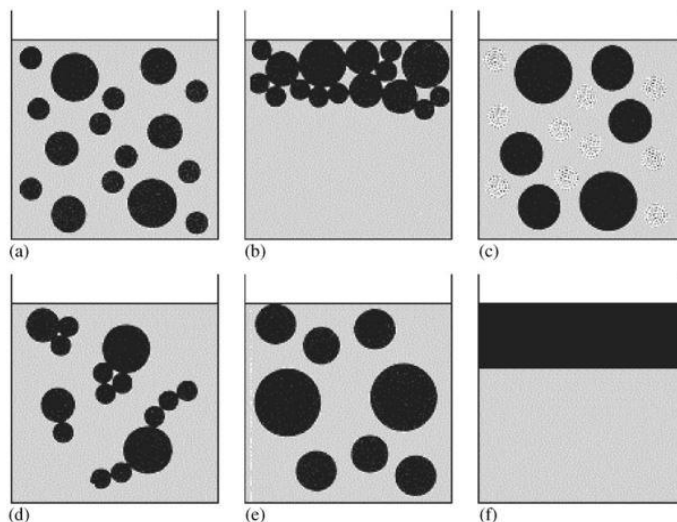
รูปที่ 2.4 phase diagram ของระบบอิมัลชันที่ประกอบด้วย น้ำมันสระแห้ง Tween 20 และน้ำ
(ดัดแปลงจาก : Gupta, *et al.*, 2006)

การเกิดเป็น micelle emulsion ซึ่งเกิดการเรียงตัวเป็นฟิล์มชั้นเดียวของตัวทำอิมัลชัน ซึ่งการกักเก็บสารสำคัญที่เป็นน้ำมันในอิมัลชันระบบน้ำมันในน้ำเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบ (รูปที่ 2.4) การกักเก็บไว้ที่บริเวณผิวเนื่องจากเกิดพันธะทางเคมีของสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันกับตัวทำอิมัลชันและหยดของน้ำมันที่ถูกล้อมรอบไปด้วยตัวทำอิมัลชัน ซึ่งจะส่งผลต่อการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาจากอนุภาค (Terjung *et al.*, 2012)



รูปที่ 2.5 ลักษณะการกักเก็บสารสำคัญในอิมัลชันและไมเซลล์อิมัลชัน
(ที่มา : Terjung *et al.*, 2012)

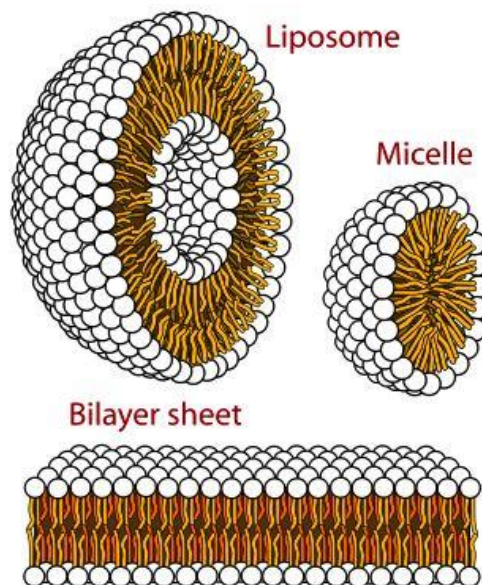
ความคงตัวของอิมัลชันขึ้นกับปริมาณของตัวทำอิมัลชัน แรงแวนเดอร์วาลส์ และ electrostatic หากปริมาณตัวทำอิมัลชันไม่เพียงพอเมื่อหยุดให้พลังงานจะทำให้เกิดการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคที่ไม่เสถียร เกิดการหลอมรวมกันและแยกชั้นในที่สุด ทำให้เกิดการแยกออกเป็นสองวัฏภาคที่ชัดเจน กลไกการแยกชั้นสามารถเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ (รูปที่ 2.5) สามารถเกิดขึ้นได้หลายกลไกพร้อมๆกันและในที่สุดจะเกิดการแยกชั้นออกเป็นสองเฟสอย่างชัดเจน (Chiarantini *et al.*, 2003) เริ่มจากหยดของวัฏภาคกระจายเกิดการเคลื่อนที่เข้าใกล้กัน และแรงผลักระหว่างอนุภาคมีน้อย จะทำให้อนุภาคกระจายเกิดการเกาะกลุ่มตั้งแต่ 2 อนุภาคขึ้นไป ถูกชั้นไว้ด้วยฟิล์มบางๆที่ยึดกันด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ ซึ่งสามารถเกิดการรวมกันเป็นอนุภาคเดี่ยวที่มีขนาดใหญ่ต่อไป เรียกว่า flocculation ส่วนปรากฏการณ์ coalescence คือการที่อนุภาคเกิดการเกาะกลุ่มกันแล้วลอยขึ้น (creaming) หรือว่าจมลง (sedimentation) เกิดขึ้นจากความหนาแน่นที่แตกต่างกันของวัฏภาคกระจายและวัฏภาคต่อเนื่อง



รูปที่ 2.6 กลไกการแยกชั้นของอิมัลชัน (a) อิมัลชันที่เสถียร (b) creaming (c) Ostwald ripening (d) flocculation (e) coalescence (f) breaking
(ที่มา : Chiaminti, *et al.*, 2003)

2.3.2 ไลโพโซม (Liposome)

ไลโพโซมคืออิมัลชันเชิงซ้อน ที่มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือถุงกลมของตัวทำอิมัลชันที่เป็น phospholipid double layer ที่มีผนังซ้อนกันมากกว่า 1 ชั้น โดยมีชั้นของสารละลายน้ำอยู่ระหว่างผนังทั้งสองในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion) (รูปที่ 2.5) ซึ่งการเกิดผนัง bilayer ของไลโพโซมเป็นการเกิดแบบสุ่ม แต่ลักษณะของไลโพโซมที่เกิดขึ้นและสามารถตรวจสอบได้ได้แก่ ขนาดของอนุภาค สามารถในการกระจายตัวในสารละลาย โครงสร้างและประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร ซึ่งปัจจุบันมีการใช้ยาแพร่หลายในเครื่องสำอางค์ เพื่อใช้ในการกักเก็บและขนส่งยาหรือสารสำคัญ ซึ่งไลโพโซมจะมีความเสถียรเมื่อมีขนาดของอนุภาคต่ำกว่า 100 นาโนเมตร (Silva *et al.*, 2010 : Wang *et al.*, 2006: Barenholz, 2001)



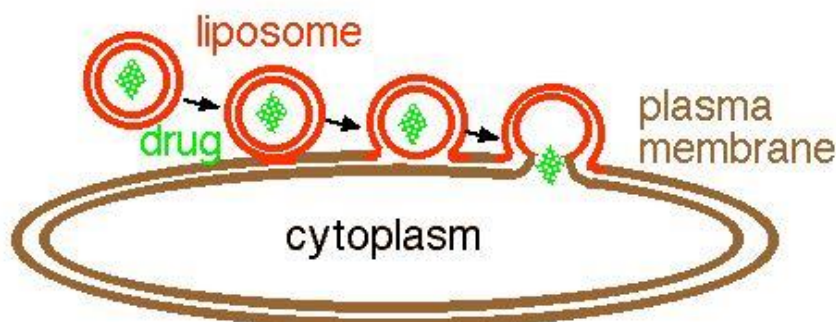
รูปที่ 2.7 ลักษณะอนุภาคของไลโปโซมและอิมัลชัน
(ที่มา : <http://nanogreenshawaii.com>)

Malheriros และคณะ (2010) จัดจำแนกไลโปโซมตามขนาดของอนุภาคดังนี้ multilamellar vesicles เมื่อมีอนุภาคใหญ่กว่า 400 นาโนเมตร large unilamellar เมื่อมีขนาดอนุภาคระหว่าง 80 นาโนเมตร ถึง 1 ไมโครเมตร small unilamellar เมื่ออนุภาคมีขนาดระหว่าง 20-80 นาโนเมตร giant unilamellar เมื่อมีขนาดของอนุภาคมากกว่า 1 ไมโครเมตร และ multivesicular vesicles เมื่อมีขนาดอนุภาค มากกว่า 1 ไมโครเมตร

2.4 ประสิทธิภาพการต้านการเจริญของแบคทีเรียของสารที่ถูกกักเก็บ

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บไว้ในรูปแบบต่างๆ ขึ้นอยู่กับความเสถียรของอิมัลชัน อิมัลชันที่มีความเสถียรมากอาจทำให้เกิดการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาได้น้อยเมื่อเทียบกับอิมัลชันที่มีความเสถียรต่ำกว่า แต่ความสามารถในการกักเก็บสารก็จะน้อยลงตามไปด้วย ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์จะต้องมีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในปริมาณมากพอที่จะสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง/ทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกจากตัวกักเก็บซึ่งมักเกิดขึ้นที่

บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยเมื่อเกิดการสัมผัสกันของอนุภาคที่กักเก็บผิวชั้นนอกของตัวกักเก็บที่เป็นตัวทำอิมัลชันจะปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกจากตัวกักเก็บ (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.8 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของไลโปโซม

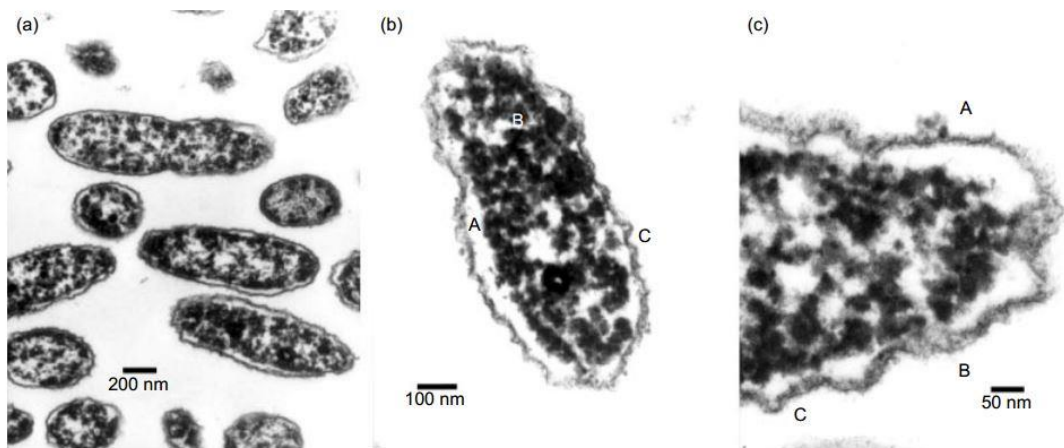
(ที่มา : Department of Biology, Davidson College

[online : www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/liposome.html]

Liang และคณะ (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหนในรูปอิมัลชันที่มีอนุภาคในระดับนาโนเมตรพบว่าอิมัลชันที่มีอนุภาคขนาดเล็กกว่า 200 นาโนเมตร สามารถทำลาย *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร โดยที่ *L. monocytogenes* ลดลง 10^1 CFU/ml ภายใน 8 ชั่วโมง และ *S. aureus* ลดลง 10^1 CFU/ml ภายใน 3 ชั่วโมง

นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง/ทำลายแบคทีเรียเช่นน้ำมันถั่วเหลืองเมื่อเตรียมให้อยู่ในรูปอิมัลชันที่มีอนุภาคขนาดเล็กอย่าง microemulsion และ nanoemulsion จะสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง/ทำลายจุลินทรีย์ดังในรายงานของ Teixeira และคณะ (2007) และ Ferreira และคณะ (2010) ใช้ น้ำมันถั่วเหลืองและ ethyl oleate ร่วมกับตัวทำอิมัลชัน Triton-X และ Tween 80 ตามลำดับ พบว่าวัฏภาคกระจายทั้ง 2 ชนิดซึ่งเป็นน้ำมันที่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์แต่เมื่อมีการเตรียมให้อยู่ในรูป microemulsion และ nanoemulsion กลับพบว่าสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตไบโอฟิล์ม ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Listeria monocytogenes* ได้ภายใน 30 นาทีโดยอิมัลชันยังสามารถยับยั้งการเกิดไบโอฟิล์มจากแบคทีเรียดังกล่าวได้ เช่นเดียวกับ Al-Adeham และคณะ (2000) ใช้ micro-emulsion ในการทำลายเชื้อ *Ps. aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อที่สร้างไบโอฟิล์ม ภายในเวลา 60 วินาทีโดยใช้ ethyl

oleate เป็นวิฎภาคกระจาย Tween 80 และ penthanol เป็นตัวทำอิมัลชันและตัวช่วยทำให้เกิดอิมัลชัน โดยใช้น้ำเป็นวิฎภาคกระจาย (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.9 *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกทำลายด้วยอิมัลชันที่ประกอบด้วย Tween 80 ร้อยละ 25 Pentanol ร้อยละ 6 และ Ethyl olate ร้อยละ 3 ในเวลา 60 วินาที (a) กำลังขยาย 20,000 เท่า (b) กำลังขยาย 50,000 เท่า ตำแหน่ง A เกิดการแยกของเยื่อหุ้มเซลล์ออกจากผนังเซลล์ B แสดงการตกตะกอนของไซโทพลาสซึม C แสดง outer membrane ที่ถูกรบกวน (c) กำลังขยาย 100,000 เท่า A แสดง outer membrane ที่เกิดการหลุดลอก B เยื่อหุ้มเกิดการแตก C เซลล์เกิดการบวม (blebbing)
(ที่มา : Al-Adham *et al.*, 2000)

แต่มีบางรายงานเช่น Terjung และคณะ (2012) สรุปไว้ว่าอิมัลชันที่มีขนาดเล็กไม่ได้ส่งผลดีต่อการยับยั้ง/ทำลายเชื้อจุลินทรีย์เสมอไป ซึ่งกลไกการทำลายจุลินทรีย์ของอิมัลชันขึ้นอยู่กับกระบวนการที่เกิดขึ้นระหว่างการสัมผัสกันของผิวอนุภาคและผนังเซลล์แบคทีเรียเพื่อปลดปล่อยสารยับยั้งแบคทีเรียที่ต้องมีปริมาณมากพอที่จะทำให้เซลล์สูญเสียการทำงาน โดยปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นส่วนมากเกิดจากอนุภาคขนาดเล็กพื้นที่ผิวสัมผัสที่มากกว่า ซึ่ง Barenholz (2001) รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่อการปลดปล่อยออกจากไลโปโซมความต่อเนื่องความแข็งแรงของโครงสร้างผนัง bilayer ของไลโปโซม

2.5 แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร และก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ทำให้ผู้บริโภคไม่ปลอดภัย ซึ่งมักเกิดจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ หรือสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น แบคทีเรียที่มักปนเปื้อนในอาหาร เช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างปัญหาในระบบอุตสาหกรรมอาหารทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและเป็นแบคทีเรียที่กำจัดได้ยากเนื่องจากสามารถสร้าง exo-polysaccharide ออกมาล้อมรอบเซลล์ เพื่อป้องกันเซลล์จากสิ่งแปลกปลอมและสารเคมี (Mann *et al.*, 2000) แบคทีเรียแกรมบวก ผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan ซึ่งมีโปรตีนแทรกอยู่ในผนังเซลล์ ทำหน้าที่ในการนำสารผ่านเข้า-ออกเซลล์ เช่น *Staphylococcus aureus* มีรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ อยู่รวมกลุ่มกันคล้ายรวงงู้น เจริญในในภาวะที่มีอากาศ ในอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเมื่อมีเชื้อมากกว่า 10^7 เซลล์ต่อกรัมอาหาร สามารถสร้างสารพิษประเภท เอนเทอโรท็อกซิน ปนเปื้อนลงสู่อาหาร ก็ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ แบคทีเรียแกรมลบ ผนังของเซลล์ประกอบด้วย lipopolysaccharide ที่ประกอบกันแบบ phospholipid bilayer และประจุลบทำให้ผนังเซลล์โครงสร้างของผนังเซลล์มีความแข็งแรงในด้านที่สามารถต้านทานสาร antibiotic มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Burt, 2004 : Tajkarimi *et al.*, 2010 : Deans, 2006 : Mahboubi and Haghi, 2008 : Gupta *et al.*, 2008) เช่น *Escherichia coli* รูปร่างท่อน เป็นเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ มักปนเปื้อนลงสู่อาหารและน้ำ เนื่องจากการผลิตไม่ถูกสุขลักษณะ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (สุมนทนา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.6 ฟิล์มถนอมอาหาร

เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคต้องการอาหารที่มีความสดใหม่ปลอดภัยต่อการปนเปื้อนทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของสารเคมีของวัตถุสัมผัสอาหารและจุลินทรีย์จะทำให้เกิดการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่มีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ในระหว่างการเก็บรักษาเพื่อการจำหน่ายโดยสารต้านจุลินทรีย์และวัตถุสัมผัสอาหารนั้นควรมีความปลอดภัยไม่ปลดปล่อยสารเคมีของตัวพอลิเมอร์ที่ไม่ปลอดภัยลงในอาหารเช่น monomer ของสารสังเคราะห์พลาสติก (Pacas *et al.*, 2007) และสารที่ใช้เป็น plasticizers ได้แก่ butyl stearate, acetyltributyl citrate และ alkyl sebacates เป็นต้น Grob และคณะ (2007) พบว่าฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหารที่ผลิตจาก polyvinyl chloride (PVC) ปลดปล่อยสารที่เป็น plasticizers คือ di-(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) ลงในชีสและเนื้อ รวมถึง phthalates และ naphthalene ที่เป็น

สารก่อมะเร็งมีปริมาณสารที่ปนเปื้อนจากขวดพลาสติกชนิด Low density polyethylene ลงสู่นมพร้อมดื่มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น (Lau and Wong, 2000 : Pacas *et al.*, 2007 : Barlow and Schlatter, 2010 : Grob *et al.*, 2007) และสาร biphenols ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่ปนเปื้อนจากขวดน้ำพลาสติกชนิด polycarbonate (PC)

ตารางที่ 2.6 สารเคมีที่ปนเปื้อนลงสู่อาหารและปริมาณควบคุม

ชนิด	ปริมาณต่อวัน
Acrylamide	4 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Ethyl carbamate	15 ng/kg
1,3-dichloro-2-propanol	136 ng/kg
Aflatoxins	0.352-1.934 ng/kg

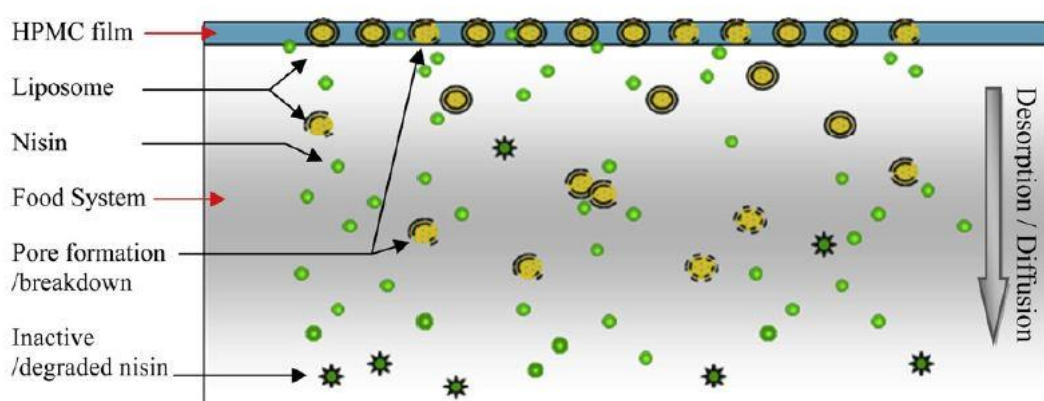
ที่มา : Barlow และ Schlatter (2010)

ทำให้เกิดการพัฒนาบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีความปลอดภัยเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมสามารถย่อยสลายได้

2.7 ฟิล์มต้านจุลินทรีย์

เป็นบรรจุภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อมีวัตถุประสงค์ให้สามารถทำหน้าที่บางประการได้ เพื่อเพิ่มความสะอาดสบายและความปลอดภัยของอาหาร (Mahalik และ Nambiar, 2010) เช่นบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ปัจจุบันมีการใช้ในรูปแบบ sachets โดยการใส่สารต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการระเหยได้ การผสมสารต้านจุลินทรีย์ลงในพอลิเมอร์โดยตรง การเคลือบสารต้านจุลินทรีย์ลงบนผิวของพอลิเมอร์ การกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์ไว้ในพอลิเมอร์ด้วยการจับกันของประจุและพันธะโควาเลนต์ และการใช้พอลิเมอร์ที่มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ในตัวเอง สารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหารทางการค้าในปัจจุบันได้แก่ zeolite, silver, carbon dioxide, glucose oxidase เป็นต้น และสารต้านจุลินทรีย์ที่นิยมเติมลงในพอลิเมอร์โดยตรงได้แก่ organic acid (sorbic acid, benzoic acid, lactic acid), inorganic acid (chloride dioxide), เอนไซม์ (lysozyme), spice (cinnamic acid, caffeic acid) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้น ลดอัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ผิวสัมผัสระหว่างอาหารและบรรจุ

ภักดิ์ (Appendini and Hotchkiss, 2002) และ Imran และคณะ (2012) ศึกษาฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสที่กักเก็บสารต้านจุลินทรีย์ (ไนซิน) ในไลโปโซมต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย กลไกการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากฟิล์มที่มีไลโปโซมที่บรรจุไนซินเป็นสารต้านจุลินทรีย์(รูปที่ 2.12) Sayanjali และคณะ (2011) พบว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่บริโภคได้จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยใช้โพแทสเซียม ซอเบท เป็นสารออกฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp. ที่ผลิต *Alfatoxins* ได้



รูปที่ 2.10 กลไกการดูดซับและการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ที่ถูกกักเก็บไว้ในพอลิเมอร์ (ที่มา : Imran *et al.*, 2012)

ในงานวิจัยนี้จึงคัดเลือกคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์อนุพันธ์ของเซลลูโลสที่มีความปลอดภัยและมีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบันมาเติมน้ำมันสะระแหน่ซึ่งใช้เป็นสารต้านแบคทีเรียเพื่อพัฒนาฟิล์มถนอมอาหารที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

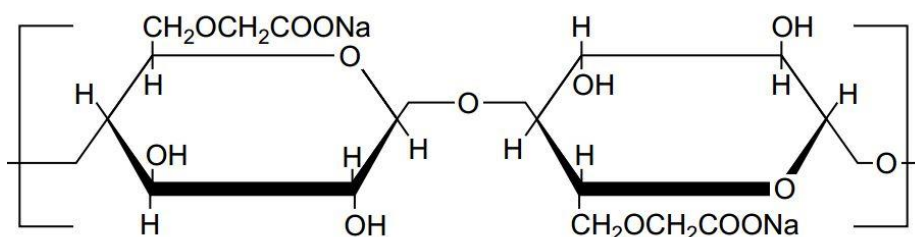
2.8 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose, CMC)

เป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็น Pseudoplastic ที่มีประจุลบ และสามารถละลายในน้ำและในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงได้ ความสามารถในการละลายของ CMC ขึ้นอยู่กับความสามารถในการแทนที่หมู่ฟังก์ชัน (degree of substitution, D.S.) ซึ่ง CMC สามารถละลายน้ำได้ดี นั่นคือมีค่า D.S. สูงทำให้มีความเป็น hydrophilicity สูง ทำให้ CMC สามารถดูดน้ำและทำให้เกิดการพองตัว นอกจากนี้ค่า D.S. ที่สูงทำให้ฟิล์ม CMC มีอัตราการซึมผ่านไอน้ำที่สูง และพบว่า CMC ที่มีค่า D.S. ที่สูงและเมื่อมีความเข้มข้นสูงในสารละลายน้ำจะทำให้การเกิด crosslinking ของ CMC สูง

ไปด้วย และสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (Wach *et al.*, 2000) มีการศึกษาการใช้ CMC ในการขึ้นรูปฟิล์มรวมกับไขมัน เพื่อปรับปรุงอัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มพบว่าเมื่อมีการเติมไขมันจากปาล์ม (palm olein) ค่าอัตราการซึมผ่านไอน้ำลดลง (Cheng *et al.*, 2008) และยังมีรายงานการใช้ CMC ร่วมกับ potassium sorbate เป็นสารยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus species* (Sayanjali *et al.*, 2011) Wach และคณะ (2000) ได้อธิบายการเกิดพันธะระหว่างสายโซ่ของ CMC ว่าเกิดขึ้น 2 ขั้นตอนดังนี้ 1 โมเลกุลของ CMC เกิดการเคลื่อนที่ในน้ำและเกิดการดูดซึมน้ำที่อยู่รอบๆโมเลกุลทำให้ระหว่างโมเลกุลในตัวทำละลายลดต่ำลง ขั้นตอนที่ 2 เกิดการเหนี่ยวนำในการก่อพันธะระหว่างสองโมเลกุลจากไฮออนอิสระที่ได้จากน้ำ (ไฮโดรเจนอะตอมและไฮดรอกซิล) ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฟิล์มของ CMC มีดังนี้

2.8.1 โครงสร้างของพอลิเมอร์

โครงร่างตาข่ายของ CMC ประกอบด้วยเซลลูโลสเป็นสายโครงสร้างหลักของพอลิเมอร์ มีหมู่เมทิล โครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่มีความเป็นผลึกสูงมีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบ จะส่งผลให้ฟิล์มมีความแข็งแรงมากขึ้นแต่มีความยืดหยุ่นต่ำเนื่องจากเกิดแรงจับระหว่างสายของพอลิเมอร์ (interaction) ซึ่งเป็นพันธะแบบทุติยภูมิ ดังนั้นการนำขึ้นรูปฟิล์มต้องนำพอลิเมอร์ที่มีสายโซ่ยาวเพื่อให้ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงมากขึ้น จากโครงร่างตาข่ายที่ยาวขึ้น



รูปที่ 2.11 ลักษณะการจับกันของสายพอลิเมอร์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ที่มา : Guo, 1998)

2.8.2 ความเข้มข้นของสารละลาย

ความแข็งแรงของฟิล์มขึ้นกับความสามารถในการเคลื่อนที่ของพอลิเมอร์ในตัวทำละลาย ซึ่งจะทำให้เกิดพันธะระหว่างสายโซ่ของพอลิเมอร์ (polymer-polymer interaction) ซึ่งถ้า

ความเข้มข้นสูงเกินไปส่งผลให้พอลิเมอร์ขยายตัวได้น้อย เนื่องจากเกิดพันธะระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลาย (polymer-solvent) เกิดน้อยทำให้ฟิล์มที่ได้ฟิล์มที่ได้มีความเปราะ ในขณะที่ถ้าความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในตัวทำละลายต่ำเกินไป ในขบวนการทำแห้งจะทำให้สายโซ่ของพอลิเมอร์ขาดออกจากกัน

2.8.3 ตัวทำละลาย

ชนิดและปริมาณตัวทำละลายส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มโดยสมบัติในการละลายของสาร "like dissolve like" ซึ่งพอลิเมอร์ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสมีความเป็นประจุ จึงสามารถละลายได้ในสารละลายที่มีขั้วสูง เช่น น้ำ และแอลกอฮอล์ ซึ่งกลไกการละลายของพอลิเมอร์เริ่มจากพอลิเมอร์ดูดซึมน้ำเข้าไปในโครงสร้างของสายพอลิเมอร์ ทำให้เกิดการคั่งน้ำและพองตัว ซึ่งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ จึงเกิดการผลักกันระหว่างประจุทำให้สายโซ่โครงร่างตาข่ายขยายตัวออกได้ในตัวทำละลาย คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสสามารถคั่งน้ำและทำให้เกิดการพองตัวซึ่งแปรไปตามค่า D.S. ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Wach *et al.*, 2000)

2.8.4 การขจัดตัวทำละลาย

การทำแห้งโดยการให้ความร้อนกับสารละลายพอลิเมอร์เพื่อขจัดตัวทำละลายออก ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลพอลิเมอร์ในสารละลาย และพันธะระหว่างสายโซ่เกิดการจับกันทำให้เกิดเป็นโครงร่างตาข่าย และเกิดเป็นแผ่นฟิล์ม แต่หากมีการให้ความร้อนที่สูงเกินไปส่งผลให้กระบวนการระเหยเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจะทำให้การจัดเรียงตัวของพอลิเมอร์หยุดชะงักก่อนการเกิดพันธะระหว่างสายโซ่เสร็จสิ้น ส่งผลให้การเกิดพันธะระหว่างสายโซ่เกิดได้น้อย ทำให้โครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นไม่มีความแข็งแรง ในขณะที่ถ้าให้ความร้อนต่ำเกินไปจะทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ตกตะกอนไม่พร้อมกันทำให้เกิดการแยกชั้นของโมเลกุลที่ตกตะกอนเร็วกว่า ส่งผลให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลงเช่นกัน การนำไปใช้ประโยชน์ในปัจจุบัน ใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ไอศกรีม ทำให้เนื้อสัมผัสเนียนนุ่ม ไม่เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ และใช้เป็น bulking agent เพื่อลดพลังงานในอาหาร เคลือบผิวผักและผลไม้เพื่อลดการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาช่วยทำให้ผักผลไม้สด (Valencia-Chemorro, 2011)

2.9 สมบัติทางการภาพของฟิล์ม

สมบัติทางการภาพของฟิล์มขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่เกิดขึ้นของฟิล์มซึ่งเกิดขึ้นจากการละลายพอลิเมอร์ของฟิล์มจนมีความเข้มข้นที่สูงพอที่จะทำให้เกิดการเข้าใกล้และจับกันระหว่างสายโซ่ของพอลิเมอร์ ลักษณะการจับกันมักเกิดแบบโครงร่างตาข่าย จากนั้นการทำแห้งซึ่งเป็นการระเหยตัวทำละลายออกไปจะส่งผลให้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์เพิ่มสูงขึ้น เกิดการจัดเรียงและเพิ่ม polymer-polymer interaction ทำให้เพิ่มความแข็งแรงของโครงร่างตาข่ายสูงขึ้น เกิดเป็นฟิล์ม ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อความแข็งแรงของโครงร่างตาข่ายได้แก่ โครงสร้างของพอลิเมอร์ ความเข้มข้นของสารละลาย ตัวทำละลาย และการขจัดตัวทำละลาย ซึ่งค่าพารามิเตอร์เหล่านี้ที่ใช้ชี้วัดสมบัติของฟิล์มเช่นความต้านทานแรงดึงขาด ความยืดหยุ่น อัตราการซึมผ่านไอน้ำ

2.9.1 ความหนา

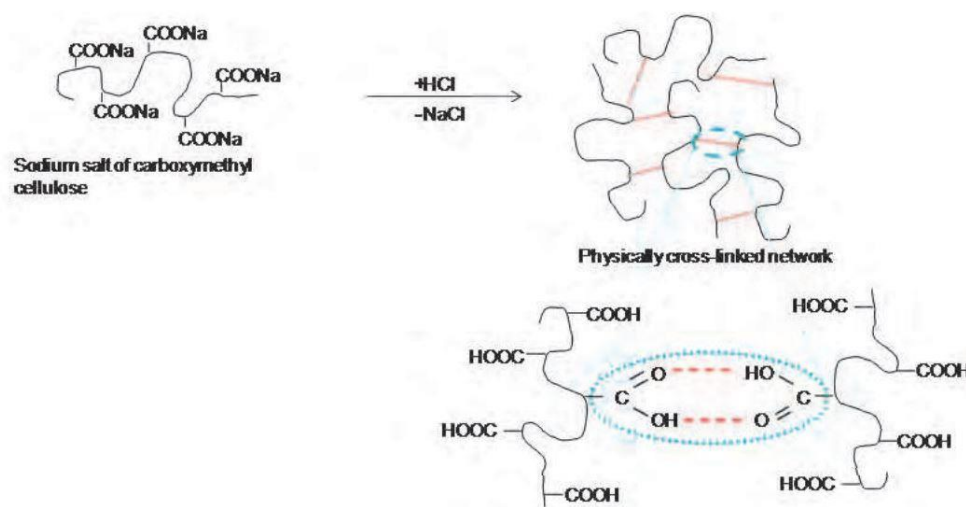
ความหนาหมายถึงระยะตั้งฉากระหว่างผิวของฟิล์มทั้ง 2 ด้าน มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร เป็นค่าที่ส่งผลถึงค่าความต้านทานแรงดึงขาด และอัตราการซึมผ่านไอน้ำโดยใช้ในการคำนวณ

2.9.2 ความต้านทานแรงดึงขาด

ค่าความต้านทานแรงดึงขาดคือ แรงที่ใช้ในการดึงปลายข้างหนึ่งของฟิล์มที่มีความกว้างคงที่จนกระทั่งฟิล์มขาดลง มีหน่วยเป็น เมกะปาสคาล หรือนิวตันต่อตารางเมตร ปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความต้านทานแรงดึงขาดได้แก่ความแข็งแรงระหว่างสายโซ่ของพอลิเมอร์ (polymer-polymer interaction) ซึ่งเมื่อเกิดแรงกระทำต่อแผ่นฟิล์มจะเป็นการทำลายพันธะระหว่างสายโซ่ของพอลิเมอร์ นั่นคือหากแผ่นฟิล์มมีพันธะระหว่างสายโซ่มากจะทำให้ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรง ส่งผลให้ค่าต้านทานแรงดึงขาดมีค่าสูง (Gulrez *et al.*, 2011)

2.9.3 ความยืดหยุ่น

ค่าความยืดหยุ่นคือ ค่าร้อยละความยาวของแผ่นฟิล์มที่เปลี่ยนไปจากเดิมที่ดึงด้วยแรงคงที่ ซึ่งค่าความยืดหยุ่นขึ้นกับเกิดเป็นโครงสร้างแบบร่างแห (junction zone) ภายในสายโซ่พอลิเมอร์ โดยที่ถ้า junction zones ภายในพอลิเมอร์มีมากจะทำให้ฟิล์มที่ได้มีความยืดหยุ่นมากขึ้น



รูปที่ 2.12 ลักษณะการเกิดการจับกันของสายพอลิเมอร์ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ที่มา : Gulrez *et al.*, 2011 (online : [www. Intechopen.com](http://www.Intechopen.com)))

2.9.4 อัตราการซึมผ่านไอน้ำ

อัตราการซึมผ่านไอน้ำหมายถึงปริมาณไอน้ำที่สามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มจากด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งต่อพื้นที่ของผิวฟิล์ม ภายใต้การควบคุมความชื้นและอุณหภูมิ มีหน่วยเป็น กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน โดยโครงสร้างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่มีความเป็นผลึกสูงจะทำให้มีรูพรุนบนผิวฟิล์มน้อยจะส่งผลให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำต่ำ นอกจากรูพรุนบนผิวฟิล์มแล้วยังขึ้นกับความสามารถในการละลายน้ำของพอลิเมอร์ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้มีความเป็น hydrophilicity สูง เป็นเหตุให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำสูง ฟิล์มที่ผลิตขึ้นจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจะมีอัตราการซึมผ่านไอน้ำที่สูงเนื่องจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถดูดซึมน้ำได้ (Cheng *et al.*, 2008 : Wach *et al.*, 2000)

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ จุลินทรีย์ วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

1. น้ำมันสะระแหน่ทางการค้า (บริษัท เครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
2. L- α - soy lecithin (Calbiochem, Germany)
3. Carboxy methylcellulose, CMC (Sigma-Aldrich, USA)

3.1.2 จุลินทรีย์

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง แกรมบวก ได้แก่ *Lactobacillus* sp. TISTR 593 จาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 แกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ได้รับความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.3 สารเคมี

1. Dimethyl sulfoxide, DMSO (Sigma-Aldrich, USA)
2. Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate, Tween 20 (Merck, Germany)
3. 95% Ethyl alcohol (Earth Chem Lab, Thailand)
4. Lactobacilli MRS broth (Merck, Germany)
5. de Man Rogosa Sharpe, MRS agar (Merck, Germany)
6. Nutrient agar, NA (Himedia, India)
7. Nutrient broth, NB (Himedia, India)

8. Muller Hinton broth, MHB (Himedia, India)
9. Muller Hinton agar, MHA (Himedia, India)
10. Peptone (Merck, Germany)
11. Chloramphenicol disc (Becton Dickinson and Company, Ireland)
12. Chloramphenicol powder (Sigma-Aldrich, USA)

3.1.4 วัสดุ และอุปกรณ์

1. 0.45 μm กระจกครอบเซลล์โลสอะซีเตท (Advantec MFS, USA)
2. 0.1 μm กระจกครอบเซลล์โลสอะซีเตท (SPI Supplies, USA)
3. 18/G Shaft homogenizer probe (Ystral, Germany)
4. 96 well plate (Corning, USA)
5. Autoclave (Tommy, Japan)
6. Cork borer (Gammago, ประเทศไทย)
7. Hemacytometer (HBG, Germany)
8. Homogenizer (Ystral, Germany)
9. Hot air oven (ED/FD, BINDER, Germany)
10. Liposome extruder (ER-2, Eastren Scientific, USA)
11. Mastersizer (Mastersizer 2000, Malvern, UK)
12. Nanosizer (Nanosizer ZS S4700, Malvern, UK)
13. Paper disc 6 mm (GE, USA)
14. Refractometer (ATAGO 1T, ATAGO, Japan)
15. Ultra sonic bath (DT100H, BANDELIN sonorex digitec, Germany)
16. กล้องจุลทรรศน์ (BX51, Olympus, Japan)
17. กล้องวงจรวัด (Panasonic, China)
18. เครื่องวัดความชื้น (MJ33, Mellter Toledo, Switzerland)
19. เครื่องกวนแบบใบพัด (WiseStir HT50DX, Wisd Laboratory Instruments, Germany)
20. เครื่องขึ้นรูปฟิล์ม (PI-1210 FILMCOATER, TESTER SANYO, Japan)

21. เครื่องวัดความหนาแบบดิจิทัล (ID-C112, Mitutoyo, Japan)
22. โปรแกรมจับภาพ CyberLink Power Director 7 (CyberLink, Taiwan)
23. เวอร์เนียร์ คาร์ลิปเปอร์ (Konon, Japan)
24. อุปกรณ์บันทึกภาพ (VideoMate, Taiwan)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหน่

3.2.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โดยการถ่ายเชื้อจากอาหารรุ้น MRS (Merck, USA) สำหรับเชื้อ *Lactobacillus* sp. TISTR 593 ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, USA) เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ถ่ายจากอาหารแข็ง NA (Himedia, India) ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว MHB (Muller Hinton, Broth Himedia, India) บ่มสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 18±2 ชั่วโมง นำไปปรับค่าความขุ่นโดยเปรียบเทียบกับมาตรฐาน McFarland No 0.5 (ภาคผนวก ก1) ที่ค่าดูดกลืนแสง 600 nm (absorbance, A_{600nm}) ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ 10^8 CFU/ml จากนั้นเจือจาง 10 เท่า ด้วย 0.1% peptone water (Merck, Germany) เพื่อใช้เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของสารทดสอบต่อไป

3.2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหน่

เจือจางสารทดสอบแบบลำดับส่วน (two-fold serial dilution) ตามข้อ ก 2 ด้วย DMSO จากนั้นเติมลงใน 96 well plate หลุมละ 100 μ l เตรียมแบคทีเรียตามวิธีในข้อ 3.5.1 แต่ใช้อาหารเหลว MRS สำหรับ *Lactobacillus* sp. และ MHB สำหรับ *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* แทน 0.1% peptone water ในการเจือจางคัลเจอร์แบคทีเรีย เติมนลงใน 96 well plate หลุมละ 100 μ l ชุ้ดควบคุมเป็นคัลเจอร์แบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวและสารละลาย chloramphenicol นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 18±2 ชั่วโมง นำคัลเจอร์แต่ละหลุมมาชีดบนอาหารแข็ง MRS (Merck, USA) สำหรับ *Lactobacillus* sp. และอาหารรุ้นแข็ง

MHA สำหรับ *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* นำไปป่มที่ อุณหภูมิ 37 °C เวลา 18 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในหลุมที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

3.2.2 การศึกษาผลของปริมาณน้ำมันสะระแห่นและตัวทำอิมัลชัน (Tween 20 และ Soy lecithin) ต่อการเกิดไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซม โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย ลักษณะ ขนาดและการกระจายของอนุภาคของน้ำมันสะระแห่น

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายไมเซลล์ของ Tween 20 ในน้ำที่บรรจุน้ำมันสะระแห่นและอิมัลชันของน้ำมันสะระแห่นในน้ำที่มี Tween 20 เป็นตัวทำอิมัลชัน

เตรียมวัตถุดิบน้ำได้แก่สารละลาย Tween 20 ในน้ำกลั่น โดยละลาย Tween 20 (Merck, USA) กวนผสมเบาๆ ให้ Tween 20 ละลายอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) โดยระวังไม่ให้เกิดฟอง เมื่อ Tween 20 ละลายหมด หยคน้ำมันได้แก่น้ำมันสะระแห่น (บริษัท เครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย) ลงในวัตถุดิบน้ำ โดยปริมาณ Tween 20 น้ำกลั่นและน้ำมันสะระแห่นสำหรับตัวอย่างต่างๆ แสดงในตารางที่ 3.1 โดยแปรความเข้มข้นของ Tween 20 2 ระดับ และความเข้มข้นของน้ำมันสะระแห่น 5 ระดับ แล้วทำให้หยคน้ำมันสะระแห่นกระจายและมีขนาดอนุภาคเล็กลงด้วยการตีปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ติดหัวตีปั่น 18/G shaft (Ystral, Germany) ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ถ่ายเทความร้อนออกจากตัวอย่างตลอดเวลาที่ตีปั่นโดยการหล่อภาชนะด้วยน้ำผสมน้ำแข็ง นำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปฆ่าเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองเซลลูโลสอะซิเตทที่ปลอดเชื้อขนาด 0.45 µm (Advantec MFS, USA) ลงในขวดแก้วสีชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C) เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ขนาดและการกระจายของอนุภาคน้ำมัน และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ factorial design 2x5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของสารละลายไมเซลล์และอิมัลชัน

องค์ประกอบของอิมัลชัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		
ภูมิภาคน้ำ		ภูมิภาคน้ำมัน
Tween 20	น้ำกลั่น	น้ำมันสะระแห่น
25	72	3
	70	5
	68	7
	67	8
	66	9
30	67	3
	65	5
	63	7
	62	8
	61	9

3.2.2.2 การเตรียมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นที่มีเลซิทินเป็นตัวทำอิมัลชัน

ขั้นตอนที่ 1: เตรียมละลายเลซิทินในแอลกอฮอล์ โดยละลายเลซิทิน (soy lecithin, Calbiochem, Germany) ใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ (Earth Chem Lab, Thailand) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเลซิทินร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก เติมน้ำมันสะระแห่นและน้ำกลั่นลงในสารละลายเลซิทิน โดยสัดส่วนโดยน้ำหนักของน้ำมันสะระแห่นต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 2:1 นำของผสมไปตีปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ตีหัวตีปั่น 18/G shaft ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ได้อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันสะระแห่น

ขั้นตอนที่ 2: เติมน้ำกลั่นลงในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันสะระแห่นที่เตรียมได้จากขั้นตอนที่ 1 พร้อมกับการตีปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ได้

อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันสัระระแทนในน้ำ ถ่ายเทความร้อนออกจากตัวอย่างตลอดเวลาที่ตีปั่นโดยการหล่อภาชนะด้วยน้ำผสมน้ำแข็ง

รายละเอียดปริมาณสารละลายเลซิติโนใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก น้ำกลั่นและน้ำมันสัระระแทนสำหรับตัวอย่างที่มีองค์ประกอบต่างๆ แสดงในตารางที่ 3.2 โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันสัระระแทน 4 ระดับ

ขั้นตอนที่ 3: นำอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันสัระระแทนในน้ำมาอัดผ่านแผ่นกรอง

เซลลูโลสอะซิเตทขนาด 0.1 μm (SPI supplies, USA) ด้วย liposome extruder (ER-2, Eastern Scientific, USA) ลงในขวดแก้วสีชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

เก็บตัวอย่างที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิแช่เย็น (4°C) เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ขนาดและการกระจายของอนุภาคน้ำมันสัระระแทน และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 3.2 รายละเอียดปริมาณสารละลายเลซิติโนใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก น้ำกลั่นและน้ำมันสัระระแทน สำหรับไลโปโซมที่มีองค์ประกอบต่างๆ

ไลโปโซมที่มีองค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			สำหรับขั้นตอนที่			
			1			2
เลซิติโน	น้ำมัน สัระระแทน	น้ำกลั่น	ปริมาณของ (กรัม)			น้ำ (กรัม)
			สารละลายเลซิติโน ร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์	น้ำมัน สัระระแทน	น้ำ	
0.7	8	86.3	5.7	8	4	82.3
	10	84.3		10	5	79.3
	15	79.3		15	7.5	71.8
	23	71.3		23	11.5	59.8

3.2.2.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่

- วิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่โดยใช้เทคนิค paper disc diffusion method (อธิบายในภาคผนวก ก4)

3.2.2.4 การวิเคราะห์ลักษณะ ขนาดและการกระจายของอนุภาคน้ำมันสะระแหน่ในผลิตภัณฑ์

- วัดค่า Refractive Index ของน้ำมันสะระแหน่ด้วย Refractometer (ATAGO 1T, ATAGO, Japan) ได้ค่าเท่ากับ 1.45
- สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะขุ่นซึ่งเตรียมได้จากข้อ 3.1.1 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Mastersizer 2000 (Malvern, UK) รายละเอียดในภาคผนวก ข1
- ส่วนสำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใสซึ่งเตรียมได้จากข้อ 3.1.1 และไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ที่เตรียมได้จากข้อ 3.1.2 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Nanosizer ZS S4700 (Malvern, UK) รายละเอียดในภาคผนวก ข2
- ลักษณะอนุภาคน้ำมันสะระแหน่ในผลิตภัณฑ์แบบอิมัลชัน และไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาคผนวก ข3)

3.2.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลคงที่ (700 kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฟิล์ม

3.2.3.1 การเตรียมฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำมันสะระแหน่เป็นองค์ประกอบ

ละลาย CMC ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 700 kDa (Sigma-aldrich, USA) และความเข้มข้นเฉลี่ยร้อยละ 11.88 โดยน้ำหนัก (MJ33, METTLER TOLEDO, Switzerland) โดย

รอย CMC ลงในน้ำกลั่น (ปริมาณของ CMC และน้ำกลั่นที่ใช้แสดงในตารางที่ 3.3) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ขณะมีการกวนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแบบใบพัด (WiseStir HT50DX, Wisd Laboratory Instruments, Germany) ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที จนได้สารละลายเนื้อเดียวกัน เติมผลิตภัณฑ์น้ำมันสะระแหน่ ได้แก่ไลโปโซมที่มีน้ำมันสะระแหน่และเลซิตินร้อยละ 23 และ 0.7 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และสารละลายไมเซลล์ที่มีน้ำมันสะระแหน่และ Tween 20 ร้อยละ 8 และ 30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (ปริมาณของผลิตภัณฑ์สะระแหน่ที่ใช้แสดงในตารางที่ 3.3) ลงในสารละลาย CMC ทำการกระจายไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ ด้วยเครื่องกวนแบบใบพัด ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที สำหรับตัวอย่างควบคุมเติมน้ำผลิตภัณฑ์น้ำมันสะระแหน่ ตัวอย่างของผสมขึ้นรูปฟิล์มที่เตรียมมีรายละเอียดดังนี้

- **สำหรับตัวอย่างฟิล์มควบคุม (ไม่มีผลิตภัณฑ์น้ำมันสะระแหน่)**

แปรความเข้มข้นของ CMC 5 ระดับ คือร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก

- **สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ผสมผลิตภัณฑ์น้ำมันสะระแหน่**

- ตัวอย่างที่ผสมไลโปโซมที่มีน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก และเลซิตินร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก

แปรความเข้มข้นของ CMC 5 ระดับ คือร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก และแปรปริมาณของไลโปโซม 2 ระดับ คือ 5 และ 10 กรัมต่อของผสมขึ้นรูปฟิล์ม 100 กรัม

- ตัวอย่างที่สารละลายไมเซลล์ที่มีน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก และ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

แปรความเข้มข้นของ CMC 2 ระดับ คือร้อยละ 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก แปรปริมาณของสารละลายไมเซลล์ 6 ระดับ ได้แก่ร้อยละ 6, 8, 10, 30, 50 และ 97.5 (สำหรับ CMC ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก) หรือ 97 (สำหรับ CMC ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก) กรัมต่อของผสมขึ้นรูปฟิล์ม 100 กรัม

ตารางที่ 3.3 องค์ประกอบของของผสมสำหรับขึ้นรูปฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

ปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (กรัม)	น้ำกลั่น (กรัม)	ปริมาณผลิตภัณฑ์น้ำมันสะระแหน่ (กรัม)
ตัวอย่างควบคุม		
1.0	99.0	-
1.5	98.5	
2.0	98.0	
2.5	97.5	
3.0	97.0	
ตัวอย่างผสมผลิตภัณฑ์ไลโปโซมที่มีน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก และเลซิทินร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก		
1.0	94.0	5.0
1.5	93.5	
2.0	93.0	
2.5	92.5	
3.0	92.0	
1.0	89.0	10.0
1.5	88.5	
2.0	88.0	
2.5	87.5	
3.0	87.0	
ตัวอย่างผสมผลิตภัณฑ์สารละลายไมเซลล์ที่มีน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก และ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก		
2.5	91.5	6.0
	89.5	8.0
	87.5	10.0
	67.5	30.0
	47.5	50.0
	-	97.5
3.0	91.0	6.0
	89.0	8.0
	87.0	10.0
	67.0	30.0
	47.0	50.0
	-	97.0

นำของเหลวผสมที่เตรียมได้ ไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic bath (DT100H, BANDELIN sonorex digitec, Germany) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเทลงบนแผ่นอะครีลิคที่วางบนแท่นของเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม (PI-1210 FILMCOATER, TESTER SANGYO, Japan) โดยใช้ความเร็วในการปาด 2 เซนติเมตรต่อวินาที โดยมีระยะห่างระหว่างใบปาดกับผิวของแผ่นอะครีลิคคงที่เท่ากับ 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C (ED/FD, BINDER, Germany) จนกระทั่งแผ่นฟิล์มแห้งและสามารถลอกออกจากแผ่นอะครีลิคได้ บรรจุฟิล์มที่ได้ในถุงพลาสติกและเก็บในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นร้อยละ 30 ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม (ภาคผนวก ค) จัดการทดลองแบบ factorial design 2x5 และ 6x2 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2.3.2 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม

- ความหนาของแผ่นฟิล์ม (ภาคผนวก ค1)
- ความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดของฟิล์ม (ภาคผนวก ค2)
- อัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม (ภาคผนวก ค3)

3.2.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสผสมน้ำมันสะระแหน่

- วิธี paper disc diffusion method (ภาคผนวก ก4)

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหน่

ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันสะระแหน่ที่เจือจางด้วย Dimethyl sulfoxide, DMSO นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พิจารณานาขนาดของวงใสในหน่วยมิลลิเมตร ผลการทดลองในตารางที่ 4.1 พบว่าน้ำมันสะระแหน่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus* sp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* โดยขนาดวงใสใหญ่ที่สุด เท่ากับ 17.68 มิลลิเมตร รองลงมาคือ 14.78 และ 12.32 มิลลิเมตรตามลำดับ สำหรับ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ไม่พบวงใสบ่งชี้ได้ว่าน้ำมันสะระแหน่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทั้งนี้อาจเกิดจาก *P. aeruginosa* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบซึ่งสามารถสร้าง exo-polysaccharide matrix ออกมาหุ้มรอบเซลล์เป็นปริมาณมากทำให้โคโลนีลักษณะเป็นเยื่อเมือกแผ่นอาหารแข็งส่งผลในการป้องกันน้ำมันสะระแหน่เข้าทำลายเซลล์ (Mann *et al.*, 2000) เช่นเดียวกับรายงานของ Gupta *et al.* (2008) พบว่าน้ำมันสะระแหน่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 15 และ 10 มิลลิเมตรตามลำดับ และไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* และค่า MBC ของน้ำมันสะระแหน่ (น้ำมันสะระแหน่หนัก 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เท่ากับ 0.4 0.0125 0.00625 และ 0.00315 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *P. aeruginosa*, *Lactobacillus* sp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งพบว่าน้ำมันสะระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* ทั้งนี้ฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของสารสำคัญในน้ำมันสะระแหน่แตกต่างกับขึ้นกับสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก สภาวะแวดล้อมและวิธีการสกัดน้ำมันสะระแหน่ และองค์ประกอบของผนังเซลล์จุลินทรีย์ (Tajkarimi *et al.*, 2010; Deans, 2006) รวมถึงหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างของสารสำคัญภายในน้ำมันสะระแหน่

ตารางที่ 4.1 ค่า MBC ของน้ำมันสะระแห่นในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรีย	ค่า MBC (mg/ml)	ขนาดวงใส (mm)
<i>Lactobacillus</i> sp. TISTR 593	0.01250	17.68
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.00625	14.78
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.00315	12.32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0.40000	-

4.2 ผลของปริมาณน้ำมันสะระแห่นและตัวทำอิมัลชัน (Tween 20 และ Soy lecithin) ต่อการเกิดไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซม

เตรียมผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแห่นที่สามารถกระจายตัวในน้ำได้โดยใช้ตัวทำอิมัลชัน 2 ชนิด คือ Tween 20 และเลซิทีน เมื่อใช้ Tween 20 แปรความเข้มข้นของ Tween 20 2 ระดับคือ ร้อยละ 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และแปรความเข้มข้นของน้ำมันสะระแห่น 5 ระดับ คือร้อยละ 3 5 7 8 และ 9 โดยน้ำหนัก เมื่อใช้เลซิทีนที่ความเข้มข้นคงที่ที่ร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก และแปรความเข้มข้นของน้ำมันสะระแห่น 4 ระดับ คือร้อยละ 8 10 15 และ 23 โดยน้ำหนักตามลำดับ นำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ขนาดและการกระจายของอนุภาคน้ำมันสะระแห่นโดยเทคนิค light scattering และทดสอบประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้ได้ทำการถ่ายภาพลักษณะของอนุภาคน้ำมันสะระแห่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะขุ่นด้วย

4.2.1 ผลทางกายภาพของอิมัลชันน้ำมันสะระแห่น ลักษณะ ขนาดและ การกระจายของอนุภาคน้ำมันสะระแห่นในรูปสารละลายไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่น

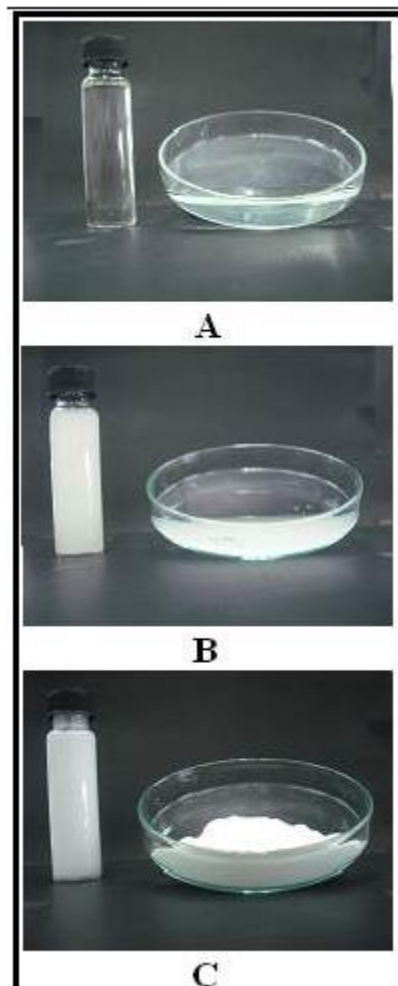
ลักษณะผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มี 3 ชนิด คือ น้ำใสมีสีเหลืองอ่อน น้ำขุ่นและครีม ขึ้นเหนียวสีขาว โดยลักษณะผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำใสมีสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 4.1A) เกิดขึ้นเมื่อใช้น้ำมัน

สระแหนดความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนักในสารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก และน้ำมันสระแหนดเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 8 โดยน้ำหนักร่วมกับสารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก เมื่อนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไปวิเคราะห์ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของน้ำมันสระแหนดพบว่าการกระจายของอนุภาคน้ำมันเป็นแบบ trimodal และขนาดอนุภาคน้ำมันสระแหนดเล็กกว่า 10 นาโนเมตร (ตารางที่ 4.1) บ่งว่าผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นสารละลายไมเซลล์ของ Tween 20 ซึ่งมีน้ำมันสระแหนดบรรจุอยู่ ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า สารละลายไมเซลล์ ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวขุ่น (รูปที่ 4.1B) เกิดขึ้นเมื่อนำน้ำมันสระแหนดเข้มข้นร้อยละ 7 ถึง 9 โดยน้ำหนัก ในสารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก และน้ำมันสระแหนดเข้มข้นร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก ในสารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์ขนาดอนุภาคน้ำมันสระแหนดพบว่าการกระจายของอนุภาคน้ำมันสระแหนดแบบ unimodal และมีขนาดอนุภาคของน้ำมันสระแหนดอยู่ในช่วง 2-5 ไมโครเมตร (ตารางที่ 4.1) บ่งว่าผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นอิมัลชันของน้ำมันสระแหนดในน้ำ ซึ่งต่อไปจะเรียกว่าอิมัลชัน ขนาดอนุภาคน้ำมันที่ใหญ่ทำให้มีการกระเจิงของแสงมากจึงให้เกิดลักษณะขุ่นขาว เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันสระแหนดมากกว่าร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก เกิดการแยกเป็น 2 วัฏภาคทันทีไม่สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ได้ ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นครีมขุ่นหนืดสีขาว (รูปที่ 4.1C) เกิดขึ้นเมื่อใช้ตัวทำอิมัลชันชนิดเลซิธินเข้มข้นร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก และน้ำมันสระแหนดเข้มข้นร้อยละ 8-23 โดยน้ำหนัก พบว่ามีขนาดอนุภาคของน้ำมันสระแหนดอยู่ในช่วง 1-5 ไมโครเมตร และมีการกระจายขนาดอนุภาคแบบ unimodal เนื่องจากเลซิธินเรียงตัวแบบ binary layer ทรงกลม กระจายอยู่ในน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.7 (Malheiros *et al.*, 2010) โดยมีน้ำมันสระแหนดอยู่ระหว่างชั้นทั้ง 2 ของเลซิธิน ส่วนภายในเป็นน้ำ ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเช่นนี้เรียกว่าไลโปโซม (liposome) ไลโปโซมมีขนาดของอนุภาคอยู่ในช่วง 1-5 ไมโครเมตรเรียกว่า giant unilamellar vesicles (Malheiros *et al.*, 2010) ขนาดอนุภาคน้ำมันที่ใหญ่ทำให้ปรากฏเป็นสีขาวขุ่น เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันสระแหนดมากกว่าร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก เกิดการแยกเป็น 2 วัฏภาคทันทีไม่สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ได้

ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นเมื่อใช้ Tween 20 เป็นตัวทำอิมัลชันเหล่านี้เป็นไปตาม phase diagram ที่ศึกษาโดย Gupta *et al.* (2006) ซึ่งรายงานว่าลักษณะการเกิดของอิมัลชันชนิดชนิดน้ำมันในน้ำที่ความเข้มข้นขององค์ประกอบทั้ง 3 ชนิด เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการกักเก็บสารที่เป็นไขมันซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำโดยใช้ตัวทำอิมัลชันในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อทำให้เกิดเป็น micro-emulsion เป็นอิมัลชันที่มีความเสถียรแบบอุณหพลศาสตร์

(thermodynamically stability) ที่สารทั้ง 3 ชนิด เป็นเนื้อเดียวกันไม่แยกออกเป็น 2 วัฏภาค แต่เมื่อลดปริมาณตัวทำอิมัลชันน้อยกว่า หรือเพิ่มปริมาณน้ำมันก็ทำให้เกิด macro-emulsion ซึ่งมีความเสถียรแบบจลนพลศาสตร์ (kinetically stability) ซึ่งทำให้เกิดการแยกเป็น 2 วัฏภาคได้

ไลโปโซมเป็นรูปแบบที่สำคัญสำหรับการกักเก็บสารที่ละลายได้ในน้ำและสารที่ละลายในน้ำมันได้พร้อมกัน (Malheiros *et al.*, 2010; Wang *et al.* 2006) แต่สำหรับงานวิจัยนี้ใช้กักเก็บเฉพาะสารที่ละลายในน้ำมัน ผลการทดลองบ่งว่าการใช้เลซิตินเป็นตัวทำอิมัลชันเพื่อกักเก็บน้ำมันระเหยในไลโปโซมของเลซิตินนั้น สามารถกักเก็บน้ำมันระเหยได้ในปริมาณสูงกว่าการใช้ Tween 20



รูปที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ของน้ำมันระเหยสารละลายไมเซลล์ (A) อิมัลชัน (B) และ ไลโปโซมบรรจุน้ำมันระเหย (C)

ตารางที่ 4.2 ลักษณะปรากฏ ขนาดอนุภาคน้ำมันสระแห้งเฉลี่ยเชิงปริมาตร (D[4,3]) รูปแบบการกระจายขนาดอนุภาคน้ำมันสระแห้งและชนิดผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้

องค์ประกอบของอิมัลชัน			ลักษณะปรากฏ	D[4,3] (nm)	รูปแบบการกระจาย ขนาดอนุภาคน้ำมัน	ชนิดผลิตภัณฑ์
ตัวทำอิมัลชัน	ปริมาณ ตัวทำอิมัลชัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	น้ำมันสระแห้ง (ร้อยละโดยน้ำหนัก)				
Tween 20	25.0	3.0	น้ำใส	$2.87^a \pm 0.06$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		5.0	น้ำใส	$9.42^b \pm 0.48$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		7.0	น้ำขุ่น	$2774.00^c \pm 0.05$	unimodal	อิมัลชัน
		8.0	น้ำขุ่น	$4433.63^d \pm 2.89$	unimodal	อิมัลชัน
		9.0	น้ำขุ่น	$5391.00^e \pm 1.66$	unimodal	อิมัลชัน
Tween 20	30.0	3.0	น้ำใส	$2.72^a \pm 0.49$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		5.0	น้ำใส	$2.80^a \pm 0.04$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		7.0	น้ำใส	$2.71^a \pm 0.20$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		8.0	น้ำใส	$2.72^a \pm 0.14$	trimodal	สารละลายไมเซลล์
		9.0	น้ำขุ่น	$3482.00^g \pm 0.61$	unimodal	อิมัลชัน
Soy lecithin	0.7	8.0	ครีมชั้นหนืดสีขาว	$1118.05^c \pm 258.53$	unimodal	ไลโปโซม
		10.0	ครีมชั้นหนืดสีขาว	$1407.87^d \pm 445.01$	unimodal	ไลโปโซม
		15.0	ครีมชั้นหนืดสีขาว	$4356.59^k \pm 600.43$	unimodal	ไลโปโซม
		23.0	ครีมชั้นหนืดสีขาว	$4551.93^m \pm 352.07$	unimodal	ไลโปโซม

4.2.2 ลักษณะอนุภาคน้ำมันสระแหวในผลิตภัณฑ์แบบอิมัลชันและไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์

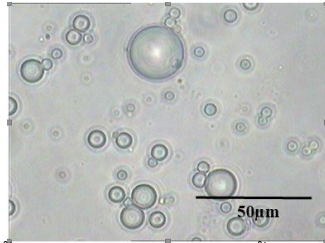
ลักษณะอนุภาคน้ำมันสระแหวในผลิตภัณฑ์แบบอิมัลชันและไลโปโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 และ 1000 เท่า ดังแสดงรูปที่ 4.2 พบว่าอนุภาคน้ำมันสระแหวในอิมัลชันทุกสูตรที่ใช้ Tween 20 เป็นตัวทำอิมัลชัน มีลักษณะเป็นวงกลมและเกาะกันเป็นกลุ่ม เมื่อปริมาณน้ำมันสระแหวเพิ่มมากขึ้นกลุ่มของอนุภาคน้ำมันมีขนาดและจำนวนเพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดความไม่เสถียรและเกิดการแยกชั้นของอิมัลชันเมื่อเก็บนานกว่า 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 °C) การเพิ่มปริมาณ Tween 20 จากร้อยละ 25 เป็นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักที่ปริมาณน้ำมันสระแหวคงที่ที่ร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก พบว่าอนุภาคน้ำมันสระแหวมีการกระจายตัวมากขึ้น (รูปที่ 4.2E และ G) นอกจากนี้ D[4,3] มีขนาดเล็กลง (ตารางที่ 4.2) ทั้งนี้อาจเนื่องจากตัวทำอิมัลชันมีปริมาณสูงขึ้นไปมากพอที่จะห่อหุ้มหยดน้ำมันที่มีขนาดเล็กลงได้ ส่งผลให้อิมัลชันมีความเสถียรมากและการแยกชั้นเกิดช้ามากขึ้น เมื่อใช้เลซิดินเป็นตัวทำอิมัลชัน ลักษณะอนุภาคของไลโปโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 4.3) พบว่าอนุภาคเป็นวงกลมเกาะชิดติดกันทุกความเข้มข้นของน้ำมันสระแหว ทำให้มีลักษณะเป็นครีมหัน รูปที่ 4.4 เป็นภาพขยายของอนุภาคไลโปโซมแสดงให้เห็นวงกลมซ้อนกัน 2 วง ซึ่งเป็นการเรียงของโมเลกุลของเลซิดินแบบ bilayer ระหว่างวงกลมทั้งสองบรรจุน้ำมันสระแหว ภายในของวงกลมชั้นในเป็นน้ำ

การที่อนุภาคน้ำมันเกิดการเกาะกลุ่มตั้งแต่ 2 อนุภาคขึ้นไปด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ โดยอนุภาคเหล่านั้นถูกชั้นไว้ด้วยฟิล์มบางๆของตัวทำอิมัลชัน เรียกว่าเกิดกระบวนการ flocculation เมื่อฟิล์มบางๆของตัวทำอิมัลชันระหว่างอนุภาคที่เกาะอยู่ติดกันแตก ทำให้น้ำมันเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคเดียวที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เรียกว่าเกิดกระบวนการ coalescence (Chiaminti *et al.*, 2003) ผลการทดลองเป็นไปตาม phase diagram ในรูปที่ 2.4 (Gupta *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม สำหรับงานวิจัยนี้จุดประสงค์ของการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ก็เพื่อนำมาเป็บองค์ประกอบในการผลิตฟิล์มต้านแบคทีเรีย ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจะถูกนำไปผสมกับสารละลายพอลิเมอร์ชีวภาพ (ได้แก่ CMC สำหรับงานวิจัยนี้) แล้วขึ้นรูปฟิล์มทันที ดังนั้น จึงไม่มีการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์หรือระยะเวลาเก็บก่อนเกิดการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์

ส่วนสารละลายไมเซลล์ที่บรรจุน้ำมันสระแหวไม่สามารถนำมาส่องกล้องได้ เนื่องจากมีอนุภาคขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร Terjung และคณะ (2012) รายงานว่าลักษณะของสารละลายไมเซลล์ของตัวทำอิมัลชันที่บรรจุน้ำมันไว้ภายในว่า เป็นไมเซลล์ของตัวทำอิมัลชันที่กระจายอยู่ในตัวทำละลาย ซึ่งในงานวิจัยนี้ตัวทำละลายคือน้ำ โดยไมเซลล์ของตัวทำอิมัลชันเป็น

อนุภาคที่เกิดจากตัวทำอิมัลชันที่เกิดการเรียงตัวเป็นชั้นเดียวมีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ ทรงกลมซึ่งมีน้ำมันละลายอยู่ใน

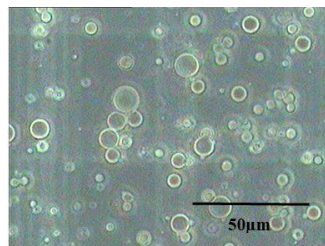
ผลการทดลองแสดงว่ารูปแบบของผลิตภัณฑ์น้ำมันสระผมที่กระจายตัวในน้ำสามารถออกแบบได้โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมันสระผม ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน



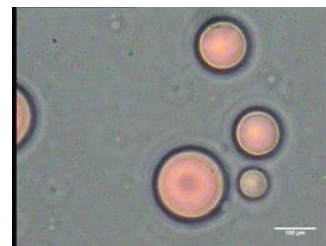
(A) น้ำมันสระผมร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 400



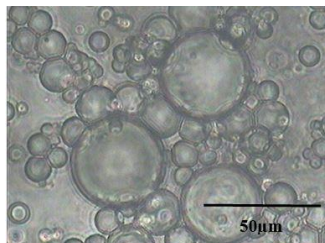
(B) น้ำมันสระผมร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 1,000



(C) น้ำมันสระผมร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 400



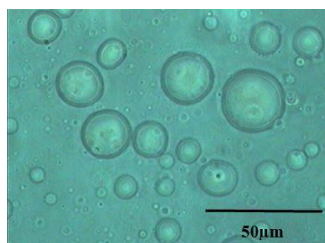
(D) น้ำมันสระผมร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 1,000



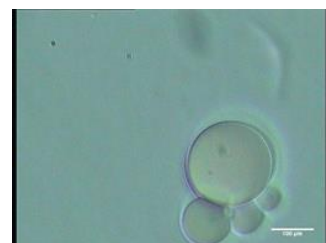
(E) น้ำมันสระผมร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 400



(F) น้ำมันสระผมร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 1,000

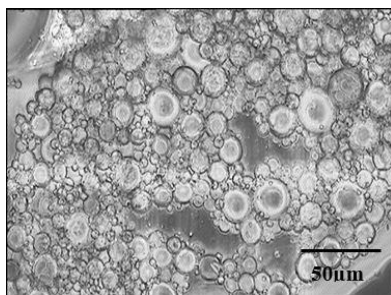


(G) น้ำมันสระผมร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 400

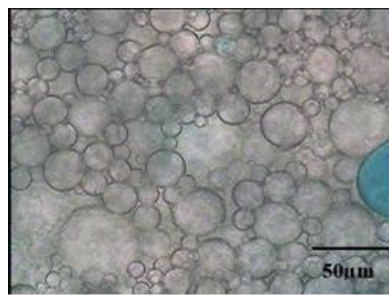


(H) น้ำมันสระผมร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก ใน Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 1,000

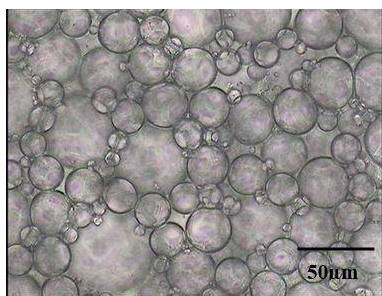
รูปที่ 4.2 ลักษณะของอนุภาคน้ำมันสระผมในรูปอิมัลชันที่กำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า



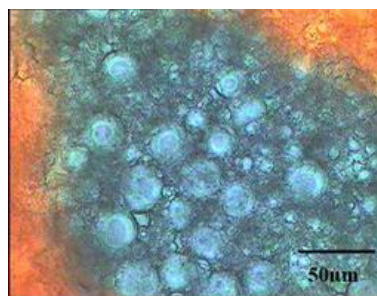
(A) ไลโพโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 8 โดย น้ำหนัก ที่กำลังขยาย 200 เท่า



(B) ไลโพโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 200 เท่า

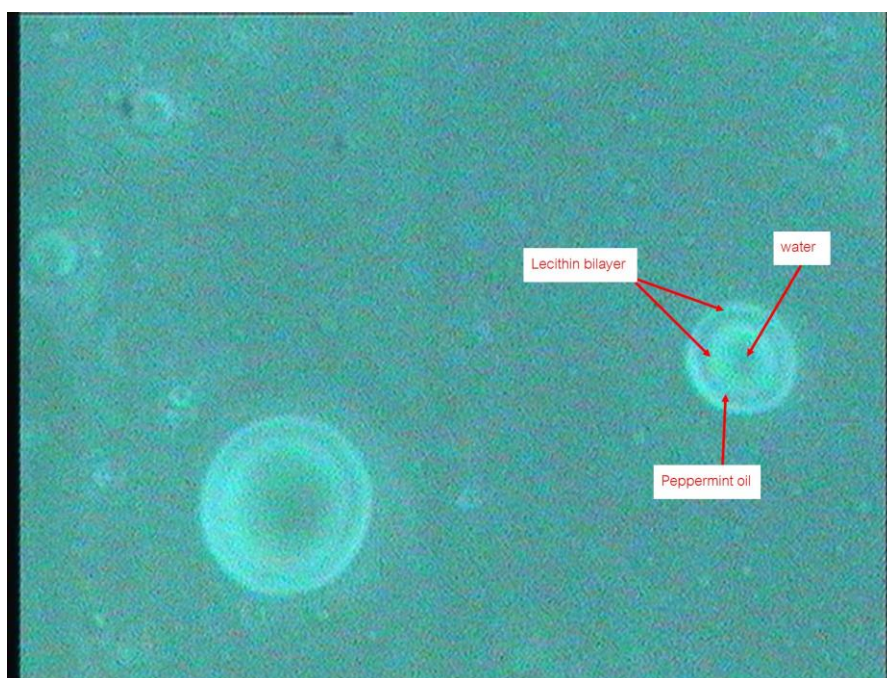


(C) ไลโพโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 200 เท่า



(D) ไลโพโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก ที่กำลังขยาย 200 เท่า

รูปที่ 4.3 ลักษณะของอนุภาคน้ำมันสะระแหน่ในรูปอิมัลชันที่กำลังขยาย 200 เท่า

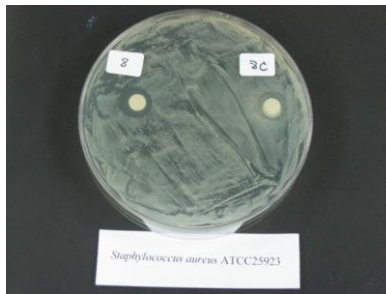


รูปที่ 4.4 อนุภาคไลโพโซมที่บรรจุน้ำมันสะระแหน่ ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

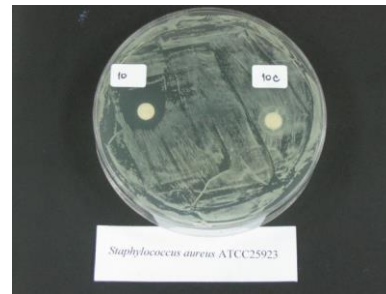
4.2.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์จากน้ำมัน สะระแหน่

นำผลิตภัณฑ์ของน้ำมันสะระแหน่ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2.1 และ 3.2.2.2 มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิดด้วยวิธีตามภาคผนวก ก4 เปรียบเทียบขนาดของวงใสที่เกิดขึ้น จากตารางที่ 4.2 พบว่าผลิตภัณฑ์ต้องมีความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่อย่างน้อยที่สุดร้อยละ 8 5 และ 5 โดยน้ำหนัก สำหรับ *Lactobacillus* sp., *S. aureus* และ *E. coli* ตามลำดับ น้ำมันสะระแหน่เข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก พบว่า ไลโฟโซมและไมเซลล์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าอิมัลชันสำหรับ *Lactobacillus* sp. ที่ความเข้มข้นของ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนักพบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเมื่อไมเซลล์มีความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่อยู่ระหว่างร้อยละ 5-8 โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามการเตรียมน้ำมันสะระแหน่ในรูปอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำสามารถใส่น้ำมันสะระแหน่ได้สูงสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 9 โดยน้ำหนักซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียทดสอบลดลง ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่และขนาดของอนุภาคไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* สำหรับ *P. aeruginosa* พบว่าน้ำมันสะระแหน่ไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้ง (ไม่เกิดวงใส) ในขณะที่เมื่อเตรียมน้ำมันสะระแหน่ให้อยู่ในรูปไมเซลล์ และอิมัลชันที่มีน้ำมันสะระแหน่เข้มข้นร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก ในสารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 25 และ 30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และ ไลโฟโซมที่บรรจุน้ำมันสะระแหน่เข้มข้นร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก กลับพบว่าน้ำมันสะระแหน่สามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ที่สร้างไบโอฟิล์มได้ แสดงให้เห็นว่าตัวทำอิมัลชันสามารถเพิ่มความสามารในการส่งผ่านน้ำมันสะระแหน่ผ่านชั้นไบโอฟิล์มที่ล้อมรอบเซลล์ของ *P. aeruginosa* ได้ ดังที่ Burt (2004) กล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบไว้ว่าความไม่มีขั้วของน้ำมันหอมระเหยทำให้สามารถเข้าไปในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์และไมโทคอนเดรียไปทำลายความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารเคมีทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบของเซลล์และทำให้เซลล์ตายได้ และสารสำคัญที่มีความสามารถในการกระจายตัวในน้ำน้อยจะทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่ำลงไปด้วย ไลโฟโซมที่บรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก มีขนาดของวงใสเท่ากับ 17.54 มิลลิเมตรสำหรับเชื้อ *S. aureus* ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเชื้อ *Lactobacillus* sp. และ *P. aeruginosa* ซึ่งเท่ากับ 14.32 และ 12.47 มิลลิเมตรตามลำดับ สำหรับ *E. coli* เท่ากับ 12.14 มิลลิเมตร ดังนั้นการกักเก็บสารออกฤทธิ์ในรูปอิมัลชันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ เนื่องจากช่วยเพิ่มความสามารถในการ

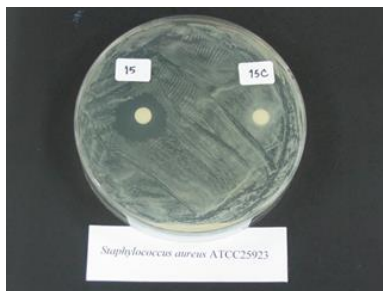
เกิดพันธะไฮโดรเจนและพันธะกับโมเลกุลของน้ำที่อยู่รอบๆอนุภาคอิมัลชัน (Narang *et al.*, 2007) ซึ่งรูปแบบของการกักเก็บอาจเกิดขึ้นที่ผิวฟิล์มของตัวทำอิมัลชันหรือเกิดการห่อหุ้มสารสำคัญทั้งหมดไว้ภายในส่งผลต่อการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์และประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Terjung *et al.*, 2012)



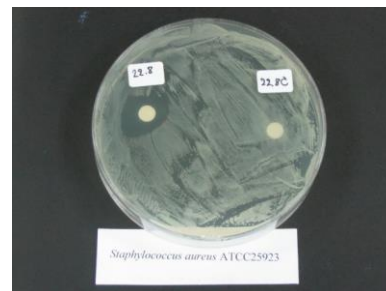
A.



B.



C.



D.

รูปที่ 4.5 วงใสที่เกิดจากไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นเทียบกับไลโปโซมชุดควบคุมต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A) ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 8 (B) ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 10 (C) ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 15 (D) ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 23

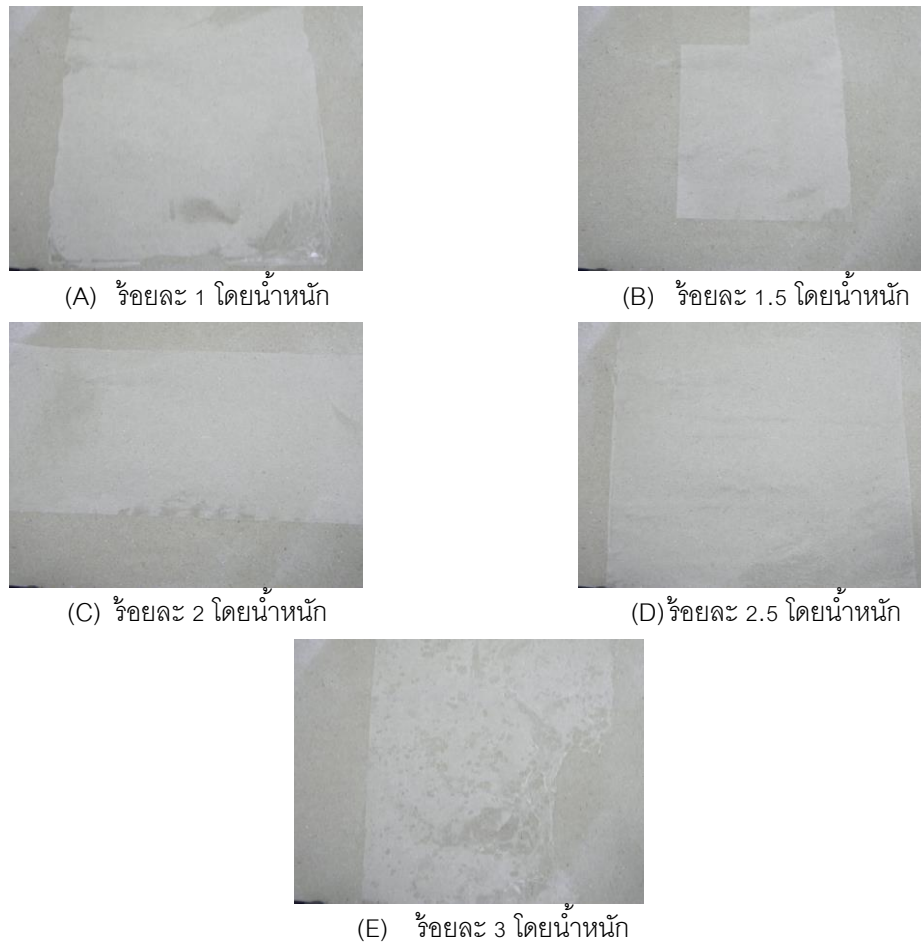
ตารางที่ 4.3 เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่บ่งฤทธิ์ด้านแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่

องค์ประกอบอิมัลชัน			เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส* (mm) สำหรับ			
ตัวทำอิมัลชัน		น้ำมันสะระแหน่ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
ชนิด	ปริมาณตัวทำอิมัลชัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)					
Tween 20	25.0	3.0	ND	ND	ND	ND
		5.0	ND	8.89 ^{IA} ± 0.05	7.60 ^{IA} ± 0.08	ND
		7.0	ND	13.60 ^{IA} ± 0.04	10.26 ^{ghB} ± 0.02	7.37 ^{IC} ± 0.01
		8.0	8.06 ^{IB} ± 0.03	11.86 ^{GA} ± 0.03	8.43 ^{IB} ± 0.02	9.29 ^{deB} ± 0.01
		9.0	8.77 ^{hB} ± 0.02	8.22 ^{jkB} ± 0.05	12.34 ^{cdA} ± 0.05	11.82 ^{cdA} ± 0.02
Tween 20	30.0	3.0	ND	ND	ND	ND
		5.0	ND	7.05 ^{IB} ± 0.03	10.68 ^{fgA} ± 0.08	ND
		7.0	ND	12.17 ^{gfA} ± 0.00	9.42 ^{hB} ± 0.03	9.36 ^{cdB} ± 0.04
		8.0	9.30 ^{gC} ± 0.03	16.91 ^{CA} ± 0.02	11.69 ^{deB} ± 0.07	8.93 ^{eC} ± 0.02
		9.0	8.64 ^{hB} ± 0.02	9.48 ^{hB} ± 0.03	11.32 ^{efA} ± 0.01	10.10 ^{cdAB} ± 0.00
Soy lecithin	0.7	8.0	10.25 ^{IB} ± 0.04	11.75 ^{GB} ± 0.03	12.14 ^{cdA} ± 0.02	ND
		10.0	15.14 ^{dA} ± 0.02	15.86 ^{dA} ± 0.02	12.60 ^{bcB} ± 0.07	ND
		15.0	15.58 ^{CB} ± 0.03	17.85 ^{BA} ± 0.02	13.24 ^{BC} ± 0.01	ND
		23.0	14.32 ^{eB} ± 0.04	17.54 ^{BA} ± 0.02	12.14 ^{cdC} ± 0.01	12.47 ^{bBC} ± 0.01
Chloramphenicol			30.30 ^{aA} ± 0.06	24.3 ^{aC} ± 0.06	26.75 ^{aB} ± 0.07	13.76 ^{aD} ± 0.07
Pure peppermint oil			17.68 ^{BA} ± 0.02	14.78 ^{EB} ± 0.07	12.32 ^{cdC} ± 0.02	ND

*ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ND คือ ไม่พบ, a,b,...,f,g แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น p=0.05 (ด้านแนวตั้ง), A,B,C,...,F,G แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น p = 0.05 (ทางด้านแนวนอน)

4.3 ผลของปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลคงที่ (700kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

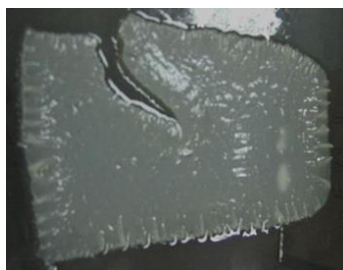
รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของฟิล์ม CMC ชุดควบคุม ฟิล์ม CMC ชุดควบคุมที่เตรียมจากความเข้มข้นของ CMC ทุกระดับ (ร้อยละ 1.0-3.0 โยน้ำหนัก) มีลักษณะโปร่งแสง ฟิล์ม CMC ชุดควบคุมที่เตรียมจากความเข้มข้นของ CMC ระหว่างร้อยละ 1.0-2.5 โดยน้ำหนัก ไม่พบฟองอากาศภายในฟิล์ม แต่ฟิล์ม CMC ชุดควบคุมที่เตรียมจากความเข้มข้นของ CMC ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก พบว่ามีฟองอากาศอยู่ทั่วทั้งฟิล์ม ตารางที่ 4.4 แสดงว่าเมื่อความเข้มข้น CMC เพิ่มขึ้น ความหนาของแผ่นฟิล์มและค่าอัตราการซึมผ่านไอน้ำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่มีค่าความยืดหยุ่นและค่าความต้านทานแรงดึงขาดมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของ CMC ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโซ่ของ CMC มากขึ้น ซึ่งอาจทำให้ junction zone มีจำนวนมากและหรือขนาดใหญ่ขึ้น ส่งผลให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีความเปราะ (Bourtoom, 2007) และ Wach และคณะ (2000) รายงานว่าโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสสามารถดูดซับน้ำ และพองตัวออกจนเป็นสารละลายเนื้อเดียวกันกับตัวทำละลาย แต่เมื่อความเข้มข้นของ CMC สูงขึ้นจนโมเลกุลของ CMC ไม่สามารถเคลื่อนที่และเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลได้จะทำให้เกิดเป็นสารละลาย CMC ที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ส่งผลให้สมบัติทางกายภาพสูญเสียไป นอกจากนี้การที่ฟิล์ม CMC ชุดควบคุมที่เตรียมจากความเข้มข้นของ CMC ร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก มีฟองอากาศทั่วฟิล์มยังทำให้ฟิล์มขาดง่ายอีกด้วย การที่ความเข้มข้นของ CMC สูงขึ้นทำให้ความหนืดของสารละลาย CMC ที่นำมาเตรียมฟิล์มสูงขึ้นและไม่สามารถไล่ฟองอากาศออกได้ ทำให้ฟิล์มมีฟองอากาศ (Silva *et al.*, 2013) ค่าอัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มจึงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของ CMC มากขึ้นสามารถอธิบายได้จากการที่ CMC สามารถดูดน้ำได้ดีจึงทำให้มีการแพร่ของไอน้ำผ่านการดูดซึมของ CMC โมเลกุลได้สูงขึ้นเพราะปริมาณโมเลกุลของ CMC ในฟิล์มมากขึ้น (Wach, 2000)



รูปที่ 4.6 फिल्मคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เตรียมจากความเข้มข้นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสระดับต่างๆ

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าของผสมระหว่างสารละลาย CMC กับสารละลายไมเซลล์ของ Tween 20 ที่บรรจุน้ำมันสะระแหน่ เมื่อใช้ CMC ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก ไม่สามารถขึ้นรูปฟิล์มที่เป็นแผ่นได้ จึงศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มที่ใช้ CMC ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก พบว่าเมื่อผสมสารละลายไมเซลล์ที่มีน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก และ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่ปริมาณ 6-10 กรัมต่อ 100 กรัมของผสมที่นำมาขึ้นรูปฟิล์ม พบว่าได้ฟิล์มที่มีน้ำมันเคลือบอยู่บนผิว และเมื่อใช้ที่ปริมาณ ≥ 30 กรัมต่อ 100 กรัมของผสมที่นำมาขึ้นรูปฟิล์ม ไม่สามารถทำให้แห้งเป็นฟิล์มได้ดังแสดงในรูปที่ 4.7 ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของไมเซลล์น้ำมันสะระแหน่มีปริมาณ Tween 20 มากคือร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก และ Tween 20 เป็นของเหลวที่ไม่สามารถระเหยได้ เนื่องจากลักษณะปรากฏของ

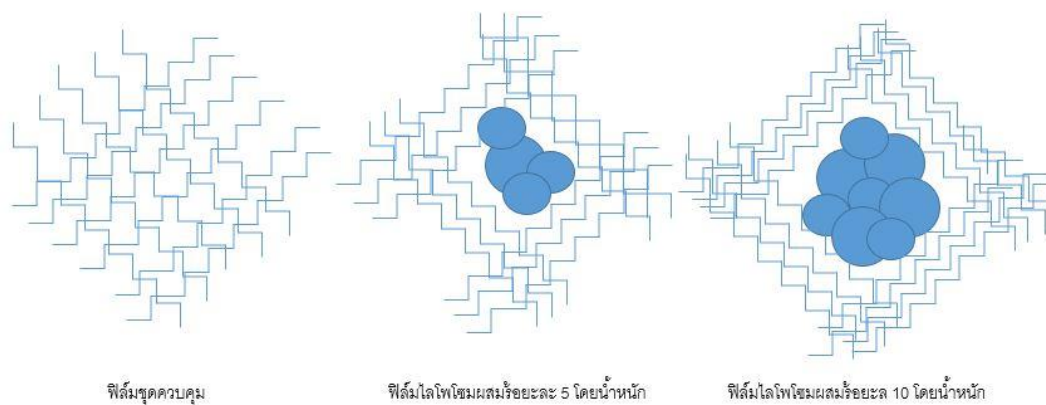
ฟิล์มที่เตรียมจากของผสมระหว่าง CMC กับสารละลายไมเซลล์ของ Tween 20 ที่บรรจุน้ำมัน
 สาระแห่น ไม่ดี จึงไม่ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเหล่านี้



รูปที่ 4.7 ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ผสมที่มีน้ำมันสาระแห่นร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก
 และ Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่ปริมาณ 30 กรัมต่อ 100 กรัมของผสม
 ที่นำมาขึ้นรูปฟิล์ม

ของผสมระหว่างสารละลาย CMC (ที่ความเข้มข้นของ CMC ในของผสมร้อยละ 1.0-3.0
 โดยน้ำหนัก) กับไลโปโซมของเลซิทินบรรจุน้ำมันสาระแห่น (ที่มีเลซิทินร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก
 และน้ำมันสาระแห่นร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก) โดยความเข้มข้นของไลโปโซมนี้ในของผสมร้อยละ 5
 และ 10 โดยน้ำหนัก พบว่าแผ่นฟิล์มที่ได้มีความหนาแน่นระหว่าง 0.03-0.2 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น
 ของไลโปโซมเท่ากับพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ CMC ทำให้การเปลี่ยนแปลงสมบัติทาง
 กายภาพเป็นไปเช่นเดียวกันกับฟิล์มชุดควบคุม ด้วยสาเหตุเช่นเดียวกันดังกล่าวแล้วข้างต้น ที่
 ความเข้มข้นของ CMC เท่ากันการผสมไลโปโซมทำให้ค่าความยืดหยุ่นสูงกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่
 ผสมไลโปโซม และค่าความยืดหยุ่นสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมสูงขึ้น แต่ค่าแรงดึงขาด
 ของฟิล์มควบคุมสูงกว่าฟิล์มที่ผสมไลโปโซมที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก แต่ต่ำกว่าฟิล์มที่
 ผสมไลโปโซมที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไลโปโซมมีขนาดใหญ่
 และเกาะกันเป็นกลุ่มดังที่แสดงในรูปที่ 4.3 จึงเป็นไปได้ว่ากลุ่มของไลโปโซมแทรกอยู่ระหว่าง
 สารละลาย CMC และเมื่อแห้งเป็นฟิล์มแล้วทำให้โครงร่างตาข่ายของฟิล์มไม่ผสานกันตลอดเช่น
 ฟิล์มควบคุมที่ไม่มีไลโปโซมผสมอยู่ดังแบบจำลองที่แสดงในรูปที่ 4.8 จากแบบจำลองนี้อธิบายได้
 ว่าการผสมไลโปโซมที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก กลุ่มไลโปโซมขัดขวางการเกิดอันตร
 กิริยาระหว่างสาย CMC บางส่วน ทำให้มีค่าความยืดหยุ่นสูงกว่าแต่ค่าแรงดึงขาดต่ำกว่าฟิล์ม
 ควบคุม แต่เมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมสูงขึ้นเป็นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก พื้นที่สำหรับไลโปโซม
 เพิ่มมากขึ้นจึงทำให้ส่วนที่เหลือมีความหนาแน่นของสาย CMC มากขึ้นเกิดอันตรกิริยาระหว่าง
 สายมากขึ้นจึงเป็นผลทำให้ทั้งมีค่าความยืดหยุ่นและค่าแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มควบคุม ค่าอัตรา

การซึมผ่านไอน้ำผ่านฟิล์มของฟิล์มควบคุมสูงกว่าฟิล์มที่มีไลโปโซมผสม และเมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมเพิ่มขึ้นค่านี้ก็ต่ำลง ทั้งนี้ไลโปโซมมีความชอบน้ำต่ำกว่า CMC ดังการแพร่ของไอน้ำผ่านฟิล์มที่ผสมไลโปโซมจึงต่ำกว่า



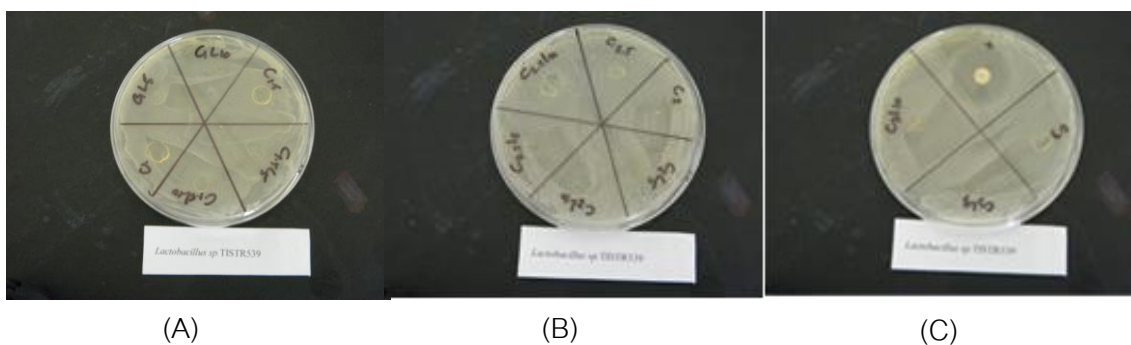
รูปที่ 4.8 แบบจำลองการเกิดโครงร่างตาข่ายของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

ตารางที่ 4.4 ความหนา ความยืดหยุ่น แรงต้านการดึงขาดและอัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม

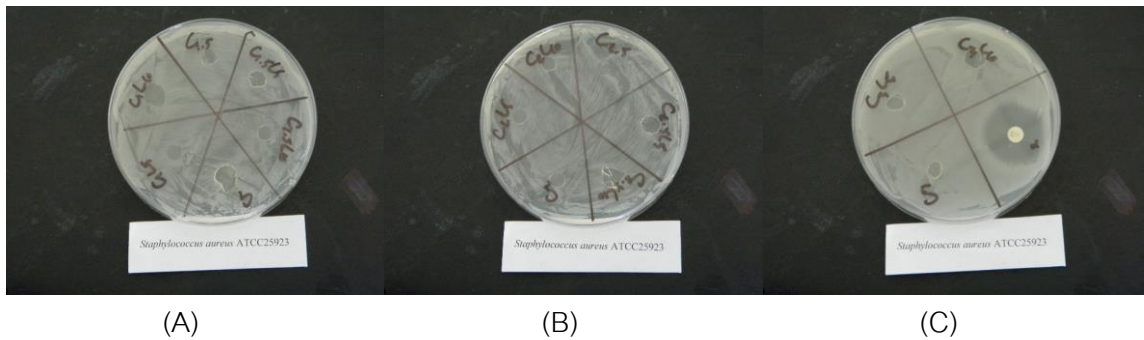
องค์ประกอบของฟิล์ม			ความหนา (mm)	ความยืดหยุ่น (ร้อยละ)	แรงต้านการดึงขาด (MPa)	อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม ($\times 10^{-6}$ g m /m ² d)
ปริมาณคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (กรัม)	น้ำกลั่น (กรัม)	ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 23 โดย น้ำหนัก (กรัม)				
ตัวอย่างควบคุม						
1.0	99.0	-	0.04 ^k ± 0.08	9.98 ^a ± 2.23	14.21 ^c ± 8.97	0.49 ^o ± 0.00
1.5	98.5	-	0.07 ^f ± 0.06	1.88 ^j ± 0.78	5.46 ⁱ ± 2.60	1.15 ^g ± 0.03
2.0	98.0	-	0.19 ^c ± 0.17	1.49 ^j ± 0.91	1.92 ⁱ ± 0.46	3.54 ^b ± 0.16
2.5	97.5	-	0.19 ^b ± 0.18	2.42 ^g ± 1.45	4.3 ^j ± 2.24	3.48 ^d ± 0.05
3.0	97.0	-	0.21 ^a ± 0.19	0.41 ^o ± 0.17	0.97 ^m ± 0.33	3.52 ^c ± 0.25
ตัวอย่างผสมไลโปโซม						
1.0	94.0	5.0	0.14 ^e ± 0.15	1.36 ^l ± 1.13	2.53 ^k ± 3.77	2.45 ^f ± 0.06
1.5	93.5	5.0	0.18 ^d ± 0.16	1.58 ^k ± 0.82	0.56 ⁿ ± 0.61	3.03 ^e ± 0.07
2.0	93.0	5.0	0.20 ^a ± 0.19	5.26 ^d ± 6.07	0.20 ^o ± 0.10	3.88 ^a ± 0.02
2.5	92.5	5.0	0.04 ^l ± 0.04	2.09 ⁱ ± 0.45	14.73 ^b ± 3.20	0.71 ⁱ ± 0.02
3.0	92.0	5.0	0.04 ^l ± 0.04	1.29 ⁿ ± 0.17	10.64 ^d ± 0.93	0.75 ^k ± 0.00
1.0	89.0	10.0	0.03 ^k ± 0.03	6.64 ^c ± 3.88	37.75 ^a ± 12.09	0.55 ^m ± 0.03
1.5	88.5	10.0	0.03 ^k ± 0.02	2.80 ^f ± 1.11	7.51 ^e ± 1.09	0.51 ⁿ ± 0.00
2.0	88.0	10.0	0.04 ^h ± 0.04	2.19 ^h ± 0.66	5.51 ^h ± 1.50	0.79 ^j ± 0.01
2.5	87.5	10.0	0.05 ^g ± 0.04	7.57 ^b ± 6.75	6.67 ^f ± 0.89	0.87 ^h ± 0.02
3.0	87.0	10.0	0.05 ^g ± 0.04	3.08 ^e ± 2.03	5.76 ^g ± 0.55	0.84 ⁱ ± 0.04

*ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน , a,b,...,f,g แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น p=0.05

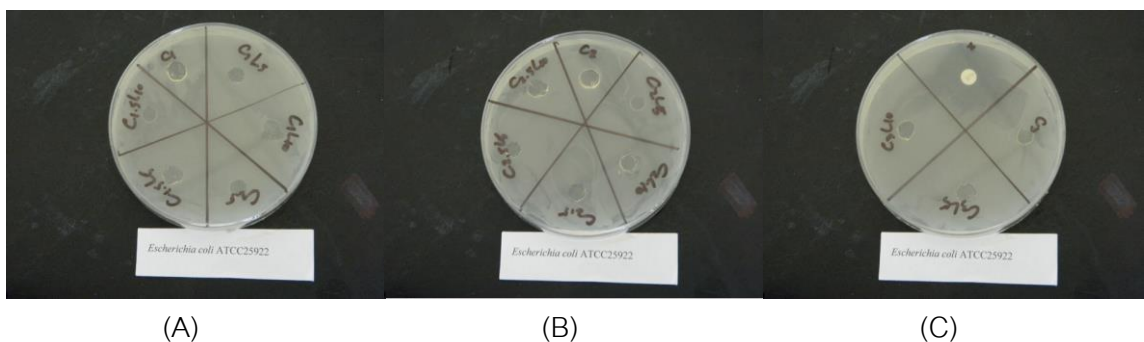
เมื่อนำฟิล์มที่ผลิตได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าฟิล์ม CMC ที่ผลิตได้เกิดการละลาย โดยไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนอาหารวุ้นในบริเวณที่สัมผัสกับฟิล์ม เช่นเดียวกับฟิล์มชุดควบคุม *Lactobacillus* sp. (รูปที่ 4.8) *Staphylococcus aureus* (รูปที่ 4.9) *Escherichia coli* (รูปที่ 4.10) และ *Pseudomonas aeruginosa* (รูปที่ 4.11) นั่นคือ ฟิล์ม CMC ที่ผสมไลโปโซมที่บรรจุน้ำมันสะระแหน่ผลิตขึ้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิด ซึ่งการสูญเสียฤทธิ์ของน้ำมันสะระแหน่อาจเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเตรียมฟิล์มทำให้ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ลดลงหรือการปลดปล่อยน้ำมันสะระแหน่ออกจากฟิล์มเกิดได้ไม่มากพอ Buranasuksombat และคณะ (2011) รายงานว่าประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้ง/ทำลายเชื้อแบคทีเรียขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่มีปริมาณมากพอเป็นสำคัญ Imran และคณะ (2012) รายงานว่าการปลดปล่อยสารที่ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปไลโปโซมอาจกักเก็บไว้ได้ไม่หมดทำให้สารออกฤทธิ์สูญหายไปหรืออนุภาคของไลโปโซมที่กักเก็บสารมีขนาดเล็กทำให้สามารถผสมได้เป็นเนื้อเดียวกันจะถูกกักเก็บไว้อย่างแน่นหนาใน matrix ของฟิล์มจึงส่งผลให้ความเข้มข้นที่ปลดปล่อยออกมามีไม่เพียงพอที่จะยับยั้ง/ทำลายแบคทีเรีย (Cheng *et al.*, 2008)



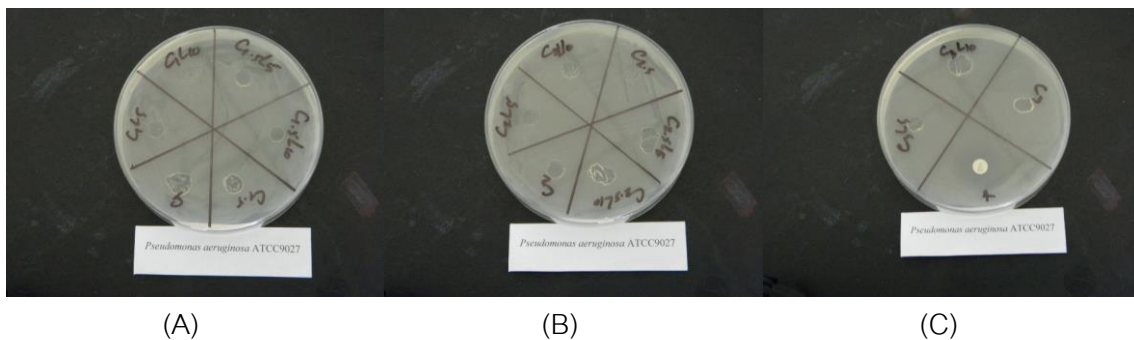
รูปที่ 4.9 ฟิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุมของเชื้อ *Lactobacillus* sp. TISTR 593 (A) ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 1 และ 1.5 โดยน้ำหนักและฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (B) ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 และร้อยละ 2.5 โดย น้ำหนัก และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (C) ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 3 และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และ ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และแผ่น disc สำเร็จรูป chloramphenicol



รูปที่ 4.10 พิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหนร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุมของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 1 และ 1.5 โดยน้ำหนักและฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (B) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 และร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (C) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 3 และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และแผ่น disc สำเร็จรูป chloramphenicol



รูปที่ 4.11 พิล์มผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหนร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุมของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 (A) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 1 และ 1.5 โดยน้ำหนักและฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (B) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 และร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (C) พิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 3 และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และแผ่น disc สำเร็จรูป chloramphenicol



รูปที่ 4.12 फिल्मผสมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหนร้อยละ 23 และฟิล์มชุดควบคุมของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (A) फिल्मคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ร้อยละ 1 และ 1.5 โดยน้ำหนักและฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (B) फिल्मคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 และร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก และฟิล์มผสมไลโปโซมร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (C) फिल्मคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 3 และฟิล์มผสมไลโปโซม ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และแผ่น disc สำเร็จรูป chloramphenicol

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันสะระแห่นในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่าน้ำมันสะระแห่นสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์คือ *Lactobacillus* sp. TISTR 593, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 แต่ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างไบโอฟิล์ม และน้ำมันสะระแห่นอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหยจึงทำให้ยากต่อการนำไปใช้ เมื่อนำมาเตรียมให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่กระจายน้ำได้โดยการกักเก็บน้ำมันสะระแห่นในตัวทำอิมัลชันพบว่าเมื่อใช้ Tween 20 เป็นตัวทำอิมัลชัน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ 2 รูปแบบ คือสารละลายไมเซลล์ที่มีลักษณะใส มีความเสถียร และมีขนาดอนุภาคน้ำมันเล็กกว่า 10 นาโนเมตร และอิมัลชันที่มีลักษณะขุ่น มีขนาดอนุภาคน้ำมันในระดับไมโครเมตรจึงมีความเสถียรต่ำกว่าไมเซลล์ เมื่อใช้เลซิตินเป็นตัวทำอิมัลชันพบว่าได้ไลโปโซมเป็นครีมขุ่นหนืด มีขนาดอนุภาคน้ำมันในระดับไมโครเมตร จากผลฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียพบว่าสารละลายไมเซลล์ที่ประกอบด้วยน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ที่มี Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก เป็นตัวทำอิมัลชันและไลโปโซมที่ประกอบด้วยน้ำมันสะระแห่นร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก ที่มีเลซิติน ร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนักเป็นตัวทำอิมัลชัน ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด จึงนำทั้ง 2 สูตรนี้มาใช้ในการเตรียมฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่แปรความเข้มข้น 5 ระดับ พบว่าฟิล์มชุดควบคุมที่ประกอบด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักให้ค่าความยืดหยุ่นและค่าต้านทานแรงดึงขาดที่ดี แต่มีอัตราการซึมผ่านไอน้ำที่สูง เมื่อเตรียมฟิล์มที่ผสมกับสารละลายไมเซลล์พบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะไม่ดีและไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิดได้ ส่วนฟิล์มที่เตรียมจากการผสมของไลโปโซมพบว่าสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเปลี่ยนไปจากชุดควบคุม พบว่าฟิล์มมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น แต่อัตราการซึมผ่านไอน้ำลดลง และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์พบว่าฟิล์มที่ผลิตได้ไม่สามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบทั้ง 4 ชนิด

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาต่อไปควรศึกษาการนำสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่ละลายน้ำมาใช้ร่วมกับน้ำมันสะระแหน่ในการเตรียมไลโปโซม ซึ่งอาจทำให้ความสามารถในการต้านการเจริญจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น และศึกษาการนำโปรตีนมาเป็นพอลิเมอร์สำหรับการขึ้นรูปฟิล์มผสมไลโปโซมของเลซิทินบรรจุน้ำมันสะระแหน่และศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มนั้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กษมา ฤดีชื่น. 2539. การขึ้นรูป และการศึกษาลักษณะทางกายภาพของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลินทรีย์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อััจฉิมา กำพรหม. 2551. การพัฒนาอิมัลชันที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษจากสารสกัดหามาก *Areca catechu* Linn. และน้ำมันหอมระเหยจากพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อรชร เกิดเมฆชู, พาสวดี ประทีปะเสน และชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล. 2551. ไลโปโซมเอนแคปซูล เลชันของสารสกัดจากสมุนไพรเพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร. วารสารรวมผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 10. 4: 326-336

ภาษาอังกฤษ

Agarkar, S.V. and Garode, A.M. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* oil. Asian Journal of Microbial, Biotechnology and Environmental Science. 4(3) : 427-428.

Al-Adham, I.S.I., Khalil, E., Al-Hmoud, N.D., Kierans, M. and Collier, P.J. 2000. Microemulsions are membrane-active, antimicrobial, self-preserving systems. Journal of Applied Microbiology. 89: 32-39.

- Appendini, P. and Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 3: 113-126.
- Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar, D. & Mumcu, E., 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Archives of Phamacal Research. 25, 860-864.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effect of esentisl oil – A review. Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475.
- Barenholz, Y. 2001. Liposome application: problems and prospects. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 6: 66-77.
- Barlow, S. and Schlatter, J. 2010. Risk assessment of carcinogens in food. Toxicology and Applied Pharmacology. 243: 180-190.
- Bifani, V. Ramirez, C., Ihl, M., Rubilar, M., Garcia, A. and Zaritzky, N. 2007. Effect of murta (*Ugni molinae* Turcz) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethyl cellulose-based edible film. LWT-Food Science and Technology. 40: 1473-1481.
- Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the propoties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 30 : 149-165.
- Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshkumar, A., Sureshkumar, P. and Saravanamurali, K. 2007. Antibacterial activity of Mentha piperita L. (peppermint) fromleaf extracts – a medicinal plant. Journal of Acta Agriculturae Slovenica. 89: 73-79.

- Buranasuksombat, U., Kwon, Y.J., Turner, M. and Bhadari, B. 2011. Influence of emulsion droplet size on antimicrobial properties. Food Science and Biotechnology. 20(3): 793-800.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. Journal of Food Microbiology. 94: 223-253.
- Caprioli, I., Sullivan, M.O. and Monahan, F.J. 2009. Use of sodium caseinate/glycerol edible films to reduce lipid oxidation in sliced turkey meat. European Food ResearchTechnology. 228: 433-440.
- Cheng, L.H., Karim, A.A. and Seow, C.C. 2008. Characterisation of composite films made of konjac glucomannan (KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid. Food Chemistry. 107 : 144-418.
- Chiaramonti, D., Bonini, M., Fratini, E., Tondi, G., Gartner, K., Bridwater, A.V., Grimm, H.P., Soldaini, I., Webster, A. and Baglioni, P. 2003. Development of emulsions from biomass pyrolysis liquid and diesel and their use in engines – Part 1 : emulsion production. Biomass and Bioenergy. 25: 85-99.
- Deans, S.G. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and constituents of *Mentha* Species. Mint. Taylor and Francis Group. 13: 497-518.
- Dickinson, E. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. Food Hydrocolloids. 23: 1473-1482.
- Eteghad, S. S., Jirzaei, H., Pour, S. F. and Kahnemui, S. 2009. Inhibitory effect of endemic *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* essential oils on *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Biological Sciences. 4: 340-344.

- Ferreira, J.P., Alves, D., Neves, O., Silva, J., Gibbs, P.A. and Teixeira, P.C. 2010. Effect of the components of two antimicrobial emulsions on food-borne pathogens. Food Control. 21: 227-230.
- Forgiarini, A., Esquena, J., González, C. and Solans, C. 2001. Formation and stability of nano-emulsions in mixed nonionic surfactant systems. Progress Colloid Polymer Science. 118: 184-189.
- Grob, K., Pfenninger, S., Pohl, W., Laso, M., Imhof, D. and Rieger, K. 2007. European legal limits of migration from food packaging materials: 1. Food should prevail over stimulants; 2. More realistic conversion from concentrations to limits per surface area. PVC cling films in contact with cheese as an example. Food Control. 18: 201-210.
- Gulrez, S.K.H., Al-Assaf, S. and Phillips, G.O. 2011. Hydrogels: Methods of preparation, characterization and applications. Process in Molecular and Environmental Bioengineering – From Analysis and Modeling to Technology Applications. 5 : 117-150.
- Guo, J.H., Skinner, G.W., Harcum, W.W. and Barnum, P.E. 1998. Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymer. Pharmaceutical Science & Technology Today. 1: 254-261
- Gupta C., Garg AP., Uniyal R.C. and Kumari A. 2008. Antimicrobial activity of some herbal oils against common food-borne pathogens. African Journal of Microbiology Research. 2: 258-261.

- Gupta, S., Moulik, S.P., Hazra, B., Ghosh, R., Sanyal, S.K., and Datta, S. 2006. New pharmaceutical microemulsion system for encapsulation and delivery of diospyrin, a plant-derived bioactive quinonoid compound. Journal of Drug delivery. 13, 193-199.
- Gupta, S. and Moulik, S.P. 2007. Biocompatible microemulsions and their prospective uses in drug delivery. Journal of Pharmaceutical Science. 97, 22-45.
- Hammer, K.A., Carson, C.F. and Riley, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology. 86: 985-990.
- Huang, X., Kakuda, Y. and Cui, W. 2001. Hydrocolloids in emulsion: particle size distribution and interfacial activity. Food Hydrocolloids. 15: 533-542.
- Imran, M., Revol-Junelles, A.M., Rene, N., Jamshidian, M., Akhtar, M.J., Arab-Tehrany, E., Jacquot, M. and Desobry, S. 2012. Microstructure and physic-chemical evaluation of nano-emulsion-based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films. Food Hydrocolloids. 29 : 107-119.
- Inouye, S., Takizawa, T. and Yamaguchi, H. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 47 :565-573.
- Jeyakumar, E., Lawrence, R. and Pal, T. 2011. Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. S253-S257.
- Lau, O. and Wong, S. 2000. Contamination in food from packaging material. Journal of Chromatography A. 822: 255-270.

- Lee, J.W., Son, S.M. and Hong, S.I. 2008. Characterization of protein-coated polypropylene film as a novel composite structure for active food packaging application. Journal of Food Engineering. 86: 484-493.
- Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C.F., Zhong, F. and Huang, Q. 2012. Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 7548-7555.
- Malheriros, P.D.S., Daroit, D.J. and Brandelli, A. 2010. Food application of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. Trends in Food Science & Technology. 21: 284-292.
- Mahalik, N.P. and Nambiar, A.N. 2010. Trends in food packaging and manufacturing systems and technology. Trends in Food Science & Technology. 21: 117-128.
- Mahboubi, M. and Haghi, G. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology. 119: 325-327.
- Mann, C.M., Cox, S.D. and Markham, J.L. 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letter in Applied Microbiology. 30: 294-297.
- Narang, A.S., Delmarre, D. and Gao, D. 2007. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. International Journal of Pharmaceutics. 345: 9-25.
- Palmer, A.S., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letter in Applied Microbiology. 26: 118-122.

- Pocas, M.D. and Hogg, T. 2007. Exposure assessment of chemicals from packaging materials in food: a review. Trends in Food Science & Technology. 18: 219-230.
- Portes, E., Gardrat, C., Castellan, A. and Coma, V. 2009. Environmentally friendly film based on chitosan and tetrahydrocurcuminoid derivatives exhibiting antibacterial and antioxidative properties. Carbohydrate Polymers. 76: 578-584.
- Pranoto, Y., Salokhe, V.M. and Rakshit, S.K. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film in corporate with garlic oil. Food Research International. 38: 267-272.
- Proestos, C., Boziars, I.S., Kapsokefalou, M. and Komaitis, M. 2008. Natural antioxidant constituents from selected aromatic plants and their antimicrobial activity against selected pathogenic microorganisms. Journal of the Faculty of Food Technology and Biotechnology. 46(2) : 151-156.
- Sabesan, M. and Caraban, A. 2008. Analysis of essential oils from thyme (*Thymus vulgaris* L) and from Peppermint (*Mentha piperita*). Chemical Bulletin of "POLITEHNICA" University of Timisoara. 53(67): 1-2.
- Sadasi, M., Leonard, C.M., Vuuren, S.F.V. and Viljoen, A.M. 2011. Peppermint (*Mentha piperita*) inhibits microbial biofilms in vitro. South African Journal of Botany. 77: 80-85.
- Sayanjali, S., Ghanbarzadeh, B. and Ghiassifar, S. 2011. Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic *Aspergillus* species in fresh pistachos. LWT- Food Science and Technology. 44 : 1133-1138.

- Schelz, Z., Molnar, J. and Hohmann, J. 2006. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia. 77: 279-285.
- Silva, M.A., Bierhalz, A.C. and Kieckbusch, T.G. 2009. Alginate and pectin composite film crosslinked with Ca²⁺ions: Effect of the plasticizer concentration. Carbohydrate Polymers. 77: 736-742.
- Silva, F.E.F., Di-Medeiros, M.C.B., Batista, K.A. and Fernandes, K.F. 2013. PVA/Polysaccharide blend film: Mechanical properties. Hindawi Publishing Corporation Journal of Meterials. 2013: 1-6.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compound in food. Food Control. 21: 1199-1218.
- Teixeira, P.C., Leite, G.M., Domingues, R.J., Silva, J., Gibbs, P.A. and Ferreira, J.P. 2007. Antimicrobial effects of a microemulsion and a nanoemulsion on enteric and other pathogens and biofilms. International Journal of Food Microbiology. 118: 15–19
- Terjung, N., Loffler, M., Hinrichs, J. and Weiss, J. 2012. Influence of droplet size on the effelcacy of oil-in-water emulsion loaded with phenilic antimicrobials. Food and Function. 3: 290-301.
- Tyagi, A.K. and Malik, A. 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. Food Control. 22: 1707-1714.

Valencia-Chamorro, S.A., Palou, L., Rio, M.A.D. and Perez-Gago, M.B. 2011.

Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 51: 872-900.

Wach, R.A., Mitomo, H., Yoshi, F. and Kume, T. 2000. Hydrogel of biodegradable cellulose derivatives. II. Effect of some factor on radiation-induced crosslinking of CMC. Journal of Applied Polymer Science. 81: 3030-3037.

Wang, T., Deng, Y., Geng, Y., Gao, Z., Zou, J. and Wang Z. 2006. Preparation of submicron unilamellar liposomes by freeze-drying double emulsion. Biochimica et Biophysica Acta. 1758: 222-231.

ภาคผนวก

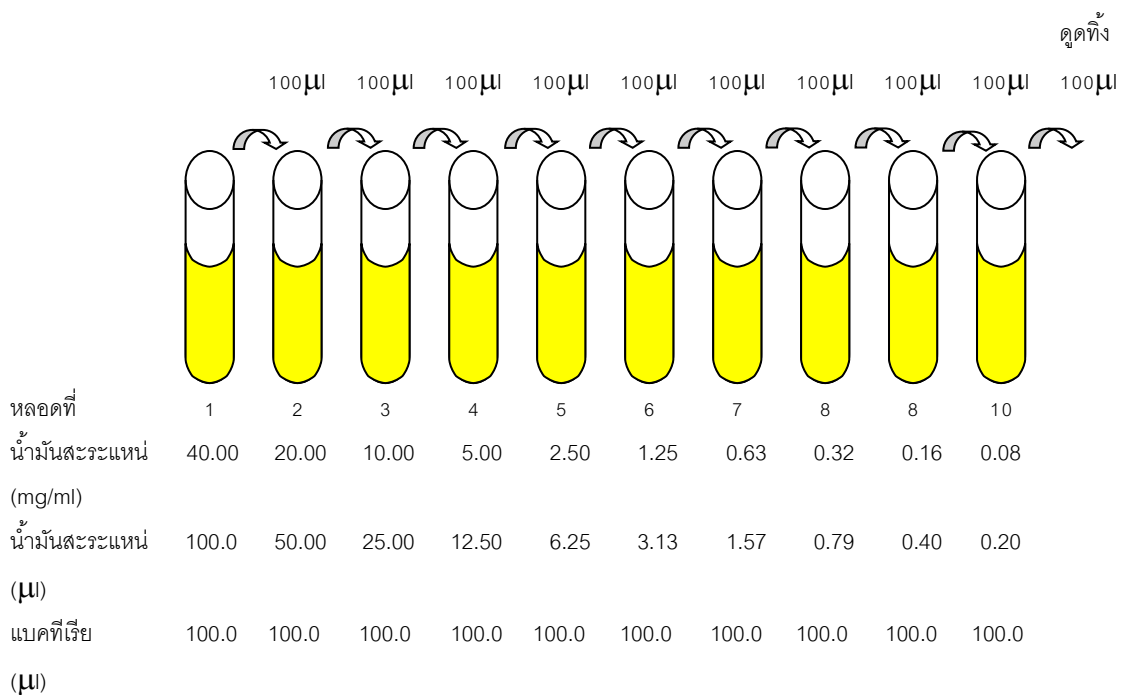
ภาคผนวก ก

การทดสอบแบบคทีเรีย

ก1 การเตรียม No. 0.5 McFarland standard

เตรียมโดยการละลาย Barium chloride เข้มข้นร้อยละ 1.0 ปริมาณ 0.05 ml ผสมกับ Sulfuric acid เข้มข้นร้อยละ 1.0 ปริมาณ 9.95 ml ใส่หลอดฝาเกลียว เก็บในที่มืด นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ได้ A_{600} ประมาณ 0.1

ก2 การเตรียมสารทดสอบ



รูปที่ ก1 ขั้นตอนการเจือจางน้ำมันสะระแหน่

ก3 การหา clear zone ด้วยเทคนิค paper disc diffusion method

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมในข้อที่ 3.2.1.1 ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง โดย MRS สำหรับเชื้อ *Lactobacillus* sp. และอาหารแข็ง MHA (Muller Hinton Agar, Himedia, India) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 แล้วนำ paper disc (Whatman No.1, เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงในสารทดสอบแล้วนำไปวางบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้ และใช้ยาปฏิชีวนะ 30 μ g Chloramphenicol แบบแผ่นสำเร็จรูปขนาด 6 มิลลิเมตร (Becton Dickinson and Company, Ireland) น้ำกลั่นปลอดเชื้อ และสารละลายของตัวทำอิมีดชัน เป็นชุดควบคุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 18 \pm 2 ชั่วโมง นำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) ของวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่น disc ด้วยเวอร์เนีย คาร์ลิปเปอร์ (Kanon, Japan) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ภาคผนวก ข

การวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพของอิมัลชันของน้ำมันสระระเหย

ข1 การวัดขนาดของอนุภาคด้วย Mastersizer (Mastersizer 2000, Malvern, UK)

ใช้น้ำกลั่นปริมาณ 400 มิลลิลิตรเป็นตัวกระจายและบันทึกค่า volume moment mean diameter) D[4,3]

ข2 การวัดขนาดอนุภาคน้ำมันสระผมด้วย Nanosizer (Nanosizer ZS S4700, Malvern, UK)

ต้องคำนวณค่า D[4,3] จากความสัมพันธ์ของ % volume และขนาด โดยใช้สมการที่ 3.1

$$D[4,3] = \frac{\sum \%V(D^4)}{\sum (\% V)} \quad [3.1]$$

เมื่อ $D[4,3]$ = volume moment mean diameter
 $\% V$ = ปริมาณ
 D = ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค

ข3 ลักษณะอนุภาคน้ำมันสระผมในผลิตภัณฑ์แบบอิมัลชันและไลโปโซมบรรจุน้ำมันสระผมด้วยกล้องจุลทรรศน์

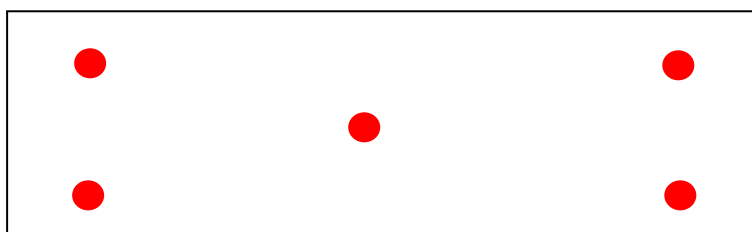
นำอิมัลชันหรือไลโปโซมบรรจุน้ำมันสระผมที่ผลิตได้จากข้อ 3.1.1 และข้อ 3.1.2 ตามลำดับนำมาหยดตัวอย่างลงบน hemocytometer (Neubaur, HBG, Germany) หยดน้ำหมึกที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายลงบนหยดตัวอย่าง สัดส่วนตัวอย่างต่อสีย้อมเท่ากับ 1 ต่อ 1 บันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (BX51, Olympus, Japan) ที่กำลังขยาย 400 เท่า กล้องจุลทรรศน์ต่อกับกล้องวงจรปิด (Panasonic, China) อุปกรณ์บันทึกภาพ (VideoMate, Taiwan) และคอมพิวเตอร์ ใช้โปรแกรม Cyber Link Power Director 7 (CyberLink, Taiwan) บันทึกภาพ

ภาคผนวก ค

วิธีทดสอบสมบัติต่างๆของฟิล์ม

ค1 การวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (film thickness)

นำแผ่นฟิล์มที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาตัดแผ่นฟิล์มคาร์บอนซีเมทิลเซลลูโลสขนาด 3x10 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น วัดความหนาด้วยเครื่องวัดความหนาแบบดิจิทัล (ID-C112, Mitutoyo, Japan) โดยวัดฟิล์มแผ่นละ 5 ตำแหน่ง ตามรายละเอียดแสดงในรูปที่ 3.1 แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย



รูปที่ 3.1 ตำแหน่งการวัดความหนาของฟิล์ม(จุดสีแดง)

ค2 การตรวจสอบค่าความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดของแผ่นฟิล์ม (Tensile strength and elongation)

นำแผ่นฟิล์มที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาตัดให้ได้ขนาด 3x10 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น วัดค่าความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดของแผ่นฟิล์มโดยเครื่อง Texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro System, UK) ซึ่งประกอบด้วยหัวทดสอบชนิด A/TG จำนวน 2 หัวหนีบ ตั้งระยะห่างกัน 5 เซนติเมตร บันทึกค่าแรงดึงขาดในหน่วย gram force (gf) และระยะทางที่ฟิล์มสามารถยืดได้ถึงจุดขาด ในหน่วยมิลลิเมตร รายงานค่าความต้านทานแรงดึงขาด และร้อยละการยืดของฟิล์ม โดยคำนวณจากสมการ 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ

$$T = F / Wx \quad [3.2]$$

เมื่อ

$T =$ ความต้านทานแรงดึงขาด (N / m^2)

$F =$ แรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่าง (gf)

$W =$ ความกว้าง (m)

$X =$ ความหนา (m)

$$E = 100 L_x / L_0 \quad [3.3]$$

เมื่อ E = ร้อยละการยืดของฟิล์ม
 L_x = ระยะการยืดของตัวอย่าง (mm)
 L_0 = ความยาวเดิมของตัวอย่าง (mm)

ค3 การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม (Water Vapor Permeability)

นำแผ่นฟิล์มที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาตัดให้ได้ขนาด 5x5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 4 ชิ้น ดัดแปลงจากวิธี ASTM E 96-95 (1999) ทดสอบโดยใช้ซิลิกาเจลที่ไล่ความชื้นออกแล้ว (น้ำหนักซิลิกาเจล ประมาณ 5 ± 1.00 กรัม) ลงในถ้วยทดสอบ ทากริสที่ขอบปากถ้วยทดสอบ ปิดปากถ้วยด้วยแผ่นฟิล์ม รััดด้วยพาราฟิน ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (BSA2245, Sartorius, Germany) วางขวดทดสอบลงใน desiccator ที่บรรจุน้ำกลั่น เก็บที่อุณหภูมิห้อง ทำการชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปของถ้วยทดสอบทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน นำค่าที่ได้มาคำนวณอัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

$$R = Wx / [A \times t \times (\Delta p)] \quad [3.4]$$

เมื่อ R = อัตราการซึมผ่านไอน้ำ ($g / m^2 \cdot day$)
 W = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (g)
 x = ความหนาของตัวอย่าง (m)
 A = พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่าง (m^2)
 t = เวลาที่แตกต่างกันของน้ำหนักขวดที่คงที่ (s)
 Δp = ความแตกต่างของความดันไอน้ำทั้งสองด้านของแผ่นฟิล์ม (Pa)

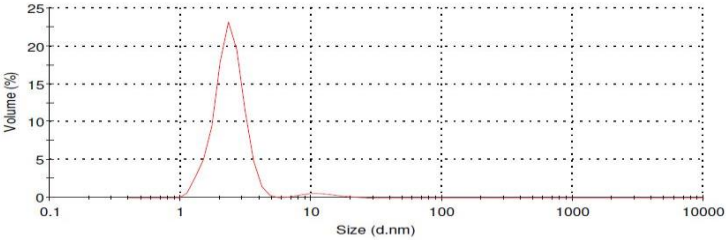
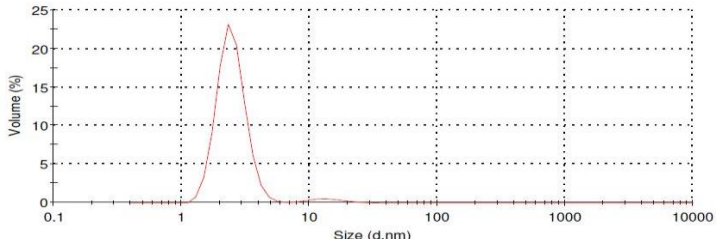
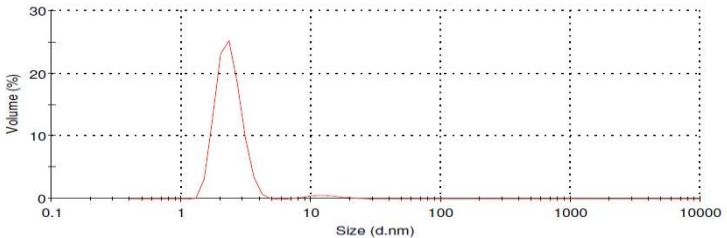
ภาคผนวก ง

ผลการทดลองเพิ่มเติม

ตาราง ง1 องค์ประกอบ และการกระจายของอิมัลชัน

องค์ประกอบของอิมัลชัน			Particle size distribution of	
อิมัลซิไฟเออร์	ร้อยละโดยน้ำหนัก	น้ำมันสาระเหน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		
Tween 20	25.0	3.0		
		5.0		

		7.0		<p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (μm)</p>	
		8.0		<p>$q(\%)$</p> <p>Diameter (μm)</p> <p>UnderSize (%)</p>	
		9.0		<p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (μm)</p>	

Tween 20	30.0	3.0		<p style="text-align: center;">Size Distribution by Volume</p> 	
		5.0		<p style="text-align: center;">Size Distribution by Volume</p> 	
		7.0		<p style="text-align: center;">Size Distribution by Volume</p> 	

		8.0		<p>Size Distribution by Volume</p> <p>This graph plots Volume (%) on the y-axis (0 to 25) against Size (d.nm) on a logarithmic x-axis (0.1 to 10000). A single sharp peak is visible at approximately 2.5 nm, reaching a volume of about 24%.</p>	
		9.0		<p>Particle Size Distribution</p> <p>This graph plots Volume (%) on the y-axis (0 to 12) against Particle Size (μm) on a logarithmic x-axis (0.01 to 3000). A single peak is visible at approximately 2.5 μm, reaching a volume of about 11%.</p>	
Soy lecithin	0.7	8.0		<p>Size Distribution by Intensity</p> <p>This graph plots Intensity (Percent) on the y-axis (0 to 25) against Size (d.nm) on a logarithmic x-axis (0.1 to 10000). A single peak is visible at approximately 1000 nm, reaching an intensity of about 22%.</p>	

		10.0			
		15.0			
		23.0			

ตาราง ง2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของขนาดวงใส่

Lactobacillus sp.

TISTR 593

ANOVA

Clear_zone

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.515	17	2.207	4738.496	.000
Within Groups	.017	36	.000		
Total	37.532	53			

Clear_zone

Duncan^a

LAB	N	Subset for alpha = .05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
P3T25	3	.00000									
P3T30	3	.00000									
P5T25	3	.00000									
P5T30	3	.00000									
P7T25	3	.00000									
P7T30	3	.00000									
P8T25	3		.80370								
Kamillisan	3		.82556								
menthol	3		.83300	.83300							
P9T30	3			.86333							
P9T25	3			.86889							
P8T30	3				.93278						
I8	3					1.02500					
I23	3						1.43200				
I10	3							1.51400			
I15	3								1.55800		
peppermint oil	3									1.77097	
chloramphenicol	3										3.30157
Sig.		1.000	.124	.061	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

S. aureus
ATCC 25923

ANOVA

CLEAR_ZONE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.016	17	1.119	1027.560	.000
Within Groups	.039	36	.001		
Total	19.056	53			

CLEAR_ZONE

Duncan^a

S_aureus	N	Subset for alpha = .05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
P3T25	3	.000000													
P3T30	3	.000000													
P5T30	3		.701667												
KAMILLOSAN	3			.780556											
P9T25	3			.823519	.823519										
MENTHOL	3				.861389	.861389									
P5T25	3					.891400									
P9T30	3						.955370								
I8	3							1.175000							
P8T25	3							1.190000							
P7T30	3							1.224889							
P7T25	3								1.351444						
PEPPERMINT OIL	3									1.480444					
I10	3										1.586000				
P8T30	3											1.697074			
I23	3												1.754000		
I15	3												1.785000		
CHLORAMPHENICOL	3														2.433222
Sig.		1.000	1.000	.120	.168	.273	1.000	.088	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.257	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

E. coli
ATCC 25922

ANOVA

CLEAR_ZONE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.653	17	.921	489.414	.000
Within Groups	.068	36	.002		
Total	15.720	53			

CLEAR_ZONE

Duncan^a

E. coli	N	Subset for alpha = .05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
P3T25	3	.000000												
P3T30	3	.000000												
P5T25	3		.758657											
P8T25	3			.842738										
P7T30	3				.940694									
P7T25	3				1.008889	1.008889								
KAMILLOSAN	3					1.043333								
MENTHOL	3					1.052778								
P5T30	3					1.061852	1.061852							
P9T30	3						1.133333	1.133333						
P8T30	3							1.164095	1.164095					
I8	3								1.214000	1.214000				
I23	3								1.214000	1.214000				
P9T25	3								1.234074	1.234074				
PEPPERMINT OIL	3								1.234952	1.234952				
I10	3									1.260000	1.260000			
I15	3										1.323667			
CHLORAMPHENICOL	3													2.666667
Sig.		1.000	1.000	1.000	.062	.181	.051	.391	.081	.256	.081			1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Ps. aeruginosa

ATCC 9027

ANOVA

CLEAR_ZONE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.388	17	.846	1891.846	.000
Within Groups	.016	36	.000		
Total	14.405	53			

CLEAR_ZONE

Duncan^a

Pseudo	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
PEPPERMINT OIL	3	.0000000						
MENTHL	3	.0000000						
P3T25	3	.0000000						
P3T30	3	.0000000						
P5T25	3	.0000000						
P5T30	3	.0000000						
I8	3	.0000000						
I10	3	.0000000						
I15	3	.0000000						
P7T25	3		.7355556					
P8T30	3			.8951852				
P8T25	3			.9292593	.9292593			
P7T30	3				.9354630	.9354630		
P9T25	3				.9377778	.9377778		
P9T30	3				.9633333	.9633333		
KAMILLOSAN	3					.9729630		
I23	3						1.2470000	
CHLORAMPHENICOL	3							1.3789562
Sig.		1.000	1.000	.056	.078	.053	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวเกวณีน รัตนจรัสกุล เกิดวันที่ 3 พฤษภาคม 2530 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2551 และเข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต หลักสูตร เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2552 ได้รับทุนวิทยบัณฑิต ปีการศึกษา 2552 และทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ปีการศึกษา 2553

นำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง Formulation of water-based antibacterial products from peppermint (*Mentha piperita*) oil and food grade emulsifiers: micellar solution, emulsion and liposome ได้รับรางวัลชนะเลิศ ประเภท poster ในงาน The 24th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology ณ Sunee Grand Hotel and Convention Center จังหวัดอุบลราชธานี ประเทศไทย ระหว่างวันที่ 29-30 พฤศจิกายน 2555