การพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อ

DEVELOPMENT OF CREAM FROM LEMON GRASS OIL AND CITRONELLA GRASS OIL FOR INFECTED WOUNDS TREATMENT

เกวลี ปทุมานนท์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

การพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อ

เกวลี ปทุมานนท์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF CREAM FROM LEMON GRASS OIL AND CITRONELLA GRASS OIL FOR INFECTED WOUNDS TREATMENT

KAEWALEE PATUMANON

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Pharmaceutical Product Development)

Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อ

ของ

เกวลี ปทุมานนท์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สริน ทัดทอง)

..... ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.นริศา คำแก่น)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทราวดี บูรณตระกูล)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อ
ผู้วิจัย	เกวลี ปทุมานนท์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สริน ทัดทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภัทราวดี บูรณตระกูล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบหลักของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม โดยการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี การกลั่นด้วยน้ำพบว่ามีปริมาณสารสกัดที่ได้คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก 0.201 และ 0.608 ตามลำดับ จากนั้นทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* และ *S. aureus* ด้วยวิธี broth microdilution พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* 0.0625, 0.0625, 0.015625, 0.03125 และ 0.015625 µg/ml ตามลำดับ และพบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* 0.0625, 0.125, 0.125, 0.125 และ 0.125 µg/ml ตามลำดับ เมื่อคำนวณค่า ΣFIC พบว่า น้ำมันผสมระหว่างตะไคร้และตะไคร้หอมทุกสัดส่วนเสริมฤทธิ์กันในการยังยั้งเชื้อ *C. albicans* (ΣFIC <1) แต่ทุกสัดส่วนต้านฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (ΣFIC >1) จากนั้นทำการเลือกน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมอัตราส่วน 1:3 นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบไมโครอิมัลชันเนื่องจากแสดงการต้านฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* น้อยที่สุด (ΣFIC = 1.25)โดยใช้ที่ความเข้มข้น 20 เท่าของ MIC จากนั้นทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ด้วยวิธี agar diffusion เกิด clear zone เฉลี่ยของตำรับครีมเตรียมใหม่เท่ากับ 1.96 ซม.และหลังศึกษาความคงสภาพเท่ากับ 1.5 ซม. โดยพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *C. albicans* ไม่แตกต่างกันในขณะก่อนและหลังศึกษาความคงสภาพ ($p = 0.078$) แต่ตำรับครีมไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ จากการศึกษาพบว่าน้ำมันสูตรผสมระหว่างตะไคร้และตะไคร้หอมในอัตราส่วน 1:3 มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการรักษาบาดแผลที่มีการติดเชื้อจุลชีพ

คำสำคัญ : น้ำมันตะไคร้, น้ำมันตะไคร้หอม, การรักษาแผลที่ติดเชื้อ

Title	DEVELOPMENT OF CREAM FROM LEMON GRASS OIL AND CITRONELLA GRASS OIL FOR INFECTED WOUNDS TREATMENT
Author	KAEWALEE PATUMANON
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Associate Professor Sarin Tadtong , Ph.D.
Co Advisor	Associate Professor Tapanee Hongratanaworakit , Ph.D.
Co Advisor	Assistant Professor Pattravadee Buranatrakul , Ph.D.

The objective of this study is to evaluate the main components of lemon grass and citronella grass oils, extracted by hydro distillation and yielded 0.201 and 0.608% w/w, tested for their MICs against *C. albicans* and *S. aureus*, using the broth microdilution method. The MICs on *C. albicans* were 0.0625, 0.0625, 0.015625, 0.03125 and 0.015625 µg/ml, respectively. The MICs on *S. aureus* were 0.0625, 0.125, 0.125, 0.125 and 0.125 µg/ml, respectively. The ΣFIC was calculated. The ΣFIC results showed all the ratios exhibited synergistic activity against *C. albicans* (ΣFIC <1), while expressing antagonistic effects against *S. aureus* (ΣFIC >1). The LG: CG ratio of 1:3 was chosen for development as antimicrobial cream as it possessed the lowest antagonistic effect and used 20 times its MIC as an active ingredient. The antimicrobial effectiveness of the cream was evaluated by the agar well diffusion method. The clear zone of the freshly prepared cream was 1.96 cm, while showing 1.5 cm of clear zone after stability testing. There was no significant change in antimicrobial activity ($p = 0.078$) after the stability was studied. However, the cream showed no antimicrobial activity against *S. aureus*. The ratio of 1:3 was a potential active component, to be developed as an antimicrobial agent for the treatment of microbial infected wounds.

Keyword : Lemon grass oil, Citronella grass oil, Infected wound treatment

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบคุณการให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำของ รองศาสตราจารย์ ดร. สริน ทัดทอง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลักปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทราวดี บูรณตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้กรุณาที่ให้คำแนะนำ ดูแลควบคุมตลอดจนการตรวจสอบแก้ไขร่างวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ผู้วิจัยขอกราบขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นริศา คำแก่น ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานและผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการร่วมในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการแก้ไขร่างปริญญานิพนธ์ ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอกราบขอบคุณคณาจารย์หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการเภสัชภัณฑ์ ทุกท่านที่ถ่ายทอดวิชาความรู้ที่เป็นประโยชน์สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการทำงานและการทำวิจัย และขอขอบคุณ คุณ นิศา อุบลทิพย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและให้การช่วยเหลือ

ท้ายนี้ความสำเร็จในการทำปริญญานิพนธ์ ฉบับนี้ได้รับการส่งเสริมและการสนับสนุน จากครอบครัว และ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ทำให้ผู้วิจัยมีโอกาสศึกษาหาความรู้ และขอระลึกถึงผู้ที่เป็นเจ้าของบทความและงานวิจัยที่นำมาใช้อ้างอิงในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

หากมีข้อผิดพลาดหรือข้อบกพร่องประการใดผู้วิจัยขอน้อมรับ เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงแก้ไข สำหรับการศึกษาในโอกาสต่อไป

เกวลี ปทุมานนท์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูปภาพ ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
ภูมิหลัง 1
ความมุ่งหมายของการวิจัย 2
ความสำคัญของการวิจัย 2
ขอบเขตการวิจัย 3
กรอบแนวคิดในการวิจัย 3
สมมุติฐานการวิจัย 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5
โรคเบาหวานและสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการเกิดแผล 5
โรคเบาหวาน 5
สาเหตุบาดแผลจากโรคเบาหวาน 6
ข้อมูลงานสมุนไพรที่เกี่ยวข้อง 10
ตะไคร้ 10
ตะไคร้หอม 13
ตำรับครีม อิมัลชัน 15

การวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี gas chromatography..... 18
บทที่ 3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 20
3.1 การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation..... 22
3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*..... 22
3.3 การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมันผสม..... 25
3.4 การเตรียมตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*..... 26
3.5 การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests)..... 28
3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-FID..... 30
3.7 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS)..... 31
บทที่ 4 ผลการดำเนินวิจัย และอภิปรายผลการทดลอง..... 32
1. การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation (hydro distillation) . 32
2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตร..... 34
3. การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมัน..... 37
4. การเตรียมตำรับครีมจากสูตรตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*..... 38
5. การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests)..... 41
6. การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas chromatography- Flame ionization detector (GC-FID)..... 43
การสร้างกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรง..... 44
การหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy)..... 46
การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (precision)..... 49
การหาความจำเพาะในการวิเคราะห์ (specificity)..... 52

การหาปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (limit of detection, LOD) และการหาปริมาณต่ำสุด 53
ที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)..... 53
7. การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) (นำส่งวิเคราะห์)..... 54
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 69
สรุปผลวิจัย..... 69
ข้อเสนอแนะ..... 70
บรรณานุกรม..... 71
ภาคผนวก..... 73
ประวัติผู้เขียน..... 87

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 สารและปริมาณสารที่ใส่ในแต่ละหลุม 24

ตาราง 2 แสดงปริมาณส่วนประกอบครีมพื้น 26

ตาราง 3 แสดงปริมาณส่วนประกอบครีมผสมน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม 26

ตาราง 4 แสดงน้ำหนักของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมสกัดด้วย วิธี water distillation .. 33

ตาราง 5 แสดงลักษณะของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม 34

ตาราง 6 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมัน 35

ตาราง 7 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของน้ำมันสูตรผสม 35

ตาราง 8 แสดงการความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันสูตรผสม 36

ตาราง 9 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* 37

ตาราง 10 แสดงค่า ΣFIC ที่คำนวณได้ต่อเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* 38

ตาราง 11 แสดงสมการเส้นตรง, ค่า R 45

ตาราง 12 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citral พีคที่ 1 46

ตาราง 13 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citral พีคที่ 2 47

ตาราง 14 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citronellal 47

ตาราง 15 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ geraniol 48

ตาราง 16 แสดงผลการวิเคราะห์ ภายในวันเดียวกัน (intraday-precision) 49

ตาราง 17 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citral 50

ตาราง 18 แสดงผลการวิเคราะห์ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citral 50

ตาราง 19 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citronellal 51

ตาราง 20 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน geraniol 51

ตาราง 21 แสดงค่า retention time, retention time เฉลี่ย และ %RSD ของสารมาตรฐาน 52

ตาราง 22 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และการหาปริมาณต่ำสุดที 53

ตาราง 23 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้ 55

ตาราง 24 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้หอม 58

ตาราง 25 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG1:CG1 60

ตาราง 26 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG3:CG1 62

ตาราง 27 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG1:CG3 66

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 แสดงแผลเบาหวานที่เกิดจากแผลกดทับจากเส้นประสาทเสื่อม 6

ภาพประกอบ 2 แสดงแผลเบาหวานที่เกิดจากการขาดเลือด (ischemic ulcer) 7

ภาพประกอบ 3 แสดงแผลเบาหวานที่มีการติดเชื้อ (infected ulcer) 7

ภาพประกอบ 4 แสดงตัวอย่างยาใช้ภายนอกเพื่อรักษาแผลติดเชื้อ 9

ภาพประกอบ 5 ตะไคร้ 10

ภาพประกอบ 6 ตะไคร้หอม 13

ภาพประกอบ 7 แสดงเครื่อง gas chromatography 18

ภาพประกอบ 8 แสดงน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม สกัดด้วย วิธี water distillation 33

ภาพประกอบ 9 แสดงทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. albicans และ S. aureus ด้วยวิธี agar disc diffusion 39

ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะครีมสูตรที่ 2 และ 3 หลังผ่านสภาวะเร่ง 40

ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะครีมเบสและสูตรที่ 4 หลังผ่านสภาวะเร่ง 41

ภาพประกอบ 12 แสดงลักษณะทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนผ่านสภาวะเร่ง 42

ภาพประกอบ 13 แสดงลักษณะทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ หลังผ่านสภาวะเร่ง 43

ภาพประกอบ 14 แสดงกราฟมาตรฐานของ citral พีคที่1 44

ภาพประกอบ 15 แสดงกราฟมาตรฐานของ citral พีคที่ 2 44

ภาพประกอบ 16 แสดงกราฟมาตรฐานของ citronellal 45

ภาพประกอบ 17 แสดงกราฟมาตรฐานของ geraniol 45

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่ไม่ติดต่อ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของสาธารณสุขจากสถานการณ์ทั่วโลกมีผู้ที่ได้รับผลกระทบจากโรคเบาหวานมากกว่า 425 ล้านคน หนึ่งในสามเป็นผู้ที่มีอายุมากกว่า 65 ปี จำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานอาจสูงถึง 629 ล้านคนในปี 2045 และคาดการณ์ว่าจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในประเทศไทย คาดการณ์ว่ามีผู้ป่วยเบาหวานไม่ต่ำกว่า 3 ล้านคน มีการเสียชีวิตด้วยโรคเบาหวาน ระหว่าง ปี 2555 - 2558 เพิ่มขึ้นจาก 12.1% เป็น 19.4 % ต่อประชากร 100,000 คน (Cho et al., 2018; สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013)

ผู้ป่วยเบาหวานหากได้รับการดูแลรักษาระดับน้ำตาลในเลือดไม่ดีอาจส่งผลให้มีความเสี่ยงสูงที่จะให้เกิดโรคแทรกซ้อน ต่าง ๆ ได้ ทั้งนี้ยังรวมไปถึงการเกิดบาดแผลที่เท้า และผลที่ตามมาคือ เกิดการติดเชื้อที่บาดแผล (infected wound) ซึ่งมีสาเหตุมาจากมีสิ่งแปลกปลอมหรือสิ่งปนเปื้อนเกิดมากในแผล หากไม่ได้รับการดูแลแผลดีเท่าที่ควร อาจส่งผลให้มีอักเสบ ปวด บวม แดง ร้อน และเกิดเป็นหนอง อาจลุกลามไปถึงการเกิดเนื้อเยื่อเน่าตาย และพบผู้ป่วยเบาหวานที่มีปัญหาภาวะแทรกซ้อนทางเท้าถึง ร้อยละ 36.8 และพบว่ามากกว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ต้องถูกตัดอวัยวะ การรักษาแผลติดเชื้ออาจรักษาด้วยการรับประทานยาร่วมกับทายาเฉพาะที่ โดยระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาอาจต้องใช้เวลายาวนานตั้งแต่ 1 สัปดาห์ ถึงปี ซึ่งส่งผลเสียต่อร่างกายจากการที่ได้รับยาปฏิชีวะนะเป็นเวลานาน (สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013) ในปัจจุบันเริ่มมีการศึกษา คิดค้นและพัฒนาตำรับยา จากสารสำคัญของสมุนไพรเพื่อต้านฤทธิ์จากเชื้อจุลชีพมากขึ้น โดยพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ที่ใช้มักเป็นพืชที่มีการให้สารออกฤทธิ์ด้วยรูปแบบน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ซึ่งมีโมเลกุลเล็ก ๆ ที่สามารถซึมผ่านผิวหนังไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย มีส่วนช่วยลดความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อ ลดการอักเสบ ฆ่าเชื้อโรค ลดอาการระคายเคืองของผิวหนัง (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2007)

ตะไคร้ นับเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้ประโยชน์แพร่หลายในประเทศไทยทั้งการนำมาประกอบอาหารและใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับยา มีการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพของตะไคร้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลชีพหากแต่ยังไม่มี

การนำผลการศึกษาที่ได้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการรักษาบาดแผลที่มีการติดเชื้อจุลชีพ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดจากตะไคร้ สองสายพันธุ์ที่มีอยู่ในประเทศไทยได้แก่ ตะไคร้ และตะไคร้หอม โดยจะศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพจากน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด เพื่อนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาและเสริมสร้างความเชื่อมั่นในการเลือกใช้สมุนไพรในปัจจุบัน อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรพื้นบ้าน หากมีการส่งเสริมการใช้สมุนไพรในการรักษาแผลกับผู้ป่วยเบื้องต้น อาจจะช่วยลดโอกาสการเกิดแผลเรื้อรังที่รุนแรงจนต้องตัดอวัยวะได้

ความมุ่งหมายของการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* และ *Staphylococcus aureus* ของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม
3. เพื่อศึกษาและพัฒนาตำรับครีมที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* จากน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมที่มีการเสริมฤทธิ์กัน
4. เพื่อวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอม และน้ำมันสูตรผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมในอัตราส่วน 1:3, 1:1, และ 3:1

ความสำคัญของการวิจัย

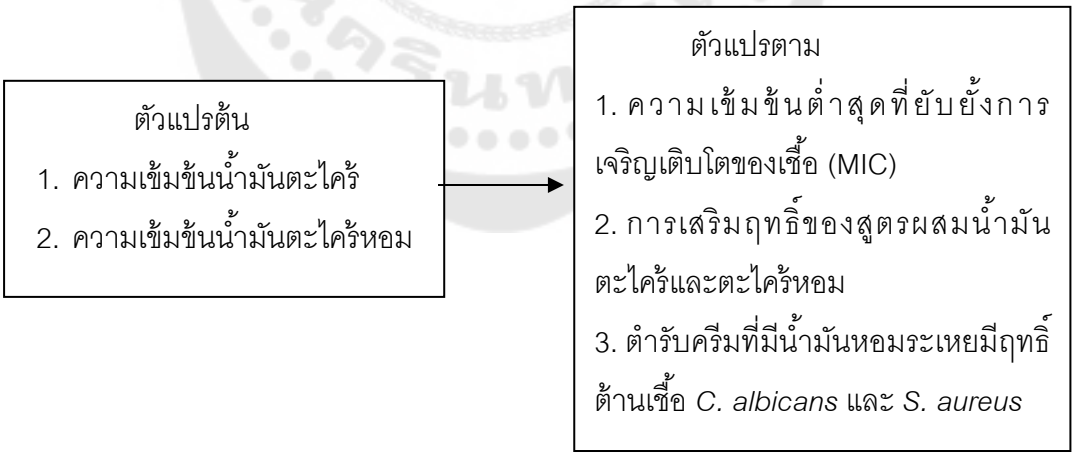
งานวิจัยนี้การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม ทั้งน้ำมันเดี่ยวและสูตรผสมของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด เพื่อหาอัตราส่วนผสมของน้ำมันทั้ง 2 ชนิดและค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของอัตราส่วนของน้ำมันที่เสริมฤทธิ์กันสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการรักษาบาดแผลที่มีการติดเชื้อจุลชีพ และนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรไทย เพื่อช่วยลดโอกาสการเกิดแผลเรื้อรังที่รุนแรง ลดการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่จำเป็น อีกทั้งยังช่วยลดอัตราการดื้อยาของเชื้อได้ด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าและส่งเสริมการใช้สมุนไพรในการรักษาผู้ป่วยเบื้องต้น เพื่อเสริมสร้างความเชื่อมั่นในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม ทั้งน้ำมันเดี่ยวและสูตรผสมของน้ำมัน อัตราส่วน 1:3, 1:1 และ 1:3 ด้วยวิธี broth microdilution เปรียบเทียบกับการเพราะเลี้ยงในอาหารปกติซึ่งใช้เป็นสารควบคุมแบบลบ (negative control) และสารมาตรฐาน ketoconazole (ยาต้านเชื้อรา) และamoxicillin (ยาต้านแบคทีเรีย) ซึ่งใช้เป็นสารควบคุมแบบบวก (positive control) ใน 96 well plate เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (MIC) จากนั้นนำค่า (MIC) ของน้ำมันผสมที่ได้มาคำนวณหาค่า ΣFIC (sum of the fractional inhibitory concentration) เพื่อนำไปหาผลการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมัน จากนั้นเลือกสัดส่วนที่ให้ผลเสริมฤทธิ์นำมาพัฒนาสูตรตำรับครีมที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันโดยเพิ่มปริมาณ เป็น 5, 10 และ 20 เท่าของ MIC จากนั้นทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ด้วยวิธี agar well diffusion เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพของสูตรตำรับและวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันเดี่ยวและน้ำมันผสมทั้ง 3 อัตราส่วนด้วยวิธี GC-FID และ GC-MS

กรอบแนวคิดในการวิจัย

งานวิจัยการพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อมีการแบ่งกรอบแนวคิดได้ดังนี้



สมมุติฐานการวิจัย

1. น้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* แตกต่างกัน

2. น้ำมันสูตรผสมระหว่าง น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* แตกต่างกัน

3. น้ำมันสูตรผสมระหว่าง น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ดีกว่าน้ำมันเดี่ยว

4. ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการพัฒนาสูตรผสมระหว่าง น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม มีประสิทธิภาพ ในการต้านจุลชีพ *C. albicans* และ *S. aureus*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลการวิจัยครั้งนี้ สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานยืนยัน การศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม

2. ผลการวิจัยครั้งนี้ สามารถเพิ่มช่องทางในเลือกการดูแลและรักษา แผลเบาหวานด้วยผลิตภัณฑ์จากน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม

3. ด้านการวิจัย นักวิจัยสามารถนำข้อมูลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม ในการวิจัยครั้งนี้ ไปประยุกต์ในการทำวิจัยกับกลุ่มเป้าหมายอื่น ๆ ต่อไป

บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอเป็นหัวข้อดังต่อนี้

1. โรคเบาหวานและสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการเกิดแผล
2. ข้อมูลงานสมุนไพรที่เกี่ยวข้อง
3. ตำรับครีม อิมัลชัน (emulsion)
4. การวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี gas chromatography

โรคเบาหวานและสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการเกิดแผล

โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (Kitabchi, Umpierrez, Miles, & Fisher, 2009)

1. เบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1-Insulin Dependent Diabetes Mellitus) เกิดจากการขาด เบต้าเซลล์ ทำให้ไม่มีอินซูลินในกระแสโลหิต ส่วนใหญ่เป็นโดยกำเนิด
2. เบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2-Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus) เกิดจากการหลั่งของอินซูลินที่มีการลดลงหรือมีการต้านการทำงานของอินซูลินในระดับเซลล์ เป็นชนิดที่พบมากที่สุดของผู้ป่วยเบาหวาน

หากผู้ป่วยมีการดูแลรักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้ไม่ดี มีความเสี่ยงสูงที่จะส่งผลให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ได้ รวมถึงการเกิดบาดแผลที่เท้าและผลที่ตามมาด้วยคือ เกิดการติดเชื้อที่บาดแผล (infected wound) ซึ่งมีสาเหตุมาจากมีสิ่งแปลกปลอมหรือสิ่งปนเปื้อนมากในแผล หากไม่ได้รับการดูแลดีเท่าที่ควรจะส่งผลให้มีอาการปวด บวม แดง ร้อน และเป็นหนอง ซึ่งแผลบริเวณนั้นอาจมีเนื้อเยื่อเน่าตาย (gangrene) ซึ่งสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อของระบบผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน เนื่องมาจากการสูญเสียกลไกการป้องกันโรคที่เกิดแผล โดยความรุนแรงขึ้นกับชนิดและตำแหน่งที่อาจพบเชื้อชนิดนั้น ๆ เชื้อที่เป็นสาเหตุส่วนใหญ่อาจเกิดจากเชื้อที่พบอยู่แล้วโดยทั่วไปตามผิวหนัง โดยเชื้อจุลชีพที่พบบ่อยในแผลเบาหวานแบ่งออกเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อรา

สาเหตุบาดแผลจากโรคเบาหวาน

สาเหตุบาดแผลที่เกิดจากโรคเบาหวานสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

1. แผลกดทับจากเส้นประสาทเสื่อม (neuropathic ulcer)

แผลกดทับจากเส้นประสาทเสื่อมเป็นลักษณะของแผลที่พบได้บ่อย สาเหตุเกิดจากการเสื่อมของเส้นประสาท ลักษณะของเท้าที่มีการผิดรูป และการเกิดการบาดเจ็บในที่ซ้ำ ๆ การเปลี่ยนแปลงรูปทรงของเท้า ทำให้การลงน้ำหนักที่เท้าผิดปกติ แผลรูปแบบนี้จึงมักเกิดขึ้นในบริเวณส่วนปลายของเท้าโดยเฉพาะตำแหน่งของโคนนิ้ว จะพบมากที่สุดที่บริเวณนิ้วหัวแม่เท้าและบริเวณนิ้วก้อย รองลงมาคือบริเวณปลายนิ้วเท้า และส้นเท้า ซึ่งลักษณะส่วนใหญ่ของแผลกดทับจะมีรูปทรงกลม บริเวณกลางแผลจะเป็นหลุมและลึก ขอบแผลมีผิวหนังหนาตัว มักไม่ค่อยมีอาการเจ็บปวด เว้นแต่เกิดการติดเชื้อร่วมด้วย

ภาพประกอบ 1 แสดงแผลเบาหวานที่เกิดจากแผลกดทับจากเส้นประสาทเสื่อม

ที่มา: (สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013)

2. แผลจากการขาดเลือด (ischemic ulcer)

แผลจากการขาดเลือด มักเกิดบริเวณส่วนปลายของนิ้วเท้าทั้งห้า อาจตรวจพบก้นแผลซีด มีโอกาสติดเชื้อได้ แผลชนิดนี้มักพบในผู้ป่วยสูงอายุ อาจคลำพบชีพจรที่เท้าได้หรือไม่ก็ได้ หากคลำไม่ได้ต้องปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ การหายของแผลขึ้นกับปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงแผล ไม่ควรทำตัดเนื้อเยื่อที่ตายออกโดยการใช้มีด หรือกรรไกร surgical debridement เพราะทำให้แผลขยายวงกว้างมากขึ้นเรื่อย ๆ

ภาพประกอบ 2 แสดงแผลเบาหวานที่เกิดจากการขาดเลือด (ischemic ulcer)

ที่มา: (สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013)

3. แผลเบาหวานที่มีการติดเชื้อ (infected ulcer)

แผลติดเชื้อจะมีหนองไหลออกจากปากแผล หรือจากการกดบริเวณที่บวมแดงรอบแผล ขอบเขตของแผลที่บวม จะเป็นลักษณะสำคัญที่ทำให้ทราบว่าแผลติดเชื้อนั้นลุกลามไปมากน้อยเพียงใด แผลติดเชื้ออาจลึกลงไปในชั้นกล้ามเนื้อหรือกระดูกได้ แผลติดเชื้อที่รุนแรงจะทำให้เกิดลักษณะแผลเน่าเหม็น และผิวหนังเป็นสีดำชัดเจน (wet gangrene) รอยบวมอาจเป็นบริเวณกว้างลามไปยังข้อเท้าหรือขาได้ ผู้ป่วยที่มีแผลติดเชื้อรุนแรง อาจมีอาการไข้อ่อนเพลีย และหากรุนแรงมากถึงขั้นโลหิตเป็นพิษ จะทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้

ภาพประกอบ 3 แสดงแผลเบาหวานที่มีการติดเชื้อ (infected ulcer)

ที่มา: (สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013)

สามารถแบ่งระดับความรุนแรงของแผลติดเชื้อ ได้เป็น 3 ระดับ (สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, 2013) ดังนี้

1. ระดับน้อย (mild) แผลมีขอบเขตน้อยกว่า 2 ซม. และมีการติดเชื้อเฉพาะบริเวณผิวหนังและ subcutaneous tissue มักเกิดการติดเชื้อได้จาก gram positive aerobic cocci ที่พบได้บ่อยได้แก่ *S. aureus*

2. ระดับปานกลาง (moderate) แผลมีขอบเขตการติดเชื้อตั้งแต่ 2 ซม. ขึ้นไป หรือมีแนวของน้ำเหลืองอักเสบ (lymphangitis) หรือมีการติดเชื้อที่ชั้นลึกกว่าผิวหนังอย่างใดอย่างหนึ่ง ได้แก่ fasciitis, deep tissue abscess, myositis, arthritis, osteomyelitis

3. ระดับรุนแรง (severe) แผลมีการอักเสบกว้างมาก มีภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิต (sepsis) อาทิ ไข้ความดันโลหิตต่ำ เม็ดเลือดขาวในเลือดสูง พบ acidosis หรือ azotemia (มีของเสียในเลือดสูง) - ผิวหนังมีเนื้อตาย (necrosis) หรือ ถุงน้ำ (bleb) มีการติดเชื้อในเท้าที่มีลักษณะขาดเลือด มักเกิดการติดเชื้อได้จาก gram negative rods, anaerobes และ gram positive cocci

แนวทางการรักษาแผลที่เกิดจากเบาหวาน

1. ควรทำความสะอาดแผลด้วยน้ำสะอาดหรือน้ำเกลือ ตัดแต่งหากแผลมีเนื้อตาย (debridement) ปิดแผลด้วยผ้าสะอาดหรืออุปกรณ์ที่สามารถดูดซับสารคัดหลั่ง (exudate)

2. การให้ยาปฏิชีวนะ

2.1 หากแผลไม่ติดเชื้อไม่ต้องให้ยา

2.2 แผลที่ตื้น ติดเชื้อไม่รุนแรง ให้ยาปฏิชีวนะครอบคลุมเชื้อกลุ่ม *S. aureus*

2.3 การติดเชื้อในส่วนที่ลึกและรุนแรง ให้เพาะเชื้อจากเนื้อเยื่อก่อนให้ยาปฏิชีวนะ ตัดแต่งหากแผลมีเนื้อตายและเอาหนองออก ให้ยาปฏิชีวนะครอบคลุมเชื้อ gram positive, gram negative, anaerobes หลังจากนั้นปรับเปลี่ยนยาตามการตอบสนอง

ตัวอย่างการรักษาด้วยยาทาเฉพาะที่

การรักษาด้วยยาทาเฉพาะที่ อาจไม่เพียงพอต่อการรักษาหากมีการติดเชื้อราอาจจะต้องได้รับการรักษาด้วยยารับประทานร่วมด้วยจึงจะส่งผลให้ดียิ่งขึ้น ตัวอย่างยาในรูปแบบครีม ได้แก่ polyenes (nystatin), imidazole (clotrimazole) และallylamines-benzylamines (terbinafine) โดยยาทั้งสามชนิดข้างต้นสามารถรักษาเชื้อ *Candida* ได้ แต่ imidazoles และ allylamines-benzylamines เท่านั้น ที่สามารถรักษาเชื้อราชนิด dermatophytes นอกจากนี้ยังมี

การใช้ยาทาเคลือบเล็บที่ประกอบด้วย ciclopiroxolamine 8%, amorolfine 5%, หรือยาที่มีส่วนประกอบเหล่านี้ในการรักษา

ตัวอย่างการรักษาด้วยยารับประทาน

1. Terbinafine ใช้รักษา dermatophytes, nondermatophyte ขนาด 250 มก. ต่อวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

2. Itraconazole ใช้รักษา dermatophytes, nondermatophyte, *Candida* spp. 200 มก. 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ทุกเดือน จนครบ 3-4 เดือน (pulse therapy)

3. Fluconazole ใช้รักษา dermatophytes, nondermatophyte, *Candida* spp. ขนาด 150 –300 มก. ต่อสัปดาห์ระยะเวลา 12-18 เดือน

ภาพประกอบ 4 แสดงตัวอย่างยาใช้ภายนอกเพื่อรักษาแผลติดเชื้อ

(ก) Tolnaftate ที่มา: http://rparun.blogspot.com/2012/06/

(ข) Gentamicin ที่มา: https://www.tmanpharma.co.th/product/291

(ค) Silver sulfadiazine ที่มา: ห้องยาผู้ป่วยนอก รพ.นครนายก

(ง) Epidermal Growth Factor ที่มา: ห้องยาผู้ป่วยนอก รพ.นครนายก

ข้อมูลงานสมุนไพรที่เกี่ยวข้อง

ตะไคร้

ภาพประกอบ 5 ตะไคร้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf
ชื่อวงศ์ Gramineae (Poaceae)
ชื่อพ้อง *Andropogon citratus* (DC.)
ชื่ออังกฤษ Lemon grass
ชื่ออื่น จักไคร้ เยี่ยงเฮื้อ สิงไค คาหอม ไคร จะไคร หัวสิงไค เชิดเกย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Khonsung, 2012)

ตะไคร้เป็นพืชล้มลุก ขึ้นรวมกันเป็นกอหนาแน่น มีความสูงถึง 3 ม. มีเหง้าใต้ดินสั้นมีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะตัว ลำต้นรูปทรงกระบอก เกลี้ยง แข็ง ใบเกลี้ยง ตั้งตรง ยาวประมาณ 1 ม. กว้าง 5-15 มม. รูปขอบขนานแคบ คมและสาก สีของใบด้านบนขาวกว่าด้านล่าง โคนใบสอบเรียว ขอบใบมีความหยาบและบางคล้ายเยื่อ ยาว 4-5 มม. ใบสีขาวนวลหรือขาวปนม่วง มีเกล็ดบาง ๆ ยาว 2 มม. มีรอยต่อระหว่างกาบใบและตัวใบ ดอกออกยาก ดอกออกเป็นช่อยาวมีดอกเล็กฝอยเป็นจำนวนมาก ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ ๆ ดอกหนึ่งมี ก้าน อีกดอกไม่มีก้าน ดอกย่อยประกอบด้วย ดอกเล็ก ๆ 2 ดอก ดอกล่างลดรูปเป็นกลีบเดียวโปร่งแสง ดอกบนเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีใบประดับ 2 ใบ ใบของตะไคร้อุดมไปด้วยน้ำมันหอมระเหยมีสรรพคุณมากมาย จึงทำให้เป็นพันธุ์ที่นิยมนำมาปลูกกันโดยทั่วไป

สรรพคุณ

ตำรายาไทย : ต้นตะไคร้ มีรสหอมปร่า ขับลม ลดอาการท้องอืดจุกเสียด ขับเหงื่อ แก้โรคทางเดินปัสสาวะ แก้อาการขัดเบา ทำให้เจริญอาหาร ลดความดันโลหิต เหง้า: แก้เบื่ออาหาร บำรุงไฟธาตุ แก้กระษัย ขับลมในลำไส้ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ปัสสาวะขัด เป็นยารักษาเกลื้อน แก้ไข้หวัด ขับประจำเดือน ขับระดูขาว ใช้ทาภายนอกแก้อาการปวดบวมตามข้อ

ตำรับยาสมุนไพรล้านนา: ใช้รักษาอาการบวมในเด็ก วัยกลางคน และคนชรา โดยในตำรับประกอบด้วยตะไคร้ และสมุนไพรอื่นอีก 13 ชนิด นำไปต้มอาบ

ทางสุคนธบำบัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน ช่วยกระตุ้นให้ตื่นตัว มีชีวิตชีวา ทำให้กระปรี้กระเปร่า คลายเครียด แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ช่วยย่อยอาหาร ช่วยเจริญอาหาร บรรเทาอาการปวดโรคข้ออักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ

รูปแบบและขนาดวิธีใช้ยา:

รักษาอาการขัดเบา

เหง้าและลำต้นสดหรือแห้ง 1 กำมือ น้ำหนักสดประมาณ 40 - 60 กรัม น้ำหนักแห้งประมาณ 20 - 30 กรัม ทุบต้มกับน้ำพอควร แบ่งดื่ม 3 ครั้ง ๆ ละ 1 ถ้วยชา (75 มิลลิลิตร) ก่อนอาหาร

รักษาท้องอืดท้องเฟ้อแน่นจุกเสียด

ใช้เหง้าและลำต้นสด 1 กำมือ น้ำหนัก 40-60 กรัม ทุบพอแตก ต้มน้ำ 2 ถ้วยแก้ว 5-10 นาที ดื่มแต่น้ำครั้งละครึ่งแก้ว วันละ 3 ครั้ง หลังอาหาร

องค์ประกอบทางเคมี: (Khonsung, 2012)

พบสาร citral 80% นอกจากนี้ยังพบ geranial, nerol, geraniol, myrcene, limonene, eugenol, linalool, menthol, nerolidol, camphor, farnesol, citronellol, citronellal, farnesol

การศึกษาทางเภสัชวิทยา (Khonsung, 2012)

ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ลดความดันโลหิต ขับพยาธิไส้เดือน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ขับลม บรรเทาอาการปวดอักเสบกล้ามเนื้อ เป็นสารไล่แมลง

การศึกษาทางพิษวิทยา:

การทดสอบในสัตว์ทดลอง เมื่อใช้ในขนาด 20 เท่าของขนาดที่ใช้เป็นอาหารในคน ไม่พบอาการเป็นพิษ

ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Khonsung, 2012)

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ (ความเข้มข้นร้อยละ 0.3) มาทดสอบ พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ จึงมีการพัฒนาสูตรตำรับเจล ล้างมือจากน้ำมันตะไคร้สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย และพบว่าตำรับที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือ ตำรับเจลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ 5 % W/V โดยมีการจดสิทธิบัตรสำหรับสารสกัดตะไคร้ที่เป็นส่วนผสมในยา อาหาร หรือเครื่องสำอางที่ระบุว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้

น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ โดยยับยั้งการเจริญของเชื้อ S. *aureus*, S. *agalactiae*, S. *pneumoniae*, S. *pyogenes*, S. *paratyphi* A, S. *typhi* H 901, S. *typhi* S 32, *Bacillus subtilis* var. *niger*, E.*coli*, *Klebsiell pneumoniae*, *Pseudomonas fluorescens* ได้เมื่อทดสอบด้วยวิธี macro broth dilution มีค่า MIC 250 - 500 ppm แต่ไม่ได้ส่งผลต่อ P. *aeruginosa* เมื่อนำน้ำมันหอมระเหย 15 มคล/disc มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อด้วยวิธี disc-diffusion และสามารถยับยั้งการเจริญของ Salmonella spp. (S. *typhimurium*, S. *enteritidis*), E. *coli* O157, *Campylobacter jejuni* และ Clostridium perferingens ได้

ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และยีสต์ (Khonsung, 2012)

สารสกัดจากเอทานอล และน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากตะไคร้ สามารถต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกลื้อน ได้ โดยน้ำมันตะไคร้ที่มีสาร citral และ myrcene เป็นองค์ประกอบหลักจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้ และเมื่อนำน้ำมันตะไคร้ไปพัฒนาเป็นครีมต้านเชื้อราพบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 จะให้ผลต้านเชื้อราได้ดีที่สุดและเหมาะที่จะพัฒนาเป็นตำรับยาต่อไป

มีการศึกษาโดยนำสารสกัดจากตะไคร้ ด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทานอล และน้ำ และ น้ำมันหอมระเหย มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดตะไคร้ด้วยเฮกเซนสามารถต้านเชื้อราได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้น้อย สารสกัดด้วยเอทานอลและน้ำไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรามีการจดสิทธิบัตรผลิตภัณฑ์ตะไคร้ในรูปของ emulsion และ nanocapsule ที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ใช้สำหรับรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* และ*Trichopphyton rubrum* โดยไปยับยั้งการเจริญเติบโตหรือฆ่าเซลล์ของเชื้อราดังกล่าว

ฤทธิ์แก้ปวด (Khonsung, 2012)

มีการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถบรรเทาอาการปวดได้เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูเม้าส์ ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดด้วยความร้อน หรือหากป้อนน้ำมันหอมระเหยในขนาดเท่าเดิมทางปากสามารถบรรเทาอาการปวดได้เมื่อเทียบกับยา meperidine

เมื่อป้อนชาชงตะไคร้ให้หนูเม้าส์กินเป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะเหนี่ยวนำหนูให้ปวดอุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน 100 ไมโครกรัม/อุ้งเท้า หรือด้วยสาร prostaglandin E2 และ dibutyryl cyclic AMP พบว่าสามารถยับยั้งอาการปวดจากการที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารคาราจีแนน และ prostaglandin E2 ได้ แต่ไม่ได้ผลหากเหนี่ยวนำให้ปวดด้วย dibutyryl cyclic AMP นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และสาร myrcene เมื่อป้อนให้หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดอาการปวดด้วย prostaglandin E2 พบว่าสามารถยับยั้งอาการปวดได้

ตะไคร้หอม

ภาพประกอบ 6 ตะไคร้หอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle,
ชื่อวงศ์ Gramineae (Poaceae)
ชื่อพ้อง *Cymbopogon winterianus* Jowitt.
ชื่ออังกฤษ Citronella grass
ชื่อท้องถิ่น จะไคมะขูด, ตะไครมะขูด, ตะไคร้แดง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (สุดเหมือนฝัน ธนธัญญา, 2005)

พืชล้มลุก มีอายุหลายปี มีเหง้าใต้ดิน ลำต้นตั้งตรง ออกเป็นกอ มีกลิ่นหอม ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปยาวแคบ โคนใบแผ่ออกเป็นกาบ มีลิ้นใบรูปไข่ มีขน อยู่ตรงรอยต่อระหว่างใบกับกาบ มีแผ่น ดอกช่อขนาดใหญ่ สีน้ำตาลแดง แทงออกจากกลางต้น ใบประดับลักษณะคล้ายกาบ

ดอกช่อเชิงลด แยกเป็นหลายแขนง ออกเป็นคู่ ช่อย่อยมีใบประดับที่โคน 2 ใบ ใบนอกมีหยักด้านนอกแบน ขอบแผ่ออกเป็นปีกแคบ ๆ และขอบด้านบนสาก ใบในรูปเรือ ปลายแหลมมีเส้นตามยาว 1-3 เส้น ขอบมีขน แต่ละดอกย่อยมีใบประดับ 2 แผ่น เรียกกาบบนและกาบล่าง กาบบนรูปขอบขนาน เนื้อบาง ขอบมีขน กาบล่างรูปยาว แคบ มีขนแข็งและปลายแหลม ผลเป็นผลแห้งเมล็ดเดียว ไม่แตก

ส่วนที่ใช้เป็นยาและสรรพคุณ

ทั้งต้น ไล่ยุงและแมลง

สารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์

น้ำมันตะไคร้หอมมีส่วนประกอบที่สำคัญในการออกฤทธิ์ คือ camphor, cineol, eugenol, citral, linalool, citronellal และ geraniol

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่การศึกษา

ฤทธิ์ไล่ยุงและแมลง (Phasomkusolsil & Soonwera, 2010)

น้ำมันตะไคร้หอมเป็นน้ำมันหอมระเหยจากต้นตะไคร้หอมสามารถใช้ไล่แมลงได้ สามารถป้องกันยุงกัดได้นานประมาณ 2 ชั่วโมง ครีมที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมร้อยละ 14 สามารถทาป้องกันยุงรำคาญได้ในอาสาสมัคร 13 คน จากทั้งหมด 20 คน และมีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงกัดได้นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับครีมจากสารสังเคราะห์ (dimethyl phthalate ร้อยละ 20 และ diethyl toluamide ร้อยละ 5 ครีมที่มีน้ำมันจากใบตะไคร้หอม ความเข้มข้นร้อยละ 1.25, 2.5 และ 5 มีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงก้นปล่องได้นาน 2 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 จะป้องกันได้มากกว่า 4 ชั่วโมง ตำรับครีมที่มีส่วนผสมของน้ำมันข่าร้อยละ 5 น้ำมันตะไคร้หอมร้อยละ 2.5 และวานิลลินร้อยละ 0.5 มีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงกัดได้นานกว่า 6 ชั่วโมง

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม สามารถป้องกันยุงที่เป็นพาหะของโรคมาลาเรีย ไข้เลือดออก และเท้าช้างได้นาน 8-10 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่ให้ผลป้องกันยุงลายได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) และร้อยละ 95 (EC_{95}) เท่ากับร้อยละ 0.031 และ 5.259 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถป้องกันยุงกัดได้ร้อยละ 75.19 สารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 90 จากตะไคร้หอม และสารสกัดตะไคร้หอมที่ผสมกับน้ำมันมะกอกและชะมดเช็ด เมื่อนำมาทดสอบกับยุงลายและยุงรำคาญตัวเมีย จะมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงได้นานประมาณ 2 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีผลในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำยุงได้ด้วย

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมความเข้มข้นร้อยละ 10 มีฤทธิ์ไล่ตัวอ่อนของเห็บได้นานถึง 8 ชั่วโมง และสามารถไล่ตัวอ่อนของเห็บพันธุ์ *Amblyomma cajennense* ได้ด้วยค่า EC_{50} และ EC_{90} เท่ากับ 0.089 และ 0.343 mg/cm^2 และที่ความเข้มข้น 1.1 mg/cm^3 ไล่ตัวอ่อนของเห็บได้ร้อยละ 90 นาน 35 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ไล่แมลงที่ทำลายเมล็ดข้าวที่เก็บไว้โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของข้าว นอกจากนี้ตะไคร้หอมยังมีฤทธิ์ไล่แมลงวัน ผีเสื้อกลางคืน และพวกแมลงบินต่าง ๆ ได้ด้วย

ฤทธิ์ฆ่าแมลง (Samarasekera, Kalhari, & Weerasinghe, 2006)

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมมีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนของยุงก้นปล่องและยุงรำคาญได้ โดยระยะเวลาที่ตัวอ่อนตายครึ่งหนึ่งเท่ากับ 1.2 และ <0.2 นาที ตามลำดับ และมีฤทธิ์ป้องกันการวางไข่ด้วงถั่ว (*Callosobruchus* spp.) สามารถฆ่าด้วงถั่ว และแมลงวันได้

สารสกัดตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน จะมีผลทำให้ไรแดงกุหลาบตายร้อยละ 95 ภายใน 20.70 ชั่วโมง นอกจากนี้สารสกัดจากเอทานอลร้อยละ 10 จากตะไคร้หอมแห้ง 50 กรัม/ลิตร ให้ผลดีในการลดปริมาณของหมัดกระโดดที่เป็นแมลงศัตรูคะน้า แชมพูที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากตะไคร้หอม สามารถฆ่าเห็บ หมัดในสัตว์เลี้ยงได้

ความเป็นพิษทั่วไปและต่อระบบสืบพันธุ์

การทดสอบความเป็นพิษ

เมื่อฉีดสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์และน้ำในอัตราส่วน 1:1 จากส่วนของต้นขนาด 1 g/kg เข้าทางช่องท้องหนูเม้าส์ ไม่พบความเป็นพิษ

ยาสำเร็จรูป

สเปรย์น้ำมันตะไคร้หอมเตรียมในรูปแบบนาโนอิมัลชัน เพื่อให้มีการปลดปล่อยอย่างช้า ๆ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงกัดนานขึ้น

ตำรับครีม อิมัลชัน

อิมัลชัน (emulsion) (Lawrence & Rees, 2000; Tianchaigerdsilp T & Thaniyavarn J, 2016) หมายถึง รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย ของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากัน อาทิเช่น น้ำกับน้ำมัน, น้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งเมื่อนำของเหลว 2 ชนิด มาผสมรวมกันจะทำให้เกิดลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน โดยอาศัยตัวผสานของเหลวทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันคือ สารก่ออิมัลชัน (Emulsifier or Emulsifying agent) อิมัลชันที่เกิดขึ้น หากมองด้วยตาเปล่า จะลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน หากมองจากการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นว่ามีวัฏภาค 2

ชนิด เป็นหยดของของเหลวขนาดเล็ก ๆ เรียกว่า วัฏภาคภายใน (internal หรือ dispersed phase) กระจายตัวและแทรกอยู่ภายในของของเหลวอีกชั้นซึ่งเป็นตัวกลางของการะจายเรียกว่า วัฏภาคภายนอก (external หรือ continuous phase) วัฏภาคภายในจะมีขนาดแตกต่างกันอาจเริ่มตั้งแต่ขนาดที่เล็กกว่า 0.05 ไมครอน จนถึง 25 ไมครอน ซึ่งขนาดอนุภาคมีผลต่อการกระจายแสง ทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นต่างกัน ขนาดหยดอนุภาควัฏภาคภายใน และลักษณะอิมัลชัน ที่มองเห็นแบ่งได้ดังนี้

- ขนาดอนุภาคเล็กกว่า 0.05 ไมครอน ลักษณะ โปร่งใส (Transparent)
- ขนาดอนุภาค 0.05 - 0.10 ไมครอน ลักษณะขุ่นหรือโปร่งแสง (Translucent)
- ขนาดอนุภาคประมาณ 0.10 - 1.00 ไมครอน ลักษณะเป็นสีขาวอมฟ้า
- ขนาดอนุภาค ใหญ่กว่า 1.00 ไมครอน ลักษณะเป็นสีขุ่นขาวทึบ

สามารถจัดแบ่งตามลักษณะได้ดังนี้

1. ลักษณะภายนอกที่มองเห็น สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1.1 แมคโครอิมัลชัน (macro emulsion) มีลักษณะเป็นสีขาวขุ่นอนุภาคของวัฏภาคภายใน มีขนาดตั้งแต่ 0.25 จนถึง 10 ไมครอน หรือมีขนาดใหญ่มากกว่า 1 ไมครอน ขนาดอนุภาคของวัฏภาคทั้งสองมีผลต่อการเกิดการหักเหและกระจายตัวของแสง ทำให้สามารถมองเห็นเนื้ออิมัลชันมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น สามารถแบ่งลักษณะของอิมัลชันได้เป็น 2 ลักษณะคือ อิมัลชันเนื้อหยาบ (coarse emulsion) มีอนุภาคขนาดใหญ่และอิมัลชันเนื้อละเอียด (fine emulsion) มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 5 ไมครอน เป็นชนิดของอิมัลชันที่พบว่ามีการใช้มากที่สุดอุตสาหกรรมปัจจุบัน

1.2 ไมโครอิมัลชัน (micro emulsion) มีลักษณะโปร่งใส เป็นผลมาจากอนุภาคของวัฏภาคภายในที่มีขนาดเล็กมาก ประมาณ 10 ถึง 75 นาโนเมตร (0.01 - 0.75 ไมครอน) มีค่าน้อยกว่าหนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นที่มองเห็นจึงทำให้ไม่สามารถหักเหหรือกระจายแสงได้ แสงสามารถทะลุผ่านทำให้ดูโปร่งใส วัฏภาคภายใน มีลักษณะกลม ถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวทำอิมัลชัน มีทั้งชนิด oil in water, (O/W) และ water in oil, (W/O)

2. ชนิดของเหลว วัฏภาคภายใน และ วัฏภาคภายนอก ได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.1 อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำ วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน พบอิมัลชันชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า ครีม

ทากลางคืน และครีมนวดหน้า เป็นต้น เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้ค่อนข้างเหนอะหนะและล้างน้ำออกยาก จึงเป็นไม่นิยมใช้

2.2 อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W Emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ มีความเหนอะหนะน้อยกว่า เมื่อทาแล้วจะกระจายตัวได้ดี ล้างน้ำออกง่าย จึงเป็นที่นิยมในใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชันทาผิว ครีมกันแดด ครีมรองพื้น เป็นต้น

2.3 อิมัลชันเชิงซ้อน multiple emulsion เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในที่ซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น W/O/W หรือ O/W/O อิมัลชันเชิงซ้อน สามารถกลับมาเป็นอิมัลชันชนิดธรรมดาได้ อิมัลชันชนิดนี้ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

3. ความหนืด เป็นออกเป็น 2 ชนิด คือ

3.1 โลชัน (lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ มีปริมาณวัฏภาคภายในไม่เกิน 35% โลชั่น อาจเป็นทั้งชนิด O/W และชนิด W/O เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์สำหรับทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนียวเหนอะหนะ ล้างออกได้ง่าย ส่วนโลชันชนิด W/O เมื่อทาแล้วจะรู้สึกเหนอะหนะผิว จึงไม่เป็นที่นิยมใช้ เช่น โลชั่นป้องกันแดดชนิดที่มีคุณสมบัติกันน้ำ

3.2 ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง ลักษณะคล้ายกับสารกึ่งแข็ง มีส่วนประกอบของสารหลักเป็นพวก waxes, fatty acid หรือ fatty alcohol ช่วยเพิ่มความหนืดเนื้อครีมในวัฏภาคน้ำมัน มีชนิด O/W และ W/O มีความหนืดมากกว่าเป็นอิมัลชันความหนืดต่ำหรือ lotion เนื่องจากมีปริมาณวัฏภาคภายใน 35 – 75 % อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืด (thickener agent) ร่วมด้วย เช่น acacia, vee gum, methyl cellulose เป็นต้น ซึ่งช่วยความเพิ่มหนืดให้แก่วัฏภาคน้ำ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เป็นครีมชนิด O/W ได้แก่ ครีมทาผิว ครีมบำรุงถนอมผิว ครีมแต่งผม ครีมโกนหนวด ครีมทากันแดด เป็นต้น ครีม ชนิด W/O ได้แก่ ครีมล้างหน้า ครีมแต่งผม เป็นต้น นอกจากนี้ยังมี อิมัลชันชนิดพิเศษ คือ anhydrous emulsion ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ประกอบด้วย น้ำมันและสาร polyols เช่น glycerin, propylene glycol เป็นต้น อิมัลชันที่ได้ อาจมีลักษณะใสหรือขุ่นขาว (Tianchaigerdsilp T & Thaniyavarn J, 2016)

อิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักสำคัญ 3 ส่วน คือ

1. วัฏภาคน้ำ (water phase) ได้แก่ น้ำและสารต่าง ๆ ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำ เช่น สารเพิ่มความหนืด สารกันเสีย สารลดแรงตึงผิว สีที่ละลายน้ำ สารต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ อาจเป็นสารออกฤทธิ์อื่นที่ละลายน้ำได้

2. วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) ได้แก่ น้ำมันต่าง ๆ ไขมัน ไขแข็ง สีที่ละลายในน้ำมัน น้ำหอม สารกันหืน สารลดแรงตึงผิว หรือ สารออกฤทธิ์ต่าง ๆ เช่น ฮอร์โมน วิตามิน เป็นต้น

3. สารก่ออิมัลชัน (emulsifier) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว คอลอยด์ที่ชอบน้ำของแข็งอนุภาคละเอียด เป็นต้น สารก่ออิมัลชัน เป็นตัวสำคัญในการผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากส่วนประกอบของอิมัลชัน

การวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี gas chromatography

ภาพประกอบ 7 แสดงเครื่อง gas chromatography

ที่มา: http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/gas-chromatography-gc

แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC) (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์สารผสมโดยอาศัยเฟสสองเฟส เป็นเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถเปลี่ยนเป็นแก๊สได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มประกอบสารอินทรีย์ระเหยได้ง่าย (volatile organic compounds, VOCs) และกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile organic compounds) โดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล จุดเดือด โครงสร้าง และสมบัติทางเคมีของสารซึ่งมีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของสารผสมบนเฟสคงที่ (stationary phase) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ อาจเป็นได้ทั้งของแข็งหรือของเหลว จากนั้นจะอาศัยตัวพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่มีคุณสมบัติเป็นแก๊สเฉื่อยซึ่งจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง เมื่อสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เข้าสู่เครื่อง GC สารจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (liquid) และกลายเป็นแก๊ส จะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สตัวพา ซึ่งภายในคอลัมน์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมจากนั้นจะเกิดการแยกสารผสม

ออกเป็นส่วนๆ ที่คอลัมน์ตามกลไกการแยก โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์และสารผสม เครื่องมือแก๊สโครมาโตกราฟี สามารถแบ่งได้แบบ 2 ได้แก่

1. แก๊สโซลิดโครมาโตกราฟี (Gas-Solid Chromatography, GSC) มีเฟสอยู่กับที่เป็นของแข็งเป็นการแยกสารที่อาศัยความแตกต่างของตัวดูดซับที่อยู่ภายในคอลัมน์ซึ่งไม่ค่อยเป็นที่นิยมเนื่องจากสารอาจติดอยู่ในคอลัมน์และโครมาโทแกรมที่ได้อาจเกิดเทลลิ่ง

2. แก๊สลิควิดโครมาโตกราฟี (Gas-Liqulid Chromatography, GLC) เฟสอยู่กับที่เป็นของเหลวที่มีจุดเดือดสูง การแยกอาศัยพาร์ทิชันของสารเหลวที่อยู่กับเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ที่เป็นแก๊ส

ดังนั้นการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดนเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี จะฉีดสารตัวอย่างในตัวทำละลายที่เหมาะสม สารตัวอย่างจะระเหยเป็นไอเข้าไปในเฟสต่าง ๆ และเข้าสู่อุปกรณ์วัดสัญญาณ (detector) จากนั้นผลจะออกมาเป็นโครมาโทรแกรม (chromatogram) และแสดงผลออกเป็นสารเชิงเดี่ยว ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (retention time, RT) ที่เฉพาะตัว ในการวิเคราะห์จะนำผลของพื้นที่ใต้พีค (peak) แต่ละสารมานำผลมาคำนวนและเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) จะทำให้ทราบปริมาณของสารตัวอย่างได้

บทที่ 3
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

1. การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation (hydro distillation)

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตร (1:1, 1:3 และ 3:1)

3. การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมัน

4. การเตรียมตำรับครีมจากสูตรตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*

5. การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial Limit Tests)

6. การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas chromatography Flame ionization detector (GC-FID)

7. การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) (นำส่งวิเคราะห์)

อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (satorius balances, Germany)
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (satorius balances, Germany)
3. ชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย (volatile oil distilling apparatus) (VN supply, Thailand)
4. แผ่นทดสอบแบคทีเรียต้องการอากาศ (3M Petrifilm™ ,USA)
5. แผ่นทดสอบราและยีสต์ (3M Petrifilm™ ,USA)
6. แผ่นทดสอบ *E. coli* (3M Petrifilm™ ,USA)
7. แผ่นทดสอบ *S. aureus* (3M Petrifilm™ ,USA)
8. autoclave (TOMY SX-500, Japan)
9. biohazard safe cabinet class II (AC2-4E8-TU, Singapore)
10. centrifuge tube ขนาด 25,50 ml (corning, USA)
11. duran bottle 500,1000 ml (schott duran, Germany)

12. GC–FID (Perkin-Elmer Auto System, USA)
13. incubator (Memmert, Germany)
14. measuring pipette ขนาด 2,5,10 ml (Proline, USA)
15. micropipette ขนาด 200 µl,1000 µl (Proline, USA)
16. petri dish 9 mm. (BioMedia, USA)
17. pipette tip ขนาด 100 µl,1000 µl (Proline, USA)
18. sterile 96 well-plate (costar®, corning, USA)
19. water bath (Memmert, Germany)

สารเคมีที่ใช้

1. น้ำมันตะไคร้ (จากการสกัดในการทดลอง)
2. น้ำมันตะไคร้หอม (จากการสกัดในการทดลอง)
3. agar (Merck, Germany)
4. amoxicillin (Sigma-Aldrich, Germany)
5. cetomacrogol 1000 (S.tong chemicals, Thailand)
6. cetrimide agar (Himedia, India)
7. cetyl alcohol (Srichand, Malaysia)
8. citral (Sigma-Aldrich, USA)
9. citronellal (Sigma-Aldrich, Germany)
10. dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Germany)
11. ketoconazole (Sigma-Aldrich, USA)
12. KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich, USA)
13. liquid paraffin (SL qualitysupply, Thailand)
14. methanol (Merck, Germany)
15. NaCl (Sigma-Aldrich, USA)
16. $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Himedia, India)
17. paraben concentrated (20%MP, 2%PP in PG)
18. peptone (Difco, USA)
19. propylene glycol (Shandong, China)
20. Sabouraud dextrose broth (Difco, USA)

21. sodium sulfate anhydrous (Sigma-Aldrich, USA)

22. stearyl alcohol (Srichand, Malaysia)

23. trypticase soy broth (Bacto, France)

24. tween 80 (krungthepchemi, Thailand)

เชื้อที่ใช้ในการวิจัย

1. *Candida albicans* DMST 5815 (Department of Medical Sciences, Thailand)

2. *Staphylococcus aureus* DMST 8013 (Department of Medical Sciences, Thailand)

3. *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection, USA)

4. *Pseudomonas aeruginosa* DMST 15501 (Department of Medical Sciences, Thailand)

5. *Aspergillus niger* ATCC 10578 (American Type Culture Collection, USA)

3.1 การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation

1. ใส่ตะไคร้หรือตะไคร้หอมที่ผ่านการลดขนาดและทราบปริมาณน้ำหนักของพืช

2. เติมน้ำกลั่นลง round bottom flask ให้ปริมาณน้ำกลั่นท่วมพืชที่ถูกบรรจุภายใน

3. เปิดเตาให้ความร้อนเพื่อให้ไอควบแน่นในอัตรา 2-3 มิลลิลิตรต่อนาที สกัดโดยใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมงและไขเก็บชั้นน้ำมัน

4. ใส่ sodium sulfate anhydrous เพื่อดูดความชื้นออกจากน้ำมัน เก็บน้ำมันที่ได้ใส่ขวดปิดให้สนิท เก็บในที่เย็นและพ้นแสง

3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* DMST 5815 และ *S. aureus* DMST 8013 น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม จำนวน 3 สูตร (Tadtong S et al., 2012)

1. ขั้นตอนการเตรียมสารละลายและการทดสอบเชื้อ *C. albicans*

1.1 เตรียมสารทดสอบใน 2 % DMSO /(SDB)

1.2 เตรียมสารทดสอบที่มีความเข้มข้นต่างกัน 5 ความเข้มข้น

โดยปิเปต น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ หรือตะไคร้หอม โดยเริ่มจากความเข้มข้นแรกเท่ากับ 1 % v/v ปริมาตร 40 µl ละลายใน 2 % DMSO/SDB 3960 µl จากนั้นปิเปตสารผสม 2 ml ผสมกับ 2 % DMSO/SDB 2 ml เป็น serial dilution 5 ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.125, 0.0125 และ 0.01625% v/v

1.3 เตรียมน้ำมันผสมระหว่างตะไคร้และตะไคร้หอม

ปิเปตน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมในอัตราส่วน 1:3, 1:1 และ 3:1 โดยการผสมจะใส่น้ำมันที่มีปริมาณมากก่อนจากนั้นปิเปต น้ำมันที่อัตราส่วนน้อย เตรียมสารละลายจากน้ำมันหอมระเหย ด้วยความเข้มข้นและวิธีเดียวกัน

1.4 เตรียมสารมาตรฐาน citral และ citronellal

เตรียม citral และ citronellal ให้มีความเข้มข้นต่างกัน 5 ความเข้มข้น เริ่มจากความเข้มข้นแรก 0.5 % v/v โดยปิเปต citral หรือ citronellal 20 µl ละลายใน 2 % DMSO/SDB 3980 µl จากนั้นปิเปต มา 2 ml ผสมกับ 2 % DMSO/SDB 2 ml เป็น serial dilution 5 ความเข้มข้น 0.5, 0.125, 0.0125, 0.01625 และ 0.03125 % v/v

1.5 เตรียมสารละลาย ketoconazole

เพื่อใช้เป็น positive control สำหรับฤทธิ์ต้านเชื้อรา เตรียมสารละลาย ketoconazole ใน MeOH ความเข้มข้น 200 µg/ml ปิเปต สารละลายมา 100 µl ผสมกับ 2 % DMSO/SDB 900 µl

1.6 เตรียมสารละลาย amoxicillin

เพื่อใช้เป็น positive control สำหรับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

1.7 เตรียมสารละลาย amoxicillinใน MeOH ความเข้มข้น 100 µg/ml pipette สารละลายมา 100 µl ผสมกับ 2 % DMSO/TSB

1.8 เตรียมสารแขวนตะกอนของเชื้อ

เตรียมเชื้อเพื่อการทดสอบโดยปิเปตเชื้อ *C. albicans* ใส่ลงใน sterile water ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland จะมีเชื้อ 10^8 CFU/ml จากนั้นนำไปใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีปริมาณเชื้อ 5 % v/v ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.9 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

ปิเปตสารทดสอบที่เตรียมไว้ 100 µl และปิเปตสารแขวนตะกอน 5 % v/v ของเชื้อ *C. albicans* 100 µl ลงใน 96 well-plate (ตามตารางที่ 1) จากนั้นบ่มเชื้อไว้ใน incubator อุณหภูมิ 28° C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหากเป็นการทดสอบเชื้อ *S. aureus* ทำระบบเดียวกันและ

เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น trypticase soy broth (TSB) และบ่มเชื้อไว้ใน incubator อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.10 ทำการทดสอบที่เป็นอิสระต่อกันทั้งหมด 3 ครั้ง แต่ละครั้งทดสอบ 3 ซ้ำ

ตาราง 1 สารและปริมาณสารที่ใส่ในแต่ละหลุม

การทดลอง	medium (µl)	2%DMSO in medium(µl)	sample (µl)	ketoconazole/ amoxicillin*(µl)	เชื้อ(µl)
negative control	100				100
positive control				100	100
solvent control		100			100
sample			100		100

* หมายเหตุ - ketoconazole ใช้เป็น positive control ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา
- amoxicillin ใช้เป็น positive control ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

A	LG S1.1	LG S1.2	LG S1.3						CG S1.1	CG S1.2	CG S1.3	
B	LG S2.1	LG S2.2	LG S2.3						CG S2.1	CG S2.2	CG S2.3	
C	LG S3.1	LG S3.2	LG S3.3						CG S3.1	CG S3.2	CG S3.3	
D	LG S4.1	LG S4.2	LG S4.3						CG S4.1	CG S4.2	CG S4.3	
E	LG S5.1	LG S5.2	LG S5.3						CG S5.1	CG S5.2	CG S5.3	
F												
G												
H	NC1	NC2	NC3		PC.1	PC.2	PC.3		SC.1	SC.2	SC.3	

*หมายเหตุ แสดงตัวอย่างในการเติมสารใน 96 well-plate

S1 = sample ความเข้มข้นที่ 1, S2 = sample ความเข้มข้นที่ 2, S3 = sample ความเข้มข้นที่ 3, S4 = sample ความเข้มข้นที่ 4, S5 = sample ความเข้มข้นที่ 5, LG = ตะไคร้, CG= ตะไคร้หอม, NC = Negative control, PC = positive control, SC = solvent control

3.3 การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมันผสม

ประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือ ต้านฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมสูตรผสมจำนวน 3 สูตรได้แก่ อัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 จากนั้นนำน้ำมัน ทั้ง 3 สูตร มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. *albicans* และ S. *aureus* เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และนำค่า MIC ที่ได้มาคำนวณเพื่อหาค่า sum of the fractional inhibitory concentration (ΣFIC) (Tadtong S, Watthanachaiyingcharoen R, & Kamkaen N, 2014)

ดังสูตร

$$\Sigma FIC = \frac{A}{MICa} + \frac{B}{MICb}$$

โดย

A คือ สัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยชนิดที่ 1 คูณกับค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม

B คือ ค่า สัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยชนิดที่ 2 คูณกับค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม

MIC_a คือ ค่า MIC ของสาร A

MIC_b คือ ค่า MIC ของสาร B

สามารถแปลผลการทดลองได้ดังนี้

ΣFIC > 1 แสดงว่ามีการต้านฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม (antagonistic effect)

ΣFIC = 1 แสดงว่ามีการเพิ่มฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม (additive effect)

ΣFIC < 1 แสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม (synergistic

3.4 การเตรียมตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*

เตรียมตำรับครีมใช้ในการศึกษาได้จากสูตรมาตรฐาน o/w (จักริช ชัยชัชวาล & ทศพล ทราเจริญ, 2560) โดยมีส่วนประกอบในสูตรดังนี้

ตาราง 2 แสดงปริมาณส่วนประกอบครีมพื้น

	สารเคมี	% W/W	หน้าที่ในตำรับ
oil phase	stearyl alcohol	4	co-emulsifier and thickening agent
	cetyl alcohol	4	co-emulsifier and thickening agent
	liquid paraffin	5	emollient
water phase	cetomacrogol 1000	3	surfactant(nonionic)
	propylene glycol	10	emollient
	paraben Concentration	1	preservative
	distilled water	73	

ตาราง 3 แสดงปริมาณส่วนประกอบครีมผสมน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอม

chemicals		%w/w			
		สูตร 1 (5%)	สูตร 2 (10%)	สูตร 3 (20%)	สูตร 4 (20%)
oil phase	stearyl alcohol	4	4	4	7
	cetyl alcohol	4	4	4	5
	liquid paraffin	5	5	5	5
	น้ำมันผสม	0.54	1.2	2.3	2.3

ตาราง 3 (ต่อ)

chemicals		%w/w			
		สูตร 1 (5%)	สูตร 2 (10%)	สูตร 3 (20%)	สูตร 4 (20%)
water phase	cetomacrogol 1000	3	3	3	5
	propylene glycol	10	10	10	10
	paraben concentration	1	1	1	1
	distilled water	72.5	71.8	70.7	64.7

วิธีการเตรียมครีม

1. ตวงสารเคมีตามปริมาตรที่กำหนดในสูตร

2. วาง water bath ที่เติมน้ำแล้ว ลงบน hotplate เปิดเครื่อง hotplate เพื่อให้ความร้อน water bath

3.นำ oil phase และ water phase ให้ความร้อนแยกกัน โดย oil phase ได้แก่ stearyl alcohol, cetyl alcohol และ liquid paraffin ในส่วน water phase ได้แก่ cetomacrogol 1000, propylene glycol และ น้ำ

4. ให้ความร้อน oil phase ที่ 70 ºC และให้ความร้อน water phase ที่ 75 ºC จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ

5. ค่อยๆ เท oil phase ลงใน water phase และคนผสม นำมาผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น โดยใช้ homogenizer

6. คนช้า ๆ จนเย็นลงถึง 40 ºC ผสม paraben concentration และตำรับน้ำมันสูตรผสม 3:1 ลงไปในครีมจากนั้นนำมาทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และ *C. albicans* อีกครั้ง ด้วยวิธี agar-well diffusion

7. ทำการทดสอบประสิทธิภาพของตำรับครีม

7.1 ทดสอบความคงสภาพทางชีวภาพของตำรับครีม

7.1.1 เตรียม Sabouraud dextrose agar plate โดยเจาะหลุมด้วย cylinder cup ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm

ทำการเจือจางเชื้อ *C. albicans* ในกลั่นปราศจากเชื้อให้มีความขุ่น 0.5 McFarland standards ซึ่งจะมีเชื้อ 10^8 CFU/ml spread เชื้อให้ทั่วผิวหน้า agar ด้วย swab

7.1.2 เติมสารทดสอบและ negative control ลงในหลุมที่เจาะ หลุมละประมาณ 100 µl โดยใช้ยาพื้นครีมเป็นตัวควบคุมเชิงลบ และใช้สารละลาย ketoconazole ความเข้มข้น 200 µg/ml ปริมาณ 20 µl และ amoxicillin ความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาณ 20 µl เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราและแบคทีเรียตามลำดับ โดยหยดตัวควบคุมเชิงบวก 20 µl ลงบน paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm ทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายแห้งก่อนนำไปใช้ในการทดสอบ

7.1.3 บ่มที่อุณหภูมิ 28 C° จนครบ 24 ชั่วโมง ทำวิธีเดียวกันในเชื้อ *S. aureus* เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น trypticase soy broth (TSA) และ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C จนครบ 24 ชั่วโมง

7.1.4 วัดขนาด clear zone ที่เกิดขึ้นและเทียบผลทางสถิติโดยใช้ Paired T- test ทำการทดสอบที่เป็นอิสระต่อกันทั้งหมด 3 ครั้ง แต่ละครั้งทดสอบ 3 ซ้ำ

7.2 ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับครีม

ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับครีมโดยใช้วิธีการประเมินความคงตัวของตำรับครีมในสภาวะเร่ง (accelerated storage test) ผ่านขบวนการเร่งด้วยอุณภูมิ (heating – cooling cycle) ทั้งหมด 6 cycles จำนวน 12 วัน

7.2.1 ตวงครีมใส่ขวดแก้วใสขวดละ 10 กรัม จำนวน 3 ขวด

7.2.2 เก็บครีมที่เตรียมไว้ที่สภาวะควบคุมที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.2.3 สลับกับการเก็บครีมที่สภาวะควบคุมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ

7.2.4 เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำทดสอบความคงสภาพทางชีวภาพของตำรับครีมตามข้อ 7.1 อีกครั้ง และเก็บและแปลผลการทดลอง

3.5 การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests)

การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests) เป็นการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อตรวจสอบหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์กระบวนการระหว่างการผลิตและคุณภาพหลังการผ่านสภาวะเร่ง โดยการทดลองครั้งนี้จะทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพตำรับครีมที่ได้รับการพัฒนาเป็น 2 ครั้ง ได้แก่

1. วิเคราะห์คุณภาพตำรับครีมทันทีหลังการผลิต
2. วิเคราะห์คุณภาพตำรับครีมหลังการผ่านการศึกษาความคงสภาพด้วยสภาวะเร่ง

วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารตัวอย่างน้ำหนัก 1 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ปราศจากเชื้อ
2. เติม sterile peptone buffer pH 7.0 ปริมาตร 9 mL จากนั้นผสมให้เข้ากัน
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1:10 ปริมาตร 1 mL หยดลงบนแผ่นทดสอบเชื้อต่าง ๆ ได้แก่ แผ่นทดสอบแบคทีเรียต้องการอากาศ แผ่นทดสอบราและยีสต์ แผ่นทดสอบ *E. coli* แผ่นทดสอบ *S. aureus*
4. ปิดแผ่นฟิล์มใสของแผ่นทดสอบลงแล้วกดด้วยแท่นกด กดนิ่งๆ ประมาณ 30 วินาที ให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับน้ำ แล้วเอาแท่นกดออก
5. ปิเปตสารตัวอย่าง 1:10 ปริมาตร 1 mL หยดลงบน cetrimide agar plate แล้ว spread ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน *P. aeruginosa*
6. ปิเปต sterile buffer ปริมาตร 1 mL เป็น negative control
7. ใช้เชื้อมาตรฐานเป็น positive control ได้แก่ *S. aureus* DMST 8013, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* DMST 15501, *C. albicans* DMST 5815 และ *Aspergillus niger* ATCC 10578
8. นำแผ่นทดสอบ และ plate เข้าบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 °C (แบคทีเรีย) เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง และ 28 °C (ราและยีสต์)
9. เมื่อครบเวลาตามกำหนด นำเอาออกมานับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้น

3.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-FID

ประยุกต์ใช้กระบวนการและวิธีการวิเคราะห์ เครื่องGC–FID ตามเอกสารอ้างอิง (Hongratanaworakit & Buchbauer, 2007)

1. ใช้วิธีตามที่กำหนดไว้ GC–FID (Perkin-Elmer Auto System)

ชนิดคอลัมน์: fused-silca PB-WAX capillary column (60 m × 0.25 mm i.d., 0.32 μm film thickness); อุณหภูมิคอลัมน์: 90 °C เป็นเวลา 4 min จากนั้นปรับเป็น 90–220 °C โดยเพิ่มอุณหภูมิที่อัตรา 10 °C ต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ที่ 220 °C เป็นเวลา 3 นาที อุณหภูมิของ injector :190 °C, อุณหภูมิของ detector: 220 °C carrier gas: helium flow rate 1.0 ml/min

2. เตรียมสารละลาย

ได้แก่ น้ำมันตะไคร้,ตะไคร้หอม และสูตรน้ำมันผสมจำนวน 3 สูตรได้แก่ อัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 โดยปิเปตอย่างละ 10 μl ผสมกับ MeOH 990 μl เพื่อทดสอบหาองค์ประกอบของน้ำมันทั้งเดี่ยวทั้ง 2 ชนิดและน้ำมันผสมทั้ง 3 สูตร เพื่อคัดเลือกสารมาตรฐานที่นำมาใช้ในการทดสอบ

3. ตั้งค่าระบบ GC -FID และทำการทดลองเพื่อหา system suitability

4. เตรียม stock solution 3 สารมาตรฐาน

ได้แก่ citral, citronellal และ geraniol แต่ละชนิดปริมาตร 10 μl ใน 1 ml MeOH

5. ทดลองหา accuracy ของสารมาตรฐาน

โดยการหาค่า peak area ของสารมาตรฐาน 3 ความเข้มข้นจาก stock solution ได้แก่ 250, 500 และ 700 μl /ml % v/v ฉีดซ้ำ 3 ครั้ง เป็นค่าแสดงความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้วิธีวิเคราะห์นั้นเท่ากับค่าคำนวนที่แท้จริงโดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

6. ทดลองหา precision ของสารมาตรฐาน

โดยการหาค่า peak area ของสารมาตรฐานจาก stock solution ความเข้มข้น 450 μl /ml ฉีดซ้ำ 6 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน เป็นค่าแสดงความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้ในวันเดียวโดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

7. ทดลองหา precision ของสารมาตรฐาน

โดยการค่า peak area ของสารมาตรฐานจาก stock solution ความเข้มข้น 2 ความเข้มข้น ได้แก่ 300 และ 700 µl/ml ฉีดซ้ำ 3 วัน เป็นค่าแสดงความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้วันที่ต่างกันติดต่อกัน 3 วันโดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

8. ทดลองหา linearity ของสารมาตรฐาน

โดยการค่า peak area ของสารมาตรฐานจาก stock solution ความเข้มข้น 7 ความเข้มข้น เริ่มจาก 50 ,75 ,100, 200, 400 ,600, และ 800 µl/ml % v/v เพื่อหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 โดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

9. ทดลองหา LOD และ LOQ ของ สารมาตรฐาน

โดยการค่า peak area ของสารมาตรฐานจาก stock solution ความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 10, 20 และ 30 ul/ml เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบโดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

10. ทดลองหา specificity ของสารมาตรฐาน

โดยการค่า retention time ของสารมาตรฐานจาก stock solution ต่างความเข้มข้น จำนวน 11 ครั้ง เป็นแสดงค่าเวลาที่สามารถตรวจพบสารมาตรฐาน ในการทดลองนี้โดยแสดงค่าเป็นหน่วยน้ำหนัก mg/ml

3.7 **การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย** Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS)

การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) เป็นการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของสารทดสอบตัวอย่างที่อยู่ในสถานะแก๊สหรือสารระเหยได้มีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง สารทดสอบจะถูกแยกออกจากกันในสถานะแก๊ส โดย carrier gas ที่ทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) นำเข้าสู่ column เกิดการกระจายของสารทดสอบกับ stationary phase ตัวโมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวจะถูกพาเข้าสู่ detector หรือ เครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ โมเลกุลของสารจะถูกทำให้แตกตัวเป็นประจุอิเล็กตรอนเดี่ยวจำนวนมากรูปแบบแตกตัวเรียกว่า mass spectrum หรือกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ามวลต่อประจุสาร M+ กับค่า abundance ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้เป็นทั้ง chromatogram และ mass spectrum โดยวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบในงานวิจัยครั้งนี้จะนำส่งวิเคราะห์ที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทที่ 4
ผลการดำเนินวิจัย และอภิปรายผลการทดลอง

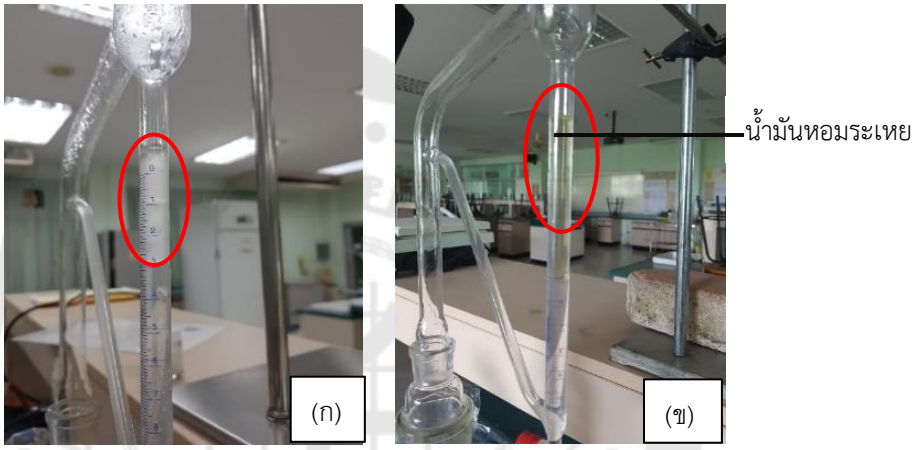
งานวิจัยพัฒนาตำรับครีมจากน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมรักษาแผลติดเชื้อเพื่อเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยโดยการศึกษาตามขบวนการและขั้นตอนต่าง ๆ ที่กำหนดขึ้นให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ได้กำหนดไว้ ได้ดังนี้

1. การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation (hydro distillation)
2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตร
3. การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมัน
4. การเตรียมตำรับครีมจากสูตรตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*
5. การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests)
6. การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas chromatography- Flame ionization detector (GC-FID)
7. การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) (นำส่งวิเคราะห์)

1. การสกัดน้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม ด้วยวิธี water distillation (hydro distillation)

จากการทดลองทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมด้วยวิธีการ water distillation เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าการสกัดให้ปริมารสารสกัดเป็นคิดเป็นร้อยละของผลผลิต (% yield) หลังจากให้ความร้อนเพื่อให้ไอควบแน่น กลั่นจนได้น้ำมันหอมระเหยสีขาวใสออกมา ดังภาพที่ 8 พบว่าน้ำมันที่ได้มีกลิ่นเฉพาะตัวของตะไคร้และตะไคร้หอม จากนั้นไขเก็บชั้นน้ำมันใส่ใน vial ใส่ sodium sulfate anhydrous เพื่อดูดความชื้น ปริมาณสารสกัดของน้ำมันตะไคร้และ น้ำมันตะไคร้หอมที่ได้เป็น 0.201 และ 0.608 %w/w ตามลำดับดังตารางที่ 4 เมื่อสังเกตลักษณะภายนอกของสารสกัดพบว่า การสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำสามารถสกัด

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอมได้ โดยได้น้ำมันทั้ง 2 ชนิดที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองใส ไม่ตกตะกอน แยกชั้นระหว่างน้ำมันและน้ำชัดเจน มีกลิ่นเฉพาะตัวของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากงานวิจัยและหนังสือในหัวข้อการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร (ณัฐเศรษฐ์ น้ำคำ, 2018; รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550) ซึ่งได้กล่าวถึงการสกัดและปริมาณสารสกัดของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยวิธี water distillation ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าวิธี water distillation เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 5



ภาพประกอบ 8 แสดงน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม สกัดด้วย วิธี water distillation

(ก) น้ำมันหอมระเหยของน้ำมันตะไคร้

(ข) น้ำมันหอมระเหยของน้ำมันตะไคร้หอม

ตาราง 4 แสดงน้ำหนักของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมสกัดด้วย วิธี water distillation

วิธีการสกัด	น้ำหนัก (กรัม)		ร้อยละผลผลิต
	พืช (กรัม)	น้ำมันหอมระเหย	(%yield)
ตะไคร้	2,362.42	4.75 g	0.201 %w/w
ตะไคร้หอม	6,222	37.86 g	0.608 %w/w

ตาราง 5 แสดงลักษณะของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม

ลักษณะ	**พืช**	
	ตะไคร้	ตะไคร้หอม
สี	ใส ไม่มีสี	สีเหลืองใส
กลิ่น	หอม ฉุน เฉพาะตัว	หอม ฉุน เฉพาะตัว
ตะกอน	ไม่มี	ไม่มี
เบากว่าน้ำ	✓	✓

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตร

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. *albicans* DMST 5815 และ S. *aureus* DMST 8013 น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอมและสูตรผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ C. *albicans* DMST 5815 และ S. *aureus* DMST 8013 ได้เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน positive control ซึ่งได้แก่ ketoconazole ความเข้มข้น 200 µg/ml และ amoxicillin ความเข้มข้น 100 µg/ml ภายใต้ 96 well-plate พบว่า น้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม มีค่า MIC ต่อ C. albicans DMST 5815 คือ 0.0625 และ 0.0625 µg/ml ตามลำดับ มีค่าMIC ต่อ S. aureus DMST 8013 คือ 0.0625 และ 0.125 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 6 พบว่ามีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีในวิธีการทดสอบสอดคล้องของงานวิจัยของ อเนก ภู่ทองและคณะ (เอนก ภู่ทอง, จริย์สร สำอางค์ศรี, นุสรา ทรงมะลิลา, อรฤดี ขันติสิทธิพร, & สุวรรณา โควะวินทวีวัฒน์, 2012) ที่ทำศึกษาและพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ต่อ C. *albicans* เท่ากับ 0.5 mg/ml นอกจากนี้ ฤทธิ์ในการยับยั้งจะแปรผันตาม ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย

พบว่าทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอมสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตรอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 มีค่า MIC ต่อ *C. albicans* DMST 5815 คือ 0.015625, 0.015625 และ 0.03125 µg/ml ตามลำดับ มีค่า MIC ต่อ *S. aureus* DMST 8013 คือ 0.125,0.125 และ 0.125 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 7- 8

พบว่าปริมาณสารสำคัญของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอมที่สามารถตรวจพบได้แก่ citral และ citronellal จึงเลือกเป็นตัวแทนของสารมาตรฐานที่นำทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* โดยพบว่ามีค่า MIC ต่อ *C. albicans* DMST 5815 คือ 0.03125, และ 0.03125 µg/ml ตามลำดับ มีค่า MIC ต่อ *S. aureus* DMST 8013 คือ 0.0625, และ 0.0625 µg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 6 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม

compound	*C. albicans*		*S. aureus*	
concentration (µg/ml)	LG	CG	LG	CG
0.5	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	+
0.03125	+	+	+	+
ketoconazole	-	-	ND	ND
amoxicillin	ND	ND	-	-
sovent control	+	+	+	+
negative control	+	+	+	+

*หมายเหตุ + = พบเชื้อขึ้น, - = ไม่พบเชื้อขึ้น, ND=ไม่มีการใส่สาร

ตาราง 7 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของน้ำมันสูตรผสม

concentration	*C. albicans*		
(µg/ml)	LG1:CG1	LG3:CG1	LG1:CG3
0.125	-	-	-
0.0625	-	-	-

ตาราง 7 (ต่อ)

concentration (µg/ml)	*C. albicans* LG1:CG1	LG3:CG1	LG1:CG3
0.03125	-	-	-
0.015625	-	-	+
0.0078125	+	+	+
ketoconazole	-	-	-
sovent control	+	+	+
negative control	+	+	+

หมายเหตุ + = พบเชื้อขึ้น, - = ไม่พบเชื้อขึ้น

ตาราง 8 แสดงการความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันสูตรผสม

concentration (µg/ml)	*S. aureus* LG1:CG1	LG3:CG1	LG1:CG3
0.125	-	-	-
0.0625	+	+	+
0.03125	+	+	+
0.015625	+	+	+
0.0078125	+	+	+
amoxicillin	-	-	-
sovent control	+	+	+
negative control	+	+	+

*หมายเหตุ + = พบเชื้อขึ้น, - = ไม่พบเชื้อขึ้น

ตาราง 9 แสดงความเข้มข้นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ของสารมาตรฐาน

compound	*C. albicans*		*S. aureus*	
concentration	citral	citronellal	citral	citronellal
0.25	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-
0.03125	-	-	+	+
0.01526	+	+	+	+
ketoconazole	-	-	ND	ND
amoxicillin	ND	ND	-	-
sovent control	+	+	+	+
negative control	+	+	+	+

*หมายเหตุ + = พบเชื้อขึ้น, - = ไม่พบเชื้อขึ้น, ND=ไม่มีการใส่สาร

3. การประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมัน

ประเมินประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ เพิ่มฤทธิ์ หรือต้านฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม โดยคำนวณค่า sum of the fractional inhibitory concentration (ΣFIC) จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. *albicans* และ S. *aureus* ของน้ำมันตะไคร้ และน้ำมันตะไคร้หอม และสูตรน้ำมันสูตรผสม จำนวน 3 สูตรอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 สามารถสรุปผลได้ดังนี้ น้ำมันตะไคร้ พบว่า สูตรที่ 1 อัตราส่วน LG1:CG1 มีค่า ΣFIC ต่อเชื้อ C. *albicans* และ S. *aureus* เป็น 0.25 และ 1.5 ตามลำดับ สูตรที่ 2 อัตราส่วน LG3:CG1 มีค่า เป็น 0.25 และ 1.75 ตามลำดับสูตรที่ 3 อัตราส่วน LG1:CG3 มีค่า เป็น 0.3125 และ 1.25 ตามลำดับ สามารถแปลผลได้ว่า น้ำมันสูตรผสมทั้ง 3 สูตร มีค่า ΣFIC ต่อเชื้อ C. albicans น้อยกว่า 1 แสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม (synergistic effect) และ มีค่า ΣFIC ต่อเชื้อ S. aureus มากกว่า 1 แสดงว่ามีการต้านฤทธิ์กันของน้ำมันหอมระเหยรูปแบบผสม (antagonistic effect) ดังนั้นเมื่อต้องคัดเลือกสูตรน้ำมันที่ต้องเพื่อนำไปพัฒนาตำรับครีมที่มีฤทธิ์การรักษาแผลติดเชื้อจากเบาหวาน ที่

น่าจะเหมาะสมที่สุดคือสูตรที่ 3 อัตราส่วน LG1:CG3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อใช้น้ำมันสูตรดังกล่าวมีการเสริมฤทธิ์กันของน้ำมันและเป็นสูตรที่มีฤทธิ์ยังยั้งเชื้อ S. aureus ได้ดีที่สุด ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 แสดงค่า **Σ**FIC ที่คำนวณได้ต่อเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus*

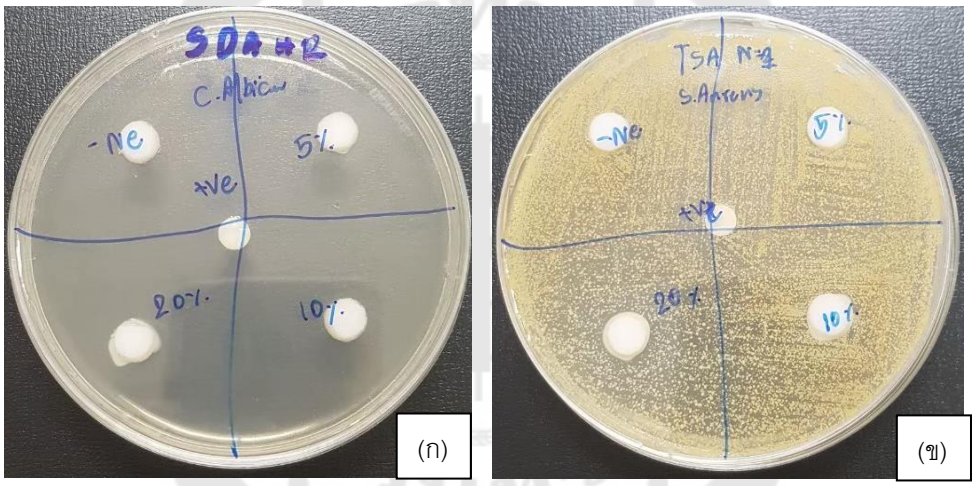
	ΣFIC	
oil	*C. albicans*	*S. aureus*
LG1:CG1	0.25	1.50
LG3:CG1	0.25	1.75
LG1:CG3	0.3125	1.25

4. **การเตรียมตำรับครีมจากสูตรตำรับครีมและการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus***

การเตรียมตำรับครีมที่ได้จากสูตรมาตรฐาน o/w เมื่อนำตำรับครีมที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* โดยแบ่งสูตรตำรับที่เพิ่มปริมาณของน้ำมันสูตรผสมที่คัดเลือกคือ LG1:CG3 เป็น 5,10 และ 20 เท่าของค่า MIC ดังแสดงในตาราง 8 โดยการเตรียมครีม 3 สูตรคือ ครีมเบส, สูตรที่ 1= ความเข้มข้นของน้ำมันเป็น 5 เท่าของ MIC, สูตรที่ 2 ความเข้มข้นของน้ำมันเป็น 10 เท่าของ MIC และ สูตรที่ 3 =ความเข้มข้นของน้ำมันเป็น 20 เท่าของ MIC ลักษณะของตำรับครีมที่ได้ทั้ง 3 สูตร พบว่า มีลักษณะเป็นครีมสีขาว เนื้อครีมเนียนข้นหนืดและไม่มีฟองอากาศแทรกในเนื้อครีม ตำรับครีมสูตรที่ 3 พบว่าเนื้อครีมมีความเหลวมากกว่าตำรับครีมสูตรที่ 1, 2 และครีมเบส เมื่อนำครีมที่เตรียมได้ไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH miter พบว่าตำรับครีมสูตรที่ 1 มี pH 7.47, 7.26, 7.17 และ 6.8 ตามลำดับ

เมื่อนำตำรับครีมเบสและตำรับครีม 3 สูตรไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. aureus* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ ในตำรับครีมสูตรที่ 1, 2, 3 และ บริเวณ positive control โดยวัดขนาด clear zone ที่เกิดขึ้นเฉลี่ยเป็น 0.60, 1.00, 1.07 และ 2.60 ซม. ตามลำดับ ส่วนบริเวณของครีมเบสมีเชื้อเกิดหนาแน่น แสดงให้เห็นว่าครีมเบสไม่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อดังรูปที่ 9 ก.

แต่พบว่าครีมสูตรผสมไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ จากการที่ไม่เกิด clear zone ขึ้น พบว่ารอบ ๆ หลุมที่เจาะและมีเนื้อครีมสูตรผสมอยู่ มีเชื้อเจริญหน่าแน่น ตำรับครีมสูตรที่ 1, 2, ครีมเบส และ บริเวณ positive control มีเชื้อเกิดหนาแน่น บริเวณหลุมของครีมตำรับที่ 3 ซึ่งมีน้ำมันสูตรผสมอยู่ 20 เท่าของ MIC มีเชื้อขึ้นจางกว่าบริเวณ อื่น ๆ clear zone แต่ไม่เกิดเป็นเนื่องจากเมื่อพัฒนาเป็นตำรับครีมแล้ว ตำรับครีมมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อลดลงตามคุณสมบัติ antagonistic effect ของน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิดระหว่าง น้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอมที่ผ่านการทดลองตามขั้นตอนการทดลองบทที่ 3 ดังรูปที่ 9 ข. และครีมเบสไม่สามารถยับยั้งเชื้อแต่ที่ positive control ไม่สามารถยับยั้งเชื้ออาจเนื่องมาจาก positive control เสื่อมสภาพจึงสูญเสียฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไป



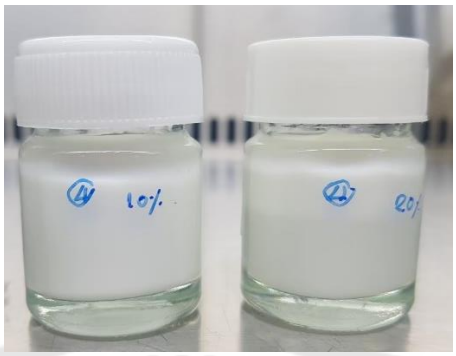
ภาพประกอบ 9 แสดงทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. albicans และ S. aureus ด้วยวิธี agar disc diffusion

(ก) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

(ข) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

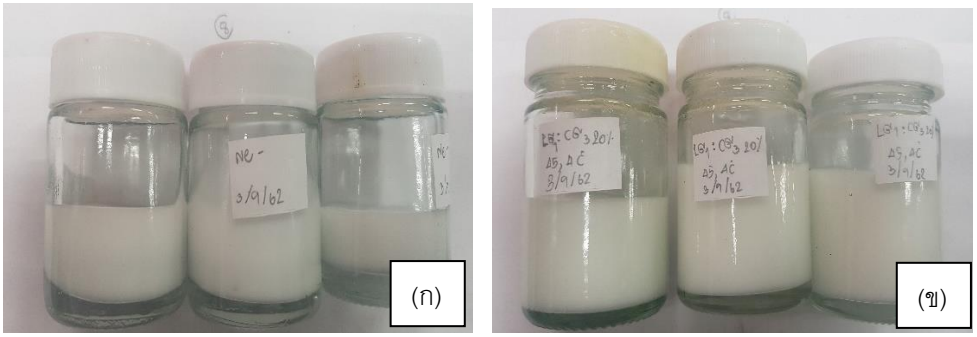
เมื่อได้ผลการทดสองที่แสดงข้างต้นจะเห็นได้ว่า ตำรับครีมสูตรที่ 2 และ ตำรับครีมสูตรที่ 3 มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ใกล้เคียงกัน จึงได้นำครีมสูตรผสมทั้ง 2 สูตรมาทดลองความคงสภาพโดยวิธีการผ่านสภาวะเร่ง (heating – cooling cycle) ตามขั้นตอนการทดลอง เมื่อ

ครบเวลาที่กำหนด พบว่าสูตรที่ 2 ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกในขณะที่สูตรที่ 3 เกิดการเปลี่ยนแปลงแยกชั้นอย่างเห็นได้ชัดเจนตามภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะครีมสูตรที่ 2 และ 3 หลังผ่านสภาวะเร่ง

เมื่อได้ผลการทดลองที่แสดงข้างต้นจะเห็นได้ว่า ตำรับครีมสูตรที่ 3 ไม่สามารถกักเก็บน้ำมันให้คงลักษณะทางกายภาพที่ดีได้ จึงไม่สามารถนำไปวัดผลทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อได้ จากนั้นจึงได้ทำการทดลองปรับสูตรโดยการเพิ่มปริมาณ emulsifier ให้มีปริมาณมากขึ้นเพื่อให้ครีมมีความคงสภาพที่ดี หลังผ่านการทดสอบความคงสภาพของตำรับครีมสูตรที่ 4 และได้นำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. *albicans* และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ S. *aureus* อีกครั้ง โดยวิเคราะห์คุณภาพของตำรับครีมทันทีหลังการผลิต แทนค่าด้วย DAY 0 และวิเคราะห์คุณภาพของตำรับครีมผ่านสภาวะเร่งแทนค่าด้วย DAY 1 ตามขั้นตอนการทดลอง เมื่อครบเวลาที่กำหนด พบว่าตำรับครีมสูตรที่ 4 ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก ตามภาพประกอบที่ 10 และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ C. *albicans* โดยวัดขนาด clear zone ที่เกิดขึ้นเฉลี่ยเป็น 1.96 ซม. และ 1.58 ซม. ตามลำดับ เมื่อคำนวนทางสถิติมีค่าการยับยั้งเชื้อไม่แตกต่างกัน ($p = 0.078$) แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของตำรับครีมสูตรผสม สูตรที่ 4 มีความคงตัวที่ดี



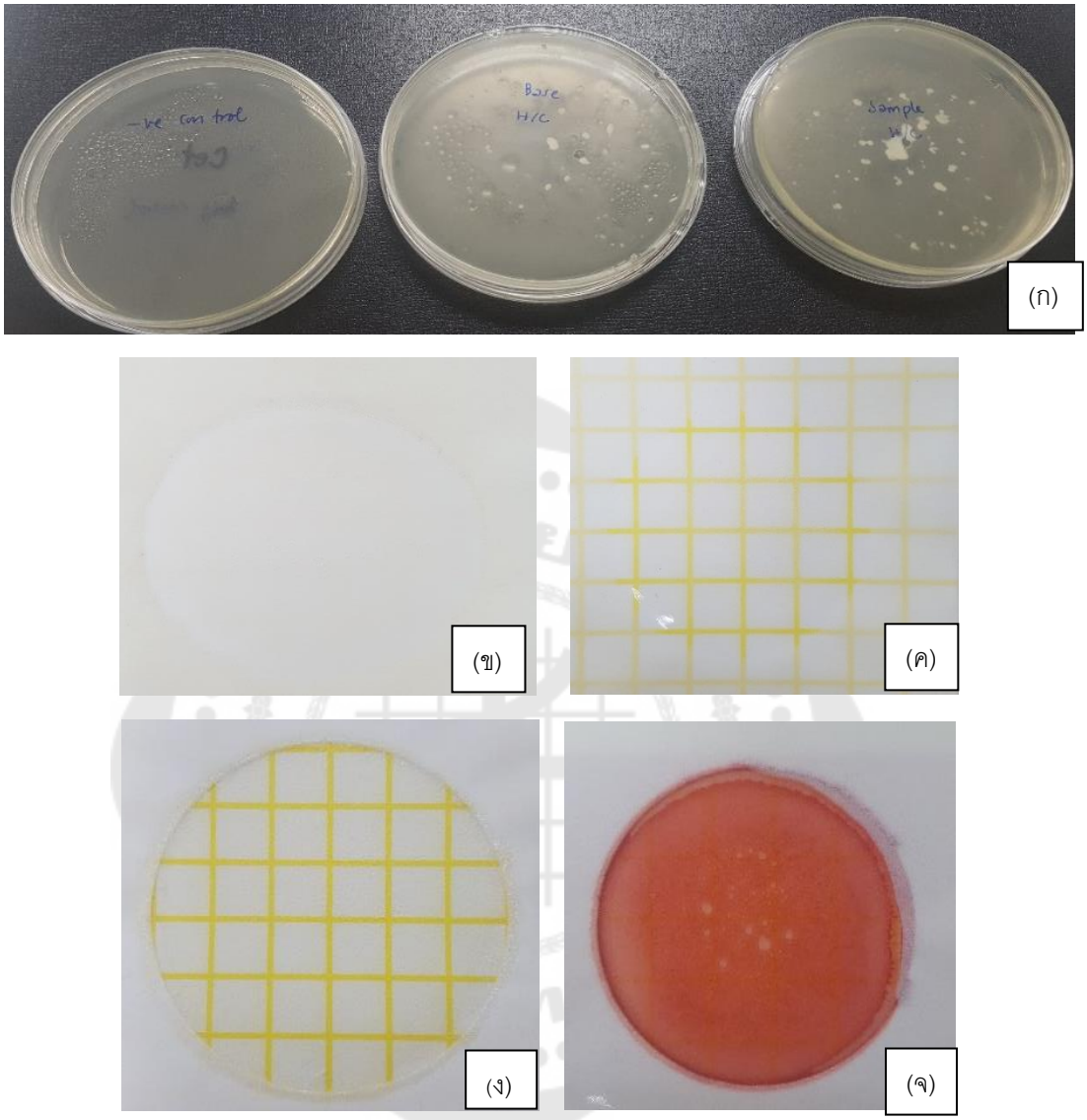
ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะครีมเบสและสูตรที่ 4 หลังผ่านสภาวะเร่ง

(ก) ครีมเบส หลังผ่านสภาวะเร่ง

(ข) ครีมสูตรที่ 4 หลังผ่านสภาวะเร่ง

5. **การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์** (microbial limit tests)

การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial limit tests) เพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้นำตำรับครีมสูตรที่ 4 มาหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการผลิตและคุณภาพหลังการผ่านการเก็บรักษาเนื่องจากเป็นตำรับที่มีความคงสภาพที่ดีและมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* ที่ดี โดยการทดลองครั้งนี้จะทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพตำรับครีมที่ได้รับการพัฒนาทดสอบ 2 n พบว่า ไม่มีลักษณะของโคโลนีแบคทีเรีย โคโลนียีสต์และราบนแผ่นทดสอบ ดังแสดงภาพประกอบที่ 12-13 สามารถกล่าวได้ว่า กระบวนการระหว่างการผลิตการเก็บรักษาโดยการจำลองผ่านสภาวะเร่งแบบ (heating – cooling cycle) ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพทั้ง แบคทีเรียต้องการอากาศ, ราและยีสต์, *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa*



ภาพประกอบ 12 แสดงลักษณะทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนผ่านสภาวะเร่ง

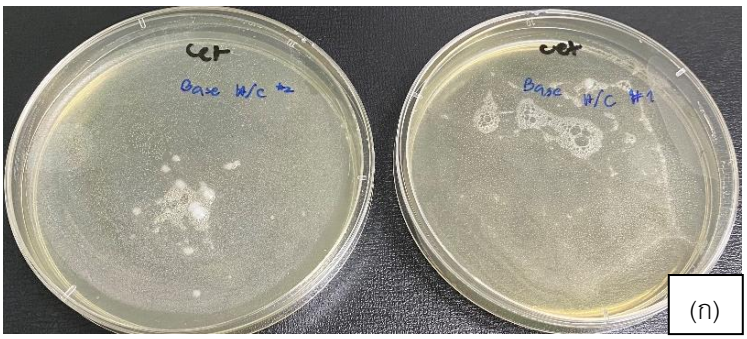
(ก) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa*

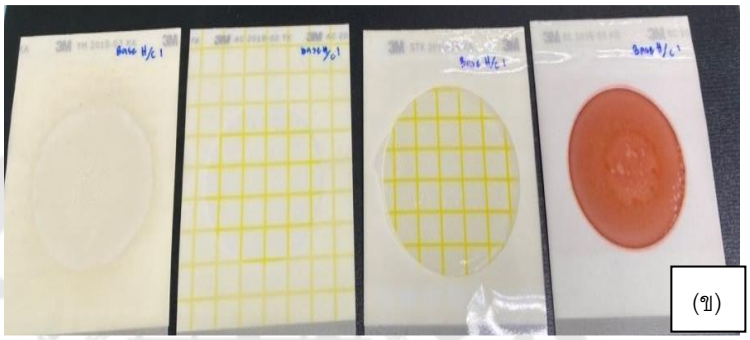
(ข) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ ราและยีสต์,

(ค) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียต้องการอากาศ

(ง) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

(จ) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *E. col*





ภาพประกอบ 13 แสดงลักษณะทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ หลังผ่านสภาวะเร่ง

(ก) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa*

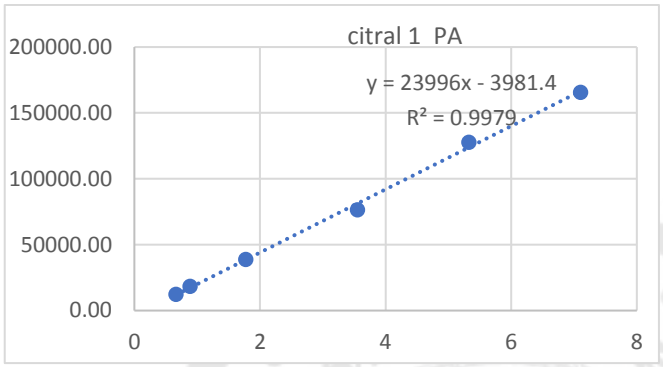
(ข) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ ราและยีสต์, *S. aureus*, แบคทีเรียต้องการอากาศ และ *E. coli*

6. **การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันด้วย** Gas chromatography- Flame ionization detector (GC-FID)

การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด พบว่า มีองค์ประกอบที่สามารถแสดง retention time และแสดงพีคได้ชัดเจนของน้ำมันตะไคร้คือ citral, และ geraniol น้ำมันตะไคร้หอมคือ citral, citronellal, และ geraniol เมื่อทราบสารที่สามารถตรวจพบแล้วจึงทำการเลือกสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ citral, citronellal, และ geraniol

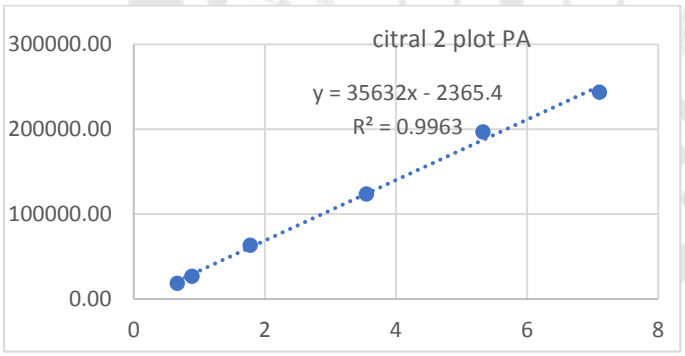
การสร้างกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรง

ผลการทดลองเป็นไปตามรูปภาพที่ 14-17 โดยนำข้อมูลมา plot กราฟระหว่างความเข้มข้นของ สารมาตรฐานแทนในแกน x และ peak area (PA) แทนในแกน y พร้อมหาสมการมาตรฐานและ ค่า R ดังตาราง 11



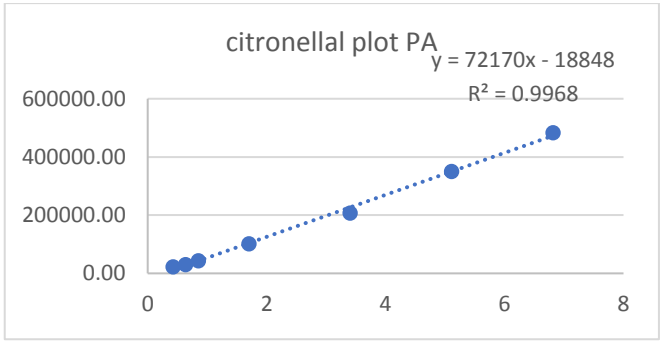
mg/ml	PA1
0.666	12260.37
0.888	18397.46
1.776	38856.41
3.552	76573.71
5.328	127882.88
7.104	165607.57

ภาพประกอบ 14 แสดงกราฟมาตรฐานของ citral พีคที่1



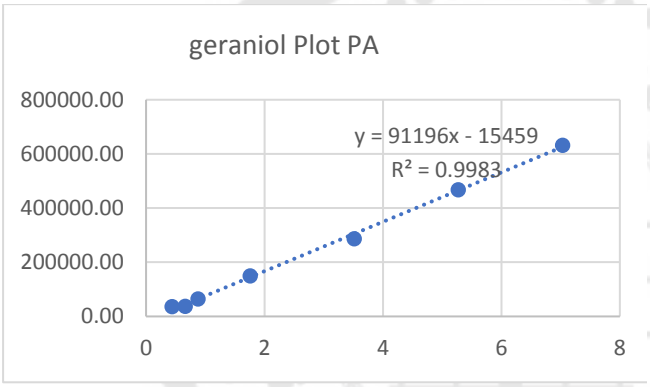
mg/ml	PA 2
0.666	18824.53
0.888	26936.76
1.776	63712.80
3.552	122694.43
5.328	196934.49
7.104	243664.59

ภาพประกอบ 15 แสดงกราฟมาตรฐานของ citral พีคที่ 2



mg/ml	PA
0.4259	21872.09
0.63885	30289.69
0.8518	42666.08
1.7036	101287.06
3.4072	207250.52
5.1108	349480.07
6.8144	483031.57

ภาพประกอบ 16 แสดงกราฟมาตรฐานของ citronellal



mg/ml	PA1
0.4395	36084.03
0.65925	37980.02
0.879	64549.45
1.758	150034.03
3.516	287210.26
5.274	467719.14

ภาพประกอบ 17 แสดงกราฟมาตรฐานของ geraniol

ตาราง 11 แสดงสมการเส้นตรง, ค่า R

ชื่อสาร	สมการเส้นตรง	R^2	R
citral 95%	y =23996x - 3981.4	0.9979	0.9988
	y = 35632x - 2365.4	0.9963	0.9981
gerniol 98%	y =91196x - 15459	0.9983	0.9991
citronellal 96%	y =72170x - 18848	0.9968	0.9983

ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (linearity) แสดงด้วยค่า correlation coefficient (R) โดยเกณฑ์ ที่ยอมรับ คือ R มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.9950 จากผลการทดลองในตารางที่ 11พบว่าค่า R ของสาร มาตรฐานทุกชนิดได้แก่ citral, geraniol และ citronellal ผ่านเกณฑ์การยอมรับ จึงถือว่ากราฟสมการเส้นตรงมีความสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรง (linearity)

การหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy)

เป็นค่าที่แสดงความใกล้เคียงกนระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้วิธีวิเคราะห์นั้นกับค่าที่ แท้จริงโดยรายงานด้วย %recovery ผลการทดลองแสดงดงตารางที่แสดง 12-15

ตาราง 12 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citral พีคที่ 1

added concentration mg/ml	found concentration mg/ml	mean found concentration	mean % recovery
2.22	2.699	2.510	113.062
	2.472		
	2.359		
4.44	4.925	4.732	106.571
	4.549		
	4.721		
6.66	6.457	6.269	94.123
	6.566		
	5.782		
	Mean % recovery	104.585	
	% SD	9.966	
	%RSD	9.529	

ตาราง 13 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citral พีคที่ 2

added concentration mg/ml	found concentration mg/ml	mean found concentration	mean % recovery
2.22	3.036	2.813	126.690
	2.779		
	2.622		
4.44	5.280	4.942	111.303
	4.726		
	4.820		
6.66	6.192	5.862	88.019
	6.285		
	5.109		
	Mean % recovery		108.671
	% SD		18.487
	%RSD		17.012

ตาราง 14 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ citronellal

added concentration mg/ml	found concentration mg/ml	mean found concentration	mean % recovery
2.1295	2.117	2.044	95.995
	2.028		
	1.988		
4.259	4.088	4.003	93.991
	3.861		
	4.060		
6.3885	5.984	6.133	95.998
	6.142		
	6.272		

ตาราง 14 (ต่อ)

added concentration mg/ml	found concentration mg/ml	mean found concentration	mean % recovery
	Mean % recovery	95.328	
	% SD	2.606	
	%RSD	2.734	

ตาราง 15 แสดงผลการวิเคราะห์ % recovery ของ geraniol

added concentration mg/ml	found concentration mg/ml	mean found concentration	mean % recovery
2.1975	2.422 2.288 2.341	2.350	106.962
4.395	4.512 4.250 4.515	4.426	100.703
6.5925	6.726 6.820 6.875	6.807	103.256
	Mean % recovery	103.640	
	% SD	3.620	
	%RSD	3.492	

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) แสดงด้วย % recovery โดยเกณฑ์ที่ยอมรับ % recovery อยู่ในช่วง 90 - 110% จากผลการทดลองในตารางที่ 12 - 15 พบว่า % recovery เฉลี่ยของสารมาตรฐานทั้งหมด ได้แก่ citral, citronellal และ geraniol ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับ จึงถือว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้อง (accuracy)

การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (precision)

การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday-precision) ผลการทดลองเป็นไปตามตารางที่ 16 โดยแสดงค่า %RSD แสดงผลการวิเคราะห์ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday-precision)

ตาราง 16 แสดงผลการวิเคราะห์ ภายในวันเดียวกัน (intraday-precision)

flask	citral พีคที่ 1	citral พีคที่ 2	citronellal	geraniol
1	3.7488	4.0858	3.4642	4.0119
2	3.7817	3.8953	3.5595	4.0950
3	3.5862	3.5106	3.5151	4.0435
4	3.2926	3.5621	3.4859	4.0174
5	3.3449	3.1743	3.4828	3.9807
6	3.0023	2.8611	3.4027	3.8958
mean	3.4594	3.5148	3.4850	4.0074
SD	0.3012	0.4509	0.0523	0.0667
%RSD	8.7064	12.8273	1.5007	1.6653

เกณฑ์การยอมรับ คือ %RSD มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.0 % โดยผลการทดลองในตารางที่ 16 พบว่า %RSD citral ไม่ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่ citronellal และ geraniol ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับ

การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) แสดงด้วยค่า % RSD ผลการทดลองเป็นไปตามตารางที่ 17 - 20

ตาราง 17 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citral พีคที่ 1

added concentration mg/ml	day	found concentration mg/ml	mean found concentration	(%RSD)
2.664	1	2.615	2.724	3.59
	2	2.753		
	3	2.803		
6.216	1	6.282	6.179	3.26
	2	6.308		
	3	5.947		

ตาราง 18 แสดงผลการวิเคราะห์ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citral พีคที่ 2

added concentration mg/ml	day	found concentration mg/ml	mean found concentration	(%RSD)
2.664	1	2.973	2.884	5.39
	2	2.705		
	3	2.976		
2.664	1	2.973	6.657	12.89
	2	2.705		
	3	2.976		

ตาราง 19 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน citronellal

added concentration mg/ml	day	found concentration mg/ml	mean found concentration	(%RSD)
	1	2.302	2.326	5.45
2.5554	2	2.213		
	3	2.463		
	1	5.767	6.002	3.56
5.9626	2	6.056		
		6.184		

ตาราง 20 แสดงผลการวิเคราะห์ ระหว่างวัน (interday-precision) ของสารมาตรฐาน geraniol

added concentration mg/ml	day	found concentration mg/ml	mean found concentration	(%RSD)
2.637	1	2.585	2.628	4.110
	2	2.751		
	3	2.548		
6.153	1	6.550	6.318	3.324
	2	6.261		
	3	6.142		

เกณฑ์การยอมรับ คือ %RSD มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5.0% จากผลการทดลองในตาราง 17 - 20 พบว่า %RSD ของ citral พีคที่ 1, geraniol ผ่านเกณฑ์ citral พีคที่ 2 และ citronellal เกินเกณฑ์มาตรฐานจึงถือว่าไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

การหาความจำเพาะในการวิเคราะห์ (specificity)

ตาราง 21 แสดงค่า retention time, retention time เฉลี่ย และ %RSD ของสารมาตรฐานเพื่อหาความจำเพาะ (specificity) ของวิธีวิเคราะห์

	time				
ข้อมูลที่	citral	citral 2	citronellal	geraniol	MeoH
1	14.41	15.01	11.91	16.08	4.03
2	14.41	15.00	11.90	16.07	4.04
3	14.40	14.99	11.89	16.06	4.03
4	14.4	15.00	11.91	16.07	4.03
5	14.4	14.99	11.91	16.07	4.04
6	14.4	14.99	11.92	16.07	4.05
7	14.4	15.00	11.93	16.08	4.05
8	14.4	14.99	11.94	16.08	4.05
9	14.4	14.99	11.93	16.08	4.04
10	14.39	14.98	11.91	16.06	4.03
ค่าเฉลี่ย	14.401	14.994	11.915	16.072	4.039
%RSD	0.00441	0.007265	0.015899	0.007071	0.00866

จากผลการทดลองในตารางที่ 21 พบว่าค่า retention time ของสารมาตรฐานทุกชนิดจะถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลาที่ ใกล้เคียงกันทุกครั้งโดยดูจากค่า %RSD นั่นคือวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการตรวจอย่างเฉพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยปราศจากการรบกวนจากสารอื่น

การหาปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (limit of detection, LOD) และการหาปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ตาราง 22 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และการหาปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ (LOQ)

สารมาตรฐาน		conc(mg/ml)	peak heigth	S/N
	LOD	0.2571	203.74	1:2
citral	LOQ	0.4285	911.13	1:0.9
	LOD	0.2571	155.02	1:1.5
citral 2	LOQ	0.4285	1380.99	1:13
	LOD	0.0851	310.15	1:3
citronellal	LOQ	0.4259	1709.52	1:17
	LOD	0.0879	739.29	1:7
geraniol	LOQ	0.1758	1001.88	1:10

LOD และ LOQ ของสารมาตรฐานทุกตัว เป็นความเข้มข้นที่เจือจางลงมาจากความเข้มข้นจุดต่ำสุดบนกราฟเส้นตรง นั่นคือการวิเคราะห์หาปริมาณสารในช่วงความเข้มข้นที่อยู่บนกราฟเส้นตรงจะให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ มีความถูกต้องแม่นยำ โดยจากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ LOD ของสารมาตรฐานมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.0851 – 0.2637 mg/ml และ LOQ ของสารมาตรฐานมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.1758 - 0.4285 mg/ml โดยพบว่า geraniol มี sensitivity มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ marker อื่น รองลงมาคือ citronellal และ citral ตามลำดับ เนื่องจากความเข้มข้นสารที่ต่ำ แต่มีความสามารถในการถูกตรวจจับได้ใกล้เคียงกันโดยดูจากค่า S/N ratio

7. **การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันด้วย** Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) **(นำส่งวิเคราะห์)**

พบว่าน้ำมันตะไคร้มีองค์ประกอบหลักคือ (Z) และ(E) 2,6-Octadienal,3,7-dimethyl หรือ (Z) และ(E) citral ปริมาณ 27.77 % และ32.50 % ตามลำดับ น้ำมันตะไคร้หอมมีองค์ประกอบ (2E)-3,7- dimethyl -2,6-Octadien-1-ol (geraniol) ปริมาณ 29.07 % รองลงมาคือ 6-Octenal 3,7-Dimethy (citronellal) 19.07 % และมี (Z)และ(E) citral ถึง13.87 % และ11.34 % หลักสอดคล้องกับงานวิจัยของ อเนก ภู่ทองและคณะ ที่ทำศึกษาและพบว่าองค์ประกอบหลักของ น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มี (z)-citral ถึง 37.55 %, 51.65 % และ Silva และคณะ ที่พบว่า (z)-citral เป็น acyclic monoterpene aldehydes ที่พบได้ 2 isomer คือ geranial (trans-citral) และ neral (cis-citral) (Silva, Guterres, Weisheimer, & Schapoval, 2008)และ งานวิจัยของ Kandimalla ที่ได้ทำการศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม *Cymbopogon nardus* L. (Poaceae) ในการป้องกันเชื้อ *C. albicans* และพบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมที่มี citral ถึง 38.75 %, 31.01 % อาจกล่าวได้ว่าปริมาณองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้และตะไคร้หอม ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมการเจริญเติบโตที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักได้ และเมื่อน้ำมันหอมระเหยผสมเป็นสูตรน้ำมันตามสัดส่วน พบว่าน้ำมันทั้ง 3 สูตรมีปริมาณสัดส่วนขององค์ประกอหลักทีเพิ่มขึ้นมาจากการรวมตัวของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่ามีปริมาณของ citral, citronellal และ geraniol ที่มากขึ้น จึงได้ทำการคัดเลือกสารมาตรฐานที่นำทดสอบวิธีวิเคราะห์ตามการทดลอง

ตาราง 23 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้

retention time (min)	chemecal name	% area
10.5935	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.887
10.7411	.beta.-Myrcene	4.0425
12.4182	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	1.5054
12.7836	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.8179
14.6621	Linalool	1.2843
16.2817	6-Octenal, 7-methyl-3-methylene-	0.4356
16.5792	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	0.4442
17.003	Isoneral	1.7372
17.4978	4,5,6,7-Tetrahydrophthalimidine	0.2921
17.6543	Isogeranial	2.3893
18.4629	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	0.1449
19.8969	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	27.7724
20.1649	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.2937
20.2879	(2E)-3,7- Dimethyl--2,6-octadien-1-ol	0.594
20.9877	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	32.5057
21.1278	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.193
21.2031	2,6-Dimethyl-2-octen-7-yn-6-ol	0.9292
22.2892	2(3H)-Benzofuranone, hexahydro-7a-methyl-3-methylene-, cis-(.+-.)-	0.6488
22.4997	trans-Geranic acid methyl ester	0.2322
22.9822	13-Heptadecyn-1-ol (cas)	0.2121
23.8294	Geranic acid	1.1079
24.156	8-hydroxymenthol	0.2735

ตาราง 23 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
24.4582	Geranyl acetate	2.5687
	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-	
24.7157	(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	0.2114
	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-	
25.5821	8-methylene-, (E)-(1R,9S)-(-)-	1.4453
26.079	trans-.alpha.-Bergamotene	0.3114
	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-	
26.3097	methylene-, [S-(R*,S*)]-	0.1251
	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-	
26.6384	tetramethyl-, Z,Z,Z-	0.3076
26.7245	cis-.beta.-Farnesene	0.207
	8-Iisopropyl-1-methyl-5- methylene -1,6-	
27.4893	cyclodecadiene	0.3208
	4a,8-Dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-	
27.564	1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	0.2846
27.7966	CADINENE	0.3254
28.0655	1.xi.,6.xi.,7.xi.-Cadina-4,9-diene	0.2129
	Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-	
28.2305	(1.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	0.4526
	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-,	
28.4857	(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	0.2475
28.7651	.delta.-Cadinene	0.9287

ตาราง 23 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
29.0098	trans-.Gamma.-bisabolene	0.1625
	(-)-5 Oxatricyclo [8.2.0.0(4,6)] dodecane,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-	
30.5164	(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	0.3552
31.1711	.alpha.-epi-7-epi-5-Eudesmol	0.1879
31.5819	Selin-6-en-4.alpha.-ol	6.9456
32.1881	.tau.-Muurolol	0.9601
32.312	Copaene	0.1713
32.5477	.alpha.-Cadinol	1.6889
32.668	(1S,4aS,7R,8aS)-1,4a-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)decahydronaphthalen-1-ol	1.3798
33.686	1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	0.8387
34.1688	2-Ethenyl-2,6-dimethylhept-5-enal	0.2115
34.8847	2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-	0.176
45.1843	Succinic acid, di(geranyl) ester	0.2308

ตาราง 24 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้หอม

retention time (min)	chemecal name	% area
10.5945	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.3495
12.0389	2,3-Dimethyl-4-penten-2-ol	0.0441
12.9857	2,6- dimethyl hept-5-en-1-al	0.3342
13.6812	4-Nonanone	1.4424
14.6687	Linalool	1.0192
14.7566	photocitral B	0.1094
15.7817	5-Hepten-1-ol, 2,6-dimethyl-	0.2192
	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, [1R-	
16.2777	(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]-	0.6953
16.4419	photocitral A	0.3461
16.738	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	19.0781
17.0181	Isoneral	0.188
17.6488	Isogeranial	0.4861
17.9338	1-Cyclooctene	0.1326
18.4441	Decanal	0.4373
19.4147	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	9.8187
19.8062	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	11.3412
	(1'R,2'S)-spiro[Methylenecyclopropane-2,2'-5'-	
19.8911	methylcyclohexanol]	0.1245
20.5032	(2E)-3,7- dimethyl -2,6-octadien-1-ol	29.0441
20.8877	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	13.8734
21.1028	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.1044
23.4717	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	1.2579
23.6154	3-Allyl-6-methoxyphenol	2.1909

ตาราง 24 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
24.4666	Geranyl acetate	3.2143
25.5778	Caryophyllene	0.674
26.4906	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	0.2898
27.4898	Germacrene D	0.3485
28.2345	Benzene, 1-methyl-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)-, (R)-	0.351
28.4905	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	1.1253
28.7644	.delta.-Cadinene	0.1797
29.0104	(Z)-1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-ylidene) cyclohex-1-ene	0.183
29.524	2-(4,8- dimethyl -3,7-cyclodecadien-1-yl)-2-propanol	0.4705
30.5197	(-)-5-Oxatricyclo [8.2.0.0(4,6)] dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	0.5273

ตาราง 25 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG1:CG1

retention time (min)	chemecal name	% area
10.5949	6-methyl-5-hepten2-one	0.6632
10.7329	.beta.-Myrcene	2.3593
12.4182	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.859
12.7854	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.4876
12.9864	2,6- dimethyl hept-5-en-1-al	0.2066
13.6758	4-Nonanone	0.8936
14.6661	Linalooll	1.1814
	(1R,2R,5S)-5-Methyl-2-(prop-1-en-2-yl)	
16.2787	cyclohexanol	0.6236
16.4382	trans-chrysanthemal	0.2103
16.6846	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	13.5239
17.01	Isoneral	1.0645
17.5051	4,5,6,7-Tetrahydrophthalimidine	0.1762
17.6514	Isogeranial	1.5844
18.4467	Decanal	0.3316
19.3857	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	3.8672
19.8445	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	19.2199
19.9018	5-Hepten-2-one, 3-isopropenyl-6-methyl-	0.3771
20.0017	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.1497
20.1609	Geraniol	0.3272
20.3735	Geraniol	10.3377
20.5178	Geraniol	0.3686
20.9196	3,7- dimethyl -2,6- Octadienal	21.8244
21.1822	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.3454

ตาราง 25 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
22.2817	2,6-Dimethyl-2-octen-7-yn-6-ol	0.2521
23.4623	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	0.7801
23.6017	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-	1.6681
24.4639	Geranyl acetate	3.146
24.715	1-Methyl-1-ethenyl-2,4-bis(1'-methylethenyl) cyclohexane	0.1787
25.5814	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (E)-(1R,9S)-(-)-	1.1539
26.0829	trans-.alpha.-Bergamotene	0.1537
26.4932	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (Z)-	0.1325
26.6393	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	0.1482
27.4908	8-isopropyl-1-methyl-5- methylene-1,6-cyclodecadiene	0.2925
27.7977	cadinene	0.1292
28.234	1-methy-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl) benzene	0.3947
28.4897	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	0.8054
28.7645	.delta.-Cadinene	0.623
29.0119	Trans-.gamma.-bisabolene	0.2053
29.5273	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	0.2853
30.5182	(-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	0.4464

ตาราง 25 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
31.5562	Selin-6-en-4.alpha.-ol	3.6613
31.5562	Selin-6-en-4.alpha.-ol	3.6613
32.1775	.tau.-Muurolol	0.3916
32.5419	.alpha.-Cadinol	0.6861
32.6592	(1S,4aS,7R,8aS)-1,4a-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl) decahydronaphthalen-1-ol	0.6029
33.6835	1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	0.2965
41.5876	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 4,7,7-trimethyl-, (1S)-	0.2927
42.1726	Bicyclo[3.2.1]octane, 1,5-dimethyl-	1.4064
44.3385	geranyl linalool isomer	0.885

ตาราง 26 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG3:CG1

retention time (min)	chemecal name	% area
10.5969	6- Methyl -5-hepten-2-one	0.7946
10.7383	.beta.-Myrcene	3.3292
12.4205	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	1.2478
12.7869	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.6961
13.6752	4-Nonanone	0.4879
14.6649	Linalool	1.2343

ตาราง 26 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
16.282	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-	0.5288
16.6417	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	8.36
17.0071	Isoneral	1.4406
17.5014	6-Methyl-5-vinyl-1,2,3,4-tetrahydro-2-pyridinone	0.2367
17.6537	Isogeranial	2.0591
18.4517	3-Oxatricyclo[4.1.1.02,4]octane, 2,7,7-trimethyl-	0.247
19.3556	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	0.7262
19.8586	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	22.9971
19.9048	Cyclopentane, 1-methyl-2-acetyl-3-(1-methylethenyl)-	0.7067
19.9757	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.7311
20.1588	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-	0.4379
20.2604	Geraniol	1.6638
20.9307	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	28.7701
21.1831	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	1.602
21.4904	Geraniol	0.1347
22.2858	6-Methoxy-7,7-dimethylcyclohepta-2,4-dien-1-one	0.5053
22.4976	2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester	0.2046
23.4601	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	0.405
23.5994	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-	0.8729

ตาราง 26 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
23.7185	Geranic acid	0.2684
24.4616	Geranyl acetate	2.8915
24.7157	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	0.195
25.5811	Caryophyllene	1.3372
26.0815	trans-.alpha.-Bergamotene	0.2048
26.639	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	0.258
26.7267	cis-.beta.-Farnesene	0.1481
27.4906	8-isopropyl-1- methyl -5-methylene-1,6-cyclodecadiene	0.3749
27.5655	4a,8-Dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	0.1549
27.7976	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-(.+/-.)-	0.3045
28.2319	Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	0.4376
28.4888	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	0.5348
28.7647	.delta.-Cadinene	0.7764
29.0115	(Z)-1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-ylidene)cyclohex-1-ene	0.1923

ตาราง 26 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-	
29.5274	(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	0.1694
	(-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-	
30.5191	trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	0.379
31.1716	.alpha.-epi-7-epi-5-Eudesmol	0.1232
31.5645	Selin-6-en-4.alpha.-ol	5.1281
32.1879	.tau.-Muurolol	0.5823
32.544	.alpha.-Cadinol	0.9609
	(1S,4aS,7R,8aS)-1,4a-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)	
32.662	decahydronaphthalen-1-ol	0.9034
	1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-	
33.6859	(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	0.4213
41.5886	1,5,9-decatriene, 2,3,5,8-tetramethyl-	0.1724
	2-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6-dimethyl-6-	
41.8371	(4-methyl-3-pentenyl)-	0.1371
42.175	Bicyclo[3.2.1]octane, 1,5-dimethyl-	1.5682
44.341	benzothiazole, 2-(2-propyn-1-ylthio)-	0.9569

ตาราง 27 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบของน้ำมันสูตรผสม LG1:CG3

retention time (min)	chemecal name	% area
10.5954	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.5733
10.7317	.beta.-Myrcene	1.5286
12.0395	2,3-Dimethyl-4-penten-2-ol	0.036
12.4191	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.5489
12.7859	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0.3036
12.9857	2,6- dimethyl hept-5-en-1-al	0.263
13.6795	4-Nonanone	1.1549
14.6718	linalool	1.1767
14.7584	photocitral B	0.0806
15.7752	(2S)-2,6-Dimethyl-5-hepten-1-ol	0.1626
16.2798	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]-	0.675
16.4428	photocitral A	0.274
16.7286	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	15.4446
17.0193	Isoneral	0.6967
17.395	2-((3,3-Dimethyloxiran-2-yl) methyl)-3-methylfuran	0.0975
17.5129	4-Nitroso-1-methoxybenzene	0.131
17.6565	Isogeranial	1.1925
17.9351	Cyclohexane, ethenyl-	0.1147
18.4474	Decanal	0.3889

ตาราง 27 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
19.428	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	5.7213
19.8533	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	15.3049
19.9049	(1'R,2'S)-spiro[Methylenecyclopropane-2,2'-5'-methylcyclohexanol]	0.2253
20.1657	Geraniol	0.4257
20.459	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-	15.2049
20.5527	Geraniol	0.7128
20.6221	Geraniol	0.3076
20.9339	3,7- dimethyl -2,6-octadienal	18.9544
21.1116	Geraniol	0.4422
21.1894	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.6487
22.2847	Geraniol	0.1605
23.4757	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	0.9613
23.6206	Eugenol	1.8796
24.4761	Geranyl acetate	3.1372
24.7175	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	0.1484
25.5859	Caryophyllene	0.9787
26.0886	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-	0.203
26.4991	trans-Isoeugenol	0.2088

ตาราง 27 (ต่อ)

retention time (min)	chemecal name	% area
26.6431	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	0.1302
	8-isopropyl-1-methyl-5-methylene-1,6-	
27.4933	cyclodecadiene	0.3115
27.801	Delta-Selinene	0.0865
28.2397	1-methyl-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl) benzene	0.3712
	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-	
	methylene-1-(1-methylethyl)-,	
28.4941	(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	0.9563
28.768	.delta.-Cadinene	0.4638
29.0155	trans-.gamma.-bisabolene	0.2107
	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-	
	trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-	
29.5318	(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	0.3544
	(-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-	
30.5212	9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	0.4961
31.5544	Selin-6-en-4.alpha.-ol	2.2687
32.1841	.tau.-Muurolol	0.2271
32.5443	.alpha.-Cadinol	0.4119
	(1S,4aS,7R,8aS)-1,4a-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-	
32.6606	yl)decahydronaphthalen-1-ol	0.3483
	1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-	
33.686	methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	0.1759
41.5875	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-	0.3691
41.8319	2-Octene, 2-methyl-6-methylene-	0.0308
42.1774	Bicyclo[3.2.1]octane, 1,5-dimethyl-	1.5527
44.3435	benzothiazole, 2-(2-propyn-1-ylthio)-	0.7665

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลวิจัย

การทดลองพบว่ามีปริมาณสารสกัดของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันตะไคร้หอม ที่ได้คิดเป็น 0.201 และ 0.608 ตามลำดับ %w/w และนำหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* และ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้น้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม สูตรผสม น้ำมันตะไคร้ ต่อน้ำมันตะไคร้หอมอัตราส่วน 1:1 อัตราน้ำมันตะไคร้ต่อน้ำมันตะไคร้หอมเป็น 3:1 น้ำมันตะไคร้ ต่อน้ำมันตะไคร้หอม 1:3, citral และ citronellal มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ *C. albicans* 0.0625, 0.0625, 0.015625, 0.015625, 0.03125, 0.03125 และ 0.03125 µg/ml ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ *S. aureus* 0.0625, 0.125, 0.125, 0.125, 0.125, 0.03125 และ 0.0625 µg/ml ตามลำดับ สูตรตำรับที่มีการเสริมฤทธิ์กันที่ดีที่สุดจากการคำนวณค่า ΣFIC พบว่าน้ำมันผสมระหว่างตะไคร้และตะไคร้หอมทุกสัดส่วนเสริมฤทธิ์กันในการยังยั้งเชื้อ *C. albicans* (ΣFIC< 1) แต่ทุกสัดส่วนต้านฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (ΣFIC >1) จากนั้นทำการเลือกน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมอัตราส่วน 1:3 มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบไมโครอิมัลชัน

เมื่อนำน้ำมันที่ได้มาพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบไมโครอิมัลชัน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังมีฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ดี จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าตำรับครีมน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมอัตราส่วน 1:3 ที่ผสมลงในตำรับครีมปริมาณ 20 เท่าของ MIC ที่ผ่านการทดสอบสภาวะเร่งด้วยขบวนการ (heating – cooling cycle) ทั้งหมด 6 cycle และพบว่า cream base ไม่เกิด clear zone แต่ครีมสูตรน้ำมันผสมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้โดยจะเห็นได้ว่าเกิด clear zone เฉลี่ย ของตำรับครีมก่อนเข้าสภาวะเร่ง เป็น 1.96 ซม. และหลังผ่านสภาวะเร่งเป็น 1.50 ซม. แสดงให้เห็นว่าตำรับค่อนข้างมีความคงสภาพ เนื่องจากหลังผ่านสภาวะเร่งพบว่า ตำรับยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* อยู่โดยประสิทธิภาพลดลงเล็กน้อย ในการทดลอง n = 3 แต่ละ n ทดสอบ 3 ซ้ำ มีค่าการยับยั้งเชื้อไม่แตกต่างกัน (p = 0.078) แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของตำรับครีมสูตรผสมสูตรที่ 4 มีความคงตัวที่ดีเนื่องจากน้ำมันทั้ง 2 ชนิด เสริมฤทธิ์กันในการยับยั้ง *C. albicans* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ เนื่องจากเมื่อผสมน้ำมันทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกันแล้ว เกิดการต้านฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

จากการทดลองเพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบหลักเครื่องมือ GC– MS และการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ของน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมด้วยเครื่องมือ GC– FID พบว่าน้ำมันตะไคร้และตะไคร้หอมที่ทำการกลั่นด้วยน้ำ โดยใช้พืชตัวอย่าง น้ำมันตะไคร้มีองค์ประกอบหลักคือ (Z) และ (E) 2,6-Octadienal,3,7-dimethyl หรือ (Z) และ(E) citral ปริมาณ 27.77 % และ32.50 % ตามลำดับ น้ำมันตะไคร้หอมมีองค์ประกอบ (2E)-3,7- dimethyl -2,6-Octadien-1-ol (geraniol) ปริมาณ 29.07 % รองลงมาคือ 6-Octenal 3,7-Dimethy (citronellal) 19.07 % และมี (Z)และ(E) citral ถึง13.87 % และ11.34 % ซึ่งคือสารประกอบหลักที่สามารถเกิด peak area ชัดเจนผ่านการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID และเมื่อนำน้ำมันทั้ง 2 ชนิดผสมกันตามสูตรข้างต้นพบว่ามีการพบปริมาณสาร citral, geraniol และcitronellal เพิ่มขึ้นจากผลโครมาโทรแกรม ที่ผ่านการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID และสอดคล้องกับปริมาณ % ที่เพิ่มขึ้นของ citral, geraniol และ citronellal ผ่านการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC– MS

การทดลองหาความน่าเชื่อมั่นคือวิธีวิเคราะห์ด้วยเกณฑ์มาตรฐาน ของ AOAC ของสารมาตรฐาน citral, geraniol และ citronellal พบว่า วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นยังคงต้องพัฒนาต่อ เนื่องจากการวิเคราะห์ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ภายในวันเดียวกัน (intraday-precision) และการวิเคราะห์ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ระหว่างวัน (interday-precision) เป็นค่า % RSD ของ citral ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้

ข้อเสนอแนะ

แนวทางสำหรับการดำเนินการแก้ไขปัญหาวิธีวิเคราะห์ที่ยังไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ อาจดำเนินด้วยการปรับเปลี่ยน method เพื่อให้อัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ทำให้สารมาตรฐานถูกชะออกได้ช้าลงและสามารถแยกพีคที่ชัดเจนขึ้น

บรรณานุกรม

Cho, N., Shaw, J., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J., Ohlrogge, A., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes research and clinical practice, 138, 271-281.

Hongratanaworakit, T., & Buchbauer, G. (2007). Chemical composition and stimulating effect of Citrus hystrix oil on humans. Flavour and fragrance journal, 22(5), 443-449.

Khonsung, P. (2012). ตะไคร้ Cymbopogon citratus (DC) Stapf. Thai Journal of Pharmacology, 34(2), 37-51.

Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Miles, J. M., & Fisher, J. N. (2009). Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. Diabetes care, 32(7), 1335-1343.

Lawrence, M. J., & Rees, G. D. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. Advanced drug delivery reviews, 45(1), 89-121.

Phasomkusolsil, S., & Soonwera, M. (2010). Insect repellent activity of medicinal plant oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles minimus* (Theobald) and *Culex quinquefasciatus* Say based on protection time and biting rate. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 41(4), 831.

Samarasekera, R., Kalhari, K. S., & Weerasinghe, I. S. (2006). Insecticidal activity of essential oils of Ceylon *Cinnamomum* and *Cymbopogon* species against *Musca domestica*. Journal of essential oil research, 18(3), 352-354.

Silva, C., Guterres, S., Weisheimer, V., & Schapoval, E. (2008). Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida spp*. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 12(1), 63-66.

Tadtong S, Suppawat S, Tintawee A, Saramas P, Jareonvong S, & Hongratanaworakit T. (2012). Antimicrobial activity of blended essential oil preparation. Natural Product Communications., 7(10), 1401-1404.

Tadtong S, Watthanachaiyingcharoen R, & Kamkaen N. (2014). Antimicrobial

constituents and synergism effect of the essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Alpinia galanga*. Natural Product Communications., 9(2), 277-280.

Tianchaigerdsilp T, & Thaniyavarn J. (2016). preparation of soybean oil emllsion from biosurfantant of Pichia anomala MUE24. Chulalongkorn University,

จักริช ชัยชัชวาล, & ทศพล ทราเจริญ. (2560). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยสูตรผสมที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลบรรจุในครีม. (ปริญญานิพนธ์ เภสัชศาสตรบัณฑิต). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ,

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. (2007). น้ำมันหอมระเหย และการใช้ในสุคนธบำบัด (โรงพิมพ์วิฑูรย์การปก Ed. พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ณัฐเศรษฐ์ น้ำคำ. (2018). การสร้างและหาประสิทธิภาพเครื่องกลั่นน้ำมันสมุนไพรขนาดเล็กสำหรับชุมชน. เทพสตรี I-TECH, 13(2), หน้า 81-90.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2550). การตรวจสอบและการแยกสารสำคัญจากสมุนไพร (พิมพ์ครั้งที่ 2 ed.). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย.

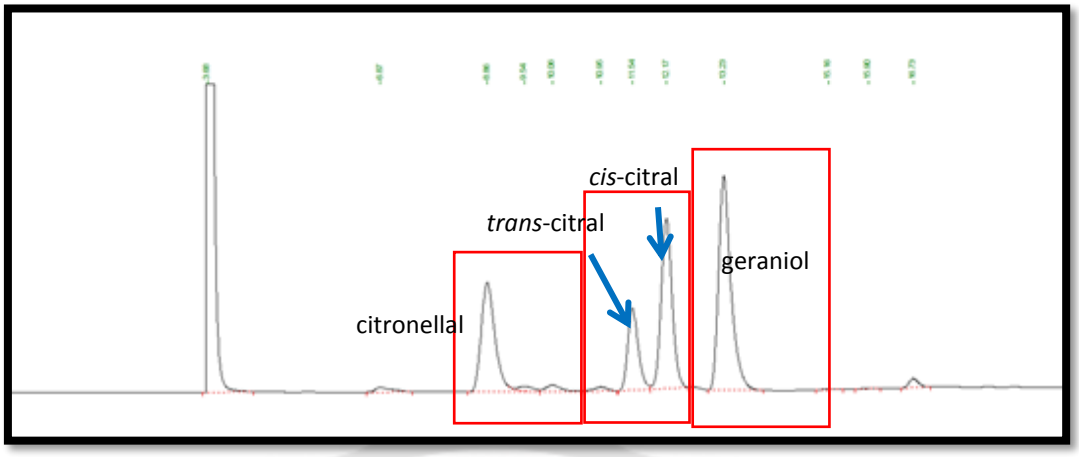
สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์, ก., กระทรวงสาธารณสุข, . (2013). Clinical Practice Guideline : Prevention and Management of Diabetic Foot Complications (ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

สุดเหมือนฝัน ธนธัญญา. (2005). น้ำมันหอมระเหย ใช้ทาป้องกันยุง. 312, 312-013. Retrieved from https://www.doctor.or.th/article/detail/2108

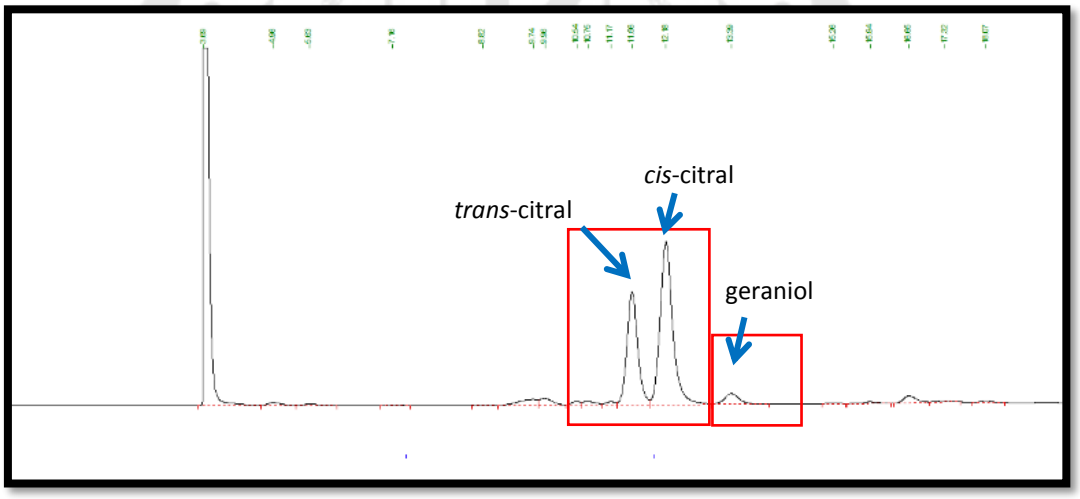
เอนก ภู่ทอง, จริย์สร สำอางค์ศรี, นุสรา ทรงมะลิลา, อรฤดี ขันติสิทธิพร, & สุวรรณา โควะวินทวีวัฒน์. (2012). ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต่อ *Candida albicans* สายพันธุ์ก่อโรค. Thai Science and Technology Journal, 20(4), 293-301.

ภาคผนวก

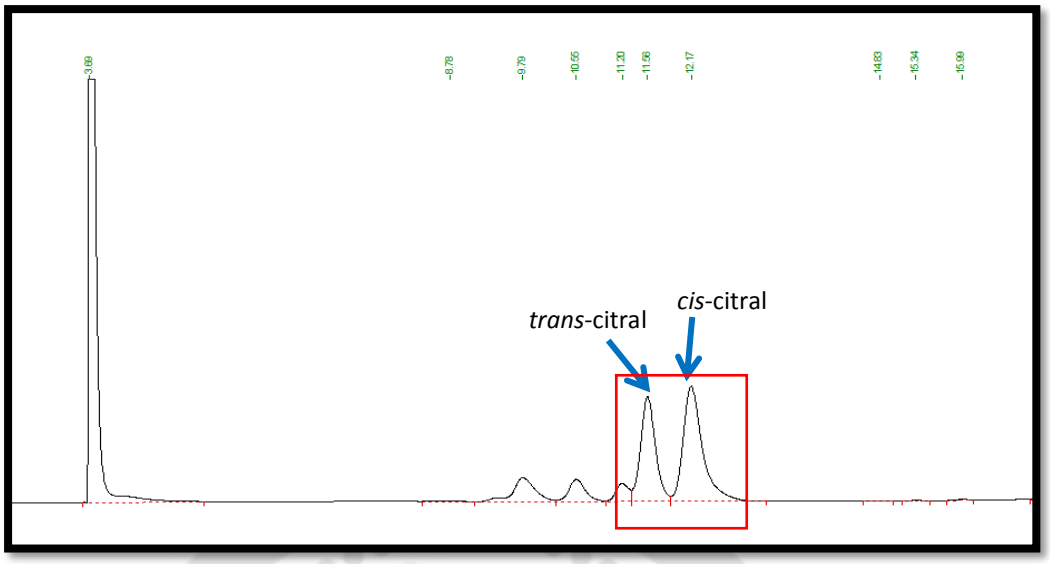
ภาคผนวก ก
ข้อมูลการวิจัย



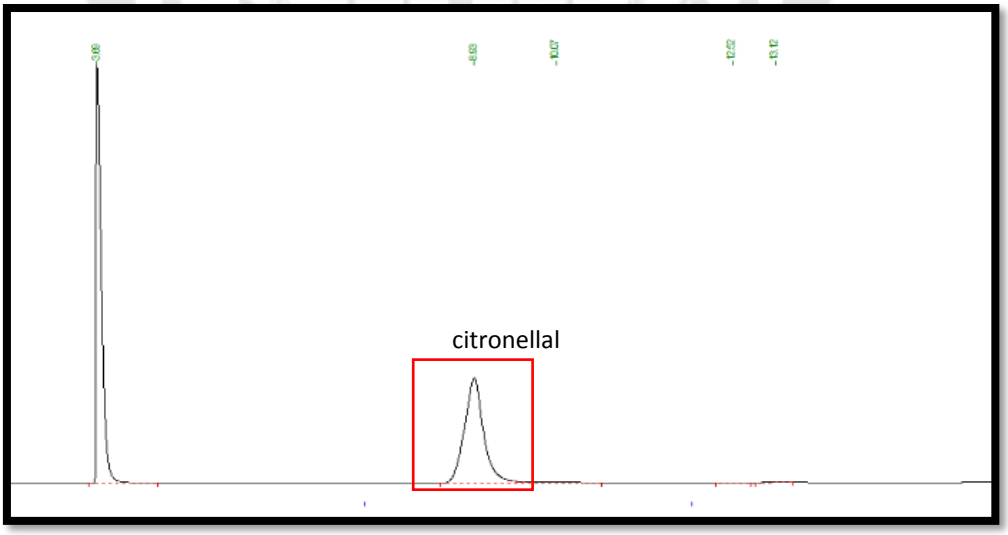
ภาพประกอบ 1 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันตะไคร้หอม วิเคราะห์ด้วย GC-FID



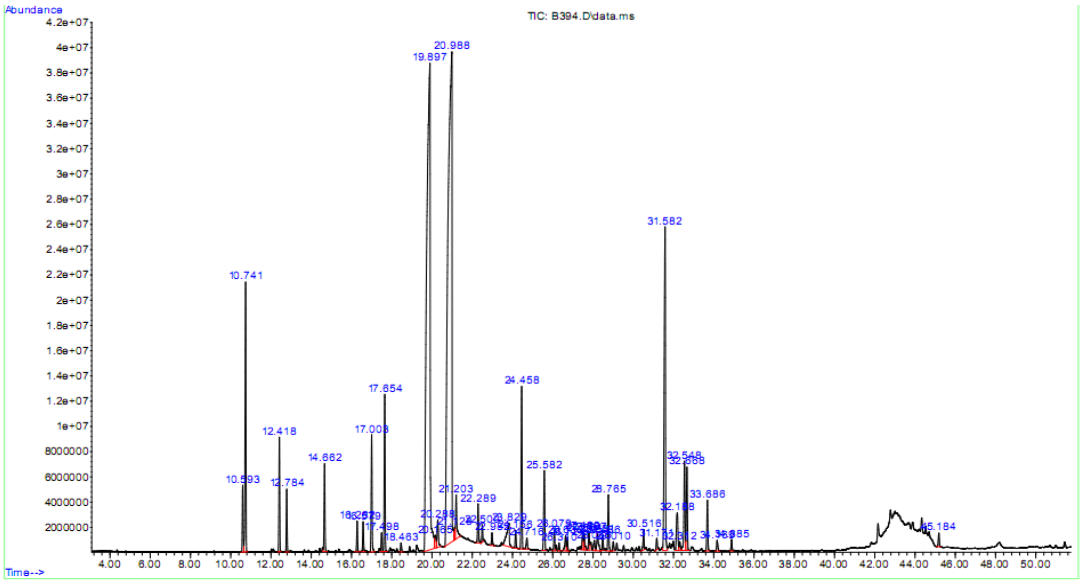
ภาพประกอบ 2 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันตะไคร้ วิเคราะห์ด้วย GC-FID



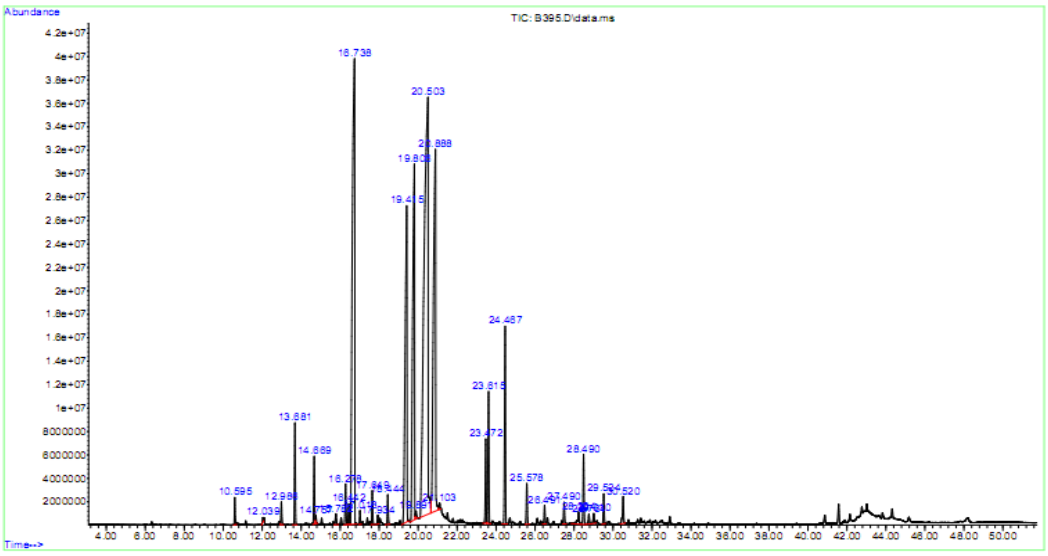
ภาพประกอบ 3 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของ citral (Sigma-Aldrich, USA) วิเคราะห์ด้วย GC-FID



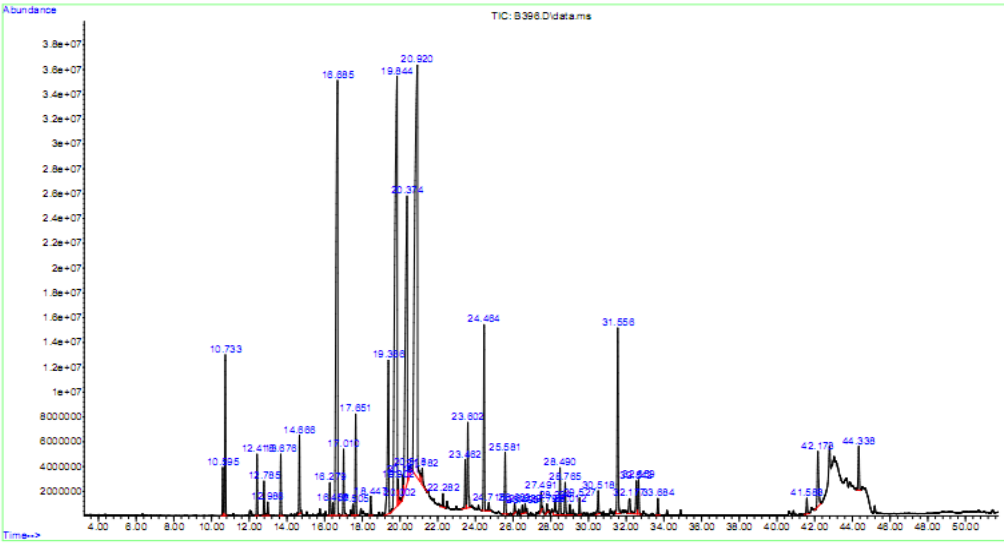
ภาพประกอบ 4 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของ citronellal (Sigma-Aldrich, Germany) วิเคราะห์ด้วย GC-FID



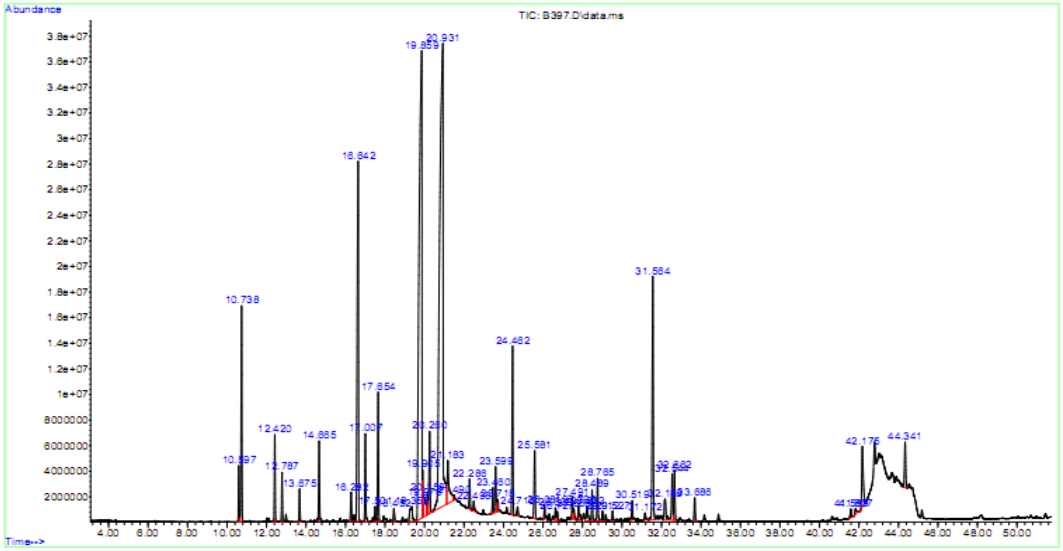
ภาพประกอบ 5 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันตะไคร้ วิเคราะห์ด้วย GC- MS



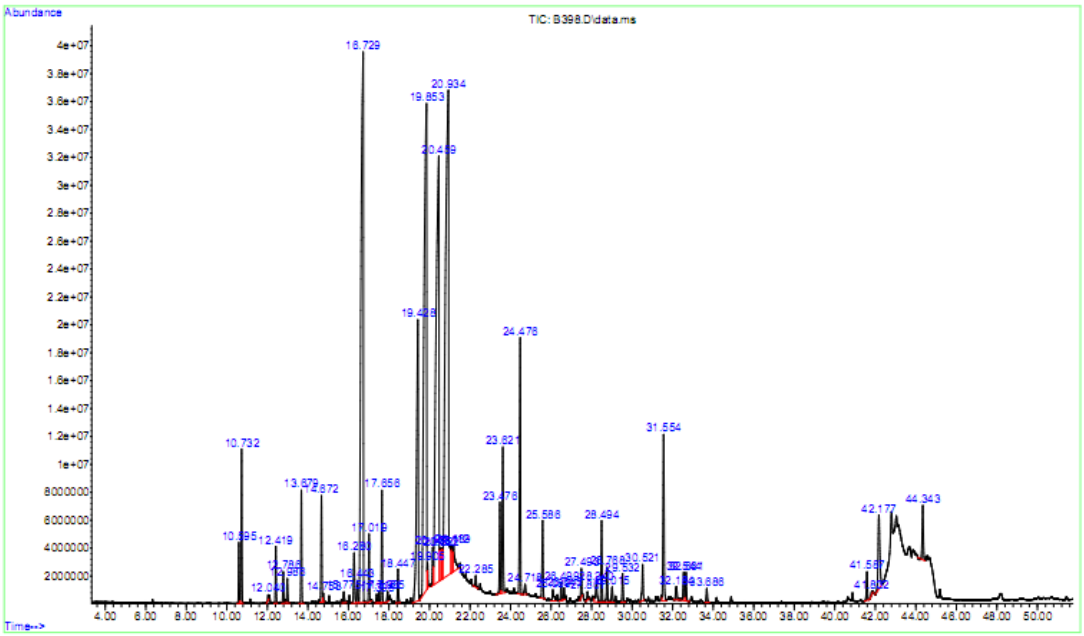
ภาพประกอบ 6 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันตะไคร้หอม วิเคราะห์ด้วย GC-MS



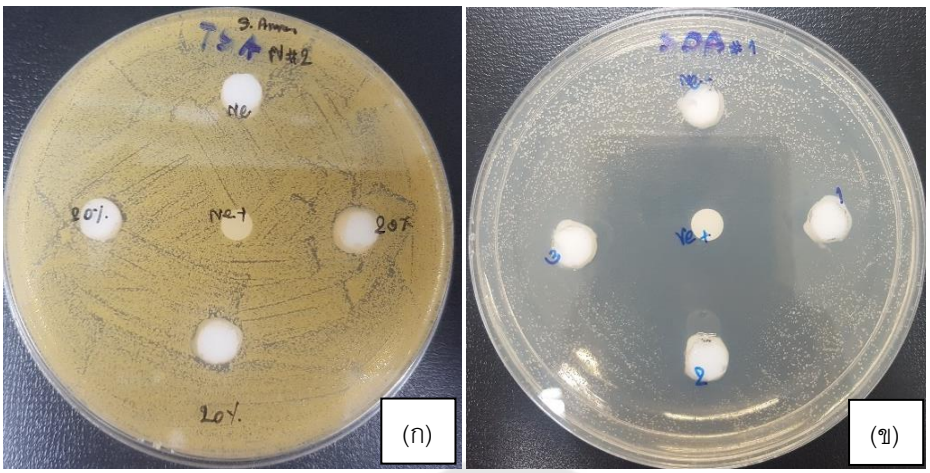
ภาพประกอบ 7 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันสูตรผสม 1:1 วิเคราะห์ด้วย GC-MS



ภาพประกอบ 8 โครมาโทรแกรม (chromatogram) ของน้ำมันสูตรผสม 3:1 วิเคราะห์ด้วย GC-MS



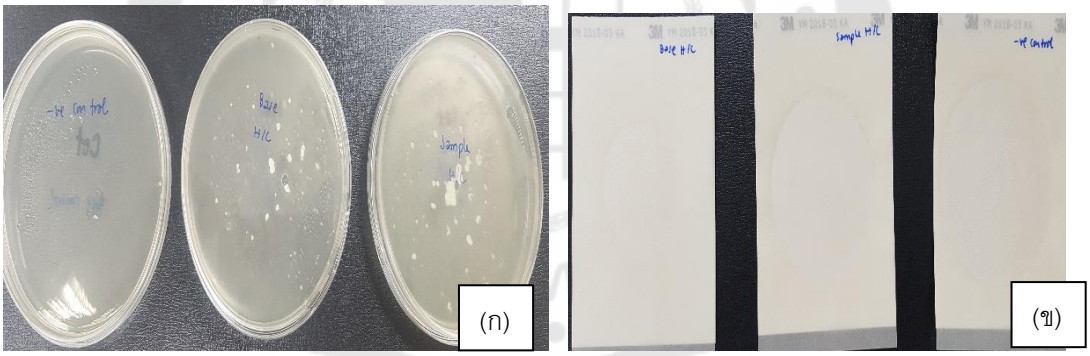
ภาพประกอบ 9 โครมาโทรแกรม (Chromatogram) ของน้ำมันสูตรผสม 1:3 วิเคราะห์ด้วย GC-MS

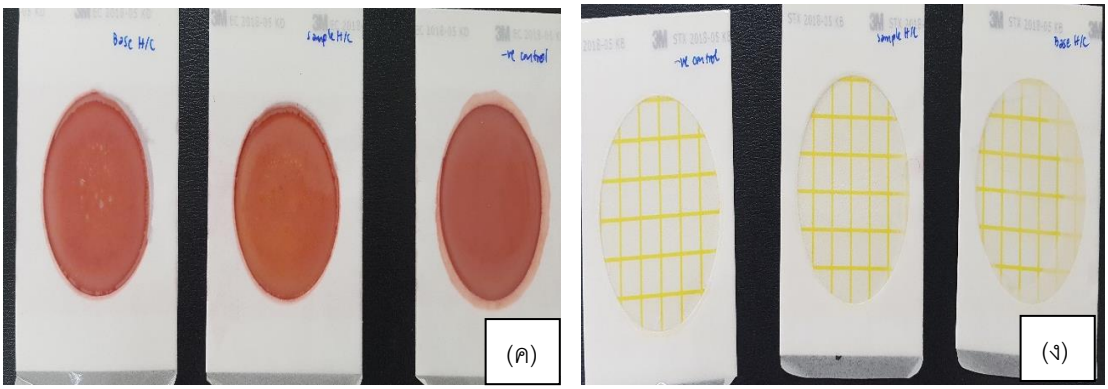


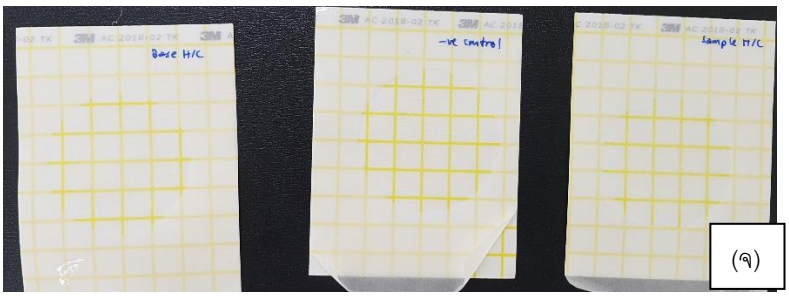
ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะ clear zone การยับยั้งเชื้อ วิธี agar disc diffusion ครีมสูตรที่ 4

(ก) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

(ข) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus*







ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หลังผ่านสภาวะเร่ง

(ก) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ P. aeruginosa

(ข) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราและยีสต์

(ค) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ E. coli

(ง) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ S. aureus

(จ) ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียต้องการอากาศ

ตาราง 1 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของน้ำมันตะไคร้

	ตะไคร้ n=1			ตะไคร้ n=2			ตะไคร้ n=3		
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	+	-	-	+	-	-	+	-	-
+VE(keto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 2 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ C. albicans ของน้ำมันตะไคร้หอม

	ตะไคร้หอม n=1			ตะไคร้หอม n=2			ตะไคร้หอม n=3		
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+VE(keto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 3 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันตะไคร้

	ตะไคร้ n=1			ตะไคร้ n=2			ตะไคร้ n=3		
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+VE(amoxil)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 4 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ S. aureus ของน้ำมันตะไคร้หอม

	ตะไคร้หอม n=1			ตะไคร้หอม n=2			ตะไคร้หอม n=3		
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	+	+	++	+	+	++	+	+	++
0.03125	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+VE(amoxil)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 5 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันสูตรผสม

	LG1:CG1 n=1			LG3:CG1 n=2			LG1:CG3 n=3		
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	++	++	++	+	-	+	+++	+++	+++
0.03125	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.01562	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.00781	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+VE(amoxil)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 6 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albican*s ของน้ำมันสูตรผสม

	LG1:CG1 n=1			LG3:CG1 n=2			LG1:CG3 n=3		
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.01562	-	-	-	-	-	-	-	+	+
0.00781	+	+	+	+	+	+	++	++	++
+VE(keto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 7 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของ citral (Sigma-Aldrich, USA)

	citral n=1			citral n=2			citral n=3		
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0325	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0125	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+VE(amoxil)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albican*s ของ citral (Sigma-Aldrich, USA)

	citral n=1			citral n=2			citral n=3		
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0325	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+VE(keto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 9 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของ citronellal (Sigma-Aldrich, Germany)

	citronellal n=1			citronellal n=2			citronellal n=3		
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0325	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.0125	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+VE(amoxil)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ตาราง 10 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ของ citronellal (Sigma-Aldrich, Germany)

	citronellal n=1			citronellal n=2			citronellal n=3		
0.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0325	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+VE(keto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
solvent	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
-VE	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	เกวลี ปทุมานนท์
วัน เดือน ปี เกิด	17 สิงหาคม 2534
สถานที่เกิด	จังหวัด สระบุรี
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2557 ปริญญาการแพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต (พท.ป.บ) จาก มหาวิทยาลัยเนศวร
ที่อยู่ปัจจุบัน	50/1 หมู่ 10 ตำบลหนองสรวง อำเภอวิหารแดง จังหวัดสระบุรี