ความคงตัวทางกายภาพและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อ Streptococcus mutans ของนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย

โดย
นางสาวศิริกาญจน์ เพ็งอ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ความคงตัวทางกายภาพและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อ Streptococcus mutans ของนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย

โดย

นางสาวศิริกาญจน์ เพ็งอ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

PHYSICAL STABILITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST STREPTOCOCCUS MUTANS OF NANOEMULSIONS CONTAINING VOLATILE OILS

By

Sirikarn Pengon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Program of Pharmaceutical Science

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2009

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ความคงตัวทางกายภาพและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อ *Streptococcus mutans* ของนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย” เสนอโดย นางสาวศิริกาญจน์ เพ็งอ้น เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..........เดือน.................... พ.ศ...........

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์
2. เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์

.... ประธานกรรมการ

(เภสัชกรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีย์ เจริญธีรบูรณ์)

............/......................../..............

.... กรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.ศรีสกุล สังข์ทองจีน)

............/......................../..............

.... กรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์)

............/......................../..............

.... กรรมการ

(เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์)

............/......................../..............

.... กรรมการ

(เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์)

............/......................../..............

51361208 : สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

คำสำคัญ : นาโนอิมัลชัน/ น้ำมันหอมระเหย/ การต้านเชื้อจุลินทรีย์

ศิริกาญจน์ เพ็งอ้น : ความคงตัวทางกายภาพและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อ *Streptococcus mutans* ของนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภก.รศ.ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์ และ ภญ.รศ.ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์. 134 หน้า.

สารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดโดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากพืช แสดงความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยมีข้อจำกัดในการใช้ เนื่องจากไม่เข้ากับน้ำและเข้ากันไม่ได้กับของเหลวในร่างกาย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแก้ปัญหาโดยการเปลี่ยนแปลงน้ำมันหอมระเหยให้อยู่ในรูปนาโนอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีความเข้ากันได้ดีกับน้ำ โดยได้ทำการศึกษาโดยใช้น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียมินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของนาโนอิมัลชัน ได้แก่ ชนิดและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารลดแรงตึงผิว (polyoxyethylene sorbitan monostearate (POS), PEG-40 hydrogenated castor oil (PGO), sodium lauryl sulphate (SLS) และ poloxamer (PLX)) การเตรียมนาโนอิมัลชันทำได้โดยการปั่นผสมส่วนของน้ำมันกับส่วนของน้ำ แล้วนำไปประเมินผลด้วยการวัดขนาดอนุภาค ประจุบนพื้นผิวของอนุภาคหยดน้ำมัน และคุณสมบัติความคงตัวทางกายภาพอื่น หลังจากนั้นนำสูตรที่เหมาะสมไปประเมินความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิวและน้ำมัน มีผลต่อความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน สูตรที่มีส่วนผสมของ PGO ได้อิมัลชันที่มีความคงตัวทางกายภาพดี และมีขนาดหยดน้ำมันอยู่ในช่วงนาโนเมตร ขนาดอนุภาคลดลงจาก 2.163 ไมโครเมตรเป็น 114 นาโนเมตร เมื่อเพิ่มปริมาณของ PGO จาก 1 เป็นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยได้แก่ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และ น้ำมันทีทรีมีความคงตัวทางกายภาพดี และมีขนาดหยดน้ำมันอยู่ในช่วงนาโนเมตรเมื่อเตรียมร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองในสัดส่วน 1:1 ส่วนสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของน้ำมันกานพลูแสดงการแยกชั้น (cracking) ของอิมัลชันหลังการเก็บ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีและความมีขั้วของน้ำมันหอมระเหยมีผลต่อความคงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน การศึกษาต่อมาได้นำอิมัลชันสูตรที่เหมาะสมไปประเมินผลการฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans* 104B ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว ซึ่งพบว่านาโนอิมัลชันแสดงผลการฆ่าเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณสมบัติของนาโนอิมัลชัน ความรู้ที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในอนาคตต่อไป

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา ....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1.. 2...

51361208 : MAJOR : PHARMACEUTICAL SCIENCES

KEY WORDS : NANOEMULSIONS/ VOLATILE OILS/ ANTIMICROBIAL ACTIVITY

SIRIKARN PENGON : PHYSICAL STABILITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST STREPTOCOCCUS MUTANS OF NANOEMULSIONS CONTAINING VOLATILE OILS. THESIS ADVISORS : ASSOC. PROF. SONTAYA LIMMATVAPIRAT, Ph.D., AND ASSOC. PROF. CHUTIMA LIMMATVAPIRAT, Ph.D. 134 pp.

Some herbal extracts, especially volatile oils from plants, demonstrated interesting antimicrobial activity. However, most of them have a limited application due to water immiscibility and incompatibility with body fluids. The purpose of the study was to solve the problems by conversion volatile oils into biocompatible oils in water (o/w) nanoemulsions. The volatile oils used in the study were clove oil, spearmint oil, peppermint oil, optamint oil, eucalyptus oil and tea tree oil. Factors affecting physical stability of nanoemulsions containing volatile oils such as types and amounts of volatile oils and surfactants (polyoxyethylene sorbitan monostearate (POS), PEG-40 hydrogenated castor oil (PGO), sodium lauryl sulphate (SLS) and poloxamer (PLX)) were investigated. The nanoemulsions were prepared by blending oil components with water phase and then evaluated for particle sizes, particle charges of oil droplets and other physical stabilities. The optimized formula was also tested for the antimicrobial activity. The results demonstrated that types and amounts of surfactants and volatile oils affected the physical stability. Formula containing PGO showed good physical stability and the droplet size was in nanometer range. The droplet size was decreased from 2.163 µm to 114 nm as increasing amount of PGO from 1 to 10 %w/w. Formula containing volatile oils such as spearmint oil, peppermint oil, optamint oil, eucalyptus oil and tea tree oil showed good physical stability and the droplet size was in nanometer range when combined with soybean oil at a ratio 1:1. However, formula containing clove oil showed cracking after storage. The result suggested that chemical components and polarity of clove oil affected physical stability of emulsion. The selected formula was determined for antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* 104B using broth dilution method. The nanoemulsions demonstrated 100% inhibition. The possible mechanism might be involved with the disruption of bacterial cell wall. In conclusion, the study demonstrated the crucial variables that determined the properties of nanoemulsions. The knowledge gain in this study could support the formulation of stable and effective antimicrobial nanoemulsions in the near future.

Program of Pharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic year 2009

Student's signature ……………….………..…

Thesis Advisors' signature 1……………..……..…………..…. 2………………………………..

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์เรื่อง ความคงตัวทางกายภาพและฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อ *Streptococcus mutans* ของนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย สำเร็จลงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากเภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.สนทยา ลิ้มมัทวาภิรัติ์ และเภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ รวมถึงการตรวจแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้อย่างสมบูรณ์ ผู้เขียนขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณเภสัชกรหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีย์ เจริญธีรบูรณ์, เภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และเภสัชกร รองศาสตราจารย์ ดร.ศรีสกุล สังข์ทองจีนที่ให้ความกรุณาเป็นประธาน และคณะกรรมการสอบในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรมที่สนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัยชิ้นนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คูวัฒนสุชาติ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตโชวิศาล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่เอื้ออำนวยเชื้อแบคทีเรียในงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ทุกท่านที่ให้ความรู้ ให้สถานที่ในการทำงานวิจัย และให้คำปรึกษาอย่างดีเสมอมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ (วท.ม.) และเพื่อนๆ พี่ๆ ที่อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีเภสัชกรรมทุกท่าน ที่ให้กำลังใจ ร่วมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณครอบครัว พ่อ แม่ และน้องสาว ที่คอยให้ทำปรึกษา และแนะนำในเรื่องต่างๆ รวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญตาราง		ญ
สารบัญภาพ		ฐ
บทที่		
1	บทนำ	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	5
	สมมติฐานของการศึกษา	5
	ขอบเขตของการศึกษา	5
2	ทบทวนวรรณกรรม	7
	โรคฟันผุ	7
	คราบจุลินทรีย์	7
	ส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์	7
	ชนิดของคราบจุลินทรีย์	9
	การสร้างคราบจุลินทรีย์	9
	การละลายของเคลือบฟันและเนื้อฟัน	12
	ลักษณะของฟันที่มีสุขภาพดีและฟันผุ	13
	ปัจจัยในการเกิดฟันผุ	16
	ความรู้พื้นฐานของแบคทีเรีย	16
	เชื้อแบคทีเรียในช่องปาก	19
	แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ	22
	การก่อโรคของ *Streptococcus mutans*	26
	อิมัลชัน	32
	ชนิดของอิมัลชัน	32
	ส่วนประกอบของอิมัลชัน	35
	กลไกการเกิดอิมัลชัน	36

บทที่ หน้า

สมบัติของอิมัลชันทางเครื่องสำอาง 37
ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน 40
นาโนอิมัลชัน 41
การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชัน 42
คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลชีพของนาโนอิมัลชัน 42
น้ำมันหอมระเหย 47
น้ำมันกานพลู (Clove oil) 49
น้ำมันสเปียร์มินต์ (Spearmint oil) 49
น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (Peppermint oil) 50
น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil) 50
น้ำมันทีทรี (Tea tree oil) 51
น้ำมันถั่วเหลือง (Soybean oil) 51
น้ำยาบ้วนปาก (Mouth Wash) 52
3 วิธีดำเนินการวิจัย 56
สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 56
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 57
วิธีดำเนินการวิจัย 58
การเตรียมอิมัลชัน 58
การประเมินทางกายภาพของอิมัลชัน 62
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคทางทันตกรรมของอิมัลชัน 64
4 ผลและอภิปรายผลของการศึกษา 65
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของอิมัลชัน 65
ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการเกิดอิมัลชัน 65
ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน 66
ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน 74
ผลของน้ำมันต่อการเกิดอิมัลชัน 83
ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน 83
ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชันของระบบที่
ประกอบด้วยน้ำมันเปปเปอร์มินต์ 91

บทที่ หน้า

ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน 100
การศึกษาความสามารถของอิมัลชันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทางทันตกรรม (*S. mutans*) 108
ผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ในนาโนอิมัลชันต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* 108
ผลของนาโนอิมัลชันจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* 110
5 สรุปผลของการศึกษาวิจัย 112

เอกสารอ้างอิง 113

ภาคผนวก 121

ประวัติผู้วิจัย 134

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การกระจายตัวของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในตำแหน่งต่างๆ ของช่องปาก	20
2	ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน	21
3	การกระจายตัวของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนตามตำแหน่งต่าง ๆ ในช่องปาก	22
4	ลักษณะภายนอกที่มองเห็นของอิมัลชันและขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายใน	32
5	ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่เวลา 10 และ 30 นาที	43
6	ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่เวลา 10 และ 30 นาที	44
7	แสดงผลการฆ่าเชื้อราชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่ 10 และ 30 นาที	46
8	สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของชนิดสารลดแรงตึงผิว	59
9	สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิว	59
10	สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของชนิดน้ำมันหอมระเหย	61
11	สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน	61
12	สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกันในสัดส่วน 50:50 ต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน	62
13	แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ	122
14	แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน	122
15	แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	122
16	แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ	123

ตารางที่		หน้า
17	แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	123
18	แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ	124
19	แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ	124
20	แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	124
21	แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ	125
22	แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	125
23	แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ	126
24	แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ	126
25	แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	127
26	แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ	127
27	แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	128
28	แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ	128
29	แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ	128
30	แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	129
31	แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ	129
32	แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ	130
33	แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (1x)	131

ตารางที่ หน้า

34 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (10x) 131

35 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (100x) 132

36 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (1x) 132

37 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (10x) 133

38 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (100x) 133

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเกาะของโปรตีนกับผิวฟันโดยมีแคลเซียมเป็นสะพาน	8
2	การเกาะของแบคทีเรียกับเยื่อฉาบฟัน	10
3	ชนิดของฟันผุ	12
4	Structure of Healthy Tooth	13
5	White Spots	14
6	Enamel Decay	14
7	Dentin Decay	15
8	Pulp Involvement	15
9	โครงสร้างของแบคทีเรียโดยสังเขป	17
10	ผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ	19
11	แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมหรือรีต่อกันเป็นสายสั้นหรือยาว (Streptococci)	23
12	โคโลนีของ *Streptococcus mutans*	24
13	โคโลนีของ *Streptococcus sobrinus*	24
14	แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง อาจเป็นแท่งสั้นหรือยาว (Lactobacillus)	26
15	โครงสร้างพอลิเมอร์กลูแคนที่ละลายน้ำ	28
16	โครงสร้างพอลิเมอร์กลูแคนที่ไม่ละลายน้ำ	28
17	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไพรูเวตเป็นแลกเทตโดยเอนไซม์ LDH	29
18	ความสามารถในการสร้างกรดของ streptococci สายพันธุ์ต่าง ๆ ในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0)	30
19	ความสามารถในการสร้างกรดของ streptococci สายพันธุ์ต่าง ๆ ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 5.0)	30
20	water-in-oil emulsion และ oil-in-water emulsion	33
21	ลักษณะนาโนอิมัลชันของ aceclofenac ที่ถ่ายภาพด้วย TEM (Transmission Electron Microscope)	42

ภาพที่ หน้า

22 กราฟแสดงผลการฆ่าเชื้อไวรัสของนาโนอิมัลชัน (BCTP) โดยที่ความเข้มข้น 10% และ 1% ปรากฏผลการฆ่าเชื้อ vaccinia, influenza A และ *Herpes simplex virus* ได้ 100% ในเวลา 15 นาที 45

23 ภาพถ่ายจากกล้อง Electron microscopy ของเชื้อ influenza A ที่ผสมกับนาโนอิมัลชัน 45

24 Kinetics ของการฆ่าเชื้อ *Candida albicans* ด้วยนาโนอิมัลชันความเข้มข้น 1% และ 10% ที่เวลาต่างๆ โดยมี BHI medium เป็นตัวควบคุม 46

25 ภาพถ่ายจากกล้อง Electron microscopy ของ *Candida albicans* ที่ผสมกับนาโนอิมัลชัน 47

26 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันโดยศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว........... 58

27 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันโดยศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย 60

28 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง.................................... 67

29 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์.................................... 67

30 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง 68

31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารลดแรงตึงผิว (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน 68

32 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x) 70

ภาพที่ หน้า

33 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 71

34 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 73

35 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 74

36 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10% โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง.. 76

37 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10% โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ 76

38 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10% โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง............................. 77

39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของ PGO (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน 77

ภาพที่ หน้า

40 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 % โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x) 79

41 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 % โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 80

42 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 % โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 81

43 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 % โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 82

44 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 84

45 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ 85

46 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง 85

ภาพที่		หน้า

47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน 86

48 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x) 87

49 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 88

50 แสดงค่าความหนืดของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) . 89

51 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 90

52 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 91

ภาพที่ หน้า

53 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และP6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 93

54 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และP6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ 94

55 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง 94

56 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน 95

57 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x) 96

58 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 97

ภาพที่		หน้า

59 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 98

60 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 99

61 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : optamint oil, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์.. 101

62 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ 102

63 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง 102

64 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน 103

ภาพที่ หน้า

65 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x).. 104

66 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 105

67 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง 106

68 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง.. 107

69 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส, V6 : น้ำมันทีทรี, positive control : 0.2%CPC และ negative control : อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลือง) ที่ความเข้มข้นต่างๆ................ 109

ภาพที่		หน้า

70 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : optamint oil, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส, F6 : น้ำมันทีทรี, positive control : 0.2%CPC และ negative control : อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลือง) ที่ความเข้มข้นต่างๆ 111

71 กราฟมาตรฐานเชื้อ *Streptococcus mutans* 104B 130

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคฟันผุเป็นโรคในช่องปากที่พบได้ตั้งแต่วัยเด็กจนถึงวัยผู้ใหญ่ ถือเป็นปัญหาสาธารณสุขที่พบได้ทั่วไปในหลายภูมิภาคในประเทศไทย สาเหตุของโรคฟันผุนั้นเกิดจากคราบจุลินทรีย์ (microbial plaque) ที่มีอยู่ในช่องปากโดยทั่วไป การละลายของฟัน หรือ hydroxyapatite ทำให้ฟันเปื่อยและหลุดออก เกิดเป็นโพรงฟันผุ การละลายนี้จะมีการดึงเอาแคลเซียมออก (chelation) ด้วย lactate ซึ่งวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องอาศัยสภาวะที่เป็นกรด และการละลายฟันโดยเอนไซม์ของแบคทีเรียทำลายสารอินทรีย์ที่แทรกอยู่ระหว่าง hydroxyapatite ทำให้ hydroxyapatite หลุดออกไปง่าย หรือแบคทีเรียมีเอนไซม์ที่สามารถดึงเอาฟอสเฟตออกไปจาก hydroxyapatite ทำให้มีการสลายของฟัน (พวงเพ็ชร เดชะประทุมวัน 2536 : 9-17) แต่ก็ยังไม่มีผลการวิจัยที่สนับสนุนเพียงพอ จึงยังคงเชื่อทฤษฎีที่ว่ากรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นละลาย hydroxyapatite เหตุผลที่สนับสนุนทฤษฎีนี้คือ การค้นพบคราบจุลินทรีย์เมื่อมีน้ำตาล จะมี pH ในคราบจุลินทรีย์ต่ำกว่า 5.5 อยู่ระยะหนึ่ง การสำรวจ pH รอบๆ บริเวณฟันผุจะมี pH ต่ำกว่าบริเวณที่ไม่ผุ และการสำรวจแบคทีเรียในช่องปากพบว่า ในคนที่มีอัตราการเกิดฟันผุสูงมี *Streptococcus mutans* และ Lactobacilli สูงกว่าคนที่มีอัตราการเกิดฟันผุต่ำ และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถผลิตกรดได้มากอย่างรวดเร็ว (รวี เถียรไพศาล 2550 : 99)

เชื้อที่เป็นสาเหตุหลักของโรคฟันผุ คือเชื้อ *S. mutans* ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสและคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดแลกติก (lactic acid) ที่สามารถย่อยสลายแร่ธาตุบริเวณผิวฟันได้ (demineralization) โดยกลไกการก่อโรคของเชื้อ *S. mutans* นั้นประกอบด้วยกลไกหลัก 3 ประการคือ ความสามารถในการยึดเกาะกับผิวฟัน ความสามารถในการสร้างกรดและความสามารถในการทนกรด ซึ่งกลไกทั้ง 3 นี้ จะส่งเสริมให้เชื้อ *S. mutans* สามารถเจริญอยู่ในช่องปากได้ แม้สภาวะในช่องปากจะมีความเป็นกรดต่ำ ในขณะที่ในสภาวะกรดนั้นจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของเชื้ออื่น (รวี เถียรไพศาล 2550 : 97-104)

อิมัลชัน (emulsions) จัดเป็นระบบที่ไม่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ (thermodynamically unstable system) ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อยสองชนิดซึ่งไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (immiscible liquid) โดยของเหลวชนิดหนึ่งเป็นหยดของของเหลวที่กระจายอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เรียกของเหลวที่กระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ ว่า "วัฏภาคภายใน" (dispersed phase หรือ discontinuous phase หรือ internal phase) ส่วนของเหลวที่มีลักษณะต่อเนื่องนั้นเรียกว่า "วัฏภาคภายนอก" (continuous phase หรือ external phase) (เกษร จันทร์ศิริ 2551 ; Wright 1996 : 6-8 ; Hamouda et al. 2001 : 1-7) ตัวทำอิมัลชันส่วนใหญ่มักเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ซึ่งโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic หรือ oleophobic) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic หรือ oleophilic) ระบบอิมัลชันที่ใช้มีอยู่ 2 ระบบคือ ระบบน้ำในน้ำมัน (w/o emulsion) และระบบน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) แต่ระบบที่นิยมใช้จะเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ เนื่องจากเข้าได้ดีกับน้ำสามารถล้างออกได้ง่าย และสามารถใช้ในการนำส่งยาได้หลายชนิด (Shah, Bhalodia and Shelat 2010 : 24-32) นอกจากนี้แล้วระบบอิมัลชันยังมีความน่าสนใจในการนำมาใช้ เนื่องจากมีรายงานเกี่ยวกับการนำระบบอิมัลชันมาใช้ประโยชน์ในการฆ่าเชื้อได้หลายชนิด เช่น *Candida albicans, Candida tropicalis, Microsporum gypseum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Aspergillus fumigates, Bacillus subtillis* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น โดยอิมัลชันจะเข้าไปรวมตัวกับเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ แล้วทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์แตก (Shah et al. 2010 : 24-32) อีกทั้งการเตรียมสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อให้อยู่ในรูปอิมัลชันนั้นยังช่วยลดความเป็นพิษและความระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อเมือกให้น้อยลงอีกด้วย (Myc et al. 2002 : 195-201 ; Chepurnov et al. 2003 : 315-320 ; Allaker and Douglas 2009 : 8-13 ; Kentish et al. 2008 : 170-175)

อิมัลชันที่สามารถใช้ในการฆ่าเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ควรเป็นอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าระดับไมโครเมตร คือมีขนาดหยดของของเหลวอยู่ในช่วง 200-600 นาโนเมตร เนื่องจากจะเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกับเชื้อให้มากขึ้น นาโนอิมัลชันเป็นอิมัลชันขนาดเล็กกว่าระดับไมโครเมตร ในการเตรียมนาโนอิมัลชันนั้นจำเป็นต้องให้พลังงานเข้าไปในระบบและต้องอาศัยเครื่องมือที่มีคุณสมบัติเฉพาะ ได้แก่ homogenizer, ultrasonic vibration และ high-pressure homogenizer (Wright 1996 : 6-8 ; Myc et al. 2002 : 195-201 ; Kentish et al. 2008 : 170-175 ; Jafari et al. 2008 : 1191-1202) เพื่อให้เกิดการกระจายอนุภาคของเหลวชนิดหนึ่ง เช่น น้ำมัน ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เช่น น้ำ และต้องใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มากพอในการเตรียม (Liedtke et al. 2000 : 183–185) โดยสารลดแรงตึงผิวแบ่งได้เป็นหลายกลุ่ม ขึ้นอยู่กับประจุไฟฟ้าบนส่วนหัว

ที่ละลายน้ำได้ดี (hydrophilic head) สำหรับส่วนหางจะไม่รวมกับน้ำแต่สามารถละลายในน้ำมันได้ดี (hydrophobic tail) สามารถแบ่งสารลดแรงตึงผิวออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่

1. Anionic surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head ให้ประจุลบ ส่วนมากแสดงอยู่ในรูป carboxylate, sulfate หรือ phosphate สารลดแรงตึงผิวประเภทผงซักฟอก ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด น้ำยาล้างชาม เป็นต้น

2. Cationic surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head ให้ประจุบวก ส่วนมากมักจะเป็นพวก quaternary สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้ไม่สามารถทำงานได้ในสภาวะที่เป็นด่างสูง (pH 10-11) เนื่องจากเกลือแอมโมเนียมีการสูญเสียประจุบวก ทำให้เกิดการตกตะกอนได้ สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะทำให้เกิดการระคายเคืองมากกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทแรก นิยมใช้ในพวกน้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีมนวดผม และผลิตภัณฑ์จัดแต่งทรงผม เป็นต้น

3. Nonionic surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ โดยมีพวก polyether หรือ polyhydroxyl เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติคล้ายพวกที่มีประจุ ใช้มากในผงซักฟอก น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว เป็นต้น

4. Amphoteric surfactant หรือ Zwitterions เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head สามารถให้ได้ทั้งประจุบวกและประจุลบ โดยจะแสดงคุณสมบัติประเภทใดขึ้นกับสภาพความเป็นกรด-ด่างของสภาวะแวดล้อม ถ้าสภาวะแวดล้อมเป็นด่าง (pH>7) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head จะให้ประจุลบ ถ้าสภาวะแวดล้อมเป็นกรด (pH<7) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head จะให้ประจุบวก และในสภาวะที่เป็นกลางจะไม่เกิดการให้ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic head สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับผิวหรือผม ปัจจุบันยังมีการนำมาใช้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวประเภทอื่น (Holmberg et al. 2003 : 8-22)

สารลดแรงตึงผิวที่นิยมนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ในช่องปากและผิวหนัง ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม nonionic surfactant โดยเฉพาะสารในกลุ่มอนุพันธ์ของ polyoxyethylene castor oil เช่น Cremophor®RH40 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีรสขม สามารถใช้ในการละลายวิตามินหรือน้ำมันหอมระเหยได้ดี อีกทั้งยังไม่เป็นพิษและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ต่อสิ่งมีชีวิตอีกด้วย (Rowe, Sheskey, and Owen 2006 : 572-579)

นาโนอิมัลชันเป็นระบบที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ทางเภสัชกรรม เช่น ใช้เป็นระบบนำส่งยา (drug delivery system) โดยเฉพาะยาที่มีการละลายต่ำ เนื่องจากพบว่านาโนอิมัลชันจะช่วยเพิ่มการละลายของยาและเพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยา เช่น etoposide methotrexate และ fluorocarbon ซึ่งได้มีการนำนาโนอิมัลชันมาใช้เตรียมยาที่ใช้ทางตา ทางผิวหนัง หรือเป็นยารับประทาน เช่น ยาลดความดันโลหิต (antihypertensive drugs) และยาต้านอักเสบ (anti-

inflammatory drugs) เป็นต้น (เกษร จันทร์ศิริ 2551 ; Chepurnov et al. 2003 : 315-320 ; Hibbard 2005 : 194-207 ; Allaker and Douglas 2009 : 8-13) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่านาโนอิมัลชันสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ได้หลากหลายสายพันธุ์ โดยมีคุณสมบัติในการเลือกทำลายเฉพาะเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์โปรคาริโอต และไวรัส แต่ไม่มีผลในการทำลายเซลล์ยูคาริโอตซึ่งเป็นเซลล์เนื้อเยื่อของมนุษย์ (Chepurnov et al. 2003 : 315-320)

สารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดโดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรแสดงความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ปัจจุบันนี้มีการนำสารสกัดจากพืชมาใช้เป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก ซึ่งสารที่สกัดได้จากพืชนั้นจะเป็นสารพวกอะโรมาติกหลายชนิด ส่วนมากจะเป็นสารจำพวกฟีนอล และอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งสารทั้งหมดนั้นเป็นเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากพืชและมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) ได้แก่ phenol และ phenolic acids, quinines, flavonoids, tannins และ coumarins, terpenoids, alkaloids และ lectins ได้มีการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากโดยเฉพาะน้ำยาบ้วนปากทดแทนการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ สารเคมีเหล่านั้นได้แก่ povidone iodine, chlorhexidine และ cetylpyridinium chloride ตัวอย่างพืชหรือสารสกัด (extract) จากพืชที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ มิสวาก (miswak) ซึ่งเป็นกิ่งไม้จากต้น *Salvadora persica* ซึ่งชาวมุสลิมนิยมใช้ทำความสะอาดฟัน น้ำมันทีทรี (tea tree oil) เป็นน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่สกัดได้จากใบของต้น *Melaleuca alternifolia* น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (peppermint oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากใบของต้นสะระแหน่ *Mentha piperita* (หรือรู้จักกันในชื่อ *M. balsamea* Willd.) สารสกัดจากใบชาเขียว (green tea) *Camellia sinensis* และน้ำผึ้งมานูก้า (manuka honey) เป็นน้ำผึ้งที่ได้จากต้น *Melaleuca* spp. เป็นต้น ในปัจจุบันนิยมนำน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดเหล่านี้มาใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปากเพื่อเพิ่มฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อก่อโรคฟันผุและโรคเหงือกอักเสบ (Allaker and Douglas 2009 : 8-13) มีรายงานว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกันหลายชนิดจะช่วยเสริมฤทธิ์กัน และลดอาการข้างเคียงจากการระคายเคืองผิวหนังได้ นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษต่ำต่อผิวหนังและช่องปาก (Price 1998 : 144-147)

จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าระบบนาโนอิมัลชันนั้น เป็นระบบที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ อีกทั้งยังเป็นระบบที่ค่อนข้างปลอดภัย มีผลข้างเคียงต่อเนื้อเยื่อของมนุษย์ต่ำ จึงเป็นระบบที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามระบบนาโนอิมัลชันยังเป็นระบบที่มีความคงตัวน้อย ยังไม่ค่อยได้รับการพัฒนา และยังไม่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายนักในการนำมาเตรียมเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อและน้ำยาบ้วนปาก นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีงานวิจัยจำนวนมากที่ทำการศึกษาถึงสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* งานวิจัยนี้จึงสนใจ

ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยในรูปนาโนอิมัลชันโดยศึกษาถึงปัจจัยในด้านต่าง ๆ เช่น ชนิดของน้ำมัน ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของน้ำมันหอมระเหยในรูปนาโนอิมัลชัน เพื่อเป็นประโยชน์ในการเตรียมและพัฒนานาโนอิมัลชันที่มีความคงตัวและมีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรค อีกทั้งยังใช้เป็นทางเลือกในการออกแบบน้ำยาฆ่าเชื้อและน้ำยาบ้วนปากเพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมภายในประเทศต่อไป

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว (polyoxyethylene sorbitan monostearate (POS), PEG-40 hydrogenated castor oil (PGO), sodium lauryl sulphate (SLS) และ poloxamer (PLX) ต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ

2. การศึกษาชนิดของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันสเปียร์มินต์, น้ำมันเปปเปอร์มินต์, น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีต่อความคงตัวของระบบอิมัลชัน

3. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชัน

สมมติฐานของการศึกษา

1. ปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของน้ำมัน (น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันกานพลู และน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี) ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (POS, PGO, SLS และ PLX) มีผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันและสามารถเตรียมอิมัลชันที่มีความคงตัวได้

2. อิมัลชันที่เตรียมได้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans*

ขอบเขตของการศึกษา

1. น้ำมันที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน

น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันกานพลู และน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี

2. สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน

POS, PGO, SLS และ PLX

3. ศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และสภาวะเร่งโดยสลับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กับ 45 องศาเซลเซียส 6 รอบ

4. ศึกษาลักษณะทางกายภาพได้แก่ ขนาดอนุภาคของหยดน้ำมัน ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวอนุภาค ความหนืด และค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน โดยวิธีต่อไปนี้

4.1 ขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันวัดโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค

4.2 ค่าความหนืดโดยใช้เครื่อง Brookfield Digital Viscometer

4.3 ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวอนุภาควัดโดยใช้เครื่อง Zeta plus

4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่างวัดโดยใช้เครื่อง pH meter

5. ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบคือ เชื้อ *Streptococcus mutans* 104B (*S. mutans*) ด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution) โดยทดสอบอิมัลชันที่ไม่เจือจาง เจือจาง 10 และ 100 เท่าตามลำดับ

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

โรคฟันผุ

โรคฟันผุเป็นโรคในช่องปากที่พบได้ตั้งแต่วัยเด็กจนถึงวัยผู้ใหญ่ สาเหตุของโรคฟันผุนั้นเกิดจากคราบจุลินทรีย์ (microbial plaque) โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียที่อยู่ในคราบจุลินทรีย์นั้นก็มักเป็นจุลินทรีย์ปกติในช่องปากนั่นเอง

คราบจุลินทรีย์

คราบจุลินทรีย์หมายถึงแผ่นคราบที่มีจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ นอกจากนั้นก็จะเป็นสารพวกอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ คราบจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ทุกแห่งในช่องปาก มักพบบนส่วนที่แข็ง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว ลิ้นกวาดไปไม่ถึง และทำความสะอาดได้ไม่เพียงพอ ซึ่งพบมากบนฟัน ซอกฟัน ฟันปลอม และบนวัสดุอุดฟัน คราบจุลินทรีย์ในบริเวณต่าง ๆ ประกอบด้วยแบคทีเรียต่างชนิดกันไป และเนื่องจากคราบจุลินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ บางครั้งเราอาจเรียกว่า คราบแบคทีเรีย หรือคราบฟัน (dental plaque)

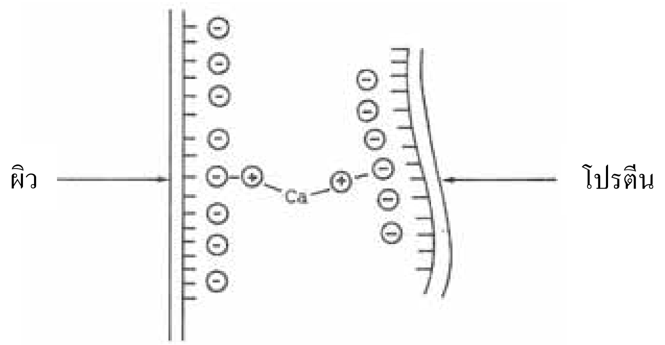
คราบจุลินทรีย์มีลักษณะนุ่มหนืด ยึดติดกับผิวเคลือบฟัน หรือเคลือบรากฟัน โดยคราบจุลินทรีย์ที่เกิดใหม่จะหลุดออกได้ถ้าแปรงฟันถูกวิธีและทั่วถึง ซึ่งการแปรงฟันแบบธรรมดาทั่วไปจะไม่สามารถขจัดคราบจุลินทรีย์เก่าออกได้ คราบจุลินทรีย์จะมีสีขาวขุ่นจนถึงสีเหลืองอ่อน ขึ้นอยู่กับความเก่าของคราบจุลินทรีย์

ส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์

คราบจุลินทรีย์มีส่วนประกอบสำคัญ คือ

1. เยื่อฉาบฟัน (acquired pellicle)
2. จุลินทรีย์ (microbial)
3. สารยึดเซลล์ (intercellular matrix)
4. สารอื่น ๆ เช่น สารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์

เยื่อฉาบฟัน (acquired pellicle) มีลักษณะบางใสฉาบรอบฟัน เกิดจากโปรตีน (protein) และไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ในน้ำลาย โดยผิวฟันจะดูดซับโปรตีนจากน้ำลาย การดูดซับนั้นเกิดจากปฏิสัมพันธ์ไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ผิวฟันที่แห้งสะอาดมีประจุลบ โปรตีนที่อยู่บนผนังเซลล์ของแบคทีเรียก็มีประจุลบเช่นกัน ดังนั้นการเกิดอันตรกิริยาจะต้องมีไอออนบวกเป็นสะพาน และไอออนนั้นก็คือแคลเซียม (ภาพที่ 1) เยื่อฉาบฟันนี้เกิดรวดเร็วมาก เกิดได้ภายในไม่กี่นาทีหลังแปรงฟัน เยื่อฉาบฟันจะทำหน้าที่ป้องกันฟันจากอันตรายของสารที่อยู่รอบฟัน เช่น การกัดกร่อนจากกรดที่แบคทีเรียผลิตขึ้นในปาก และป้องกันไม่ให้แบคทีเรียเกาะกับเคลือบฟัน แต่แบคทีเรียบางชนิดก็จะเกาะเยื่อฉาบฟันได้ดี และมีการแบ่งตัวบนเยื่อฉาบฟัน จึงเป็นการเริ่มต้นของการเกิดคราบจุลินทรีย์



ภาพที่ 1 การเกาะของโปรตีนกับผิวฟันโดยมีแคลเซียมเป็นสะพาน
ที่มา : พวงเพ็ชร เดชะประทุมวัน, <u>สารต้านฟันผุและสารลดคราบจุลินทรีย์</u> (กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536), 12.

จุลินทรีย์ (microbial) จุลินทรีย์ในคราบจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มักเป็นแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่สำคัญได้แก่ Streptococcus, Actinomyces, Neisseria และ Bacteroids คราบจุลินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรียประมาณ 70-80% นอกจากแบคทีเรียแล้วก็ยังมีเชื้อรา (fungi) โปรโตซัว (protozoa) และไวรัส (virus) เล็กน้อย

แบคทีเรียสามารถยึดกับฟันโดยตรงได้ พบที่บริเวณหลุมและร่องฟัน แต่ส่วนใหญ่จะเกาะกับเยื่อฉาบฟัน ในระยะเริ่มเกิดคราบจุลินทรีย์ แบคทีเรียที่พบได้มากที่สุด คือ Streptococcus โดย Streptococcus หลายสายพันธุ์สามารถผลิตกรดในคราบจุลินทรีย์ได้

สารยึดเซลล์ (intercellular matrix) เมื่อแบคทีเรียเกาะบนเยื่อฉาบฟัน จะเกิดการแบ่งตัวแบคทีเรียที่เกาะบนเยื่อฉาบฟันได้ง่าย ได้แก่ Streptococcus โดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียสำคัญในการสร้างสารยึดเซลจากน้ำตาลซูโครส คือ dextrans หรือ glucans ซึ่งมีความ

เหนียวและจะทำหน้าที่คล้ายกาวยึดให้คราบจุลินทรีย์ติดอยู่กับผิวฟัน และยึดเซลล์แบคทีเรียไว้ด้วยกันและยังเป็นที่เกาะของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น

สารอื่น ๆ ได้แก่ เซลล์บุผิว (epithelium) ที่หลุดลอกออกมา สารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ได้จากน้ำลาย และจากการทำลายของแบคทีเรีย สารอนินทรีย์ต่างๆ เช่น calcium, phosphate และ hydroxyapatite

ชนิดของคราบจุลินทรีย์

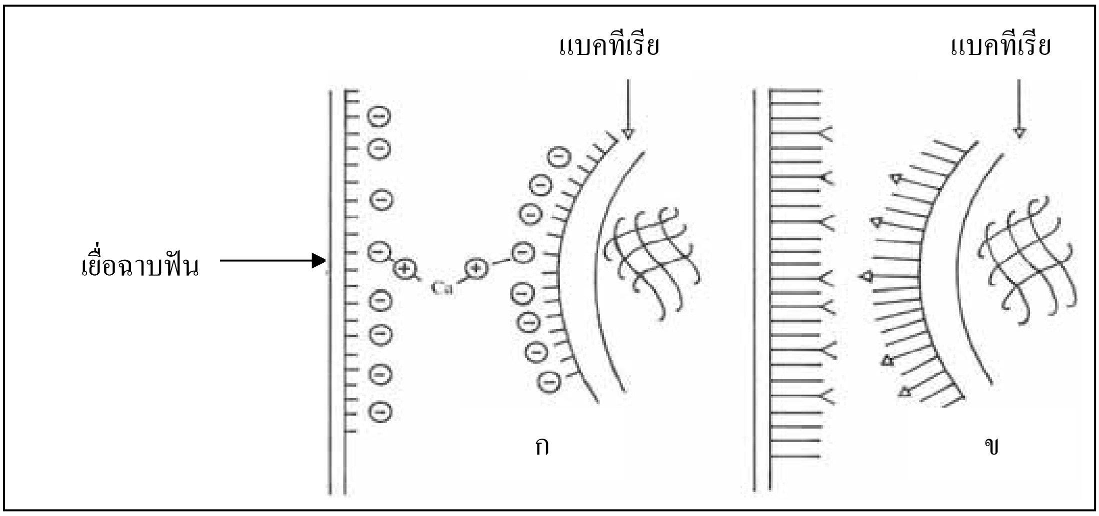
คราบจุลินทรีย์แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามตำแหน่งที่เกิดขึ้น ได้แก่ คราบจุลินทรีย์ที่อยู่เหนือเหงือก (supragingival plaque) และคราบจุลินทรีย์ที่อยู่ใต้เหงือก (subgingival plaque) การเจริญของคราบจุลินทรีย์ที่อยู่ใต้เหงือกนั้นจะช้ากว่าคราบจุลินทรีย์ที่อยู่เหนือเหงือก

การสร้างคราบจุลินทรีย์

การสร้างคราบจุลินทรีย์ โดยทั่วไปคราบจุลินทรีย์จะประกอบด้วย เยื่อฉาบฟัน แบคทีเรียและอาหาร โดยเฉพาะโปรตีนและคาร์โบไฮเดรท สามารถแบ่งการเกิดคราบจุลินทรีย์ออกเป็น 3 ระยะคือ

1. การเกาะยึดของแบคทีเรียกับฟัน หรือเยื่อฉาบฟัน
2. การแบ่งตัวอย่างรวดเร็วของแบคทีเรีย
3. การขยายตัวเป็นคราบจุลินทรีย์บนฟัน

การเกาะของแบคทีเรียบนเยื่อฉาบฟัน จะต้องยึดให้คงที่อยู่และมีการแบ่งตัว โดยอาศัย 2 วิธี คือ วิธีแรกจะเหมือนกับการจับของโปรตีนกับผิวของฟัน คือผิวของเยื่อฉาบฟันจะมีประจุลบ ผิวของแบคทีเรียก็มีประจุลบ การยึดจะผ่านสะพานไอออนของแคลเซียม ซึ่งมีประจุตรงข้าม (ภาพที่ 2.ก) ด้วยเหตุนี้จะมีแรงคอยดันให้ออกจากกัน แบคทีเรียจะต้องช่วยด้วยการยื่นส่วนของเซลล์ (appendages) ไปจับอีกแรงหนึ่งเพื่อให้อยู่แน่น วิธีที่ 2 คือ บนผิวของเยื่อฉาบฟัน จะมีลักษณะพิเศษพอเหมาะคล้ายการจับกับรีเซปเตอร์ (receptor) ซึ่งจะสวมได้พอเหมาะกับโปรตีนที่อยู่บนผิวของเซลล์แบคทีเรีย หรือแบบแม่กุญแจกับลูกกุญแจ (ภาพที่ 2.ข)



ภาพที่ 2 การเกาะของแบคทีเรียกับเยื่อฉาบฟัน ก. โดยมีแคลเซียมเป็นสะพาน ข. โดยวิธี receptor
ที่มา : พวงเพ็ชร เดชะประทุมวัน, สารต้านฟันผุและสารลดคราบจุลินทรีย์ (กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536), 13.

ระยะแรกที่แบคทีเรียเริ่มแบ่งตัว จะขยายต่อเรียงกันเป็นเซลล์ชั้นเดียว เรียงเซลล์ต่อเซลล์ ดังนั้นจะเป็นการขยายทางกว้างมากกว่าทางหนา หรือมีการแบ่งตัวเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ซึ่งการแบ่งตัวนี้จะเกิดขึ้นได้ในเวลา 2-3 ชั่วโมง แบคทีเรีย *S. mutans* จะเจริญเติบโตได้ดีอย่างรวดเร็ว แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติที่น่าสนใจคือ มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยน้ำตาลซูโครส และเชื่อมต่อน้ำตาลให้เป็น dextrans หรือ glucans และ levans ซึ่ง dextrans หรือ glucans ละลายน้ำได้น้อย มีลักษณะเหนียวจะทำหน้าที่เป็นกาวยึดคราบจุลินทรีย์ให้ติดกับฟัน และยึดเซลล์แบคทีเรียไว้ด้วยกัน และเป็นที่เกาะของแบคทีเรียที่มาทีหลัง และยังเป็นส่วนประกอบสำคัญของคราบจุลินทรีย์ (ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์) ส่วนที่ละลายน้ำได้บ้างก็จะใช้เป็นอาหารและพลังงานของแบคทีเรีย levans ละลายน้ำได้ และเป็นแหล่งให้อาหารและพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรีย นอกเหนือจากอาหารที่ได้จากภายนอก

แบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์แบ่งตัวได้อย่างรวดเร็ว ภายในเวลา 12-24 ชั่วโมง จะมีขนาดใหญ่พอที่จะมองเห็นได้ แบคทีเรียที่เจริญในระยะแรกจะเป็นพวก cocci ที่เจริญในอากาศได้ (aerobic-cocci) และจะแบ่งตัวขยายตามความกว้างมากกว่าความหนา และต่อมาก็จะมีการเพิ่มตัวทางด้านความหนาด้วย ส่งผลให้ชั้นในของคราบจุลินทรีย์มีออกซิเจนน้อย และมีแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobic bacteria) เจริญเติบโตอยู่ข้างใต้ ทำให้สัดส่วนของแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป

คราบจุลินทรีย์และฟันผุ

ตั้งแต่ปลายคริสต์ศตวรรษที่ 19 ได้มีผู้บรรยายถึงเรื่องฟันผุว่า เกิดจากกรดอินทรีย์กัดกร่อนแคลเซียมฟอสเฟตบนเคลือบฟัน จนถึงปัจจุบันก็ยังเชื่อทฤษฎีของกรดว่าเป็นตัวทำให้เกิดฟันผุ

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า ฟันผุเริ่มจากคราบจุลินทรีย์ แบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์จะสร้างกรดอินทรีย์หลายชนิด กรดที่สำคัญคือกรดแลคติค (lactic acid) กรดชนิดนี้จะทำลายผิวเคลือบฟันและเนื้อฟัน ถ้าการทำลายนั้นมีการสูญเสียเนื้อฟันไปมาก จะเรียกว่า ฟันผุ

เคลือบฟันเป็นส่วนที่มีแร่ธาตุมากที่สุดของร่างกาย แร่ธาตุนั้นได้แก่เกลือแคลเซียม และเกลือฟอสเฟต รูปเกลือที่สำคัญคือ hydroxyapatite เคลือบฟันแม้จะแข็งมาก ดูเรียบและแน่น แต่ที่ผิวของเคลือบฟันจะมีรูเล็ก ๆ มากมาย ที่ยอมให้ไอออนที่มีขนาดเล็ก เช่น โซเดียมไอออน แคลเซียมไอออน และฟลูออไรด์ไอออน เข้าไปได้ hydroxyapatite ละลายได้ง่ายในกรด การละลายจะขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิ และไอออนที่อยู่โดยรอบ

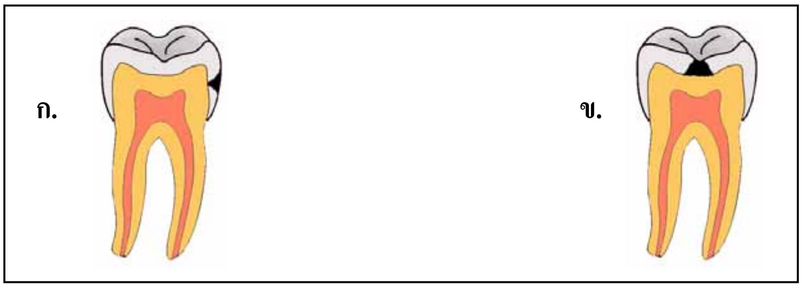
แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ในคราบจุลินทรีย์สามารถสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรตได้ แบคทีเรียที่ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าวิจัยมาก คือ *S. mutans* และ *Lactobacillus* spp. สำหรับ Streptococcus นั้นพบว่า สามารถผลิตกรดจากน้ำตาลได้อย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างสารยึดเซลล์ได้อีกด้วย สารยึดเซลล์ทำให้แบคทีเรียอยู่ร่วมกัน เป็นแหล่งอาหารและพลังงานของแบคทีเรีย จากรายงานการศึกษาความเป็นกรดของคราบจุลินทรีย์พบว่าคราบจุลินทรีย์ก่อนรับประทานอาหารจะมีความเป็นกรดด่างประมาณ 6.5-7 แต่ภายหลังการรับประทานอาหารจะมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีระยะหนึ่งที่มีความเป็นกรดต่ำกว่า 5.5 ซึ่งถือว่าเป็นอันตรายต่อเคลือบฟัน ความเป็นกรดในช่องปากจะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับอาหารที่รับประทาน ถ้าเป็นอาหารพวกน้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลซูโครสความเป็นกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้มีการละลายของ hydroxyapatite ที่เคลือบฟัน เคลือบฟันจะอ่อนตัว และสลายออกมาได้ง่าย ทำให้มีรอยแผลของเคลือบฟัน และเมื่อแผลกว้างและลึกมากขึ้นก็จะกลายเป็นฟันผุในเวลาต่อมา

แบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ สามารถสร้างกรดได้เร็วช้าแตกต่างกัน Streptococci, Lactobacilli, Actinomyces และยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดได้มาก โดย Streptococcus จะสร้างกรดได้มากและรวดเร็วกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ในคนที่มีอัตราการเกิดฟันผุสูงจะพบปริมาณของ *S. mutans* ในน้ำลายและในคราบจุลินทรีย์สูงกว่าในคนที่มีอัตราฟันผุต่ำ ดังนั้นหากไม่มีแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดได้เลยในคราบจุลินทรีย์ ฟันก็จะไม่ผุ

อย่างไรก็ตามโรคฟันผุในมนุษย์นั้นไม่ได้เกิดจากแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว แต่เกิดจากการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิด ในระยะแรกเมื่อได้รับน้ำตาล แบคทีเรียที่สามารถสร้าง

กรดทุกตัวจะสร้างกรดจากน้ำตาล เมื่อจำนวนกรดในคราบจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ก็จะหยุดเจริญเติบโต เพราะเกิดภาวะที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวน แต่ *S. mutans* ยังคงสามารถเจริญต่อไปได้ในภาวะที่เป็นกรด

โดยทั่วไปมักพบฟันผุตามตำแหน่งที่ผุได้ 2 ชนิด คือ ฟันผุที่เกิดบนผิวเรียบ (smooth surface caries) (ภาพที่ 3 ก) และ ฟันผุที่หลุมและร่องฟัน (pit and fissure caries) (ภาพที่ 3 ข) คราบจุลินทรีย์ในแต่ละตำแหน่งจะมีแบคทีเรียแตกต่างกัน คราบจุลินทรีย์บนผิวเรียบ จะมี *S. mutans* (เนื่องจากมีการสร้างกลูแคนทำให้เกาะได้ดี) และ *S. salivaris* มาก ลักษณะของแผลผุมักเริ่มเป็นจุด สำหรับคราบจุลินทรีย์ที่หลุมและร่องฟันจะพบ *S. sanguis, S. mutans* และ Lactobacilli มาก ลักษณะแผลผุที่เกิดตามหลุมและร่องฟัน มักชอนไปข้างใต้ในเนื้อฟัน มีความกว้างข้างใต้มากกว่าที่มองเห็น การเกาะของแบคทีเรียที่หลุมและร่องฟันนี้ อาจเกาะได้โดยตรงไม่จำเป็นต้องอาศัยเยื่อฉาบฟัน การผุที่หลุมและร่องฟันมีอัตราการผุสูงที่สุด



ภาพที่ 3 ชนิดของฟันผุ : ก) smooth surface caries ข) pit and fissure caries

ที่มา : Maple Tech International LLC, Tooth Decay [Online], accessed 1 September 2009. Available from http://www.dentistdig.com/g/tooth-decay.html

การละลายของเคลือบฟันและเนื้อฟัน

การเกิดฟันผุนั้น เกิดจากการละลายของฟัน หรือ hydroxyapatite ทำให้ฟันเปื่อยและหลุดออก เกิดเป็นโพรงฟันผุ การละลายนี้เกิดขึ้นจากการดึงแคลเซียมออกด้วยสารใดสารหนึ่งโดยการเกิดคีเลชัน (chelation) เช่น lactate สามารถดึงเอาแคลเซียมมารวมกับฟันได้และการดึงเอาแคลเซียมวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องอาศัยสภาวะที่เป็นกรด หรืออีกวิธีหนึ่งการละลายฟันโดยเอนไซม์ของแบคทีเรียซึ่งจะทำลายสารอินทรีย์ที่แทรกอยู่ระหว่าง hydroxyapatite ทำให้ hydroxyapatite หลุดออกไปง่าย หรือแบคทีเรียมีเอนไซม์ที่สามารถดึงเอาฟอสเฟตออกไปจาก hydroxyapatite ทำให้มีการสลายของฟัน แต่ก็ยังไม่มีผลการวิจัยที่สนับสนุนเพียงพอ จึงยังคงเชื่อทฤษฎีที่ว่ากรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นละลาย hydroxyapatite เหตุผลที่สนับสนุนทฤษฎีนี้คือ การค้นพบคราบจุลินทรีย์

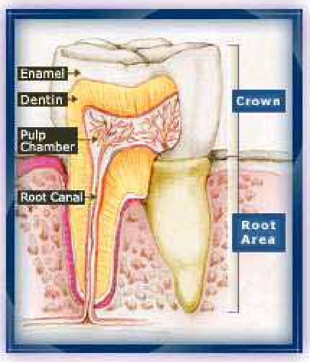
เมื่อมีน้ำตาล จะมีความเป็นกรดต่ำกว่า 5.5 อยู่ระยะหนึ่ง จากการสำรวจความเป็นกรดด่างพบว่าในบริเวณรอบ ๆ ฟันผุจะมีความเป็นกรดสูงกว่าบริเวณที่ไม่ผุ และการสำรวจแบคทีเรียในช่องปากพบว่าในคนที่มีอัตราการเกิดฟันผุสูง จะมี *S. mutans* และ Lactobacilli สูงกว่าคนที่มีอัตราการเกิดฟันผุต่ำ และแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถผลิตกรดได้มากและรวดเร็ว

ลักษณะของฟันที่มีสุขภาพดีและฟันผุ

1. Healthy Tooth (ภาพที่ 4)

ฟันสุขภาพดีนั้นมีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ

1. Enamel หรือผิวฟัน เป็นชั้นที่มีลักษณะแข็งคล้ายกับ crystal
2. Dentin หรือเนื้อฟัน เป็นชั้นที่อยู่ถัดจากผิวฟัน มีลักษณะอ่อนนุ่มกว่า
3. Pulp chamber หรือประสาทฟัน บริเวณนี้จะมีเส้นประสาทและเส้นเลือดจำนวนมาก



ภาพที่ 4 Structure of Healthy Tooth

ที่มา : Columbia University College of Dental Medicine, Illustrations: How a Tooth Decays [Online], accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/ihtSS/r.WSIHW000/st.31843/t.31886/pr.3.html

2. White Spots (ภาพที่ 5)

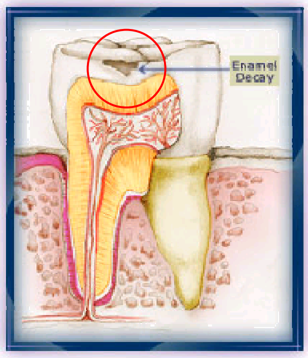
แบคทีเรียจะผลิตกรดโดยอาศัยน้ำตาลซูโครสและคาร์โบไฮเดรต หลังจากนั้นกรดจะกัดกร่อนบริเวณผิวฟันชั้นนอกเรียกว่า ปฏิกิริยา demineralization ลักษณะที่สังเกตเห็นได้คือ เกิดเป็นจุดสีขาวคล้ายชอล์ก

ภาพที่ 5 White Spots

ที่มา : Columbia University College of Dental Medicine, Illustrations: How a Tooth Decays [Online], accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/ihtSS/r.WSIHW000/st.31843/t.31886/pr.3.html

3. Enamel Decay (ภาพที่ 6)

ปฏิกิริยา demineralization เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ผิวฟันเริ่มเสีย และแตก



ภาพที่ 6 Enamel Decay

ที่มา : Columbia University College of Dental Medicine, Illustrations: How a Tooth Decays [Online], accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/ihtSS/r.WSIHW000/st.31843/t.31886/pr.3.html

4. Dentin Decay (ภาพที่ 7)

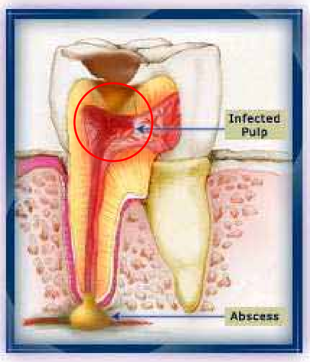
การผุลุกลามเข้าไปถึงเนื้อฟันทำให้เกิดการแพร่กระจายและเกิดเป็นโพรงใต้ผิวฟันขึ้น

ภาพที่ 7 Dentin Decay

ที่มา : Columbia University College of Dental Medicine, Illustrations: How a Tooth Decays [Online], accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/ihtSS/r.WSIHW000/st.31843/t.31886/pr.3.html

5. Pulp Involvement (ภาพที่ 8)

เกิดการผุถึงประสาทฟัน ซึ่งเป็นบริเวณที่มีเส้นประสาทและเส้นเลือดอยู่มาก ทำให้เนื้อเยื่อรอบ ๆ ฟันบวมหรือเกิดเป็นแผลทำให้ผิวของเหงือกเปิดได้



ภาพที่ 8 Pulp Involvement

ที่มา : Columbia University College of Dental Medicine, Illustrations: How a Tooth Decays [Online], accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/ihtSS/r.WSIHW000/st.31843/t.31886/pr.3.html

ปัจจัยในการเกิดฟันผุ

คราบจุลินทรีย์เป็นสาเหตุของฟันผุ และการที่ฟันจะผุนั้นแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์จะต้องผลิตกรดมากพอ จนทำให้ความเป็นกรดสูงถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อฟัน ฉะนั้นปัจจัยของการเกิดฟันผุจะต้องประกอบด้วย แบคทีเรีย อาหาร(น้ำตาล) ฟัน และเวลาที่เพียงพอที่แบคทีเรียจะสร้างกรดและทำลายฟันก่อนที่จะถูกกำจัดออกไป การแปรงฟันบ่อย ๆ และไม่รับประทานน้ำตาลจะเกิดฟันผุได้น้อย

น้ำลาย แม้จะมีแบคทีเรีย และอาหารของแบคทีเรียมากมาย แต่ก็มีคุณสมบัติหลายอย่างในการป้องกันฟัน น้ำลายจะหล่อลื่นช่องปากและฟัน ช่วยชะแบคทีเรียจากฟันและปากเนื่องจากมีการขับน้ำลายและมีการกลืนตลอดเวลา นอกจากนั้นน้ำลายยังประกอบด้วยโปรตีนที่จะไปสร้างเยื่อฉาบฟัน มีสารภูมิคุ้มกัน และมีสารต้านจุลชีพ ซึ่งทำให้ปากปราศจากโรคทั้ง ๆ ที่มีจุลินทรีย์มากมายนอกจากนั้นยังมีสารอนินทรีย์หลายอย่าง ซึ่งอยู่ในสภาพเป็นไอออนมากมายที่สำคัญก็คือ แคลเซียมและฟอสเฟต และยังมี hydroxyapatite ด้วย เมื่อมีการละลายของ hydroxyapatite จากฟัน ก็สามารถมี hydroxyapatite ตกผลึกกลับบนฟัน จากแคลเซียมและฟอสเฟตที่มีในน้ำลาย และจะพบปฏิกิริยาอย่างนี้ในปากตลอดเวลา และมีสมดุลกัน ที่ค่าพีเอชเป็นกลางจะเกิดปฏิกิริยานี้น้อย แต่ถ้ามีค่าพีเอชเป็นกรดจะตกผลึกได้เร็วกว่า ทั้งนี้ต้องมีแคลเซียมและฟอสเฟตเพียงพอ

ความรู้พื้นฐานของแบคทีเรีย

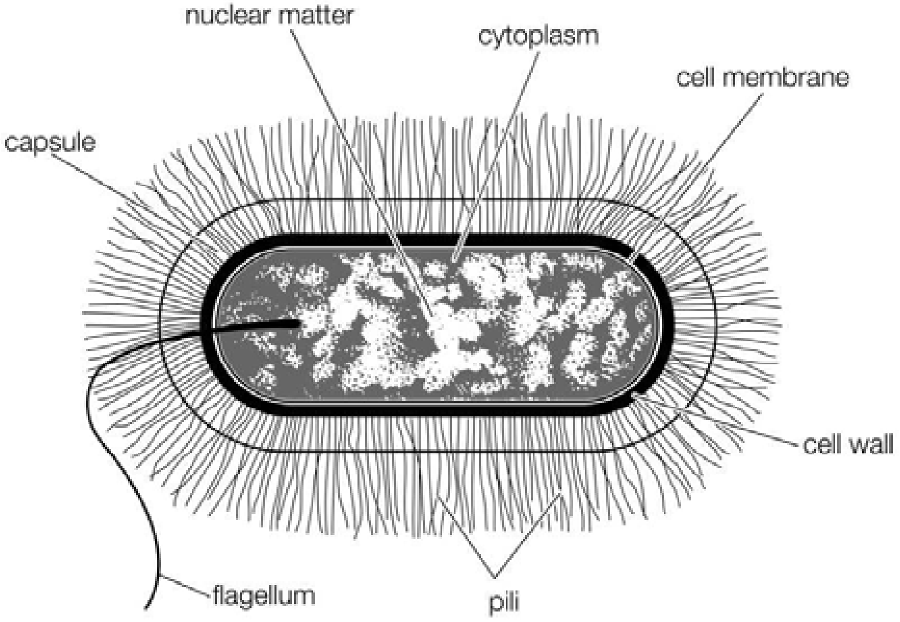
รูปร่างและขนาด (Shape and size)

แบคทีเรียจำแนกตามลักษณะรูปร่างได้ 3 ชนิด ได้แก่ รูปร่างกลมหรือรี เรียกคอกไค (cocci) รูปร่างเป็นแท่ง เรียกแบซิลไล (bacilli) และรูปร่างเป็นเกลียวเรียกสไปโรคีต (spirochaetes) แบคทีเรียบางสายพันธุ์อาจมีรูปร่างได้หลายรูปแบบเช่น ทั้งกลมและเป็นแท่งเรียกพลีโอมอร์ฟิก (pleomorphic)

แบคทีเรียมีขนาดได้ตั้งแต่ 0.2 ไมโครเมตร ถึง 5 ไมโครเมตร ขนาดของแบคทีเรียที่เล็กที่สุดเท่ากับไวรัสที่มีขนาดใหญ่ที่สุด การเรียงตัวของแบคทีเรียหนึ่งๆ มีลักษณะที่แน่นอน มักจะเป็นตามทิศทางที่แบคทีเรียแบ่งตัวเพิ่มจำนวน แบคทีเรียที่มีการเรียงตัวเป็นคู่เรียกดิปโพลคอกไค (diplococcic) เป็นเส้นยาวเรียกสเตรปโตคอกไค (streptococci) หรือเรียงตัวจับกันเป็นกลุ่มเรียกสแตฟฟิโลคอกไค (staphylococci)

โครสร้าง (Structure)

แบคทีเรียเป็นจุลชีพเซลล์เดียว ที่มีผนังหุ้มเซลล์ (cell wall) ที่แข็งและมีรูปร่างที่ชัดเจน ช่วยห่อหุ้มของเหลวในไซโทพลาสซึม และมีผนังหุ้มไซโทพลาสซึม (cytoplasmic membrane) ลักษณะโครงสร้างของแบคทีเรียโดยพื้นฐาน (ภาพที่ 9) มีรายละเอียดดังนี้



ภาพที่ 9 โครงสร้างของแบคทีเรียโดยสังเขป

ที่มา : Encyclopædia Britannica, bacteria [Online], accessed 20 May. 2010. Available from http://www.britannica.com/EBchecked/topic/48203/bacteria

แฟลกเจลลา (Flagella)

มีลักษณะเหมือนแส้ยาวๆ ประกอบจากโปรตีนแฟลกเจลลิน (flagellin) มีหน้าที่ช่วยในการเคลื่อนไหวของแบคทีเรีย เพื่อหาแหล่งอาหาร แฟลกเจลลามีหลายรูปแบบ หากแฟลกเจลลาอยู่ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งของแบคทีเรีย มีเพียงเส้นเดียวเรียกโมโนไตรคัส (monotrichous) หากมีแฟลกเจลลาหลายเส้นเรียก โลโฟไตรคัส (lophotrichous) และหากมีหลายเส้นและอยู่รอบ ๆ ตัวแบคทีเรียเรียก เพอริไตรคัส (peritrichous)

แบคทีเรียรูปแท่ง มักจะมีแฟลกเจลลาช่วยในการเคลื่อนไหว ในขณะที่แบคทีเรียรูปกลมไม่มีแฟลกเจลลาจึงไม่สามารถเคลื่อนไหวได้

พิไล (Pilli)

เป็นเส้นของโปรตีนคล้ายแฟลกเจลลิน แต่มีขนาดสั้นกว่าแฟลกเจลลามาก มีลักษณะคล้ายขน เส้นของโปรตีนนั้นมีโปรตีนพิลิน (pilin) เป็นส่วนประกอบ มีหน้าที่ช่วยในการเกาะติดของแบคทีเรียต่อโฮสต์อื่นๆ และอาจมีหน้าที่ในการถ่ายทอดจีโนมของแบคทีเรียซึ่งกันและกัน (Marklund et al. 2006 : 2225 – 2242)

แคปซูล (Capsule)

เป็นชั้นของโพลีแซคคาไรด์ที่ห่อหุ้มแบคทีเรีย ซึ่งอาจมีโปรตีนร่วมด้วย ชนิดของน้ำตาลในโพลีแซคคาไรด์ มีองค์ประกอบแตกต่างกัน ซึ่งนำมาใช้ระบุชนิดของสายพันธุ์ย่อยในแบคทีเรียบางชนิดได้ แคปซูลมีความสำคัญคือ

1. ช่วยในการยึดเกาะของแบคทีเรียต่อโฮสต์

2. ช่วยในการยับยั้งกระบวนการฟาโกไซโทสิสของเม็ดเลือดขาว การมีแคปซูลจึงเป็นการช่วยให้แบคทีเรียมีความสามารถในการก่อโรคเพิ่มขึ้น

ผนังหุ้มเซลล์ (Cell wall)

เป็นส่วนที่มีความแข็ง ทำให้แบคทีเรียมีรูปร่างที่ชัดเจน ผนังหุ้มเซลล์เป็นผนังหลายชั้นหุ้มภายนอกต่อจากชั้นผนังหุ้มไซโทพลาสซึม (cytoplasm membrane) มีลักษณะเป็นรูเล็ก ๆ ให้สารโมเลกุลเล็กผ่านเข้าออกได้ ชั้นในสุดของผนังหุ้มเซลล์ (inner layer) ประกอบด้วยชั้นของเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) หุ้มด้วยผนังชั้นนอก (outer membrane) ดังแสดงในภาพที่ 10 สามารถพบชั้นเปปทิโดไกลแคนได้ ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ แต่แบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นเปปทิโดไกลแคนที่หนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ จึงเป็นสาเหตุทำให้การติดสีแกรมต่างกัน อย่างไรก็ตามผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ มีส่วนประกอบที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มีคือไลโปโพลีแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยไลโปโปรตีนและฟอสโฟไลปิด รวมตัวกันเป็นรูเล็ก ๆ ให้โมเลกุลต่าง ๆ ผ่านได้

ผนังหุ้มไซโทพลาซึม (Cytoplasmic membrane)

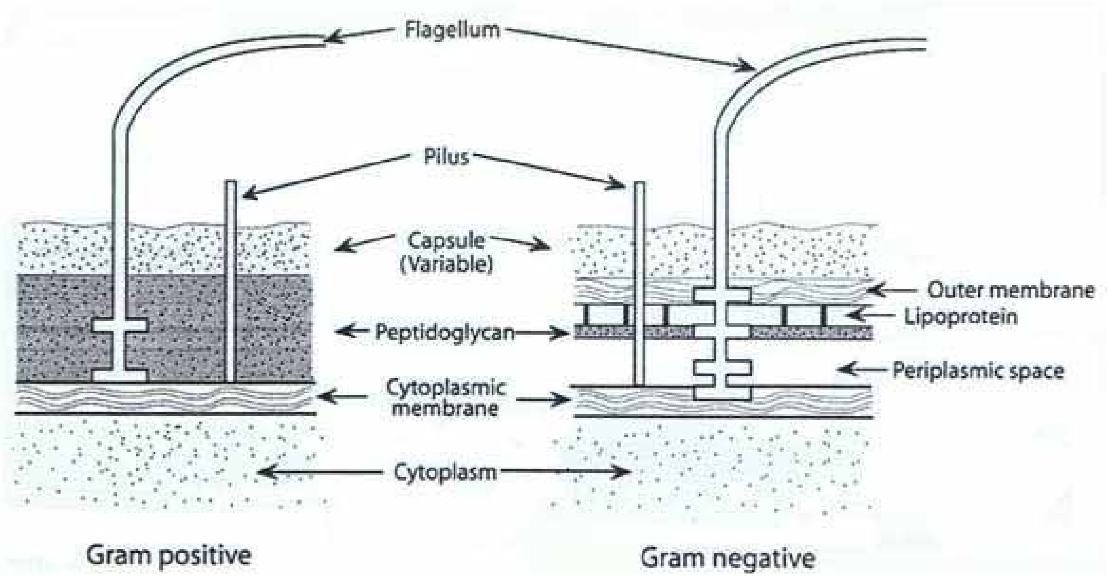
เป็นชั้นที่อยู่ด้านในต่อจากชั้นเปปทิโดไกลแคน เป็นยูนิตเมมเบรน (unit membrane) เช่นเดียวกับเซลล์ยูคาริโอตเพียงแต่ไม่มีสเตอรอลเป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ในการ

1. เป็นผนังให้สารและโมเลกุลต่าง ๆ ซึมผ่าน

2. เป็นแหล่ผลิตพลังงาน

3. เป็นที่สร้างวัตถุดิบสำหรับผนังหุ้มเซลล์

4. เป็นที่หลั่งเอนไซม์ และท็อกซินที่แบคทีเรียผลิตขึ้นมา



ภาพที่ 10 ผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 4.

ไซโทพลาซึม (Cytplasm)

เป็นของเหลวภายในเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งบรรจุนิวเคลียสหรือนิวคลีออยด์และออกาเนลล์อื่นๆ เช่น ไรโบโซม ไมโทคอนเดรีย สารอาหารและอิออนต่างๆ

นิวเคลียส หรือนิวคลีออยด์ (Nucleus or Nucleoil)

เป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ มีลักษณะเป็นวงกลม 1 ชุด มียีนประมาณ 2,000 ยีน มีการแบ่งตัวเป็นชุดขณะเซลล์แบ่งตัว

เชื้อแบคทีเรียในช่องปาก

แบคทีเรียในช่องปากมีหลายสายพันธุ์ มีทั้งชนิดที่ก่อโรคและไม่ได้ก่อโรคในช่องปาก สามารถแบ่งกลุ่มแบคทีเรียในช่องปากออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ตามสภาวะในการเจริญเติบโต ได้แก่

1. แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic bacteria)

แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (aerobic bacteria) คือ แบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1.1 Strict aerobes เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเท่านั้น หากขาดออกซิเจนจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากในกระบวนการเจริญเติบโตต้องอาศัยออกซิเจนในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction)

1.2 Facultative anaerobes เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและขาดออกซิเจน โดยในภาวะที่มีออกซิเจนการเจริญเติบโตจะเป็นแบบ oxidation และในภาวะที่ขาดออกซิเจนจะเป็นแบบ fermentation

1.3 Capnophilic aerobes เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่หากมีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5-10 จะเจริญได้ดีกว่า

การกระจายของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในช่องปาก

ในระยะแรกช่องปากของทารกจะปราศจากเชื้อและจะได้รับเชื้อครั้งแรกโดยการปนเปื้อนเชื้อจากแม่ขณะที่คลอด ต่อมาได้รับเชื้อเพิ่มจากอาหาร นม และน้ำ จากเชื้อที่ได้รับมามากมายหลายชนิดนั้น พบว่ามีเชื้อบางชนิดเท่านั้นที่สามารถดำรงอยู่และเจริญเติบโตได้ เชื้อพวกแรกที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เรียกไพโอเนียร์ (pioneer bacteria) เชื้อเหล่านี้จะมีการปรับตัวได้ดี กลุ่มเชื้อที่พบได้บ่อยคือ streptococci โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Streptococcus salivarius* การกระจายตัวของเชื้อมีความแตกต่างกันตามตำแหน่งในช่องปากพอสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การกระจายตัวของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในตำแหน่งต่าง ๆ ของช่องปาก

ชนิดของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน	ริมฝีปาก/เพดาน	กระพุ้งแก้ม	ลิ้น	น้ำลาย	ฟัน
Staphylococci	+++	+	+	+	-
Micrococci	+++	+	++	+	-
Neisseria	+	+	+++	+++	+
Streptococci	+	+++	+++	+++	+++
Haemophili	+	+++	+++	++	++
Anaerobes	-	+	+	+	++
Spirochaetes	-	+	+	+	+

ที่มา : รวี เถียรไพศาล, <u>แบคทีเรียในช่องปาก</u> (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 39.

2. แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic bacteria)

แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน คือ แบคทีเรียที่เจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนได้ดีกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน นอกจากนี้ยังเจริญเติบโตได้ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีศักย์รีดักชัน (redox potential) ต่ำหรือเป็นลบ อีกความหมายหนึ่งของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ

ออกซิเจนในทางปฏิบัติการหมายถึง แบคทีเรียที่ถูกทำลายได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน ไม่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงไว้ในบรรยากาศที่มีออกซิเจน และในบรรยากาศที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5-10 สามารถแบ่งแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนตามความสามารถในการเจริญเติบโตในบรรยากาศที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกันได้เป็น 3 ชนิด (ตารางที่ 2) ดังนี้

2.1 Aerotolerant anaerobes เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถใช้ออกซิเจนได้ เพราะไม่มีสารตั้งต้นในกระบวนการหายใจ (respiration) แต่ออกซิเจนก็ไม่ทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ตายได้ แบคทีเรียกลุ่มนี้จึงเจริญเติบโตในสภาวะไม่มีออกซิเจนได้ดีกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีพอหากใช้เชื้อจำนวนมาก สามารถอยู่ในบรรยากาศธรรมดาได้นานถึง 72 ชั่วโมง และเจริญเติบโตได้เล็กน้อยในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 10

2.2 Obligate anaerobes หมายถึง แบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในบรรยากาศทั่วไป แม้จะใช้อาหารที่ดีพอและใช้เชื้อจำนวนมากก็ตาม เชื้อในกลุ่มนี้สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในบรรยากาศธรรมดาเป็นเวลา 10 นาที ถึง 48 ชั่วโมง เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนร้อยละ 2-8 โดยขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย แบคทีเรียกลุ่มนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ และเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในคน โดยเฉพาะการติดเชื้อในช่องปาก

2.3 Extreme oxygen sensitive หรือ strict anaerobes หมายถึง แบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเกินร้อยละ 0.5 อยู่ในบรรยากาศได้ไม่เกิน 10 นาที

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน

ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน	ปริมาณออกซิเจนที่สามารถเจริญเติบโตได้	สามารถทนออกซิเจนได้นาน
Aerotolerant anaerobes	ที่มีก๊าซ CO_2 ร้อยละ 10	72 ชม.
Obligate anaerobes	ร้อยละ 2-8	10 นาที – 48 ชม.
Strict anaerobes	น้อยกว่าร้อยละ 0.5	ไม่เกิน 10 นาที

ที่มา : รวี เถียรไพศาล, <u>แบคทีเรียในช่องปาก</u> (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 65.

การกระจายของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในช่องปาก

แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนส่วนใหญ่เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ซึ่งสามารถตรวจพบได้หลายแห่งในร่างกาย เช่น ผิวหนัง ช่องปาก ทางเดินอาหาร และช่องคลอด เป็นต้น บริเวณที่พบแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนมากที่สุด คือ บริเวณร่องเหงือก (gingival crevice)

และลำไส้ใหญ่ (colon) จะพบแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนมากกว่าแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในสัดส่วนประมาณ 100-1000 ต่อ 1 ส่วนบริเวณอื่น ๆ แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนจะมีประมาณ 10 เท่าของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน เช่น ในช่องคลอดจะพบแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนต่อแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในสัดส่วนประมาณ 5-10 ต่อ 1 ในน้ำลายสัดส่วนประมาณ 3-10 ต่อ 1 และที่ผิวหนังสัดส่วนประมาณ 10 ต่อ 1

ในช่องปาก แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนส่วนใหญ่จัดเป็นชนิด obligate anaerobes สามารถตรวจพบได้บริเวณร่องเหงือก ลิ้น กระพุ้งแก้ม คราบจุลินทรีย์ และน้ำลาย โดยชนิดและปริมาณของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนจะแตกต่างกันไป ในน้ำลายและที่ลิ้นจะมีแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนเป็นส่วนใหญ่และเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างกลมติดสีแดง (gram negative cocci) เป็นเชื้อในจีนัส *Veillonella* ในคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก (subgingival plague) มักพบแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนและเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นแท่งติดสีแดง (gram negative bacilli) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การกระจายตัวของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนตามตำแหน่งต่าง ๆ ในช่องปาก

ชนิดของแบคทีเรีย anaerobes	ลิ้น	น้ำลาย	คราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก (supragingival plague)	คราบจุลินทรีย์ใต้เหงือก (subgingival plague)
Gram negative cocci	++++	++++	+	+
Gram negative bacilli	+	+	++	++++
Gram positive cocci	+	++	++++	++
Gram positive bacilli	++	+	+++	+++
Black-pigmented anaerobes	+	+	++	++++
Spirochaetes	+	+	+	++++

ที่มา : รวี เถียรไพศาล, <u>แบคทีเรียในช่องปาก</u> (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 66.

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ

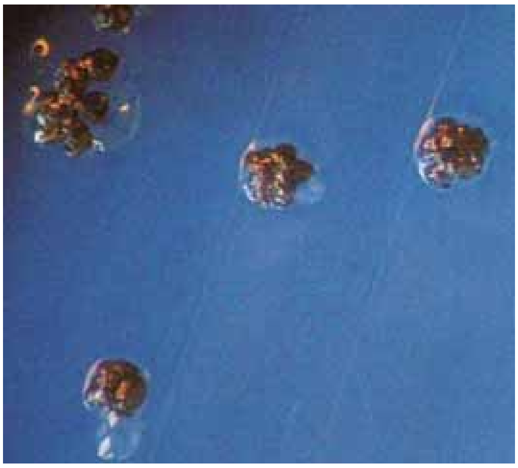
แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุนั้น ส่วนมากเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนรูปร่างกลม ย้อมติดสีแกรมบวก (aerobic gram-positive cocci) โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม mutans group ได้แก่ *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sobrinus* และแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่ง

1. Mutans group (mutans streptococci)

Streptococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมหรือรี ต่อกันเป็นสายสั้นหรือยาว (ภาพที่ 11) มีลักษณะโคโลนีนูน (convex) ทึบแสง (opaque) สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์ (extracellular polysaccharide) จากน้ำตาลซูโครสได้ และบางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมยาปฏิชีวนะเบซิทราซิน (bacitracin) ดังนั้นเบซิทราซินจึงถูกนำมาผสมในอาหาร mitis salivarius agar (MSA) เรียก mitis salivarius bacitracin (MSB) เพื่อใช้เป็น selective media สำหรับ mutans group บางสายพันธุ์ เช่น *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sobrinus* เป็นต้น

ภาพที่ 11 แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมหรือรี ต่อกันเป็นสายสั้นหรือยาว (Streptococci)
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 126.

S. mutans เป็นแบคที่มีความสำคัญในกลุ่มนี้ พบได้บนผิวฟัน และเป็นสาเหตุของโรคฟันผุ มีการรายงานการพบแบคทีเรียชนิดนี้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1924 โคโลนีของ *S. mutans* สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์บนอาหาร MSB ทำให้เห็นโคโลนีมีลักษณะเหมือนมีของเหลวใสเยิ้มอยู่รอบๆ โคโลนีมีลักษณะขุ่น ทึบ ขรุขระไม่เรียบ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 โคโลนีของ *Streptococcus mutans*

ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 127.

S. sobrinus เป็นแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่งที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSB ได้เช่นเดียวกับ *S. mutans* แต่ลักษณะโคโลนีของ *S. sobrinus* มักมีรูปร่างเป็นแฉก และมีวงขุ่นล้อมรอบ (ภาพที่ 13) แต่ไม่ใช่ลักษณะที่แน่นอน

ภาพที่ 13 โคโลนีของ *Streptococcus sobrinus*

ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 127.

เชื้อในกลุ่ม mutans streptococci สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์ได้ทั้งแบบละลายน้ำ (soluble) และไม่ละลายน้ำ (insoluble) จากการใช้น้ำตาลซูโครส สารนี้มีความสำคัญในการเกิดคราบจุลินทรีย์ (plaque formation) และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดฟันผุตามมา นอกจากนี้เชื้อกลุ่มนี้ยังมีความสามารถในการสร้างกรดได้มากจากการใช้น้ำตาล และมีความสามารถในการคงทนอยู่รอดในภาวะที่เป็นกรดได้ด้วย จากเหตุผลดังกล่าวทำให้เชื้อกลุ่มนี้เป็นสาเหตุสำคัญของโรคฟันผุ

ซึ่งจำนวนเชื้อที่เพิ่มขึ้นนั้นจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคฟันผุ นอกจากนี้ยังพบว่า การกระจายของเชื้อในกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กับอายุ เชื้อชาติ และสภาพภูมิศาสตร์อีกด้วย (Marsh and Martin 2001 : 17-33)

2. Lactobacilli ในช่องปาก (Oral lactobacilli)

Lactobacillus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นรูปท่อนยาวถึงสั้น (ภาพที่ 14) แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้น้อยในช่องปาก ประมาณร้อยละ 1 ของเชื้ออื่น ๆ แต่จะพบได้มากในน้ำลาย การส่งผ่านเชื้อในกลุ่มนี้มีการบ่งชี้ว่า การถ่ายทอดอาจผ่านจากช่องคลอดของแม่สู่ลูกในระหว่างการคลอด โดยเชื้อจะลดลงในช่วงเดือนแรกของอายุทารก และจะพบเพิ่มขึ้นอีกในเวลาต่อมาโดยได้รับเชื้อเพิ่มจากสิ่งแวดล้อมภายนอก (Matsumiya et al. 2002 : 43-49)

Lactobacillus spp. ในช่องปาก ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน ชนิด microaerophilic บางชนิดเป็น obligate anaerobe เพาะเลี้ยงได้ในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือที่สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรด สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งอาหาร แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดได้จำนวนมาก สามารถทนกรดได้ดี การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในกลุ่มนี้จึงสามารถใช้ Rogosa media เป็น selective media เพื่อคัดกรองเชื้อได้ ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะมีกรดเป็นส่วนประกอบจึงทำให้มีสภาวะเป็นกรด ซึ่งแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ จะไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ได้ แบคทีเรียกลุ่มนี้ที่พบได้บ่อยในช่องปากได้แก่ *L. fermentum, L. cacei, L. rhamnosus* และ *L. paracacei* นอกจากนี้ยังมี *L. plantarum, L. acidiphilus* และ *L. salivarius* (Teanpaisan and Dahlen 2006 : 79-83)

Lactobacillus spp. มักพบเป็นเชื้อประจำถิ่นในช่องปาก และจะพบได้มากขึ้นเมื่อมีการลุกลามของฟันผุ ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเป็นกรดมาก จากการที่พบเชื้อชนิดนี้ร่วมกับอาการฟันผุ จึงคาดว่า lactobacilli อาจเป็นสาเหตุของโรคฟันผุ จึงใช้แบคทีเรียนี้เป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุ หากพบว่ามีแบคทีเรียชนิดนี้มากกว่า 10^5 โคโลนี/มิลลิลิตร หรือมากกว่า 100 โคโลนี/1.5 ตารางเซนติเมตรของพื้นที่นับ แสดงว่ามีความเสี่ยงต่อโรคฟันผุสูง (Barsamian-Wunsch et al. 2004 : 231-239)

ภาพที่ 14 แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง อาจเป็นแท่งสั้นหรือยาว (Lactobacillus)
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 126.

ได้มีการรายงานการศึกษาชนิดของเชื้อในรอยโรคฟันผุโดยเก็บตัวอย่างตรวจจากเนื้อฟันที่ผุ (carious dentine) โดยตรง แทนที่จะเก็บจากคราบจุลินทรีย์หรือน้ำลาย และใช้วิธีทางชีวโมเลกุลในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA พบว่าชนิดของจีนัสที่พบได้มากในรอยโรคฟันผุที่ตรวจ คือ *Lactobacillus* spp. ซึ่งสปีชีส์ที่พบได้แก่ *L. fermentum, L. cacei, L. panis, L. rhamnosus, L.reuteri, L. gasseri*, *L. crispatus, L. salivariu* และ *L. delbrueckii* (Munson et al. 2004 : 3023-3029 ; Chhour et al. 2005 : 843-849) นอกจากจะพบ *Lactobacillus* spp. ในเนื้อฟันที่ผุแล้ว ยังมีรายงานว่าพบเชื้อชนิดนี้ในคลองรากฟันที่ผ่านการรักษามาแล้วด้วย โดยพบได้ถึงร้อยละ 36 ซึ่งจะพบเชื้อกลุ่มนี้ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชนิดอื่น ๆ ที่พบได้แก่ *L. paracacei, L. cacei, L. delbrueckii, L. crispatus* และ *L. rhamnosus* (Chavez 2003: 500-508)

การก่อโรคของ *Streptococcus mutans*

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1924 Clarke ได้แยกแบคทีเรียจากตำแหน่งของซี่ฟันที่ผุ ต่อมาให้แบคทีเรียนั้นมีชื่อว่า *S. mutans* มีข้อมูลความสัมพันธ์ของ *S. mutans* และฟันผุทั้งการศึกษาแบบตัดขวางและระยะยาวได้ถูกรายงานไว้ และเชื่อว่า *S. mutans* เป็นสาเหตุของฟันผุ (Hamada and Slade 1980 : 331-384 ; Loesche 1986 : 353-380)

กลไกในการก่อโรคของ *S. mutans* มี 3 ประการ คือ

1. ความสามารถในการยึดเกาะ (adhesion)
2. ความสามารถในการสร้างกรด (acidogenecity)
3. ความสามารถในการทนกรด (aciduricity)

ความสามารถในการยึดเกาะ (Adhesion)

ความสามารถในการยึดเกาะของ *S. mutans* ในคราบจุลินทรีย์ ขึ้นกับปัจจัยหลัก 3 ประการคือ

1. การยึดเกาะที่ไม่ขึ้นกับน้ำตาลซูโครส (Sucrose-independent adhesion)

โปรตีนสำคัญที่เกี่ยวข้องในการยึดเกาะโดยไม่ขึ้นกับน้ำตาลซูโครสเรียกว่า antigen I/II มีขนาด 185 kDa โปรตีนนี้สามารถพบได้ใน streptococcus ในช่องปากสายพันธุ์อื่นด้วย (Ma 1991 : 2686-2694) และมีการให้ชื่อโปรตีนนี้ต่าง ๆ กัน เช่น P1, Spa P, Sr, Pac และ antigen B โปรตีนในกลุ่ม antigen I/II ของเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ แม้จะมีโครงสร้างบางส่วนที่เหมือนกัน แต่มีบางส่วนที่ต่างกัน จึงทำให้ความสามารถในการยึดเกาะกับโปรตีนต่าง ๆ ในน้ำลายแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของเชื้อ (Whittaker, Klier, and Kolenbrander 1996 : 513-552 ; Petersen et al. 2002 : 249-256) ส่วนสำคัญของโปรตีน antigen I/II ที่ไปยึดกับโปรตีนอื่น ๆ ในน้ำลาย คือ อะลานีน (alanine) และโปรลีน (proline) โปรตีนเหล่านี้มีความสำคัญในการยึดเกาะกับเยื่อผิวชั้นนอกสุดของเยื่อหุ้มเซลล์ (pellicle) ที่เป็นส่วนสำคัญในการก่อตัวเป็นคราบจุลินทรีย์บนผิวฟัน มีหลักฐานพบว่าเชื้อกลายพันธุ์ (mutant) P1 ที่ไม่สามารถสร้างโปรตีน antigen I/II มีความสามารถในการยึดเกาะกับไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ที่เคลือบน้ำลายได้ลดลง (Ohta et al. 1989 : 981-988 ; Lee et al. 1989 : 3306-3313) แสดงให้เห็นว่าหากเชื้อแบคทีเรียขาดโปรตีน antigen I/II เชื้อจะเกาะกับโปรตีนในน้ำลายที่เคลือบบนผิวไฮดรอกซีอะพาไทต์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของฟันได้ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการขาดโปรตีน P1 จะทำให้การก่อรูปโครงสร้างของ biofilm ในหลอดทดลองผิดไป

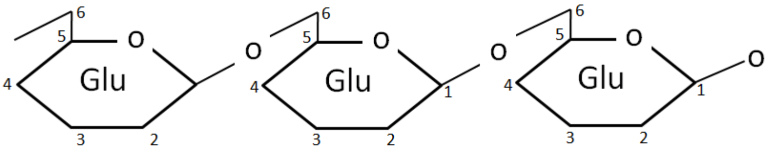
2. การยึดเกาะที่ขึ้นกับน้ำตาลซูโครส (Sucrose-dependent adhesion)

กลไกสำคัญของการยึดเกาะที่ขึ้นกับน้ำตาลซูโครส เกิดจากการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอร์เรส (glucosyltransferase, GTFs) ในการสังเคราะห์สารกลูแคน (glucans) โดย GTFs มีความสามารถในการย่อยซูโครสได้เป็นกลูโคสและฟรุกโตส (Monchois, Willemot, and Monsan 1999 : 131-151) กลูโคสจะเชื่อมต่อกันเป็นพอลิเมอร์ของกลูแคน

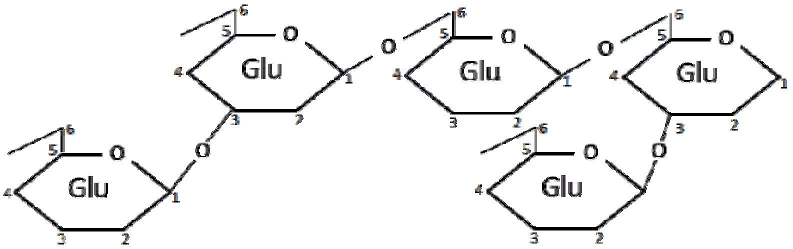
S. mutans มีเอนไซม์ GTFs 3 ชนิดถูกสร้างโดยยีน *gtf B gtf C* และ *gtfD* ต่างจาก *S. sobrinus* ที่มียีนอื่นอีก 4 ยีน ในการควบคุมการสร้างกลูแคน GTFs อาจพบใน streptococci ชนิดอื่นในช่องปากได้

GTFs สามารถสร้างพอลิเมอร์กลูแคนที่ละลายน้ำ (soluble glucans) และไม่ละลายน้ำ (insoluble glucans) กลูแคนที่ละลายน้ำจะมีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็นเส้นตรงของ α1, 6 glycosidic

(ภาพที่ 15) ในขณะที่กลูแคนที่ไม่ละลายน้ำมีโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน (branching) ของ α1, 3 glycosidic เพิ่มเติมขึ้น (ภาพที่ 16) จึงละลายน้ำได้ยาก



ภาพที่ 15 โครงสร้างพอลิเมอร์กลูแคนที่ละลายน้ำ
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 98.



ภาพที่ 16 โครงสร้างพอลิเมอร์กลูแคนที่ไม่ละลายน้ำ
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, แบคทีเรียในช่องปาก (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 98.

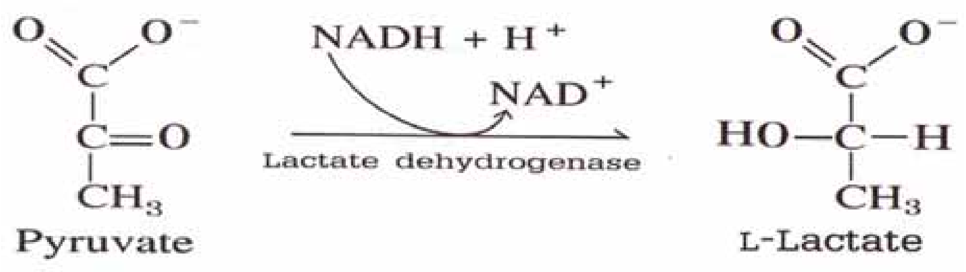
กลูแคนทั้งสองมีความสำคัญในการยึดเกาะของ *S. mutans* มีผลทำให้แบคทีเรียชนิดนี้เกิดการยึดครอง (colonization) และเกิดฟันผุโดยกลไกในการสร้างกรดและทนกรด โดยเฉพาะกลูแคนที่ไม่ละลายน้ำมีความสำคัญในการก่อโรคฟันผุชนิดบนผิวเรียบ (Munro, Michalek, and Macrina 1995 : 327-332.) มีงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าหากมีการยับยั้งยีน *gtf* ไม่ให้มีการทำงาน จะมีผลทำให้ความสามารถในการก่อโรคฟันผุในสัตว์ทดลองลดลง

3. โปรตีนที่ยึดเกาะกับกลูแคน (Glucan binding protein, GBPs)

โปรตีนเหล่านี้ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzyme) แต่เป็นโปรตีนที่ยึดเกาะกับกลูแคน โปรตีนที่พบเป็นชนิดแรกในกลุ่มนี้คือ GBP A (Russell 1979 : 197-201) ต่อมาได้พบ GBPB (Smith et al. 1994 : 2545-2552) และ GBP D (Shah and Russell 2002) ตามลำดับ โปรตีนเหล่านี้มีความสำคัญในการสร้าง biofilm ของเชื้อและมีส่วนร่วมในการก่อโรคฟันผุ (Hazlett, Michalek and Banas 1998 : 2180-2185 ; Hazlett, Mazurkiewicz, and Banas 1999 : 3909-3914 ; Matsumoto et al., 2003 : 213-215)

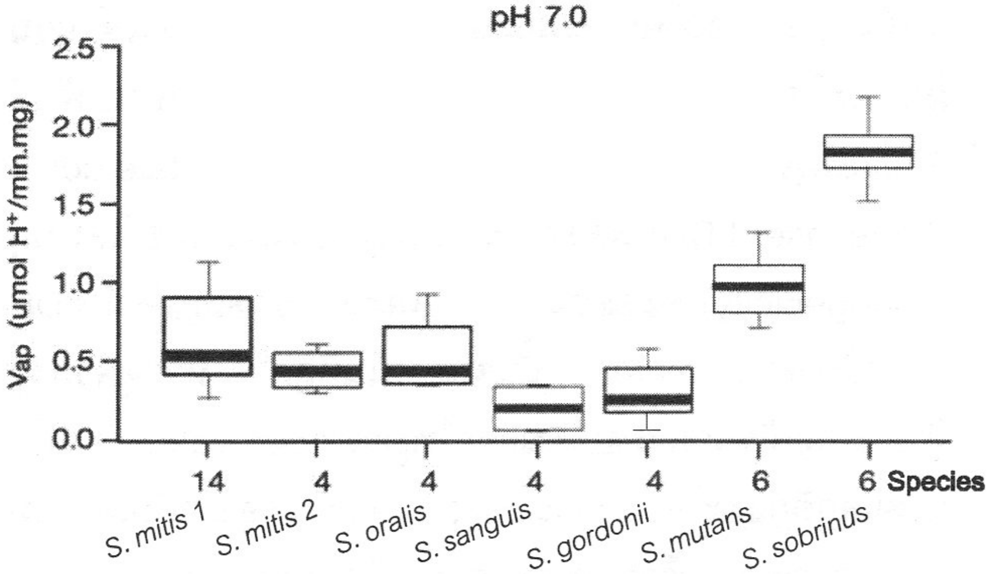
ความสามารถในการสร้างกรด (Acidogenecity)

S. mutans มีความสามารถในการสร้างพลังงานจากน้ำตาลโดยผ่านวิถีไกลโคไลติก (glycolytic pathway) และการหมัก (fermentation) ได้กรดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดแลกติก (lactic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) และกรดอะซีติก (acetic acid) รวมทั้งเอธานอล (ethanol) ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะในการเพาะเลี้ยง (Johnson, Gross and Hillman 1980 : 707-713) เช่น หากมีกลูโคสจำนวนมากจะได้กรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่ (Dashper and Reynolds 1996 : 33-39) *S. mutans* ที่มีเอนไซม์แลกเทตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase; LDH) ลดลง จะมีความสามารถในการก่อโรคฟันผุ (cariogenicity) ลดลง (Johnson et al. 1980 : 707-713) และหากขาดเอนไซม์ LDH อย่างสิ้นเชิง *S. mutans* จะตายในที่สุด (Hillman, Chen and Snoep 1996 : 4319-4323) จากภาพที่ 17 เป็นการเปลี่ยนไพรูเวต (pyruvate) ไปเป็นกรดแลกติกและได้พลังงานออกมาโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ LDH การพร่องหรือขาดเอนไซม์ชนิดนี้ จึงมีผลกระทบต่อการสร้างกรดและความอยู่รอดของ *S. mutans* จึงคาดว่าจะสามารถนำสายพันธุ์ที่ถูกดัดแปลงยีนให้ขาดเอนไซม์ LDH มาใช้รักษาและป้องกันโรคฟันผุ (Hillman et al. 2000 : 543-549 , 2002 : 361-366)



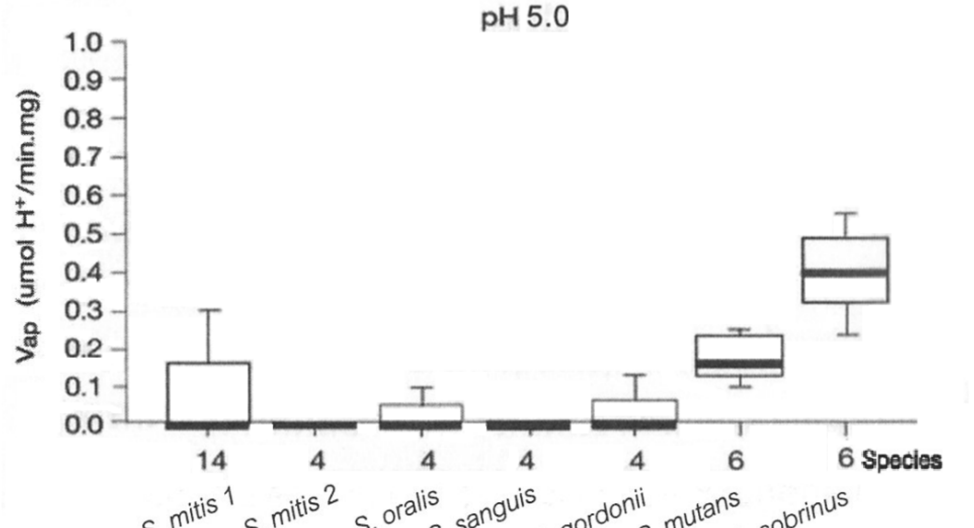
ภาพที่ 17 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไพรูเวตเป็นแลกเทตโดยเอนไซม์ LDH
ที่มา : รวี เถียรไพศาล, <u>แบคทีเรียในช่องปาก</u> (สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550), 99.

ความสามารถในการสร้างกรดของแบคทีเรีย streptococci ในช่องปากมีมากกว่า streptococci ทั่วไป โดยเฉพาะ *S. mutans* และ *S. sorbinus* มีความสามารถในการสร้างกรดได้มากทั้งในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7) (ภาพที่ 18) หรือแม้แต่ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 5) ทั้ง *S. mutans* และ *S. sorbinus* ยังคงความสามารถในการสร้างกรดได้ ในขณะที่แบคทีเรีย streptococci ชนิดอื่นจะสร้างกรดได้ลดลง (ภาพที่ 19) (Soet, Nyvad, and Kilian 2000 : 486-490)



ภาพที่ 18 ความสามารถในการสร้างกรดของ streptococci สายพันธุ์ต่าง ๆ ในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0)

ที่มา : J.J. de Soet, B. Nyvad and M. Kilian, “Strain-related acid production by oral streptococci,” Caries Res 6, 34 (2000) : 486-490.



ภาพที่ 19 ความสามารถในการสร้างกรดของ streptococci สายพันธุ์ต่าง ๆ ในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 5.0)

ที่มา : J.J. de Soet, B. Nyvad and M. Kilian, “Strain-related acid production by oral streptococci,” Caries Res 6, 34 (2000) : 486-490.

การสร้างกรดทำให้สภาวะแวดล้อมในคราบจุลินทรีย์เป็นกรดมากขึ้น จึงทำให้บริเวณนั้นเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของ *S. mutans* และเชื้อชนิดอื่นที่สร้างกรดและทนกรดได้ ทำให้การที่จะกลับคืนสู่สภาวะที่เป็นกลางต้องใช้เวลานานขึ้น (Graf 1970 : 426-435 ; Loesche 1986 : 353-380) และหากสภาพความเป็นกรดในคราบจุลินทรีย์มีค่าพีเอชต่ำกว่า 5.5 ย่อมทำให้เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) จึงมีผลทำให้เกิดฟันผุขึ้น

ความสามารถในการทนกรด (Aciduricity หรือ acid-tolerance)

S. mutans มีความสามารถในการทนกรดและยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ แม้ในสภาวะกรดที่มีค่าพีเอชต่ำถึง 4.0 ก็ตาม (McNeill and Hamilton 2003 : 25-30) *S. mutans* จึงมีความต่างจาก streptococci ในช่องปากชนิดอื่น คือมีทั้งความสามารถในการสร้างกรดและทนกรด ความสามารถในการทนกรดขึ้นกับกลไกสำคัญดังนี้

1. การรักษาสภาพกรดด่างในเซลล์

ความสามารถในการสร้างกรดของ *S. mutans* เป็นผลมาจากการขับกรดออกจากเซลล์ของ *S.mutans* โดยผ่านผนังหุ้มเซลล์ เนื่องจากสภาวะกรดมีความเป็นพิษต่อการทำงานของเซลล์ เอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่ในการรักษาสภาพความเป็นกรดด่างในเซลล์ คือ ATPase หรือ F-ATPase ซึ่งจะทำหน้าที่ในการรักษาสภาวะความเป็นกรดด่างผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ มีรายงานว่า ความสามารถในการทนกรดขึ้นอยู่กับระดับเอนไซม์ F-ATPase ซึ่งมีความแตกต่างกันใน streptococci ในช่องปากสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งนี้พบว่าหากสภาวะความเป็นกรดด่างลดต่ำลง จะเกิดการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ F-ATPase ของ *S.mutans* (Hamilton and Buckey 2007 : 65-71 ; Belli and Marquis 1991 : 1134-1138) ทำให้ *S.mutans* สามารถรักษาสภาพความเป็นกรดด่างได้ และมีการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ลดการนำเข้าของประจุบวก และมีการขับกรดออกสู่ภายนอกเพิ่มขึ้น

2. การเหนี่ยวนำการทำงานของดีเอ็นเอและการสร้างโปรตีน

ในสภาวะกรดจะมีการเหนี่ยวนำการทำงานของยีนบางตัวและมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (Quivey 2001 : 301-304) เช่น เอนไซม์ที่สร้างกรดไลโปไทโชอิก (lipoteichoic acid synthesis) มีผลต่อเอนไซม์ที่เคลื่อนย้ายโปรตีน (protein translocation) เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้มีผลต่อโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ตัวอย่างเช่น หากสภาวะความเป็นกรดลดลงต่ำกว่า 5.0 จะทำให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มกลุ่ม D-alanine esters ที่ผนังไลโปไทโชอิกลดลง มีผลทำให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลง และมีการส่งออกของประจุบวกเพิ่มมากขึ้น (Boyd et al. 2000 : 6055-6065)

อิมัลชัน (Emulsion)

อิมัลชัน หมายถึงผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากันหรือไม่ละลายซึ่งกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ที่ถูกนำมาผสมด้วยกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) แต่ถ้าส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค คือ หยดเล็กๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายใน (internal or dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายนอก (external or continuous phase) โดยทั่วไปหยดของวัฏภาคภายในอาจทำให้มีขนาดต่าง ๆ กันได้ตั้งแต่ขนาดเล็กกว่า 0.05 ไมโครเมตร จนถึง 25 ไมโครเมตร ซึ่งขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายในนี้มีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ลักษณะภายนอกที่มองเห็นของอิมัลชันและขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายใน

ขนาดหยดอนุภาควัฏภาคภายใน (ไมโครเมตร)	ลักษณะอิมัลชันที่มองเห็น
เล็กกว่า 0.05	โปร่งใส (transparent)
0.05 - 0.10	ขุ่นหรือโปร่งแสง (transparent)
0.10 - 1.00	สีขาวอมฟ้า
ใหญ่กว่า 1.00	ขุ่นขาวทึบ

ที่มา : พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, อิมัลชันทางเครื่องสำอาง (เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544) 1.

ชนิดของอิมัลชัน

ชนิดของอิมัลชันที่พบได้โดยทั่วไปมักมีลักษณะขุ่นขาวคล้ายน้ำนม หรือมีลักษณะโปร่งใส สามารถแบ่งชนิดของอิมัลชันได้ ดังนี้

1. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น มี 2 ชนิด คือ

1.1 แมคโครอิมัลชัน (macroemulsion) คือ อิมัลชันที่มีลักษณะขุ่นขาวซึ่งพบได้โดยทั่วไป อนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาดตั้งแต่ 0.25 – 10 ไมโครเมตร (โดยทั่วไปใหญ่กว่า 1 ไมโครเมตร) จึงทำให้เกิดความแตกต่างในค่าดัชนีการหักเหแสงของวัฏภาคทั้งสอง และเกิดการกระจายแสงทำให้มองดูขุ่นขาว อิมัลชันชนิดนี้อาจแบ่งย่อยได้อีกเป็นอิมัลชันเนื้อหยาบ (coarse emulsion) ซึ่งมีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่และอิมัลชันเนื้อละเอียด (fine emulsion) ซึ่งมีขนาด

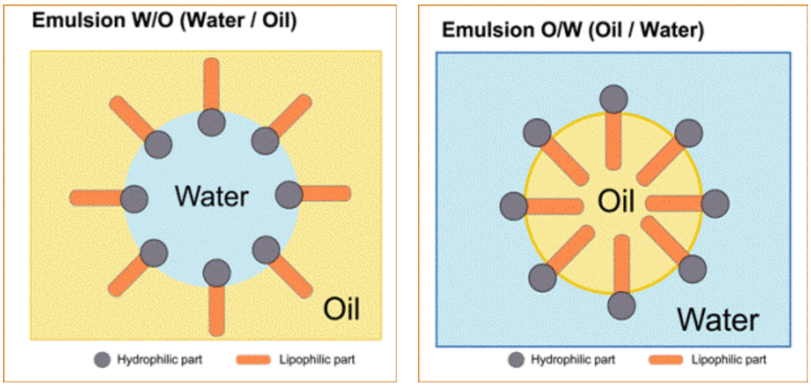
อนุภาคค่อนข้างเล็กหรือเล็กกว่า 5 ไมโครเมตรลงไป แมคโครอิมัลชันเป็นอิมัลชันที่พบมากที่สุดทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของอิมัลชันชนิดนี้ เช่น ไอศกรีม ครีมรักษาโรคผิวหนัง ครีมกันแดด และโลชั่นทาผิว เป็นต้น

1.2 ไมโครอิมัลชัน (microemulsions) มีลักษณะโปร่งใส เนื่องจากอนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาดเล็กมาก (ประมาณ 10-75 นาโนเมตร) ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ใน 4 ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (visible light) จึงไม่หักเหแสง แสงทะลุผ่านได้ ทำให้มองดูโปร่งใส หยดของวัฏภาคภายในมีลักษณะกลมถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวอิมัลชัน มีทั้งชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w) และชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o)

1.3 นาโนอิมัลชัน (nanoemulsions) หรือ mini-emulsion มีขนาดอนุภาค 50-200 นาโนเมตร ซึ่งอนุภาคขนาดเล็กมากทำให้เกิดการลดแรงโน้มถ่วง และมีการเคลื่อนที่แบบไร้ทิศทาง หรือการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน (Brownian movement) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้นาโนอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น

2. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.1 อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำ วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน พบอิมัลชันชนิดนี้ได้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมกลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) และครีมฮอร์โมน (hormone cream) เป็นต้น เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้มีความเหนอะหนะและล้างน้ำออกยาก จึงไม่เป็นที่นิยม



ภาพที่ 20 water-in-oil emulsion และ oil-in-water emulsion

ที่มา : Cargill, Incorporated, Emulsifiers [online], accessed 15 May 2010. Available from http://www.cargilltexturizing.com/products/functional/emulsifier/cts_prod_fun_emul_fun.shtml

2.2 อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) อิมัลชันชนิดนี้กลับกับชนิดแรกคือ มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายตัวได้ดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมและโลชั่นทาผิว (body cream and lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมทากันแดด (sunscreen cream) และครีมรองพื้น (foundation cream) เป็นต้น

2.3 อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น w/o/w หรือ o/w/o อิมัลชันเชิงซ้อนนี้สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น w/o/w ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในซึ่งเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็กๆ ของน้ำซ่อนอยู่อีกที เมื่อกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดา จะกลายเป็นชนิด o/w พบอิมัลชันชนิดนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น cold cream ซึ่งเป็นชนิด o/w/o เป็นต้น

3. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามความหนืดของอิมัลชันได้เป็น 2 ชนิดคือ

3.1 โลชั่น (lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักไม่เกิน 35% โลชั่นอาจเป็นทั้งชนิด o/w หรือ w/o ซึ่งอาจมีชื่อเรียกต่างกันออกไป น้ำนม (milky หรือ milky lotion) เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิวโดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำออกง่าย ตัวอย่างเช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด เป็นต้น โลชั่นชนิด w/o มีการใช้บ้างแต่ไม่นิยมเพราะทาแล้วเหนอะหนะผิว เช่น โลชั่นป้องกันแสงแดด ในกรณีที่ใช้ทาผิวก่อนลงว่ายน้ำควรเป็นโลชั่นชนิด w/o เพราะจะกันน้ำได้ดีกว่าชนิด o/w ทั้งนี้อาจเติมสารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ลงในวัฏภาคน้ำเพื่อให้โลชั่นหนืดขึ้น แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

3.2 ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของไขแข็ง (wax) และกรดไขมัน (fatty acid) หรือไขมันชนิดแอลกอฮอล์ (fatty alcohol) ช่วยเพิ่มความหนืดและช่วยให้เนื้อครีมผสมกับน้ำมันในวัฏภาคน้ำมันได้ ครีมมีทั้งชนิด o/w และ w/o มีความหนืดมากกว่าโลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่าคือประมาณ 35-75% แล้วแต่ความหนืดของเนื้อครีมที่ต้องการ โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (bodying หรือ stiffening agent) เช่น ไขมันและไขแข็งดังที่กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้กรณีของครีมชนิด o/w อาจมีการเติมสารเพิ่มความหนืดร่วมด้วยในตำรับ เช่น acacia, veegum และ methylcellulose เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดให้แก่วัฏภาคน้ำ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เป็นครีมชนิด o/w ได้แก่ ครีมทาผิว ครีมบำรุงถนอมผิว ครีมแต่งผม ครีมโกนหนวด ครีมทากันแดด ครีมระงับเหงื่อและขจัดกลิ่นตัว ครีมทาแก้สิว และครีมทาแก้ฝ้า เป็นต้น ครีมชนิด w/o ได้แก่ ครีมฮอร์โมน ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า และครีมแต่งผม เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีอิมัลชันชนิดพิเศษ คือ anhydrous emulsion ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ประกอบด้วย น้ำมันและสาร polyols เช่น glycerin, propylene, glycol และ PEG 400 เป็นต้น อิมัลชันที่ได้อาจมีลักษณะใสหรือขาวขุ่น

ส่วนประกอบของอิมัลชัน

ผลิตภัณฑ์รูปแบบอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

1. วัฏภาคน้ำ (water phase) ได้แก่ น้ำและสารต่าง ๆ ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำ อาจเป็นสารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, methylcellulose และ carbopol สารดูดความชื้นหรือฮิวเมกแทน (humectant) เช่น glycerin, propylene หรือสารในกลุ่ม glycols สารกันเสีย (preservative) เช่น methylparaben และ sodium benzoate สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น tween และ Sodium Lauryl Sulphate สีที่ละลายน้ำได้ เช่น amaranth และ tartrazine สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เช่น sodium metabisulfite นอกจากนี้ อาจเป็นสารออกฤทธิ์อื่นที่ละลายน้ำได้ เช่น cetylpyridinium chloride และ benzalkonium chloride เป็นต้น สารต่างๆ เหล่านี้สามารถเติมลงในวัฏภาคน้ำได้ ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสูตรในผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท

2. วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) ได้แก่ น้ำมันชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำมันมะกอก (olive oil) น้ำมันแร่ (mineral oil) น้ำมันละหุ่ง (castor oil) สารในกลุ่มไขมัน เช่น stearyl alcohol, stearic acid, cetyl alcohol และ lanolin ไขแข็ง เช่น permaceti, beeswax, carnauba wax และ paraffin wax สีที่ละลายในน้ำมัน เช่น D&C Red No. 21 และ D&C Orange No.5 น้ำหอม เช่น น้ำมันเปปเปอร์มินต์, orange oil และ perfume oil ชนิดต่าง ๆ สารกันหืน เช่น butyrated hydroxyanisol (BHA) และ butyrated hydroxytoluene (BHT) สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น span และ Emulgin C 1000 รวมถึงสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ เช่น ฮอร์โมน และ วิตามิน เป็นต้น ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบในสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท

3. ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว เช่น tween, span และ Sodium Lauryl Sulphate คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เช่น acacia และ gelatin ของแข็งอนุภาคละเอียด เช่น bentonite และ colloidal magnesium aluminium silicate เป็นต้น ตัวทำอิมัลชันเป็นหัวใจสำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้

กลไกการเกิดอิมัลชัน (Sjoblom 2006 : 314)

โดยทั่วไปของเหลวสองชนิดซึ่งไม่เข้ากัน เมื่อนำมารวมกันจะแยกตัวออกเป็น 2 ชั้น เนื่องจากแรงตึงระหว่างผิว แต่เมื่อทำการเขย่าซึ่งเป็นการเพิ่มพลังงานและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวทั้งสอง จะทำให้ของเหลวนั้นกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ ในกันและกันได้ และมีลักษณะของอิมัลชันเกิดขึ้น แต่เป็นเพียงเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นชั่วคราว ซึ่งหลักการทางเทอร์โมไดนามิกส์อธิบายได้ว่า การเขย่าเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระที่พื้นผิว (surface free energy) ทำให้ของเหลวเข้ากันได้ชั่วคราว สภาวะนี้จะไม่คงตัว เพราะเมื่อหยุดเขย่าหยดของเหลวเหล่านั้นจะพยายามกลับมารวมตัวกันและแยกชั้นเหมือนเดิม เนื่องจากมีการปรับสภาวะให้เข้าสู่จุดคงสภาพโดยการลดพื้นที่ผิวการสัมผัสระหว่างกันให้น้อยที่สุด เหตุการณ์ดังกล่าวนี้สามารถทำให้เกิดขึ้นได้อย่างถาวร โดยทำให้เกิดการกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ ซึ่งกันและกันระหว่างของเหลวทั้งสองชนิดโดยที่ยังคงสภาพอยู่ และจะไม่กลับไปแยกชั้นเหมือนเดิมโดยการเติมตัวทำอิมัลชันลงไปก่อนทำการการเขย่า ดังนั้นการเกิดอิมัลชันจึงต้องอาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน คือ

1. การทำให้ของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในแตกกระจายเป็นหยดเล็ก ๆ โดยอาศัยการให้พลังงาน ซึ่งอาจใช้ในรูปของความร้อน (heat) การคนหรือเขย่า (mechanical agitation) การสั่นสะเทือนโดยคลื่นเสียง (ultrasonic vibration) หรือไฟฟ้า (electricity) เป็นต้น

2. การทำให้หยดเล็กๆ ที่กระจายตัวอยู่นั้นคงสภาพอยู่ได้ โดยอาศัยตัวทำอิมัลชันซึ่งได้เคยมีการอธิบายกลไกการทำงานของตัวทำอิมัลชันไว้ดังนี้

2.1 ลดแรงตึงระหว่างผิวของของเหลวทั้งสอง เป็นการลดพลังงานอิสระที่พื้นผิว ทำให้โอกาสที่หยดวัฏภาคซึ่งกระจายตัวอยู่นั้น มีการรวมตัวกันได้น้อยลง และเป็นการเพิ่มความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์

2.2 เกิดฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่นโดยรอบหยดวัฏภาคภายใน ความแข็งแรงและลักษณะการเรียงตัวของโมเลกุลของฟิล์มนี้แตกต่างกันออกไป แล้วแต่ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันที่ใช้ ฟิล์มอาจมีการเรียงตัวเป็นโมเลกุลเดี่ยว (monomolecular film) โดยหันด้านมีประจุเข้าหาวัฏภาคน้ำ และด้านที่ไม่มีประจุหันเข้าหาวัฏภาคน้ำมัน ฟิล์มชนิดนี้มักเกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวทำอิมัลชัน หรือมีการเรียงตัวซ้อนกันของโมเลกุล (multimolecular film) เกิดจากการใช้คอลลอยด์ที่ชอบน้ำเป็นตัวทำอิมัลชัน หรือมีการเรียงตัวของอนุภาคเล็กละเอียดของของแข็ง (solid particle film) ซึ่งเกิดจากการใช้ของแข็งเล็กละเอียดบางชนิดซึ่งดูดซับที่ผิวของวัฏภาคทั้งสอง ฟิล์มที่เกิดขึ้นรอบหยดวัฏภาคภายในนี้ทำหน้าที่เป็นกันชน (mechanical barrier) ป้องกันการสัมผัสกันโดยตรงของหยดวัฏภาคภายใน ซึ่งกลไกนี้ถือว่าสำคัญที่สุด เพราะตราบใดที่กันชนนี้ยังคงอยู่จะไม่ทำให้หยดวัฏภาคภายในรวมตัวกันได้ ความแข็งแรงของกันชนนี้ยังขึ้นกับปริมาณของตัวทำ

อิมัลชันที่ใส่ลงไปด้วย ถ้ามีปริมาณมากพอ การเรียงตัวของโมเลกุลบนฟิล์มก็จะเรียงตัวกันหนาแน่นทำให้อิมัลชันมีความคงตัวมากขึ้น ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติหรือพฤติกรรมของฟิล์มที่เกิดขึ้นระหว่างผิวจากอดีตมาจนถึงปัจจุบัน โดยมีสมมุติฐานใหม่อธิบายว่า อิมัลชันที่คงตัวอาจเกิดจากมีชั้นของผลึกของเหลว อยู่ระหว่างผิวของหยดวัฏภาคภายในกับวัฏภาคภายนอกโดยมีโครงสร้างเป็นสามมิติ ซึ่งสามารถนำไปอธิบายปฏิกิริยาระหว่างกันของหยดวัฏภาคภายใน ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้อิมัลชันเกิดการรวมตัวกันและแยกชั้นได้ นอกจากนี้ยังนำไปอธิบายกลไกการทำงานของตัวทำอิมัลชันที่เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (nonionic emulsifiers) โปรตีน (preteins) และสารจำพวกกัมที่มีขนาดโลเลกุลใหญ่ (macromolecular gums) ซึ่งทำให้อิมัลชันคงสภาพได้ด้วย

2.3 เกิดชั้นคู่ของไฟฟ้าสถิตเป็นกันชนทางไฟฟ้า (electrical double layer) ซึ่งกันชนทางไฟฟ้าเกิดจากกลุ่มโมเลกุลที่มีประจุ (electrically charged groups) ซึ่งอยู่รอบผิวของหยดวัฏภาคภายใน กลไกนี้ใช้อธิบายอิมัลชันชนิด o/w ได้เป็นอย่างดี ตัวอย่างที่เห็นชัด คือ การใช้ sodium soap เป็นตัวทำอิมัลชัน โมเลกุลที่เรียงตัวเป็นฟิล์มห่อหุ้มหยดวัฏภาคภายในจะหันด้านหัวที่เป็นไอออนเข้าหาวัฏภาคน้ำ และหันหางซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนเข้าหาวัฏภาคน้ำมัน ไอออนที่มีประจุลบซึ่งเกิดจาก carboxylate group รอบหยดวัฏภาคภายในจะถูกล้อมรอบด้วยประจุบวกอีกชั้น ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากไอออนประจุลบนี้จะผลักกัน ทำให้หยดน้ำมันไม่มีโอกาสเข้าใกล้กัน ถึงแม้ว่าตัวทำอิมัลชันแต่ละชนิดซึ่งทำหน้าที่ในการทำให้เกิดอิมัลชันและรักษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ไว้ได้นั้นอาจต้องอาศัยกลไกอย่างใดอย่างหนึ่งหรือมากกว่า 1 กลไก และอาจมีกลไกการทำงานต่างกันไปบ้าง แต่ข้อสำคัญ คือ ต้องเป็นสารที่สามารถถูกดูดซับอยู่ที่ผิวประจันระหว่างวัฏภาคทั้งสองได้ และสร้างฟิล์มลักษณะใดก็ได้ โดยปริมาณของตัวทำอิมัลชันต้องมากพอที่จะเกิดฟิล์มแข็งแรงหนาแน่นรอบหยดวัฏภาคภายใน จึงจะถือว่าตัวทำอิมัลชันทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์

สมบัติของอิมัลชันทางเครื่องสำอาง

1. ลักษณะภายนอกและความรู้สึก (appearance and feel)

ลักษณะภายนอกของอิมัลชันมีด้วยกันหลายแบบ ขึ้นอยู่กับความหนืด ความยากง่ายในการเทออกจากขวด ความหยาบหรือละเอียดของเนื้ออิมัลชัน ความเป็นมัน การเหลือบมุก และความทึบแสง ปีนต้น ความรู้สึกเมื่อใช้อิมัลชันจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความมัน ความเหนอะหนะ ความเปียกลื่น ความระคาย และคุณสมบัติการแผ่กระจายบนผิว ตลอดจนระยะเวลาในการแห้งตัวเมื่อใช้ทาบผิว และเมื่อเก็บทิ้งไว้นาน คุณสมบัติดังกล่าวนี้รวมทั้งชนิดและความคงตัวของอิมัลชันถูกควบคุมโดยปัจจัยต่าง ๆ เช่น คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของวัฏภาคน้ำและน้ำมัน อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำและน้ำมัน ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน ลำดับการผสม อุณหภูมิในการ

เกิดอิมัลชัน ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ผสม และอัตราความเร็วในการทำให้อิมัลชันเย็นตัวลง นอกจากนี้ขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายในก็มีผลต่อลักษณะอิมัลชันที่ได้ ความเหลือบมุกมักเกิดจาก stearic acid, cetyl alcohol, stearyl alcohol และอนุพันธ์ของมัน ซึ่งอัตราการเหลือบมุกจะเกิดเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับอัตราการทำให้อิมัลชันเย็นตัวลง และอัตราการเกิดผลึกของสารเหล่านี้

คุณสมบัติเมื่อใช้ขึ้นอยู่กับสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรและชนิดของอิมัลชัน อิมัลชันที่มีปริมาณน้ำมันสูงจะเกิดฟิล์มมันบนผิว และถ้ามีไขมันชนิดแอลกอฮอล์ที่เป็นของแข็ง กรดไขมัน เอสเทอร์ และไขแข็ง มักจะทำให้เกิดฟิล์มแห้งบนผิว ผลิตภัณฑ์ที่มี paraffin ปริมาณสูงจะรู้สึกลื่นเมื่อทาบผิว สารพวก polyols ในปริมาณสูงทำให้เกิดความชุ่มชื้น อิมัลชันชนิด o/w มักจะเป็นมันน้อยกว่าชนิด w/o

2. วิทยาศาสตร์การไหล (Rheology)

คุณสมบัติการไหลที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพและความคงตัวของอิมัลชัน ได้แก่ ความหนืด (viscosity) ความยืดหยุ่น (plasticity) และความอ่อนนิ่ม (elasticity) อิมัลชันส่วนใหญ่มีการไหลแบบ non-newtonian อาจเป็นแบบ pseudoplastic (ค่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงตามเวลาเมื่อมีแรงกระทำต่อการไหล ซึ่งเมื่อเพิ่มแรงกระทำให้เกิดการไหลความหนืดจะลดลง) แบบ plastic (ต้องเพิ่มแรงจนถึงจุดหนึ่งจึงจะมีการไหลเกิดขึ้น) ซึ่งเกิดกับอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เช่น ครีม หรือแบบ thixotropic (เมื่อเพิ่มแรงให้โดยการเขย่าจะเหลว แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้จะหนืด) ซึ่งเกิดกับพวกโลชั่น

ความหนืดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของอิมัลชัน เพราะการเปลี่ยนแปลงความหนืดของอิมัลชันเนื่องจากสาเหตุใดก็ตาม จะส่งผลต่อคุณภาพและความคงตัวด้วย และยังมีผลต่อความรู้สึกของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์นั้น เช่น ความน่าเชื่อถือ เป็นต้น ถ้าอิมัลชันมีความหนืดลดลง แสดงว่าหยดอนุภาคภายในมีขนาดโตขึ้น เนื่องจากเกิดการรวมตัวกัน (coalescence) และอิมัลชันจะมีอายุสั้นลง

ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของอิมัลชันมีดังนี้

2.1 ปริมาณวัฏภาคภายใน

2.2 ความหนืดของวัฏภาคภายนอก

2.3 ขนาดและการกระจายของอนุภาควัฏภาคภายใน ถ้ามีขนาดเล็กอิมัลชันจะหนืด

2.4 ความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน

2.5 โครงสร้างทางเคมีของตัวทำอิมัลชัน

2.6 คุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์มที่หุ้มรอบหยดน้ำมัน (วัฏภาคภายใน)

2.7 วิธีเตรียมอิมัลชัน ถ้าใช้เครื่องมือที่มี shear rate สูง อิมัลชันที่ได้จะหนืด การเพิ่มความหนืดให้กับอิมัลชันเป็นการเพิ่มความคงตัว เพราะถ้ามีความหนืดมากจะต้านการไหลได้ดี

เมื่อทิ้งไว้นานอิมัลชันจะไม่เปลี่ยนแปลง อาจทำได้โดยใช้สารเพิ่มความหนืดในวัฏภาคภายนอก เช่น gum หรือใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณที่มากเกินพอ

3. ขนาดอนุภาค (Particle size)

ขนาดอนุภาคของอิมัลชันมีผลต่อลักษณะอิมัลชันที่ได้ (ดังตารางที่ 4) คุณสมบัติการไหลและความคงตัวของอิมัลชัน อิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมักจะหนืด เนื้อเนียน และคงตัว ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อขนาดของอนุภาคอิมัลชัน คือ ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน วิธีการผลิต เช่น ปริมาณพลังงานที่ให้และลำดับการผสม การวัดขนาดอนุภาคใช้วิธีตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้วิธีกระจายแสง (light scattering technique) การนับจำนวนอนุภาคด้วยเครื่อง coulter counter หรือการคำนวณโดยใช้ stoke’s law

4. การกลับวัฏภาค (Phase inversion)

ในบางสภาวะอิมัลชันอาจเกิดการกลับวัฏภาคไปมาระหว่างชนิด o/w และชนิด w/o ได้ ซึ่งการกลับวัฏภาคนี้มีทั้งผลดีและผลเสีย ถ้าเป็นการกลับวัฏภาคเพื่อได้อิมัลชันชนิดละเอียดโดยใช้เทคนิคการกลับวัฏภาคถือว่าเป็นผลดี แต่ถ้าเป็นการกลับวัฏภาคแล้วอิมัลชันเสียความคงตัวถือว่าเป็นผลเสีย ตัวอย่างเช่น กรณีที่มีวัฏภาคภายในมากกว่า 74% ซึ่งทำให้อิมัลชันเปลี่ยนจากชนิด o/w เป็นชนิด w/o และไม่คงสภาพถือว่าเป็นผลเสีย การกลับวัฏภาคของอิมัลชันอาจเกิดได้ในกรณีที่มีวัฏภาคภายในน้อยกว่า 74% ซึ่งขึ้นกับปัจจัย ดังนี้

4.1 ความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน ตัวทำอิมัลชันในความเข้มข้นสูงจะทำให้สามารถใช้วัฏภาคภายในได้มากกว่าก่อนจะเกิดการกลับวัฏภาค

4.2 ชนิดของตัวทำอิมัลชัน อิมัลชันชนิด o/w นั้น ถ้าตัวทำอิมัลชันมีค่า hydrophilic lipophilic balance (HLB) ต่ำ เช่น sorbitan monoester การเพิ่มความเข้มข้นจะทำให้ใช้วัฏภาคภายในได้น้อยลงก่อนกลับวัฏภาค ในทางกลับกันตัวทำอิมัลชันที่มีค่า HLB สูง เช่น สารกลุ่ม polyoxyethylenes การเพิ่มความเข้มข้นจะทำให้ใช้วัฏภาคภายในได้สูงขึ้นก่อนกลับวัฏภาค

4.3 ชนิดและปริมาณองค์ประกอบต่าง ๆ ในตำรับ การเติมอิเล็กโทรไลต์จะมีผลต่อการละลายหรือความคงตัวของตัวทำอิมัลชันบางตำรับ ตัวอย่างเช่น เติม calcium chloride ลงในอิมัลชันชนิด o/w ซึ่งใช้ sodium soap เป็นตัวทำอิมัลชัน จะทำให้เกิดการกลับวัฏภาคเป็นชนิด w/o โดยมี calcium soap เป็นตัวทำอิมัลชันแทน เป็นต้น

4.4 การเปลี่ยนอุณหภูมิ การกลับวัฏภาคอาจเกิดระหว่างการเตรียมอิมัลชันในขณะที่อิมัลชันเย็นตัวลงสู่อุณหภูมิห้อง เรียกอุณหภูมิ ณ จุดกลับวัฏภาคนี้ว่า phase inversion temperature (PIT) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในการเตรียมอิมัลชันที่ใช้ตัวทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุ โดยเฉพาะกลุ่ม polyoxyethylenes โดย PIT เป็นอุณหภูมิที่คุณสมบัติในการชอบน้ำและชอบน้ำมัน

ของตัวทำอิมัลชันมีความสมดุลกัน มีการสูญเสียน้ำทำให้เกิดการขุ่น อาจเรียกค่านี้ว่า HLB temperature การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอิมัลชันจาก ณ ที่สูงกว่าค่า PIT ไปหา ณ ที่ต่ำกว่าค่า PIT ทำให้การละลายของตัวทำอิมัลชันเปลี่ยนไป จึงทำให้อิมัลชันกลับวัฏภาคได้ มีการนำคุณสมบัติดังกล่าวนี้ไปใช้ประโยชน์ในการเตรียมอิมัลชันชนิด o/w ที่มีขนาดอนุภาคเล็กละเอียดและคงตัว โดยใช้เทคนิคการกลับวัฏภาค โดยการเตรียมอิมัลชัน ณ อุณหภูมิสูงกว่าค่า PIT นอกจากนี้ยังนำค่า PIT ไปใช้เป็นแนวทางในการเลือกตัวทำอิมัลชันที่เหมาะสมด้วย กล่าวคือ ควรเลือกตัวทำอิมัลชันที่มีค่า PIT สูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาอิมัลชัน จึงจะทำให้อิมัลชันคงตัวโดยไม่กลับวัฏภาค

4.5 ความคงตัว (stability) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง นอกจากต้องมีลักษณะสวยงามน่าใช่และมีคุณภาพดีแล้ว ความคงตัวตลอดระยะเวลาที่วางขายหรือก่อนถึงผู้บริโภคก็เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงอย่างยิ่ง การเพิ่มความคงตัวอาจทำได้โดยการเติมสารต้านออกซิเดชัน สารกันเสีย การเลือกใช้น้ำหอมและสีที่เข้าได้ดีกับส่วนประกอบในสูตรตำรับ นอกจากนี้ยังต้องเลือกส่วนประกอบของวัฏภาคน้ำ น้ำมัน และตัวทำอิมัลชันที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวทางกายภาพ

ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน

ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชันมักเกิดจากการรวมตัวของหยดวัฏภาคภายในแล้วแยกออกจากวัฏภาคภายนอก ซึ่งเกิดได้ 3 ลักษณะ คือ

1. Creaming เป็นลักษณะที่วัฏภาคภายในแยกตัวไปรวมกันลอยอยู่ชั้นบน หรือนอนก้นภาชนะ ทำให้เห็นแยกเป็นชั้นครีม และชั้นอิมัลชันที่เจือจาง มักเกิดกับอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เช่น โลชั่น เป็นความไม่คงตัวที่เกิดขึ้นไม่ถาวร เมื่อเขย่าสามารถทำให้ชั้นที่แยกนี้ผสมกันได้ดังเดิม การป้องกันการเกิด creaming อาจทำได้โดยลดขนาดหยดของวัฏภาคภายใน เช่น ใช้ homogenizer หรือทำให้วัฏภาคทั้งสองมีความหนาแน่นเท่ากัน หรือเพิ่มความหนืดให้กับวัฏภาคภายนอกโดยใช้สารเพิ่มความหนืด

2. Flocculation เป็นความไม่คงตัวชนิดไม่ถาวรเช่นกัน แต่รุนแรงกว่า creaming เพราะหยดอนุภาคภายในที่แยกตัวมารวมกันนี้เกิดแรงเกาะกันอย่างอ่อน ๆ ซึ่งจะนำไปสู่การเกิด coalescence ซึ่งเป็นความไม่คงตัวอย่างถาวรได้ flocculation นี้อาจเกิดก่อน หลัง หรือระหว่างการเกิด creaming ได้ การเขย่าให้กลับสู่สภาพเดิมจะขึ้นกับแรงเกาะกันระหว่างอนุภาค ซึ่งพิจารณาได้จากคุณสมบัติทางเคมีของตัวทำอิมัลชัน อัตราส่วนวัฏภาคภายในกับวัฏภาคภายนอก ความเข้มแข็งของสารอิเล็กโทรไลต์ และตัวทำอิมัลชันที่มีประจุ การป้องกันการเกิด flocculation อาจทำได้โดยทำให้มีแรงผลักระหว่าง electrical double layer สูงพอ โดยใช้ตัวทำอิมัลชันที่มีประจุที่ดูดซับได้ดีที่

ผิวประจัน ทำให้เกิดฟิล์มแข็งแรงที่เรียงตัวใกล้ชิดหนาแน่น หรือถ้าเป็นตัวทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุ ควรใช้ความเข้มข้นสูงพอที่จะเกิดฟิล์มหนาหุ้มรอบหยดวัฏภาคภายใน

3. Coalescence เป็นความไม่คงตัวชนิดถาวร โดยหยดอนุภาคภายในเกิดหลอมรวมตัวกันเป็นหยดที่โตขึ้นจนแยกออกเป็นชั้นน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน เนื่องจากฟิล์มที่หุ้มรอบหยดวัฏภาคภายในไม่แข็งแรง หรือการเพิ่มอุณหภูมิซึ่งทำให้ตัวทำอิมัลชันบางชนิดตกตะกอน การป้องกัน coalescence อาจทำได้โดยเลือกชนิดและปริมาณของตัวทำอิมัลชันอย่างเหมาะสม อาจใช้ตัวทำอิมัลชันร่วมหรือเพิ่มความหนืดของวัฏภาคภายนอก

นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion)

นาโนอิมัลชันส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปของอิมัลชันชนิด o/w มีขนาดอนุภาคอยู่ที่ประมาณ 50-1000 นาโนเมตร แต่โดยทั่วไปพบขนาดอนุภาคที่ 100-500 นาโนเมตร อนุภาคที่พบนั้นจะพบทั้งที่เป็นวัฏภาคน้ำในน้ำมัน และวัฏภาคน้ำมันในน้ำ โดยที่บางครั้งอาจมีการเรียกนาโนอิมัลชันว่า sub-micron emulsion (SME) หรือ mini-emulsion

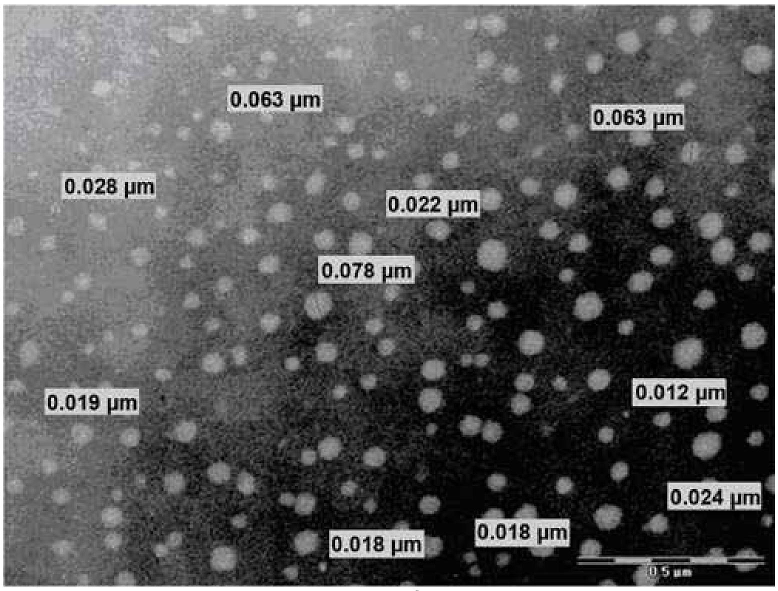
นาโนอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลัก คือ น้ำมัน น้ำและสารลดแรงตึงผิว โดยสามารถคงรูปอยู่ได้จากผิวฟิล์มของสารลดแรงตึงผิว สามารถเตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวหลายชนิดแต่ต้องคำนึงถึงความเป็นพิษของสารเช่นกัน แต่โดยทั่วไปแล้วจำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูงเพื่อเพิ่มความคงตัวของของเหลว (Tcholakova, Denkov, and Danner 2004 : 7444–7458) โดยทั่วไปขั้นตอนการทำนาโนอิมัลชันจะเป็นการผสมวัฏภาคภายในและภายนอกโดยใช้แรงเชิงกลที่สูง ซึ่งประโยชน์ของนาโนอิมัลชันมีดังนี้ (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ2552 : 117-118)

1. นาโนอิมัลชันมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากกว่าแมคโครอิมัลชัน ดังนั้นจึงทำให้นาโนอิมัลชันมีประสิทธิภาพในการส่งผ่านสารสำคัญได้ดีกว่า

2. นาโนอิมัลชันมีโอกาสเกิด creaming, flocculation และ coalescenceได้ต่ำกว่าแมคโครอิมัลชัน

3. สามารถเตรียมนาโนอิมัลชันได้หลายรูปแบบ เช่น ครีม โลชั่น สเปรย์ และโฟม

4. นาโนอิมัลชันไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง หรือเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งในเซลล์ของสัตว์ ดังนั้นจึงสามารถนำนาโนอิมัลชันมาใช้ได้กับคนและสัตว์



ภาพที่ 21 ลักษณะนาโนอิมัลชันของ aceclofenac ที่ถ่ายภาพด้วย TEM (Transmission Electron Microscope)

ที่มา : Faiyaz Shakeel et al. "Nanoemulsions as Vehicles for Transdermal Delivery of Aceclofenac," AAPS PharmSciTech 4, 8 (December 2007) : Article 104.

การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชัน (Application of nanoemulsion)

ในทางเครื่องสำอางได้มีการนำนาโนอิมัลชันมาใช้นำพาสารสำคัญทางเครื่องสำอางให้ซึมเข้าสู่ผิวหนังโดยเฉพาะพวกน้ำมัน นาโนอิมัลชันเป็นอิมัลชันที่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นตัวกลางในการนำพาสารสำคัญพวกน้ำมันได้ดีกว่าพวกไลโปโซม (liposomes) โดยข้อดีของนาโนอิมัลชันที่เหมือนกับไลโปโซม คือ สามารถช่วยในเรื่องการซึมผ่านของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังของมนุษย์ได้ดี ทำให้มีปริมาณสารสำคัญจำนวนมากที่ซึมเข้าสู่ผิวหนัง และด้วยการที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสสูงจึงทำให้นาโนอิมัลชันสามารถเป็นสารตัวกลางในการส่งผ่านสารต่าง ๆ ได้ดี และยังช่วยเพิ่มกระบวนการทางชีวภาพต่าง ๆ ให้กับผิวหนัง เช่น การช่วยทำให้ผิวหนังลดการสูญเสียน้ำ โดยนาโนอิมัลชันจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับผิว (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ2552 : 117-121)

คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลชีพของนาโนอิมัลชัน

มีผู้ทำการศึกษาคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลชีพของนาโนอิมัลชัน โดยนาโนอิมัลชันมีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพหลายชนิดได้แก่ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เชื้อไวรัสและเชื้อรา โดยมีผู้ทำการศึกษาผลการฆ่าเชื้อของระบบนาโนอิมัลชันโดยมีการเตรียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ ด้วย (Myc et al. 2002 : 195-201)

ได้มีรายงานการทดสอบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบด้วยนาโนอิมัลชัน โดยการผสมนาโนอิมัลชันสูตร GMO/CPC กับแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบเป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่า นาโนอิมัลชันที่ใช้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้สูงกว่า 95% ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6 (Wright 1996 ; Hamouda et al. 2001 : 1-7)

นอกจากมีการศึกษาคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแล้ว ยังได้มีการรายงานความสามารถในการฆ่าเชื้อไวรัสได้อีกด้วย โดยเชื้อไวรัสที่ได้มีการศึกษาได้แก่ เชื้อ vaccinia virus, เชื้อ Influenza A virus และเชื้อ *Herpes simplex* virus (Wright 1996 ; Hamouda et al. 2001 : 1-7) ดังแสดงในภาพที่ 22-23

ตารางที่ 5 ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่เวลา 10 และ 30 นาที

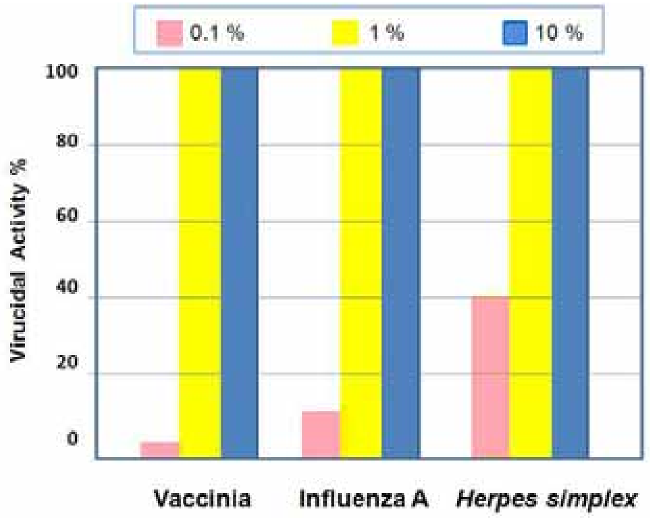
Bacteria	Innoculum (CFU)	%Inactive after 10 minutes incubation	%Inactive after 30 minutes incubation
Staphylococcus aureus (type 8)	2×10^7	99.99	99.99
Staphylococcus aureus (type 5)	9×10^6	100	99.99
Staphylococcus epidermidis (strain 977)	8×10^5	100	100
Group B Streptococcus (capsular type III)	2.9×10^7	99.99	100
Group A Streptococcus (beta-hemolytic)	3.3×10^7	99.99	99.99
Listeria monocytogenes	1.3×10^8	99.99	99.99
Streptococcus pneumoniae (type 5 ATCC 6305)	6.4×10^7	100	100
Propionibacterium acnus (ATCC 6919)	1.2×10^8	100	100
Gardnerella vaginalis (ATCC 14018)	5.5×10^7	100	100

ที่มา : D.C. Wright, “Antimicrobial oil-in-water emulsions,” United States Patent, 1996 : 5-6.

ตารางที่ 6 ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่เวลา 10 และ 30 นาที

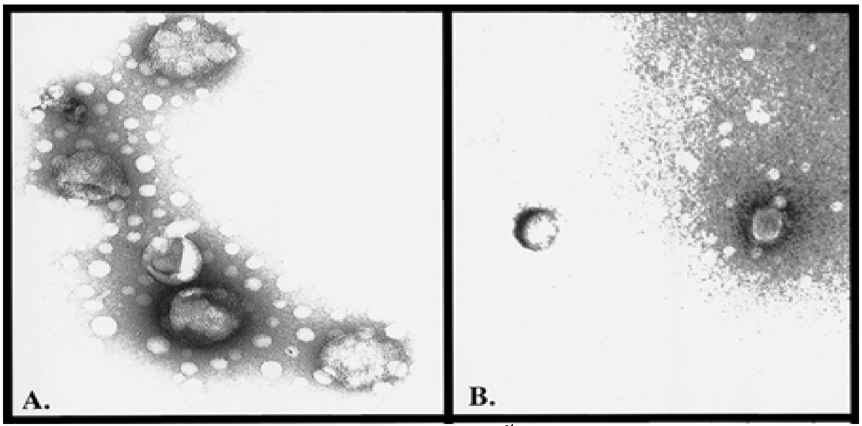
Bacteria	Innoculum (CFU)	%Inactive after 10 minutes incubation	%Inactive after 30 minutes incubation
Escherichia coli Type 018:K1	2.1×10^{7}	97.1	96.7
Escherichia coli Type 018:K	3.2×10^{7}	89.7	99.6
Escherichia coli 35 (epimerase deficient)	3×10^{7}	94	85
Pseudomonas aeruginosa Type FD-1	3.8×10^{7}	99	99
Pseudomonas aeruginosa MEP strain 2192	8×10^{7}	99.1	97.5
Haemophilus influenzae capsular type b	1×10^{7}	99.99	99.99
Neisseria neningitidis type b (ATPP 13090)	1.6×10^{8}	100	100
Neisseria gonorrhoeae (ATCC 9793)	1.2×10^{6}	100	100

ที่มา : D.C. Wright, "Antimicrobial oil-in-water emulsions," United States Patent, 1996 : 6.



ภาพที่ 22 กราฟแสดงผลการฆ่าเชื้อไวรัสของนาโนอิมัลชัน (BCTP) โดยที่ความเข้มข้น 10% และ 1% ปรากฏผลการฆ่าเชื้อ vaccinia, influenza A และ *Herpes simplex virus* ได้ 100% ในเวลา 15 นาที

ที่มา : Tarek Hamouda et al., “A novel surfactant nanoemulsion with a unique non-irritant topical antimicrobial activity against bacteria, enveloped viruses and fungi,” Microbiology Research, no. 156, 1 (2001) : 1-7.



ภาพที่ 23 ภาพถ่ายจากกล้อง Electron microscopy ของเชื้อ influenza A ที่ผสมกับนาโนอิมัลชัน

A. influenza A virus ที่ยังไม่ผ่านการผสมกับนาโนอิมัลชัน,

B. influenza A virus ที่ผสมกับนาโนอิมัลชันเป็นเวลา 15 นาทีพบว่า ไม่ปรากฏเยื้อหุ้มของไวรัสให้เห็น

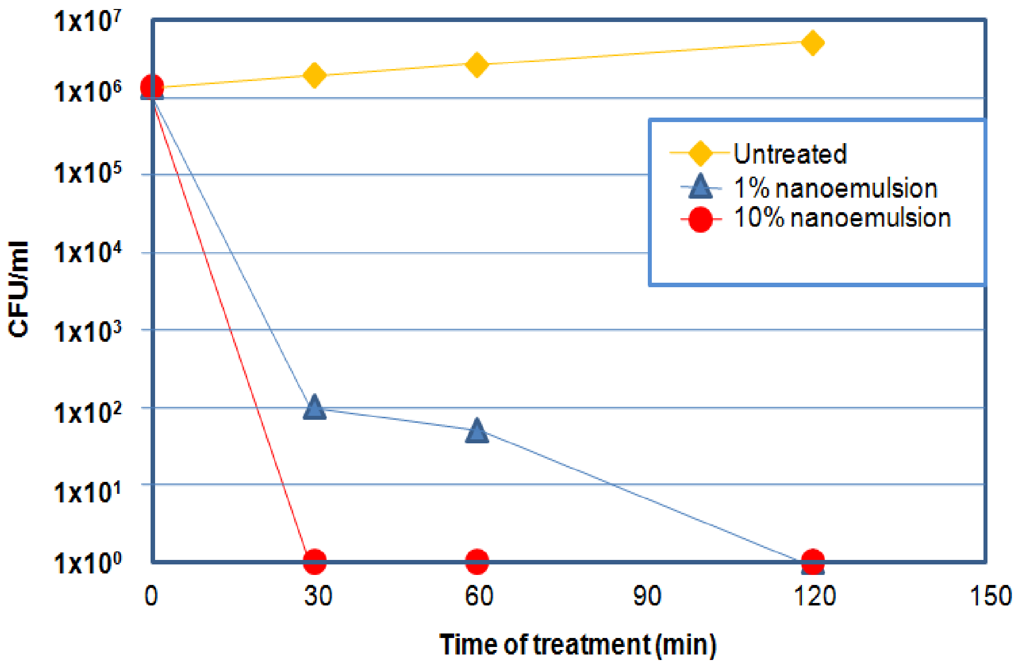
ที่มา : Tarek Hamouda et al., “A novel surfactant nanoemulsion with a unique non-irritant topical antimicrobial activity against bacteria, enveloped viruses and fungi,” Microbiology Research, no. 156, 1 (2001) : 1-7.

นอกจากนี้แล้วยังมีรายงานคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อราด้วยนาโนอิมัลชันอีกด้วย โดยเชื้อราที่มีการนำมาศึกษาคือ *Candida albicans* และเชื้อ *Candida tropicalis* (Myc et al. 2002 : 195-201) ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 24-25

ตารางที่ 7 แสดงผลการฆ่าเชื้อราชนิดต่างๆ ด้วยนาโนอิมัลชันหลังจากการผสมที่ 10 และ 30 นาที

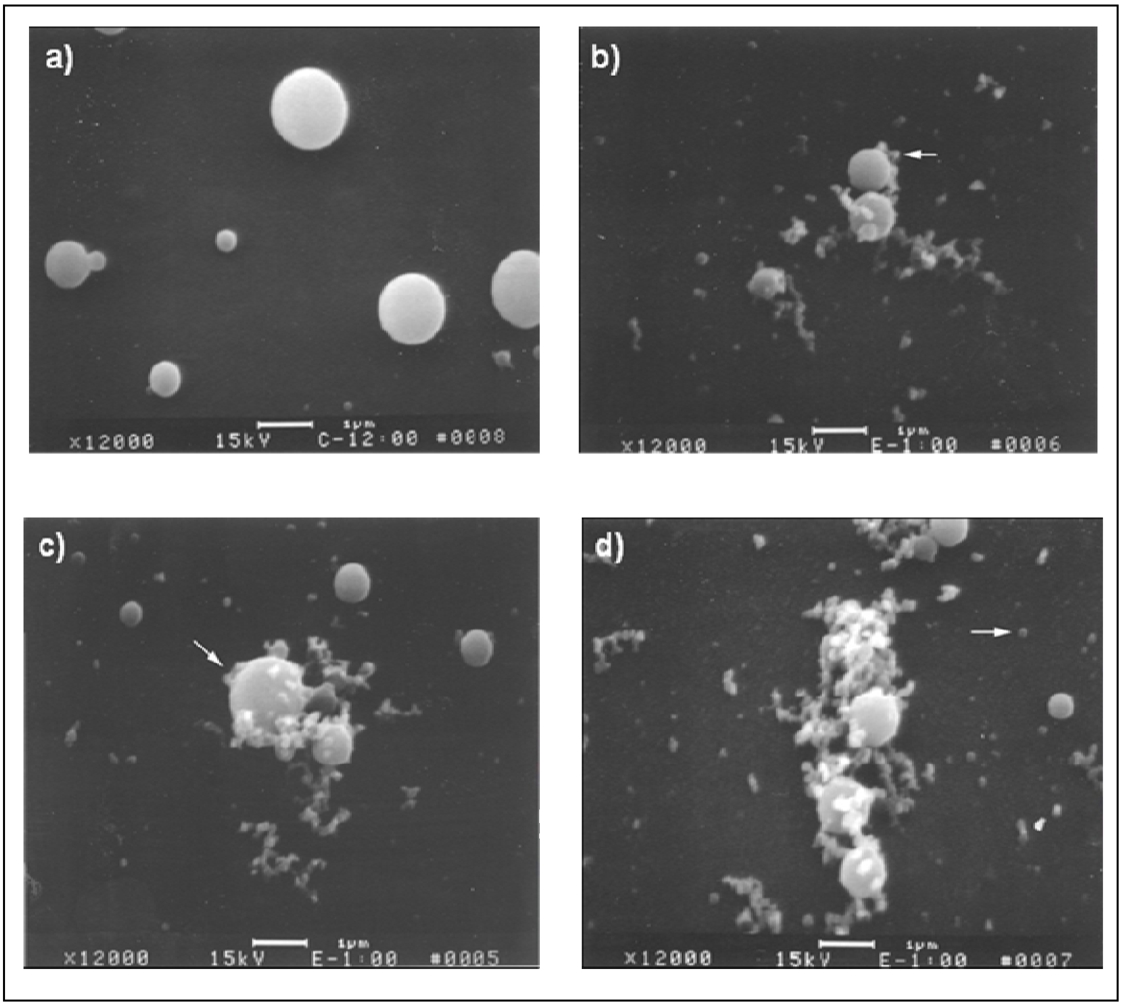
Yeast	Innoculum (CFU)	%Inactive after 10 minutes incubation	%Inactive after 30 minutes incubation
Candida albicans	3.2×10^5	62.5	62.5
Candida tropicalis	5.4×10^5	100	100

ที่มา : A. Myc et al., "The fungicidal activity of novel nanoemulsion (X8W60PC) against clinically important yeast and filamentous fungi," Mycopathologia 4, 155 (2002) : 195-201.



ภาพที่ 24 Kinetics ของการฆ่าเชื้อ *Candida albicans* ด้วยนาโนอิมัลชันความเข้มข้น 1% และ 10% ที่เวลาต่างๆ โดยมี BHI medium เป็นตัวควบคุม

ที่มา : A. Myc et al. "The fungicidal activity of novel nanoemulsion (X8W60PC) against clinically important yeast and filamentous fungi," Mycopathologia 4, 155 (2002) : 195-201.



ภาพที่ 25 ภาพถ่ายจากกล้อง Electron microscopy ของ *Candida albicans* ที่ผสมกับนาโนอิมัลชัน ภาพ a แสดงภาพเชื้อยีสต์ปกติ ภาพ b, c, d แสดงภาพ ของเชื้อยีสต์ที่ผสมกับนาโนอิมัลชันความเข้มข้น 1% ที่เวลาต่างๆ (ลูกศรชี้เป็นหยดของนาโนอิมัลชัน) กำลังขยาย = 12,000x

ที่มา : A. Myc et al. “The fungicidal activity of novel nanoemulsion (X8W60PC) against clinically important yeast and filamentous fungi,” Mycopathologia 4, 155 (2002) : 195-201.

น้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ทำได้หลายวิธี เช่น การบีบเย็น (cold pressing) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) สกัดสารโดยใช้ของไหลเหนือวิกฤต (supercritical fluid extraction) และการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction) การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค gas

chromatography (GC), liquid chromatography (LC) และการกลั่น (distillation) ทำให้ทราบว่าสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ที่หลากหลาย เช่น ต้านการแพ้ (antiallergic) ยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitory) ต้านอักเสบ (anti-inflammatory) ต้านการก่อกลายพันธุ์ (antimutagenic) ต้านสารก่อมะเร็ง (anticarcinogenic) ต้านไวรัส (antiviral) ไล่แมลง (insect repellent) ฤทธิ์ฆ่าหอย (molluscicidal) และต้านจุลชีพ (antimicrobial) เป็นต้น (Nakatsu et al. 2000 : 571-631 ; Bakkali et al. 2008 : 446-475) สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในเภสัชกรรม ได้แก่ eudesmol derivative เป็นอนุพันธ์ชนิดใหม่ที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็น sesquiterpenens มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ acyclic terpene alcohols เป็นสารจำพวก polyphenol ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase กำลังได้รับความนิยมในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางชนิดต่าง ๆ totarol จัดเป็น diterpene phenol ที่นิยมนำมาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ (antibiotics) เพื่อกำจัดเชื้อก่อโรคที่ดื้อยา (methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain) perillaldehyde และ polygodial เป็นสารสำคัญที่ได้จากพืชสมุนไพรของญี่ปุ่นสามารถออกฤทธิ์เสริมกันในการต้านจุลชีพ (synergistic antimicrobial activity) จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มในการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อการป้องกันและดูแลสุขภาพ เช่น ยารักษาโรค เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพปากและฟัน (oral care products) และสารกันเสียในอาหาร เป็นต้น (Nakatsu et al. 2000 : 571-631)

ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพปากและฟันที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพมักมีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบสำคัญ โดยเฉพาะน้ำยาบ้วนปาก (mouthwash) ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (antibacterial activity) ซึ่งการทดแทนการใช้แอลกอฮอล์ด้วยน้ำมันหอมระเหยนี้จะช่วยลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ (antiplaque) และกำจัดคราบหินปูน (anticalculus) ได้ดี นอกจากนี้ยังช่วยทำให้ลมหายใจหอมสดชื่นและลดการเกิดโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) ได้ด้วย น้ำยาบ้วนปากที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพมักประกอบด้วย thymol และ eugenol ซึ่งสารสำคัญทั้งสองชนิดนี้เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Actinomyces viscosus* ในหลอดทดลอง ที่ระดับความเข้มข้น 25 ส่วนในล้านส่วน (ppm) มีรายงานว่าการบ้วนปากด้วยน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย thymol และ eugenol เป็นระยะเวลานาน 4 วัน จะสามารถลดคราบจุลินทรีย์ได้เกือบ 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าในผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจะมีฤทธิ์ลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ได้ยาวนาน (longer lasting) มากกว่าผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย triclosan ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและนิยมใช้เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในน้ำยาบ้วนปากที่มีจำหน่ายทั่วไป (Nakatsu et al. 2000 : 571-631) นอกจากจะมีการนำน้ำมันหอมระเหย

มาใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปากแล้ว ยังมีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในยาสีฟันอีกด้วย เพราะน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านจุลชีพและลดการอักเสบ ทั้งนี้มีรายงานว่า cineole, menthone และ menthol สามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านยาทางผิวหนังได้ด้วย (Nakatsu et al. 2000 : 571-631) มีรายงานว่า eugenol และ geraniol เป็นสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งช่องปากในมนุษย์ (human mouth epidermal carcinoma cell line) (Bakkali et al. 2008 : 446-475) จึงคาดว่าจะสามารถนำน้ำมันหอมระเหยมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพปากและฟันได้กว้างขวางมากขึ้น โดยน้ำมันหอมระเหยที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยได้แก่

1. น้ำมันกานพลู (Clove oil)

น้ำมันกานพลู (clove oil) สกัดได้จากดอกตูมแห้งของต้นกานพลู *Eugenia caryophyllata* L. Merr. & Perry น้ำมันกานพลูประกอบด้วยสารในกลุ่ม phenylpropanoids เช่น carvacrol, thymol, eugenol และ cinnamaldehyde น้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด เช่น *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* และ *Staphyllococcus aureus* โดยเฉพาะ multi-resistant *Staphylococcus epidermidis* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านไวรัสก่อโรคเริม (herpes simplex virus) ต้านไวรัสก่อโรคตับอักเสบซี (hepatitis C virus) ต้านเชื้อรา (antifungal) ต้านอักเสบ ไล่แมลง และเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) เป็นต้น (Chaieb et al. 2007 : 501-506) eugenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์บรรเทาปวด (analgesic) ชาเฉพาะที่ (local anesthetic) ต้านอักเสบ และต้านแบคทีเรีย จึงได้มีการนำน้ำมันกานพลูมาใช้บรรเทาอาการปวดฟัน โดยมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเจลที่ประกอบด้วย benzocaine เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ การใช้น้ำมันกานพลูร่วมกับ zinc oxide ยังช่วยลดอาการอักเสบจากการถอนฟันได้อีกด้วย มีรายงานการแพ้ eugenol ในน้ำมันกานพลู เช่น ทำให้เกิดผื่นแดงในช่องปากและริมฝีปาก (Price 1998 : 144-147)

2. น้ำมันสเปียร์มินต์ (Spearmint oil)

น้ำมันสเปียร์มินต์ (spearmint oil) สกัดได้จากต้นสเปียร์มินต์ (*Mentha spicata* L.) องค์ประกอบสำคัญในน้ำมันสเปียร์มินต์ ได้แก่ α-pinene, b-pinene, carvone, 1,8-cineole, linalool, limonene, myrcene, caryophyllene และ menthol น้ำมันสเปียร์มินต์มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้หลายชนิด เช่น *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *S. mutans* และ *E. coli* รวมทั้ง *Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นต้น น้ำมันสเปียร์มินต์มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฆ่าเชื้อ (antiseptic) บรรเทาอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ (antispasmodic) และขับลม (carminative) เป็นต้น น้ำมันสเปียร์มินต์ไม่มีพิษและไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคืองหากนำมาใช้

ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม เนื่องจากน้ำมันสเปียร์มินต์ประกอบ menthol ในปริมาณต่ำ จึงค่อนข้างปลอดภัยในการนำมาใช้กับเด็ก

3. น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (Peppermint oil)

น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (peppermint oil) สกัดได้จากสกัดได้จากใบของต้นสะระแหน่ *Mentha piperita* (หรือรู้จักกันในชื่อ *M. balsamea* Willd.) องค์ประกอบสำคัญในน้ำมันเปปเปอร์มินต์ได้แก่ menthol, menthone, 1,8-cineole, methyl acetate, methofuran, isomenthone, limonene, β-pinene, a-pinene, germacrene, *trans*-sabinene hydrate และ pulegone (H.-G. Grigoleit, and P. Grigoleit 2005 : 612-616) น้ำมันเปปเปอร์มินต์มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้หลายชนิด เช่น *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Shigella dysentriae* และ *Yersinia enterocolitica* เป็นต้น (Saeed, Naim, and Tariq 2006 : 869-872) น้ำมันเปปเปอร์มินต์มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต้านไวรัส (antiviral) บรรเทาปวด (analgesic) ต้านอักเสบ แก้คัน (antipruritic) ฆ่าเชื้อ และบรรเทาอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เป็นต้น น้ำมันเปปเปอร์มินต์ไม่มีพิษและไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคืองหากนำมาใช้ในขนาดที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามควรระมัดระวังการนำไปใช้ในสตรีมีครรภ์ในช่วงไตรมาสแรก (Bakkali et al. 2008 : 446-475 ; Burt 2004 : 223-253 ; Saeed et al. 2006 : 869-872) Optamint® คือสารสกัดจากสะระแหน่ (peppermint extract) จัดเป็นน้ำมันหอมระเหยหรือสารประกอบที่ให้กลิ่นรสในอาหาร (food flavoring compound) มีประวัติการนำมาใช้ทั้งภายในและภายนอกอย่างยาวนาน องค์การอาหารและยา (FDA) จัดให้น้ำมันเปปเปอร์มินต์อยู่ในสถานะ “generally recognized as safe” (GRAS) status จึงนับว่ามีความปลอดภัยในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้อย่างปลอดภัย (Grigoleit and Grigoleit 2005 : 612-616)

4. น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil)

น้ำมันยูคาลิปตัส (eucalyptus oil) สกัดได้จากกิ่งและใบของพืชในจีนัส (genus) *Eucalyptus* องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันยูคาลิปตัส ได้แก่ cineol, pinene, limonene, cymene, phellandrene, terpinene และ aromadendrene เป็นต้น (Li, Madden, and Potts 1995 : 299-318) น้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ต้านสิว บรรเทาปวด ต้านแบคมีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านอักเสบ บรรเทาอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ และฆ่าแมลง เป็นต้น (Batish et al. 2008 : 2166-2174) มีรายงานว่าเมื่อนำน้ำมันยูคาลิปตัสมาใช้ภายนอกจะไม่เป็นพิษและไม่ระคายเคือง แต่เมื่อนำน้ำมันยูคาลิปตัสมาใช้ภายในกลับพบว่าน้ำมันยูคาลิปตัสที่ขนาด 3.5 มิลลิลิตร จะทำให้เสียชีวิตได้ หากร่างกายได้รับ

น้ำมันยูคาลิปตัสเกินขนาดจะทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง คลื่นไส้ และอาเจียน (Batish et al. 2008 : 2166-2174)

5. น้ำมันทีทรี (Tea tree oil)

น้ำมันทีทรี (tea tree oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากต้น *Melaleuca alternifolia* จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า melaleuca oil องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันทีทรี ได้แก่ terpinen-4-ol, γ-terpinene, α-terpinene, 1,8-cineole, α-terpinolene, α-terpineol, α-pinene และ *p*-cymene น้ำมันทีทรีมีฤทธิ์ยับยั้ง *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ต้านอักเสบ และต้านมะเร็ง (Hammer et al. 2006 : 616-625 ; Faoagali, George, and Leditschke 1997 : 349-351) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าน้ำมันทีทรีมีความเป็นพิษต่อไฟโบรบลาสท์ (human fibroblast) และเซลล์เยื่อบุผิว epithelial cell) ของมนุษย์ จึงเป็นข้อจำกัดในการนำน้ำมันทีทรีไปประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม การนำน้ำมันทีทรีมาใช้ทาภายนอก (topical use) จะค่อนข้างปลอดภัย ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้น้อยมาก และในบางครั้งหากเกิดอาการไม่พึงประสงค์ขึ้นก็จะหายได้เอง มีรายงานว่าการรับประทานน้ำมันทีทรีในปริมาณสูงจะเกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย และในระดับความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนังได้ ดังนั้นจึงไม่ควรเตรียมน้ำมันทีทรีในรูปแบบของผลิตภัณฑ์สำหรับการรับประทาน และหากใช้ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์สำหรับทาภายนอกต้องใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันทีทรีก็ไม่เป็นพิษต่อยีน (genotoxic) (Hammer et al. 2006 : 616-625)

น้ำมันถั่วเหลือง (Soybean oil)

น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil) สกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลือง (soybean) จากต้น *Glycine max* น้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยสารในกลุ่มฟีนอล (phenolic compounds) เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ในเมล็ดถั่วเหลืองยังประกอบด้วย phytic acid, α-linolenic acid, oleic acid และสารในกลุ่ม isoflavones เช่น genistein และ daidzein (Naito et al. 2000 : 811-816 ; Ruth, Shaker, and Morrissey 2001 : 177-184) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) จึงมีฤทธิ์ป้องกันการเกิด lipid oxidation สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในกระแสโลหิต ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ป้องกันโรคเบาหวาน และต้านอักเสบ เป็นต้น มีรายงานว่าถั่วเหลืองมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเส้นฝอยใหม่ (antiangiogenic effect) จึงมีฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วย (Naito et al. 2000 : 811-816) มีรายงานความเป็นพิษของน้ำมันถั่วเหลืองว่าหนูทดลองเพศเมีย (female Sprague-Dawley rat) ที่กินน้ำมันถั่วเหลืองเกิดเนื้องอกที่เต้านม (mammary tumor) (Kritchevsky, Weber and Klurfeld 1992 :

175-179) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการรับประทานน้ำมันถั่วเหลืองเป็นอาหารในปริมาณที่เหมาะสม มีความปลอดภัยและช่วยป้องกันโรคบางอย่างในมนุษย์ได้ (Hammond et al. 2008 : 311-323) เช่น ป้องกันการเกิดภาวะโคเลสเตอรอลหรือไตรกลีเซอไรด์ในกระแสโลหิตสูง และป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น

น้ำยาบ้วนปาก (Mouth Wash)

มีรายงานว่าน้ำยาบ้วนปาก (mouth rinse) ที่ประกอบด้วย cetylpyridinium chloride (CPC) สามารถลดคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก (supragingival plaque) และโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ต่อมาได้มีการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดคราบจุลินทรีย์ (plaque) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (anaerobic bacteria) โดยเปรียบเทียบระหว่างน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย CPC เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ กับน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วยฟลูออไรด์ (fluoride) พบว่ามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) ต่อคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก ซึ่งรวมตัวกันเป็นฟิล์ม (biofilm) ที่เกิดขึ้นภายหลังการแปรงฟันหรือการทำความสะอาดในช่องปาก แรกเริ่มจะมีเมือกใสของน้ำลายมาเกาะที่พื้นผิวฟัน จากนั้นจุลินทรีย์ในช่องปากจะตามมาเกาะทับถมกันจนกลายเป็นแหล่งรวมของจุลินทรีย์หลายชนิด มีระบบท่อส่งน้ำและอาหารไปยังจุลินทรีย์ อีกทั้งส่งสารพิษและกรดมายังภายนอกแผ่นคราบจุลินทรีย์ ในการศึกษานี้อาสาสมัครจำนวน 117 คน (ชาย 55 คน มีอายุเฉลี่ย 30.41 ปี หญิง 62 คน อายุเฉลี่ย 28.70 ปี) จะบ้วนปากวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน ด้วยน้ำยาบ้วนปากดังกล่าวจำนวน 20 มิลลิลิตร เป็นเวลานาน 30 วินาที นอกจากนี้ยังให้อาสาสมัครแปรงฟันด้วยยาฟันผสมฟลูออไรด์ด้วย จากการนำคราบจุลินทรีย์มาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาภายในเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากการบ้วนปาก พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย CPC สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือกได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วยฟลูออไรด์ นอกจากนี้ยังไม่มีอาสาสมัครคนใดออกไปจากการทดลองเพราะเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้น้ำยาบ้วนปาก (Hu et al. 2009 : 2540-2548)

The Federal Drug and Cosmetics Act เป็นกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับเครื่องสำอาง (cosmetic) ซึ่งคำว่าเครื่องสำอางนั้นหมายถึงสิ่งทำนำมาใช้กับร่างกายมนุษย์ เพื่อการทำความสะอาด ความสวยงาม และเพิ่มความน่าดึงดูด (promoting attractiveness) หรือเปลี่ยนแปลงภาพลักษณ์ (appearance) โดยปราศจากผลกระทบต่อโครงสร้างและหน้าที่ของร่างกาย การนำสารต่าง ๆ มาใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปาก (mouth rinse) เพื่อระงับกลิ่นปาก ก็จัดเป็นเครื่องสำอาง การนำยา เช่น chlorhexidine มาใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปากเพื่อต้านจุลินทรีย์จะจัดน้ำยาบ้วน

ปากนั้นเป็นยา (drug) ดังนั้นน้ำยาบ้วนปากชนิดนี้จึงมีข้อบ่งใช้ (indication) สำหรับการรักษาสุขอนามัยในช่องปาก ในผู้ป่วยที่มีการมัดฟันด้วยลวด (intermaxillary fixation) ในผู้ป่วยที่สวมเครื่องมือจัดฟันชนิดถอดได้ (removable orthodontic appliance) หรือเครื่องมือจัดฟันชนิดติดแน่น (fixed orthodontic appliance) การสวมฟันปลอมหรือฟันเทียม ผู้ป่วยด้วยโรคฟันผุหรือแผลร้อนใน (apthous ulceration) ผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน และลดการติดเชื้อแบคทีเรียในช่องปากหลังจากการผ่าตัด การใช้น้ำยาบ้วนปากจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อลดหรือกำจัดกลิ่นเหม็นในปาก (oral malodor) นอกจากนี้ในการรักษาก้อนเนื้อยื่นคล้ายดอกกะหล่ำสีขาวหรือสีชมพู (tongue flora) ซึ่งพบได้ทุกที่โดยเฉพาะลิ้นจะถูกกำจัดออกไปด้วยการแปรงลิ้นและใช้น้ำยาบ้วนปาก

จากการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตที่อาศัยอยู่บนผิวลิ้นนั้น พบว่าจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถสังเคราะห์เมแทบอไลท์ (metabolite) ได้แก่ indol, skatol และ volatile sulfur components (เช่น hydrogen sulfide, metil mercaptan, dimetil sulfide และ dimetil disulfide) ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นปาก (oral malodor) ดังนั้นการใช้น้ำยาบ้วนปากจึงช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของกลิ่นปากได้ น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย chlorhexidine, sanguinarine, listerine antiseptic หรือ cetylpyridinium chloride สามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่อาศัยบนลิ้น (cultivable tongue flora) ได้ อย่างไรก็ตามไม่มีรายงานทางคลินิกถึงประสิทธิภาพในการลดกลิ่นปากของ chlorine dioxide นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า zinc chloride มีประสิทธิภาพในการลดกลิ่นปากได้นานถึง 3 ชั่วโมง ภายหลังการใช้น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย zinc chloride ต่อมาได้มีการนำเกลือ sodium chloride มาใช้แทน zinc chloride เพื่อลดกลิ่นปาก โดยทำหน้าที่เป็นสารปกปิด (masking agent) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า Listerine มีฤทธิ์ปกปิดได้ยาวนาน (longer-lasting masking effect) เพื่อมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial effect) ร่วมด้วย สำหรับ cetylpyridinium chloride สามารถลด organoleptic score ได้นานถึง 8 ชั่วโมง ภายหลังการบ้วนปาก มีรายงานว่าน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย triclosancopolymer-sodium fluoride มีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย cetylpyridinium chloride หรือ phenolic flavor อย่างมีนัยสำคัญ (Hu et al. 2009 : 2540-2548)

น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย chlorhexidine สามารถลดจำนวนแบคทีเรียและยืดระยะเวลาของการเกิดการสะสมของแบคทีเรียบนเยื่อบุได้ การใช้สารอื่นเสริม (adjunctive use) เช่น oxidizing agent หรือ prexyborate โดยนำมาใช้ร่วมกับ chlorhexidine จะทำฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดคราบจุลินทรีย์หรือเหงือกอักเสบดีขึ้นมากกว่าการใช้ chlorhexidine เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ oxidizing agent ยังทำให้เกิดรอยเปื้อน (stain) จาก chlorhexidine ได้ลดลงอีกด้วย ผู้ป่วย

ที่ใช้น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย chlorhexidine ที่มีความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์ จะทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ เช่น ฟันเปลี่ยนสี การรับรู้รสอาหารเปลี่ยนไป และรู้สึกแสบร้อนที่ปลายลิ้น เป็นต้น (Hu et al. 2009 : 2540-2548)

Delmopinol (decapinol) จัดเป็น surface-active agent ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอย่างอ่อน โดยทำหน้าที่ป้องกันการเกาะติดและการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียบนผิวฟัน ดังนั้นสารชนิดนี้จึงสามารถลดการเกิดคราบจุลินทรีย์และการเกิดโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) ได้

การใช้น้ำยาบ้วนปาก (mouth rinse หรือ gargle) และสเปรย์สำหรับช่องปาก (oral spray) เป็นประจำจะช่วยควบคุมอาการอักเสบในบริเวณคอหอย (oropharyngeal inflammation) ได้ มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการนำ methylene blue dye มาใช้เป็นเครื่องหมาย (marker) ของการแพร่กระจาย (distribution) ของยาที่ใช้ในบริเวณโคนลิ้นหรือตำแหน่งที่เชื่อมต่อระหว่างช่องปากและช่องคอ (oropharynx)

ได้มีการนำน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย เกลือ โซดา (soda) chlorhexidine, lidocaine, Benadryl และ Maalox mixture มาใช้รักษาเยื่อบุช่องปากอักเสบจากการรักษาด้วยเคมีบำบัด (chemotherapy-induced mucositis) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ GM-CSF mouth rinse (0.5 microgram/ml) เป็นน้ำยาบ้วนปากที่อาจช่วยลดช่วงเวลาที่เกิดอาการเยื่อบุช่องปากอักเสบจากการรักษาด้วยเคมีบำบัดได้

นอกจากนี้ยังไม่มีการนำเสนอถึงความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์ (periodontitis) กับโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) ซึ่งคาดว่าแบคทีเรียในช่อง 2 ชนิด คือ *Streptococcus sanguis* และ *Porphyromonas gingivalis* สามารถชักนำให้เกิดการเกาะกันของเกร็ดเลือด (platelet aggregation) ในหลอดทดลองได้ ซึ่งน้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (essential-oil mouth rinse) สามารถเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียดังกล่าวได้ น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค (antiseptic) เช่น Listerine สามารถลดจำนวนเชื้อ *Streptococcus mutans* ในคราบจุลินทรีย์และน้ำลายได้ cetyltrimethylammonium naproxenate เป็นสารที่ออกฤทธิ์ฆ่า *Streptococcus sanguis* ได้รวดเร็วมาก สามารถกำจัด *S. pyogenes*, *S. dysgalactiae* และ *S. mutans* ได้รวดเร็ว และยังมีฤทธิ์ยับยั้ง *Moraxella catarrhalis* อีกด้วย cetyltrimethylammonium naproxenate เกิดขึ้นจากการจับกันเป็นเกลือระหว่างยาต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal antiinflamatory drug) กับ quaternary ammonium compound น้ำยาบ้วนปากที่ประกอบด้วย benzalkonium สามารถยับยั้งการเกิดคราบจุลินทรีย์ได้ sanguinaria เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในกลุ่ม alkaloid ที่ได้จากพืช สามารถลดคราบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุและโรคปริทันต์ได้ ต่อมามีรายงานว่า sanguinaria มี

ความสัมพันธ์กับการเกิดฝ้าขาวหรือเนื้องอกจากเซลล์ของร่างกายที่มีความผิดปกติ (leukoplakia) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาความเป็นพิษและการทำให้ตัวอ่อนของสัตว์ทดลองผิดปกติกลับพบว่าอัลคาลอยด์ชนิดนี้ไม่มีพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงและสัตว์ทดลองแต่อย่างใด ดังนั้นจึงคาดว่าการใช้ sanguinaria ไม่น่าจะทำให้เกิดเนื้องอกจากเซลล์ของร่างกายที่มีความผิดปกติขึ้นได้ sanguinaria สามารถลดการสะสมของจุลินทรีย์ ทำหน้าที่ฆ่าเชื้อโรคในช่องปาก ซึ่งจะออกฤทธิ์โดยตรงในการลดกระบวนการออกซิเดชันของเนื้อเยื่อ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. Glycerol monooleate (Lot No. 1-6297, Imperial Industrial Chemicals (Thailand) Co.,Ltd.)
2. น้ำมันถั่วเหลือง (บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (มหาชน))
3. น้ำมันกานพลู (Lot No. 6168, H.E.DANIEL LTD.)
4. น้ำมันออปทามินต์ (Batch No. RO 0250, Greater Pharma Co., LTD)
5. น้ำมันยูคาลิปตัส (Batch No. RO 0245, Greater Pharma Co., LTD)
6. น้ำมันสเปียร์มินต์ (Batch No. RO 0249, Greater Pharma Co., LTD)
7. น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (Batch No. RO 0068, Greater Pharma Co., LTD)
8. น้ำมันทีทรี (Batch No. RO 0364, Greater Pharma Co., LTD)
9. Phytosterol (Batch No. UI8B040005, Cognis Corporation)
10. Polyoxyethylene sorbitan monostearate (Lot No.59630, P.C. DRUG CENTER CO.,LTD)
11. PEG-40 Hydrogenated Castor Oil (Lot No. 98-2394, BASF)
12. Sodium Lauryl Sulphate (Lot No. 000148, VIDHYASOM CO., LTD)
13. Poloxamer (Lot No. 9205-1395, BASF)
14. น้ำกลั่น (General Hospital Products Public Co.,Ltd)
15. Brain Heart Infusion Broth (Batch No. VM008293, Merck KGaA)
16. Brain Heart Infusion Agar (Batch No. VM006625, Merck KGaA)
17. Mitis Salivarius Agar (Lot No. 1402063, Sigma-Aldrich Co.)
18. VIAL TTC Solution 1% (Batch No. 9167462, Becton Dickinson Co.)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

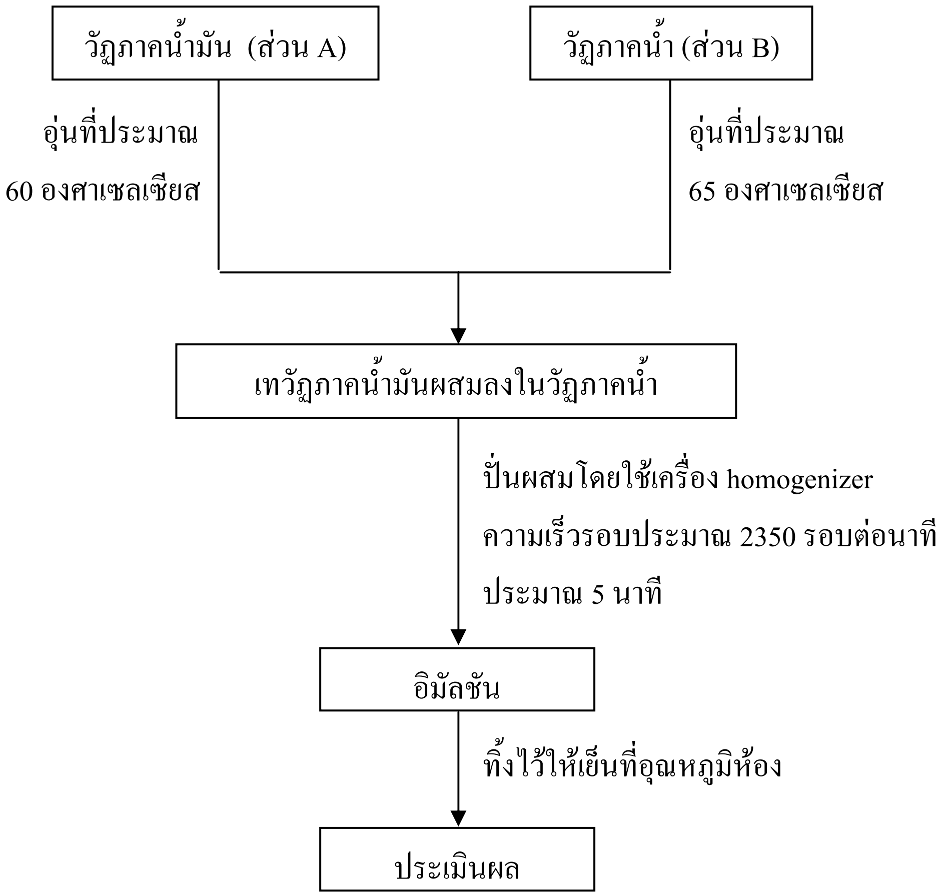
1. Beaker (50, 100, 250 มิลลิลิตร)
2. Cylinder (100 มิลลิลิตร)
3. Stirring rod
4. Thermometer
5. Magnetic stirrer และ magnetic bar
6. Homogenizer (รุ่น X1020, Ystral GmbH, Germany)
7. กล้องจุลทรรศน์ (รุ่น CX41RF, OLYMPUS, Japan)
8. กล้องดิจิตอล (Dinolite, AM423X)
9. Particle size analyzer (Horiba, LA-950, Japan)
10. pH meter (Mettler-Toledo GmbH, China)
11. Viscometer (Brook field Digital Viscometer, RVTD, USA)
12. Zeta potential analyzer (Zeta plus, Brookhaven, USA)
13. UV-VIS Spectrophotometer (รุ่น 1100series, Agilent, USA)
14. Laminar air flow (รุ่น S2010, Holten, Denmark)
15. Petri dish (ขนาด 100x15 มิลลิเมตร)
16. Glass tube (ขนาด 16x160 มิลลิเมตร)
17. ขวด Schott DURAN ขนาด 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
18. Bacterial Incubator (Contherm Digital Series, New Zealand)
19. Shaking Incubator (รุ่น SI4-2, SL SHEL LAB, USA)
20. Automatic autoclave (Model : LS-2D ; SCIENTIFIC PROMOTION CO.,LTD)
21. Micropipette 20-100 μl,100-1000 μl ,1-5 ml, 1-10 ml (masterpette ; Bio-Active Co.,Ltd.)
22. Micropipette tip
23. Centrifuge tubes-Sterile 15 ml, 50 ml (BIOLOGIX RESEARCH COMPANY)
24. Eppendrof tubes
25. Anaerobic Container (Batch No. 72930, Merck KGaA)
26. Anaerocult® A for mibrobiology (Batch No. 83012, Merck KGaA)
27. Anaerotest® for microbiology (Batch No. HC816543, Merck KGaA)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมอิมัลชัน (Wright 1996 : 4)

กระบวนการเตรียมอิมัลชันจะใช้วิธีการให้ความร้อนแก่ทั้งส่วนวัฏภาคน้ำมันและน้ำ โดยเริ่มจากการนำวัฏภาคไขมัน มาอุ่นที่ประมาณ 60 องศาเซลเซียส จนละลายหมด คนให้เข้ากัน และนำส่วนวัฏภาคน้ำ มาอุ่นที่ประมาณ 65 องศาเซลเซียส นำส่วนวัฏภาคน้ำมันเทผสมลงในวัฏภาคน้ำและปั่นผสมโดยใช้เครื่อง homogenizer ความเร็วรอบประมาณ 2350 รอบต่อนาที ประมาณ 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำอิมัลชันที่ได้เทใส่ภาชนะบรรจุ เพื่อรอการประเมินผลต่อไป โดยในส่วนวัฏภาคน้ำและน้ำมันจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการศึกษาต่อไปนี้

1.1 การศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว



ภาพที่ 26 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันโดยศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว

1.1.1 องค์ประกอบของสูตรตำรับเพื่อศึกษาผลของชนิดสารลดแรงตึงผิว

ตารางที่ 8 สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของชนิดสารลดแรงตึงผิว

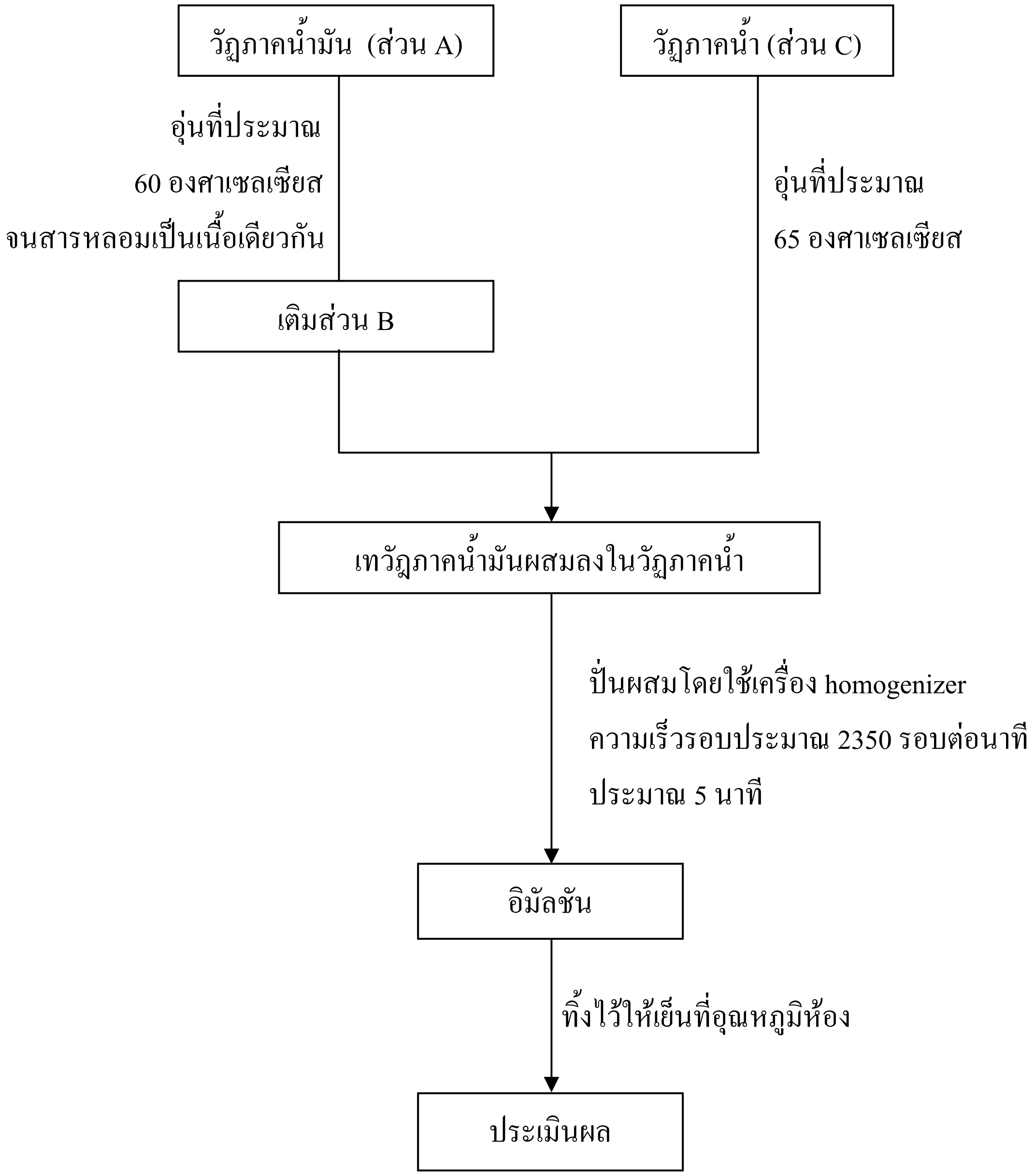
Part	Material	Amount (% w/w)			
		S1	S2	S3	S4
A	Glycerol monooleate	5.5	5.5	5.5	5.5
	Soybean oil	17.5	17.5	17.5	17.5
	Phytosterol	1.5	1.5	1.5	1.5
	POS	5.0	-	-	-
	PGO	-	5.0	-	-
	SLS	-	-	5.0	-
	PLX	-	-	-	5.0
B	Water qs to	100	100	100	100

1.1.2 องค์ประกอบของสูตรตำรับเพื่อศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิว

ตารางที่ 9 สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิว

Part	Material	Amount (% w/w)				
		C1	C2	C3	C4	C5
A	Glycerol monooleate	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
	Soybean oil	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
	Phytosterol	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	PGO	1.0	2.5	5.0	7.5	10.0
B	Water qs to	100	100	100	100	100

1.2 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย



ภาพที่ 27 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันโดยศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย

1.2.1 องค์ประกอบของสูตรตำรับเพื่อศึกษาผลของชนิดน้ำมันหอมระเหย

ตารางที่ 10 สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของชนิดน้ำมันหอมระเหย

Part	Material	Amount (% w/w)					
		V1	V2	V3	V4	V5	V6
A	Glycerol monooleate	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
	Phytosterol	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	PGO	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
B	Clove oil	17.5	-	-	-	-	-
	Spearmint oil	-	17.5	-	-	-	-
	Peppermint oil	-	-	17.5		-	-
	Optamint oil	-	-	-	17.5	-	-
	Eucalyptus oil	-	-	-	-	17.5	-
	Tea tree oil	-	-	-	-	-	17.5
C	Water qs to	100	100	100	100	100	100

1.2.2 องค์ประกอบของสูตรตำรับเพื่อศึกษาผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

ตารางที่ 11 สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

Part	Material	Amount (% w/w)					
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
A	Glycerol monooleate	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
	Phytosterol	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	PGO	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	Soybean oil	13.125	8.75	7	5.25	3.5	1.75
B	Peppermint oil	4.375	8.75	10.5	12.25	14	15.75
C	Water qs to	100	100	100	100	100	100

1.2.3 องค์ประกอบของสูตรตำรับเพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองในสัดส่วนต่างกัน

ตารางที่ 12 สูตรการเตรียมอิมัลชันเพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกันในสัดส่วน 50:50 ต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

Part	Material	Amount (% w/w)					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
A	Glycerol monooleate	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
	Phytosterol	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	PGO	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	Soybean oil	8.75	8.75	8.75	8.75	8.75	8.75
B	Clove oil	8.75	-	-	-	-	-
	Spearmint oil	-	8.75	-	-	-	-
	Peppermint oil	-	-	8.75		-	-
	Optamint oil	-	-	-	8.75	-	-
	Eucalyptus oil	-	-	-	-	8.75	-
	Tea tree oil	-	-	-	-	-	8.75
C	Water qs to	100	100	100	100	100	100

2. การประเมินทางกายภาพของอิมัลชัน

2.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ (physical appearance)

ทำการตรวจสอบลักษณะภายนอกของอิมัลชันโดยทำการตรวจสอบการเกิดการแยกชั้นครีม (creaming) แล้วบันทึกผลเป็น % creaming และการแยกชั้นของส่วนประกอบของอิมัลชันออกเป็นส่วนน้ำมันและส่วนน้ำ (cracking)

2.2 การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

นำอิมัลชันที่เตรียมแบ่งออกเป็น 3 ชุด แล้วสุ่มตัวอย่างแต่ละชุดปริมาตร 200 ไมโครลิตร เจือจางด้วยน้ำปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำมาดูลักษณะอนุภาคหยดน้ำมันผ่านกล้องจุลทรรศน์ (รุ่น CX41RF, OLYMPUS, Japan) และถ่ายภาพโดยใช้กล้องดิจิตอล (Dinolite, AM423X)

2.3 การตรวจวัดขนาดอนุภาคของอิมัลชัน

นำอิมัลชันที่เตรียมได้นำอิมัลชันที่เตรียมแบ่งออกเป็น 3 ชุด แล้วสุ่มตัวอย่างแต่ละชุดปริมาตร 300 ไมโครลิตร ไปเจือจางด้วยน้ำปรับปริมาตรให้เป็น 3 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้ปริมาตรประมาณ 100 ไมโครลิตร ไปตรวจวัดขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค (Horiba, LA-950, Japan) ชนิด fraction cells โดยใช้หลักการวัดการกระจายแสงของอนุภาคที่อยู่กับที่ในอิมัลชัน ทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง

2.4 การตรวจวัดความหนืดของอิมัลชัน

นำอิมัลชันที่เตรียมได้นำอิมัลชันที่เตรียมแบ่งออกเป็น 3 ชุด แล้วสุ่มตัวอย่างแต่ละชุดปริมาตร16 มิลลิลิตร ไปตรวจวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Digital Viscometer, RVTD, USA) โดยใช้หัว UL (ultra low adapter) ในการวัด ทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง

2.5 การวัดค่าซีต้าโพเทนเชียล (zeta potential)

นำอิมัลชันที่เตรียมได้นำอิมัลชันที่เตรียมแบ่งออกเป็น 3 ชุด แล้วสุ่มตัวอย่างแต่ละชุดปริมาตร 200 ไมโครลิตร ไปเจือจางด้วยน้ำปรับปริมาตรให้เป็น 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้ปริมาตรประมาณ 3 มิลลิลิตร ได้ไปตรวจวัดค่าซีต้าโพเทนเชียล ด้วยเครื่อง zeta potential analyzer (Zeta plus, Brookhaven, USA) วัดจำนวน 30 รอบ ทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง

2.6 การตรวจวัดค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชัน

นำอิมัลชันที่เตรียมได้นำอิมัลชันที่เตรียมแบ่งออกเป็น 3 ชุด แล้วนำตัวอย่างแต่ละชุดไปตรวจวัดค่าความเป็นกรดด่างโดยใช้เครื่อง pH meter (Mettler-Toledo GmbH, China) ทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง

2.7 การตรวจสอบความคงสภาพทางกายภาพด้วยวิธีการเร่ง

นำอิมัลชันทั้งหมดที่ได้แบ่งใส่ขวดแก้วขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด และนำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส) บันทึกความคงตัวของอิมัลชันภายหลังการเตรียม 24 ชั่วโมง และหลังเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน และนำอิมัลชันไปเก็บในสภาวะเร่งโดยนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สลับกับตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (จำนวน 6 รอบ) แล้วบันทึกผลอีกครั้งตามหัวข้อประเมินที่ 2.1-2.6

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคทางทันตกรรมของอิมัลชัน

3.1 การเตรียมเชื้อก่อโรคทางทันตกรรม

นำเชื้อ *S. mutans* 104B มาเพาะเลี้ยงใน Brain Heart Infusion Broth แล้วบ่มใน anaerobic jar (Batch No. 72930, Merck KGaA) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำ stock เชื้อที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เพื่อหาความเข้มข้นของเชื้อ (CFU/ml)

3.2 วิธีการเตรียมเชื้อและทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ

นำเชื้อ stock มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml ด้วย Brain Heart Infusion Broth หลังจากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อโดยใช้วิธี broth dilution ดัดแปลงมาจากวิธีของ Wright (1996 : 4) โดยทำการผสมกับอิมัลชันที่เตรียมได้ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ไม่เจือจาง, เจือจาง 10 เท่า และเจือจาง 100 เท่า) ในอัตราส่วนเชื้อต่ออิมัลชันเป็น 9:1 นำไปเข้าเครื่อง shaking incubator (รุ่น SI4-2, SL SHEL LAB, USA) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเจือจาง 50 เท่า (n=3) โดยมีการใช้ cetyl pyridinium chloride (CPC) สำหรับเป็น positive control และมีการใช้อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองเป็น negative control ในการศึกษาครั้งนี้

3.3 การประเมินผลการยับยั้งเชื้อ

ทำการประเมินผล โดยการนำอิมัลชันที่ผสมกับเชื้อปริมาตรรวม 100 ไมโครลิตร ไปกระจายบน Brain Heart Infusion Agar ให้ทั่ว จากนั้นนำเข้าเครื่อง bacterial incubator (Contherm Digital Series, New Zealand) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกผลการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* 104B โดยคำนวณจากสูตร

$$\%\text{inhibiton} = \frac{\text{Total colony} - \text{Survival colony}}{\text{Total colony}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลของการศึกษา

1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของอิมัลชัน

จากการเตรียมอิมัลชันโดยให้ความร้อนกับวัฏภาคน้ำมัน 60 องศาเซลเซียส จนส่วนประกอบน้ำมันทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และให้ความร้อนกับวัฏภาคน้ำ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำวัฏภาคน้ำมันเทผสมลงในวัฏภาคน้ำ โดยทำการปั่นผสมด้วยเครื่อง homogenizer ความเร็วรอบประมาณ 2350 รอบต่อนาที ประมาณ 5 นาที ทำให้ได้อิมัลชันที่มีลักษณะขาวขุ่น โดยมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบในสูตรตำรับที่ใช้ ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้เน้นการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะต่างๆ ของกระบวนการเตรียม โดยทำการเลือกสภาวะการเตรียมจากการศึกษาเบื้องต้นที่สามารถเตรียมอิมัลชันในสูตรต่างๆได้ แต่อย่างไรก็ตามในการวิจัยครั้งนี้จะเน้นศึกษาส่วนที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบของตำรับอิมัลชันที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพอย่างชัดเจน เช่น ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว ชนิดและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและน้ำมันอื่นที่ใช้ เป็นต้น ซึ่งได้แสดงรายละเอียดในลำดับต่อไป

1.1 ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการเกิดอิมัลชัน

ชนิดและปริมาณสารลดแรงตึงผิวจะเป็นตัวแปรที่สำคัญในการกำหนดคุณสมบัติของอิมัลชัน นอกจากนี้แล้วในการพัฒนาครั้งนี้มีความมุ่งหมายในการนำอิมัลชันที่ได้ไปเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สุขภาพสำหรับช่องปากจึงได้ทำการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีความปลอดภัยและมีรสชาติที่ดีโดยเน้นเฉพาะสารที่มีการใช้ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ได้แก่ POS, PGO, SLS และ PLX มาเป็นส่วนประกอบในการเตรียมอิมัลชัน (Niazi 2004 : 153)โดยทำการประเมินเปรียบเทียบคุณสมบัติของอิมัลชันที่เตรียมได้ ทั้งด้วยการตรวจสอบด้วยตาเปล่ารวมไปถึงการใช้เครื่องมือชนิดต่างๆ ในการทดสอบ เช่น ขนาดของหยดน้ำมัน ประจุที่พื้นผิวหรือซีต้าโพเทนเชียล การแยกชั้น (cracking) การเกิดครีม (creaming) ความหนืด ค่าความเป็นกรดด่างเป็นต้น โดยมีการทดสอบทันทีที่เตรียมและประเมินผลหลังเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

1.1.1 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

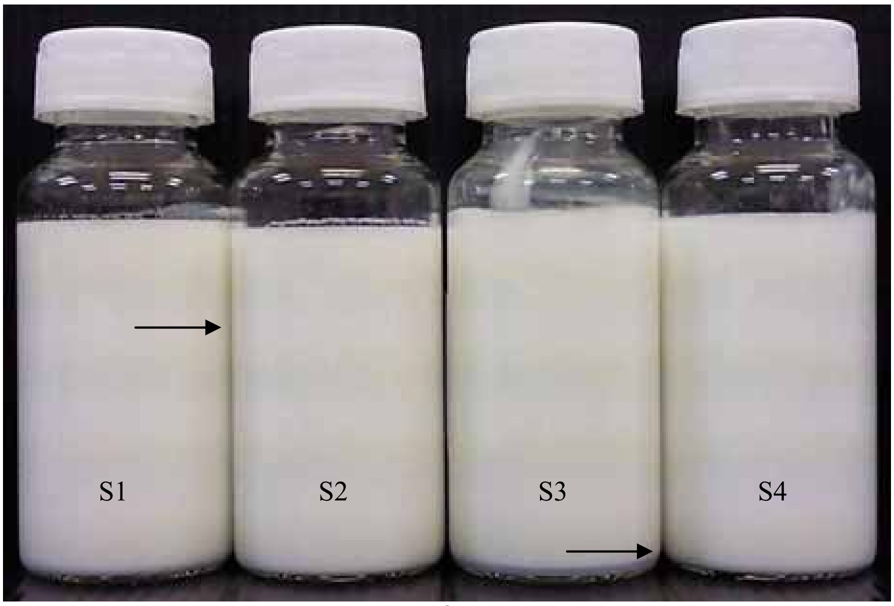
1.1.1.1 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อลักษณะทางกายภาพ (physical appearance) ของอิมัลชัน

ภาพที่ 28 แสดงผลเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันก่อนนำไปทดสอบความคงตัวโดยมีการเปรียบเทียบการใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มต่างกันได้แก่ POS (สูตร S1), PGO (สูตร S2), SLS (สูตร S3) และ PLX (สูตร S4) ซึ่งพบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม POS และ SLSเกิดการแยกของส่วนอิมัลชันที่มีสีขาวเข้มและขาวอ่อนอย่างชัดเจน (เกิด creaming) ในขณะที่การใช้สารลดแรงตึงผิว 2 กลุ่มที่เหลือคือ PGO และ PLX ได้อิมัลชันที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอดแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของความคงตัวที่ดีกว่าของสารในกลุ่มนี้

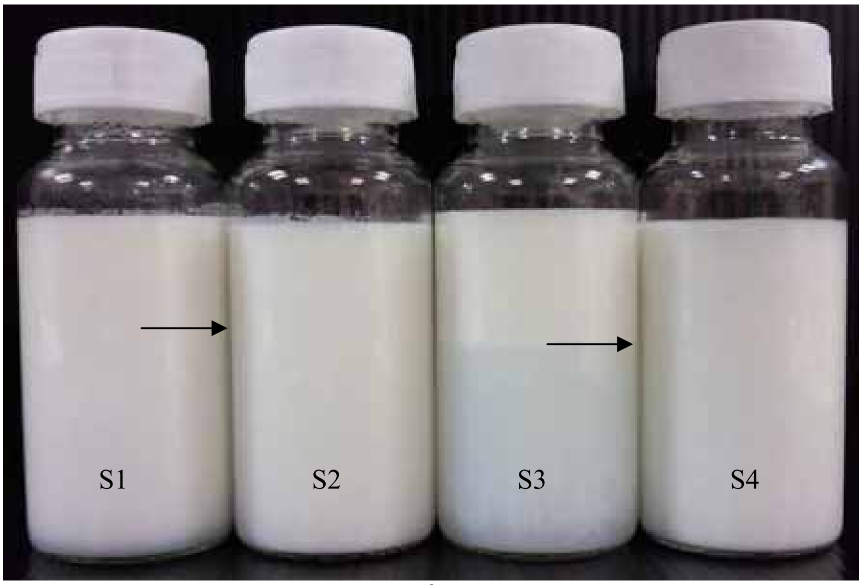
เพื่อเป็นการศึกษาความคงตัวเปรียบเทียบเพิ่มเติม จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 29-30 ผลการศึกษาพบว่าชนิดสารลดแรงตึงผิวมีต่อความคงตัวของอิมัลชันกล่าวคือ เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม POS, SLS และ PLX ได้ตำรับอิมัลชันที่มีความคงตัวไม่ดี สังเกตได้จากการแยกของชั้นครีม โดยมีแนวโน้มค่าเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงหลังการศึกษาความคงตัว ในขณะที่ตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO ไม่เกิดการแยกของครีมโดยมีเปอร์เซ็นต์ครีมเท่ากับ 100 ทั้งหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ดังแสดงในภาพที่ 31 ซึ่งเป็นการยืนยันผลความคงตัวที่ดีกว่าของสารในกลุ่มหลังนี้ นอกจากนี้ยังพบว่า PGO มีความขมที่น้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มอื่น (Rowe et al. 2006 : 572-579) ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงทำการเลือก PGO เพื่อใช้ในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป

โดยทั่วไปแล้วสารลดแรงตึงผิวมีส่วนช่วยในการเกิดอิมัลชันโดยปรากฏตัวแทรกอยู่ที่บริเวณผิวประจัน (interface) ระหว่างชั้นของไขมันและน้ำ (Baret et al. 2009 : 6088–6093) สารลดแรงตึงผิวที่ดีสามารถห่อหุ้มหยดน้ำมันไว้ได้อย่างสมบูรณ์และป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวของหยดน้ำมัน โดยสารลดแรงตึงผิวนั้นจะห่อหุ้มอย่างสมบูรณ์หรือไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติหลายประการรวมไปถึงคุณสมบัติของชั้นน้ำมันด้วย (McClements and Dungan 1993 : 7304-7308) ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าสารในกลุ่ม PGO มีโครงสร้างที่เหมาะสมและเข้ากันได้ดีกับวัฏภาคน้ำมันที่ใช้จึงทำให้เกิดการห่อหุ้มหยดน้ำมันและป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมันได้ดีกว่า ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาโดย Fernandez และคณะ (2004) เพื่อเป็นการศึกษาในส่วนกลไก

การเกิดความคงตัวของอิมัลชัน จึงได้ทำการทดสอบโดยการประเมินผลคุณสมบัติต่าง ๆ ของอิมัลชันเพิ่มเติมต่อไป

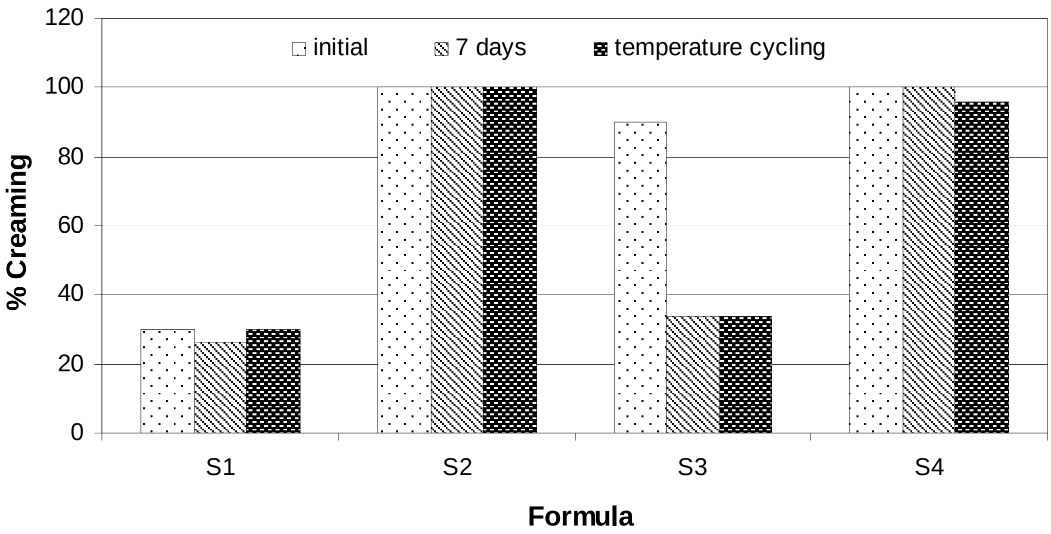


ภาพที่ 28 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 29 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์

ภาพที่ 30 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวต่างชนิดกัน (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

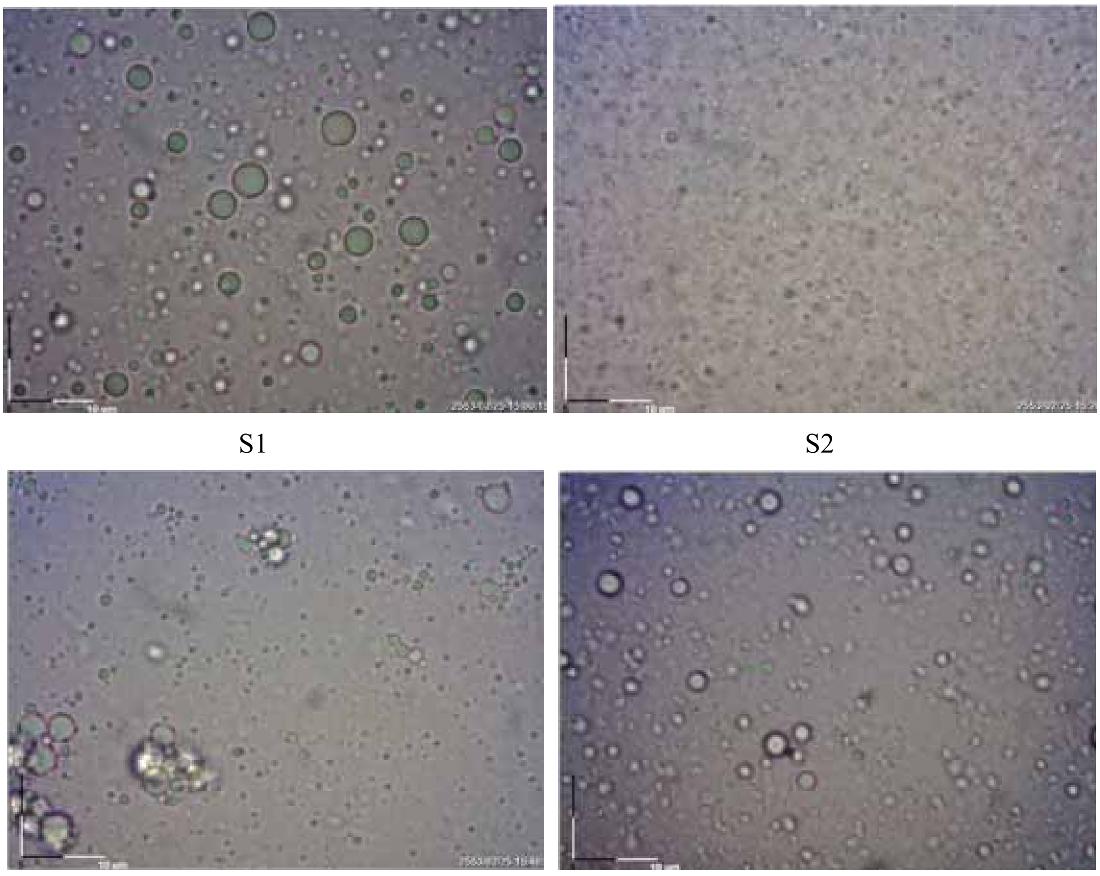


ภาพที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารลดแรงตึงผิว (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

1.1.1.2 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อขนาดของหยดน้ำมัน

ขนาดของหยดน้ำมันมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน เช่น ลักษณะทางกายภาพ ความน่าใช้ ความคงตัวของอิมัลชัน เป็นต้น (Kim and Kim 2003 : 2295 – 2301) นอกจากนี้แล้วการประยุกต์ใช้สำหรับการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับช่องปาก ขนาดของหยดน้ำมันจะมีผลโดยตรงต่อการฆ่าเชื้อด้วย ขนาดของหยดน้ำมันที่เล็กลงโดยเฉพาะในช่วงนาโนเมตรมีผลเพิ่มพื้นที่ผิวของหยดน้ำมันอย่างมากที่ส่งผลต่อการฆ่าเชื้อโดยตรง (Pal, Tak and Song 2007 : 1712–1720) ดังนั้นการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อขนาดของหยดน้ำมันจึงมีความสำคัญ ในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการศึกษาผลของชนิดของสารลดแรงตึงผิวต่อขนาดของหยดน้ำมันดังแสดงในภาพที่ 32-33

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม POS, SLS และ PLX ส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่อยู่ในช่วงไมครอนและสามารถเห็นอนุภาคของหยดน้ำมันได้อย่างชัดเจนโดยกล้องจุลทรรศน์ โดยมีขนาดเฉลี่ยที่วัดโดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคเท่ากับ 1.766, 2.699 และ 1.779 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO สามารถเตรียมอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมากในระดับนาโนเมตร (ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เห็นอนุภาคของหยดน้ำมันไม่ชัดเจน เนื่องจากมีขนาดอนุภาคที่เล็กเกินขีดจำกัดของกล้องที่ใช้ประกอบกับมีการเคลื่อนไหวอนุภาคอย่างรวดเร็วจากการเคลื่อนไหวแบบบราวเนียนทำให้ยากต่อการถ่ายภาพ) เมื่อนำไปวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาคจะมีขนาดอยู่ในช่วง 151 ถึง 196 นาโนเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่า PGO เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมนาโนอิมัลชันสำหรับระบบที่ประกอบด้วยสูตรตำรับดังกล่าว

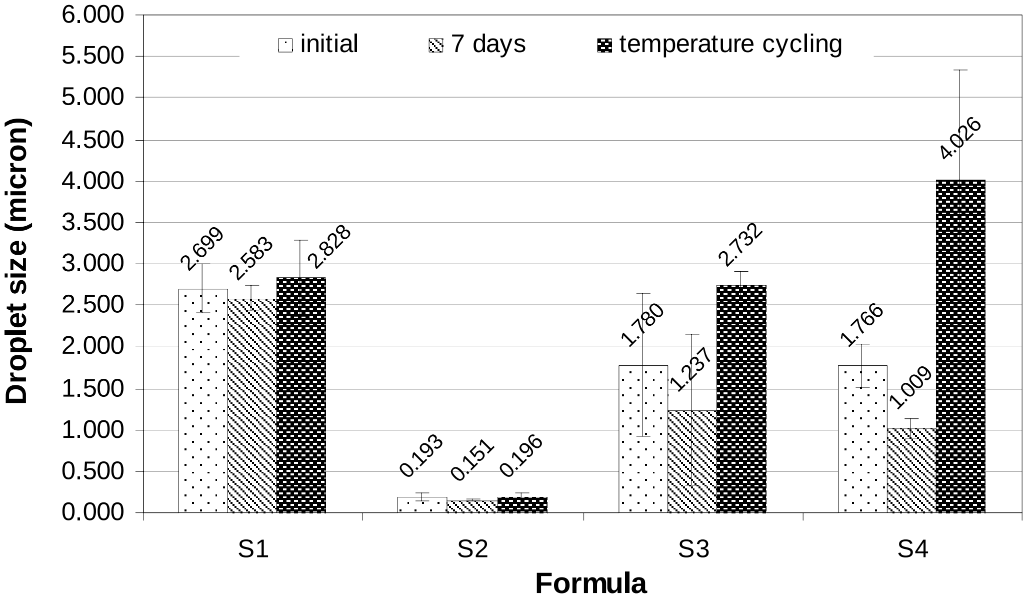


ภาพที่ 32 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x)

ในส่วนผลการทดสอบความคงตัวภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งต่อขนาดของหยดน้ำมันได้แสดงไว้ในภาพที่ 33 จากการศึกษาพบว่าขนาดของหยดน้ำมันของอิมัลชันมีแนวโน้มไม่แตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเก็บ ยกเว้นสูตรที่ใช้ SLS ขนาดของหยดน้ำมันมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย สอดคล้องกับผลลักษณะทางกายภาพในภาพที่ 31 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงอย่างชัดเจนหลังการเก็บซึ่งน่าจะเกิดจากขนาดหยดน้ำมันที่โตขึ้นทำให้เกิดการแยกของชั้นครีมเพิ่มมากขึ้น สำหรับการใช้ PGO เป็นสารช่วยลดแรงตึงผิวนั้นพบผลที่น่าสนใจคือขนาดของหยดน้ำมันยังคงอยู่ในช่วงนาโนเมตรถึงแม้ว่าถูกเก็บที่สภาวะเร่ง

โดยปกติแล้วระบบอิมัลชันเป็นระบบที่ไม่มีความคงตัวทางอุณหพลวัต (thermodynamic stable) กล่าวคือเป็นระบบที่ไม่คงตัว หยดน้ำมันขนาดเล็กมีแนวโน้มเกิดการรวมตัวกันเพื่อลดพลังงานพื้นผิว (Sadurní et al. 2005 : 438-445) สารลดแรงตึงผิวเป็น

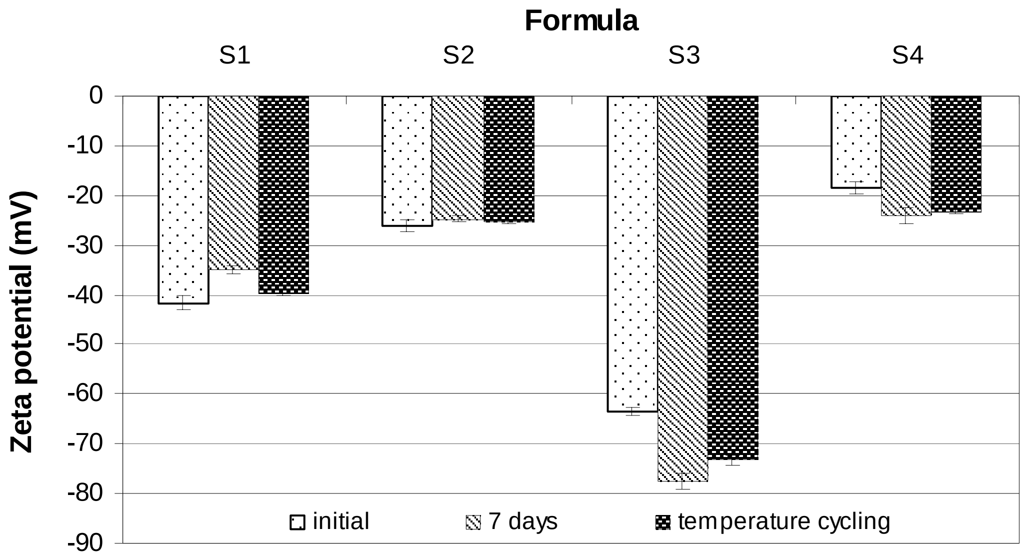
องค์ประกอบที่สำคัญที่ช่วยเพิ่มความคงตัวของระบบดังกล่าวเนื่องจากสารชนิดนี้มีโครงสร้างของโมเลกุลที่ประกอบด้วยทั้งส่วนที่ละลายในน้ำและในไขมันได้ดี ทำให้สามารถเข้าไปอยู่ระหว่างพื้นผิวของน้ำมันและน้ำ เพื่อลดแรงตึงผิวและพลังงานพื้นผิว รวมถึงเกิดเป็นชั้นที่หุ้ม วัฏภาคภายในป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวของหยดน้ำมัน โดยสารลดแรงตึงผิวบางชนิดมีประจุที่ช่วยเสริมแรงผลักซึ่งส่งผลให้ความคงตัวของระบบอิมัลชันดีขึ้น (Corrigan and Healy 2002 : 2639-2653 ; Gullapalli and Sheth 1999 : 233-238) ในการศึกษาครั้งนี้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งในกลุ่มที่ไม่มีประจุได้แก่ POS, PGO และ PLX และมีการใช้ SLS ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ การศึกษาพบว่า SLS มีความคงตัวค่อนข้างน้อยทั้งๆที่มีประจุซึ่งควรเพิ่มความคงตัวจาก electrostatic repulsion (Quan, Khoe and Bagster 2001 : 478-484) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไม่มีประจุโดยเฉพาะการใช้สารในกลุ่ม PGO กลับได้ผลความคงตัวที่ดีกว่า ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่า sodium laury sulfate อาจมีโครงสร้างที่เข้ากันได้ไม่ดีกับวัฏภาคน้ำมันทำให้ยึดเกาะที่ผิวของหยดน้ำมันได้ไม่ดีนักส่งผลให้ไม่สามารถป้องกันการรวมตัวหยดน้ำมันได้ ในขณะที่ PGO น่าจะมีโครงสร้างที่เข้ากันได้ดีกับวัฏภาคน้ำมันที่ใช้มากกว่า ประกอบกับมีโครงสร้างที่เป็นสายโซ่ที่ยื่นออกมาเป็นการเพิ่ม steric hindrance ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวกันของหยดน้ำมันส่งผลให้มีขนาดหยดน้ำมันที่เล็กและความคงตัวที่มากที่สุดดังกล่าว



ภาพที่ 33 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.1.1.3 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมัน

ค่าซีต้าโพเทนเชียลหรือศักย์ไฟฟ้าที่แตกต่างระหว่างชั้นที่ติดกับผิวของอนุภาค (stationary layer) กับตัวกลางที่ใช้ (dispersion medium) เป็นตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้องกับความคงตัวของอนุภาคโดยเฉพาะอนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร อนุภาคที่มีค่าซีต้าโพเทนเชียลสูงมากขึ้นมีผลทำให้เกิดการผลักกันของอนุภาคที่มีประจุเดียวกัน ทำให้โอกาสที่อนุภาคมาชนและรวมตัวกันมีแนวโน้มเกิดได้ยากมากขึ้น (Jeong, Oh and Kim 2001 : 247-253) อิมัลชันโดยเฉพาะนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยหยดน้ำมันที่มีขนาดเล็ก ดังนั้นการวัดค่าซีต้าโพเทนเชียลจึงช่วยในการอธิบายปรากฏการณ์บนพื้นผิว รวมถึงการนำไปใช้อธิบายเกี่ยวกับเรื่องความคงตัวได้ ผลการทดสอบค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้สารลดแรงตึงผิวต่างกันได้แสดงไว้ในภาพที่ 34 จากการศึกษาพบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวทุกกลุ่มให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นลบทั้งหมด โดยการใช้ SLS มีค่าความเป็นลบมากที่สุดซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ SLSที่มีประจุลบจากหมู่ sulfate ดังนั้น การห่อหุ้มหยดน้ำมันด้วย SLSจึงส่งผลให้ให้มีค่าเป็นลบมากที่สุดดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้ไม่ได้สอดคล้องกับความคงตัวทางกายภาพดังที่แสดงในหัวข้อ 1.1.1.1 ดังที่ได้กล่าวมาแล้วค่าซีต้าโพเทนเชียลที่มากขึ้น อนุภาคของหยดน้ำมันควรมารวมตัวกันได้ยากขึ้น ความคงตัวทางกายภาพน่าจะดีกว่า ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าอาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อความคงตัวมากกว่าประจุที่พื้นผิวที่ทำให้อนุภาคผลักกัน โดยปัจจัยที่เป็นไปได้อาจเกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์หรือความแข็งแรงของชั้นของสารลดแรงตึงผิวที่หุ้มหยดน้ำมันไว้ดังที่ได้กล่าวไว้แล้ว ในกรณีนี้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไม่มีประจุ น่าจะเกิดการห่อหุ้มหยดน้ำมันได้สมบูรณ์และแข็งแรงมากกว่า นอกจากนี้แล้วเมื่อเปรียบเทียบความคงตัวทางกายภาพของสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไม่มีประจุทั้ง 3 ตัวที่ใช้จะเห็นได้ว่าค่าซีต้าโพเทนเชียลมีค่าเรียงตามลำดับดังนี้ PGO > PLX > POS ซึ่งสอดคล้องกับความคงตัวทางกายภาพด้วย ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า PGO มีการห่อหุ้มหยดน้ำมันได้มากที่สุด (หยดน้ำมันประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งมีประจุเป็นลบ ดังนั้นการห่อหุ้มด้วยสารลดแรงตึงผิวมีผลทำให้หยดน้ำมันแสดงความเป็นลบน้อยลง)

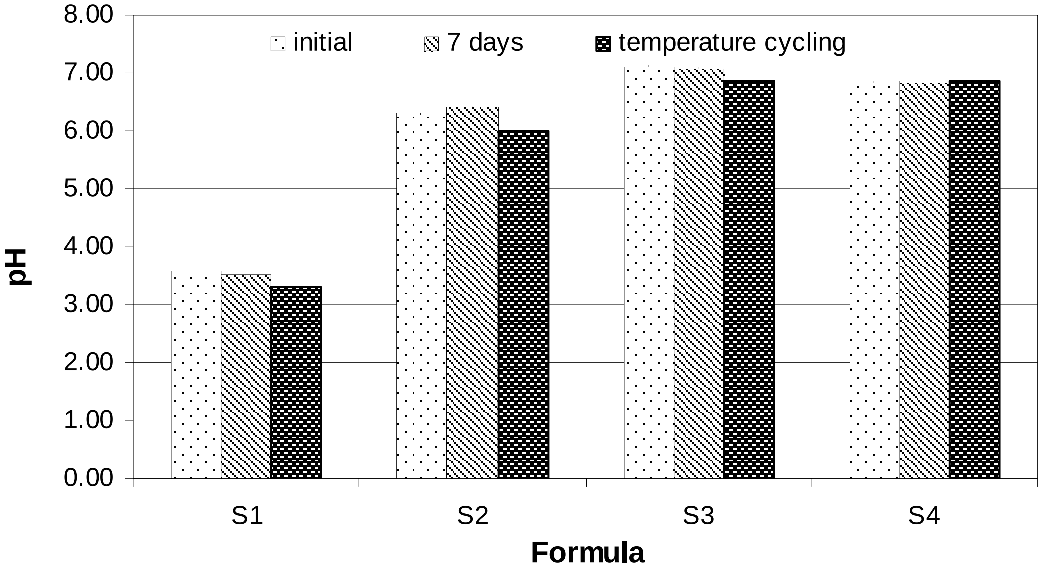


ภาพที่ 34 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.1.1.4 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้องกับการนำอิมัลชันไปใช้ในผู้บริโภค โดยเฉพาะการนำไปใช้กับการฆ่าเชื้อทางทันตกรรม โดยต้องคำนึงถึงค่าความเป็นกรด-ด่างภายในช่องปาก ซึ่งมีค่า pH อยู่ในช่วง 6.2-7.4 (Aframian, Davidowitz and Benoliel 2006 : 420-423) ขณะที่เชื้อ *S. mutans* ที่เป็นเชื้อก่อโรคฟันผุสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะเป็นกรด (รวี เถียรไพศาล 2550 : 97-104) ดังนั้น อิมัลชันที่เตรียมได้ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางอยู่ในช่วง 6.2-7.4 ผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้สารลดแรงตึงผิวต่างกันได้แสดงไว้ในภาพที่ 35 จากการศึกษาพบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO, SLS และ PLX ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 6.30, 7.12 และ 6.85 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในช่องปากดังที่กล่าวข้างต้น ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม POS ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 3.58 ซึ่งเป็นสภาวะที่เป็นกรดมาก จึงอาจส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ได้ และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวทุกกลุ่มมีค่าคงที่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นเมื่อนำผลของความคงตัวและขนาดของหยดน้ำมันของอิมัลชันมาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO เป็นสารช่วยลดแรงตึงผิวที่

น่าสนใจ คือ ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเตรียมอิมัลชันเพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อก่อโรคทางทันตกรรมต่อไป



ภาพที่ 35 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด (S1 : POS, S2 : PGO, S3 : SLS และ S4 : PLX) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.1.2 ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการนำมาใช้เตรียมอิมัลชันคือ PGO เนื่องจากสามารถเตรียมอิมัลชันที่มีความคงตัว มีขนาดอนุภาคเล็กในช่วงนาโนเมตรและขนาดใกล้เคียงกันตลอดการเก็บรักษา รวมถึงมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.2-7.4 จึงเลือกนำ PGO มาศึกษาต่อในเรื่องผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อคุณสมบัติต่างๆ ของอิมัลชันโดยใช้ PGO ในปริมาณตั้งแต่ 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 % โดยน้ำหนัก

1.1.2.1 ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อลักษณะทางกายภาพ

ภาพที่ 36 แสดงผลเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันก่อนนำไปทดสอบความคงตัวโดยมีการเปรียบเทียบการใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO ปริมาณต่างๆ ได้แก่ 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 %โดยน้ำหนัก พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ได้อิมัลชันที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดี โดยมีลักษณะขุ่นขาวเป็นเนื้อเดียวกันตลอดอิมัลชันที่เตรียม ไม่

มีแนวโน้มการเกิดแยกชั้นหรือแยกครีม ถึงแม้ว่าจะใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณที่ค่อนข้างน้อยถึงระดับ 1% โดยน้ำหนัก แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของความคงตัวที่ดีของสารในกลุ่ม PGO

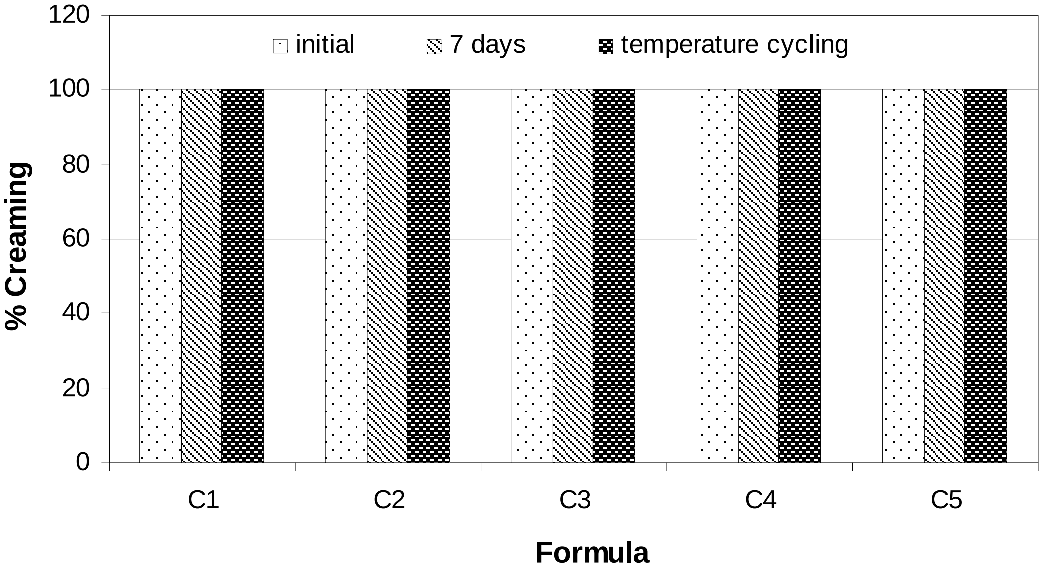
เพื่อเป็นการศึกษาความคงตัวเปรียบเทียบเพิ่มเติม จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 37-38 ผลการศึกษาพบว่าลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันชัดเจน โดยไม่เกิดการแยกของครีมและมีเปอร์เซ็นต์ครีมเท่ากับ 100 ทั้งหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ดังแสดงในภาพที่ 39 ซึ่งเป็นการยืนยันผลความคงตัวที่ดีของสารในกลุ่มนี้

ดังที่กล่าวมาข้างต้นว่าสารลดแรงตึงผิวจะช่วยในการเกิดอิมัลชันโดยปรากฏตัวแทรกอยู่ที่บริเวณผิวประจัน (interface) ระหว่างชั้นของไขมันและน้ำ ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มากพอจะช่วยห่อหุ้มหยดน้ำมันไว้ได้อย่างสมบูรณ์และป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวของหยดน้ำมัน (Baret et al. 2009 : 6088–6093) ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าสารในกลุ่ม PGO น่าจะมีโครงสร้างที่เหมาะสมและเข้ากันได้ดีกับวัฏภาคน้ำมันที่ใช้จึงทำให้เกิดการห่อหุ้มหยดน้ำมันและป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมันได้ดีแม้จะใช้ในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาในหัวข้อ 1.1.1.1

ภาพที่ 36 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 37 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์

ภาพที่ 38 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

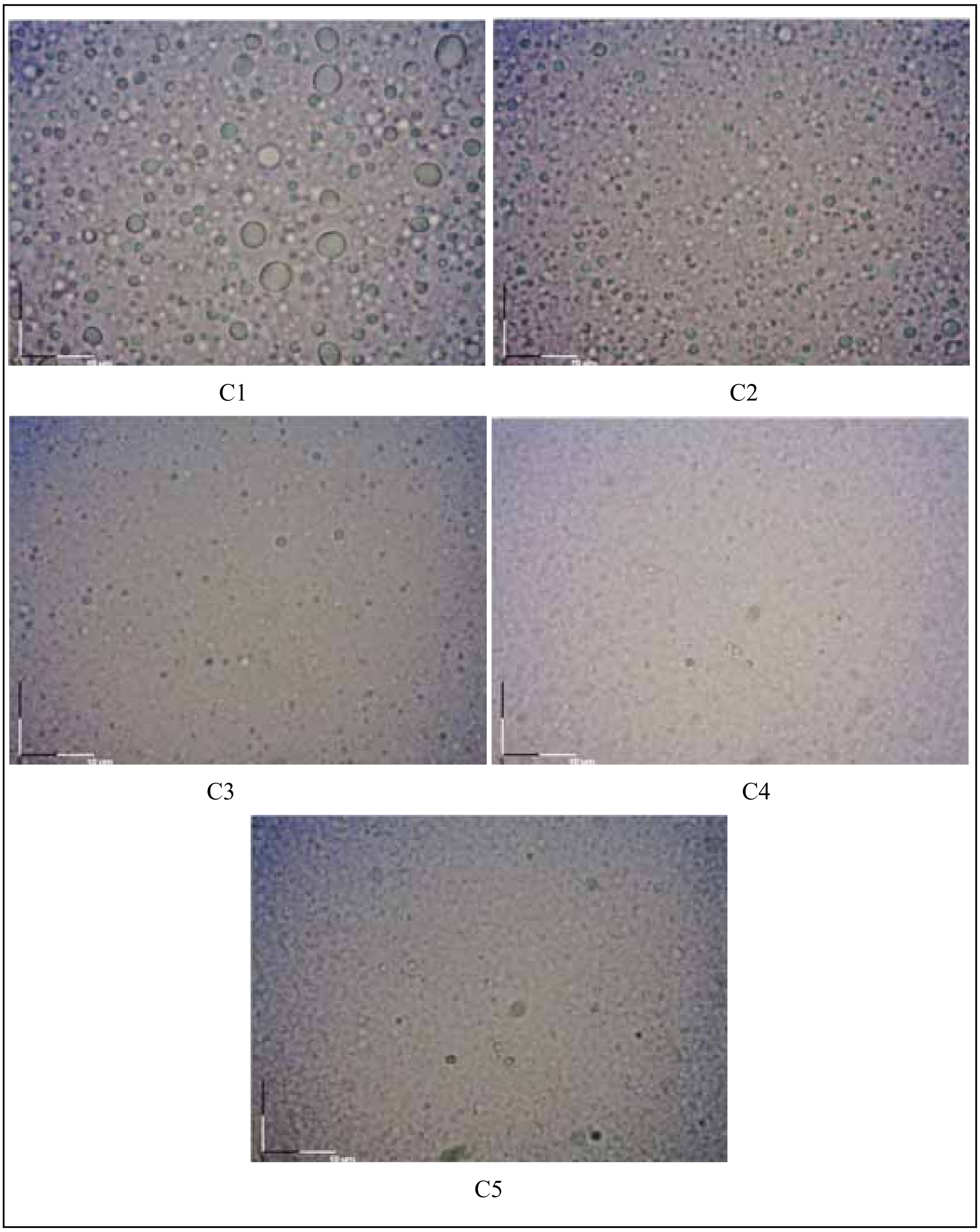


ภาพที่ 39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของ PGO (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

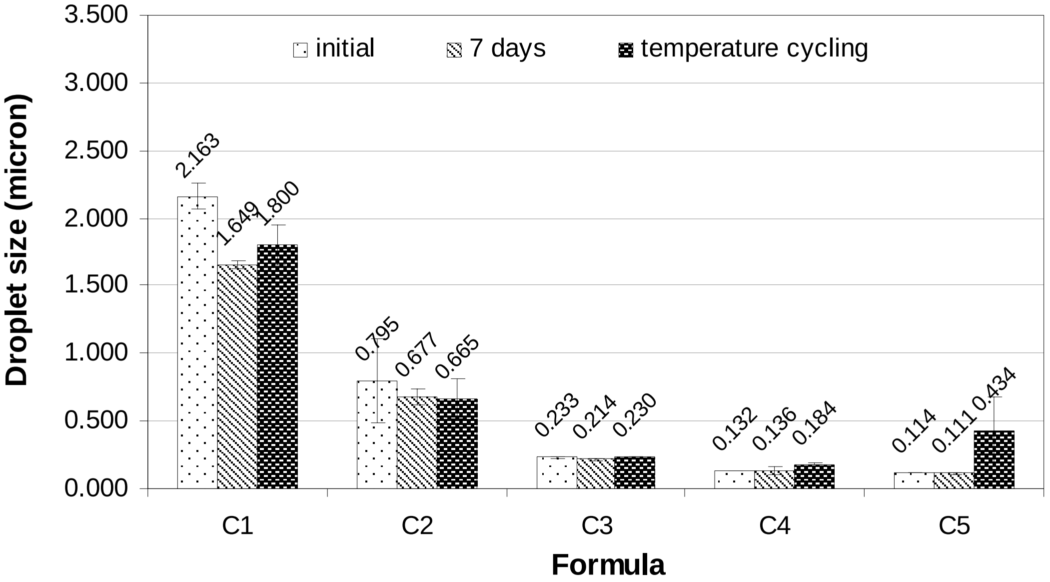
1.1.2.2 ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อขนาดของหยดน้ำมัน

จากที่กล่าวมาข้างต้นว่าขนาดของหยดน้ำมันมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของและมีผลโดยตรงต่อการฆ่าเชื้อร่วมด้วย นอกจากนี้แล้วถึงแม้ว่าลักษณะทางกายภาพภายนอกจะมีลักษณะเหมือนกัน แต่คุณสมบัติอื่นรวมไปถึงขนาดของหยดน้ำมันอาจมีความแตกต่างกันได้ ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการศึกษาผลของปริมาณของสารลดแรงตึงผิวต่อขนาดของหยดน้ำมันร่วมด้วยดังแสดงในภาพที่ 40-41

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO ปริมาณ 1 และ 2.5 %โดยน้ำหนัก ส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดหยดน้ำมันค่อนข้างใหญ่อยู่ในช่วงไมครอนและสามารถเห็นอนุภาคของหยดน้ำมันได้อย่างชัดเจนโดยกล้องจุลทรรศน์ โดยมีขนาดเฉลี่ยที่วัดโดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคเท่ากับ 2.163 และ 0.795 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณ 5, 7.5 และ 10 %โดยน้ำหนัก สามารถเตรียมอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมากในระดับนาโนเมตร (ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เห็นอนุภาคของหยดน้ำมันไม่ชัดเจน เนื่องจากมีขนาดอนุภาคที่เล็กเกินขีดจำกัดของกล้องที่ใช้ประกอบกับมีการเคลื่อนไหวอนุภาคอย่างรวดเร็วจากการเคลื่อนไหวแบบบราวเนียนทำให้ยากต่อการถ่ายภาพ) เมื่อนำไปวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาคจะมีขนาดอยู่ในช่วง 111 ถึง 233 นาโนเมตร ผลการทดสอบดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อขนาดของหยดน้ำมันอย่างชัดเจน ระดับสารลดแรงตึงผิวในปริมาณน้อยกว่า 5% โดยน้ำหนัก ปริมาณสารลดแรงตึงผิวจะไม่มากเพียงพอต่อการหุ้มหยดน้ำมันในระดับนาโนเมตรซึ่งมีพื้นที่ผิวจำนวนมากได้ ซึ่งผลการทดลองจะสอดคล้องกับรายงานของ Tchlakova และคณะ (2004) ซึ่งพบว่าการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวจะช่วยห่อหุ้มหยดน้ำมันไว้ได้อย่างสมบูรณ์และป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวของหยดน้ำมันส่งผลให้ขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันมีแนวโน้มลดลง เมื่อทำการศึกษาต่อโดยเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 41 ผลการศึกษาพบว่า ขนาดของหยดน้ำมันมีขนาดไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก สูตรที่มี PGO ในระดับตั้งแต่ 2.5% โดยน้ำหนักยังมีขนาดของหยดน้ำมันอยู่ในช่วงนาโนเมตรและไม่มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของขนาดหยดน้ำมันชัดเจน (ในกรณีของ PGO ระดับ 10% โดยน้ำหนัก หลังเก็บที่สภาวะเร่งพบว่ามีขนาดของอนุภาคใหญ่ขึ้นในกรณีนี้ขนาดอนุภาคไม่ได้เกิดจากขนาดของหยดน้ำมันที่โตขึ้น แต่เกิดจากการรวมตัวกันของ PGO ที่มากเกินกว่าที่จะหุ้มหยดน้ำมันได้หมด เกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้วัดขนาดของอนุภาคโดยรวมได้โตขึ้น ซึ่งยืนยันผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่พบลักษณะเส้นใยขนาดเล็กในขณะที่หยดน้ำมันยังมีขนาดเล็กอยู่ในช่วงนาโนเมตร)



ภาพที่ 40 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x)



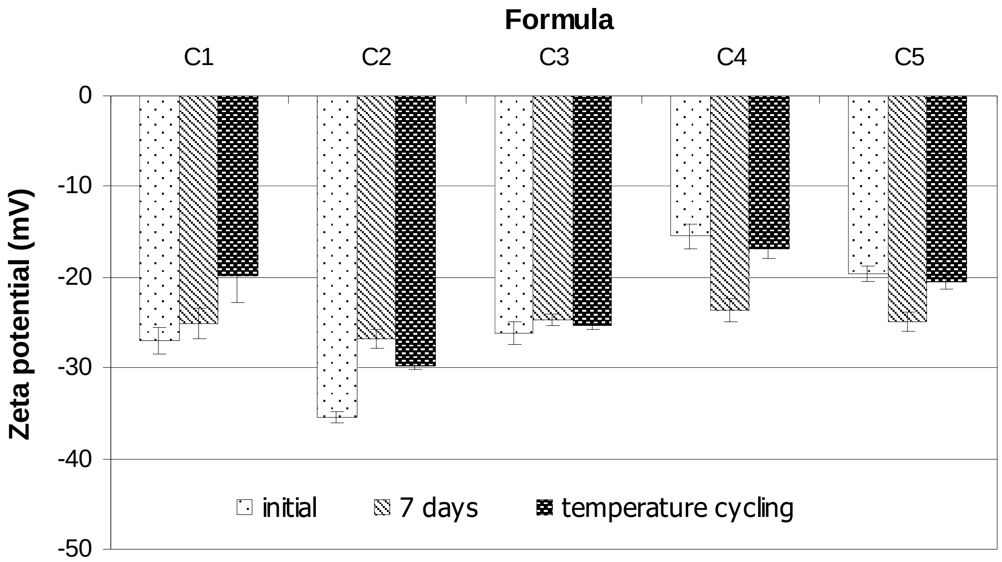
ภาพที่ 41 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

จากผลการทดสอบดังกล่าวจึงได้ทำการเลือกสูตรตำรับที่มี PGO ในระดับ 5% โดยน้ำหนักในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป เนื่องจากการใช้ในระดับต่ำอาจทำให้บางสูตรตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันหรือสารลดแรงตึงผิวอื่นเสียความคงตัวได้ซึ่งทำให้ยากต่อการเปรียบเทียบ รวมไปถึงการใช้สารลดแรงตึงผิวในระดับต่ำนั้นจะมีผลต่อขนาดของหยดน้ำมันที่โตขึ้นร่วมด้วย นอกจากนี้การใช้ในระดับมากเกินไป ทำให้เหลือสารลดแรงตึงผิวที่ไม่ได้นำไปใช้ในการหุ้มหยดน้ำมัน ซึ่งอาจเกิดการรวมตัวกันและทำให้ผลที่ได้เกิดข้อผิดพลาดได้

1.1.2.3 ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมัน

ดังที่ได้อธิบายไว้ในหัวข้อ 1.1.1.3 ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นตัวชี้วัดที่แสดงถึงประจุที่ผิวของหยดน้ำมัน ในการศึกษาครั้งนี้มีการเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวซึ่งน่าจะมีผลต่อการห่อหุ้มที่ผิวของหยดน้ำมันเปลี่ยนแปลงไปด้วย การเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวควรทำให้หยดน้ำมันถั่วเหลืองถูกห่อหุ้มมากขึ้นซึ่งน่าจะทำให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลมีความเป็นลบน้อยลง เพื่อเป็นการศึกษาผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อปรากฏการณ์พื้นผิวเพิ่มเติม จึงได้ทำการวัดซีต้าโพเทนเชียลของตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วย PGO ในปริมาณต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 42 จาก

การศึกษาพบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ที่ปริมาณต่างๆ ให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นลบทั้งหมด การเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวมีแนวโน้มทำให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลมีค่าความเป็นลบน้อยลง โดยที่ระดับสารลดแรงตึงผิว 2.5 % โดยน้ำหนักจะได้ผลที่แตกต่างออกไปกล่าวคือมีค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นลบมากขึ้นเมื่อเทียบกับ 1% โดยน้ำหนัก



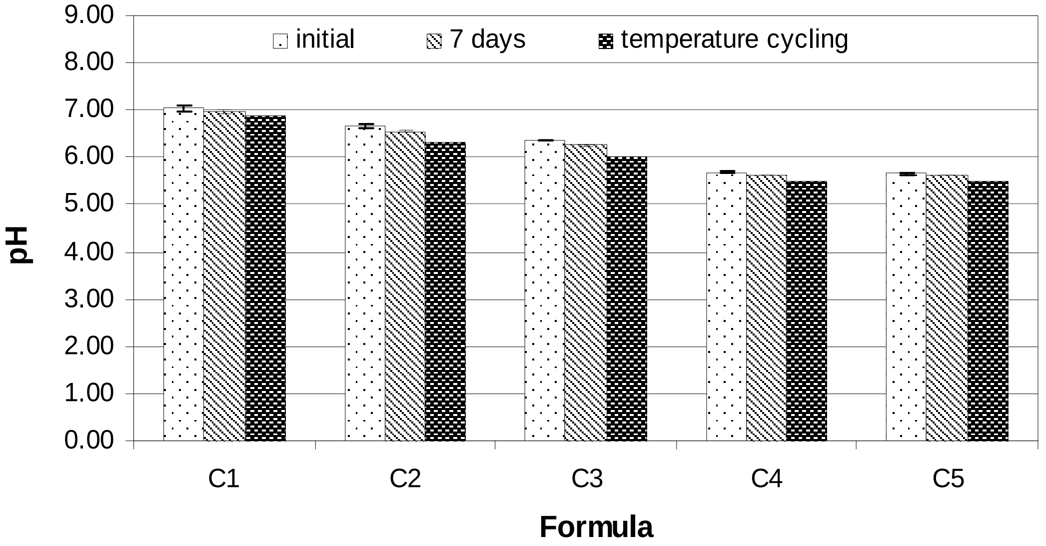
ภาพที่ 42 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

โดยทั่วไปแล้วการเพิ่มสารลดแรงตึงผิวมีผลโดยตรงต่อการหุ้มที่ผิวหยดน้ำมัน กล่าวคือเมื่อเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวมากขึ้น ทำให้เกิดการคลุมที่ผิวของหยดน้ำมันซึ่งน่าจะมีผลทำให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันถั่วเหลืองมีความเป็นลบน้อยลง แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้จะมีบางจุดที่ได้ผลไม่สอดคล้อง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นร่วมด้วยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประจุที่พื้นผิว เมื่อพิจารณาถึงขนาดของหยดน้ำมันประกอบด้วย (ภาพที่ 40) จะเห็นได้ว่า การเพิ่ม PGO จะส่งผลให้ขนาดของหยดน้ำมันเล็กลงด้วย โดยขนาดจะลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเพิ่มจาก 1% เป็น 2.5% โดยน้ำหนัก ดังนั้นพื้นที่ผิวของหยดน้ำมันจะมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วส่งผลให้สารลดแรงตึงผิวไม่สามารถคลุมผิวของหยดน้ำมันได้อย่างสมบูรณ์ส่งผลให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลมีความเป็นลบมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่ม PGO ในระดับมากกว่า 2.5% โดย

น้ำหนัก หยดน้ำมันจะอยู่ในช่วงนาโนเมตรและไม่มีขนาดที่ลดลงอย่างชัดเจน จึงทำให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารลดแรงตึงผิวกับซีต้าโพเทนเชียลชัดเจนขึ้น

1.1.2.4 ผลของปริมาณสารลดแรงตึงผิวต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน

ผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ที่ปริมาณต่างกันดังแสดงไว้ในภาพที่ 43 จากการศึกษาพบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ในปริมาณ 1, 2.5 และ 5%โดยน้ำหนัก ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.04, 6.67 และ 6.37 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในช่องปากดังที่กล่าวข้างต้น ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวปริมาณ 7.5 และ 10%โดยน้ำหนักให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.68 และ 5.65 ตามลำดับ ซึ่ง เป็นสภาวะที่เป็นกรด จึงอาจส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ได้ และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวทุกกลุ่มมีค่าคงที่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นเมื่อนำผลของความคงตัว ขนาดของหยดน้ำมันของอิมัลชัน และค่าซีต้าโพเทนเชียลมาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ที่ปริมาณ 5% โดยน้ำหนักเป็นปริมาณที่เหมาะสม ต่อการเตรียมอิมัลชันเพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อก่อโรคทางทันตกรรมต่อไป



ภาพที่ 43 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้ PGO ปริมาณต่างกัน (C1 : 1%, C2 : 2.5%, C3 : 5%, C4 : 7.5% และ C5 : 10 %โดยน้ำหนัก) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2 ผลของน้ำมันต่อการเกิดอิมัลชัน

ในการศึกษาที่ผ่านมาในหัวข้อ 1.1 นั้นจะเป็นการทดสอบผลของสารลดแรงตึงผิวโดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองเพียงชนิดเดียวเป็นตัวแทนของการศึกษา แต่อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของน้ำมันมีส่วนสำคัญในการกำหนดคุณสมบัติของอิมัลชันและเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ (Nakatsu et al. 2000 : 571-631 ; Bakkali et al. 2008 : 446-475) ประกอบกับการพัฒนาครั้งนี้มีความมุ่งหมายที่จะนำอิมัลชันที่ได้ไปเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สุขภาพสำหรับช่องปากจึงได้ทำการศึกษาผลของน้ำมันร่วมด้วย โดยเลือกใช้น้ำมันหอมระเหย 6 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีความปลอดภัยและมีรสชาติที่ดีโดยเน้นเฉพาะน้ำมันหอมระเหยที่มีการใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับช่องปากคือ น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีมาใช้ในการเตรียมอิมัลชัน นอกจากนี้แล้วยังมีการศึกษาผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยในสัดส่วนต่างกันโดยใช้ร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง โดยทำการประเมินเปรียบเทียบคุณสมบัติของอิมัลชันที่เตรียมได้ ทั้งด้วยการตรวจสอบด้วยตาเปล่ารวมไปถึงการใช้เครื่องมือชนิดต่าง ๆ ในการทดสอบ เช่น ขนาดของหยดน้ำมัน ซีต้าโพเทนเชียล การแยกชั้น (cracking) การเกิดครีม (creaming) ความหนืด ค่าความเป็นกรดด่าง เป็นต้น โดยมีการทดสอบทันทีที่เตรียมและประเมินผลหลังเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

1.2.1 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน

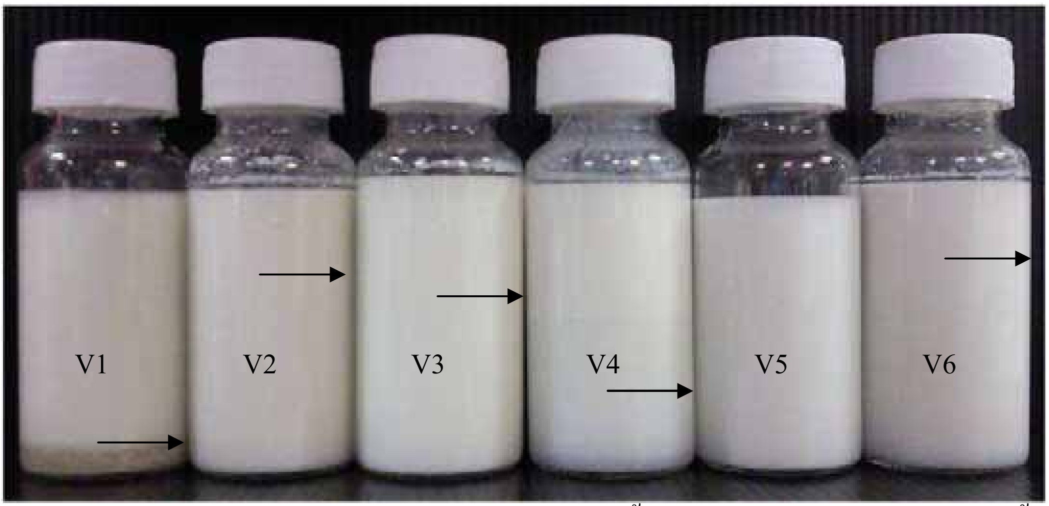
1.2.1.1 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน

ภาพที่ 44 แสดงผลเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันก่อนนำไปทดสอบความคงตัวโดยมีการเปรียบเทียบการใช้น้ำมันหอมระเหยในกลุ่มต่างกันได้แก่ น้ำมันกานพลู (V1), น้ำมันสเปียร์มินต์ (V2), น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (V3), น้ำมันออปทามินต์ (V4), น้ำมันยูคาลิปตัส (V5) และ น้ำมันทีทรี (V6) ซึ่งพบว่าการใช้น้ำมันกานพลูเกิดการแยกชั้นของน้ำมัน (cracking) การใช้น้ำมันหอมระเหยกลุ่ม น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ และน้ำมันทีทรีเกิดการแยกส่วนอิมัลชันที่มีสีขาวเข้มและสีขาวอ่อนอย่างชัดเจน (creaming) ในขณะที่น้ำมันยูคาลิปตัสได้อิมัลชันที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอด แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบในวัฏภาคน้ำมันมีแนวโน้มที่จะได้อิมัลชันที่มีความคงตัวทางกายภาพน้อย โดยน้ำมันกานพลูมีแนวโน้มความคงตัวที่ไม่ดีมากที่สุด

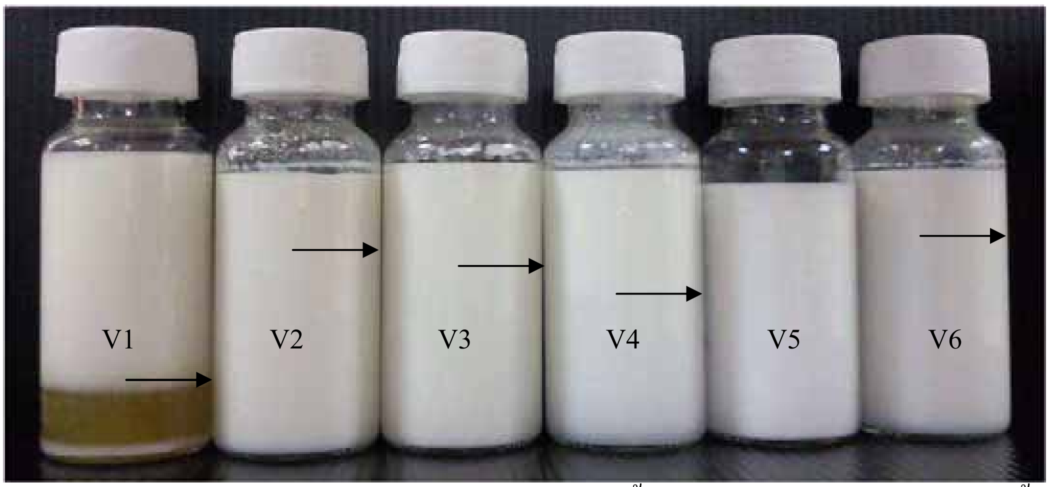
เพื่อเป็นการศึกษาความคงตัวเปรียบเทียบเพิ่มเติม จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 45-46 ผลการศึกษาพบว่าชนิดน้ำมันหอมระเหยมีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันกล่าวคือ เมื่อใช้น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมัน

ออปทามินต์ และน้ำมันทีทรีได้ตำรับอิมัลชันที่มีความคงตัวไม่ดี สังเกตได้จากการแยกของชั้นครีม โดยมีแนวโน้มค่าเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงหลังการศึกษาความคงตัว โดยเฉพาะการเตรียมอิมัลชันจากน้ำมันกานพลู เกิดการแยกชั้นของน้ำมันอย่างชัดเจน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และเมื่อเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ในขณะที่ตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันยูคาลิปตัสไม่เกิดการแยกของครีมโดยมีเปอร์เซ็นต์ครีมเท่ากับ 100 ทั้งหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ดังแสดงในภาพที่ 47 ซึ่งเป็นการยืนยันผลความคงตัวที่ดีกว่าของน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มหลังนี้

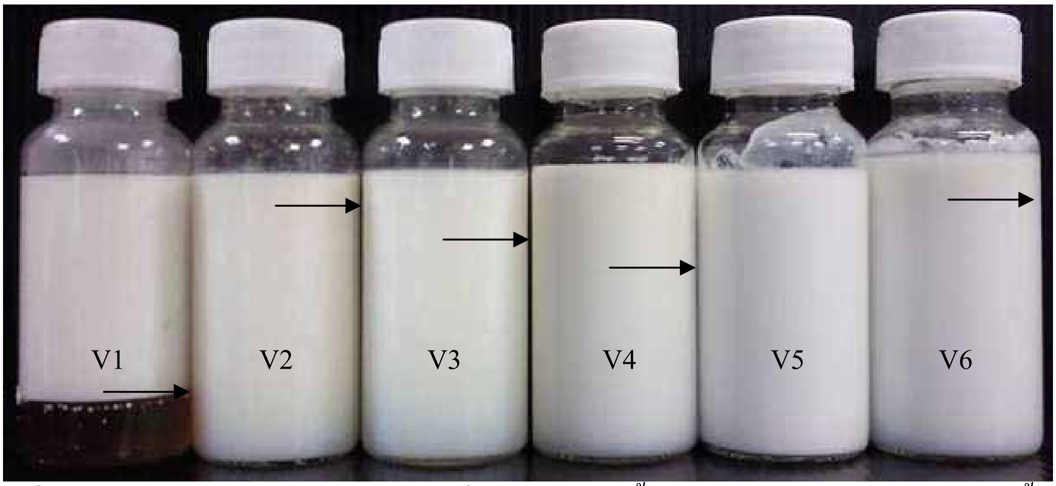
เนื่องจากน้ำมันหอมระเหย เป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ ดังนั้นจึงมีส่วนประกอบทางเคมีที่หลากหลาย โดยสารสำคัญที่พบมากในน้ำมันหอมระเหยเป็นสารในกลุ่ม terpenes และ phenols ซึ่งมีความหนาแน่นต่ำ สามารถระเหยได้ง่าย ดังนั้นการเตรียมอิมัลชันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจึงมีความคงตัวน้อยกว่าการเตรียมโดยใช้น้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในหัวข้อ 1.1.1 แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีความน่าสนใจในคุณสมบัติการฆ่าเชื้อที่ดีจึงได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยอื่นที่มีผลทำให้น้ำมันหอมระเหยในรูปอิมัลชันมีความคงตัวมากขึ้น เช่น โดยการผสมร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดในตอนต่อไป



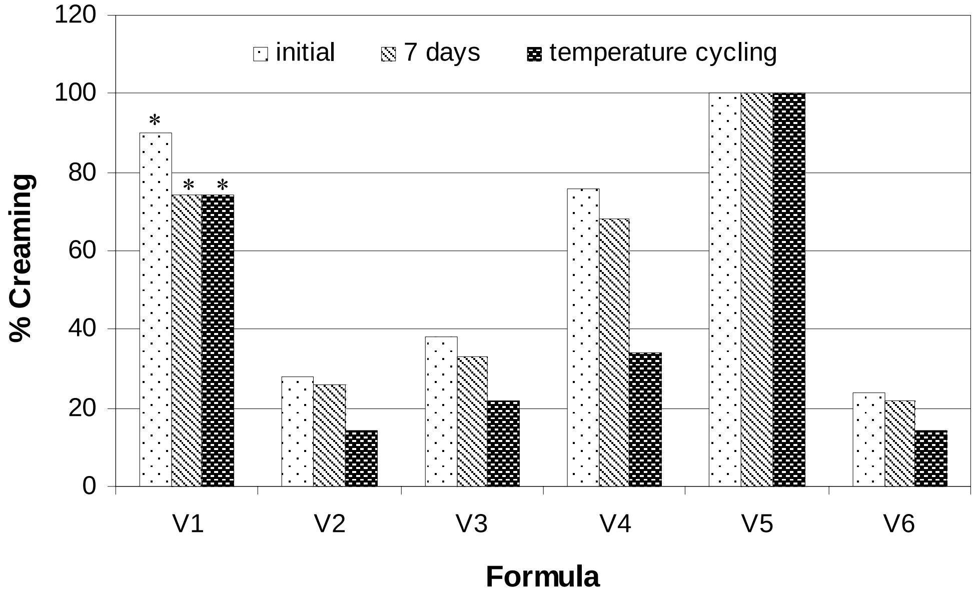
ภาพที่ 44 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 45 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์



ภาพที่ 46 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

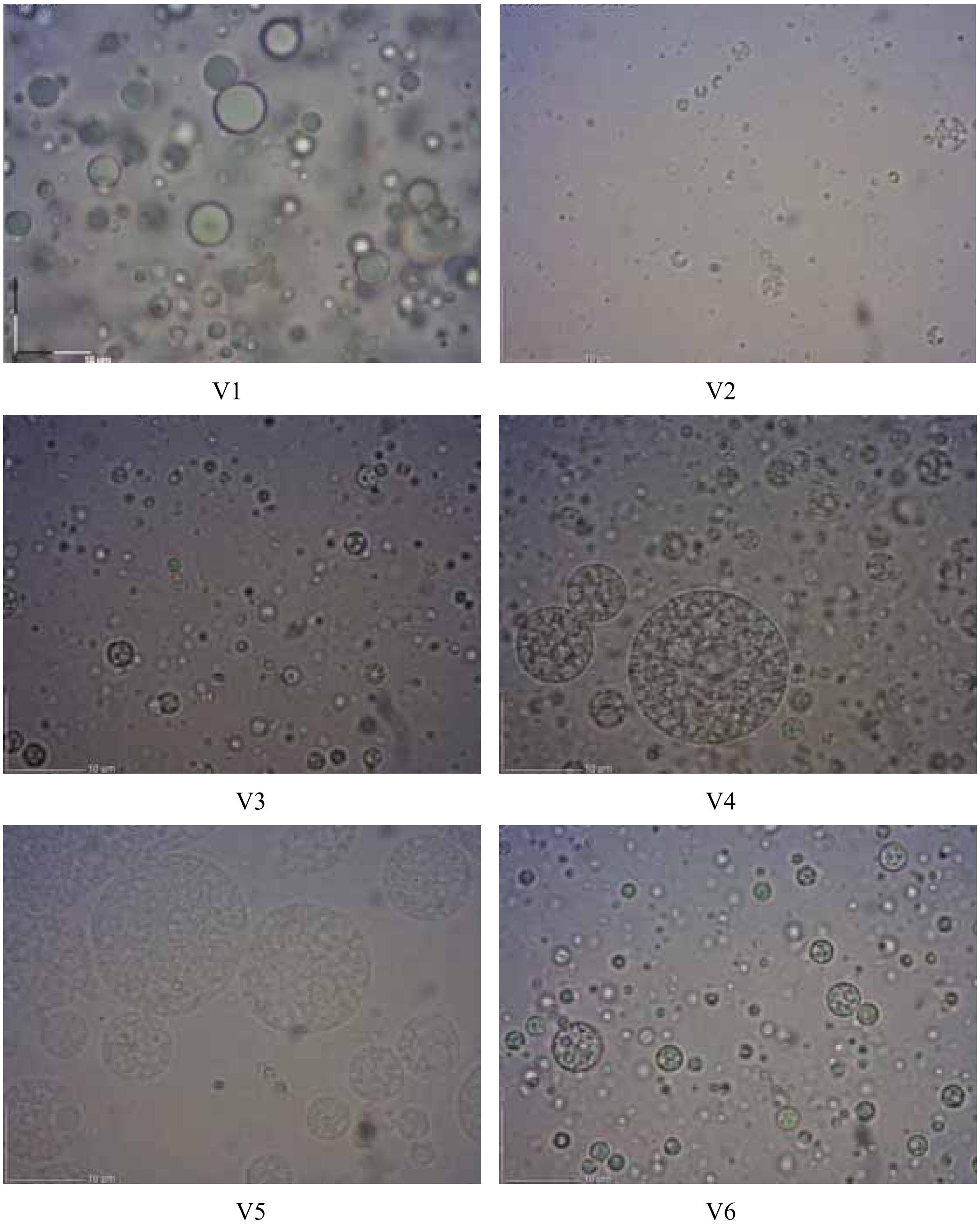


ภาพที่ 47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

หมายเหตุ * เกิดการแยกชั้นแบบ cracking

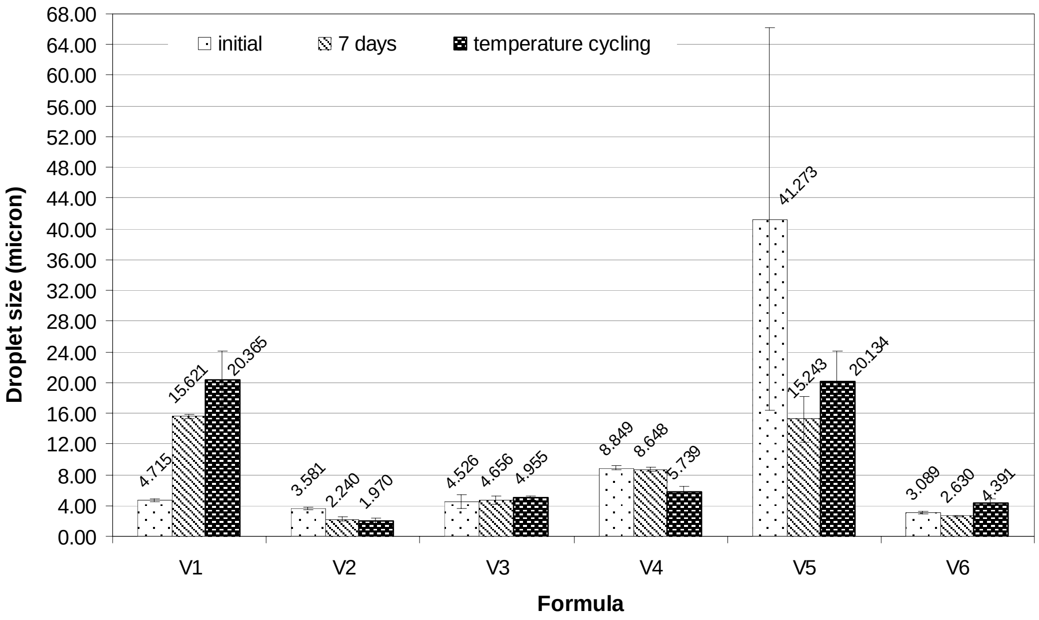
1.2.1.2 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อขนาดของหยดน้ำมัน

ผลการศึกษาพบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยทุกชนิด ได้แก่ น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี ส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่อยู่ในช่วงไมครอนและสามารถเห็นอนุภาคของหยดน้ำมันได้อย่างชัดเจนโดยกล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในภาพที่ 48 ลักษณะของหยดน้ำมันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยจะค่อนข้างแตกต่างกัน โดยในสูตรที่ใช้น้ำมันกานพลูมีลักษณะหยดน้ำมันกลมและแยกตัวออกเป็นหยดเดี่ยวที่แยกกันชัดเจน ในขณะที่สูตรอื่นจะมีลักษณะคล้ายกับพหุอิมัลชัน (multiple emulsion) โดยขนาดเฉลี่ยที่วัดโดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคเท่ากับ 4.715, 3.581, 4.526, 8.849, 41.273 และ 3.089 ไมโครเมตร สำหรับน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกันมีผลต่อได้ลักษณะและขนาดของหยดน้ำมันร่วมด้วย



ภาพที่ 48 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x)

ภาพที่ 49 แสดงขนาดของหยดน้ำมันภายหลังเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าขนาดหยดน้ำมันมีแนวโน้มใหญ่ขึ้นในสูตรที่มีการใช้น้ำมันกานพลูซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกับความคงตัวทางกายภาพที่แสดงไว้ในหัวข้อ 1.2.1.1 ในขณะที่การใช้น้ำมันหอมระเหยที่เหลือคือ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ และน้ำมันทีทรีมีขนาดอนุภาคค่อนข้างคงที่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่ง

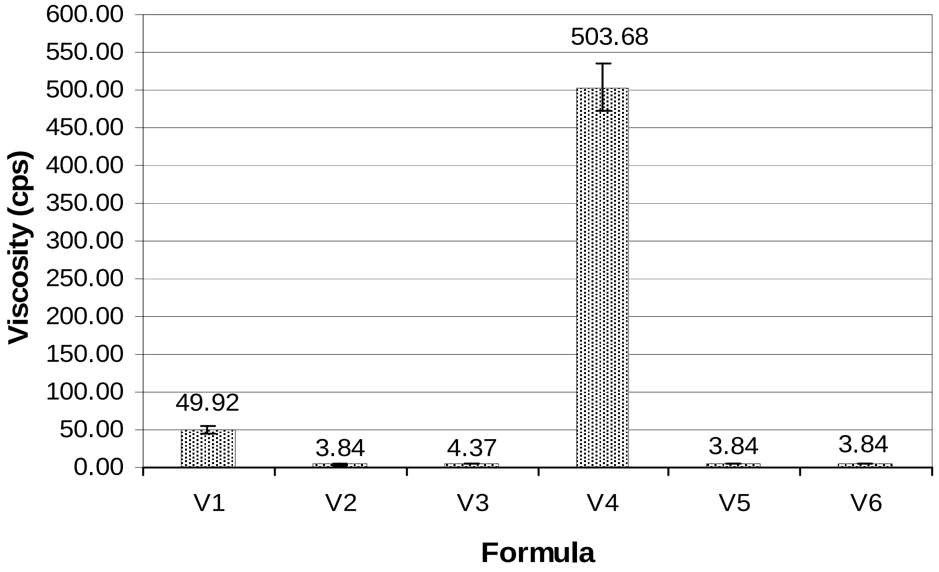


ภาพที่ 49 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.1.3 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อค่าความหนืดของอิมัลชัน

ความหนืดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของอิมัลชัน เพราะการเปลี่ยนแปลงความหนืดของอิมัลชันเนื่องจากสาเหตุใดก็ตาม จะส่งผลต่อคุณภาพและความคงตัวด้วย และยังมีผลต่อความรู้สึกของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์นั้น เช่น ความน่าเชื่อถือ เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ และ

น้ำมันทีทรี ได้อิมัลชันที่มีความหนืดต่ำอยู่ในช่วง 3.84 ถึง 4.37 cps ในขณะที่สูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมันกานพลูมีความหนืดเป็น 49.92 cps ซึ่งอาจเป็นความหนืดของน้ำมันกานพลูที่แยกออกมาตั้งแต่ต้นซึ่งมีความหนืดมากกว่าน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ส่วนสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมันยูคาลิปตัสพบว่ามีความหนืดสูงที่สุดเป็น 503.68 cps ดังแสดงในภาพที่ 50 ซึ่งผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าความคงตัวทางกายภาพที่ดีของสูตรตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันยูคาลิปตัสที่แสดงในภาพที่ 47 นั้นเกิดจากความหนืดที่มากนั่นเอง ความหนืดที่มากมีผลทำให้หยดน้ำมันเกิดการรวมตัวกันได้ยากขึ้น (Sjoblom 2006 : 248) ส่งผลทำให้สูตรตำรับดังกล่าวมีค่าเปอร์เซ็นต์ครีมสูงสุดและไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บ แต่อย่างไรก็ตามสูตรที่ประกอบด้วยน้ำมันยูคาลิปตัสนั้นจะเป็นสูตรที่มีความหนืดมากเกินไป ประกอบด้วยขนาดหยดน้ำมันที่มีขนาดใหญ่ จึงไม่ได้เลือกสูตรนี้เพื่อทำการศึกษาต่อไป



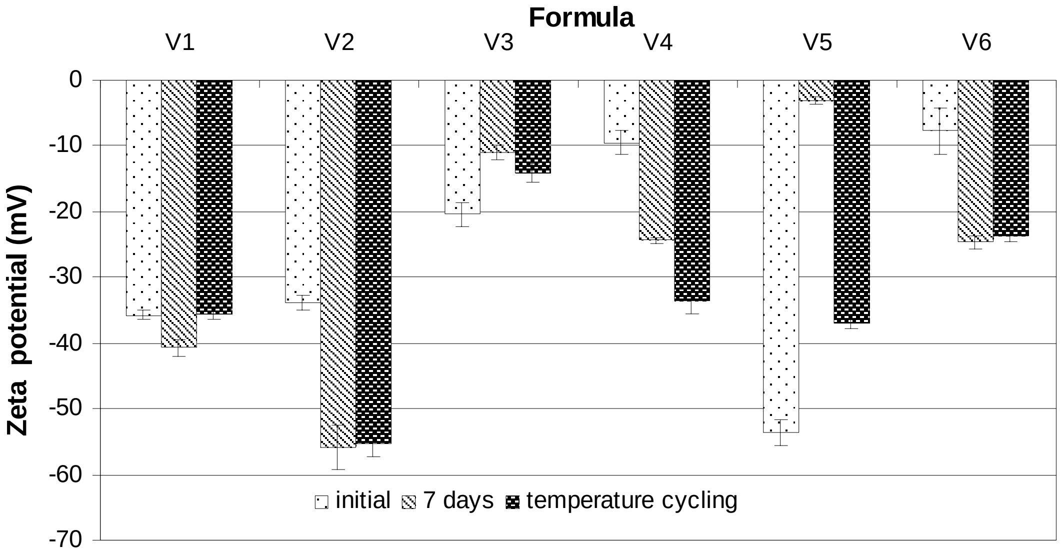
ภาพที่ 50 แสดงค่าความหนืดของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี)

1.2.1.4 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมัน

ผลการทดสอบค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่างกันได้แสดงไว้ในภาพที่ 51 จากการศึกษาพบว่า ค่าซีต้าโพเทนเชียลของน้ำมัน

หอมระเหยแต่ละชนิดมีค่าค่อนข้างแตกต่างกันมาก ถึงแม้ว่าทุกสูตรตำรับจะให้ค่าซีต้าโพเทนชียลเป็นลบ แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจะมีผลค่อนข้างมากต่อประจุที่พื้นผิวของหยดน้ำมัน องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดที่มีสารประกอบที่แตกต่างกันไปน่าจะมีผลโดยตรงต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลดังกล่าว

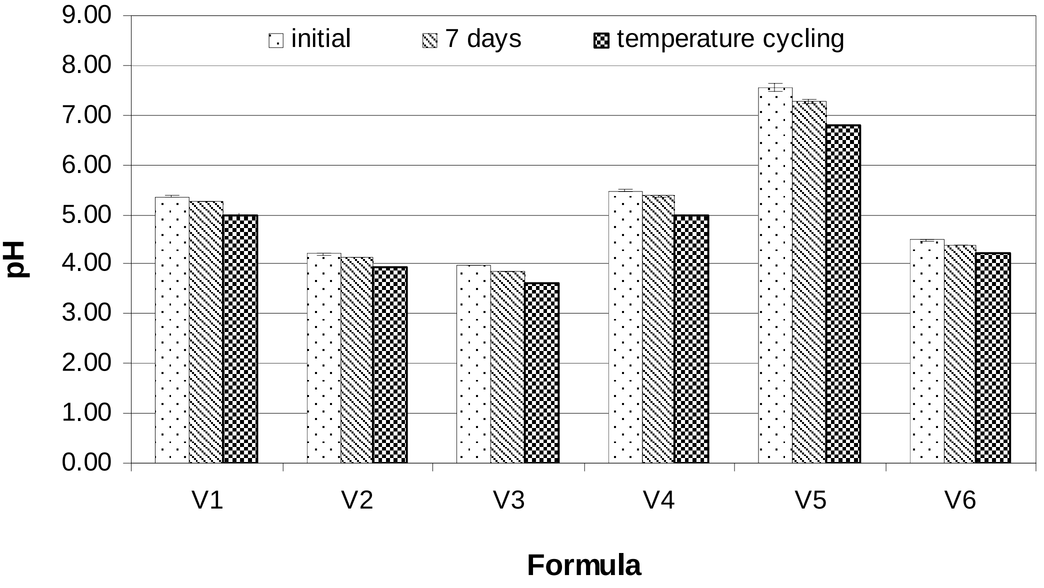
สำหรับผลของการเก็บต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลนั้นจะมีความแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้เช่นเดียวกัน หลังการเก็บที่สภาวะเร่งสูตรที่ใช้น้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ และน้ำมันทีทรี มีแนวโน้มค่าซีต้าโพเทนเชียลเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับความคงตัวทางกายภาพที่ลดลง ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าหลังจากอิมัลชันเริ่มเสียความคงตัว สารลดแรงตึงผิวห่อหุ้มหยดน้ำมันได้สมบูรณ์น้องลงส่งผลให้มีค่าซีต้าโพเทนเชียลมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก็มีสูตรตำรับที่ประกอบน้ำมันหอมระเหยบางชนิดมีค่าซีต้าโพเทนเชียลลดลง เช่น น้ำมันเปปเปอร์มินต์ และ น้ำมันยูคาลิปตัส ในกรณีนี้น่าจะมีปัจจัยอื่นที่แตกต่างกันไปที่กำหนดค่าซีต้าโพเทนเชียลร่วมด้วย ที่ยังต้องการศึกษาต่อไป



ภาพที่ 51 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.1.5 ผลของชนิดน้ำมันหอมระเหยต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน

ผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยต่างชนิดกัน ดังแสดงไว้ในภาพที่ 52 จากการศึกษาพบว่า การใช้น้ำมันหอมระเหยต่างชนิดกันในการเตรียมอิมัลชัน ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 3.98-7.55 และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวทุกกลุ่มมีค่าคงที่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 52 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ V6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.2 ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันเปปเปอร์มินต์

จากการศึกษาในหัวข้อ 1.2.1 พบว่า การเตรียมอิมัลชันที่วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยเพียงอย่างเดียวส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้เสียความคงตัว มีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ ในขณะที่การเตรียมโดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองทำให้ได้อิมัลชันที่มีความคงตัวที่ดี

และมีขนาดหยดน้ำมันเล็กในระดับนาโนเมตร ดังแสดงในหัวข้อ 1.1 ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยโดยเลือกใช้น้ำมันเปปเปอร์มินต์เป็นตัวแทนในการศึกษาโดยทำการศึกษาผลของการใช้สัดส่วนระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันเปปเปอร์มินต์ที่ต่างกันต่อคุณสมบัติของอิมัลชันดังจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป

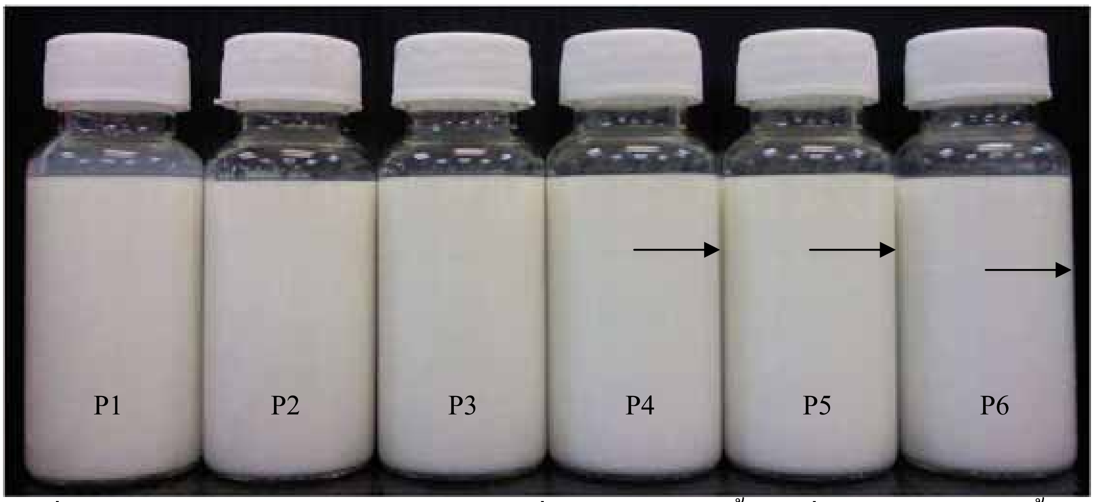
1.2.2.1 ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน

ภาพที่ 53 แสดงผลเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันก่อนนำไปทดสอบความคงตัวโดยมีการเปรียบเทียบการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ ได้แก่ 75:25 (สูตร P1), 50:50 (สูตร P2), 40:60 (สูตร P3), 30:70 (สูตร P4), 20:80 (สูตร P5) และ 10:90 (สูตร P6) ซึ่งพบว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วน 30:70, 20:80 และ 10:90 เกิดการแยกของส่วนอิมัลชันที่มีสีขาวเข้มและขาวอ่อนอย่างชัดเจน ในขณะที่การใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกลุ่มน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วน 75:25, 50:50 และ 40:60 ได้อิมัลชันที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอดแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของความคงตัวที่ดี เมื่อมีสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองเพิ่มมากขึ้น

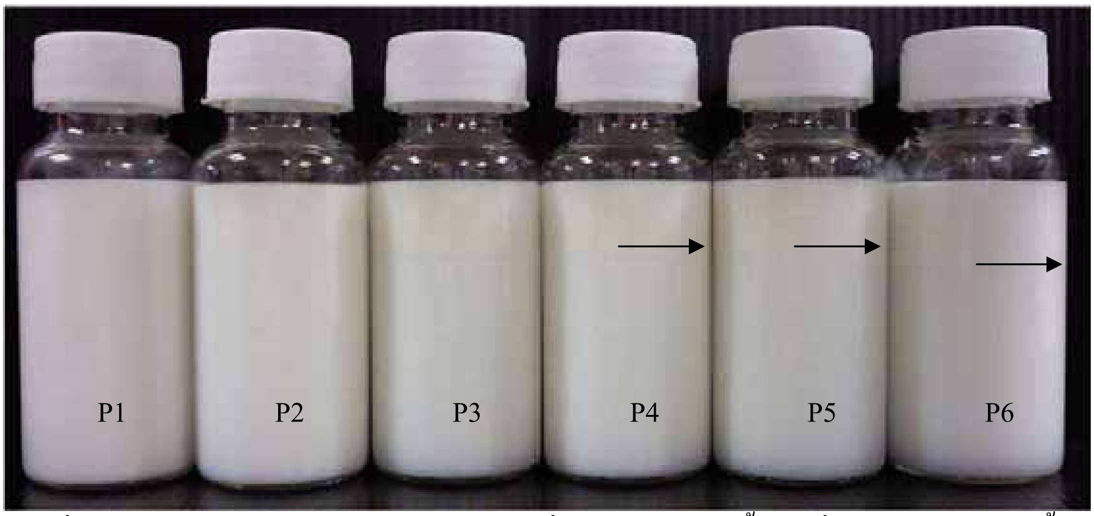
สำหรับผลความคงตัวทางกายภาพภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและหลังศึกษาในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ได้แสดงในภาพที่ 54-55 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันกล่าวคือ เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์สัดส่วน 40:60, 30:70, 20:80 และ 10:90 ได้ตำรับอิมัลชันที่มีความคงตัวไม่ดี สังเกตได้จากการแยกของชั้นครีม โดยมีแนวโน้มค่าเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงหลังการศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ในขณะที่ตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วน 75:25 และ 50:50 ไม่เกิดการแยกของครีมโดยมีเปอร์เซ็นต์ครีมเท่ากับ 100 ทั้งหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ดังแสดงในภาพที่ 56 ซึ่งเป็นการยืนยันผลความคงตัวที่ดีกว่าเมื่อสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองมากขึ้น

จากผลทางกายภาพดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า น้ำมันถั่วเหลืองมีส่วนช่วยในการเพิ่มความคงตัวได้ โดยระดับต่ำสุดที่จะทำให้ความคงตัวทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้คือมีปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองอย่างน้อย 50% โดยน้ำหนัก การเพิ่มความคงตัวทางกายภาพน่าจะเกิดเนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองเป็นน้ำมันที่สามารถเข้ากันได้ (miscible) กับน้ำมันเปปเปอร์มินต์โดยสามารถละลายและอยู่ร่วมกันได้อย่างสมบูรณ์ในทุกสัดส่วน ประกอบกับมีความหนาแน่นที่

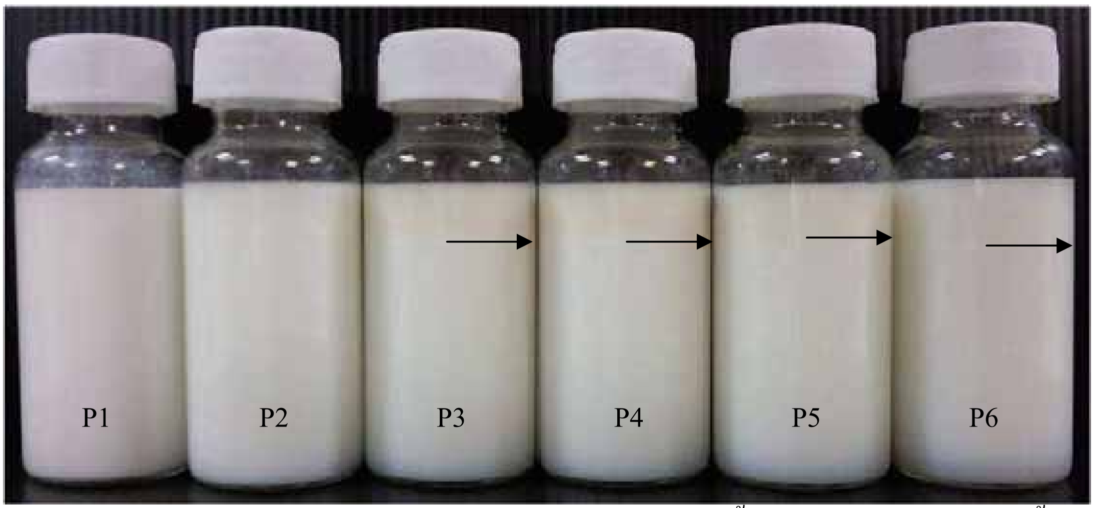
ค่อนข้างไม่แตกต่างกัน ในขณะระบบอิมัลชันที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองมีความคงตัวทางกายภาพที่สูง และเข้ากันได้ดีกับสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ดังที่ได้อธิบายไว้ในตอน 1.1 จึงสามารถเก็บกักน้ำมันเปปเปอร์มินต์ที่ใช้อยู่ภายในและเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชันโดยรวมได้ ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถรักษาความคงตัวไว้ในระดับที่น้อยกว่า 50 % โดยน้ำหนักก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hsu และ Nacu (2003) แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยก็มีความสำคัญในการเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่างๆ (Nakatsu et al. 2000 : 571-631 ; Bakkali et al. 2008 : 446-475) ในขณะที่น้ำมันถั่วเหลืองไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโดยตรง ดังนั้นการศึกษาจึงต้องคำนึงถึงในส่วนความสามารถในการฆ่าเชื้อร่วมด้วยซึ่งจะได้กล่าวในตอนต่อไป



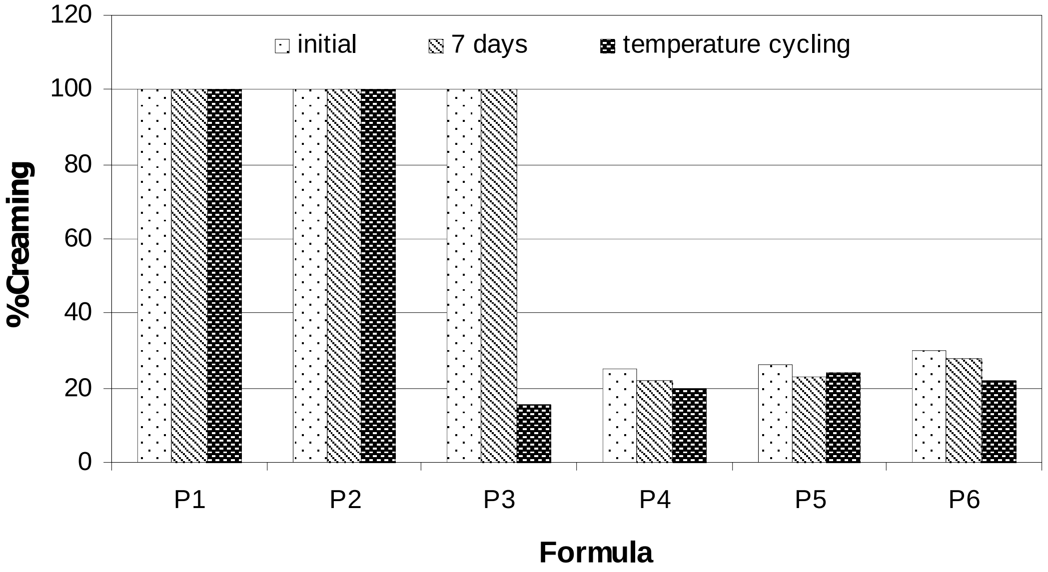
ภาพที่ 53 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และP6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 54 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และP6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์



ภาพที่ 55 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

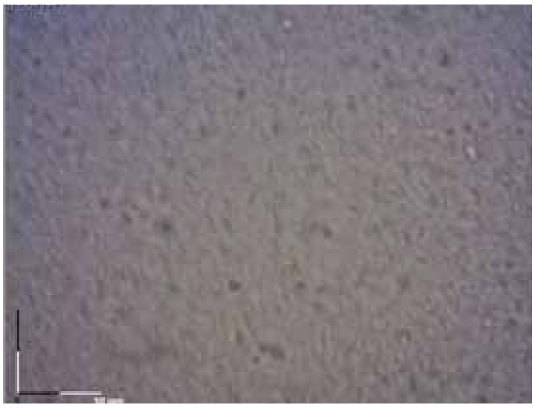


ภาพที่ 56 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

1.2.2.2 ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อขนาดของหยดน้ำมัน

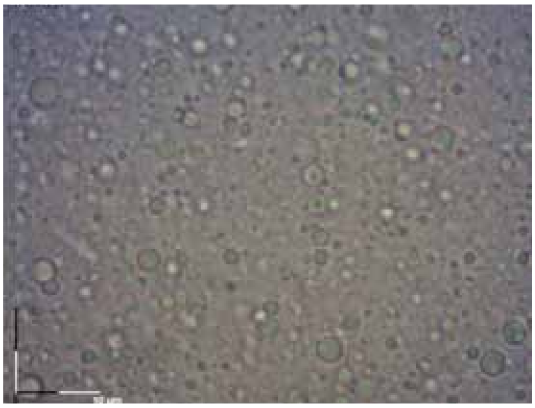
จากที่กล่าวมาข้างต้นว่าขนาดของหยดน้ำมันมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน (Kim and Kim 2003 : 2295-2301) และมีผลโดยตรงต่อการฆ่าเชื้อร่วมด้วย (Pal et al. 2007 : 1712–1720) เนื่องจากการเตรียมอิมัลชันโดยใช้น้ำมันหอมระเหย ในหัวข้อ 1.2.1.2 ให้ขนาดอนุภาคใหญ่ในช่วงไมโครเมตร ในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการศึกษาผลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วน 75:25, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 และ 10:90 ต่อขนาดของหยดน้ำมันดังแสดงในภาพที่ 57-58

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วน 40:60, 30:70, 20:80 และ 10:90 ส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่อยู่ในช่วงไมครอนและสามารถเห็นอนุภาคของหยดน้ำมันได้อย่างชัดเจนโดยกล้องจุลทรรศน์ โดยมีขนาดเฉลี่ยที่วัดโดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคเท่ากับ 0.678, 1.236, 2.918 และ 3.056 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อใช้สัดส่วน 75:25, 50:50 สามารถเตรียมอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมากในระดับนาโนเมตร เมื่อนำไปวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาคจะมีขนาดอยู่ในช่วง 193-262 นาโนเมตร

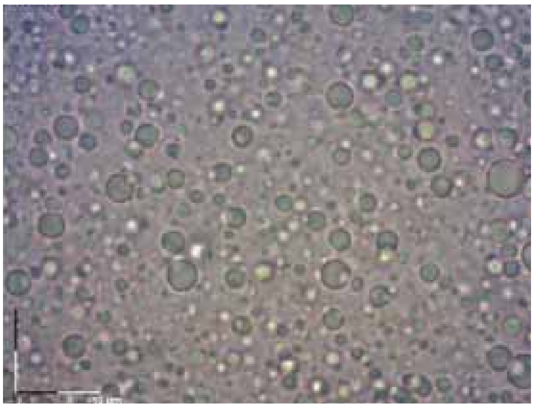


P1

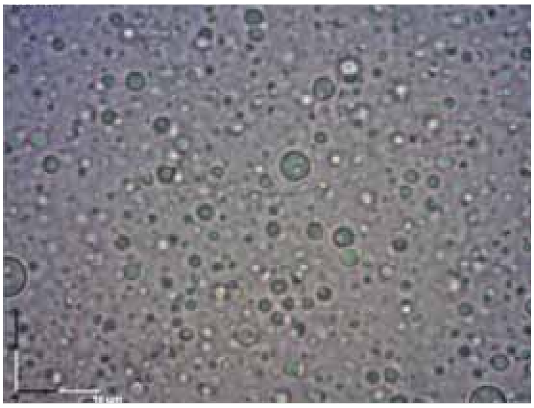
P2



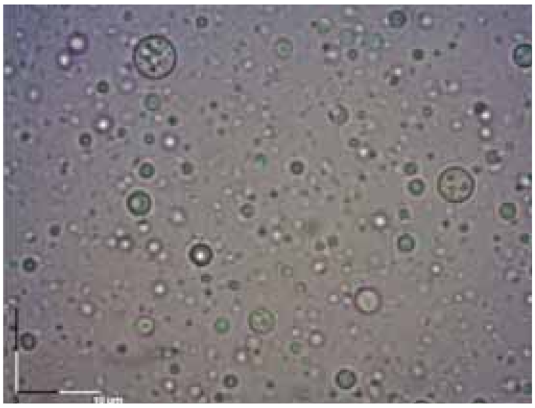
P3



P4



P5

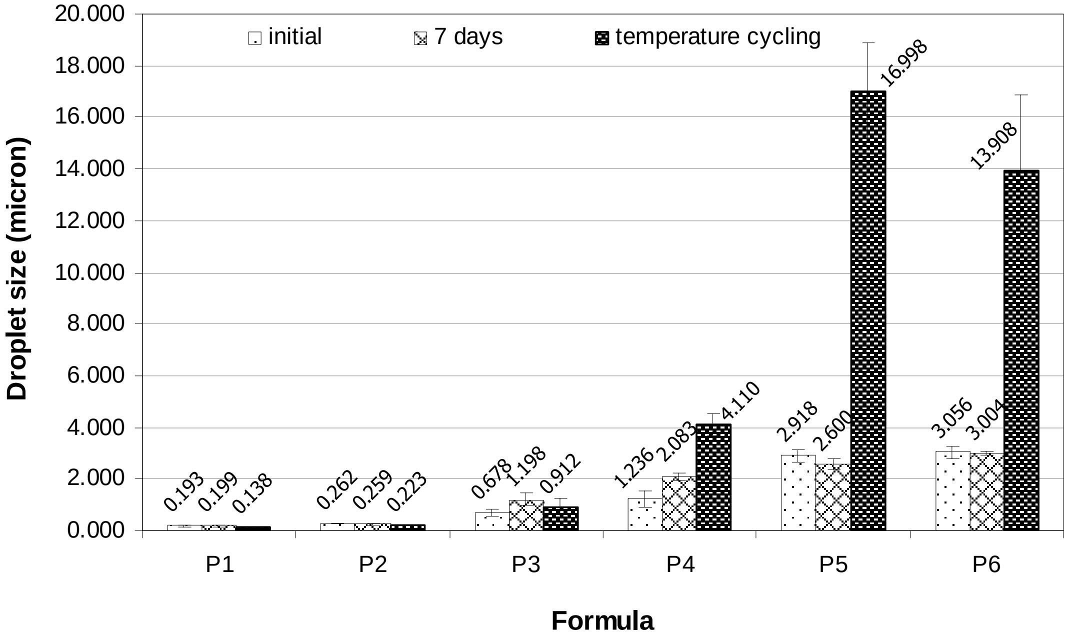


P6

ภาพที่ 57 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x)

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองในสัดส่วนตั้งแต่ 50% โดยน้ำหนักขึ้นไปสามารถทำให้ระบบอิมัลชันมีขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในช่วงนาโนเมตรได้ ซึ่งผลที่ได้ค่อนข้างสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่อธิบายไว้ในหัวข้อ 1.2.2.1

สำหรับผลความคงตัวภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งได้แสดงเพิ่มเติมในภาพที่ 58 การใช้น้ำมันถั่วเหลืองในสัดส่วนตั้งแต่ 50% โดยน้ำหนักขึ้นไป ขนาดของอนุภาคไม่มีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนทั้งที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง โดยที่ระดับ 40% โดยน้ำหนักมีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ในระดับที่น้อยกว่า 40% โดยน้ำหนักมีขนาดอนุภาคที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ผลที่ได้ยืนยันการเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชันโดยใช้น้ำมันถั่วเหลือง

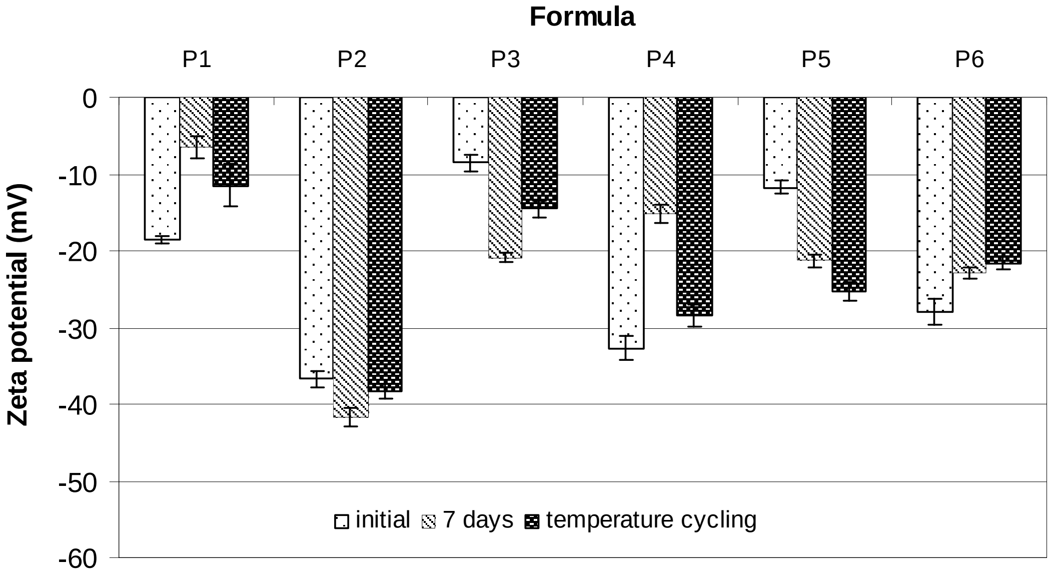


ภาพที่ 58 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.2.3 ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อค่าซีต้าโพเทนเชียล

ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นตัวชี้วัดที่แสดงถึงประจุที่ผิวของหยดน้ำมัน ดังที่ได้อธิบายไว้ในหัวข้อ 1.1.1.3 ในการศึกษาครั้งนี้มีการศึกษาปรับสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองต่อน้ำมันเปปเปอร์มินต์ซึ่งทำให้สัดส่วนของวัฏภาคน้ำมันในหยดน้ำมันเปลี่ยนแปลงไป เพื่อเป็น

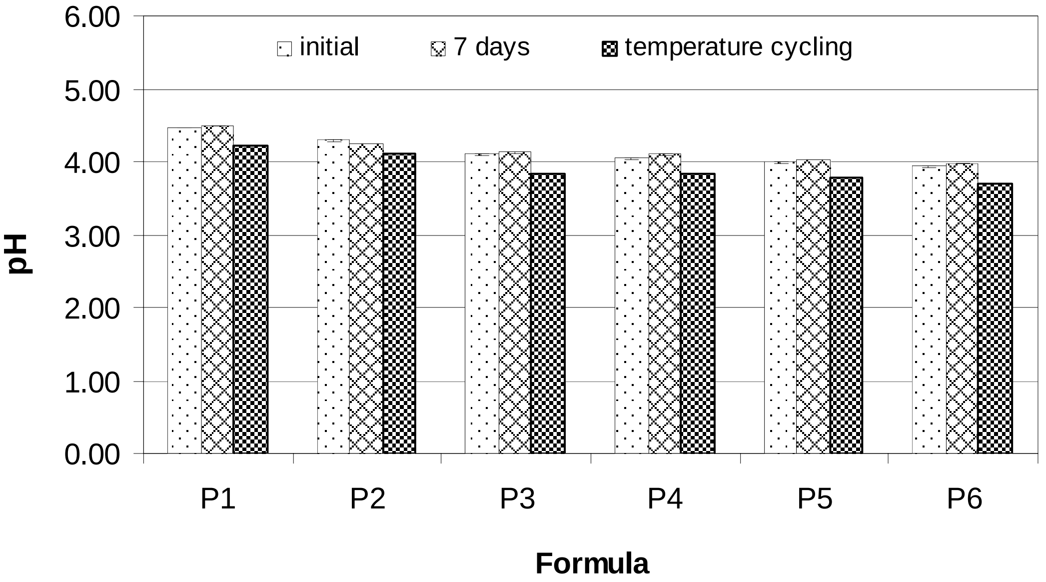
การศึกษาผลดังกล่าวต่อปรากฏการณ์พื้นผิวเพิ่มเติม จึงได้ทำการวัดซีต้าโพเทนเชียลของตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 59 จากการศึกษาพบว่า การใช้น้ำมันถั่วเหลืองต่อน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างกัน ให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นลบทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตามไม่ค่อยพบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองที่เพิ่มขึ้นต่อค่าซีต้าโพเทนเชียล ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากความแตกต่างของค่าซีต้าโพเทนเชียลของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันเปปเปอร์มินต์ไม่แตกต่างกันมาก จากผลการทดลองในหัวข้อ 1.1.1.3 จะพบว่าค่าซีต้าโพเทนเชียลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองชนิดเดียวมีค่าประมาณ -26 มิลลิโวลต์ ในขณะที่การใช้น้ำมันเปปเปอร์มินต์ชนิดเดียวมีค่าประมาณ -20 มิลลิโวลต์ (ผลการทดลองที่ 1.2.1.3) ซึ่งทำให้เมื่อนำมาผสมกันจึงอาจไม่มีผลชัดเจนนักต่อค่าซีต้าโพเทนเชียล แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้ยังพบค่าที่ค่อนข้างเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปเมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันเดี่ยว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน่าจะมีหลายปัจจัยร่วมกันที่ส่งผลกระทบต่อค่าซีต้าโพเทนเชียล ยกตัวอย่างเช่น ขนาดของหยดน้ำมัน การห่อหุ้มของสารลดแรงตึงผิวที่อาจเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำมัน เป็นต้น



ภาพที่ 59 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.2.4 ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน

ผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างกัน ดังแสดงไว้ในภาพที่ 60 จากการศึกษาพบว่า การเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันเปปเปอร์มินต์ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงเล็กน้อยจาก 4.47 เป็น 3.93 และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ทุกสัดส่วนมีค่าคงที่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นเมื่อนำผลของความคงตัว ขนาดของหยดน้ำมันของอิมัลชัน และค่าซีต้าโพเทนเชียลมาพิจารณาร่วมด้วย พบว่าสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองที่สามารถเตรียมอิมัลชันที่มีคุณสมบัติความคงตัวที่ดีจะต้องใช้น้ำมันถั่วเหลืองอย่างน้อย 50 %โดยน้ำหนัก ดังนั้นจะทำการใช้สัดส่วนระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองต่อน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 50:50 ในการศึกษาต่อไป โดยจะทดลองใช้น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นแทนน้ำมันเปปเปอร์มินต์รวมไปถึงเพื่อใช้ในการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางทันตกรรมต่อไป



ภาพที่ 60 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ (P1 คือ 75:25, P2 คือ 50:50, P3 คือ 40:60, P4 คือ 30:70, P5 คือ 20:80 และ P6 คือ 10:90) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

1.2.3 ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อคุณสมบัติของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน

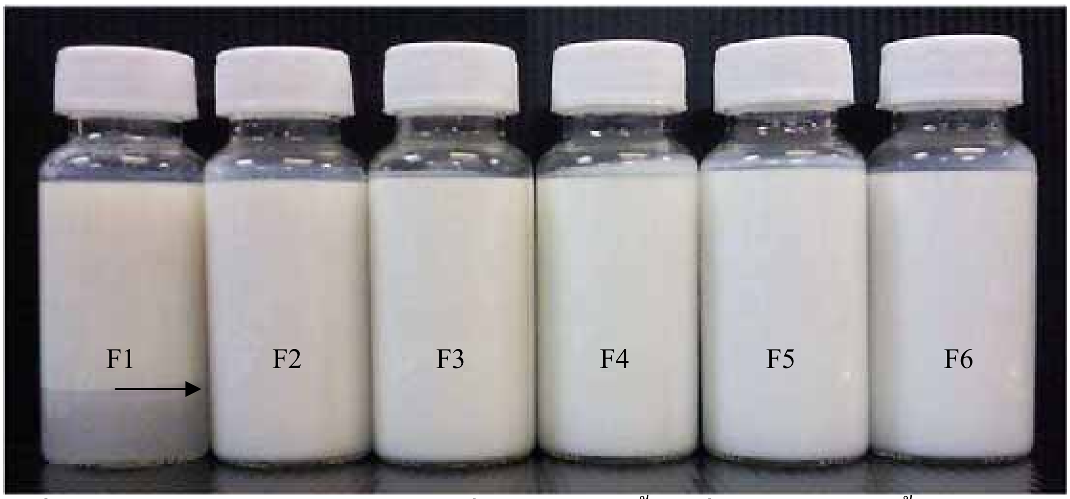
จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชันระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันหอมระเหยโดยใช้น้ำมันเปปเปอร์มินต์เป็นตัวแทนในการทดสอบ คือ 50:50 จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้อัตราส่วนนี้ในการเตรียมอิมัลชันโดยทดสอบกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกันเพื่อประเมินผลเปรียบเทียบต่อไป

1.2.3.1 ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน

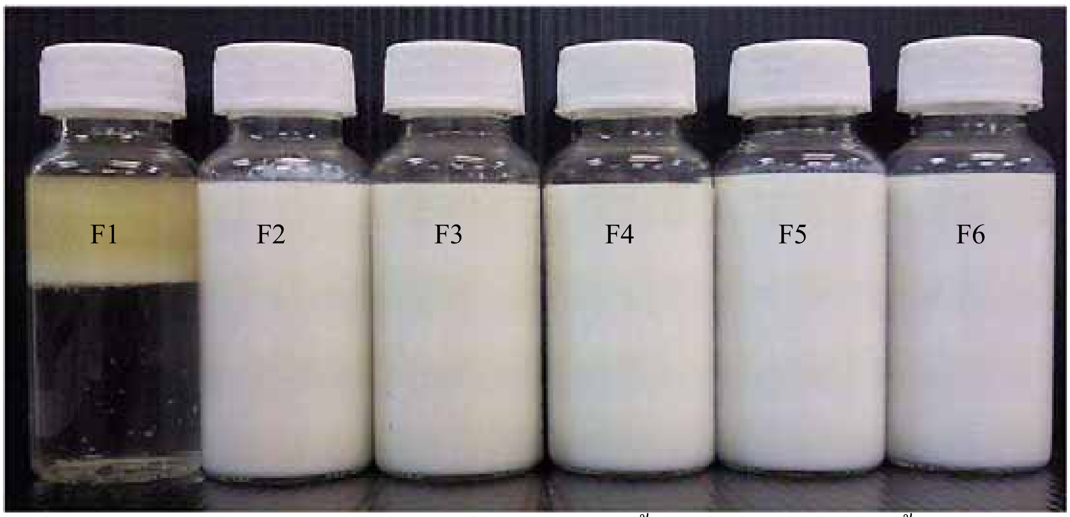
ภาพที่ 61 แสดงผลเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันก่อนนำไปทดสอบความคงตัวโดยมีการเปรียบเทียบการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มต่างกันได้แก่ น้ำมันกานพลู (สูตร F1), น้ำมันสเปียร์มินต์ (สูตร F2), น้ำมันเปปเปอร์มินต์ (สูตร F3), น้ำมันออปทามินต์ (สูตร F4), น้ำมันยูคาลิปตัส (สูตร F5) และ น้ำมันทีทรี (สูตร S6) ซึ่งพบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลูเกิดการแยกของส่วนอิมัลชันที่มีสีขาวเข้มและขาวอ่อนอย่างชัดเจน (เกิด creaming) ในขณะที่การใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มที่เหลือคือ น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีได้อิมัลชันที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอดแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของความคงตัวที่ดีกว่าของน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ ซึ่งผลที่ได้จะสอดคล้องกับผลการทดสอบโดยใช้น้ำมันหอมระเหยเดี่ยวที่ได้แสดงไว้ในหัวข้อ 1.2.1 ที่แสดงให้เห็นถึงความคงตัวที่ไม่ดีของน้ำมันกานพลูเมื่อใช้ระบบอิมัลชันดังกล่าว นอกจากนี้แล้วเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองจะพบแนวโน้มความคงตัวที่ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยอย่างเดียวมากกว่า โดยทุกตำรับจะมีลักษณะทางกายภาพที่ดีขึ้นถึงแม้ว่าสูตรตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลูจะมีแนวโน้มการแยกชั้นก็ตาม

ภาพที่ 61 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

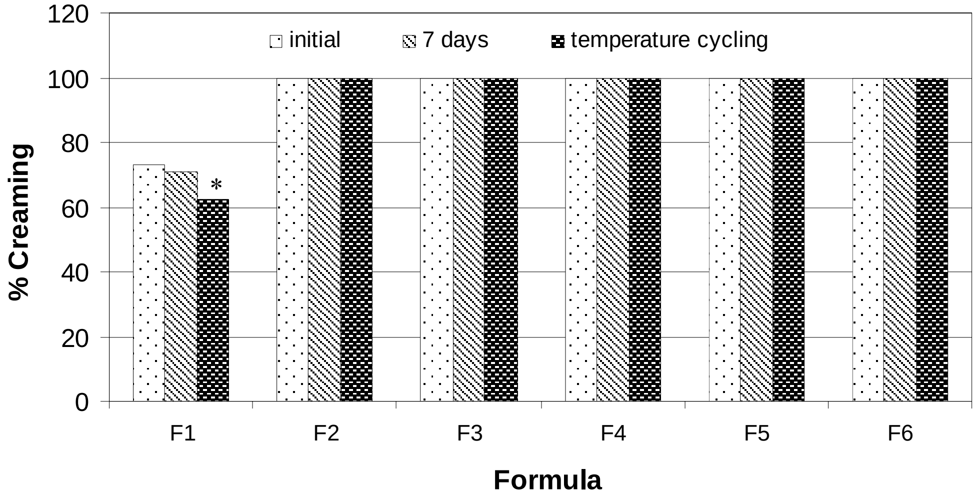
เพื่อเป็นการศึกษาความคงตัวเปรียบเทียบเพิ่มเติม จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างอิมัลชันไว้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและการเก็บในสภาวะเร่งโดยการสลับอุณหภูมิที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 62-63 ผลการศึกษาพบว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยมีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันกล่าวคือ เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลูได้ตำรับอิมัลชันที่มีความคงตัวไม่ดี สังเกตได้จากการแยกของชั้นครีม โดยมีแนวโน้มค่าเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงหลังการศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และเกิดการแยกชั้นระหว่างวัฏภาคน้ำและน้ำมัน (cracking) เมื่อเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ในขณะที่ตำรับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีไม่เกิดการแยกของครีมโดยมีเปอร์เซ็นต์ครีมเท่ากับ 100 ทั้งหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์ และหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะเร่งคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 6 รอบ ดังแสดงในภาพที่ 64 ซึ่งเป็นการยืนยันผลความคงตัวที่ดีกว่าของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมด้วย ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจะทำการนำน้ำมันถั่วเหลืองมาใช้ในการเตรียมอิมัลชันร่วมกับน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป



ภาพที่ 62 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์



ภาพที่ 63 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง

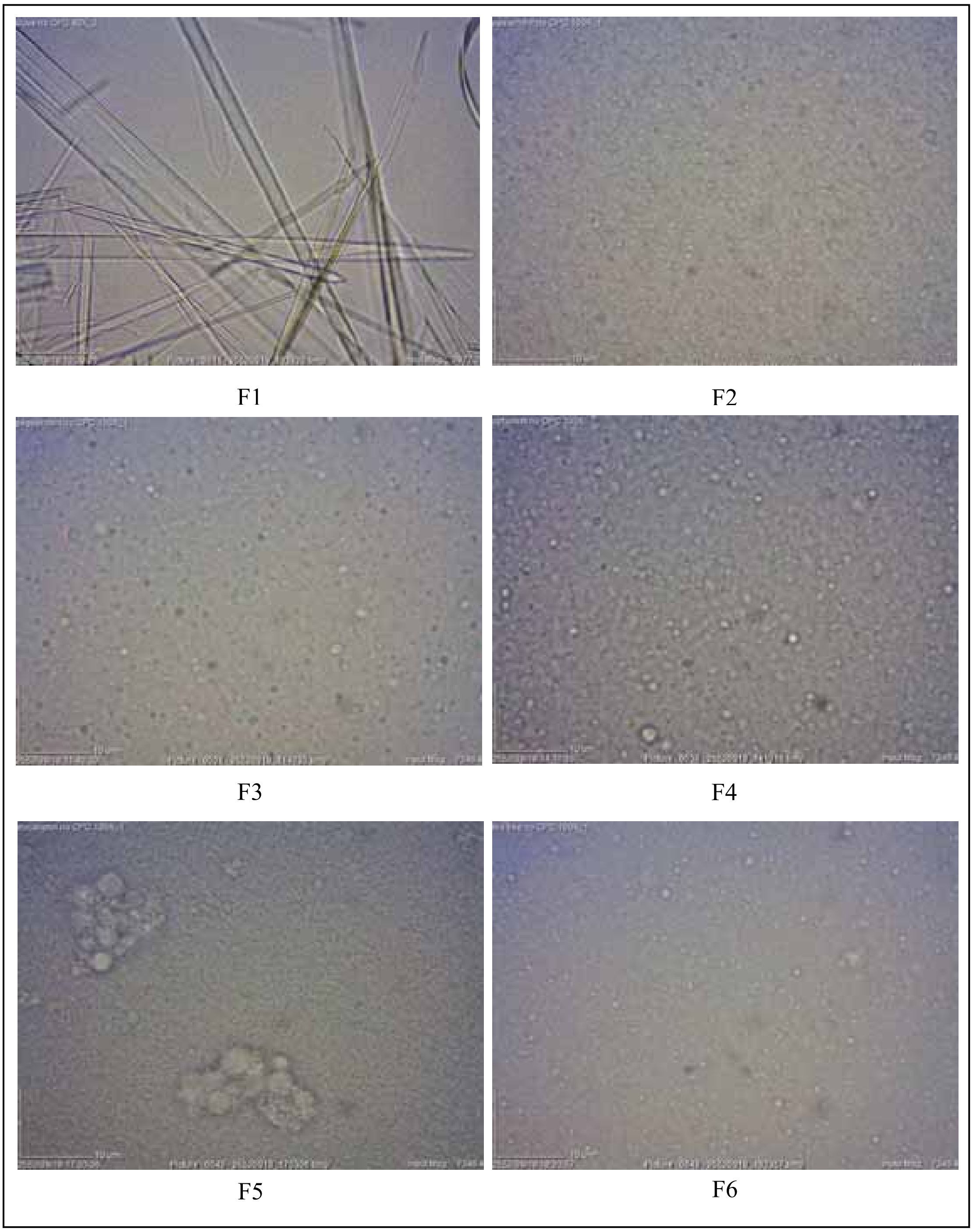


ภาพที่ 64 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

หมายเหตุ * เกิดการแยกชั้นแบบ cracking

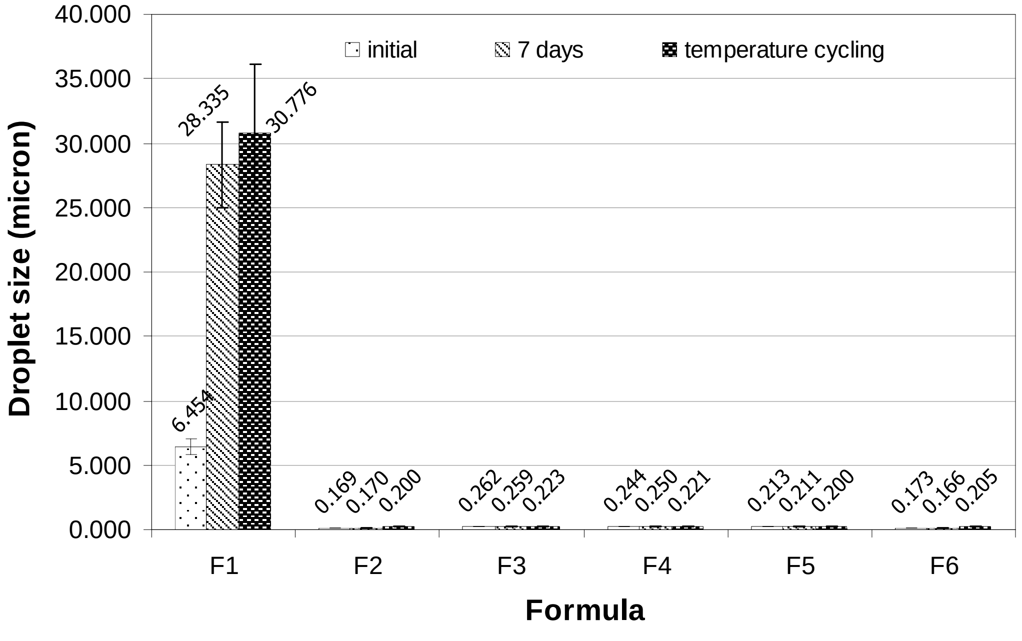
1.2.3.2 ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อขนาดของหยดน้ำมันของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน

จากที่กล่าวมาข้างต้นว่าขนาดของหยดน้ำมันมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน (Kim and Kim 2003 : 2295 – 2301) และมีผลโดยตรงต่อการฆ่าเชื้อร่วมด้วย (Pal et al. 2007 : 1712–1720) เนื่องจากการเตรียมอิมัลชันโดยใช้น้ำมันหอมระเหย ในหัวข้อ 1.2.1 ให้ขนาดอนุภาคใหญ่ในช่วงไมโครเมตร ในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการศึกษาผลของการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยต่อขนาดของหยดน้ำมันดังแสดงในภาพที่ 65-66



ภาพที่ 65 ภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย = 100x)

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลูส่งผลให้อิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่อยู่ในช่วงไมครอนและเห็นผลึกของสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูได้อย่างชัดเจน โดยมีขนาดเฉลี่ยที่วัดโดยเครื่องวัดขนาดอนุภาคเท่ากับ 6.454 ไมโครเมตร ในขณะที่เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี สามารถเตรียมอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมากในระดับนาโนเมตร (ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์เห็นอนุภาคของหยดน้ำมันไม่ชัดเจน เนื่องจากมีขนาดอนุภาคที่เล็กเกินขีดจำกัดของกล้องที่ใช้ประกอบกับมีการเคลื่อนไหวอนุภาคอย่างรวดเร็วจากการเคลื่อนไหวแบบบราวเนียนทำให้ยากต่อการถ่ายภาพ) เมื่อนำไปวัดขนาดโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาคจะมีขนาดอยู่ในช่วง 169-262 นาโนเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในการเตรียมอิมัลชันนั้นมีความเหมาะสมที่สุดในการเตรียมนาโนอิมัลชันสำหรับระบบที่ประกอบด้วยสูตรตำรับดังกล่าว

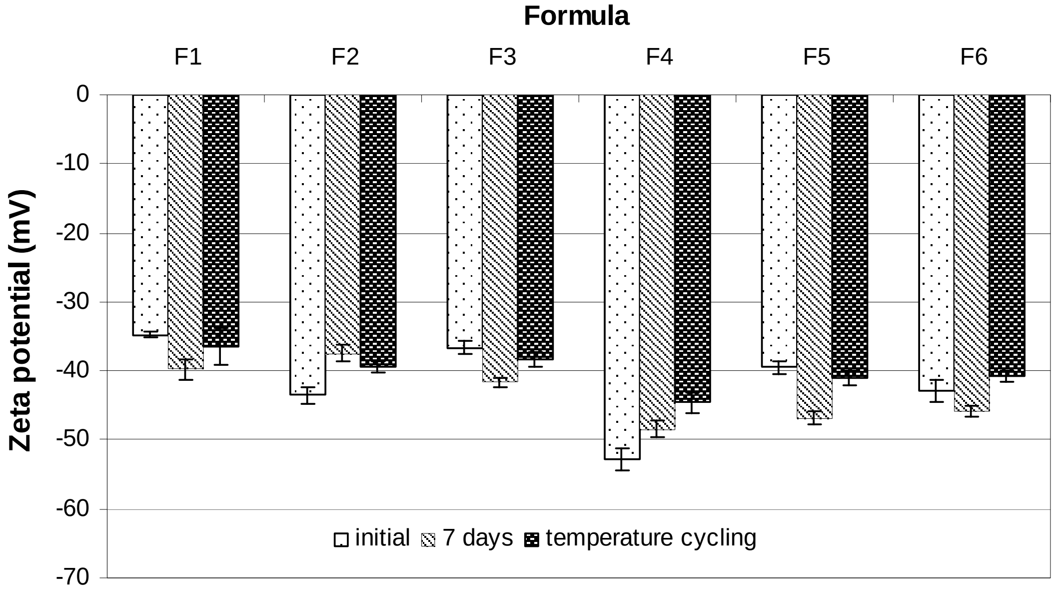


ภาพที่ 66 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) หลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

ในส่วนผลการทดสอบความคงตัวภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่งต่อขนาดของหยดน้ำมันได้แสดงไว้ในภาพที่ 66 จากการศึกษาพบว่าขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันของอิมัลชันมีแนวโน้มไม่แตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเก็บ ยกเว้นสูตรที่ใช้น้ำมันกานพลูมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนจาก 6.454 ไมโครเมตร เป็น 28.335 ไมโครเมตรหลังเก็บที่อุณหภูมิห้อง และมีขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 30.776 ไมโครเมตรหลังเก็บในสภาวะเร่ง ซึ่งสอดคล้องกับผลลักษณะทางกายภาพในภาพที่ 64 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ครีมลดลงอย่างชัดเจนหลังการเก็บซึ่งน่าจะเกิดจากการตกผลึกมากขึ้นรวมไปถึงขนาดของหยดน้ำมันที่ใหญ่ขึ้นของน้ำมันกานพลู ส่งผลให้เกิดการแยกของชั้นครีมเพิ่มมากขึ้นจนเกิดการแยกชั้นวัฏภาคน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน

1.2.3.3 ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน

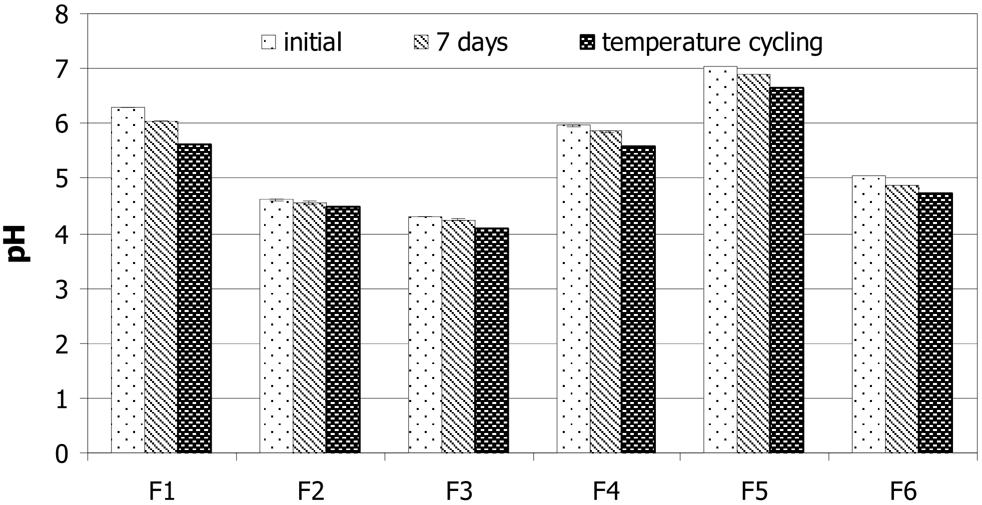
ผลการทดสอบค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรี แสดงไว้ในภาพที่ 67



ภาพที่ 67 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

จากการศึกษาพบว่า การใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยทุกกลุ่มให้ค่าซีต้าโพเทนเชียลเป็นลบทั้งหมด โดยค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกันและไม่ค่อยแตกต่างกับการใช้น้ำมันถั่วเหลืองอย่างเดียว ในขณะการใช้น้ำมันหอมระเหยเดี่ยวมีความแตกต่างของค่าซีต้าโพเทนเชียลค่อนข้างมาก (ดังแสดงในภาพที่ 51) แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองนั้นน่าจะทำให้ผลของประจุที่ผิวเป็นผลที่เกิดจากน้ำมันถั่วเหลืองเป็นหลัก นอกจากนี้แล้วในกรณีนี้ค่าซีต้าโพเทนเชียลจะไม่ใช้ตัวชี้วัดความคงตัวของหยดน้ำมันได้โดยตรงสังเกตจากค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลูมีค่าที่สูงและไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงทั้งๆที่ความคงตัวของระบบเสียแล้วก็ตาม ผลซีต้าโพเทนเชียลที่วัดได้นี้อาจเป็นการวัดที่หยดของน้ำมันถั่วเหลืองที่ยังกระจายอยู่ในรูปอิมัลชันในขณะที่น้ำมันกานพลูได้แยกตัวออกมาเป็นน้ำมันและผลึกขนาดใหญ่แล้ว

1.2.3.4 ผลของน้ำมันถั่วเหลืองต่อค่าค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันของระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน



ภาพที่ 68 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส และ F6 : น้ำมันทีทรี) ภายหลังการเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์และหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง

ผลการทดสอบของอิมัลชันที่เตรียมได้โดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีแสดงไว้ในภาพที่ 68 จากการศึกษาพบว่า การใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกลุ่มน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมัน ออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 6.30, 4.61, 4.29, 4.75, 5.97, 7.04 และ 5.05 ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาต่อโดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องและสภาวะเร่ง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมัน ถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยทุกกลุ่มมีค่าคงที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

2. การศึกษาความสามารถของอิมัลชันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทางทันตกรรม (*S. mutans*)

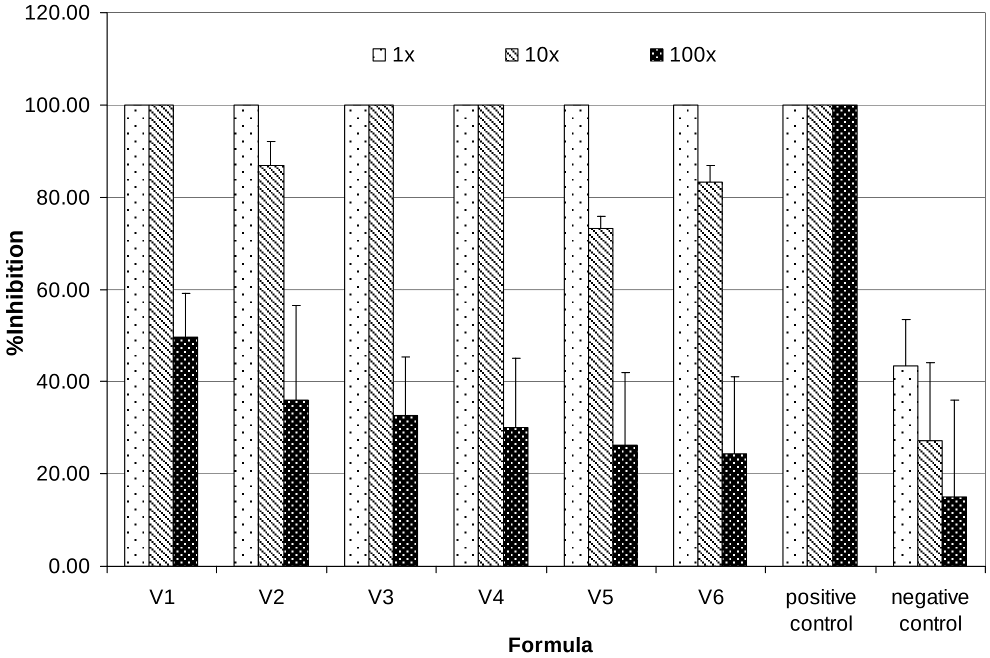
จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจนได้สูตรตำรับที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชัน การศึกษาต่อไปเป็นการนำอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยมาศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางทันตกรรม ได้แก่ *S. mutans* 104B ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคฟันผุที่พบมากที่สุดเป็นอันดับต้นๆ (รวี เถียรไพศาล 2550 : 97-104) โดยใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution) ในการทดสอบ การทดสอบจะใช้อิมัลชันที่เตรียมได้ 3 ความเข้มข้น คือ ไม่เจือจาง เจือจาง 10 เท่า และเจือจาง 100 เท่า แยกทำการศึกษาเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกศึกษาการยับยั้งเชื้อโดยใช้สูตรตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยอย่างเดียว และในส่วนที่สองศึกษาผลการยับยั้งเชื้อของสูตรตำรับที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง ดังอธิบายอย่างละเอียดในลำดับต่อไป

2.1 ผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ในนาโนอิมัลชันต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันเปปเปอร์มินต์ น้ำมันออปทามินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* พบว่า อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยทุกกลุ่ม มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ 100% เมื่อนำมาทดสอบโดยตรงกับเชื้อ (สัดส่วนระหว่างอิมัลชันต่อเชื้อ *S. mutans* ความเข้มข้น 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบเท่ากับ อิมัลชัน 1 ส่วนต่อเชื้อ 9 ส่วน) เมื่อทำการเจือจางอิมัลชัน 10 เท่า ก่อนนำไปทดสอบพบว่าอิมัลชันที่ประกอบด้วย น้ำมันกานพลู น้ำมันเปปเปอร์มินต์ และน้ำมันออปทามินต์มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เป็น 100% ในขณะที่อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันสเปียร์มินต์ น้ำมันยูคาลิปตัส และน้ำมันทีทรีมี

ความสามารถในการยับยังเชื้อลดลงเป็น 87, 73 และ 83% ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการทดสอบต่อไปโดยนำอิมัลชันมาเจือจางเพิ่มเป็น 100 เท่า พบว่าทุกสูตรมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่น้อยกว่าอิมัลชันเจือจาง 10 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 69 (ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride) เป็นชุดควบคุมบวก (positive control) ซึ่งพบว่า เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ 100% ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ และใช้อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองเป็นชุดควบคุมลบ (negative control) ซึ่งพบว่า อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ 43% และมีแนวโน้มการยับยั้งเชื้อน้อยลงเมื่อเจือจางมากขึ้น

จากผลการยับยั้งเชื้อดังกล่าว น้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ และน้ำมันเปปเปอร์มินต์มีแนวโน้มในการยับยั้งเชื้อมากที่สุดแต่อย่างไรก็ตามน้ำมันกานพลูมีความคงตัวทางกายภาพไม่ดีมากนัก ประกอบกับค่อนข้างมีความระคายเคืองมากกว่าเมื่อเทียบกับน้ำมันสเปียร์มินต์และน้ำมันเปปเปอร์มินต์ ดังนั้นน้ำมัน 2 ชนิดหลังจึงมีแนวโน้มที่ดีในการนำไปใช้ต่อไป

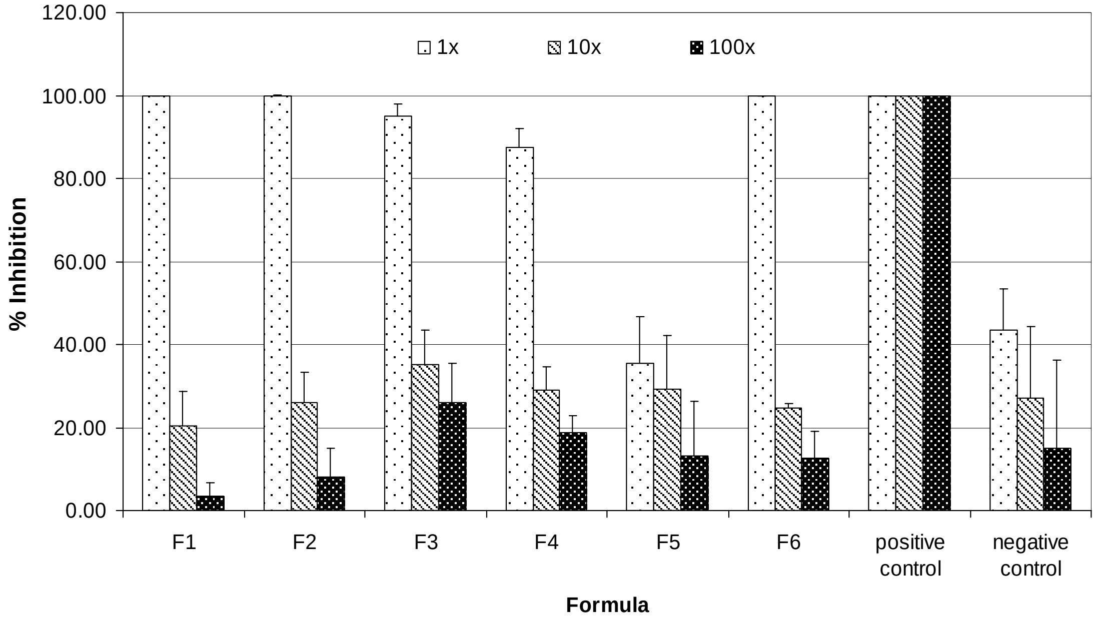


ภาพที่ 69 แสดงผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (V1 : น้ำมันกานพลู, V2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, V3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, V4 : น้ำมันออปทามินต์, V5 : น้ำมันยูคาลิปตัส, V6 : น้ำมันทีทรี, positive control : 0.2%CPC และ negative control : อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลือง) ในนาโนอิมัลชันที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

2.2 ผลของนาโนอิมัลชันจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

จากการศึกษาข้างต้นพบว่าในสูตรที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยเดี่ยว อิมัลชันที่เตรียมได้ไม่มีความคงตัว ดังแสดงในหัวข้อ 1.2.1 ดังนั้นจึงได้เตรียมอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยโดยมีการใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมด้วย พบว่าได้อิมัลชันที่มีความคงตัวที่ดีขึ้น ดังแสดงในหัวข้อ 1.2.3 แต่อย่างไรก็ตามอาจส่งผลให้การยับยั้งเชื้อลดลงด้วย ดังนั้นเพื่อเป็นการศึกษาเพิ่มเติม จึงได้นำอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในสัดส่วน 50:50 ที่แสดงความคงตัวทางกายภาพที่ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเดี่ยว มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ผลการทดสอบพบว่าอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองมีแนวโน้มการยับยั้งเชื้อน้อยลงเมื่อเทียบกับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยอย่างเดียว โดยน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ และน้ำมันทีทรีมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เป็น 100% เมื่อนำมาทดสอบโดยตรงกับเชื้อ *S. mutans* และเมื่อทำการเจือจางอิมัลชัน 10 เท่าพบว่า ความสามารถในการยับยั้งเชื้อลดลงในทุกสูตร โดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วง 20-35% และเมื่อนำไปเจือจางที่ 100 เท่าพบว่า ความสามารถในการยับยั้งเชื้อลดลง โดยเฉพาะในสูตรที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู น้ำมันสเปียร์มินต์ และน้ำมันยูคาลิปตัส ในขณะที่อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันเปปเปอร์มินต์มีความสามารถในการฆ่าเชื้ออยู่ที่ 26% เมื่อทำการเจือจางที่ 100 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 70

ผลการทดสอบดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบของวัฏภาคน้ำมัน มีผลทำให้การยับยั้งเชื้อที่เกิดจากน้ำมันหอมระเหยลดลง ซึ่งน่าจะเกิดเนื่องมาจากปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ลดลง ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการนำน้ำมันถั่วเหลืองมาใช้เพื่อเพิ่มความคงตัวทางกายภาพ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* กับชุดควบคุมลบ (negative control) ซึ่งเป็นอิมัลชันสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลืองเดี่ยว พบว่า อิมัลชันที่ไม่ได้เจือจางมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เป็น 43% แสดงให้เห็นว่าระบบนาโนอิมัลชันเองมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ด้วย โดยหยดน้ำมันขนาดเล็กอาจไปหลอมรวมและรบกวนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อก่อโรคต่างๆ (Karthikeyan, Amaechi and Lee 2009) ในส่วนการนำน้ำมันหอมระเหยมาเตรียมร่วมทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมีมากขึ้น ซึ่งแสดงเห็นแนวโน้มที่ดีของการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในรูปนาโนอิมัลชันเพื่อการยับยั้งเชื้อต่อไป



ภาพที่ 70 แสดงผลของนาโนอิมัลชันจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (F1 : น้ำมันกานพลู, F2 : น้ำมันสเปียร์มินต์, F3 : น้ำมันเปปเปอร์มินต์, F4 : น้ำมันออปทามินต์, F5 : น้ำมันยูคาลิปตัส, F6 :น้ำมันทีทรี, positive control : 0.2%CPC และ negative control : อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลือง) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

บทที่ 5

สรุปผลของการศึกษาวิจัย

1. ชนิดของสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน โดย PGO เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการนำมาเตรียมอิมัลชันที่สุดเมื่อเทียบกับ POS, SLS และ PLX เนื่องจากสามารถเตรียมอิมัลชันที่มีความคงตัว ไม่เกิดการแยกชั้นครีม มีขนาดอนุภาคหยดน้ำมันเล็กในระดับนาโนเมตร และมีค่าความหนืดที่เหมาะสม

2. ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อคุณสมบัติของอิมัลชัน โดยเมื่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม PGO เพิ่มขึ้นจาก 1 ถึง 10 % โดยน้ำหนักขนาดอนุภาคหยดน้ำมันมีแนวโน้มลดลงจาก 2.163 ไมโครเมตร เป็น 114 นาโนเมตร

3. การเตรียมอิมัลชันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบเพียงชนิดเดียวในวัฏภาคน้ำมัน มีผลทำให้อิมัลชันส่วนใหญ่สูญเสียความคงตัว และขนาดอนุภาคหยดน้ำมันของอิมัลชันมีขนาดใหญ่

4. การเตรียมอิมัลชันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง ทำให้อิมัลชันมีความคงตัวที่ดี และมีขนาดอนุภาคหยดน้ำมันเล็กลงในระดับนาโนเมตร

5. อิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองสามารถเตรียมได้อนุภาคระดับนาโนเมตร โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 169 ถึง 262 นาโนเมตร เมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำมันหอมระเหยต่อน้ำมันถั่วเหลืองเป็น 50:50 และขนาดอนุภาคจะเล็กเมื่อปริมาณของน้ำมันถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น

6. อิมัลชันที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางทันตกรรม *S. mutans* 104B ได้ 100% ทุกสูตรตำรับ

7. การเพิ่มสัดส่วนของน้ำมันถั่วเหลืองในวัฏภาคน้ำมันมีผลทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ลดลง

เอกสารอ้างอิง

"อิมัลชัน" เอกสารประกอบวิชา 550 235 วิทยาการเครื่องสำอาง ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2551. (อัดสำเนา)

พวงเพ็ชร เดชะประทุมวัน. สารต้านฟันผุและสารลดคราบจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. อิมัลชันทางเครื่องสำอาง. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544.

รวี เถียรไพศาล. แบคทีเรียในช่องปาก. สงขลา : โรงพิมพ์นำผล, 2550.

วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. นาโนเทคโนโลยี: การนำส่งยาและเครื่องสำอางทางผิวหนัง. กรุงเทพฯ : บริษัท ประชาชน จำกัด, 2552.

Corrigan, O.I., and A.M. Healy. "Surfactants in pharmaceutical products and system." in Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. New York : Marcel Dekker, 2002.

Holmberg, Krister et al. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. 2nd ed. Chichester : John Wiley, 2003.

Niazi, Sarfaraz K. Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations. 6 vols. Boca Raton, Fla. : CRC Press, 2004. Vol. 3, Liquid products, by Sarfaraz K. Niazi.

Rowe, Raymond C., Paul J. Sheskey, and Siân C. Owen. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5th ed. London : Pharmaceutical Press, 2006.

Sjoblom, Johann. "Emulsions and emulsion stability." 2nd ed. Boca Raton : CRC/Taylor & Francis, 2006.

Aframian, D.J., T. Davidowitz, and R.Benoliel. "The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors." Oral Dis 4, 12 (July 2006) : 420-423.

Allaker, Robert P., and C.W. Ian Douglas. "Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases." International Journal of Antimicrobial Agents 1, 33 (January 2009) : 8–13.

Bakkali, F. et al. "Biological effects of essential oils-A review." Food and Chemical Toxicology 2, 46 (2008) : 446-475.

Baret, Jean-Christophe et al. "Kinetic Aspects of Emulsion Stabilization by Surfactants: A Microfluidic Analysis." Langmuir 11, 25 (March 2009) : 6088–6093.

Barsamian-Wunsch, P. et al. "Microbiological screening for cariogenic bacteria in children 9 to 36 months of age." Pediatr Dent 3, 26 (June 2004) : 231-239.

Batish, Daizy R. et al. "Eucalyptus essential oil as a natural pesticide." Forest Ecology and Management 12, 256 (2008) : 2166-2174.

Belli, Wesley A., and Robert E. Marquis. "Adaptation of *Streptococcus mutans* and *Enterococcus hirae* to acid stress in continuous culture." Appl Environ Microbiol 4, 57 (April 1991) : 1134-1138.

Boyd, David A. et al. "Defects in D-alanyl-lipoteichoic acid synthesis in *Streptococcus mutans* result in acid sensitivity." J Bacteriol 21, 182 (November 2000) : 6055-6065.

Burt, Sara. "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review." International Journal of Food Microbiology 3, 94 (2004) : 223-253.

Chaieb, Kamel et al. "The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae)." Phytotherapy Research 6, 21 (March 2007) : 501-6.

Chepurnov, A.A. et al. "Inactivation of Ebola virus with a surfactant nanoemulsion." Acta Tropica 3, 87 (August 2003) : 315-320.

Chhour, Kim-Ly et al. "Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries." J. Clin Microbial 2, 43 (February 2005) : 843-849.

Dashper, Stuart G., and Eric C. Reynolds. "Lactic acid excretion by *Streptococcus mutans*." Microbiol, no. 142 (1996) : 33-39.

de Soet, J.J., B. Nyvad, and M. Kilian. "Strain-related acid production by oral streptococci." Caries Res 6, 34 (2000) : 486-490.

Faoagali, J., N. George, and J. F. Leditschke. "Does tea tree oil have a place in the topical treatment of burns?." Burns 4, 23 (June 1997) : 349-351.

Fernandez, Patrick et al. "Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 1-3, 251 (December 2004) : 53-58.

Graf, H. "The glycolytic activity of plaque and its relation to hard tissue pathology; recent findings from intraoral pH telemetry research." Int Den J 3, 20 (September 1970) : 426-435.

Grigoleit, H.-G., and P. Grigoleit. "Pharmacology and preclinical pharmacokinetics of peppermint oil." Phytomedicine 8, 12 (2005) : 612-616.

Gullapalli, R.P., and B.B. Sheth. "Influence of an optimized non-ionic emulsifier blend on properties of oil-in-water emulsions." Eur J Pharm Biopharm 3, 48 (1999) : 233-238.

Hamada, S., and H.D. Slade. "Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*." Microbiol Rev 2, 44 (June 1980) : 331-384.

Hamilton, I.R., and N.D. Buckey. "Adaptation of *Streptococcus mutans* to acid tolerance." Oral Microbiol Immunol 2, 6 (December 2007) : 65-71.

Hammer, K.A. et al. "A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil." Food and Chemical Toxicology 5, 44 (May 2006) : 616-625.

Hammond, Bruce G. et al. "Safety assessment of SDA soybean oil: Results of a 28-day gavage study and a 90-day/one generation reproduction feeding study in rats." Regulatory Toxicology and Pharmacology 3, 52 (December 2008) : 311-323.

Hamouda, Tarek et al. "A novel surfactant nanoemulsion with a unique non-irritant topical antimicrobial activity against bacteria, enveloped viruses and fungi." Microbiology Research, no. 156, 1 (2001) : 1-7.

Hazlett, Karsten R. O., Joseph E. Mazurkiewicz, and Jeffrey A. Banas. "Inactivation of the *gbpA* gene of *Streptococcus mutans* alter structural and functional aspects of plaque biofilm which are compensated by recombination of the *gtfB* and *gtfC* genes." Infect Immun, no. 67 (1999) : 3909-3914.

Hazlett, Karsten R. O., Suzanne M. Michalek, and Jeffrey A. Banas. "Inactivation of the *gbpA* gene of *Streptococcus mutans* increases virulence and promotes in vivo accumulation of recombinations between the glucosyltransferase B and C genes." Infect Immun, no. 66 (1998) : 2180-2185.

Hibbard, John S. "Analyses comparing the antimicrobial activity and safety of current antiseptic agents: a review." Journal of Infusion Nursing 3, 28 (June 2005) : 194-207.

Hillman, J. D. et al. "Construction and characterization of an effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries." Infect Immun 2, 68 (February 2000) : 543-549.

Hillman, J.D., A Chen, and JL Snoep. "Genetic and physiological analysis of the lethal effect of L-(+)-lactate dehydrogenase deficiency in *Streptococcus mutans* complementation by alcohol dehydrogenase from *Zymomonas mobilis*." Infect Immun 10, 64 (1996) : 4319-4323.

Hillman, Jeffrey D. "Genetically modified *Streptococcus mutans* for the prevention of dental caries." Antonie van Leeuwenhoek 1-4, 82 (August 2002) : 361-366.

Hsu, Jyh-Ping, and Anca Nacu. "Behavior of soybean oil-in-water emulsion stabilized by nonionic surfactant." Journal of Colloid and Interface Science, no. 259 (December 2003) : 374–381.

Hu, Deyu et al. "A randomized, double-blind clinical study to assess the antimicrobial effects of a cetylpyridinium chloride mouth rinse on dental plaque bacteria." Clinical Therapeutics 11, 31 (November 2009) : 2540-2548.

Jafari, Seid Mahdi et al. "Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification." Food Hydrocolloids 7, 22 (2008) : 1191-1202.

Jeong, M.W., S.G. Oh, and Y.C. Kim. "Effects of amine and amine oxide compounds on the zeta-potential of emulsion droplets stabilized by phosphatidylcholine." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 1, 181 (June 2001) : 247-253.

Johnson, C.P., S.M. Gross, and J.D. Hillman. "Cariogenic potential in vitro in man and in vivo in the rat of lactate dehydrogenase mutans of *Streptococcus mutans*." Arch Oral Biol 11-12, 25 (1980) : 707-713.

Karthikeyan, R., B.T. Amaechi, and V.A. Lee. "Antimicrobial effects of nanoemulsion against *Streptococcus mutans*." Paper Presented at IADR/AADR/CADR 87th General Session and Exhibition, Miami, Florida 2 April 2009.

Kentish, S. et al. "The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation." Innovative Food Science and Emerging Technologies 2, 9 (April 2008) : 170-175.

Kim, Chang Kee, and Byung Kyu Kim. “IPDI-based polyurethane ionomer dispersions: Effects of ionic, nonionic hydrophilic segments, and extender on particle size and physical properties of emulsion cast film.” Journal of Applied Polymer Science 12, 43 (2003) : 2295 – 2301.

Kritchevsky, David, Maxine M. Weber, and David M. Klurfeld. “Influence of different fats (Soybean oil, palm olein or hydrogenated soybean oil) on chemically-induced mammary tumors in rats.” Nutrition Research 1, 12 (1992) : S175-S179.

Lee, S.F. et al. “Construction and characterization of isogenic mutans of *Streptococcus mutans* deficient in major surface protein antigen P1(I/II).” Infect Immun 11, 57 (November 1989) : 3306-3313.

Li, H., J. L. Madden, and B. M. Potts. “Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian *Eucalyptus* species-1. Subgenus Monocalyptus.” Biochemical Systematics and Ecology 3, 23 (1995) : 299-318.

Liedtke, S. et al. “Influence of high pressure homogenization equipment on nanodispersions characteristics.” International Journal of Pharmaceutics 2, 196 (2000) : 183–185.

Loesche, Walter J. “Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay.” Microbiol Rev 4, 50 (December 1986) : 353-380.

Ma, J.K. et al. “Conservation of the gene encoding streptococci antigen I/II in oral streptocci.” Infect Immun 8, 59 (August 1991) : 2686-2694.

Marklund, Britt-lnger et al. “Horizontal gene transfer of the Escherichia coli pap and prs pili operons as a mechanism for the development of tissue-specific adhesive properties.” Molecular Microbiology 16, 6 (October 2006) : 2225 – 2242.

Marsh, P.D., and M.V. Martin. “The resident oral microflora.” in Oral microbiology. 4th Wright 2001 : 17-33.

Matsumiya, Y. et al. “Molecular epidemiological study of vertical of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction.” J. Infect Chemother 1, 8 (March 2002) : 43-49.

Matsumoto, M. et al. “The role of glucan-binding proteins in the cariogenecity of *Streptococcus mutans*.” Oral Microbiol Immunol, no. 47 (2003) : 213-215.

McClements, David J., and Stephanie R. Dungan. "Factors that affect the rate of oil exchange between oil-in-water emulsion droplets stabilized by a nonionic surfactant: droplet size, surfactant concentration, and ionic strength." *J. Phys. Chem.* 28, 97 (July 1993) : 7304–7308.

McNeill, K., and I.R. Hamilton. "Acid tolerance response of biofilm cells of *Streptococcus mutans*." FEMS Microbiol Lett 221 (2003) : 25-30.

Monchois, V., R.M. Willemot, and P.Monsan. "Glucansucrases: mechanism of action and structure-function relationships." FEMS Microbiol Rev 2, 23 (April 1999) : 131-151.

Munro, Cindy L., Suzanne M. Michalek, and Francis L. Macrina. "Sucrose-derived exopolymers have site-dependent roles in *Streptococcus mutans*-promoted dental decay." FEMS Microbial Lett 3, 128 (May 1995) : 327-332.

Munson, M.A. et al. "Molecular analysis of the microflora associated with dental caries." J. Clin Microbial 7, 42 (July 2004) : 3023-3029.

Myc, Andrzej. et al. "The fungicidal activity of novel nanoemulsion (X8W60PC) against clinically important yeast and filamentous fungi." Mycopathologia 4, 155 (2002) : 195-201.

Naito, Y. et al. "Thirteen-week dietary intake of rapeseed oil or soybean oil as the only dietary fat in Wistar Kyoto rats—change in blood pressure." Food and Chemical Toxicology 9, 38 (September 2000) : 811-816.

Nakatsu, Tetsuo et al. "Biological activity of essential oils and their constituents." Studies in Natural Products Chemistry 2, 21 (2000) : 571-631.

Ohta, Hirotaka. et al. "Characterization of a cell-surface protein antigen of hydrophilic *Streptococcus mutans* strain GS-5." J Gen Microbiol, no. 135 (1989) : 981-988.

Pal, Sukdeb, Yu Kyung Tak, and Joon Myong Song. "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*." Appl Environ Microbiol 6, 73 (March 2007) : 1712–1720.

Petersen, F.C. et al. "Functional variation of the antigen I/II surface protein in *Streptococcus mutans*." Infect Immun 1, 70 (January 2002) : 249-256.

Price, Shirley. “Using essential oils in professional practice,” Complementary Therapies in Nursing and Midwifery 5, 4 (1998) : 144-147.

Quan, C., G. Khoe, and D. Bagster. “Adsorption of sodium lauryl sulfate onto arsenic-bearing ferrihydrite.” Water Research 2, 35 (February 2001) : 478-484.

Quivey, Robert G. Jr. “Genetics of acid adaptation in oral streptococci.” Crit Rev Oral Biol Med 4, 12 (2001) : 301-304.

Russell, Roy R.B. “Glucan-binding proteins of *Streptococcus mutans* serotypec.” J Gen Microbiol, no. 112 (1979) : 197-201.

Ruth, Saskia M. van, Emad S. Shaker, and Patrick A. Morrissey. “Influence of methanolic extracts of soybean seeds and soybean oil on lipid oxidation in linseed oil.” Food Chemistry 2, 75 (November 2001) : 177-184.

Sadurní, Núria et al. “Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications.” Eur J Pharm Sci 5, 26 (December 2005) : 438-445.

Saeed, Sabahat, Asma Naim, and Perween Tariq. “In vitro antibacterial activity of peppermint.” Pakistan Journal of Botany 3, 38 (2006) : 869-872.

Shah, P., D. Bhalodia, and P Shelat. “Nanoemulsion: A pharmaceutical review.” Review Article 1, 1 (2010) : 24-32.

Shah, Deepan S. H., and Roy R. B. Russell. “A novel glucan-binding protein from *Streptococcus mutans*.” in Streptococcal genetics 6th Asheville NC 2002.

Shakeel, Faiyaz et al. “Nanoemulsions as Vehicles for Transdermal Delivery of Aceclofenac.” AAPS PharmSciTech 4, 8 (December 2007) : Article 104.

Smith, Daniel J. et al. “Purification and antigenicity of a novel glucan-binding protein of *Streptococcus mutans*.” Infect Immun 6, 62 (June 1994) : 2545-2552.

Tcholakova, Slavka, Nikolai D. Denkov, and Thomas Danner. “Role of Surfactant Type and Concentration for the Mean Drop Size during Emulsification in Turbulent Flow.” Langmuir 18, 20 (2004) : 7444–7458.

Teanpaisan, R., and G. Dahlen. “Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species.” Oral Microbial Immunol 2, 21 (February 2006) : 79-83.

Whittaker, Catherine J., Christiane M. Klier, and Paul E. Kolenbrander. “Mechanisms of adhesion by oral bacteria.” Ann Rev Microbiol, no. 50 (1996) : 513-552.

Wright, D. Craig. “Antimicrobial oil-in-water emulsions.” United States Patent, no. 5475667 (1996).

Cargill, Incorporated. Emulsifiers [Online]. Accessed 15 May 2010. Available from http://www.cargilltexturizing.com/products/functional/emulsifier/

Columbia University College of Dental Medicine. Illustrations: How a Tooth Decays [Online]. Accessed 22 March 2010. Available from http://www.simplestepsdental.com/SS/

Encyclopædia Britannica. bacteria [Online]. Accessed 20 May. 2010. Available from http://www.britannica.com/EBchecked/topic/48203/bacteria

Maple Tech International LLC. Tooth Decay [Online]. Accessed 1 September 2009. Available from http://www.dentistdig.com/g/tooth-decay.html

ภาคผนวก

ตารางที่ 13 แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดสารลดแรงตึงผิว	% creaming		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
S1	POS	30	26	30
S2	PGO	100	100	100
S3	SLS	90	34	34
S4	PLX	100	100	96

ตารางที่ 14 แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวกลุ่ม PGO ปริมาณต่างกัน

สูตร	ปริมาณ PGO (%โดยน้ำหนัก)	% creaming		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
C1	1.0	100	100	100
C2	2.5	100	100	100
C3	5.0	100	100	100
C4	7.5	100	100	100
C5	10.0	100	100	100

ตารางที่ 15 แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	% creaming		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
V1	Clove oil	10	26	26
V2	Spearmint oil	28	26	14
V3	Peppermint oil	38	33	22
V4	Optamint oil	76	68	34
V5	Eucalyptus oil	100	100	100
V6	Tea tree oil	24	22	14

หมายเหตุ : F1 เกิด cracking ตลอดระยะเวลาในการเก็บ

ตารางที่ 16 แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ ในสัดส่วนต่างๆ

สูตร	สัดส่วนระหว่าง น้ำมันถั่วเหลืองต่อ น้ำมันเปปเปอร์มินต์	% creaming		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
P1	75 : 25	100	100	100
P2	50 : 50	100	100	100
P3	40 : 60	100	100	15.38
P4	30 : 70	25	22	20
P5	20 : 80	26	23	24
P6	10 : 90	30	28	22

ตารางที่ 17 แสดงผลความคงตัวของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของ น้ำมันหอมระเหย	% creaming		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
F1	Clove oil	73.33	70.67	62.5
F2	Spearmint oil	100	100	100
F3	Peppermint oil	100	100	100
F4	Optamint oil	100	100	100
F5	Eucalyptus oil	100	100	100
F6	Tea tree oil	100	100	100

ตารางที่ 18 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดสารลดแรงตึงผิว	ขนาดหยดน้ำมัน (μm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
S1	POS	2.699 ± 0.299	2.583 ± 0.156	2.828 ± 0.464
S2	PGO	0.193 ± 0.050	0.151 ± 0.007	0.196 ± 0.031
S3	SLS	1.780 ± 0.869	1.237 ± 0.902	2.732 ± 0.183
S4	PLX	1.767 ± 0.260	1.009 ± 0.115	4.026 ± 1.323

ตารางที่ 19 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ

สูตร	ปริมาณ PGO (%โดยน้ำหนัก)	ขนาดหยดน้ำมัน (μm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
C1	1.0	2.163 ± 0.091	1.649 ± 0.030	1.800 ± 0.143
C2	2.5	0.795 ± 0.314	0.677 ± 0.059	0.665 ± 0.147
C3	5.0	0.233 ± 0.005	0.214 ± 0.005	0.230 ± 0.001
C4	7.5	0.132 ± 0.002	0.136 ± 0.033	0.184 ± 0.002
C5	10.0	0.114 ± 0.001	0.111 ± 0.003	0.434 ± 0.240

ตารางที่ 20 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ขนาดหยดน้ำมัน (μm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
V1	Clove oil	4.715 ± 0.147	15.621 ± 0.298	20.365 ± 3.669
V2	Spearmint oil	3.581 ± 0.224	2.240 ± 0.281	1.970 ± 0.345
V3	Peppermint oil	4.526 ± 0.874	4.656 ± 0.586	4.955 ± 0.271
V4	Optamint oil	8.849 ± 0.265	8.648 ± 0.273	5.739 ± 0.659
V5	Eucalyptus oil	41.273 ± 24.929	15.243 ± 2.933	20.134 ± 3.905
V6	Tea tree oil	3.089 ± 0.153	2.630 ± 0.068	4.391 ± 0.455

ตารางที่ 21 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันพืชร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ

สูตร	สัดส่วนระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองต่อน้ำมันเปปเปอร์มินต์	ขนาดหยดน้ำมัน (µm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
P1	75 : 25	0.193 ± 0.032	0.199 ± 0.026	0.138 ± 0.002
P2	50 : 50	0.262 ± 0.011	0.259 ± 0.025	0.223 ± 0.006
P3	40 : 60	0.678 ± 0.125	1.198 ± 0.254	0.912 ± 0.332
P4	30 : 70	1.236 ± 0.332	2.083 ± 0.118	4.110 ± 0.425
P5	20 : 80	2.918 ± 0.244	2.600 ± 0.208	16.998 ± 1.921
P6	10 : 90	3.056 ± 0.242	3.004 ± 0.059	13.908 ± 2.945

ตารางที่ 22 แสดงขนาดหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ขนาดหยดน้ำมัน (µm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
F1	Clove oil	6.454 ± 0.580	28.335 ± 3.329	30.776 ± 5.395
F2	Spearmint oil	0.169 ± 0.001	0.170 ± 0.002	0.200 ± 0.001
F3	Peppermint oil	0.262 ± 0.011	0.259 ± 0.025	0.223 ± 0.006
F4	Optamint oil	0.244 ± 0.008	0.250 ± 0.001	0.221 ± 0.001
F5	Eucalyptus oil	0.213 ± 0.002	0.211 ± 0.002	0.200 ± 0.002
F6	Tea tree oil	0.173 ± 0.002	0.166 ± 0.004	0.205 ± 0.002

ตารางที่ 23 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดสารลดแรงตึงผิว	ค่าซีต้าโพเทนเชียล (mV)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
S1	POS	-41.71 ± 1.41	-34.94 ± 0.77	-39.69 ± 0.59
S2	PGO	-26.18 ± 1.24	-23.15 ± 1.68	-27.56 ± 0.91
S3	SLS	-63.53 ± 0.88	-77.69 ± 1.57	-73.27 ± 1.02
S4	PLX	-18.48 ± 1.11	-24.19 ± 1.49	-23.27 ± 0.29

ตารางที่ 24 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ

สูตร	ปริมาณ PGO (%โดยน้ำหนัก)	ค่าซีต้าโพเทนเชียล (mV)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
C1	1.0	-26.95 ± 1.48	-25.13 ± 1.67	-19.89 ± 2.82
C2	2.5	-35.47 ± 0.66	-26.74 ± 1.04	-29.75 ± 0.48
C3	5.0	-26.18 ± 1.24	-24.72 ± 0.65	-25.34 ± 0.35
C4	7.5	-15.48 ± 1.41	-23.62 ± 1.21	-16.78 ± 1.08
C5	10.0	-19.66 ± 0.86	-24.97 ± 1.03	-20.36 ± 0.88

ตารางที่ 25 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ค่าซีต้าโพเทนเชียล (mV)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
V1	Clove oil	-35.77 ± 0.78	-40.76 ± 1.16	-35.57 ± 0.78
V2	Spearmint oil	-33.77 ± 1.09	-55.88 ± 3.51	-55.35 ± 2.00
V3	Peppermint oil	-20.46 ± 1.70	-10.91 ± 1.11	-14.13 ± 1.44
V4	Optamint oil	-9.51 ± 1.91	-24.38 ± 0.49	-33.67 ± 2.01
V5	Eucalyptus oil	-53.70 ± 1.98	-3.11 ± 6.79	-37.09 ± 0.80
V6	Tea tree oil	-7.75 ± 3.51	-24.65 ± 0.95	-23.59 ± 0.90

ตารางที่ 26 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ

สูตร	สัดส่วนระหว่างน้ำมันถั่วเหลืองต่อน้ำมันเปปเปอร์มินต์	ค่าซีต้าโพเทนเชียล (mV)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
P1	75 : 25	-18.63 ± 0.56	-6.47 ± 1.85	-11.48 ± 0.65
P2	50 : 50	-36.67 ± 1.01	-41.63 ± 0.68	-38.32 ± 1.09
P3	40 : 60	-8.52 ± 1.51	-20.86 ± 1.39	-14.57 ± 0.59
P4	30 : 70	-32.71 ± 1.96	-15.21 ± 1.63	-28.46 ± 0.91
P5	20 : 80	-11.75 ± 1.70	-21.30 ± 0.60	-25.32 ± 0.49
P6	10 : 90	-27.91 ± 0.78	-22.85 ± 0.84	-21.58 ± 0.62

ตารางที่ 27 แสดงค่าซีต้าโพเทนเชียลของหยดน้ำมันของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ค่าซีต้าโพเทนเชียล (mV)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
F1	Clove oil	-34.78 ± 0.47	-39.81 ± 1.51	-36.477 ± 2.81
F2	Spearmint oil	-43.56 ± 1.12	-38.52 ± 1.21	-39.44 ± 0.92
F3	Peppermint oil	-36.67 ± 1.01	-41.63 ± 0.68	-38.32 ± 1.09
F4	Optamint oil	-52.75 ± 1.59	-48.44 ± 1.17	-44.61 ± 1.47
F5	Eucalyptus oil	-39.51 ± 0.89	-46.86 ± 0.93	-41.04 ± 1.19
F6	Tea tree oil	-42.86 ± 1.67	-45.78 ± 0.76	-40.73 ± 0.89

ตารางที่ 28 แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดสารลดแรงตึงผิว	pH		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
S1	POS	3.58 ± 0.01	3.50 ± 0.01	3.32 ± 0.00
S2	PGO	6.30 ± 0.01	6.41 ± 0.02	5.99 ± 0.01
S3	SLS	7.12 ± 0.01	7.07 ± 0.02	6.85 ± 0.01
S4	PLX	6.85 ± 0.01	6.83 ± 0.01	6.86 ± 0.01

ตารางที่ 29 แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจาก PGO ปริมาณต่างๆ

สูตร	ปริมาณ PGO (%โดยน้ำหนัก)	pH		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
C1	1.0	7.04 ± 0.07	6.97 ± 0.05	6.86 ± 0.01
C2	2.5	6.67 ± 0.04	6.55 ± 0.02	6.31 ± 0.02
C3	5.0	6.37 ± 0.01	6.26 ± 0.02	6.02 ± 0.01
C4	7.5	5.68 ± 0.02	5.63 ± 0.01	5.48 ± 0.01
C5	10.0	5.65 ± 0.02	5.63 ± 0.01	5.49 ± 0.01

ตารางที่ 30 แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

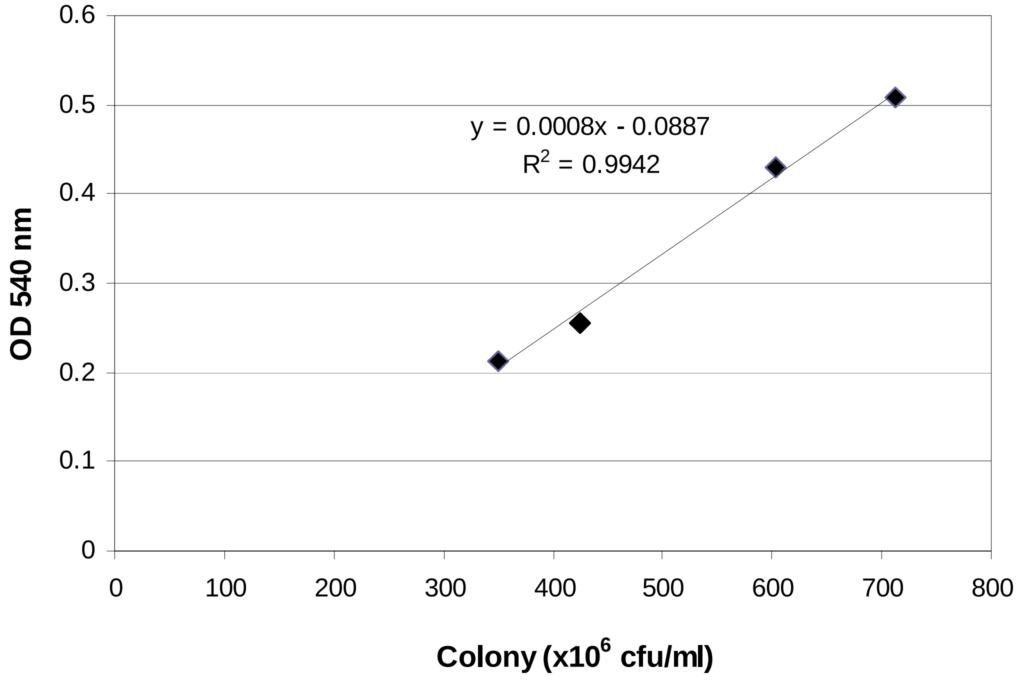
สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	pH		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
V1	Clove oil	5.36 ± 0.02	5.26 ± 0.01	5.00 ± 0.01
V2	Spearmint oil	4.20 ± 0.01	4.13 ± 0.00	3.94 ± 0.01
V3	Peppermint oil	3.98 ± 0.02	3.85 ± 0.01	3.63 ± 0.01
V4	Optamint oil	5.48 ± 0.01	5.37 ± 0.01	4.97 ± 0.01
V5	Eucalyptus oil	7.55 ± 0.08	7.29 ± 0.04	6.79 ± 0.02
V6	Tea tree oil	4.48 ± 0.01	4.39 ± 0.01	4.21 ± 0.00

ตารางที่ 31 แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันเปปเปอร์มินต์ในสัดส่วนต่างๆ

สูตร	สัดส่วนระหว่างน้ำมันพืชต่อน้ำมันเปปเปอร์มินต์	pH		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
P1	75 : 25	4.47 ± 0.01	4.49 ± 0.01	4.21 ± 0.01
P2	50 : 50	4.29 ± 0.01	4.25 ± 0.01	4.10 ± 0.01
P3	40 : 60	4.10 ± 0.01	4.13 ± 0.01	3.84 ± 0.01
P4	30 : 70	4.05 ± 0.01	4.10 ± 0.01	3.83 ± 0.01
P5	20 : 80	3.99 ± 0.01	4.02 ± 0.01	3.77 ± 0.00
P6	10 : 90	3.93 ± 0.01	3.97 ± 0.01	3.70 ± 0.00

ตารางที่ 32 แสดงค่าความเป็นกรดด่างของอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

สูตร	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ขนาดหยดน้ำมัน (µm)		
		หลังการเตรียม 24 ชั่วโมง	หลังการเตรียม 1 สัปดาห์	หลังเก็บที่สภาวะเร่ง
F1	Clove oil	6.30 ± 0.02	6.04 ± 0.01	5.61 ± 0.01
F2	Spearmint oil	4.61 ± 0.01	4.55 ± 0.01	4.47 ± 0.01
F3	Peppermint oil	4.29 ± 0.01	4.25 ± 0.01	4.10 ± 0.01
F4	Optamint oil	5.97 ± 0.01	5.86 ± 0.01	5.58 ± 0.02
F5	Eucalyptus oil	7.04 ± 0.01	6.91 ± 0.01	6.64 ± 0.01
F6	Tea tree oil	5.05 ± 0.01	4.86 ± 0.01	4.75 ± 0.01



ภาพที่ 71 กราฟมาตรฐานเชื้อ *Streptococcus mutans* 104B

ตารางที่ 33 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (1x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	145	142	207					
V1	Clove oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V2	Spearmint oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V3	Peppermint oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V4	Optamint oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V5	Eucalyptus oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V6	Tea tree oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	86	92	94	40.69	35.21	54.59	43.50	9.99

ตารางที่ 34 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (10x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	145	142	207					
V1	Clove oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V2	Spearmint oil	28	14	22	80.69	90.14	89.37	86.73	5.25
V3	Peppermint oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V4	Optamint oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V5	Eucalyptus oil	39	42	50	73.10	70.42	75.85	73.12	2.71
V6	Tea tree oil	27	27	26	81.38	80.99	87.44	83.27	3.62
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	120	117	110	17.24	17.61	46.86	27.24	17.00

ตารางที่ 35 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างกัน (100x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	145	142	207					
V1	Clove oil	85	74	83	41.38	47.89	59.90	49.72	9.40
V2	Spearmint oil	119	97	86	17.93	31.69	58.45	36.03	20.61
V3	Peppermint oil	115	97	112	20.69	31.69	45.89	32.76	12.64
V4	Optamint oil	114	112	109	21.38	21.13	47.34	29.95	15.06
V5	Eucalyptus oil	120	118	115	17.24	16.90	44.44	26.20	15.80
V6	Tea tree oil	135	105	124	6.90	26.06	40.10	24.35	16.67
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	136	145	126	6.21	0.00	39.13	15.11	21.03

ตารางที่ 36 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (1x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	114	134	127					
V1	Clove oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
V2	Spearmint oil	0	0	1	100.00	100.00	99.21	99.74	0.45
V3	Peppermint oil	9	3	6	92.11	97.76	95.28	95.05	2.83
V4	Optamint oil	19	10	17	83.33	92.54	86.61	87.49	4.66
V5	Eucalyptus oil	88	74	78	22.81	44.78	38.58	35.39	11.33
V6	Tea tree oil	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	86	92	94	40.69	35.21	54.59	43.50	9.99

ตารางที่ 37 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (10x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	114	134	127					
V1	Clove oil	83	119	98	27.19	11.19	22.83	20.41	8.27
V2	Spearmint oil	93	97	86	18.42	27.61	32.28	26.11	7.05
V3	Peppermint oil	85	83	74	25.44	38.06	41.73	35.08	8.55
V4	Optamint oil	88	92	85	22.81	31.34	33.07	29.07	5.50
V5	Eucalyptus oil	97	80	86	14.91	40.30	32.28	29.16	12.98
V6	Tea tree oil	85	100	97	25.44	25.37	23.62	24.81	1.03
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	120	117	110	17.24	17.61	46.86	27.24	17.00

ตารางที่ 38 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ของอิมัลชันที่เตรียมได้จากน้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (100x)

สูตร	น้ำมันหอมระเหย	จำนวน colony			% inhibition				
		n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3	Mean	SD
	S. mutans	114	134	127					
V1	Clove oil	124	128	119	0.00	4.48	6.30	3.59	3.24
V2	Spearmint oil	102	135	110	10.53	0.00	13.39	7.97	7.05
V3	Peppermint oil	93	85	98	18.42	36.57	22.83	25.94	9.46
V4	Optamint oil	98	106	100	14.04	20.90	21.26	18.73	4.07
V5	Eucalyptus oil	115	100	108	-0.88	25.37	14.96	13.15	13.22
V6	Tea tree oil	106	108	112	7.02	19.40	11.81	12.74	6.25
	Positive control (CPC 0.2%)	0	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00
	Negative control (C3 : Soybean oil)	136	145	126	6.21	0.00	39.13	15.11	21.03

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวศิริกาญจน์ เพ็งอ้น
ที่อยู่	109 ถนนสนามจันทร์ ตำบลสนามจันทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2549	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จากมหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม
พ.ศ. 2551	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร