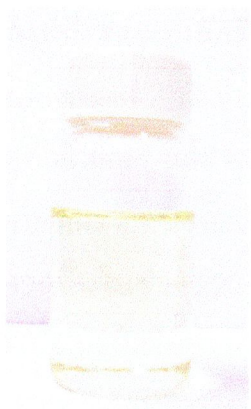


บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสกัด/รวบรวมน้ำมันเพื่อใช้ในการวิจัย

จากการสกัดน้ำมันจากตะไคร้ พบว่าได้น้ำมันที่มีกลิ่นหอมตะไคร้ และมีลักษณะใสมีสีเหลืองอ่อนมาก ดังแสดงในรูปที่ 3-1 ส่วนปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้เมื่อเทียบกับน้ำหนักพืช สดพบว่าได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.275%



รูปที่ 3-1 ลักษณะของน้ำมันตะไคร้

สำหรับน้ำมันงาที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ทางโครงการมิได้กลั่นหรือสกัดเอง แต่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทเซซามีจำกัด และชุมชนในจังหวัดแม่ฮ่องสอนส่งมาให้ โดยมีน้ำมันงาทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันงาคิปลัดแบบพื้นบ้าน น้ำมันงาคิปลัดแบบ cold press และน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press ได้นำน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิด มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกัน จากการศึกษาลักษณะภายนอกของน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีลักษณะทั่วไปและกลิ่นหอมคล้ายกัน ยกเว้นสีที่ไม่เหมือนกัน โดยน้ำมันงาคิปลัดวิธีพื้นบ้านจะมีสีเหลืองออกน้ำตาล ในขณะที่น้ำมันงาคิปลัด cool press และ น้ำมันงาคั่ว cool press มีสีเหลืองอ่อน ดังแสดงในรูปที่ 3-2



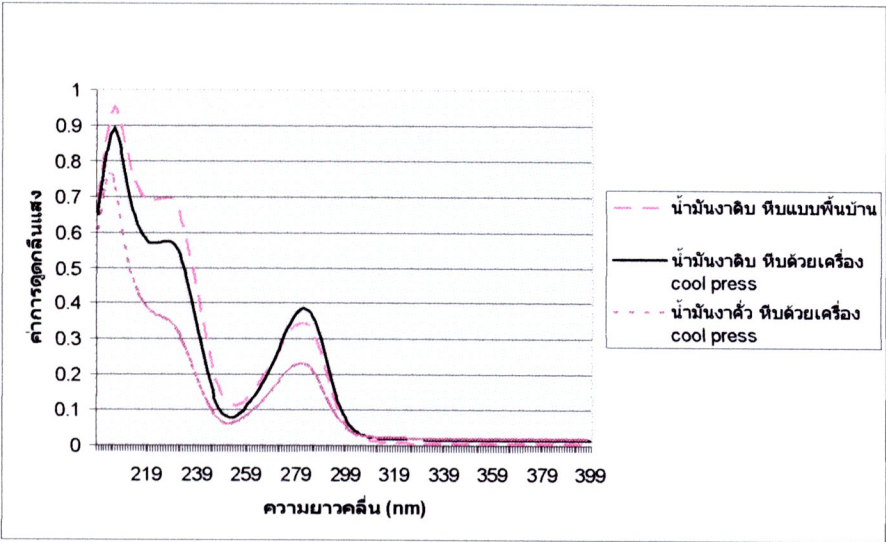
รูปที่ 3-2 ลักษณะของน้ำมันงา

จากการทบทวนเอกสารพบว่าองค์ประกอบหลักที่เป็นสารออกฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน 2 ชนิดในน้ำมันงาคือ sesamin และ γ -tocopherol ดังนั้นจึงทำการตรวจเช็คสาร 2 ชนิดนี้ในน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิด โดยอาศัยสมบัติการดูดกลืนแสง และ HPLC

การวัดการดูดกลืนแสงเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ง่ายและไม่ยุ่งยากวิธีหนึ่ง sesamin และ γ -tocopherol มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในช่วง 280 – 295 นาโนเมตร ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาการดูดกลืนแสงของน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดในช่วงความยาวคลื่นที่ 200 – 400 นาโนเมตร ผลการทดลอง แสดงในรูปที่ 3-3 และตารางที่ 3-1 ถึงตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-1 แสดงค่า λ_{max} ของน้ำมันงา

น้ำมันงา	λ_{max} (nm)		
	λ_{max} 1	λ_{max} 2	λ_{max} 3
น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	207	227	283
น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	207	227	283
น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	205	-	283



รูปที่ 3-3 การดูดกลืนแสงของน้ำมันงาชนิดต่าง ๆ ในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร

ตารางที่ 3-2 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันงาที่ λ_{max} 205-207

น้ำมันงา	λ_{max} (nm)	Absorbance
น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	207	0.940
น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	207	0.890
น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	205	0.763

ตารางที่ 3-3 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันงาที่ λ_{max} 227

น้ำมันงา	Absorbance
น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	0.700
น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	0.577
น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	0.355

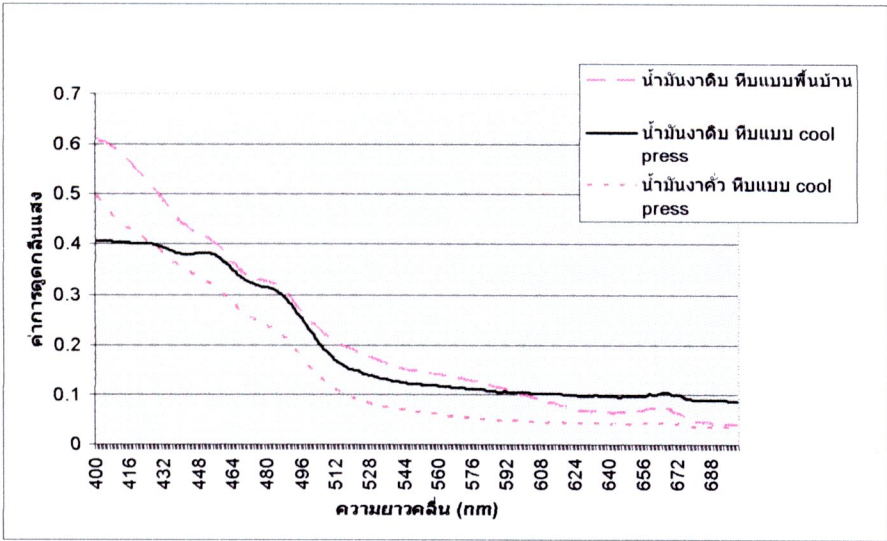
ตารางที่ 3-4 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันงาที่ λ_{max} 283

น้ำมันงา	Absorbance
น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	0.340
น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	0.390
น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	0.230

จากผลการทดลองจะเห็นว่าน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นช่วง 200-400 นาโนเมตร ที่เป็นลักษณะ peak เดี่ยว คือที่ 283 นาโนเมตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันงาดิบสกัดแบบ cool press มากกว่าน้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน (0.390, 0.340 ตามลำดับ) และน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุดเท่ากับ 0.230

เนื่องจากน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดมีสีแตกต่างกันดังกล่าวแล้วข้างต้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วง visible light ผลการทดลองแสดงในรูปที่

3-4



รูปที่ 3-4 การดูดกลืนแสงของน้ำมันงาชนิดต่าง ๆ ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร

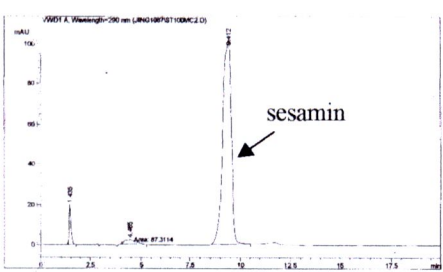
จากผลการทดลอง จะเห็นว่าน้ำมันงาที่ได้จากวิธีการสกัดน้ำมันต่างกันมีลักษณะในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ต่างกัน ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับสารที่เป็นองค์ประกอบในตำรับที่แตกต่างกันที่ออกมาในน้ำมันงา ลักษณะการดูดกลืนแสงของ น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้านและน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press มีลักษณะคล้ายกัน อาจเนื่องมาจากในการสกัดแบบพื้นบ้านมีการใช้น้ำเดือดในขั้นตอนการผลิต จึงเป็นการให้ความร้อนแก่เมล็ดงา เช่นเดียวกับการคั่ว ทั้งสองวิธีนี้จึงเป็นการทำให้เมล็ดงาสัมผัสกับความร้อนจึงมีการเปลี่ยนแปลงของสารในน้ำมันงาบางชนิดเหมือนกัน ส่งผลในลักษณะการดูดกลืนแสงคล้ายกัน แต่ไม่ส่งผลต่อสีของน้ำมันงา ซึ่งน้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้านและน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press มีสีที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองด้านการดูดกลืนแสงนี้ พิจารณาว่าเส้นกราฟการดูดกลืนแสง โดยเฉพาะในช่วง 200-400 นาโนเมตร เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพของน้ำมันงาได้

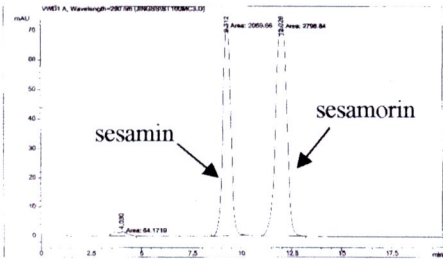
ในการศึกษาด้วย HPLC จะเน้นศึกษาทั้งทั้งคุณภาพและปริมาณ ผลการทดลองเมื่อฉีดสารมาตรฐานแสดงในรูปที่ 3-5 ถึงรูปที่ 3-7 สารสกัดจากน้ำมันงาให้ HPLC chromatogram ที่เหมือนกับ sesamin ดังแสดงในรูปที่ 3-8 อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าได้ปริมาณสารสกัดน้อยมากและมีความไม่คงตัว ดังนั้นผู้วิจัยจึงวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของน้ำมันงาจากการฉีดสารละลายน้ำมันงาโดยตรง (direct oil injection) ผลการทดลอง แสดงในรูปที่ 3-9 ถึงรูปที่ 3-11 ปริมาณของ sesamin ในน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดที่คำนวณได้จากผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 3-5 และรูปที่ 3-12 ส่วนผลการทดลองด้านองค์ประกอบ γ -tocopherol แสดงในตารางที่ 3-6 และรูปที่ 3-13 จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press มีองค์ประกอบ sesamin และ γ -tocopherol ในปริมาณสูงที่สุด

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดแสดงในตารางที่ 3-7 ซึ่งพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิดต่ำกว่า BHT ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ และ α -tocopherol ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ โดยน้ำมันงาดิบที่สกัดแบบพื้นบ้านมีฤทธิ์เป็น 0.003 เท่าของ BHT น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cool press และน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press มีฤทธิ์เป็น 0.01 เท่าของ BHT โดยน้ำมันงาดิบสกัดแบบ cool press มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณสารสำคัญที่วัดได้ในน้ำมันงาดิบสกัด

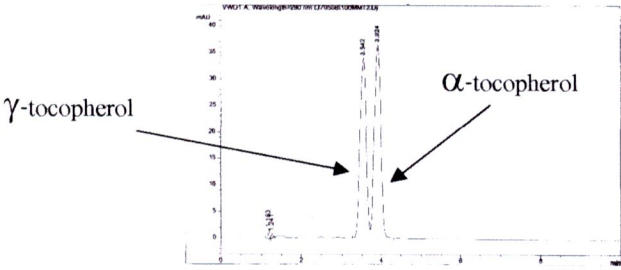
แบบ cool press ซึ่งมี sesamin = 11.69 ± 0.00 , γ -tocopherol = 0.57 ± 0.00 มิลลิกรัม/น้ำมัน 1 กรัม ในขณะที่น้ำมันงาคีบสกัดแบบพื้นบ้านมีปริมาณ sesamin = 11.17 ± 0.03 และ γ -tocopherol = 0.11 ± 0.01 มิลลิกรัม/น้ำมัน 1 กรัม) แม้ว่าน้ำมันงาทั้งสองชนิดคือน้ำมันงาคีบสกัดแบบ cool press และน้ำมันงาคีบสกัดแบบพื้นบ้านมีปริมาณ sesamin ใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณ γ -tocopherol มีความแตกต่างกันถึง 5 เท่า ซึ่ง γ -tocopherol เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จึงมีความแตกต่างของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้จากการทดสอบทางสถิติพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันงาคีบสกัดแบบ cool press และน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ค่า P มากกว่า 0.05) ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงปัจจัยหลาย ๆ ด้านรวมถึงปริมาณ sesamin ซึ่งเป็นสารสำคัญออกฤทธิ์พึงประสงค์ของน้ำมัน จึงพิจารณาเลือกใช้น้ำมันงาคีบสกัดแบบ cool press มาทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป



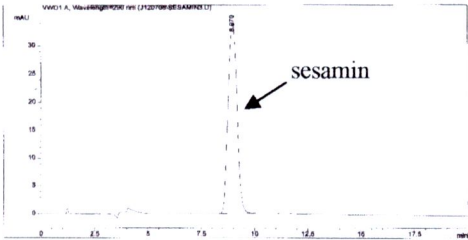
รูปที่ 3-5 Chromatogram ของสารมาตรฐาน sesamin



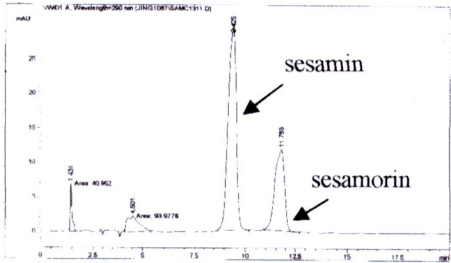
รูปที่ 3-6 Chromatogram ของสารมาตรฐาน sesamin และ sesamolin



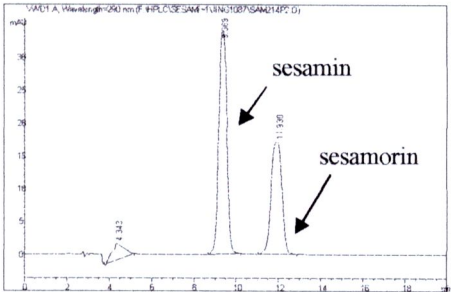
รูปที่ 3-7 Chromatogram ของสารมาตรฐาน tocopherol



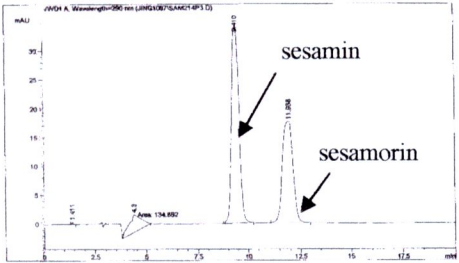
รูปที่ 3-8 Chromatogram ของสารสกัดจากน้ำมันงา



รูปที่ 3-9 Chromatogram ของน้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน



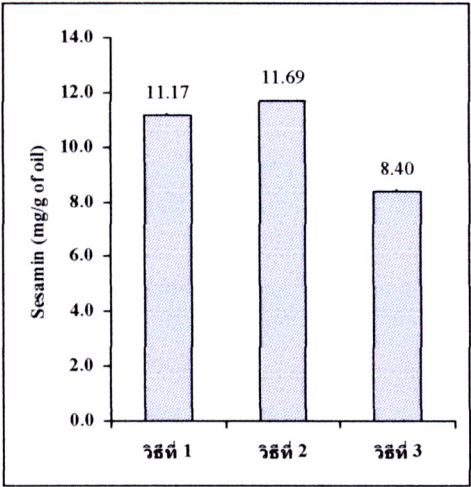
รูปที่ 3-10 Chromatogram ของน้ำมันงาดิบสกัดแบบ cool press



รูปที่ 3-11 Chromatogram ของน้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press

ตารางที่ 3-5 แสดงปริมาณ sesamin ในน้ำมันงาที่สกัดได้จากวิธีต่าง ๆ

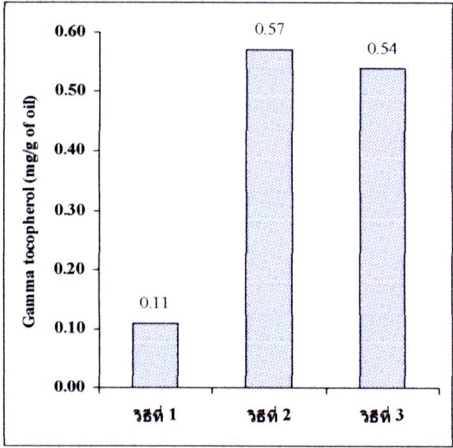
วิธีสกัดน้ำมันงา	ปริมาณ sesamin (mg/g)
วิธีที่ 1 น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	11.17 ± 0.03
วิธีที่ 2 น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	11.69 ± 0.01
วิธีที่ 3 น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	8.40 ± 0.02



รูปที่ 3-12 แสดงปริมาณ sesamin ในน้ำมันงาที่สกัดได้จากวิธีต่าง ๆ

ตารางที่ 3-6 แสดงปริมาณ γ -tocopherol ในน้ำมันงาที่สกัดได้จากวิธีต่าง ๆ

วิธีสกัดน้ำมันงา	ปริมาณ γ -tocopherol (mg/g)
วิธีที่ 1 น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	0.11 ± 0.01
วิธีที่ 2 น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cold press	0.57 ± 0.00
วิธีที่ 3 น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cold press	0.54 ± 0.00



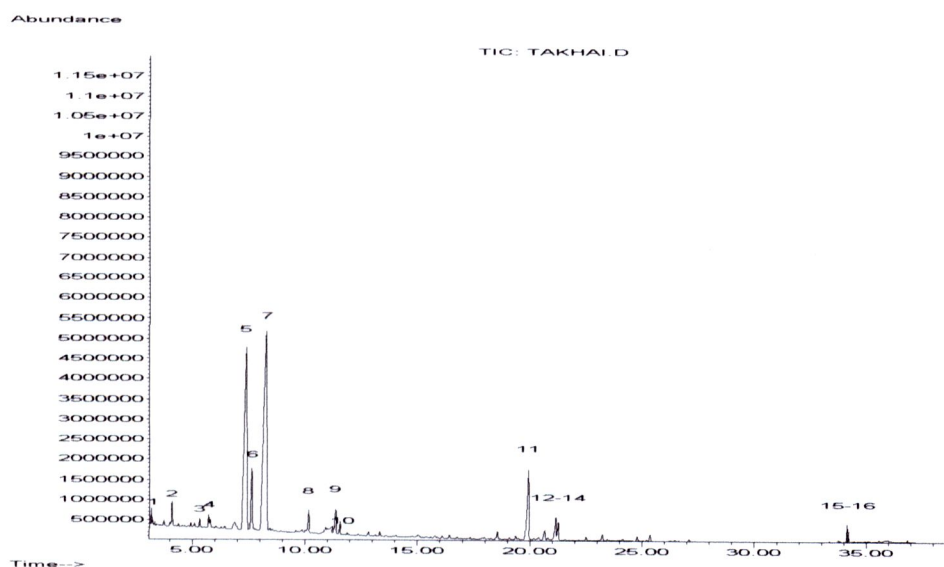
รูปที่ 3-13 แสดงปริมาณ γ -tocopherol ในน้ำมันงาที่สกัดได้จากวิธีต่าง ๆ

ตารางที่ 3-7 ค่า IC_{50} ของน้ำมันงาทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

สารทดสอบ	IC_{50} (mg/ml)
น้ำมันงาดิบสกัดแบบพื้นบ้าน	708.40 ± 13.59
น้ำมันงาดิบสกัดแบบ cool press	155.08 ± 2.40
น้ำมันงาคั่วสกัดแบบ cool press	136.09 ± 6.66
BHT	1.79 ± 0.04
α -tocopherol	0.08 ± 0.00

การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้

การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้โดย GC-MS จะทำให้ทราบชนิดและปริมาณของสารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำมัน จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันตะไคร้มี geranial และ neral เป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่ขมิ้นชันมีเพียง beta-bisabolene เพียงชนิดเดียวที่เป็นองค์ประกอบหลัก แม้ว่าจะเป็นน้ำมันจากพืชชนิดเดียวกันแต่สกัดได้จากคนละส่วนของพืชพบว่าองค์ประกอบภายในน้ำมันที่ได้ก็แตกต่างกัน เช่น น้ำมันจากใบมะนาวมี ortho-cymene และ L-camphor เป็นองค์ประกอบหลัก ดังแสดงในรูปที่ 3-14 และตารางที่ 3-8



รูปที่ 3-14 แสดง GC Chromatogram ของน้ำมันตะไคร้

การศึกษาสมบัติเคมีกายภาพของน้ำมัน

เมื่อนำน้ำมันตะไคร้และน้ำมันงามาศึกษาสมบัติเคมีกายภาพ ซึ่งได้แก่ ความหนาแน่น Refractive index แร่งดิ่งผิว และสมบัติการละลาย พบว่าน้ำมันทั้งสองมีความหนาแน่น Refractive index และแรงดิ่งผิวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-9 ถึงตารางที่ 3-11 ตามลำดับ พบว่าน้ำมันทั้งสองมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ แต่หากเปรียบเทียบกันพบว่าน้ำมันตะไคร้มีความหนาแน่นมากกว่าน้ำมันงา

ค่า Refractive index และค่าแรงตึงผิว เป็นค่าเฉพาะอีกอย่างหนึ่งของน้ำมันแต่ละชนิด ดังนั้นค่านี้จึงสามารถใช้ประกอบในการควบคุมมาตรฐานของน้ำมันได้ จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันทั้งสองชนิดมีค่า Refractive index แตกต่างกันเล็กน้อยและสูงกว่าน้ำ และมีค่าแรงตึงผิวใกล้เคียงกับกลุ่มตัวทำละลายที่มี polarity ปานกลาง

ตารางที่ 3-8 แสดงรายละเอียดองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้

Peak No.	RT (min)	Compounds	% Area	% QA
1	3.18	trans-beta-ocimene	0.58	95
2	4.08	n-undecene	1.40	96
3	5.31	D-camphor	0.49	98
4	5.70	(+)-borneol	0.35	99
5	7.40	z-citral = neral	32.07	96
6	7.61	geraniol	5.21	95
7	8.28	geranial	42.01	95
8	10.14	unidentified	1.82	-
9	11.35	piperitenone oxide	2.25	98
10	11.54	decaoic acid	0.79	91
11	19.93	unidentified	7.86	-
12	20.66	beta-maaliene	0.94	90
13	21.14	alpha-cadinol	2.04	74
14	21.25	alpha-copaene	1.40	89
15	34.13	unidentified	0.51	-
16	34.21	unidentified	0.29	-

ตารางที่ 3-9 ความหนาแน่นของน้ำมัน

ชื่อพืช	ความหนาแน่น (g/ml)
ตะไคร้	0.886
งา	0.867

ตารางที่ 3-10 แสดงค่า Refractive index ของน้ำมัน

สารทดสอบ	Refractive index
น้ำมันตะไคร้	1.491
น้ำมันงา	1.483
Water	1.333

ตารางที่ 3-11 แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำมันเปรียบเทียบกับสารอื่น

สารทดสอบ	ค่าแรงตึงผิว (dyne/cm)
น้ำมันตะไคร้	30.6
น้ำมันงา	31.4
Water	71.1
Dimethyl sulfoxide	43.6
PEG400	37.6
Propylene glycol	36.0
Isopropyl myristate	28.5
Methanol	23.1
Mineral oil	22.9
Ethanol	22.6
Hexane	18.3

ด้านสมบัติการละลายพบว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถละลายน้ำมันทั้งสองได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-12 เช่น น้ำซึ่งมี polarity มากที่สุดไม่สามารถละลายน้ำมันทั้งสองชนิดได้เลย ในขณะที่ isopropyl myristate ซึ่งมี polarity ปานกลาง สามารถละลายน้ำมันงาและน้ำมันตะไคร้ได้ดี เป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำมันตะไคร้สามารถละลายได้ง่ายในตัวทำละลายส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบ ในขณะที่น้ำมันงาสามารถละลายได้ดีใน isopropyl myristate, methanol และ hexane เท่านั้น และเนื่องจากน้ำมันทั้งสองไม่สามารถเข้ากับน้ำได้เลยจึงเป็นปัญหาสำคัญและมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาวิจัยเพื่อให้ละลายน้ำได้โดยอาศัยเทคนิคไมโครอิมัลชัน

ตารางที่ 3-12 แสดงสมบัติการละลายของน้ำมัน

ตัวทำละลาย	ส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ละลายตัวถูกละลาย 1 ส่วน	
	น้ำมันตะไคร้	น้ำมันงา
Water	>10000	>10000
Dimethyl sulfoxide	500	>10000
PEG400	10	>10000
Propylene glycol	300	>10000
Isopropyl myristate	10	10
Methanol	600	>10000
Mineral oil	10	10
Ethanol	10	>10000
Hexane	10	10

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำมัน

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านส่งเสริมความงามของผิวหนัง ผิวหนังหากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป จะก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดออกได้ทัน อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำให้การทำงานของผิวหนังเสียไป ทำให้เกิดผิวเหี่ยวแลดูแก่เกินวัยได้

ดังนั้นฤทธิ์ของน้ำมันที่โครงการให้ความสำคัญจึงเป็นฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน นอกจากนั้นปฏิกิริยาการเร่งสร้างสารสี (melanin) โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสจะมีผลทำให้ผิวหนังเกิดสีคล้ำ และหากสารสีดังกล่าวกระจายตัวไม่ดีพอ จะเห็นเป็นรอยด่างดำขึ้นที่ผิวหนัง ทำให้ผิวแลดูไม่สวยงาม ดังนั้นฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นอีกฤทธิ์หนึ่งที่โครงการให้ความสนใจมาก การศึกษาฤทธิ์ด้านออกซิเดชันใช้วิธีทดสอบ 2 วิธี ร่วมกันเพื่อยืนยันความถูกต้องของผลทดลอง คือวิธี ABTS และ FRAP ผลการศึกษาฤทธิ์ด้านออกซิเดชันโดยวิธีทั้งสองแสดงเป็นค่า TEAC และ EC ตามลำดับ โดยหากน้ำมันชนิดใดแสดงค่านี้สูงก็จะแสดงว่าน้ำมันชนิดนั้นมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันสูง ผลของค่า TEAC และ EC แสดงในตารางที่ 3-13 และตารางที่ 3-14 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันงามีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันดีกว่าน้ำมันตะไคร้ แต่เป็นที่น่าสนใจว่าน้ำมันตะไคร้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงมากในขณะที่น้ำมันงาแทบไม่มีฤทธิ์นี้เลย ดังแสดงในตารางที่ 3-15

ตารางที่ 3-13 แสดงค่า TEAC ของน้ำมัน

ชื่อพืช	TEAC (mM/mg)
ตะไคร้	0.013 ± 0.006
งา	0.018 ± 0.008

ตารางที่ 3-14 แสดงค่า EC ของน้ำมัน

ชื่อพืช	EC (mM/mg)
ตะไคร้	0.170 ± 0.022
งา	0.362 ± 0.014

ตารางที่ 3-15 แสดงฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมัน

ชื่อพืช	% Inhibition
ตะไคร้	73.89 ± 2.11
งา	0.00 ± 0.04

การศึกษา Phase diagram

Phase diagram หมายถึง แผนภาพสามเหลี่ยมที่แสดงถึงสัดส่วนองค์ประกอบของน้ำ น้ำมัน และ surfactant กับ co-surfactant ที่ก่อให้เกิดไมโครอิมัลชัน ซึ่งเป็นระบบที่โปร่งใส เป็นเนื้อเดียวกัน มีความหนืดต่ำ และมีความคงตัวดีเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ดังนั้น phase diagram จึงเป็นหัวใจของการพัฒนาระบบไมโครอิมัลชัน ในการวิจัยครั้งนี้ได้เริ่มศึกษา phase diagram โดยทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อศึกษาผลของ surfactant และ co-surfactant โดยการใช้ Tween 20 หรือ Tween 80 ทำหน้าที่เป็น surfactant และใช้ absolute ethanol ทำหน้าที่เป็น co-surfactant โดยใช้สัดส่วนของสารทั้งสอง (S_{mix}) เท่ากับ 1:1, 2:1, 3:1, และ 9:1 โดยน้ำหนัก แล้วนำไปผสมกับน้ำมันตะไคร้และน้ำในสัดส่วนต่าง ๆ นำน้ำหนักของสารที่เติมลงในแต่ละระบบไปคำนวณเป็น % โดยน้ำหนัก ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3-16 ถึงตารางที่ 3-23 ภายหลังจากที่แต่ละระบบเกิดสมดุลแล้ว พบว่าลักษณะที่ได้จากแต่ละระบบแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-24 ถึงตารางที่ 3-31 และแสดงลักษณะของบางระบบในรูปที่ 3-15 และรูปที่ 3-16 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า Tween 20 และ Tween 80 ให้สีของระบบแตกต่างกัน โดยระบบที่ใช้ Tween 80 จะมีสีเหลืองกว่าที่ใช้ Tween 20 และสังเกตได้ว่าการที่สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ไม่ได้หมายความว่าทำให้ระบบใสขึ้นหรือลดลงเรื่อย แต่จะมีเพียงบางระบบเท่านั้นที่เกิดลักษณะใสซึ่งเป็นระบบของไมโครอิมัลชัน นอกจากนั้นยังพบว่าระบบที่ได้จาก Tween 20 มีความน่าใช้มากกว่าที่ได้จาก Tween 80 ทั้งด้านสีและกลิ่น จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้ทำให้พอสรุปได้ว่าชนิดของ surfactant และสัดส่วนของ ethanol ใน surfactant มีผลทำให้ระบบมีความสามารถในการละลายน้ำมันได้แตกต่างกัน Tween 80 ทำให้ระบบมีกลิ่นและสีไม่น่าใช้ จึงไม่ได้ถูกเลือกเพื่อทำการทดลองต่อไป การทดลองในขั้นตอนต่อไปโดยศึกษาชนิดของ surfactant มากขึ้นและใช้วิธี titration แทนการเติมผสมธรรมดา ซึ่งวิธี titration เป็นวิธีทดลองที่ให้ผลละเอียดมากยิ่งขึ้น โดยได้เลือกใช้ surfactant 4 ชนิด ได้แก่ Brij 97 หรือ Polyoxyethylene oleoyl ether มีค่า HLB = 12.4, Triton X 114 หรือ Polyoxyethylene isooctylphenyl ether มีค่า HLB = 12.4, Tween 20 หรือ Polyoxyethylene sorbitan monolaurate มีค่า HLB = 16.7, Tween 85 หรือ Polyoxyethylene sorbitan trioleate มีค่า HLB = 11.0 กับน้ำมันทั้ง 3 ชนิดที่เลือก ผลการทดลองพบว่าน้ำมันแต่ละชนิดต้องใช้ surfactant ต่างกัน โดย Tween 85 เหมาะสมกับน้ำมันงา และ Tween 20, Triton X 114 และ Brij 97 เหมาะสมกับน้ำมันตะไคร้ ดังแสดงในรูปที่ 3-17 ถึงรูปที่ 3-20 การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจาก HLB โดยน้ำมันตะไคร้ต้องการระบบที่มี HLB สูง ในขณะที่น้ำมันงาต้องการ HLB ต่ำกว่า

ตารางที่ 3-16 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 1:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween20	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T(1)E(1)-1	48.75	48.93	2.32	0.00	100.00
2	T(1)E(1)-2	47.72	47.73	2.25	2.31	100.00
3	T(1)E(1)-3	47.03	46.84	2.04	4.08	100.00
4	T(1)E(1)-4	39.00	38.88	1.71	20.41	100.00
5	T(1)E(1)-5	32.77	32.59	1.52	33.12	100.00
6	T(1)E(1)-6	24.79	24.59	1.06	49.55	100.00
7	T(1)E(1)-7	19.77	19.69	0.99	59.54	100.00
8	T(1)E(1)-8	16.54	16.55	0.72	66.19	100.00
9	T(1)E(1)-9	14.11	14.41	0.76	70.72	100.00
10	T(1)E(1)-10	12.46	12.46	0.53	74.55	100.00
11	T(1)E(1)-11	11.13	11.14	0.45	77.28	100.00
12	T(1)E(1)-12	10.01	10.02	0.43	79.55	100.00
13	T(1)E(1)-13	48.90	48.91	2.14	0.05	100.00

ตารางที่ 3-17 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 2:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween20	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T(2)E(1)-1	65.10	32.76	2.14	0.00	100.00
2	T(2)E(1)-2	64.07	32.02	2.06	1.85	100.00
3	T(2)E(1) -3	62.17	30.95	1.98	4.90	100.00
4	T(2)E(1)-4	52.14	26.08	1.81	19.97	100.00
5	T(2)E(1)-5	43.41	21.74	1.56	33.29	100.00
6	T(2)E(1) -6	37.55	18.72	1.20	42.53	100.00
7	T(2)E(1)-7	32.86	16.63	1.03	49.49	100.00
8	T(2)E(1)-8	26.36	13.19	0.92	59.54	100.00
9	T(2)E(1)-9	22.00	10.97	0.74	66.30	100.00
10	T(2)E(1)-10	18.89	9.38	0.68	71.05	100.00
11	T(2)E(1)-11	16.56	8.32	0.59	74.53	100.00
12	T(2)E(1)-12	14.76	7.40	0.52	77.32	100.00
13	T(2)E(1)-13	13.31	6.67	0.44	79.58	100.00
14	T(2)E(1)-14	12.09	6.05	0.41	81.44	100.00

ตารางที่ 3-18 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 3:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween20	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T(3)E(1)-1	73.52	24.51	1.97	0.00	100.00
2	T(3)E(1)-2	71.82	24.14	2.12	1.92	100.00
3	T(3)E(1)-3	57.96	19.78	1.82	20.44	100.00
4	T(3)E(1)-4	48.23	16.08	1.47	34.22	100.00
5	T(3)E(1)-5	37.04	12.43	1.20	49.33	100.00
6	T(3)E(1)-6	29.73	9.96	0.89	59.41	100.00
7	T(3)E(1)-7	24.87	8.26	0.81	66.07	100.00
8	T(3)E(1)-8	21.29	7.23	0.61	70.87	100.00
9	T(3)E(1)-9	18.65	6.26	0.54	74.54	100.00
10	T(3)E(1)-10	16.57	5.59	0.48	77.36	100.00
11	T(3)E(1)-11	14.94	4.98	0.45	79.63	100.00
12	T(3)E(1)-12	13.61	4.53	0.41	81.45	100.00

ตารางที่ 3-19 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 9:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween20	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T(9)E(1)-1	87.85	9.79	2.37	0.00	100.00
2	T(9)E(1)-2	86.14	9.87	2.23	1.76	100.00
3	T(9)E(1)-3	84.17	9.45	2.12	4.26	100.00
4	T(9)E(1)-4	70.03	7.89	1.79	20.28	100.00
5	T(9)E(1)-5	58.65	6.62	1.47	33.26	100.00
6	T(9)E(1)-6	44.39	5.02	1.11	49.47	100.00
7	T(9)E(1)-7	35.67	4.08	0.87	59.39	100.00
8	T(9)E(1)-8	29.75	3.50	0.73	66.01	100.00
9	T(9)E(1)-9	25.50	3.03	0.67	70.80	100.00
10	T(9)E(1)-10	22.37	2.54	0.62	74.47	100.00
11	T(9)E(1)-11	19.94	2.25	0.48	77.33	100.00
12	T(9)E(1)-12	15.04	18.06	0.34	66.55	100.00
13	T(9)E(1)-13	16.37	1.83	0.40	81.39	100.00

ตารางที่ 3-20 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 1:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween80	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T80(1)E(1)-1	48.80	48.92	2.28	0.00	100.00
2	T80(1)E(1)-2	48.11	48.04	3.85	0.00	100.00
3	T80(1)E(1)-3	46.53	46.74	3.51	3.23	100.00
4	T80(1)E(1)-4	47.69	47.89	2.43	1.99	100.00
5	T80(1)E(1)-5	46.65	46.68	3.50	3.16	100.00
6	T80(1)E(1)-6	47.04	47.02	2.70	3.24	100.00
7	T80(1)E(1)-7	38.70	38.57	3.38	19.35	100.00
8	T80(1)E(1)-8	46.23	46.03	3.15	4.58	100.00
9	T80(1)E(1)-9	32.46	32.45	2.48	32.61	100.00
10	T80(1)E(1)-10	24.42	24.63	2.00	48.95	100.00
11	T80(1)E(1)-11	14.11	14.16	1.11	70.62	100.00
12	T80(1)E(1)-12	11.04	11.02	0.70	77.23	100.00
13	T80(1)E(1)-14	38.24	38.06	2.96	20.75	100.00

ตารางที่ 3-21 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 2:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (%w/w)				
		Tween80	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T80(2)E(1)-1	64.80	32.42	2.78	0.00	100.00
2	T80(2)E(1)-2	63.95	31.99	4.06	0.00	100.00
3	T80(2)E(1)-3	62.80	31.20	3.45	2.55	100.00
4	T80(2)E(1)-4	61.75	31.16	3.26	3.83	100.00
5	T80(2)E(1)-5	60.58	30.23	3.53	5.66	100.00
6	T80(2)E(1)-6	60.66	30.54	3.98	4.82	100.00
7	T80(2)E(1)-7	51.65	25.69	3.29	19.36	100.00
8	T80(2)E(1)-8	42.03	52.11	2.56	3.30	100.00
9	T80(2)E(1)-9	42.98	21.91	2.79	32.32	100.00
10	T80(2)E(1)-10	32.50	16.30	2.16	49.04	100.00
11	T80(2)E(1)-11	18.75	9.47	1.18	70.60	100.00
12	T80(2)E(1)-12	14.70	7.36	0.97	76.96	100.00
13	T80(2)E(1)-13	61.34	30.68	4.18	3.80	100.00

ตารางที่ 3-22 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 3:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (%w/w)				
		Tween80	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T80(3)E(1)-1	71.38	23.95	4.67	0.00	100.00
2	T80(3)E(1)-2	69.88	23.42	4.34	2.36	100.00
3	T80(3)E(1)-3	68.02	23.09	4.07	4.82	100.00
4	T80(3)E(1)-4	68.76	23.51	4.29	3.43	100.00
5	T80(3)E(1)-5	69.27	23.39	4.50	2.84	100.00
6	T80(3)E(1)-6	68.04	22.72	4.15	5.09	100.00
7	T80(3)E(1)-7	57.42	19.28	3.69	19.61	100.00
8	T80(3)E(1)-9	48.26	16.24	3.08	32.42	100.00
9	T80(3)E(1)-10	36.31	12.06	2.31	49.32	100.00
10	T80(3)E(1)-11	21.14	7.05	1.40	70.42	100.00
11	T80(3)E(1)-12	16.51	5.56	1.09	76.84	100.00

ตารางที่ 3-23 แสดง % โดยน้ำหนักของสารในระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 9:1

ระบบ ที่	สูตร	ปริมาณ (% w/w)				
		Tween80	EtOH	น้ำมัน	น้ำ	รวม
1	T80(9)E(1)-1	83.28	9.38	7.34	0.00	100.00
2	T80(9)E(1)-2	82.82	9.21	7.97	0.00	100.00
3	T80(9)E(1)-3	80.42	9.03	8.03	2.52	100.00
4	T80(9)E(1)-4	80.97	9.03	8.45	1.55	100.00
5	T80(9)E(1)-5	81.26	9.21	7.24	2.29	100.00
6	T80(9)E(1)-6	79.90	9.07	7.25	3.78	100.00
7	T80(9)E(1)-7	67.36	7.58	6.16	18.90	100.00
8	T80(9)E(1)-8	78.78	8.94	7.24	5.04	100.00
9	T80(9)E(1)-9	56.86	6.38	5.18	31.58	100.00
10	T80(9)E(1)-10	43.16	4.97	3.92	47.95	100.00
11	T80(9)E(1)-11	25.19	2.88	2.31	69.63	100.00
12	T80(9)E(1)-12	19.71	2.22	1.78	76.30	100.00
13	T80(9)E(1)-13	67.51	7.55	6.05	18.90	100.00



ตารางที่ 3-24 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 1:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T(1)E(1)-1	สีเหลืองอ่อน ใส
T(1)E(1)-2	สีเหลืองอ่อน ใส
T(1)E(1)-3	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-4	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(1)E(1)-5	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(1)E(1)-6	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-7	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-8	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-9	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-10	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-11	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-12	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(1)E(1)-13	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น

ตารางที่ 3-25 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 2:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T(2)E(1)-1	สีเหลืองอ่อน ใส
T(2)E(1)-2	สีเหลืองอ่อน ใส
T(2)E(1)-3	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(2)E(1)-4	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(2)E(1)-5	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น
T(2)E(1)-6	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น
T(2)E(1)-7	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น
T(2)E(1)-8	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-9	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-10	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-11	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-12	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-13	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(2)E(1)-14	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น

ตารางที่ 3-26 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 3:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T(3)E(1)-1	สีเหลืองอ่อน ใส
T(3)E(1)-2	สีเหลืองอ่อน ใส
T(3)E(1)-3	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(3)E(1)-4	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น
T(3)E(1)-5	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-6	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-7	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-8	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-9	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-10	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-11	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(3)E(1)-12	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น

ตารางที่ 3-27 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 9:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T(9)E(1)-1	สีเหลืองอ่อน ใส
T(9)E(1)-2	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(9)E(1)-3	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(9)E(1)-4	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(9)E(1)-5	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(9)E(1)-6	สีเหลืองอ่อน ขุ่น
T(9)E(1)-7	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น
T(9)E(1)-8	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(9)E(1)-9	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(9)E(1)-10	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(9)E(1)-11	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(9)E(1)-12	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น
T(9)E(1)-13	สีเหลืองอ่อน ขุ่น แยกชั้น

ตารางที่ 3-28 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 1:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T80(1)E(1)-1	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-2	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-3	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-4	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-5	สีเหลือง ขุ่น
T80(1)E(1)-6	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-7	สีเหลือง ใส
T80(1)E(1)-8	สีเหลือง ขุ่น
T80(1)E(1)-9	สีเหลือง ขุ่น
T80(1)E(1)-10	สีเหลือง ขุ่น
T80(1)E(1)-11	สีเหลือง ขุ่น
T80(1)E(1)-12	สีขาว ขุ่น
T80(1)E(1)-13	สีขาว ขุ่น
T80(1)E(1)-14	สีเหลือง ขุ่น

ตารางที่ 3-29 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 2:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T80(2)E(1)-1	สีเหลือง ใส
T80(2)E(1)-2	สีเหลือง ใส
T80(2)E(1)-3	สีเหลือง ใส
T80(2)E(1)-4	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-5	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-6	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-7	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-8	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-9	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-10	สีเหลือง ขุ่น
T80(2)E(1)-11	สีขาว ขุ่น
T80(2)E(1)-12	สีขาว ขุ่น
T80(2)E(1)-13	สีเหลือง ขุ่น

ตารางที่ 3-30 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 80 : Ethanol = 3:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T80(3)E(1)-1	สีเหลือง ใส
T80(3)E(1)-2	สีเหลือง ใส
T80(3)E(1)-3	สีเหลือง แยกชั้น
T80(3)E(1)-4	สีเหลือง แยกชั้น
T80(3)E(1)-5	สีเหลือง แยกชั้น
T80(3)E(1)-6	สีเหลือง แยกชั้น
T80(3)E(1)-7	สีเหลือง ขุ่น
T80(3)E(1)-8	สีเหลือง ขุ่น
T80(3)E(1)-9	สีเหลือง ขุ่น
T80(3)E(1)-10	สีเหลือง ขุ่น แยกชั้น
T80(3)E(1)-11	สีเหลืองอ่อน แยกชั้น

ตารางที่ 3-31 ลักษณะของระบบ ที่มี Tween 20 : Ethanol = 9:1

สูตร	ลักษณะสี/ความใส/ความขุ่น/การแยกชั้น
T80(9)E(1)-1	สีเหลือง ใส
T80(9)E(1)-2	สีเหลือง ใส
T80(9)E(1)-3	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-4	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-5	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-6	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-7	สีเหลือง ใส
T80(9)E(1)-8	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-9	สีเหลือง ขุ่น
T80(9)E(1)-10	สีขาว ขุ่น
T80(9)E(1)-11	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-12	สีเหลือง แยกชั้น
T80(9)E(1)-13	สีเหลือง ใส
T80(2)E(1)-14	สีเหลือง ใส

เมื่อพิจารณาด้านราคาของ surfactant ทั้ง 3 ชนิดที่เหมาะสมกับน้ำมันตะไคร้ พบว่า Tween 20 มีราคาถูกที่สุด จึงพิจารณาเลือกใช้ Tween 20 กับน้ำมันตะไคร้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป ซึ่งเป็นการศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อการเกิดไมโครอิมัลชันของน้ำมันแต่ละชนิด ใน phase diagram ปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่

1. ชนิดของ co-surfactant และสัดส่วนที่ใช้ร่วมกับ surfactant
2. ชนิดและความเข้มข้นของสาร electrolyte
3. ความเป็นกรดค่า (pH)

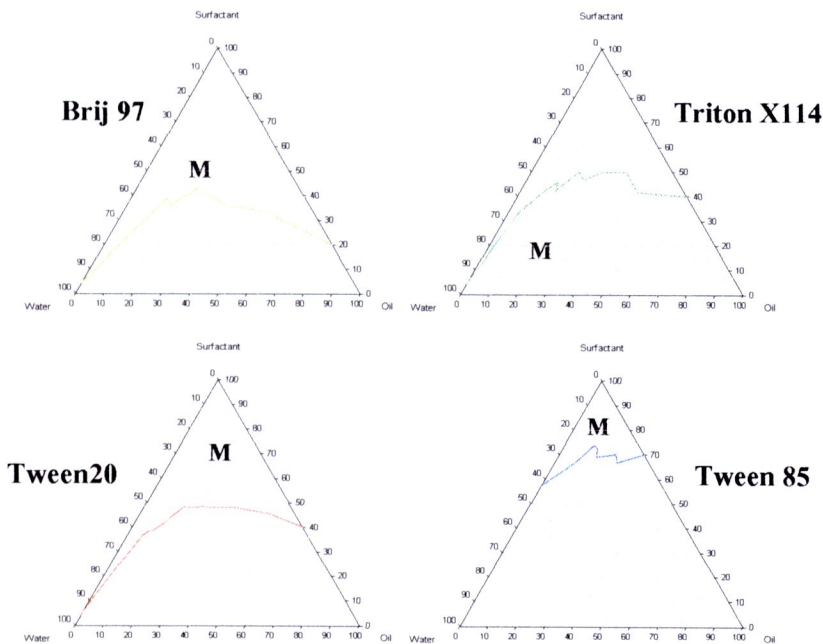


รูปที่ 3-15 ผลของ Tween 20 และ ethanol ต่อสารผสมของน้ำและน้ำมันตะไคร้

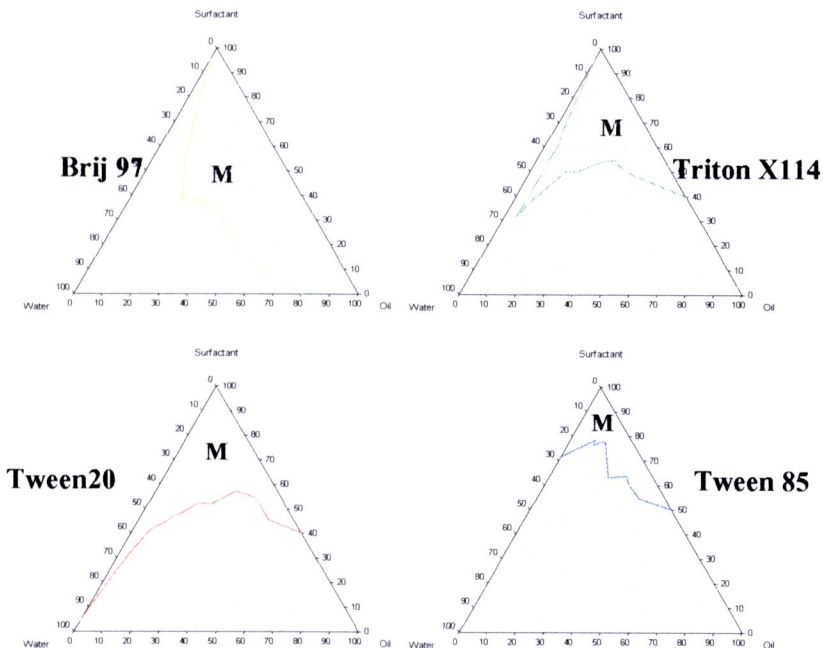
(S_{mix} คือ Tween 20 : ethanol โดย (A)=1:1, (B)=2:1, (C)=3:1, (D)=9:1)



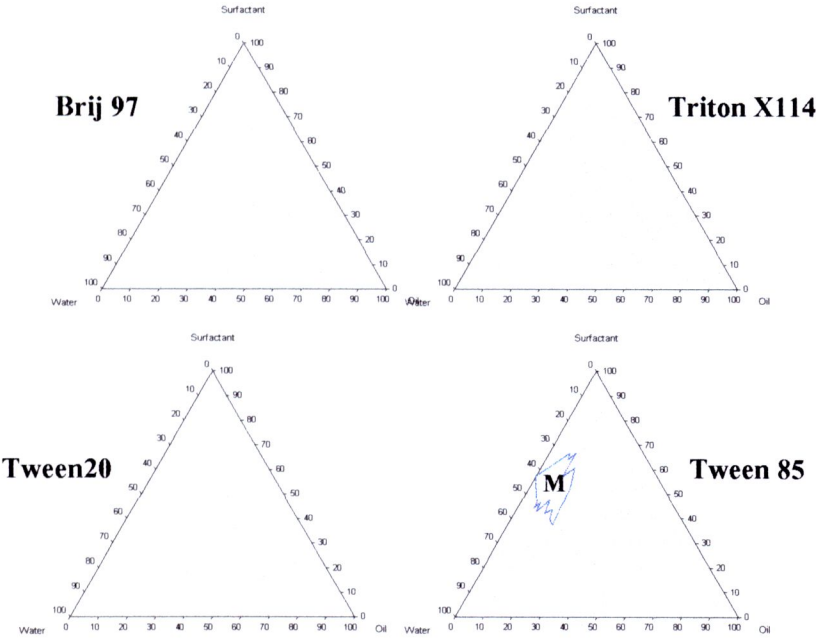
รูปที่ 3-16 ผลของ Tween 80 และ ethanol ต่อสารผสมของน้ำและน้ำมันตะไคร้
 (S_{mix} คือ Tween 80 : ethanol โดย (A)=1:1, (B)=2:1, (C)=3:1, (D)=9:1)



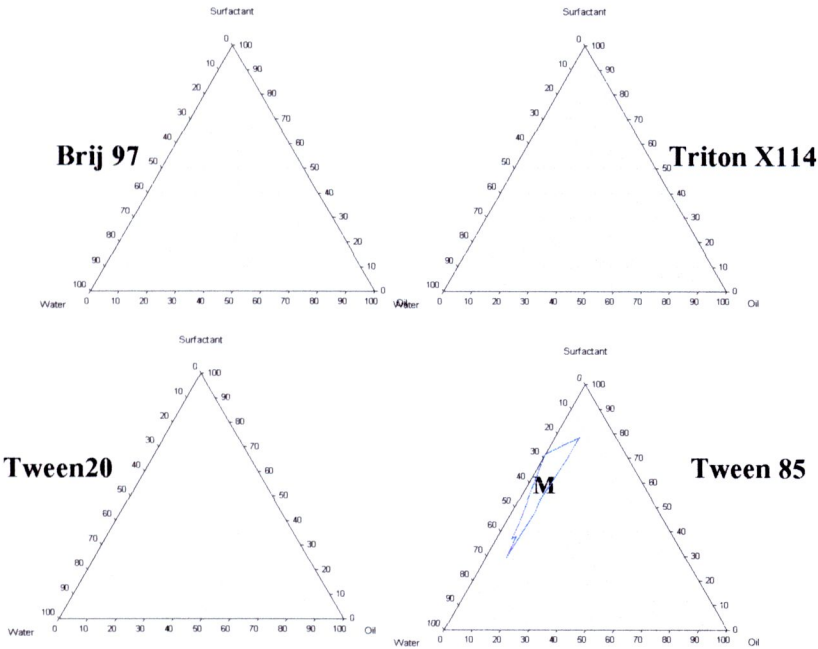
รูปที่ 3-17 แสดงบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้ ที่ใช้ surfactant:ethanol เท่ากับ 1:1



รูปที่ 3-18 แสดงบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้ ที่ใช้ surfactant:ethanol เท่ากับ 1:2



รูปที่ 3-19 แสดงบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา ที่ใช้ surfactant:ethanol เท่ากับ 1:1



รูปที่ 3-20 แสดงบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา ที่ใช้ surfactant:ethanol เท่ากับ 1:2

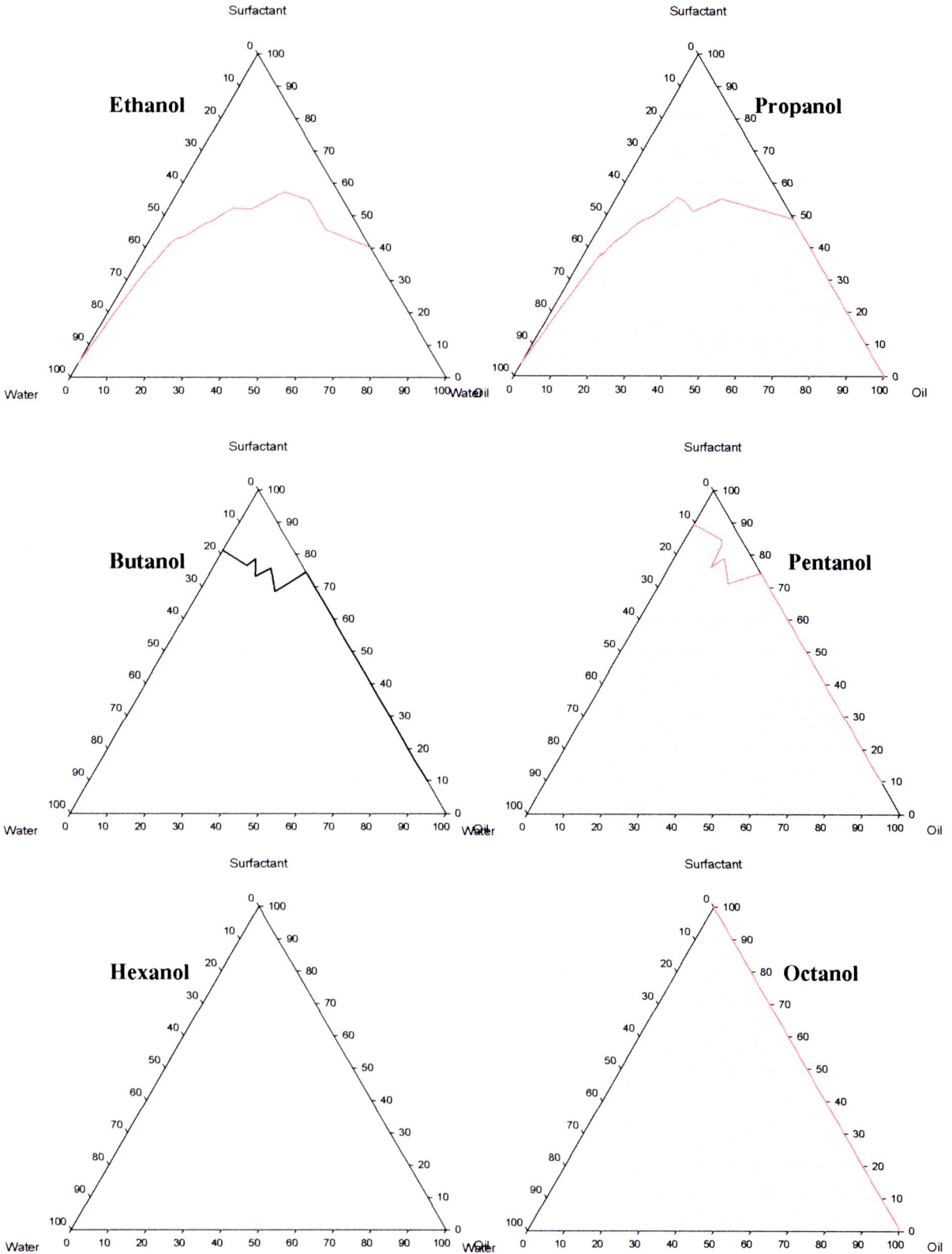
โดยทั่วไป co-surfactant ที่ใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชันมักเป็นสารจำพวก alcohol ที่มีจำนวนคาร์บอนประมาณ 2 – 8 ทั้งนี้จะเลือกใช้ตัวไหนต้องพิจารณาถึงความสามารถช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำและน้ำมัน และการก่อให้เกิดความระคาย ในการศึกษาผลของชนิดของ co-surfactant และสัดส่วนที่ใช้ร่วมกับ surfactant หลักในโครงการนี้ ได้ศึกษาเปรียบเทียบ co-surfactant 5 ชนิด ซึ่งมีจำนวนคาร์บอนแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3-32 พบว่าสารทั้งห้าตัวในสัดส่วนต่าง ๆ ทำให้เกิดขอบเขตของไมโครอิมัลชันใน phase diagram ของน้ำมันทั้งสองได้แตกต่างกัน โดยสรุปพบว่า ethanol ให้บริเวณของไมโครอิมัลชันใน phase diagram ได้กว้างที่สุด นอกจากนั้นยังพบว่า co-surfactant ยังมีจำนวนคาร์บอนเพิ่มขึ้น จะทำให้ขอบเขตของไมโครอิมัลชันใน phase diagram ของน้ำมันทั้งสามลดลง ดังแสดงในรูปที่ 3-21 ถึงรูปที่ 3-26 สัดส่วนของ surfactant ต่อ co-surfactant ในการทดลองนี้ใช้ 1:2, 1:1, และ 2:1 หากเปรียบเทียบสัดส่วนดังกล่าว พบว่าสัดส่วน 2:1 ให้บริเวณของไมโครอิมัลชันใน phase diagram ได้กว้างที่สุด รองลงมาเป็นสัดส่วน 1:1 และ 1:2 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3-27 ถึงรูปที่ 3-28 ผลการทดลองนี้จึงให้ข้อสรุปว่าควรนำ ethanol มาใช้เป็น co-surfactant ในระบบ นอกจากนั้นจากการทบทวนเอกสารพบว่า ethanol มีข้อดีคือมีความเป็นพิษน้อยและก่อให้เกิดความระคายเคืองน้อย และยังมีรายงานว่าการใช้ ethanol ซึ่งมีขนาดของโมเลกุลที่เล็ก จะสามารถใช้เป็น co-surfactant ได้ทั้งในระบบที่เป็น o/w และ w/o ได้ (Lawrence และคณะ, 2000; Tenjarla, 1999)

ตารางที่ 3-32 แสดงชื่อและจำนวนคาร์บอนของ co-surfactant

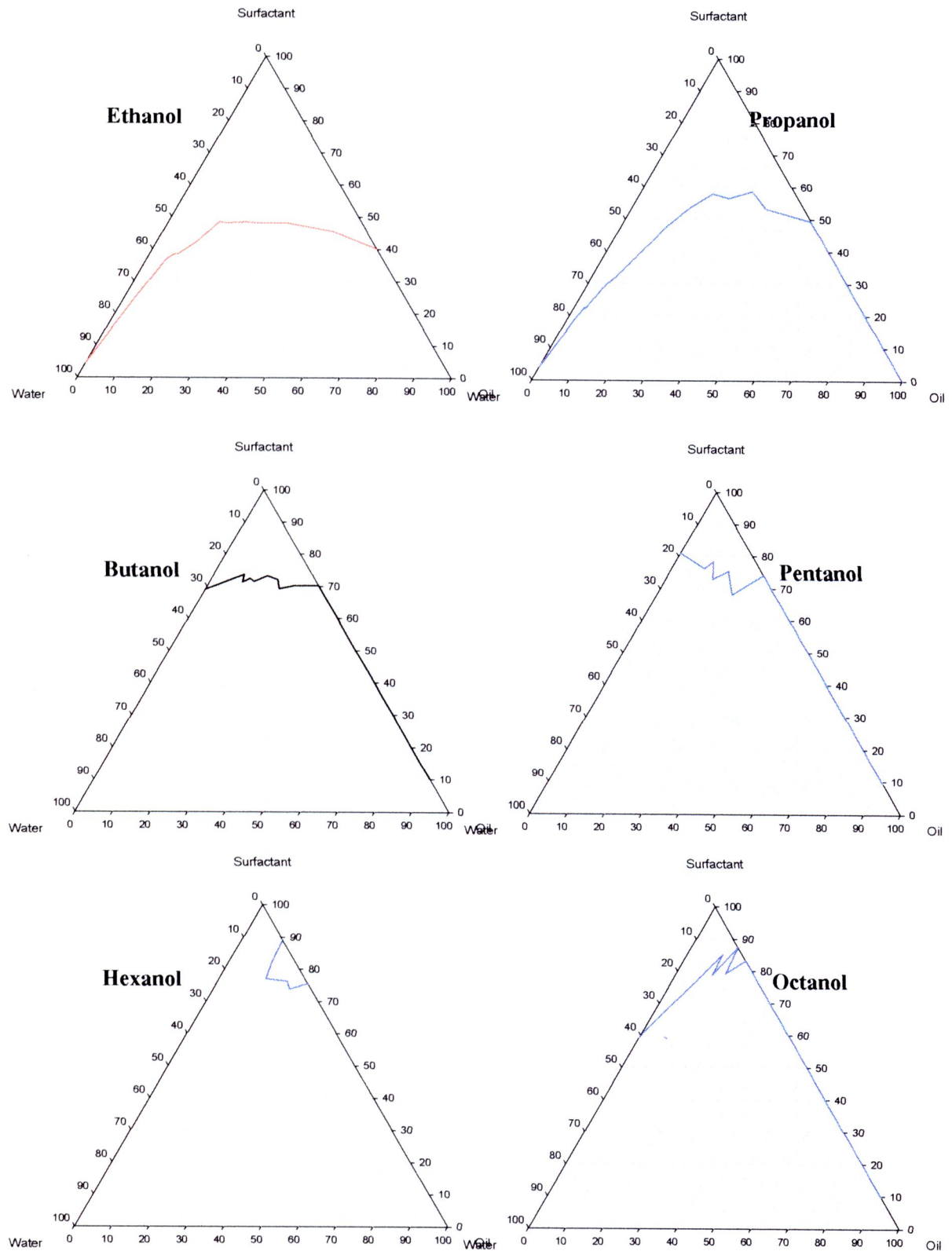
ชื่อสาร	ชื่อพ้อง	สูตรโมเลกุล / สูตรโครงสร้าง
Ethyl alcohol	ethanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
Propyl alcohol	<i>n</i> -propanol หรือ propan-1-ol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Butyl alcohol	<i>n</i> -butanol หรือ butan-1-ol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Amyl alcohol	<i>n</i> -pentanol หรือ pentan-1-ol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Octyl alcohol	<i>n</i> -octanol หรือ octan-1-ol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$

สาร electrolyte เมื่อเติมลงในไมโครอิมัลชันมักมีผลต่อ ionic strength ของระบบ (Bedwell และคณะ, 1984) การศึกษาผลของ electrolyte ในโครงการนี้ได้ใช้ sodium chloride และ calcium chloride เป็นตัวแทนของ monovalent electrolyte และ divalent electrolyte ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า electrolyte ทั้งสองชนิดมีผลต่อการเกิดไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้งสองเพียงเล็กน้อย แต่โดยภาพรวมไม่มีผลทำให้บริเวณไมโครอิมัลชันเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 3-29 ถึงรูปที่ 3-32 โดยทั่วไปแล้ว ionic strength จะมีผลต่อ surfactant โดยจะไปทำให้พื้นที่ส่วนหัวของ surfactant ลดลง เป็นผลให้โมเลกุลของ surfactant อยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้น ขนาดของ droplet ที่เป็น internal phase จึงลดลง ส่งผลให้พื้นที่ของไมโครอิมัลชันใน phase diagram ลดลง แต่เนื่องจากในโครงการนี้ได้เลือกใช้ non-ionic surfactant ซึ่งคาดว่ามีความไวต่อ ionic strength น้อยกว่า ionic surfactant ดังนั้น ionic strength จึงไม่มีผลมากต่อระบบ

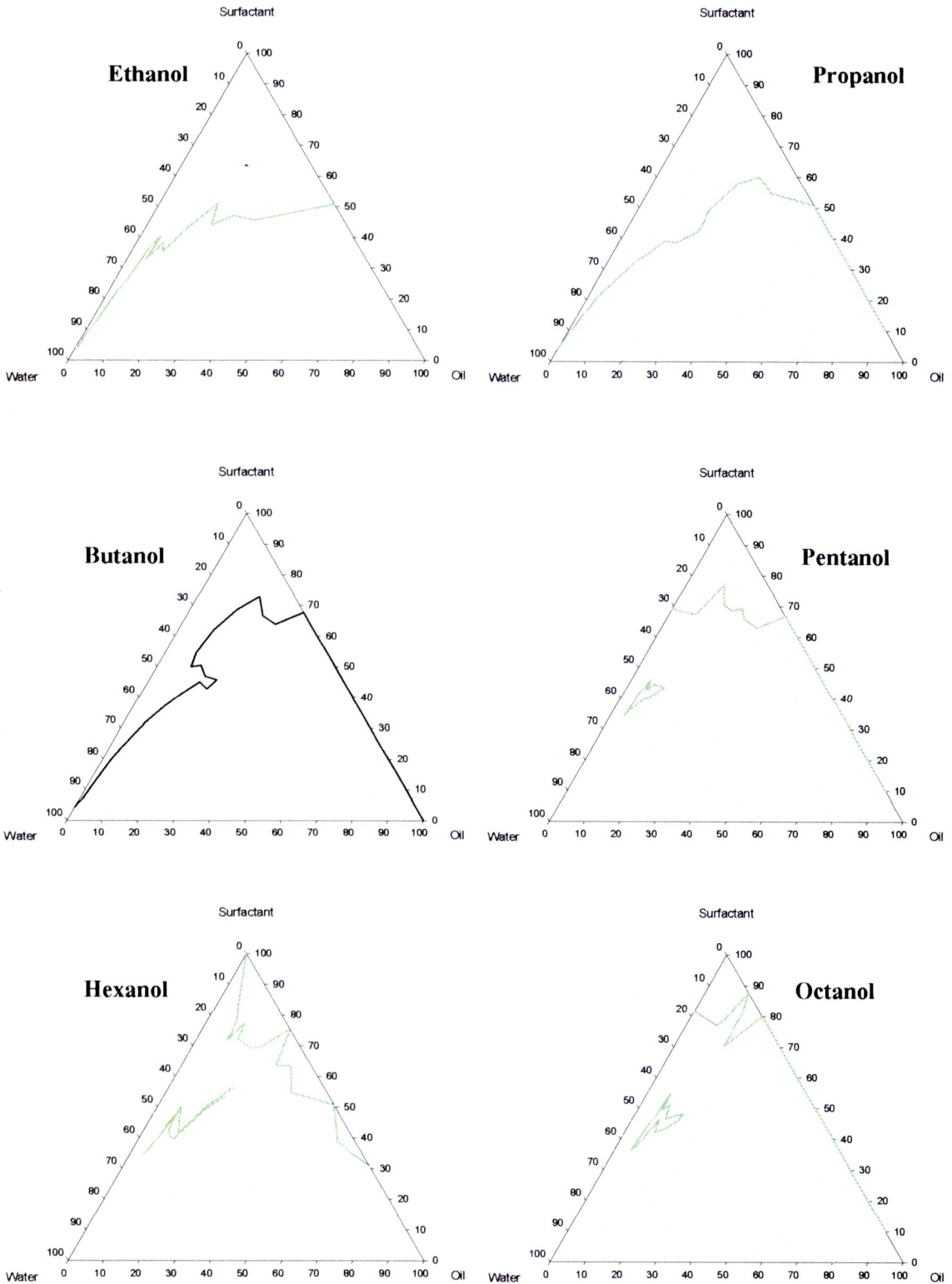
จากผลของ co-surfactant และสาร electrolyte ที่กล่าวข้างต้น เมื่อใช้สัดส่วนของ surfactant ต่อ co-surfactant เท่ากับ 2:1 ก่อให้เกิดบริเวณของไมโครอิมัลชันกว้างกว่าเมื่อใช้สัดส่วนอื่น ดังนั้นจึงพิจารณาว่าการศึกษาผลของปัจจัยอื่น ๆ ในขั้นตอนต่อไป ได้แก่ปัจจัยของ โครงสร้างโมเลกุลของ co-surfactant และปัจจัยของ pH ควรเลือกศึกษาในระบบที่มีสัดส่วนของ surfactant ต่อ co-surfactant เท่ากับ 2:1 เพื่อให้เห็นความชัดเจนของปัจจัยเหล่านั้นว่าจะก่อให้เกิด การเปลี่ยนแปลงต่อบริเวณไมโครอิมัลชันใน phase diagram ได้มากน้อยเพียงใด การศึกษาผล ของโครงสร้างโมเลกุลของ co-surfactant ได้เปรียบเทียบระหว่าง isopropanol และ n-propanol ซึ่งมีลักษณะ โครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบ branch chain และ straight chain ตามลำดับ ผลการทดลอง พบว่า n-propanol ซึ่งเป็น straight chain alcohol ทำให้เกิดบริเวณไมโครอิมัลชันมากกว่า isopropanol ซึ่งเป็น branch chain alcohol ดังแสดงในรูปที่ 3-33 ส่วนการศึกษาผลของ pH ได้ ศึกษาในช่วง pH 4.0 – 8.0 ผลการทดลองพบว่า pH มีผลต่อบริเวณของไมโครอิมัลชันเพียง เล็กน้อย โดยไม่ทำให้บริเวณไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้งสองเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 3-34 ถึงรูปที่ 3-35



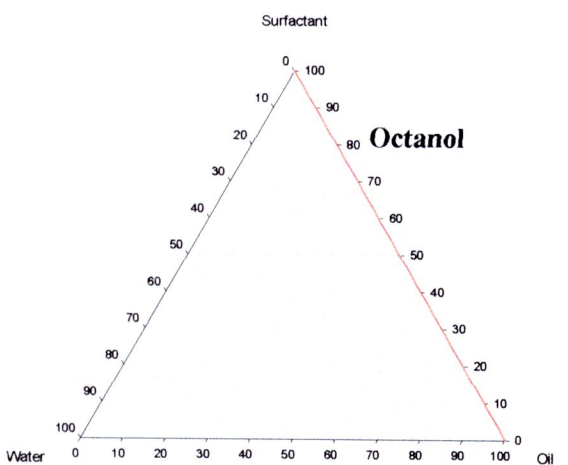
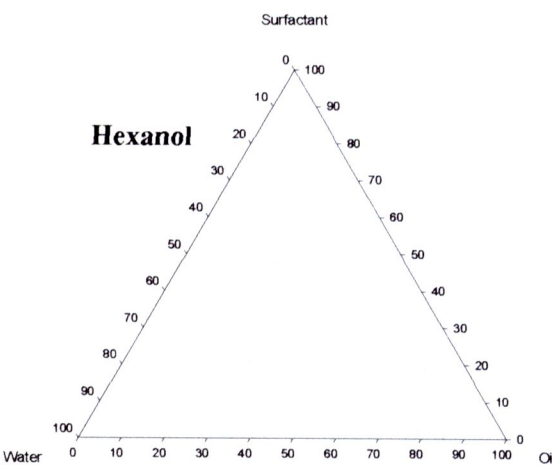
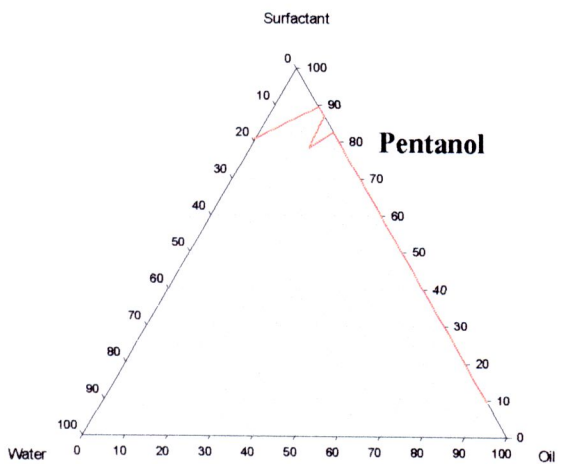
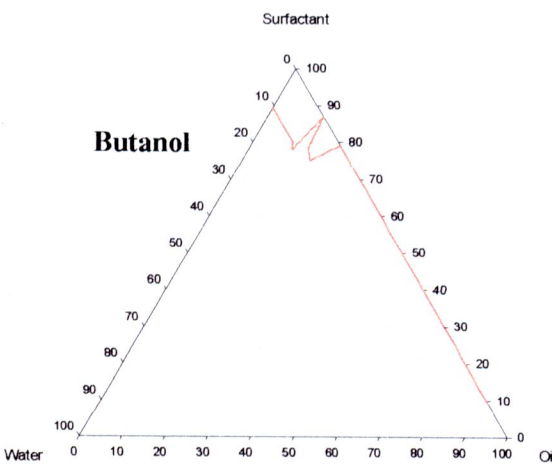
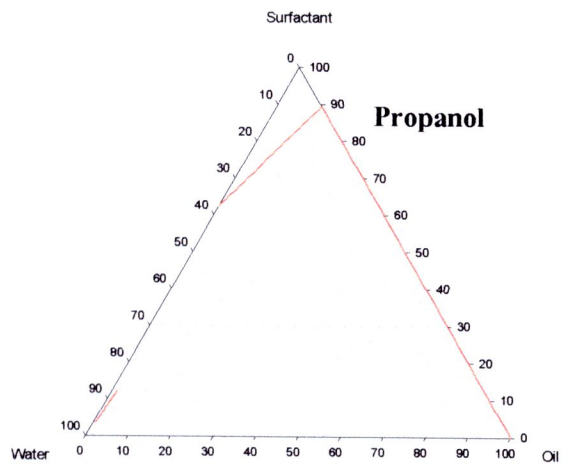
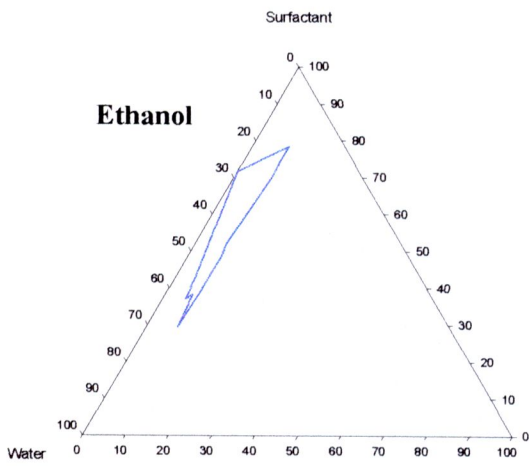
รูปที่ 3-21 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมัน
ตะไคร้ ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 1:2



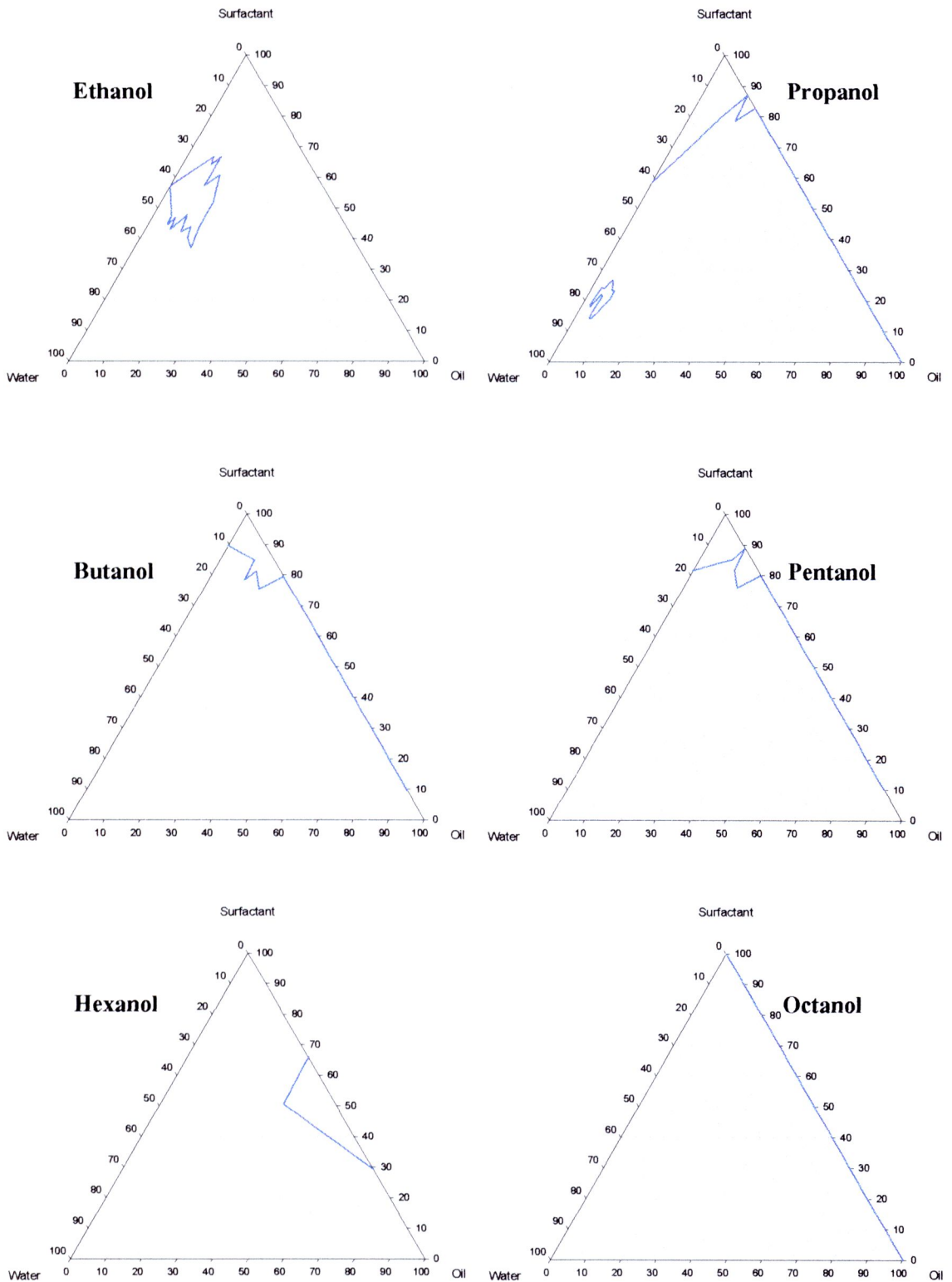
รูปที่ 3-22 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมัน
ตะไคร้ ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 1:1



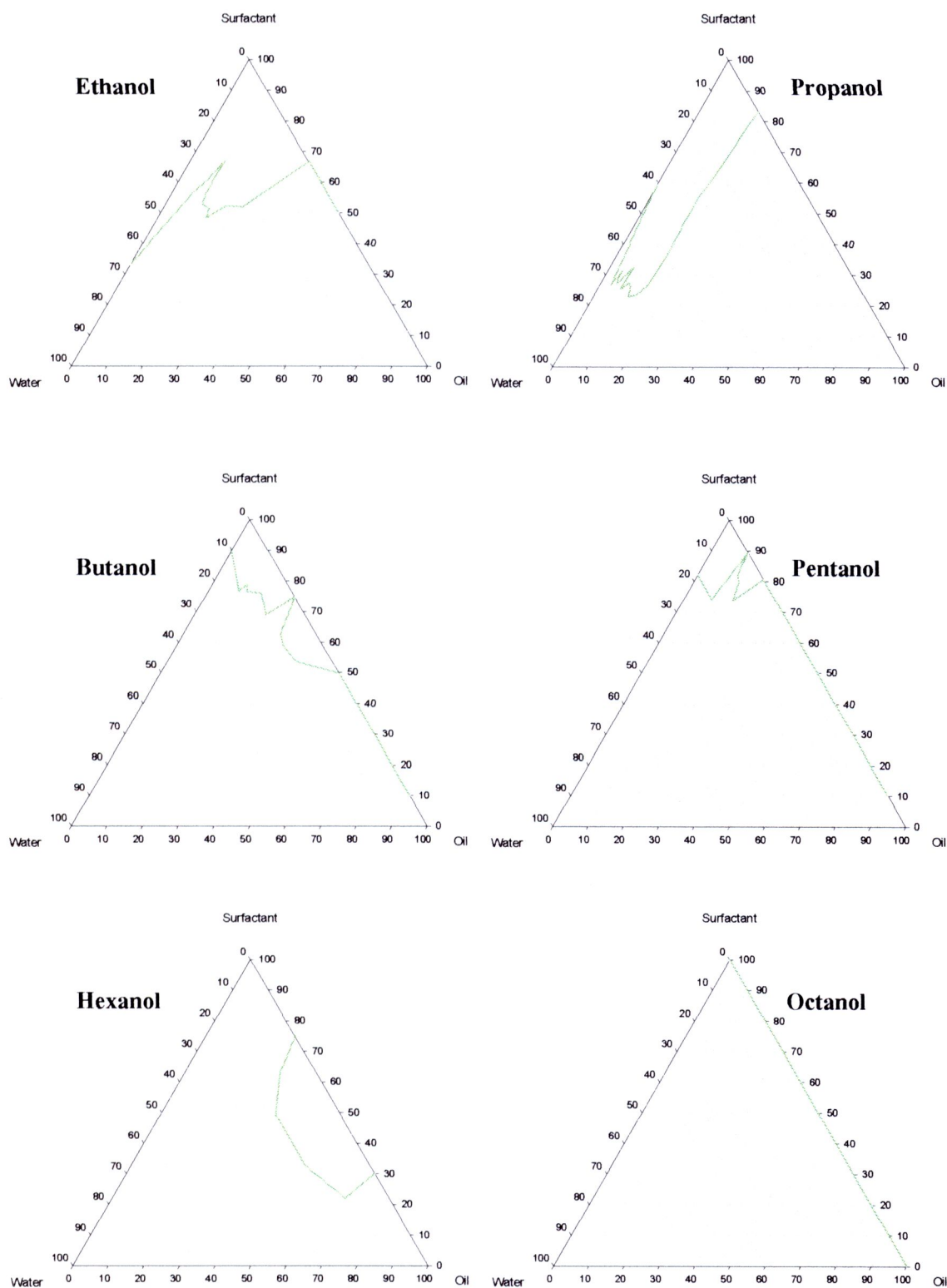
รูปที่ 3-23 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมัน
ตะไคร้ ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 2:1



รูปที่ 3-24 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมันงา ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 1:2



รูปที่ 3-25 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมันงา ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 1:1



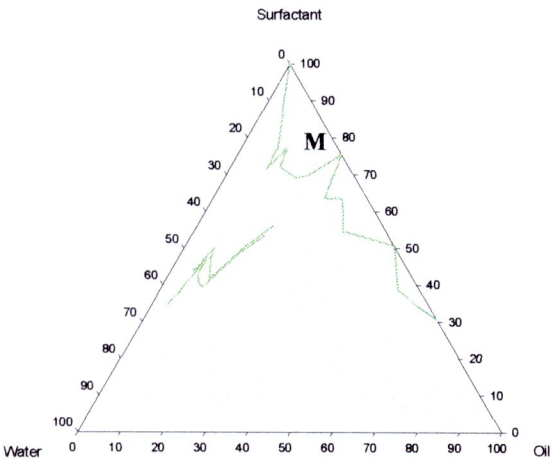
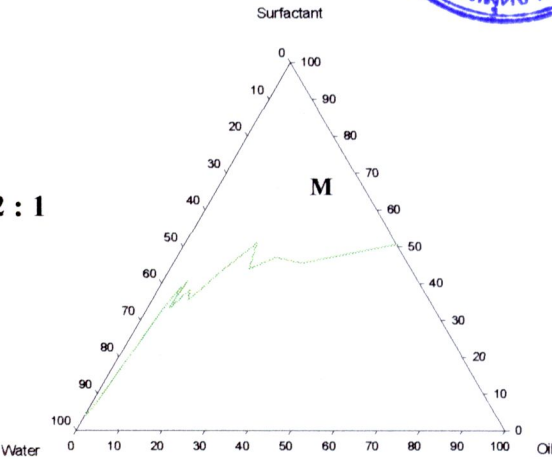
รูปที่ 3-26 ผลของจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล co-surfactant ต่อ phase diagram ของน้ำมันงา ที่มี สัดส่วนของ surfactant : co-surfactant เท่ากับ 2:1



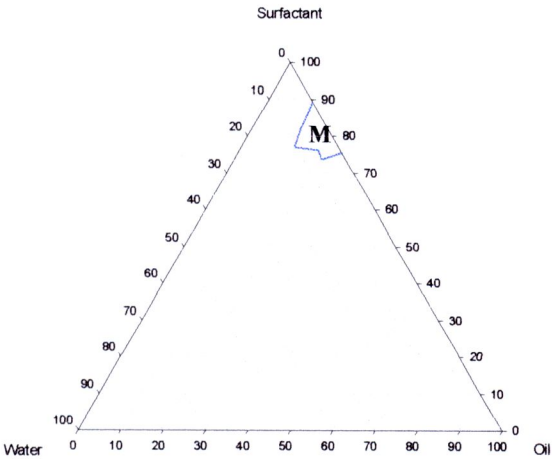
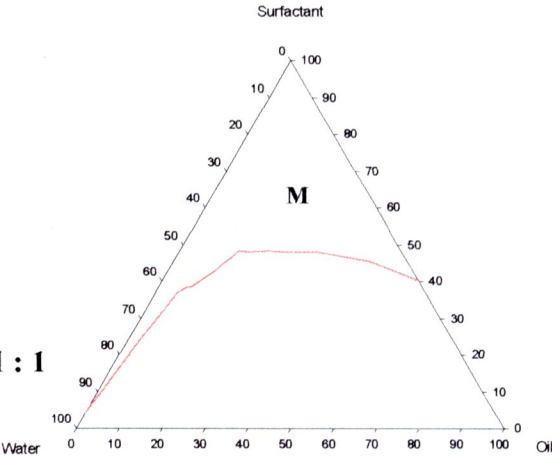
Tween 20 : Ethanol

Tween 20 : Hexanol

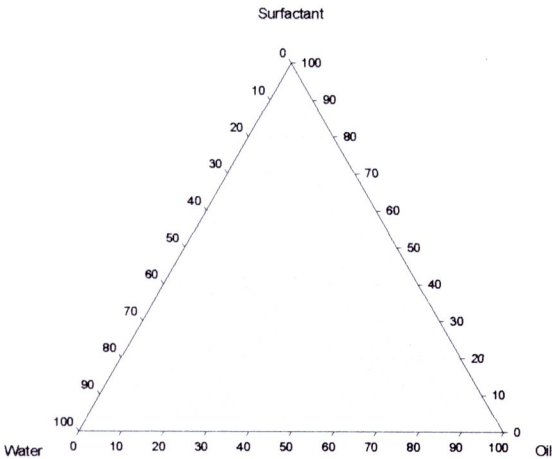
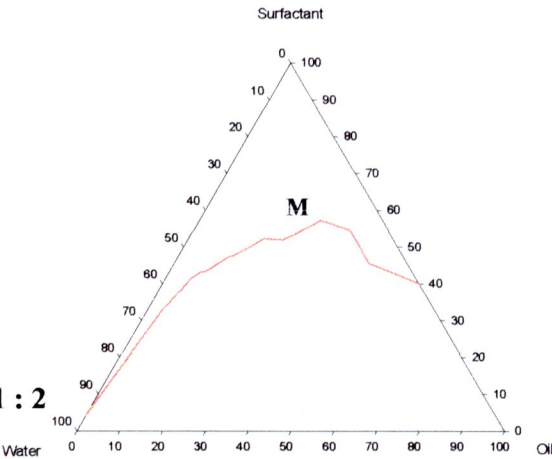
2 : 1



1 : 1



1 : 2

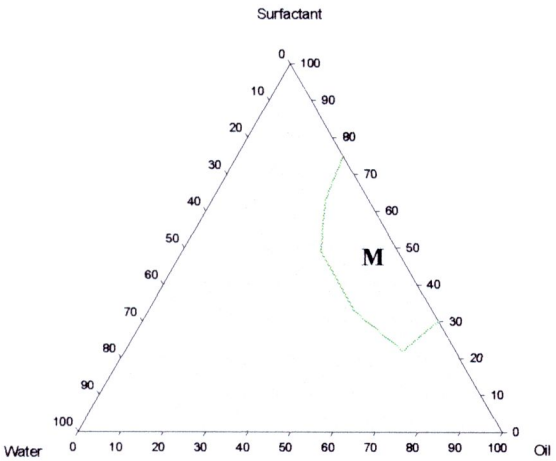
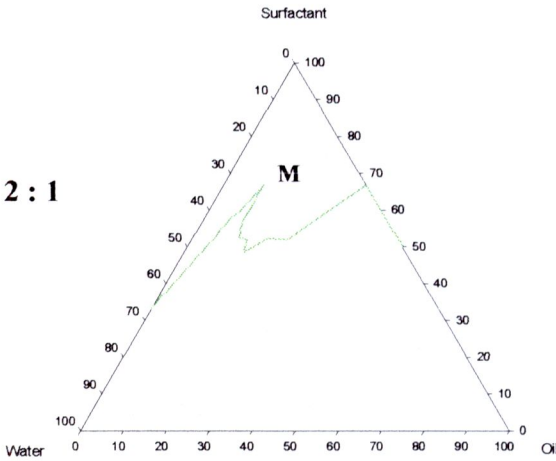


รูปที่ 3-27 ผลของ surfactant : co-surfactant ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้

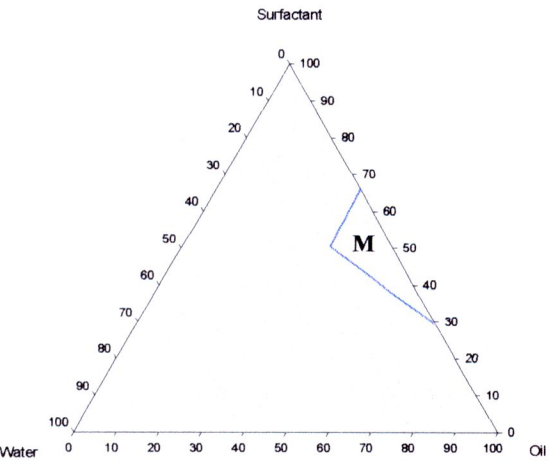
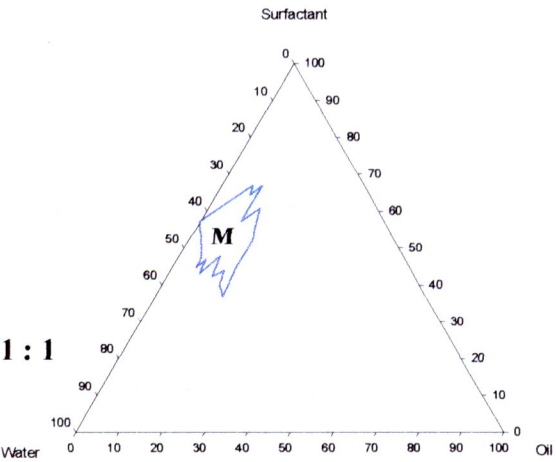
Tween 85 : Ethanol

Tween 85 : Hexanol

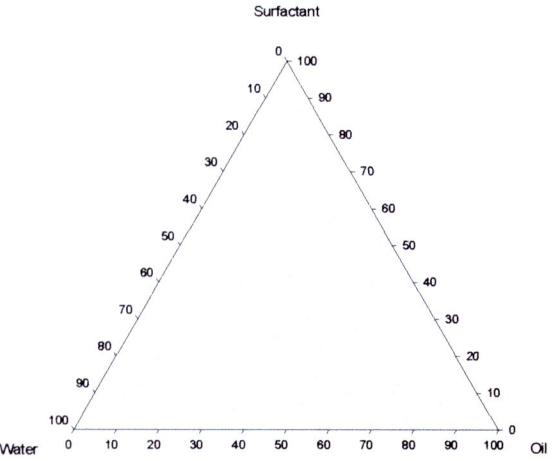
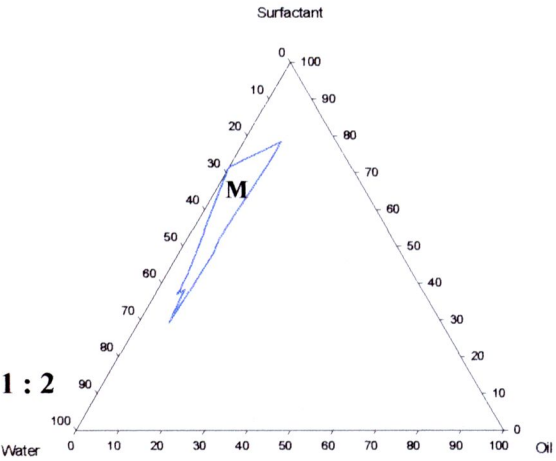
2 : 1



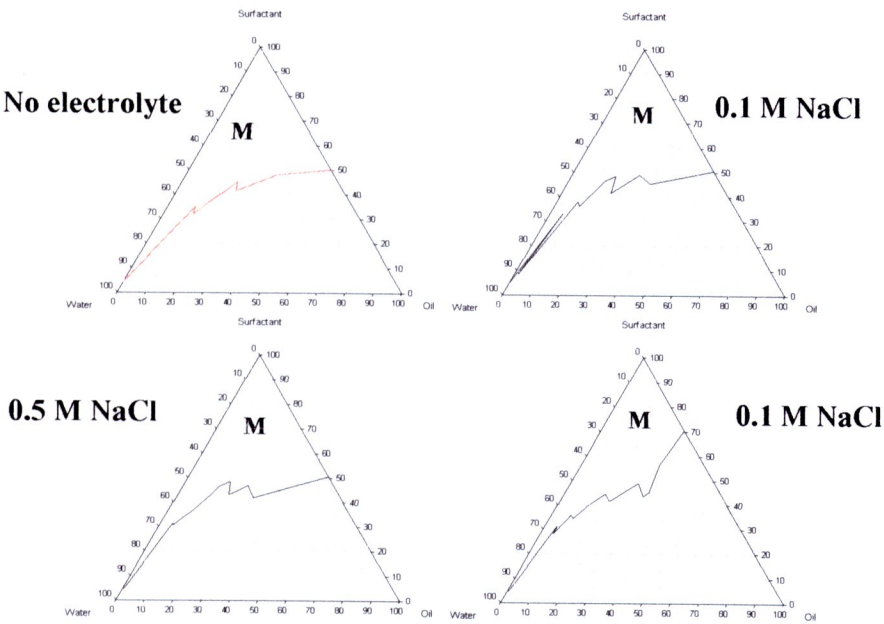
1 : 1



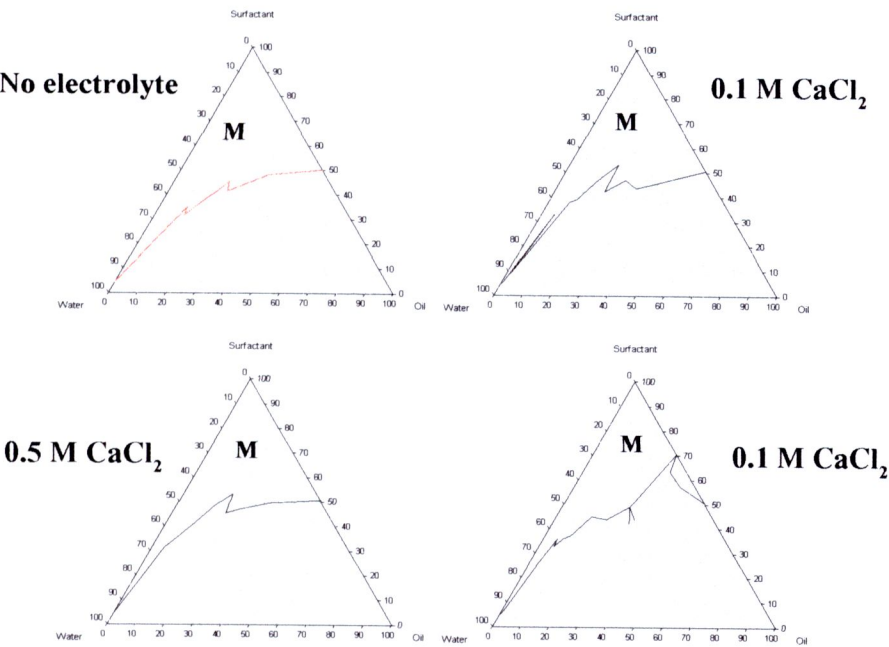
1 : 2



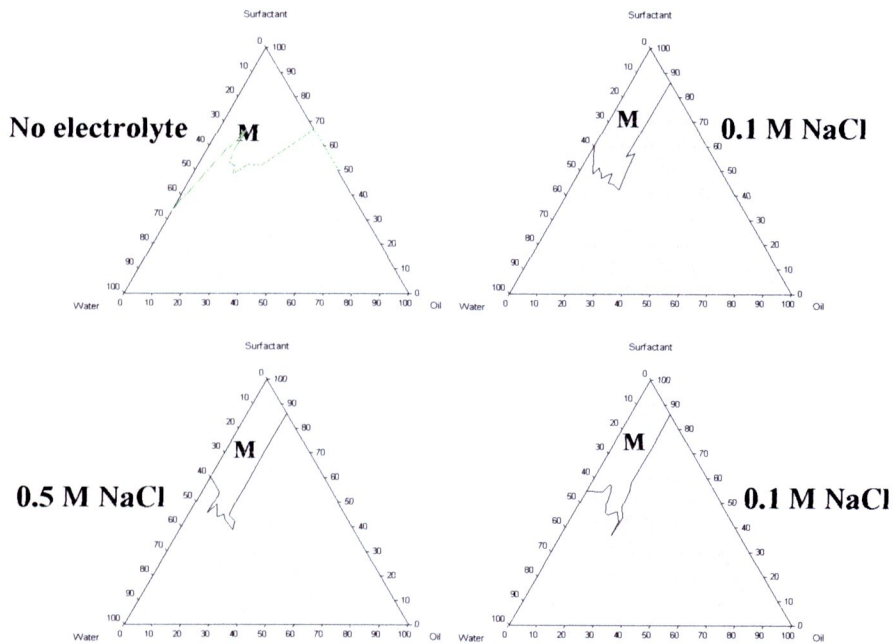
รูปที่ 3-28 ผลของ surfactant : co-surfactant ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา



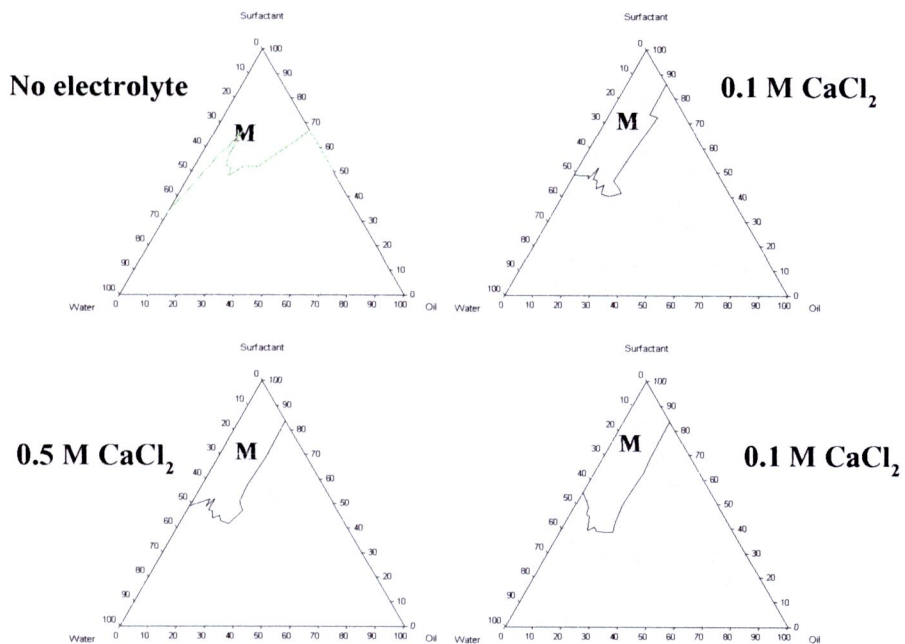
รูปที่ 3-29 แสดงผลของ NaCl ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้
เมื่อใช้ระบบ Surfactant คือ Tween 20 : Ethanol = 2:1



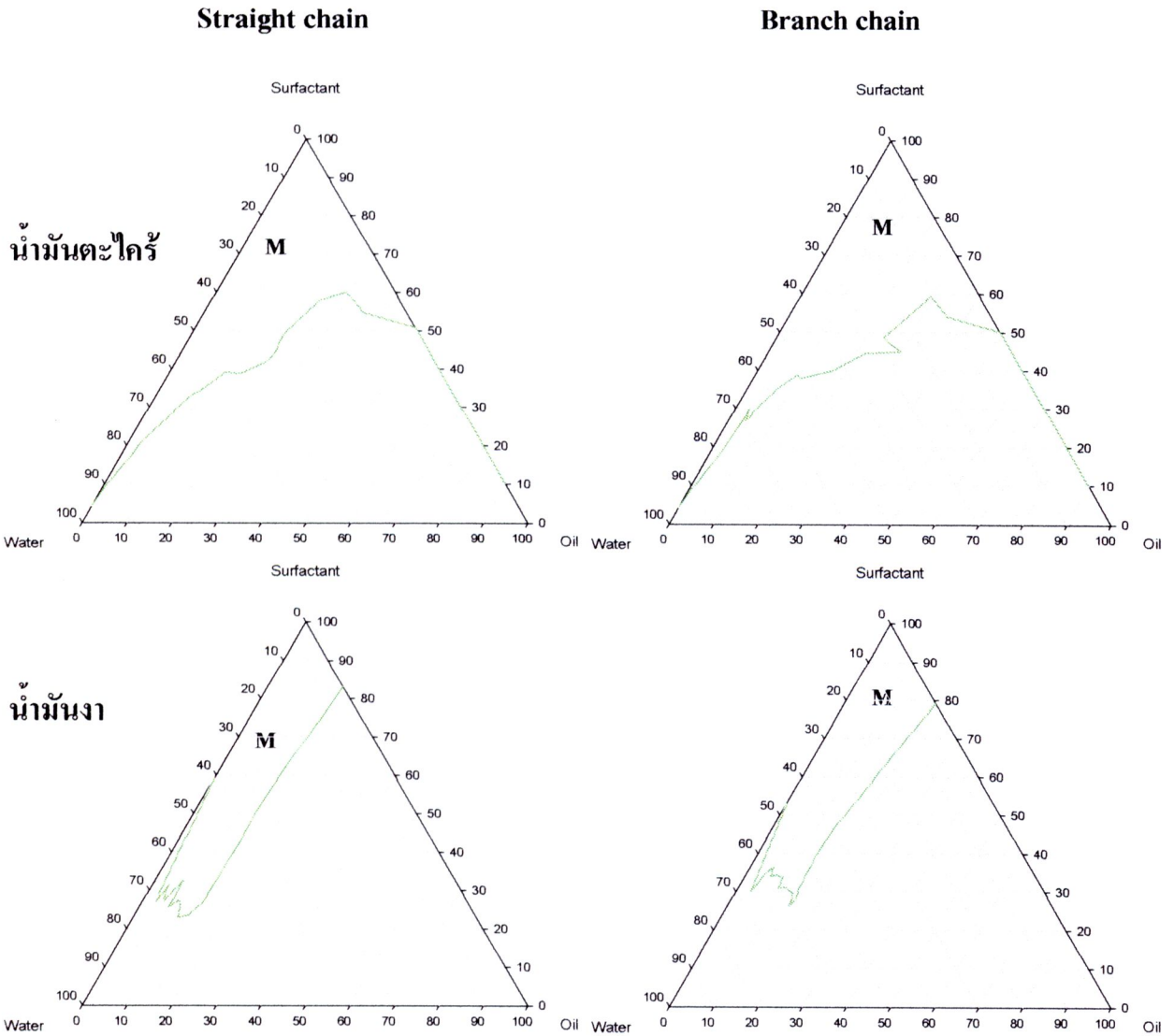
รูปที่ 3-30 แสดงผลของ CaCl₂ ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้
เมื่อใช้ระบบ Surfactant คือ Tween 20 : Ethanol = 2:1



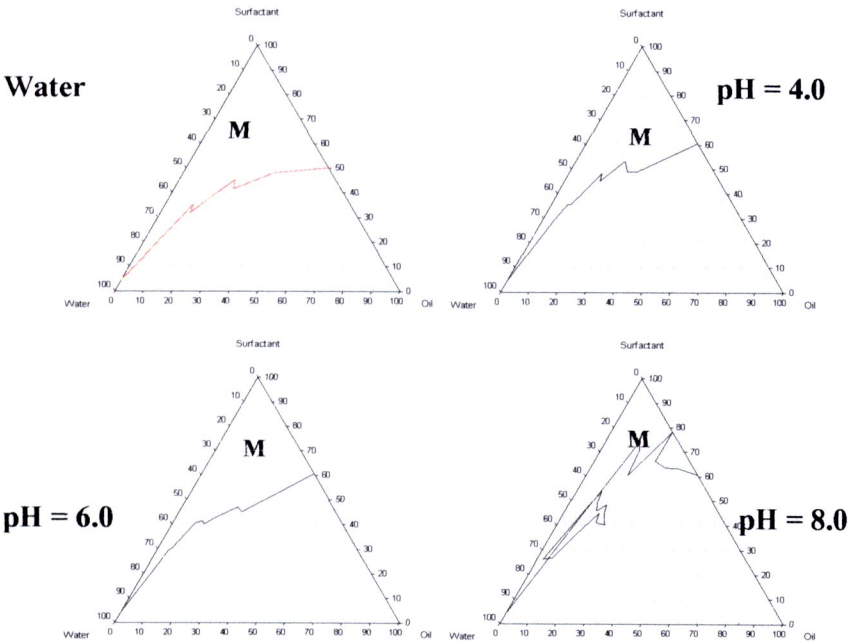
รูปที่ 3-31 แสดงผลของ NaCl ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา
เมื่อใช้ระบบ Surfactant คือ Tween 85 : Ethanol = 2:1



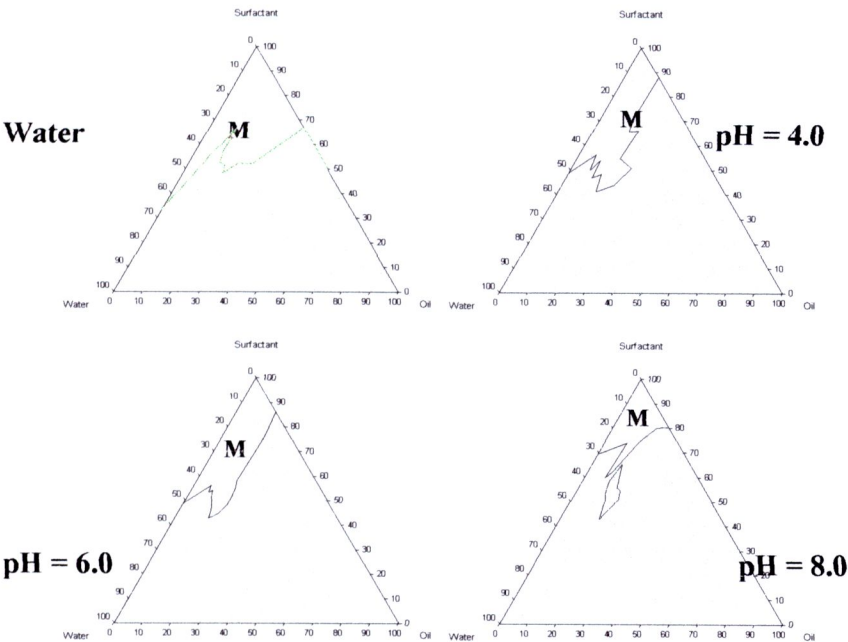
รูปที่ 3-32 แสดงผลของ CaCl₂ ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา
เมื่อใช้ระบบ Surfactant คือ Tween 85 : Ethanol = 2:1



รูปที่ 3-33 ผลของโครงสร้างของ co-surfactant ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M)



รูปที่ 3-34 แสดงผลของ pH ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันตะไคร้ (ระบบ Surfactant คือ Tween 20 : Ethanol = 2:1)



รูปที่ 3-35 แสดงผลของ pH ต่อบริเวณไมโครอิมัลชัน (M) ของน้ำมันงา (ระบบ Surfactant คือ Tween 85 : Ethanol = 2:1)

การเตรียมและประเมินตำรับไมโครอิมัลชัน

ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด ได้นำผลการทดลองจาก phase diagram มาพิจารณา และได้พิจารณาว่าควรเตรียมระบบที่บรรจุน้ำมันในปริมาณ 10% โดยเตรียมในรูปแบบไมโครอิมัลชันชนิด o/w และเตรียมอิมัลชันดั้งเดิมหรืออิมัลชันทั่วไปเพื่อเปรียบเทียบกับ โดยน้ำมันแต่ละชนิดจะเตรียมได้ 5 สูตร สูตรที่ 1 ของแต่ละน้ำมันจะเป็นสูตรอิมัลชันดั้งเดิม เตรียมโดยใช้พลังงานจากเครื่อง high pressure homogenizer สูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 5 เป็นสูตรไมโครอิมัลชัน เตรียมโดยไม่ใช้พลังงานใดๆ ยกเว้นการคนผสมเบาๆ สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีปริมาณ surfactant น้อยกว่าสูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 ส่วนสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4 เป็นสูตรไมโครอิมัลชันที่ไม่มี co-surfactant ดังนั้นจึงเตรียมได้ทั้งหมด 10 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 3-33 ลักษณะของแต่ละสูตรที่เตรียมได้แสดงในรูปที่ 3-36 ถึงรูปที่ 3-37 พบว่าสูตรของน้ำมันงาจะมีสีเหลืองมากกว่าน้ำมันตะไคร้ สูตรดั้งเดิมของน้ำมันทั้ง 2 มีลักษณะขุ่น มีการตกตะกอนของตัวยา และเมื่อตั้งไว้ภายใน 1 ชั่วโมงจะเห็นการแยกชั้นเนื่องจากไม่สามารถรับปริมาณน้ำมันได้มากถึง 10% ไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้ง 2 ชนิดที่มีทั้ง surfactant และ co-surfactant มีลักษณะใสเป็นเนื้อเดียวกันสวยงามมาก สูตรที่ไม่มี co-surfactant มีเพียงน้ำมันตะไคร้ที่ยังให้ความใสแสดงการเข้ากันได้ของน้ำมันและน้ำ ส่วนน้ำมันงาสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4 มีลักษณะขุ่นแต่ไม่แยกชั้นแสดงว่าไม่ใช่ไมโครอิมัลชัน

ตารางที่ 3-33 แสดงสูตรไมโครอิมัลชันและอิมัลชันดั้งเดิม

สูตรที่	ชื่อสูตร	ปริมาณ (% w/w)				เทคนิค การเตรียม
		น้ำมัน	Surfactant	Co-surfactant	น้ำกลั่น	
(น้ำมันตะไคร้ = LM)						
1	LM-1	10	10	0	80	อิมัลชันดั้งเดิม
2	LM-2	10	33	0	57	ไมโครอิมัลชัน
3	LM-3	10	33	17	40	ไมโครอิมัลชัน
4	LM-4	10	40	0	50	ไมโครอิมัลชัน
5	LM-5	10	40	20	30	ไมโครอิมัลชัน
(น้ำมันงา = SE)						
1	SE-1	10	10	0	80	อิมัลชันดั้งเดิม
2	SE-2	10	33	0	57	ไมโครอิมัลชัน
3	SE-3	10	33	17	40	ไมโครอิมัลชัน
4	SE-4	10	40	0	50	ไมโครอิมัลชัน
5	SE-5	10	40	20	30	ไมโครอิมัลชัน



(LM-1)

(LM-2)

(LM-3)

(LM-4)

(LM-5)

รูปที่ 3-36 แสดงลักษณะของตำรับน้ำมันตะไคร้



(SE-1)

(SE-2)

(SE-3)

(SE-4)

(SE-5)

รูปที่ 3-37 แสดงลักษณะของตำรับน้ำมันงา

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ทุกสูตรไปวัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของวัดภาคภายใน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3-34 ผลการทดลองพบว่าสูตรที่เป็นอิมัลชันดั้งเดิมมีขนาดอนุภาคของวัดภาคภายในใหญ่มากและมีการกระจายขนาดมากที่สุด ในขณะที่สูตรไมโครอิมัลชันมีขนาดอนุภาคที่เล็กกว่าและมีการกระจายขนาดน้อยกว่า เมื่อพิจารณาในระบบไมโครอิมัลชันพบว่าขนาดของวัดภาคภายในของแต่ละระบบมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและปริมาณของ surfactant, co-surfactant และน้ำมันที่ใช้ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Kang และคณะ (2004) ผลการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าบางสูตรมีลักษณะเป็นเจลขุ่นเล็กน้อย ซึ่งคาดว่าโครงสร้างภายในจะเป็น bicontinuous structure (Bagwe และคณะ, 2001) จึงไม่สามารถวัดขนาดวัดภาคภายในด้วยเครื่อง PCS ได้

การนำไฟฟ้า (electrical conductivity) เป็นสมบัติที่ใช้อธิบายโครงสร้างของระบบที่ประกอบด้วยน้ำ น้ำมัน และ surfactant ได้ (Kumar และคณะ, 1999) ระบบดังกล่าวได้แก่อิมัลชันทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นไมโครอิมัลชันหรืออิมัลชันดั้งเดิม โดยหากการนำไฟฟ้ามีค่ามากกว่า $50 \mu\text{S}/\text{cm}$ ขึ้นไป ระบบนั้นจะเป็นชนิด o/w ซึ่งเข้ากับน้ำได้ดี แต่หากมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่านี้ ระบบจะมีโครงสร้างเป็นชนิด w/o ซึ่งไม่สามารถเข้ากับน้ำได้ ผลการทดลองการนำไฟฟ้าของอิมัลชันทั้ง 10 สูตร พบว่ามีค่าการนำไฟฟ้ามากกว่า $100 \mu\text{S}/\text{cm}$ จึงมั่นใจว่าทุกสูตรเป็นระบบ o/w ซึ่งเป็นระบบที่เข้ากับน้ำได้ตามต้องการ

การศึกษาความคงสภาพ

จากการศึกษาความคงสภาพทางกายภาพพบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์น้ำมันทั้ง 10 สูตรไว้ในสถานะต่าง ๆ มีผลทำให้ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงไปได้แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 3-38 สำหรับผลิตภัณฑ์น้ำมันตะไคร้ และรูปที่ 3-39 สำหรับผลิตภัณฑ์น้ำมันงา โดยพบว่าสูตรที่ 1 ของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด ที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เกิดการแยกชั้น แสดงถึงความไม่มีประสิทธิภาพของระบบอิมัลชันทั่วไปในการรับน้ำมันปริมาณมาก สำหรับสูตรที่ 2 ถึง สูตรที่ 5 พบว่าเมื่อเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส มีสีเข้มขึ้น แต่หากเปรียบเทียบอย่างละเอียดพบว่ามีความแตกต่างกันเนื่องจากชนิดของน้ำมัน หากเป็นน้ำมันตะไคร้ พบว่าผลิตภัณฑ์สูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 5 ถือว่าเป็นระบบไมโครอิมัลชันอย่างสมบูรณ์ สูตรที่ 3 และสูตรที่ 5 มีความคงสภาพดีไม่แยกชั้นตลอดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ ส่วนน้ำมันงา มีเพียงสูตรที่ 3 และสูตรที่ 5 เท่านั้น ที่ถือว่าเป็นระบบไมโครอิมัลชันอย่างสมบูรณ์และมีความคงสภาพดี หาก

เปรียบเทียบความใสระหว่างสูตรที่ 3 และสูตรที่ 5 ของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันสูตรที่ 5 ซึ่งมีปริมาณระบบ surfactant มากกว่ามีความใสกว่าผลิตภัณฑ์สูตรที่ 3 เมื่อเก็บนาน 5 เดือน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของระบบ surfactant ก็มีความสำคัญต่อความคงสภาพของไมโครอิมัลชันเช่นกัน ผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกันจะเห็นว่าไมโครอิมัลชันของน้ำมันงามีสีเหลืองมากกว่าผลิตภัณฑ์ของน้ำมันตะไคร้

ผู้วิจัยได้ทำการสรรหาภาชนะบรรจุที่มีลักษณะสวยงามเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์และได้ทดลองบรรจุผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด ลงในภาชนะดังกล่าว พบว่าได้รูปแบบที่น่าใช้ดังแสดงในรูปที่ 3-40

ตารางที่ 3-34 แสดงขนาดและการกระจายขนาดของวัตถุกายใน และค่าการนำไฟฟ้าของผลิตภัณฑ์ทั้ง 10 สูตร

ชื่อสูตร	ขนาด (nm)	การกระจายขนาด	Conductivity (μS)
(น้ำมันตะไคร้ = LM)			
LM-1	292.77 ± 79.11	0.78 ± 0.06	11440.00 ± 88.89
LM-2	ND	ND	3960.00 ± 10.00
LM-3	24.54 ± 0.33	0.38 ± 0.02	1353.00 ± 44.71
LM-4	52.64 ± 1.20	0.35 ± 0.01	2623.33 ± 76.38
LM-5	28.77 ± 2.62	0.22 ± 0.01	654.33 9.07
(น้ำมันงา = SE)			
SE-1	529.23 ± 19.50	0.98 ± 0.02	6103.33 ± 55.08
SE-2	ND	ND	403.33 ± 3.21
SE-3	76.38 ± 0.26	0.46 ± 0.01	1741.67 ± 35.73
SE-4	ND	ND	157.30 ± 39.09
SE-5	74.58 ± 0.51	0.55 ± 0.01	938.67 ± 24.58

หมายเหตุ ND = ไม่สามารถวัดได้ด้วยเครื่องมือที่ใช้เนื่องจากระบบมีลักษณะกึ่งแข็ง

HT



RT



LT



F-T



รูปที่ 3-38 แสดงความคงสภาพของตัวรับน้ำมันตะไคร้ที่เก็บในสถานะต่าง ๆ

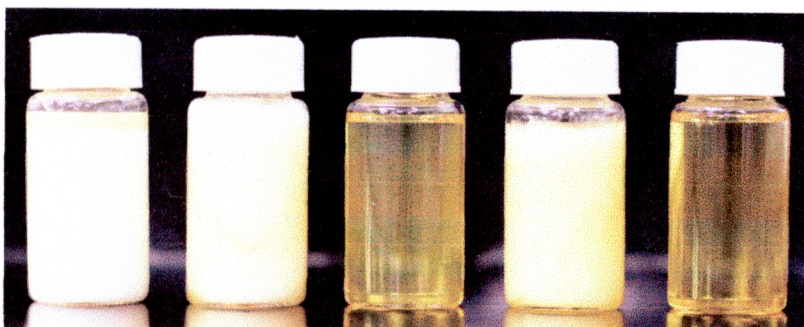
(HT = อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, RT = อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส,

LT = อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, F-T = อุณหภูมิพอกผัน)

HT



RT



LT



F-T



รูปที่ 3-39 แสดงความคงสภาพของตัวรับน้ำมันงาที่เก็บในสภาวะต่าง ๆ

(HT = อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, RT = อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส,

LT = อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, F-T = อุณหภูมิผกผัน)



น้ำมันตะไคร้



น้ำมันงา

รูปที่ 3-40 ลักษณะผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของน้ำมันจากพืชไทยที่พัฒนาได้