

การพัฒนาวิธีเตรียมผงไพลที่มีคุณภาพตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

Development of the Preparation Methods for Qualified Cassumunar Ginger Powder Based on Thai Herbal Pharmacopoeia Standards

ธวัชชัย ศรีสุวรรณ¹ ทวีภรณ์ ศิริคช¹ อิชยาน จีเกษม² อัสมะ ดาโอะ²
มูรณี สาแลแม² อัสลัมนา สาและ² และสนั่น ศุภธีรสกุล^{3*}

Thawatchai Srisuwan¹, Thaweepon Keereekoch¹, Izyan Chikasem², Asma Da-o²,
Murnee Salaemae², Aslamna Saleh² and Sanan Subhadhirasakul^{3*}

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีเตรียมผงไพลที่มีคุณภาพตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย โดยแบ่งตัวอย่างเหง้าไพลเป็น 3 กลุ่ม 5 ตัวอย่าง ได้แก่ กลุ่มที่ 1 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 หรือ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กลุ่มที่ 2 แห่สารละลายต่างทับทิม (KMnO₄) ที่ความเข้มข้น 100 ppm หรือ 200 ppm เป็นเวลา 15 นาที และกลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านกระบวนการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์) พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยส่วนอีก 4 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยไพลด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีองค์ประกอบหลักทางเคมี คือ Triquinacene, 1,4-bis(methoxy) (48.86%), Terpinene-4-ol (8.49%), Sabinene (6.94%), 2-Allyl-1, 4-dimethoxy-3-methyl-benzene (6.12%) และ β -Sesquiphellandrene (6.09%) และเมื่อเปรียบเทียบ % relative peak area กับกลุ่มควบคุม พบว่าองค์ประกอบหลักในกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์น้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เป็นวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมผงไพลที่ได้คุณภาพ

คำสำคัญ: คุณภาพของผงไพล การนึ่งฆ่าเชื้อ ต่างทับทิม

¹ นักศึกษาปริญญาโท คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110

² นักศึกษาปริญญาตรี คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110

³ รศ.ดร., คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110

* Corresponding Author: e-mail: sanan.s@psu.ac.th Tel.074-282700

Abstract

For the development preparation methods for qualified cassumunar ginger powder (*Zingiber cassumunar* Roxb.) based on Thai Herbal Pharmacopoeia, fresh cassumunar ginger rhizome was divided into 3 groups with a total of 5 treatments. The first group was sterilized by steam at 121°C or 115°C for 15 minutes. The second group was soaked into potassium permanganate solution (KMnO_4) at a concentration of 100 ppm or 200 ppm for 15 minutes. The third group was the untreated control group which was untreated. The results showed that the steam sterilization of the rhizomes at 121°C for 15 minutes passed all the standards of Thai Herbal Pharmacopoeia, while the other 4 treatments had microbial contamination. The components in volatile oil were determined by GC-MS. The ratio of components contents in volatile oil which was sterilized at 121 °C for 15 minutes in the treatment sample were different from that of the control group. It was consisted of Triquinacene, 1,4-bis (methoxy) (48.86%), Terpinene-4-ol (8.49%), Sabinene (6.94%), 2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene (6.12%) and β -Sesquiphellandrene (6.09%). The percentage of the relative peak area of major components in the steam sterilization of the rhizomes at 121°C for 15 minutes treatment sample was lower than that of the control group. However, steam sterilization of the rhizomes at 121°C for 15 minutes was a suitable preparation method for qualified cassumunar ginger powder.

Keywords: Cassumunar Ginger Powder Qualified, Steam Sterilization, Potassium Permanganate (KMnO_4)

บทนำ

โพลเป็นอีกพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ได้รับการบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยจัดอยู่ในยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณ ยารักษาอาการทางสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คือ ยาประสะโพล มีสรรพคุณบรรเทาอาการปวดประจำเดือน อาการระดูมาไม่ปกติ และขับน้ำคาวปลาในหญิงหลังคลอด และยังจัดอยู่ในยาพัฒนาจากสมุนไพร ในยากลุ่มอาการทางกล้ามเนื้อและกระดูก โดยเป็นยาสำหรับใช้ภายนอก คือ ยาครีมโพล และยาน้ำมันโพล มีสรรพคุณบรรเทาอาการบวม ฟกช้ำ เคล็ดขัดยอก ทำให้มีการใช้โพลในการรักษาโรคอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการนำโพลมาแปรรูปให้อยู่ในผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆ เช่น ยาผง ยาแคปซูล [1] แต่ในการผลิตยาสมุนไพรที่มาจากส่วนรากหรือเหง้าของพืชมักเกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากดินในปริมาณมาก โดยจากการสำรวจคุณภาพยาสมุนไพรของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ และการศึกษาความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พบตัวอย่างที่ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ [2-3]

ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีการฉายรังสีแกมมาเพื่อใช้ในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ทั้งในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สมุนไพร แต่หน่วยงานที่ให้บริการฉายรังสียังมีจำนวนน้อยและการเข้าถึงบริการที่ค่อนข้างยาก เนื่องจากหน่วยงานที่ให้บริการฉายรังสีแกมมาตั้งอยู่ในกรุงเทพฯ และเขตปริมณฑล [4] ทำให้สถานพยาบาลที่อยู่ห่างไกล หรือผู้ผลิตที่มีกำลังผลิตในปริมาณน้อย ไม่คุ้มทุนในการผลิต เนื่องจากต้องมียอดต้นทุนค่าขนส่งที่เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ด้วยวิธีต่างๆ ในเหง้าขมิ้นชันของ Chusri et al. [5] เช่น การแช่ด้วยเอทานอล 70% (v/v) การต้มในน้ำเดือด การต้มด้วยกรดอะซิติก 5% (v/v) การนึ่ง และการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าการเตรียมผงขมิ้นชันจากเหง้าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เป็นวิธีที่ทำให้ผงขมิ้นชันปราศจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์และคงปริมาณสารสำคัญ คือ ปริมาณ Curcuminoids ในปริมาณสูง

และการศึกษาผลของเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อต่อคุณภาพของผงขมิ้นชันของทวีภรณ์ และคณะ [6] พบว่าการเตรียมผงขมิ้นชันจากเหง้าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เป็นวิธีที่ทำให้ได้ผงขมิ้นชันที่มีคุณภาพเป็นไปตามเกณฑ์ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย แต่การเตรียมสมุนไพรด้วยวิธีดังกล่าว มีต้นทุนในการผลิตสูงเมื่อคิดต้นทุนของเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อในการเตรียมผงขมิ้นชันให้ปราศจากจุลินทรีย์ คณะผู้วิจัยจึงสนใจการใช้สารละลายต่างหัตถิมาแช่เหง้าไพลเพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์การใช้ต่างหัตถิเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่ใช้กันมา และเป็นวิธีที่สะดวกทำได้ง่าย ซึ่งจากการศึกษาของ Sukul *et al.* [7] พบว่าการใช้ต่างหัตถิที่ความเข้มข้น 50 ppm และ 100 ppm สามารถลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในใบผักชีได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาวิธีเตรียมตัวอย่างทั้ง 2 วิธีคือ วิธีการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 หรือ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และการแช่ในสารละลายต่างหัตถิที่ความเข้มข้น 100 ppm หรือ 200 ppm โดยการใช้สารละลายต่างหัตถิจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 2 เท่า จากการศึกษานี้ของ Sukul *et al.* [7] เนื่องจากใช้กับตัวอย่างสมุนไพรที่มาจากส่วนของเหง้าใต้ดิน เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมผงยาไพลให้มีคุณภาพเป็นไปตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาคุณภาพของผงไพล ที่เตรียมด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อและการแช่ด้วยสารละลายต่างหัตถิ

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมผงไพล

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ เหง้าไพลสดอายุประมาณ 1 ปี 7 เดือน เก็บตัวอย่างในเดือนกันยายน 2557 จากแหล่งปลูกเดียวกันในอำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง นำตัวอย่างมาล้างทำความสะอาด ตัดราก และสะเด็ดน้ำให้แห้ง จากนั้นแบ่งตัวอย่างเป็น 3 กลุ่ม 5 ตัวอย่าง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการนึ่งฆ่าเชื้อต่อคุณภาพของผงไพล โดยนำตัวอย่างเหง้าไพลสดเข้าเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้อุณหภูมิในการนึ่งฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน 2 ตัวอย่างคือ อุณหภูมิ 121 หรือ 115 องศาเซลเซียส

กลุ่มที่ 2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของต่างหัตถิต่อคุณภาพของผงไพล นำตัวอย่างเหง้าไพลสดแช่ในสารละลายต่างหัตถิเป็นเวลา 15 นาที โดยใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 2 ตัวอย่าง คือ ความเข้มข้น 100 ppm หรือ 200 ppm

กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุม คือ ตัวอย่างเหง้าไพลสดไม่ผ่านกระบวนการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากนั้นนำไพลที่ได้ในแต่ละกลุ่มมาหั่นเป็นชิ้นบางๆ ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องตัดหั่นสมุนไพรอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดยาสมุนไพร นำไปร่อนผ่านร่อนเบอร์ 100 เก็บผงไพลที่ได้ในภาชนะที่สะอาด เพื่อนำไปตรวจสอบคุณภาพของผงไพลในการทดลองต่อไป ขั้นตอนการเตรียมผงไพลทำในห้องที่สะอาด ภายในห้องมีหลอดยูวีเพื่อฆ่าเชื้อโรค และใช้เอทานอล 70% (v/v) เช็ดฆ่าเชื้ออุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ก่อนใช้งานทุกครั้ง

2. การตรวจสอบคุณภาพของผงไพล

ตรวจสอบคุณภาพของผงไพลด้วยวิธีต่างๆ ตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย [8-9] ทุกตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ยดังนี้

2.1 การตรวจปริมาณสิ่งแปลกปลอม (Determination of Foreign Matter)

สุ่มตรวจผงโพลแต่ละตัวอย่าง จำนวน 100 กรัม นำมาเกลี่ยในภาชนะแบนราบตรวจหาและคัดแยกสิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่าหรือด้วยแว่นขยาย 6 เท่า ซึ่งน้ำหนักสิ่งแปลกปลอม และคำนวณร้อยละของสิ่งแปลกปลอมในผงโพลตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณสิ่งแปลกปลอมต้องไม่เกิน 2.0% w/w

2.2 การตรวจปริมาณความชื้น (Determination of Water Content)

ใช้วิธี Azeotropic distillation เติมโทลูอีน (Toluene) 200 มิลลิลิตร และน้ำ 2 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมกลั่นด้วย dean-stark apparatus ประมาณ 2 ชั่วโมง อ่านปริมาตรของน้ำที่ได้ (n) จากนั้นชั่งผงโพล 50 กรัม บรรจุในขวดก้นกลม พร้อม boiling chips 2-3 ชิ้น แล้วนำไปกลั่น เมื่อโทลูอีนเริ่มเดือดให้ปรับอัตราเร็วของการกลั่นให้ได้ 2 หยดต่อวินาที กลั่นด้วยอัตราที่จนน้ำที่ถูกกลั่นเกือบหมด จากนั้นปรับเร่งอัตราเร็วเป็น 4 หยดต่อวินาที เมื่อเกิดการกลั่นสมบูรณ์แล้ว ล้าง condenser ด้วย โทลูอีน กลั่นต่ออีก 5 นาที ปิดเครื่องทำความร้อน ทิ้งไว้ให้เย็น รอให้น้ำและโทลูอีนแยกชั้นออกจากกัน อ่านปริมาณของน้ำที่ได้ (n') แล้วคำนวณร้อยละของปริมาณความชื้นในผงโพลตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณความชื้นต้องไม่เกิน 13.0% v/w

2.3 การตรวจปริมาณน้ำมันหอมระเหย (Determination of Volatile Oil)

ชั่งผงโพล 10 กรัมบรรจุในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน นำไปกลั่นด้วย cleverger apparatus เติมน้ำลงใน graduate tube จนถึง standard line แล้วเติมไซลีน (Xylene) 2 มิลลิลิตร กลั่นที่อุณหภูมิ 130-150 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำเริ่มเดือดปรับอัตราเร็วในการกลั่น 2-3 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ปิดเครื่องทำความร้อน ทิ้งไว้ให้เย็น ไขน้ำใน graduate tube ออกช้าๆ จนกระทั่งระดับของสารละลายผสมไซลีนและน้ำมันหอมระเหยอยู่ที่ preparation line ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ปรับระดับของสารละลายผสมไซลีนและน้ำมันหอมระเหยมาอยู่ที่ระดับศูนย์ (0) อ่านปริมาตร นำค่าปริมาตรที่อ่านได้ลบด้วยปริมาตรของไซลีน แล้วคำนวณร้อยละของปริมาณน้ำมันหอมระเหยในผงโพล ตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณน้ำมันหอมระเหยต้องไม่น้อยกว่า 2.0% v/w

2.4 การตรวจปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (Determination of Water-Soluble Extractive)

ชั่งผงโพล 5 กรัม บรรจุใน Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำที่อิ่มตัวด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform Water) 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกยางให้แน่น วางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้อีก 18 ชั่วโมง จากนั้นกรองอย่างรวดเร็ว นำสารสกัดที่กรองได้จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในชามระเหย (Evaporating Dish) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไประเหยแห้งบนอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยน้ำในผงโพล โดยโพลไม่มีเกณฑ์มาตรฐานกำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

2.5 การตรวจปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซน (Determination of Hexane-Soluble Extractive)

ชั่งผงโพล 2 กรัมบรรจุใน flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมหะกเซน (Hexane) 40 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกยางให้แน่น แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน โดยให้เขย่าเป็นครั้งคราว จากนั้นนำมากรอง นำสารสกัดที่กรองได้จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในชามระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไประเหยแห้งบนอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ใส่ใน desiccator เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำมาชั่งและคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนในผงโพลตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนต้องไม่น้อยกว่า 3.0% w/w

2.6 การตรวจปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (Determination of Chloroform-Soluble Extractive)

วิธีทำเช่นเดียวกับข้อ 2.5 แต่ใช้คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นตัวทำละลายคำนวณร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มในผงโพลตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มต้องไม่น้อยกว่า 5.0% w/w

2.7 การตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ [9]

เตรียมตัวอย่างโดยชั่งผงโพลี 10 กรัมใส่ใน flask ที่มี Soybean-Casein Digest Broth จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ใช้เป็น stock solution 1:10 จากนั้นทำ serial dilution โดยเจือจางต่อเป็น 1:10² และ 1:10³ ตามลำดับ

2.7.1 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Aerobic Microbial Count) ด้วยวิธี Pour plate ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่จานเพาะเชื้อ (Petri Dish) เททับด้วย Plate Count Agar (PCA) ปริมาตร 10-15 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเชื้อเบาๆ เพื่อผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็น CFU/g

2.7.2 การตรวจนับจำนวนยีสต์และรา (Total Combined Yeasts and Moulds Count) ด้วยวิธี Pour Plate ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่จานเพาะเชื้อ เททับด้วย Sabouraud Dextrose Agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็น CFU/g

2.7.3 การตรวจหาจุลินทรีย์กลุ่ม Bile-Tolerant Gram-Negative Bacteria ด้วยวิธี Pour Plate ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่จานเพาะเชื้อ เททับด้วย Mac Conkey Agar (MCA) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็น CFU/g

2.7.4 การตรวจหา *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน flask เติม Tryptic Soy Broth (TSB) ให้ครบ 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก TSB ไปเพาะใน MCA บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูโคโลนีที่เจริญ ถ้ามีโคโลนีสีชมพูใช้ loop เชี่ยเชื้อ 3-5 โคโลนี นำไป streak (Streak) บนอาหาร Eosine Methylene Blue (EMB) หากมีโคโลนีสีดำ Green Metallic Sheen แสดงว่ามีเชื้อ *Escherichia coli* ถ่ายเชื้อจาก TSB ไปเพาะใน Cetrimide Agar บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูโคโลนีที่ขึ้นเจริญ หากมีลักษณะสีเหลืองเขียวถึงน้ำเงินแสดงว่ามีเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ถ่ายเชื้อจาก TSB ไปเพาะใน Bismuth Sulphite Agar และ *Salmonella*-*Shigella* Agar (SS Agar) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูโคโลนีที่เจริญ หากมีลักษณะสีดำ Metallic Sheen แสดงว่ามีเชื้อ *Salmonella* spp. ถ่ายเชื้อจาก TSB ไปเพาะใน Mannitol-Salt Agar (MSA) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูโคโลนีที่เจริญ หากมีลักษณะสีเหลืองใช้ loop เชี่ยเชื้อ 3-5 โคโลนีมาทดสอบ Coagulase Test หากมีลักษณะเป็นลิ่มแสดงว่ามีเชื้อ *Staphylococcus aureus*

2.7.5 การตรวจหา *Clostridium* spp. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมลงใน Cooked Meat Medium บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อไปเพาะใน Tryptose Sulphite Cycloserine Agar (TSC) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเป็นเวลา 2-3 วัน สังเกตดูโคโลนีที่เจริญ หากมีลักษณะสีน้ำตาลอยู่ตรงกลางโคโลนีแสดงว่ามีเชื้อ *Clostridium* spp.

2.8 การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยโพลีด้วยเทคนิค GC-MS (Trace GC Ultra/ISQMS, Thermo Scientific Inc., USA) สภาวะ GC ที่ใช้ทดสอบประกอบด้วย คอลัมน์ชนิด TR-5MS (30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) โหมดการฉีดแบบ Split มี split ratio 10:1 ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด 1 ไมโครลิตร ก๊าซตัวพา คือฮีเลียม อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของส่วนที่ฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้น 60 องศาเซลเซียส คงไว้ 3 นาที เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 1 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 80 องศาเซลเซียส เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 120 องศาเซลเซียส เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 220 องศาเซลเซียส คงไว้ 10 นาที และเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 250 องศาเซลเซียส คงไว้ 5 นาที สภาวะ MS เป็น Electron Ionization อุณหภูมิ Ion Source 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ Transfer Line 250 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 35-500 amu

3. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของผงโพลทั้ง 5 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเนื่องจากไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่างๆ ตามข้อกำหนดในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chusri *et al.* [5] และทวีภรณ์ และคณะ [6] ส่วนอีก 4 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และราทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐาน ตรวจพบ เชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Salmonella* spp. ดังนั้นการเปรียบเทียบวิธีเตรียมผงโพลที่มีคุณภาพเป็นไปตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย จึงเปรียบเทียบในด้านคุณภาพและปริมาณสารสำคัญของผงโพลที่เตรียมด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาทีกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 3)

ตารางที่ 1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผงโพลีที่เตรียมด้วยวิธีต่างๆ

การวิเคราะห์	ข้อกำหนดตาม THP Vol.3, 2009	กลุ่มที่ 1		กลุ่มที่ 2		กลุ่มที่ 3
		Autoclave 121°C 15 นาที	Autoclave 115°C 15 นาที	KMnO ₄ 200 ppm 15 นาที	KMnO ₄ 100 ppm 15 นาที	Control
Total aerobic microbial count	≤ 2×10 ⁵ CFU/g or ml	ND	6.7×10 ³	>2×10 ⁵	>2×10 ⁵	>2×10 ⁵
Total combined yeasts and moulds	≤ 2×10 ⁴ CFU/g or ml	ND	6.9×10 ³	>2×10 ⁴	>2×10 ⁴	>2×10 ⁴
Bile-tolerant gram-negative bacteria	≤ 1×10 ³ CFU/g or ml	ND	ND	1×10 ²	ND	8.0×10 ³
<i>Clostridium</i> spp.	ND in 1 g or ml	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Escherichia coli</i>	ND in 1 g or ml	ND	ND	ND	ND	D
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND in 1 g or ml	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Salmonella</i> spp.	ND in 10 g or ml	ND	ND	D	D	D
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND in 1 g or ml	ND	D	D	D	D

ND: NotDetected, D: Detected

ตารางที่ 2 การตรวจสอบคุณภาพของผงโพลีที่เตรียมโดยวิธีต่างๆ

การวิเคราะห์	ข้อกำหนดตาม THP Vol.1, 2009	กลุ่มที่ 1		กลุ่มที่ 2		กลุ่มที่ 3	
		Autoclave 121°C 15 นาที	Autoclave 115°C 15 นาที	KMnO ₄ 200 ppm 15 นาที	KMnO ₄ 100 ppm 15 นาที	Control	
ปริมาณสิ่งแปลกปลอม	≤ 2.0% w/w	0	0	0	0	0	
ปริมาณความชื้น	≤ 13.0% v/w	6.60±0.20 ^a	6.53±0.31 ^a	6.90±0.10 ^a	6.90±0.30 ^a	6.63±0.32 ^a	
ปริมาณน้ำมันหอมระเหย	≥ 2.0% v/w	3.13±0.06 ^a	3.40±0.23 ^b	3.87±0.23 ^c	3.93±0.06 ^c	3.87±0.06 ^c	
ปริมาณสารสกัดน้ำ	-	15.98±0.21 ^a	16.08±0.14 ^a	18.76±0.18 ^c	18.21±0.28 ^b	18.70±0.09 ^c	
ปริมาณสารสกัดเฮกเซน	≥ 3.0% w/w	18.68±0.11 ^a	19.97±0.75 ^{ab}	20.90±1.45 ^b	20.17±1.30 ^{ab}	23.16±1.77 ^c	
ปริมาณสารสกัดคลอโรฟอร์ม	≥ 5.0% w/w	15.09±0.19 ^a	15.07±0.38 ^a	15.88±0.22 ^a	15.55±0.35 ^a	15.56±0.77 ^a	

ค่าเฉลี่ยในแต่ละแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกัน (a-c) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

การตรวจปริมาณสิ่งแปลกปลอมในผงโพลีที่เตรียมด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 2) ทั้ง 5 ตัวอย่าง ไม่พบปริมาณสิ่งแปลกปลอม ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณสิ่งแปลกปลอมไม่เกิน 2.0% w/w เนื่องจากการคัดแยกสิ่งแปลกปลอมออกตั้งแต่กระบวนการล้างทำความสะอาด และเตรียมผงโพลีในห้องที่สะอาดติดหลอดยูวีเพื่อฆ่าเชื้อโรคใช้เอทานอล 70% เช็ดทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ก่อนการใช้งานทุกครั้ง

การตรวจปริมาณความชื้นในผงโพลีที่เตรียมด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 2) พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 6.53-6.90% v/w ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกิน 13.0% v/w แสดงให้เห็นว่าการอบโพลีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ไม่ทำให้ปริมาณความชื้นของผงโพลีเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณความชื้นในแต่ละกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเป็นผลมาจากการนำตัวอย่างโพลีที่ผ่านการหั่นทุกตัวอย่างใช้เวลาในการอบเท่ากัน และมีการสลับภาชนะตัวอย่างให้ได้รับความร้อนอย่างทั่วถึงกัน

การตรวจปริมาณน้ำมันหอมระเหย (ตารางที่ 2) พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยอยู่ในช่วง 3.13-3.93% v/w ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยไม่น้อยกว่า 2.0% v/w เมื่อทำการวิเคราะห์ พบว่า โดยภาพรวมปริมาณน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มที่ 1 มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยน้อยกว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบภายในกลุ่มที่ 1 พบว่าที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยอยู่ที่ 3.13% v/w และ 3.40% v/w ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยผลการทดลองสอดคล้องกับผลการศึกษาของทวีภรณ์ และคณะ [6] พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยของขมิ้นชันน้อยกว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส 15 นาทีและจากการรายงานของ Sukrasno *et al.* [10] พบว่า ความร้อนและการเผาไหม้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส มีผลต่อการลดลงของน้ำมันหอมระเหยนั่นแสดงว่าการใช้อุณหภูมิสูงในการนึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น

การตรวจปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (ตารางที่ 2) พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำอยู่ในช่วง 15.98-18.76% w/w ซึ่งไม่มีการกำหนดเกณฑ์ไว้ แต่หากนำเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณสารสกัดด้วยน้ำที่มีการกำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย [8] ของพืชที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่น ขมิ้นชัน ซึ่งกำหนดปริมาณสารสกัดด้วยน้ำไม่น้อยกว่า 9.0% w/w มาเป็นเกณฑ์อ้างอิงเพื่อเทียบเคียงผลการทดลอง พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำสูงกว่าเกณฑ์ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ พบว่ากลุ่มที่ 1 มีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำน้อยกว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำน้อยที่สุดซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Chusri *et al.* [5] โดยพบว่าขมิ้นชันที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการใช้อุณหภูมิสูงในการนึ่งฆ่าเชื้อ ส่งผลทำให้สารประกอบบางชนิดที่สามารถละลายในน้ำได้เกิดการเสียดังกล่าวไป

การตรวจหาปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซน (ตารางที่ 2) พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนอยู่ในช่วง 18.68-23.16% w/w ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนไม่น้อยกว่า 3.0% w/w เมื่อทำการวิเคราะห์ พบว่ากลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 2 มีปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนน้อยกว่ากลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซนน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ โดยการใช้อุณหภูมิสูงมีผลต่อการสลายตัวของสารกลุ่มที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น สารกลุ่ม monoterpenes ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยในโพลี [11- 12] และสารกลุ่มอื่นๆ ที่สามารถละลายได้ในเฮกเซน

การตรวจหาปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (ตารางที่ 2) พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่าง มีปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มอยู่ในช่วง 15.07-15.88% w/w ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มไม่น้อยกว่า 5.0% w/w เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบในแต่ละกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่จะพบว่ากลุ่มที่ 1 มีปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มน้อยกว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใช้อุณหภูมิสูง ทำให้สารบางชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์มเกิดการสลายตัว แต่อย่างไรก็ตาม การใช้อุณหภูมิสูงไม่ทำให้ปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มเกิดความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้ความร้อน

ตารางที่ 3 องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยโพล

RT	องค์ประกอบ	% relative peak area	
		121°C 15 นาที	Control
8.21	Sabinene (C ₁₀ H ₁₆)	6.94	13.56
8.44	β-Pinene (C ₁₀ H ₁₆)	0.43	1.59
8.98	β-Myrcene (C ₁₀ H ₁₆)	0.20	0.89
11.18	p-Cymene (C ₁₀ H ₁₄)	0.18	1.15
13.42	γ-Terpinene (C ₁₀ H ₁₆)	1.06	4.06
15.42	Terpinolene (C ₁₀ H ₁₆)	0.24	0.80
24.54	Terpinene-4-ol (C ₁₀ H ₁₈)	8.49	23.23
42.92	β-Sesquiphellandrene (C ₁₅ H ₂₄)	6.09	3.93
45.54	2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene (C ₁₂ H ₁₆ O ₂)	6.12	2.95
46.92	Triquinacene 1,4-bis(methoxy) (C ₁₂ H ₁₄ O ₂)	48.86	26.19
50.51	2-Propenoic acid,3-(3,4-dimethoxyphenyl)-methylester (C ₁₂ H ₁₄ O ₄)	4.96	2.15

RT: Retention Time

จากผลการตรวจสอบคุณภาพของผงโพลที่เตรียมโดยวิธีต่างๆ พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด ดังนั้นจึงได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยโพลด้วยเทคนิค GC-MS จากตัวอย่างที่เตรียมด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยโพล (ตารางที่ 3) พบว่าทั้ง 2 ตัวอย่างมีองค์ประกอบหลักเป็นสารกลุ่ม monoterpene ได้แก่ Sabinene, β -Pinene, β -Myrcene, p-cymene, γ -Terpinene, Terpinolene, Terpinene-4-ol และรองลงมาเป็นสารกลุ่ม Sesquiterpenes ได้แก่ β -Sesquiphellandrene โดยสารสำคัญที่พบในปริมาณมากที่สุดในกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที และในกลุ่มควบคุม ได้แก่ Triquinacene, 1,4-bis (Methoxy), Terpinene-4-ol และ Sabinene ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Bhuiyan *et al.* [13] และ Singh *et al.* [14] โดยพบว่าปริมาณสารสำคัญที่พบมากที่สุดในเหง้าโพล คือ Triquinacene, 1,4-bis (Methoxy) และ terpinene-4-ol ตามลำดับ และพบว่าในกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณสารสำคัญกลุ่ม monoterpene ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเป็นผลมาจากการใช้อุณหภูมิสูงทำให้สารกลุ่ม monoterpene ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กเกิดการระเหยได้ง่ายทำให้มีปริมาณลดลง ส่วนสารกลุ่มที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่กว่า ได้แก่ Triquinacene, 1,4-bis (Methoxy), 2-Allyl-1, 4-dimethoxy-3-methyl-benzene, β -Sesquiphellandrene และ 2-Propenoic acid, 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-methylester มีปริมาณที่เพิ่มขึ้นโดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณดังกล่าวในตัวอย่างที่เตรียมด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ไม่ใช่การเพิ่มขึ้นจริงของปริมาณสารสำคัญจากปริมาณเริ่มต้น แต่เป็นการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนจากการวิเคราะห์ % relative peak area ของปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในตัวอย่าง

สรุปผล

จากการศึกษาคุณภาพของผงโพลทั้ง 5 ตัวอย่าง พบว่าการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ไม่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่างๆ (ตารางที่ 1) และผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามข้อกำหนดในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (ตารางที่ 2) ส่วนอีก 4 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากตรวจพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยโพลด้วยเทคนิค GC-MS ของกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที และกลุ่มควบคุม พบว่ามีองค์ประกอบหลักเป็นสารกลุ่ม monoterpene ได้แก่ Sabinene, β -Pinene, β -Myrcene, p-Cymene, γ -Terpinene, Terpinolene, Terpinene-4-ol และรองลงมาเป็นสารกลุ่ม Sesquiterpenes ได้แก่ β -Sesquiphellandrene โดยสารสำคัญที่พบในปริมาณมากที่สุดในกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ได้แก่ Triquinacene, 1,4-bis (Methoxy) (48.86%), Terpinene-4-ol (8.49%) และ Sabinene (6.94%) ตามลำดับ และสารสำคัญที่พบในปริมาณมากที่สุดในกลุ่มควบคุม ได้แก่ Triquinacene, 1,4-bis (Methoxy) (26.19%), Terpinene-4-ol (23.23%) และ Sabinene (13.56%) ตามลำดับ และพบว่าในกลุ่มการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีปริมาณสารสำคัญกลุ่ม monoterpene ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยสรุปแม้การนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จะทำให้คุณภาพของผงโพลลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ก็มีคุณภาพผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ซึ่งการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที มีข้อดี คือ ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่างๆ แต่มีข้อด้อยคือทำให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยโพล และองค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยโพลมีปริมาณที่ลดลง แต่อย่างไรก็ตามการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เป็นวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมผงโพลที่ได้คุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานซึ่งในอนาคตควรจะมีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยโพลที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนวิจัยคณะกรรมการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. (2554). **บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2554 ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2554**. กรุงเทพฯ: สามเจริญพาณิชย์.
- [2] นันทนา กลิ่นสุนทร ชมพูนุท นุตสถาปนา และปรีชญา มาประดิษฐ์. (2557). “การสำรวจคุณภาพยาสมุนไพรในเขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5”, **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 56(1), 40-51.
- [3] จิตรา ชัยวัฒน์ จิราหนู แจ่มทวีกุล สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์ และปรีชญาพร อินทองแก้ว. (2557). “ความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ”, **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 56(3), 123-134.
- [4] เขาวลิต มณฑล. (2556). “การฉายรังสีแกมมา: กระบวนการทำไรเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพร”, **วารสารไทยเภสัชวิทยนิพนธ์**. 8(1), 41-54.
- [5] Chusri, S., Subhadhirasakul, S., Tahyoh, N., Billateh, C., Chaowuttikul, C., Chorachoo, J. and Voravuthikunchai, S.P. (2012). “Effect of Different Decontamination Methods on Microbiological Aspects Bioactive Constituents and Antibacterial Activity of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) Powder”, **European Journal of Medicinal Plants**. 2(4), 276-289.
- [6] ทวีภรณ์ ศิริสุข ธวัชชัย ศรีสุวรรณ รอกิเยาะ ตาละ โรสนานี เหมตระกูลวงศ์ สาปินะ เจ๊ะสะอ๊ะ และสนั่น ศุภธีรสกุล. (2557). “ผลของเวลาและอุณหภูมิในการนึ่งฆ่าเชื้อต่อคุณภาพของผงขมิ้นชัน”, **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ**. 17(1), 57-67.
- [7] Sukul, S. and Sheth, M. (2012). “Can Sanitizers Reduce Microbial Load of Coriander Leaves”, **Nutrition & Food Science**. 42(1), 12-20.
- [8] Ministry Of Public Health. (2009). **Thai Herbal Pharmacopoeia. Vol.1**. Department of Medical Sciences, Bangkok: Prachachon.
- [9] Ministry Of Public Health. (2009). **Thai Herbal Pharmacopoeia. Vol.3**. Department of Medical Sciences, Bangkok: Prachachon.
- [10] Sukrasno, Waningsih E.S. and Fidrianny, I. (2014). “Heating Effect of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc) in Content of Volatile Oil and Oleoresin”, **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**. 5(2), 132-136.
- [11] Sukattal, U., Rugthaworn1, P., Punjee1, P., Chidchenchey, S. and Keeratinijakal, V. (2009). “Chemical Composition and Physical Properties of Oil from Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Obtained by Hydro Distillation and Hexane Extraction”, **Kasetsart Journal - Natural Science**. 43(5), 212-217.
- [12] Bua-in, S. and Paisooksantivatana, Y. (2009). “Essential Oil and Antioxidant Activity of Cassumunar Ginger (Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) Collected from Various Parts of Thailand”, **Kasetsart Journal - Natural Science**. 43(3), 467-475.

- [13] Bhuiyan, N.I., Chowdhury, J.U. and Begum, J. (2008). “Volatile Constituents of Essential Oils Isolated from Leaf and Rhizome of *Zingiber cassumunar* Roxb”, **Bangladesh Journal of Pharmacology**. 3, 69-73.
- [14] Singh, C.B., Manglembi, N., Swapana, N. and Chan, S.B., (2015). “Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of *Zingiber cassumunar* Roxb. (Zingiberaceae)”, **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. 4(1), 01-06.