คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดกานพลู ที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชัน

Properties and Application of Antimicrobial Films Incorporated with Encapsulated Clove Extracts

นนทรีย์ เกียรติสมบูรณ์

Nonsee Kiatsomboon

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Packaging Technology
Prince of Songkla University
2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชัน
ผู้เขียน	นางสาวนนทรีย์ เกียรติสมบูรณ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..……..

(ดร.เถวียน วิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……..……..…….

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพิชญา จันทะชุม)

คณะกรรมการสอบ

……..…..ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรี ทองเรือง)

…….....กรรมการ

(ดร.เถวียน วิทยา)

……..……กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพิชญา จันทะชุม)

…….....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์

……..…….

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชัน
ผู้เขียน	นางสาวนนทรีย์ เกียรติสมบูรณ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์และสมบัติของฟิล์มที่เติมสารสกัดกานพลู (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) ที่ผ่านการเอนแคปซูเลต โดยเบื้องต้นทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูต่อความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ (Minimal bactericidal concentration; MBC) 4 ชนิด *Rhizopus stolonifer, Listeria monocytogenes, Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าค่า MBC ของสารสกัดกานพลูต่อเชื้อดังกล่าวมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.5, 0.5, 1.0 และ1.5 ตามลำดับ การเตรียมฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์โดยการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในปริมาณ 1 ถึง 3 เท่าของ MBC ลงในสารละลายฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมธิลเซลลูโลส (hydroxylpropyl methylcellulose; 1.5% HPMC) แล้วทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี agar diffusion assay พบว่าขอบวงใสของการยับยั้งเชื้อ *R. stolonifer, L. monocytogenes, E. coli* และ *S. aureus* มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 18.00$\pm$0.45 มิลลิเมตร เป็น 24.00$\pm$0.50 มิลลิเมตร และจาก 17.25$\pm$0.50 มิลลิเมตร เป็น 31.00$\pm$0.52 มิลลิเมตร และจาก 18.50$\pm$0.58 มิลลิเมตร เป็น 26.75$\pm$0.96 มิลลิเมตร และจาก 28.75$\pm$0.50 มิลลิเมตร เป็น 39.00$\pm$0.82 มิลลิเมตร และ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาสมบัติทางกลของฟิล์ม พบว่าค่าการต้านทานแรงดึงสูงสุด ค่าการยืดตัวเมื่อขาด ค่าการซึมผ่านไอน้ำ และค่าการละลายของแผ่นฟิล์มมีค่าลดลง (p<0.05) เมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต และเมื่อใช้ปริมาณสารสกัดกานพลูเพิ่มขึ้นส่งผลให้สมบัติทางกลของฟิล์มด้อยลง อีกทั้งการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการ เอนแคปซูลเลตส่งผลต่อค่าสี โดยฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองและสว่างเพิ่มขึ้นซึ่งพิจารณาได้จากการเพิ่มขึ้นของ L*, a*, และ b* และ chroma และมีค่าการส่องผ่านของแสงที่ลดลง ลักษณะภาพพื้นผิวของฟิล์มใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าฟิล์ม HPMC ที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตจะมีผิวหน้าเรียบ สม่ำเสมอ และไม่มีฟองอากาศ ส่วนฟิล์ม HPMC ที่เติมกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตจะมีผิวหน้าไม่เรียบ ขรุขระ ซึ่งพบอนุภาคกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตกระจายตัวอย่าง

สม่ำเสมอ และเมื่อปริมาณกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตเพิ่มขึ้นส่งผลให้มีการกระจายตัวของอนุภาคแคปซูลหนาแน่นมากขึ้น

จากการประยุกต์ใช้ฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต (แผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์) ในผลิตภัณฑ์อาหารได้แก่ ผลิตภัณฑ์ขนมปังแผ่นและปูอัดแท่งโดยเปรียบเทียบแผ่นขนมปังที่ไม่ใช้แผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์คั่นระหว่างแผ่น และปูอัดแท่งที่ห่อฟิล์มโพลีเอทิลีน (ฟิล์มสังเคราะห์) กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดที่ใช้แผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์พบว่า ค่าความหืน ค่า water activity และค่าสีของผลิตภัณฑ์ที่ใช้แผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงช้ากว่าการไม่ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ และเมื่อพิจารณาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์ปูอัดแท่ง และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ราในผลิตภัณฑ์ขนมปังแผ่น พบว่ามีค่าน้อยกว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ใช้แผ่นฟิล์มคั่นและใช้ฟิล์มสังเคราะห์ ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดกานพลูมีสารยับยั้งเชื้อจากธรรมชาติที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้

Thesis Title	Properties and Application of Antimicrobial Films Incorporated with Encapsulated Clove Extracts
Author	Miss Nonsee Kiatsomboon
Major Program	Packaging Technology
Academic Year	2009

ABSTRACT

Antimicrobial activity and properties of edible film has been studied by incorporation of encapsulated clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) extracts as a natural antibacterial agent. Initially, minimal inhibitory concentration (MBC) of clove extracts against of *Rhizopus stolonifer*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in stationary phase was tested. The results showed that the MBC of tested microorganism were 0.5, 0.5, 1.0 and 1.5 % of clove extracts, respectively. Antimicrobial edible films were prepared by incorporating encapsulated clove extracts from 1, 2, 3 folds of MBC into 1.5% of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) film solution. The edible film exhibited antibacterial activity against pathogen bacteria and mold tested by using agar diffusion assay. The results showed that higher inhibition zone from 18.00±0.45 to 24.00±0.50 mm, 17.25±0.50 to 31.00±0.52, 18.50±0.58 to 26.75±0.96 and 28.75±0.50 to 39.00±0.82 of *R. stolonifer*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. aureus,* respectively, when the concentration of encapsulated clove extracts increased from 1 to 3 folds of MBC.

Mechanical properties of edible film results showed that tensile strength (TS), elongation at break (ε), water vapor permeability (WVP), film solubility (FS) and color were significantly ($p<0.05$) decreased after incorporation of encapsulated clove extracts. In addition, higher amount of encapsulated clove extracts provided inferior mechanical properties. The color of edible films was also affected by the addition of encapsulated clove extracts; the results showed that increasing of encapsulated clove extracts resulted in brightness, more yellowish films and more opacity as indicated by the increase in L*, a*, b* and chroma values and decrease in transparency value, respectively. Scanning electron microscopy (SEM) was observed that the reference film (without encapsulated clove extracts added) was free of air

bubbles, smooth and had continuous surface without grainy and porous structure. The micrographs show increased surface irregularity with the addition of encapsulated clove extracts. It is unlikely that the irregular features were due to the extract droplets were more intense on the surface. The encapsulated clove extracts were more intense on the surface as the concentration of encapsulated clove extracts incorporated increased resulting in more noticeable irregular surface

Application the HPMC films incorporated with encapsulated clove extracts (antimicrobial edible films) in commercial imitated crab meat and sliced bread was determined. The results showed that both food products, without wrapped films and wrapped with PE films showed high and more changed in TBARs, water activity and color than food produces wrapped with antimicrobial film. In addition food samples applied with antimicrobial edible films demonstrated lower TVC and coliforms of crab meat and lower TVC and yeast and molds of sliced bread than synthetic films and without films. Our results revealed that incorporation of encapsulated clove extracts as a natural antibacterial agent has a potential to be used as shelf life extension of foods.

สารบัญ

หน้า

สารบัญ..... (8)

LIST OF TABLES..... (9)

LIST OF FIGURES..... (10)

บทที่

1 บทนำ..... 1

บทนำต้นเรื่อง..... 1

การตรวจเอกสาร..... 3

วัตถุประสงค์..... 43

2 วิธีการวิจัย..... 44

วิธีดำเนินการ..... 44

วัสดุและอุปกรณ์..... 48

3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 50

4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... 88

เอกสารอ้างอิง..... 90

ภาคผนวก..... 100

ประวัติผู้เขียน..... 114

LIST OF TABLES

Table		Page
1.	Antimicrobials incorporated directly into polymers used for food packaging	12
2.	Selected commercial antimicrobial packaging available for food applications…	13
3.	The major components of clove extracts…….....	50
4.	Antimicrobial activity of HPMC film incorporated clove extracts against *L. monocytogenes, E. coli, S. aureus* and *R. stolonifer*…….	55
5.	Sensory attributes of sliced bread without film and applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……..	71
6.	Total viable count and coliform bacteria of imitated crabmeat wrapped with HPMC film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (1.5%)…….....……..	75
7.	Sensory attributes of imitated crab meat wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……..	81
8.	Total viable count, yeast and mold of sliced bread with and without HPMC film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……..…….....	82

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1.	The application of Oxygen Scavenger Sachet…….…….	4
2.	Cryovac® OS2000™ polymer based oxygen scavenging film…….……...	7
3.	Functions of the antimicrobial agent incorporated in packaging material Headspace system (a), Headspace system with control (b), One-layer system (c) and Two-layer system (d)……...……..	15
4.	Illustrates the structure of antimicrobial Ag-zeolite…….……	16
5.	Structure and Characteristic of (a) microcapsules and (b) microsphere……...	22
6.	Process for preparing micropaticles O/W solvent type evaporation……	23
7.	Process for preparing micropaticles W/O/W type multiple emulsions……	24
8.	Process for preparing micropaticles coacervation type……...	25
9.	Cyclone spray dryer ……	27
10.	Non soluble membrane and partial soluble membrane……..	28
11.	(a) Diffusion of solute through the matrix and (b) Diffusion of solute through the porous or capillary of matrix…….....	29
12.	Drug releasing by solubilization of membrane……	29
13.	Control of drug releasing by solubilization of membrane……...	30
14.	Drug releasing by osmotic pressure…….	30
15.	Molecular structure of Maltodextrin……...	32
16.	Molecular structure of Chitosan……..	33
17.	The susceptibility of the *L. monocytogenes* (a), *E. coli* (b), *S. aureus* (c) and *R. stolonifer* (d) to various clove extracts concentrations……...	52
18.	Representative pictures of inhibitory zones of edible HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (a) control, (b) 1 fold of MBC,(c) 2 folds of MBC and (d) 3 folds of MBC on *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* and *R. stolonifer*……..	56

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure		Page
19.	Influence of encapsulated clove extracts content on the tensile strength (a) and elongation at break (b) of edible HPMC films……..	59
20.	Influence of encapsulated clove extracts content on the water vapor permeability (a) and film solubility (b) of edible HPMC films……...	61
21.	Influence of encapsulated clove extracts content on the L*(a), a* (b) and b*(c) of edible HPMC films……	63
22.	Influence of encapsulated clove extracts content on the ΔE^*_{ab} (a), hue angle (b) and chroma (c) of edible HPMC films…….…….	64
23.	Influence of encapsulated clove extracts content on the transparency of edible HPMC films…….……..	65
24.	Scanning electron micrograph of edible HPMC films containing various encapsulated clove extracts content…….…….	67
25.	Illustrative of imitated crab meat wrapped with PE and HPMC films incorporated with encapsulated clove extracts…….……	69
26.	Illustrative of sliced bread packed with not film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts……	69
27.	Illustrative pictures of imitated crab meat wrapped with PE film (a), imitated crab meat wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extract (b) at 0 day of storage, imitated crab meat wrapped with PE film (c) and imitated crab meat wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extract (d) at 24 day of storage, respectively…….…….	75
28.	TBARS (mg/kg) (a) and water activity (b) of imitated crab meat wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……..	77

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure		Page
29.	L* (a), a* (b) and b* (c) of imitated crab meat (red side) wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage…….	78
30.	L* (a), a* (b) and b* (c) of imitated crab meat (white side) wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……...	79
31.	Illustrative pictures of sliced bread with no film (a), sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (b) at 0 day of storage, sliced bread applied with not film (c) and sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (d) at 2 days of storage, sliced bread applied with not film (e) and sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (f) at 4 days of storage, respectively…….	84
32.	TBARS (mg/kg) (a) and water activity (b) of sliced bread without film and wrapped HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage……...	86
33.	L* (a), a* (b) and b* (c) of sliced bread without film and wrapped HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage…….	87

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัญหาหนึ่งของอาหารทั่วไปที่มีความชื้นเป็นองค์ประกอบหรือปริมาณน้ำอิสระ (water activity) มากกว่า 0.91 เป็นสาเหตุให้เกิดอาหารเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย ยีสต์ และรา การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ส่งผลให้อายุการเก็บรักษาของอาหารลดลงและเป็นการเพิ่มความเสี่ยงโรคภัยจากอาหาร (food borne illness) ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการถนอมอาหารหรือลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์นั้น ได้แก่ กระบวนการให้ความร้อน การทำแห้ง การแช่เยือกแข็ง การแช่เย็น การผ่านรังสี การบรรจุในสภาพดัดแปลงบรรยากาศ การเติมสารป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์หรือเกลือ เป็นต้น นอกจากนี้บรรจุภัณฑ์อาหารได้เข้ามาเป็นส่วนหนึ่งทำให้การบรรจุช่วยรักษาคุณภาพอาหาร และเพิ่มความหลากหลายของอาหารในส่วนของการผลิต การเก็บรักษา การบริโภค และลดการการเสื่อมเสียหรือเน่าเสีย ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดสมบัติของภาชนะบรรจุ นอกจากนี้วัสดุและภาชนะบรรจุอาหารควรปลอดภัยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อมด้วย จากปัญหาของบรรจุภัณฑ์ที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมนั้นทำให้ปัจจุบันผู้ผลิตบรรจุภัณฑ์ให้ความสนใจในการผลิตบรรจุภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายหรือบริโภคได้เพิ่มมากขึ้น โดยทำการผลิตขึ้นมาในรูปของสารเคลือบหรือแผ่นฟิล์มบริโภคได้แล้วนำมาห่อหรือบรรจุอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ฟิล์มบริโภคได้สามารถนำมาใช้ห่อหุ้มอาหารที่แตกง่าย ถึงแม้การใช้ฟิล์มบริโภคได้ยังไม่แพร่หลายเนื่องจากคุณสมบัติบางประการด้อยกว่าฟิล์มพลาสติกทำให้มีข้อจำกัดในการใช้ อย่างไรก็ตามฟิล์มบริโภคได้ยังมีข้อดีกว่าฟิล์มพลาสติกคือ สามารถรับประทานได้พร้อมกับอาหาร หรือสลายขณะปรุงอาหารทำให้เกิดความสะดวกในการบริโภคหรือหากไม่บริโภคพร้อมกับอาหาร ฟิล์มบริโภคได้นี้สามารถถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย ซึ่งเป็นการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังอาจช่วยเสริมคุณค่าทางอาหาร ทางประสาทสัมผัสและสามารถใช้ร่วมกับฟิล์มพลาสติกโดยให้ฟิล์มบริโภคได้สัมผัสอาหาร อย่างไรก็ตามพบว่าฟิล์มบริโภคได้ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารยังคงมีปัญหาเกิดขึ้นเช่นกันคือ ความสามารถในการเก็บรักษาอาหารได้ในระยะเวลาที่จำกัด ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถใช้ประโยชน์จากฟิล์มบริโภคในการย่อยสลายและเจริญเติบโต จากปัญหาดังกล่าวจึงเกิดแนวคิดเพื่อหาทางป้องกันโดยการผลิตฟิล์มบริโภคได้ที่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ที่ได้ธรรมชาติจากเครื่องเทศ โดยปัจจุบันสารต้านจุลินทรีย์ที่

มักนำมาเติมเป็นสารสังเคราะห์ทำให้มีข้อจำกัดในการใช้ และหากใช้เกินปริมาณที่กำหนดก็ส่งผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ ประกอบกับปัจจุบันผู้บริโภคเล็งเห็นถึงความปลอดภัยของการบริโภคอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้ฟิล์มบริโภคได้ที่ใช้สารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค ประกอบกับกระแสความนิยมบริโภคเครื่องเทศของคนไทยและคนทั่วโลกเพิ่มขึ้นซึ่งเครื่องเทศเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีประวัติควบคู่กันมากับชีวิตของมนุษย์มาช้านาน ในครั้งสมัยดึกดำบรรพ์มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์ของเครื่องเทศในการรักษาโรคภัยไข้เจ็บ ซึ่งความรู้และประสบการณ์ในการรักษาโรคนี้ได้รับการบอกเล่า สืบทอดจากคนรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่งจนเกิดเป็นยาจากเครื่องเทศใช้รักษาโรคต่างๆ นอกจากนี้เครื่องเทศหลายชนิดยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร ดังนั้นจากปัญหาในเรื่องข้อจำกัดของความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารของฟิล์มบริโภคได้ และความปลอดภัยของการใช้สารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ในฟิล์มบริโภคได้ ประกอบกับคุณประโยชน์ความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ และปริมาณที่สามารถบริโภคได้อย่างต่อเนื่องของเครื่องเทศ ทำให้ผู้วิจัยมีแนวความคิดที่จะประยุกต์ใช้สารสกัดจากเครื่องเทศมาใช้ร่วมกับบรรจุภัณฑ์หรือฟิล์มบริโภคได้เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสำหรับยืดอายุการเก็บรักษา โดยงานวิจัยครั้งนี้เป็นการเลือกใช้สารสกัด (extracts) ที่สกัดได้จากกานพลู เนื่องจากสรรพคุณที่ในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ และเชื้อรา รักษาอาการปวดฟัน ฆ่าเชื้อทางทันตกรรม เป็นยาระงับการชักกระตุก ลดความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร และยาชา เป็นต้น แต่ข้อด้อยสารสกัดทั่วไป คือ ไม่เสถียรต่อแสง อากาศ และความร้อน และจากการศึกษาพบว่าเมื่อนำสารสกัดกานพลูนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตฟิล์มพบว่าสารสกัดและสารละลายฟิล์มไม่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันซึ่งจะเกิดการแยกชั้น จากปัญหาดังกล่าวต้องมีการปรับปรุงสารสกัดดังกล่าวในขั้นตอนก่อนการผสม โดยการบรรจุสารสกัดจากกานพลูในแคปซูลก่อนนำมาเตรียมเป็นบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ นอกจากลดปัญหาดังกล่าวลงได้แล้ว ยังสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้งการผลิตในรูปแคปซูลยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญดังกล่าวในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารได้อีกด้วย

การตรวจเอกสาร

1. การบรรจุแบบแอคตีฟ (Active packaging)

การบรรจุแบบแอคตีฟถือว่าเป็นบรรจุภัณฑ์เชิงรุกที่มีความสามารถในการรับรู้การเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมทั้งภายในและภายนอกบรรจุภัณฑ์ แล้วตอบสนองโดยการเปลี่ยนคุณสมบัติของตัวมันเองโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บรักษาอาหารที่บรรจุ เพิ่มความปลอดภัยในอาหาร หรือปรับปรุงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยทั่วไปแล้วบรรจุภัณฑ์เชิงรุกไม่ได้จำกัดอยู่ที่ลักษณะของบรรจุภัณฑ์เท่านั้น แต่ยังรวมถึงการใช้สารดูดซับ ได้แก่ ก๊าซออกซิเจน ความชื้น ก๊าซเอทิลีน หรือแม้แต่การปลดปล่อยของเอทานอล กลิ่นรส และกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Vermeiren *et al*., 1999; Quintavalla and Vicini, 2002; งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550)

การบรรจุแบบแอคตีฟนับเป็นนวัตกรรมทางการบรรจุอาหาร เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคและการค้ายุคใหม่ การบรรจุแบบแอคตีฟที่ใช้กันมากที่สุดในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ การใช้วัตถุดูดกลืน (absorber) หรือดูดซับ (adsorption) และการใช้วัตถุปล่อยสาร (emitter) การดูดกลืน (absorption) หมายถึงการที่สารถูกดูดเข้าไปในเนื้อของวัสดุอื่น ส่วนการดูดซับ (adsorption) หมายถึงการที่สารถูกจับไว้ที่ผิวของวัตถุอื่น และ Scavenging หมายถึง การกำจัดสารด้วยปฏิกิริยาเคมี (Quintavalla and Vicini, 2002; งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550)

1.1 วัตถุดูดออกซิเจน (Oxygen absorber หรือ Oxygen scavenger)

วัตถุที่ใช้ลดปริมาณก๊าซออกซิเจนในภาชนะบรรจุ เรียกว่า Oxygen scavenger ทั่วไปนิยมเรียก Oxygen absorber มักใช้ร่วมกับการบรรจุภายใต้สุญญากาศ เพื่อลดปริมาณก๊าซออกซิเจนในภาชนะบรรจุอาหารให้เหลือเพียงร้อยละ 0.01 หรือต่ำกว่า (Vermeiren *et al.,* 1999) ตลอดระยะเวลาเก็บรักษาอาหาร และระยะเวลาที่ใช้ในการดูดออกซิเจนในภาชนะบรรจุให้ต่ำลงถึงระดับนี้ควรน้อยกว่า 24 ชั่วโมง สำหรับอาหารที่เน่าเสียจากจุลินทรีย์หรือประมาณ 3 ถึง 4 วัน สำหรับอาหารที่มีอายุการเก็บนานๆ หลายเดือน วัตถุดูดออกซิเจนที่ใช้ในการบรรจุอาหารมีทั้งประเภทบรรจุซองเล็กๆ (sachet) ที่บรรจุในภาชนะบรรจุอาหาร (Figure 1.) หรือประเภทฟิล์ม การเลือกสารเคมีที่ใช้ดูดออกซิเจนหรือทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ควรพิจารณาปัจจัยสำคัญต่อไปนี้

- ต้องไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การบรรจุรวมอยู่กับอาหารมีโอกาสที่ผู้บริโภครับประทานเข้าไปได้โดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ได้

- อัตราการดูดออกซิเจนต้องเหมาะสม ถ้าอัตราการดูดสูงเกินไป อาจทำให้สารเคมีเสื่อมประสิทธิภาพก่อนหมดอายุการเก็บของอาหาร แต่ถ้าอัตราการดูดต่ำเกินไปอาจไม่สามารถชะลอการเสื่อมเสียของอาหารได้ โดยเฉพาะช่วงระยะแรกๆ
- ต้องไม่ให้สารพิษ
- ต้องไม่ให้กลิ่นใดๆ ที่จะไปทำให้อาหารเสื่อมเสีย
- มีขนาดบรรจุกะทัดรัด เหมาะสมกับการใช้งาน
- ความสามารถดูดออกซิเจนสูง เมื่อเทียบกับน้ำหนักของสารเคมีที่ใช้
- ราคาเหมาะสม

Figure 1. The application of Oxygen Scavenger Sachet
ที่มา : งามทิพย์ ภู่วโรดม (2550)

บรรจุภัณฑ์และภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุอาหารที่มีการใช้วัตถุดูดออกซิเจน ต้องป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดี ปิดผนึกได้สนิทและสะดวกรวดเร็ว ส่วนใหญ่ใช้วัสดุบรรจุหลายชั้นที่มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า 20 cc/m^2. atm.day ฟิล์มที่ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดี เช่น EVOH, PVDC หรือแผ่นเปลวอะลูมิเนียม จะใช้เป็นส่วนประกอบหนึ่งของวัสดุบรรจุหลายชั้นด้วยเสมอ ทั้งในวิธีการเคลือบ การลามิเนต หรือการอัดรีดร่วม

1.1.1 วัตถุดูดออกซิเจนประเภทบรรจุซอง (Oxygen scavenging sachet)

สารเคมีที่ใช้ดูดออกซิเจนได้แก่ ผงเหล็ก กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี แคททีคอล (catechol) สีย้อมไวแสง (photosensitive dye) เอนไซม์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)

1.1.1.1 ผงเหล็ก

หลักการดูดออกซิเจนคือ ผงเหล็กผสมตัวเร่งปฏิกิริยาบรรจุในซองที่ยอมให้ไอน้ำและก๊าซออกซิเจนซึมผ่านได้ดี เมื่อผงเหล็กได้รับความชื้นจากอาหารจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับก๊าซออกซิเจนเป็นสนิมเหล็ก โดยทั่วไปผงเหล็ก 1 กรัมจะดูดก๊าซออกซิเจนได้ 300 มิลลิลิตร การใช้ผงเหล็กเป็นวัตถุดูดออกซิเจนประเภทซอง ไม่เหมาะกับการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ต้องผ่านเครื่องตรวจโลหะ เนื่องจากเครื่องจะตรวจจับวัตถุดูดออกซิเจนเป็นโลหะปนเปื้อนอาหาร

1.1.1.2 แคททีคอล

แคททีคอลสามารถทำปฏิกิริยาได้ทันทีที่สัมผัสกับออกซิเจนโดยไม่ต้องการความชื้น และจะไม่เกิดก๊าซคาร์บอกไดออกไซด์ออกมา ข้อดีคือไม่มีปัญหากับเครื่องตรวจจับโลหะ แต่สาเหตุที่แคททีคอลได้รับความนิยมน้อยกว่าผงเหล็ก เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ต่ำ

1.1.1.3 เอนไซม์

เอนไซม์นิยมใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) มากที่สุดโดยปฏิกิริยาเริ่มจากเอนไซม์จะถ่ายไฮโดรเจน 2 อะตอม ออกจากหมู่ –CHOH ของกลูโคสให้ออกซิเจนได้กลูโคโน-เดลตา-แลคโตน (Glucono-delta-lactone) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เนื่องจาก H_2O_2 มีกลิ่นที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ จึงใช้เอนไซม์คาตาเลส (catalase) เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน H_2O_2 เป็นน้ำและออกซิเจน ซึ่งข้อดีของการใช้เอนไซม์เป็นวัตถุดูดออกซิเจน คือ สามารถใช้ทั้งประเภทซองและประเภทฟิล์มที่ผสมเอนไซม์ที่ใช้มากคือ ฟิล์ม PP และ PE และใช้ได้ดีกับอาหารแช่แข็ง วัตถุดูดออกซิเจนประเภทซองเหมาะกับการบรรจุอาหารที่ต้องผ่านเครื่องตรวจโลหะแต่ไม่เหมาะกับการบรรจุอาหารแห้งหรืออาหารที่มี a_w ต่ำและไม่เหมาะกับการใช้งานที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ส่วนข้อเสียของการใช้เอนไซม์คือ ความเสถียรของเอนไซม์ระหว่างการเก็บก่อนใช้งานและระหว่างการงาน ประสิทธิภาพของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส จะลดลงถึงร้อยละ 50 ในช่วง 2-3 สัปดาห์แรก และสัปดาห์ต่อไปจะลดลงในอัตราที่ช้าลง

1.1.1.4 กรดไขมันไม่อิ่มตัว

เป็นวัตถุดูดออกซิเจนที่เหมาะสมมาก สำหรับการบรรจุอาหารแห้งเนื่องจากไม่ต้องใช้น้ำในการเกิดปฏิกิริยา กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ใช้ดูดออกซิเจน เช่น กรดโอเลอิค (oleic acid)

กรดลิโนเลอิค (linoleic acid) และกรดลิโนเลนิค (linolenic acid) เป็นต้น ผสมกับน้ำมันทำหน้าที่เป็นพาหะ (carrier) เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา และน้ำมันเมล็ดฝ้าย เป็นต้น และมีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอยู่ด้วย นำน้ำมันดังกล่าวนี้ผสมกับผงแคลเซียม คาร์บอเนต ทำเป็นผงหรืออัดเป็นเม็ดก่อนบรรจุซอง

1.1.2 วัตถุดูดออกซิเจนประเภทฟิล์ม (Oxygen scavenging film)

วัตถุดูดออกซิเจนประเภทซองมีข้อเสียสำคัญ ได้แก่ ต้องวางซองในตำแหน่งที่สัมผัสอากาศได้ทั่วถึง ทำให้ไม่เหมาะกับการบรรจุอาหารบางชนิดโดยเฉพาะเครื่องดื่ม ปัญหาซองจะรั่วหรือฉีกขาดทำวัตถุดูดออกซิเจนออกมาปนเปื้อนกับอาหาร จึงมีการพัฒนาใช้วัตถุดูดออกซิเจนผสมในวัสดุบรรจุโดยตรง หรือใช้ฟิล์มพลาสติกที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายเป็นส่วนประกอบของวัสดุบรรจุหลายชั้น สามารถใช้วัสดุบรรจุเหล่านี้เป็นภาชนะบรรจุอ่อนตัว ภาชนะบรรจุกึ่งคงรูปและคงรูป ฉลาก จุก หรือแผ่นรองใต้ฝา และใช้ได้กับการบรรจุอาหารทุกประเภทรวมทั้งเครื่องดื่ม สมบัติสำคัญของวัตถุดูดออกซิเจน คือจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนก่อนการใช้งานจะต้องถูกกระตุ้นด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาหรือแสงก่อนจึงจะเกิดปฏิกิริยาได้ เพื่อลดการเสื่อมคุณภาพระหว่างรอการใช้งาน

1.1.2.1 การใช้ผงเหล็กผสมในฟิล์มพลาสติกและภาชนะบรรจุคงรูป นิยมใช้เป็นวัสดุลามิเนตประกอบด้วยฟิล์มชั้นนอกเป็นโครงสร้าง ฟิล์มชั้นป้องกันการซึมผ่านของก๊าซ ฟิล์มชั้นดูดออกซิเจน และฟิล์มชั้นนอกสุด วัตถุดูดออกซิเจนนี้ต้องการน้ำในการเกิดปฏิกิริยา

1.1.2.2 การใช้ผงเหล็กแต่งเติมพลาสติกโดยเฉพาะ PET เป็น master batch เพื่อใช้ผสมกับ PET ก่อนนำไปขึ้นรูปแบบอัดรีดร่วมหรือลามิเนตเป็นฟิล์มสำหรับทำถึงหรือซองหรือแผ่นรองใต้ฝา

1.1.2.3 การใช้ฟิล์มพลาสติกที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย เช่น Nylon MXD6 ใช้ผลิตขวดบรรจุอาหารที่ไวต่อออกซิเจน เช่น น้ำผลไม้ เบียร์ เครื่องดื่มแต่งกลิ่นผสมแอลกฮอล์

1.1.2.4 การใช้สีย้อมไวแสง (Photosensitive dye) ลักษณะการใช้งานคือ นำขดฟิล์มเอทิลเซลลูโลสผนึกไว้กับฟิล์มโปร่งใสบริเวณช่องว่างเหนือผลิตภัณฑ์ (head space) ฟิล์มเอทิลเซลลูโลสนี้จะมีสีย้อมไวแสงและตัวรับซิงเกลตออกซิเจน (singlet oxygen acceptor) ผสมอยู่เมื่อฟิล์มถูกกระตุ้นด้วยแสง เช่น อินฟราเรด หรือ ยูวี ที่มีความยาวคลื่นเหมาะสมซึ่งมีข้อดีคือ สามารถกำหนดเวลาที่จะให้เริ่มเกิดปฏิกิริยาได้ตามต้องการ ด้วยการนำภาชนะบรรจุผ่านแสงอินฟราเรดหรือยูวีขณะบรรจุอาหาร สีย้อมไวแสงจะถูกกระตุ้นให้เริ่มทำงาน ประสิทธิภาพของวัตถุดูดออกซิเจนจึงไม่เสื่อมเสียไปก่อนการใช้งาน การเกิดปฏิกิริยาไม่จำเป็นต้องมีน้ำจึงใช้ได้กับการบรรจุทั้งอาหารแห้งอาหารเปียก และเครื่องดื่ม (Figure 2.)

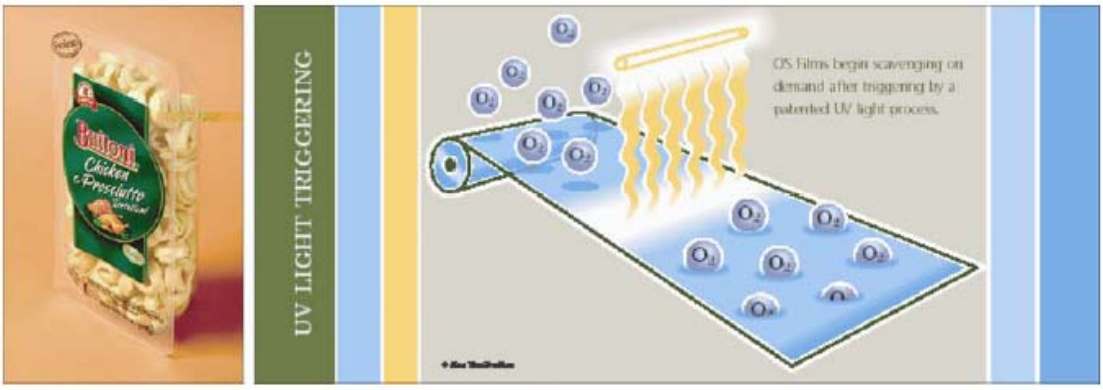


Figure 2. Cryovac® OS2000™ polymer based oxygen scavenging film

ที่มา : http://www.sealedair.com.br/products/specialty/os_systems.html(8 Febuary 2009)

1.2 วัตถุดูดเอทิลีน (Ethylene scavenger)

เอทิลีนจัดเป็นฮอร์โมนพืชที่มีความสำคัญต่อคุณภาพและอายุการเก็บของพืช เร่งการหายใจของพืชทำให้ผลไม้สุกงอมและผักสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเร็วขึ้น รวมถึงการเสื่อมเสียคุณภาพอื่นๆ ทำให้อายุการเก็บของผักและผลไม้สั้นลง การยืดอายุการเก็บของผักและผลไม้สดที่ไวต่อเอทิลีน นอกจากการใช้ MAP และการเก็บที่อุณหภูมิต่ำแล้ว ยังต้องมีการกำจัดหรือลดปริมาณเอทิลีนที่พืชปล่อยออกมา หรือมาจากสิ่งแวดล้อม หรือจากจุลินทรีย์บางชนิดที่สร้างเอทิลีนได้ จึงมีการนำวัตถุดูดเอทิลีนมาใช้ทั้งในอุตสาหกรรมและในครัวเรือน ซึ่งมีทั้งประเภทบรรจุซองและประเภทผสมในฟิล์มพลาสติก เนื่องจากโมเลกุลของเอทิลีนมีพันธะคู่ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ง่าย และเอทิลีนมีขนาดโมเลกุลเล็ก ทำให้ดูดซับหรือดูดกลืนได้ง่ายด้วยวัสดุที่มีรูพรุน การกำจัดเอทิลีนจึงสามารถทำได้หลากหลายวิธี และใช้สารประกอบหรือสารเคมีได้หลายชนิด

1.2.1 การดูดซับ (Absorption)

สารประกอบที่ใช้ดูดซับเอทิลีน เช่น ถ่านกัมมันต์ ผงอิฐ อะลูมิโนซิลิเกท (aluminosilicates) เบนโทไนต์ (bentonite) ซิลิกาเจล และอะลูมินา เป็นต้น แร่ดิน (clay minerals) ที่ดูดซับเอทิลีนได้ เช่น คริสโตบาไลต์ (crystobalite) หินโอยา (oya stone) ซีโอไลต์ (zeotile) เป็นต้น สารประกอบบางชนิดเมื่อดูดซับเอทิลีนแล้ว สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกเมื่อระเหยไล่เอทิลีนออกไปแล้ว เช่น พรอพิลีนไกลคอล (propylene glycol) เฮกไซลีนไกลคอล (hexylene glycol) สควอลีน (squalene) ฟีนิลเมทิลซิลิคอน (phenylmethylsilicon) PE และ PS เป็นต้น

1.2.2 การดูดซับ (Absorption) และการกำจัดด้วยปฏิกิริยาเคมี (Scavenging)

สารประกอบที่ใช้ดูดซับเอทิลีนบางชนิดจะเป็นสารเติมแต่ง (additive) หรือตัวเร่งปฏิกิริยาทำหน้าที่กำจัดเอทิลีนที่ถูกดูดซับไว้ เช่น ถ่านกัมมันต์ที่ทำให้ชุ่ม (impregneat) ด้วยโบรมีน

(bromine) หรือ ร้อยละ 15 $KBrO_3$+ 0.5 M H_2SO_4 นอกจากนี้ยังนิยมใช้ซิลิกาเจลทำให้เอิบชุ่มด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่างๆ เช่น โปรแตสเซียมไดโครเมต (protassium dichromate) โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตหรือด่างทับทิม (protassium permanganate, $KMnO_4$) ไอโอดีนเพนตอกไซด์ (iodine pertoxide) และซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate)

1.2.3 การดูดกลืนด้วยฟิล์ม (Film absorption)

เป็นการนำวัตถุดูดเอทิลีนประเภทซีโอไลต์และแร่ดิน แต่งเติมในฟิล์ม PE ซึ่งจะทำให้ฟิล์มทึบแสง ผงซีโอไลต์และแร่ดินมีรูพรุนจะดูดกลืนเอทิลีนไว้และยังทำให้อัตราการซึมผ่านของก๊าซของฟิล์มสูงขึ้นทำให้ความเข้มข้นของเอทิลีนในถุงลดลงจึงมีผลทางสรีรวิทยาต่อพืชน้อยลง ฟิล์มนี้ได้นำมาใช้บรรจุผักและผลไม้สดมากขึ้นและมีถุงจำหน่ายโดยตรงให้ผู้บริโภคสำหรับใช้ในครัวเรือน ตัวอย่างฟิล์มและถุงที่ใช้ เช่น Evert-Fresh, Green-Bags, Peakfresh, BO film และ Profresh เป็นต้น

1.3 วัตถุดูดหรือปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สะสมในภาชนะบรรจุอาหารได้จากการหายใจของพืช การหมักของยีสต์ แบคทีเรีย และราบางประเภทปล่อยออกมาระหว่างการเจริญเติบโต และปฏิกิริยาเคมีในอาหารบางชนิด เป็นดัชนีหนึ่งทำให้ทราบว่าอาหารเสื่อมเสียคุณภาพ การบรรจุอาหารประเภทนี้จึงต้องกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไป เพื่อลดการเสื่อมเสียและป้องกันภาชนะบรรจุโป่งพองหรือแตกระเบิด วัตถุดูดคาร์บอนไดออกไซด์ส่วนใหญ่ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) เมื่อทำปฏิกิริยากับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะได้แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) หรืออาจใช้ผงแคลเซียมออกไซด์ (CaO) บรรจุในซองร่วมกับซิลิกาเจลที่ดูดซับน้ำไว้ การบรรจุอาหารบางชนิดด้วย MAP ต้องการก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 10-80) เช่น เนื้อชำแหละ เนื้อไก่ ปลา เนยแข็ง แป้งพิซซ่าดิบ อาหารพร้อมบริโภคแช่เย็น เป็นต้น อาหารเหล่านี้มีปริมาณน้ำมาก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่บรรจุเข้าไปส่วนหนึ่งจะละลายน้ำในอาหาร และอีกส่วนซึมผ่านภาชนะบรรจุออกไป ทำให้ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในภาชนะบรรจุต่ำกว่าที่ต้องการ จึงมีการพัฒนาวัตถุปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อรักษาความเข้มข้นของก๊าซ และช่วยรักษารูปทรงภาชนะบรรจุไม่ให้ยุบตัว สารเคมีที่ใช้มักสามารถดูดออกซิเจนได้ด้วย เช่น เหล็กคาร์บอเนต (ferrous carbonate) โซเดียมไบคาร์บอเนตผสมกับกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น

1.4 วัตถุดูดกลิ่นหรือปลดปล่อยกลิ่น (Odor absorber or release)

สารระเหยง่าย (volatile compound) ที่ให้กลิ่นรสเฉพาะของอาหาร อาจสูญเสียไประหว่างการเก็บเนื่องจากซึมผ่านฟิล์มพลาสติกออกไป หรือถูกฟิล์มพลาสติกดูดซับไว้ เรียก

Scalping ทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลง จากสมบัติของพลาสติกที่ดูดซับกลิ่นรสของอาหารได้ น้ำผลไม้ประเภท grapefruit มักมีปัญหารสขมที่เกิดจากสารประกอบนารินจิน (naringin) และ ลิโมนิน (limonin) ซึ่งเป็นสารให้รสขมเมื่อน้ำส้มผ่านกระบวนการให้ความร้อน วัตถุดูดกลิ่นรสที่ใช้เตรียมได้จากฟิล์มพลาสติกเซลลูโลสซิเตต (cellulose acetate) ที่เติมเอนไซม์นารินจิเนส (naringinase) ซึ่งได้จากจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์จะเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของนารินจินได้สารนารินจินิน (naringenin) และพรูนิน (prunin) ออกมา ซึ่งสารทั้ง 2 นี้ไม่มีรสขม เอมีนที่ได้จากการสลายตัวของโปรตีนและกรดอะมิโน ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติของเนื้อปลา วัตถุที่ใช้ดูดกลิ่นอามีนอาจใช้แบบฟิล์ม เช่น ฟิล์ม PE ที่เติมกรดซิตริก เป็นต้น หรือแบบซองเล็กๆ เช่น วัตถุดูดกลิ่นเอมีน ใช้เกลือเฟอร์รัส (ferrous salt) ผสมกับกรดอินทรีย์ เช่น กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก เป็นต้น ทำหน้าที่ออกซิไดส์อามีน และสารให้กลิ่นอื่นๆ วิตามินอี (α– Tocopherol) เป็นวัตถุดูดกลิ่นที่เป็น food-grade ใช้ผสมฟิล์มพลาสติกสำหรับบรรจุอาหารทอด ถั่ว ขนมปังกรอบ และอาหารที่หืนง่าย

1.5 วัตถุดูดความชื้น และวัตถุควบคุมความชื้น (Moisture absorber and Moisture regulator)

การเปลี่ยนแปลงความชื้นของอาหารทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง เป็นสาเหตุหนึ่งของการเสื่อมเสียคุณภาพของอาหารระหว่างการเก็บรักษาที่พบบ่อยมาก การใช้ภาชนะบรรจุที่ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีบางครั้งไม่เพียงพอสำหรับการชะลอการเสื่อมเสียคุณภาพ จึงมีการพัฒนาวัตถุดูดความชื้นและวัตถุควบคุมความชื้นมาใช้ ซึ่งต้องเลือกให้เหมาะสมกับอาหาร ปัญหาของการเก็บอาหารแห้ง คือ ความชื้นเพิ่มขึ้น เนื่องจากไอน้ำที่ซึมผ่านภาชนะบรรจุเข้ามาได้ในระหว่างการเก็บ ทำให้อาหารสูญเสียความกรอบ เช่น ข้าวเกรียบทอด ถั่ว ขนมปังกรอบ ปลากรอบ เป็นต้น ทำให้อาหารจับตัวเป็นก้อน เช่น นมผง กาแฟ ครีมเทียม น้ำตาลทราย เครื่องเทศผง เป็นต้น หรือทำให้ความสามารถในการละลายของอาหารลดลง เช่น นมผง กาแฟ เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป เป็นต้น

สำหรับอาหารที่มีความชื้นและ a_w สูง และอาหารประเภท Intermediate Moisture Foods การสูญเสียความชื้น ทำให้เนื้อสัมผัสแห้ง สีเข้มขึ้น และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เช่น อาหารพร้อมบริโภค ขนมปัง ผัก และผลไม้สด เนื้อสด ประหลาดสด กุ้งแห้ง กุนเชียง ปลาเค็ม เป็นต้น การใช้ภาชนะบรรจุที่ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี อาจทำให้เกิดปัญหาหยดน้ำสะสมในภาชนะบรรจุ ซึ่งมีสาเหตุจากการคายไอน้ำของพืช หรือการถ่ายเทไอน้ำระหว่างอาหารกับอากาศภายในภาชนะบรรจุเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเก็บรักษา ไอน้ำที่สะสมในภาชนะบรรจุ และหยดลงบนอาหาร ทำให้เนื้ออาหารแฉะและจุลินทรีย์เติบโตได้

1.5.1 วัตถุดูดความชื้น (Moisture absorber)

ใช้สำหรับการบรรจุอาหารแห้ง มีทั้งประเภทซองและประเภทฟิล์ม ได้แก่ แร่ดินหรือเคลย์ (clay) เกลือแร่ (minerals) และสารสกัดจากพืช (plant extracts)

1.5.1.1 ซิลิกาเจล

เป็นซิลิกาที่มีโครงสร้างอสัณฐานได้จากทราย สามารถดูดความชื้นได้ดี โดยเฉพาะที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงๆ เช่น ที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 ซิลิกาเจล 100 กรัม สามารถดูดความชื้นได้สูงถึง 35 กรัม โดยทั่วไปจะบรรจุซิลิกาเจลเป็นซองเล็กๆ ใช้กับการบรรจุสินค้าหลายประเภท ทั้งอาหาร ยา อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เสื้อผ้า กล้องถ่ายรูป วัสดุบรรจุหลายชั้นที่ใช้ผลิต Retort Pouch มักผสมซิลิกาเจลในชั้นกาว เพื่อช่วยดูดความชื้นไม่ให้ผ่านไปถึงชั้นของ EVOH นอกจากนี้ผสมในเม็ดพลาสติกที่จะนำไปขึ้นรูปภาชนะบรรจุด้วยวิธี Injection moulding

1.5.1.2 แร่ดินหรือเคลย์

ที่นิยมใช้เป็นวัตถุดูดความชื้น ได้แก่ เบนโทไนต์ (bentonite) มงค์มอริลโลไนต์ (montmorillonite) สามารถดูดความชื้นประมาณร้อยลา 25-30 ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า แต่เมื่ออุณหภูมิห้องสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ความชื้นจะถูกปล่อยออกมา แร่ดินนิยมใช้บรรจุขนาดใหญ่ประมาณ 1 กิโลกรัม หรือมากกว่า ในถุงกระดาษคราฟท์หรือถุงผ้า และใช้กับการบรรจุสินค้าขนาดใหญ่ๆ แร่ดินสามารถดูดความชื้นได้รวดเร็วมาก ประมาณ 2-3 ชั่วโมง หลังจากสัมผัสกับความชื้นทำให้ต้องเก็บแร่ดินในภาชนะบรรจุที่ป้องกันความชื้นและไอน้ำได้ดีก่อนการใช้งาน

1.5.1.3 ตัวกรองระดับโมเลกุล (Molecular sieve)

ตัวกรองระดับโมเลกุลเป็นสารสังเคราะห์ประเภทซิลิเกตของโลหะ เช่น โซเดียมซิลิเกต โปแตสเซียมซิลิเกต แคลเซียมซิลิเกต แมกเนเซียมวิลิเกต และอะลูมิเนียมซิลิเกต มีโครงสร้างเป็นรูพรุนขนาดสม่ำเสมอ เช่น Type 4A มีขนาด 4 อังสตรอม ความสามารถในการดูดสารของตัวกรองระดับโมเลกุลจะขึ้นกับความเป็นขั้วและขนาดโมเลกุลของสาร น้ำจัดเป็นโมเลกุลที่มีความเป็นขั้วสูงและมีขนาดพอเหมาะกับตัวกรองระดับโมเลกุล Type 4A ซึ่งสามารถดูดความชื้นได้ดีแม้ในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำๆ และสามารถลดความชื้นสัมพัทธ์ในภาชนะบรรจุให้เหลือเพียงร้อยละ 10 เท่านั้น

1.5.1.4 โลหะออกไซด์

โลหะออกไซด์ ได้แก่ แคลเซียมออกไซด์ แมกเนเซียมออกไซด์ และแบเรียมออกไซด์ ที่นิยมใช้มักเป็นแคลเซียมออกไซด์ (CaO) สามารถดูดความชื้นได้ดีแม้ในที่มีความ และสามารถลดความชื้นในอากาศที่เป็นระบบปิด ให้เหลือเพียงระดับส่วนในล้านส่วน สามารถดูดความชื้นประมาณร้อยละ 28 นิยมใช้เป็น Self adhesive label เมื่อ CaO ดูดความชื้นจะได้ $Ca(OH)_2$ ซึ่งเป็นสารที่สามารถดูดคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย

1.5.2 วัตถุควบคุมความชื้น (Moisture regulator)

ใช้สำหรับควบคุมความชื้นของอากาศภายในภาชนะบรรจุไม่ให้สูงเกิน เพื่อลดปัญหาการกลั่นตัวของไอน้ำ ซึ่งนอกจากเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสียจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แล้ว ยังทำให้ฟิล์มเป็นฝ้า ไอน้ำ ความใสลดลง ไม่สวยงาม และผู้บริโภคจะคิดว่าเป็นสินค้าเก่าหรือไม่สด การควบคุมความชื้นนี้นิยมใช้สารคงความชื้น (humectants) ประเภทเกลือโลหะชนิดต่างๆ ซึ่งสามารถดูดความชื้นในอากาศได้เมื่อค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงกว่าค่าความชื้นสัมพัทธ์สมดุล (Equilibrium relative humidity, ERH) ของเกลือนั้นๆ เช่น โซเดียมคลอไรด์ หรือ NaCl มีค่า ERH เท่ากับร้อยละ 75 จะดูดความชื้นในอากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ สูงกว่าร้อยละ 75 เท่านั้น และ NaCl จะกลายเป็นสารละลายอิ่มตัวที่สามารถรักษาค่าความชื้นสัมพัทธ์สมดุลนี้ไว้ตลอดเวลาเก็บรักษา จึงใช้ควบคุมความชื้นของอาหารและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศให้อยู่ที่ระดับเหมาะสม อาหารสดประเภท เนื้อ ปลา หรืออาหารที่มีน้ำมากๆ นิยมห่อด้วยฟิล์มที่มีสารคงความชื้นเพื่อดูดซับของเหลวที่ออกมาจากอาหาร ช่วยลดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ และทำให้อาหารดูสะอาดตา ทำจากฟิล์ม PVOH 2 แผ่น ระหว่างฟิล์มมีสารคงความชื้นประเทภพรอพอลีนไกลคอลทำหน้าที่ดูดน้ำที่ผ่านฟิล์มเข้ามา ฟิล์มนี้นิยมให้ทั้งในอุตสาหกรรมและในครัวเรือนด้วย

1.6 การบรรจุต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial packaging)

การบรรจุต้านจุลินทรีย์ หมายถึง ระบบการบรรจุที่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (spoilage microorganism) และจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogens) ที่ปนเปื้อนอาหาร เพื่อช่วยรักษาความปลอดภัยของอาหาร รวมทั้งถนอมรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของอาหารด้วย เป็นระบบการบรรจุที่นิยมใช้กับอาหารที่เสื่อมเสียง่ายจากจุลินทรีย์ หลักการของการบรรจุต้านจุลินทรีย์ คือ การใช้สารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) ร่วมกับระบบการบรรจุ ซึ่งอาจใช้ในรูปซองบรรจุสารต้านจุลินทรีย์ การแต่งเติมสารต้านจุลินทรีย์ในวัสดุบรรจุ หรือการใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ การนำสารต้านจุลินทรีย์มาใช้ในการบรรจุอาหารจะเป็นรูปแบบใดนั้นขึ้นกับชนิดของสารต้านจุลินทรีย์ สมบัติและลักษณะเฉพาะของอาหาร และชนิดของจุลินทรีย์ที่ก่อปัญหา

1.6.1 ประเภทของสารต้านจุลินทรีย์

มีการศึกษาสารต้านจุลินทรีย์สำหรับใช้ในการบรรจุอาหารแบบแอคตีฟกันมาก เพื่อหาสารที่เหมาะสมกับการใช้งานและมีประสิทธิภาพสูงเพียงพอในการประกันความปลอดภัยของอาหารตลอดอายุการเก็บ สารที่ใช้มีทั้งวัตถุกันเสียที่ใช้กับอาหาร สารสกัดจากพืช โดยเฉพาะพืชสมุนไพรและพืชที่มีสรรพคุณเชิงยา เอนไซม์ แบคเทอริโอซิน (bacteriocins) สารฆ่ารา (fungicides) ไอออนของโลหะ พอลิเมอร์ และก๊าซบางชนิด กลไกการต้านจุลินทรีย์ของสารแต่ละ

ชนิดจะแตกต่างกัน การใช้สารต้านจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันมักให้ผลดีกว่าการใช้สารชนิดเดียว ทั้งนี้ต้องคัดเลือกสารให้สามารถทำงานเสริมกันได้ด้วย สารต้านจุลินทรีย์ที่มีการใช้ในการบรรจุอาหารทั้งที่อยู่ระหว่างการวิจัยและที่ผลิตเชิงพาณิชย์และใช้ในอุตสาหกรรมแล้วได้รวบรวมไว้ใน Table 1. และ Table 2.

Table 1. Antimicrobials incorporated directly into polymers used for food packaging.

Antimicrobials	Polymer / carrier	Main target microorganisms
Organic acids/anhydrides: Propionic, benzoic, sorbic, acetic, lactic, malic	Edible films, EVA, LLDPE	Molds
Inorganic gases:		
Sulfur dioxide, chlorine dioxide	Various polyolefins	Molds, Bacteria, Yeasts
Metals: Silver	Various polyolefins	Bacteria
Fungicide: Benomyl, imazalil	LDPE	Molds
Bacteriocins: Nisin, pediocins, Lacticin	Edible films, cellulose, LDPE	Gram-positive bacteria
Enzymes: Lysozyme, glucose oxidase	Cellulose acetate, PS, Edible films	Gram-positive bacteria
Chelating agents: EDTA	Edible films	Gram-negative bacteria
Spices: Cinnamic, caffeic, *p*-coumaic acids, Horseradish	Nylon/PE, cellulose	Molds, Bacteria, Yeasts
Essential oils (plant extracts):		
Grapefruit seed extract, hinokitiol, Rheum palmatum, Coptis chinesis extracts	LDPE, cellulose	Molds, Bacteria, Yeasts
Parabens: Propylparaben, ethylparaben	Clay-coated cellulose, LDPE	Molds

ที่มา : Appendini และ Hotchkiss (2002)

Table 2. Selected commercial antimicrobial packaging available for food applications.

Antimicrobial compound	Tradename	Producer Company	Packaging Forms for food applications
Silver substituted zeolite	AgIonTM	AgIon Technologies LLC	Bulk food storage containers, paperboard cartons, plasticor paper food wraps and milk containers.
	Novaron®	Toagosei, Co. LTD	Many (Japan)
Triclosan	Microban®	Microban Products	Deliwrap, reheatable food containers (UK)
Allylisothio-cyanate	WasaOuro®	Lintec Corporation	Pressure sensitive labels, sheets (Japan)
		Dry Company LTD	Sachets
Chlorine dioxide	Microsphere™	Bernard Technologies Inc.	Storage bags for produce, paperboard coating, rigid containers, pressure sensitive labels
Carbon dioxide	Freshpax™	Multisorb Technologies	Sachets
	Verifrais	SARL Codimer	Sachets (France)
Ethanol vapor	Ethicap®	Freund	Sachets
	Negamold®		
	Fretek®		
	Oitech™	Nippon Kayaku	Sachets (Japan)
Glucose oxidase (hydrogen peroxide)	Bioka	Bioka LTD	Sachets (Finland)

ที่มา : Appendini และ Hotchkiss (2002)

1.6.2 สารต้านจุลินทรีย์แบบซอง (sachet) หรือแผ่นซับ (pad)

ส่วนใหญ่จะบรรจุเป็นซองเล็กๆ เพื่อใส่ในภาชนะบรรจุไปพร้อมๆ กับอาหาร สารที่ใช้จะระเหยเป็นไออยู่ในช่องว่างเหนืออาหาร การใช้สารต้านจุลินทรีย์ในสภาพที่เป็นไอมีข้อดีที่สามารถเข้าไปในภาชนะบรรจุอย่างทั่วถึง เอทานอลเป็นสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในวงการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหาร การพ่นเอทานอลบนขนมปังหรือพิซซ่าก่อนการบรรจุจะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ สามารถยืดเวลาการเกิดกลิ่นอับ (staling) ของขนมอบ ข้อจำกัดของการใช้เอทานอลคือ อาหารจะมีกลิ่นแอลกอฮล์ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ จึงควรใช้กับอาหารที่ต้องผ่านความร้อนก่อนบริโภค เพื่อระเหยเอทานอลที่ตกค้างในอาหารออกไป จึงมีการพัฒนามาใช้วัตถุปล่อยเอทานอล (ethanol generator) แทน เช่น โดยใช้ผงซิลิกาเจลร้อยละ 35 โดยน้ำหนักห่อหุ้ม (encapsulate) เอทานอลร้อยละ 55 ผสมกับน้ำร้อยละ 10 ไว้ในโครงสร้างที่เป็นรูพรุน แล้วบรรจุในซองกระดาษเคลือบด้วย EVA ที่ยอมให้ไอน้ำและไอเอทานอลซึมผ่านได้ง่าย เอทานอลที่ถูกซิลิกาเจลดูดไว้จะระเหยเป็นไอเมื่อได้รับความชื้นจากอาหาร และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

1.6.3 สารต้านจุลินทรีย์ที่แต่งเติมในพอลิเมอร์ (Antimicrobial agents incorporated into polymers)

การเติมสารต้านจุลินทรีย์ในพอลิเมอร์ โดยอาจผสมสารต้านจุลินทรีย์ในพอลิเมอร์โดยตรงหรือการตรึง (Immobilization) สารต้านจุลินทรีย์ไว้ที่ผิวหรือในเนื้อพอลิเมอร์ สารที่ผสมโดยตรงในพอลิเมอร์จะแพร่ออกมาสู่อาหารเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผิวหรือในเนื้ออาหาร สำหรับสารต้านจุลินทรีย์ที่ตรึงกับพอลิเมอร์จะไม่มีการแพร่ออกมาปนเปื้อนอาหาร แต่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่สัมผัสได้ การทำงานของสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เติมในวัสดุบรรจุแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ คือ การปลดปล่อย (release) การดูดซับ และการตรึง (Figure 3.)

การใช้สารต้านจุลินทรีย์ผสมในพอลิเมอร์แล้วระเหยเป็นไออยู่ในภาชนะบรรจุมีข้อดีที่สารนี้ไม่จำเป็นต้องสัมผัสกับอาหารโดยตรง ส่วนใหญ่จะใช้การแต่งเติมสารตั้งต้น (precursor) ลงในพอลิเมอร์ เมื่อเกิดปฏิกิริยาจึงจะปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกมา เช่น คลอรีนไดออกไซด์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (NaS_2O_5) และแอลลิลไอโซไทโอไซยาเนต (allyl isothiocyanate)

1.6.3.1 การเติมสารตั้งต้น NaCl กับกรดในพอลิเมอร์ เมื่อได้รับความชื้นจะเกิดปฏิกิริยาเคมี และให้คลอรีนไดออกไซด์ หรือ ClO_2 ออกมาซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้ความเข้มข้นต่ำมาก

1.6.3.2 แผ่นซับที่สามารถปล่อยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ออกมาอย่างช้าๆ และสม่ำเสมอโดยใช้พอลิเมอร์แต่งเติมด้วยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ประมาณร้อยละ 10-20 ใส่แผ่นซับนี้ในกล่องบรรจุองุ่นสดสามารถลดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ แต่ยังมีปัญหาการควบคุมการ

ปล่อย SO_2 หากมีมากเกินจะทำให้สีขององุ่นซีดลงและมีกลิ่นซัลเฟอร์ และอาจมีปัญหาด้านกฎระเบียบความปลอดภัยของอาหารที่ควบคุมการใช้ซัลเฟอร์กับอาหาร

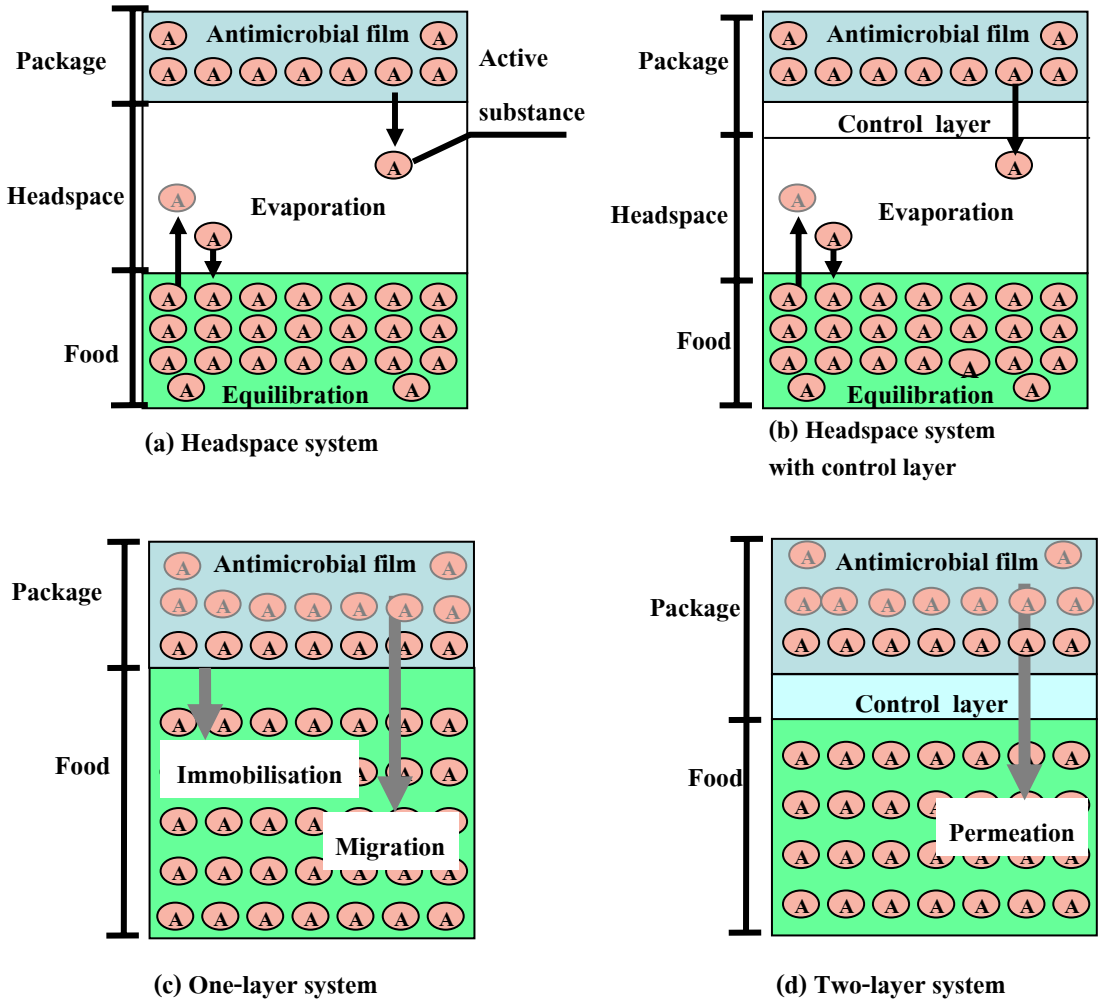


Figure 3. Functions of the antimicrobial agent incorporated in packaging material Headspace system (a), Headspace system with control (b), One-layer system (c) and Two-layer system (d).

ที่มา : ดัดแปลงจาก Appendini และ Hotchkiss (2002 อ้างโดย งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550)

1.6.3.3 สารต้านจุลินทรีย์ประเภทน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ที่นำมาใช้บรรจุอาหารได้แก่ แอลลิลไอโซไทโอไซยาเนต (ally isothiocyanate) สกัดได้จาก Horseradish, Back Mustard, Brown Mustard และ Wasabi มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรีย และรา โดยแอลลิลไอโซไทโอไซยาเนตจะเข้าไปในช่องว่างเหนืออาหาร มีลักษณะเป็นผงของไซโคลเด็กตริน (cyclodextrin) ที่หุ้ม (encapsulate) น้ำมันระเหยง่ายแอลลิลไอโซไทโอไซยาเนตไว้ การใช้งานมี

หลายรูปแบบ เช่น นำไปผสมกับฟิล์มหรือพอลิเมอร์เคลือบกระดาษห่ออาหารพร้อมบริโภคแบบอาหารกล่อง (เบนโตะ) ของญี่ปุ่น หรือผสมในกาวสำหรับทำฉลากประเภท Pressure sensitive label ซึ่งมีทั้งชนิดใสสำหรับติดใต้ฝากล่องบรรจุอาหาร และชนิดทึบแสงสำหรับติดด้านนอกถุงใสบรรจุเค้ก ขนมปัง หรือขนมอบอื่นๆ

1.6.3.4 ซีโอไลต์ที่มีไอออนของเงินเข้าไปแทนที่โซเดียมในโครงสร้าง (Silver substituted zeolite) หรือ Ag-zeolite (Figure 4.) เป็นสารต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและราที่มีประสิทธิภาพสูง และนิยมใช้แต่งเติมสารพลาสติกสำหรับบรรจุอาหาร กลไกการต้านจุลินทรีย์มาจากไอออนของเงินจะเข้าไปทำลายระบบการทำงานของเอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์ เนื่องจากเงินมีราคาสูงจึงมักใช้ผสมในฟิล์มบางๆ (3-6 ไมโครเมตร) ประมาณร้อยละ 1-3 แล้วนำไปลามิเนตกับพลาสติกที่เป็นโครงสร้างหลักของภาชนะบรรจุ

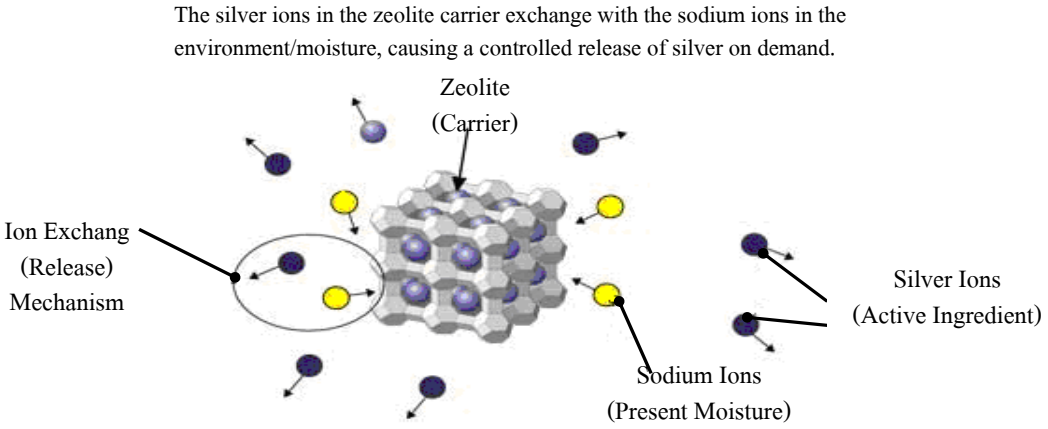


Figure 4. Illustrates the structure of antimicrobial Ag-zeolite.
ที่มา : งามทิพย์ ภู่วโรดม (2550)

1.6.3.5 ไตรโคแซน (Thicosan)

เป็นสารต้านจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้เติมในพอลิเมอร์ไตรโคแซนที่แพร่ออกจากพอลิเมอร์จะทำลายระบบการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีการผลิตเป็นสินค้าคือ พลาสติกที่แต่งเติมด้วยไตรโคแซน ผลิตเป็นเครื่องใช้ในครัว เช่น กล่องบรรจุอาหาร จาน เขียง และเสื้อผ้า เป็นต้น อนึ่งสหภาพยุโรปยังไม่อนุญาตให้ใช้ไตรโคแซนสัมผัสกับอาหารโดยตรง การใช้สารต้านจุลินทรีย์ประเภทวัตถุกันเสีย เช่น กรดและแอนไฮดรายด์ของเบนโซอิก ซอร์บิกและพรอพิออนิก เติมแต่งในพลาสติก เช่น LDPE, PP, EVA และฟิล์มหรือสารเคลือบบริโภคได้ ปัญหาของการใช้สรต้านจุลินทรีย์เติมแต่งในพลาสติกคือ ความสามารถในการรวมตัว

เป็นเนื้อเดียวกันต่ำ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์มันเป็นสารมีขั้วในขณะที่พลาสติกที่ใช้ส่วนใหญ่ไม่มีขั้วทำให้ผสมรวมตัวกันได้ยาก

1.6.4 สารต้านจุลินทรีย์ที่ถูกตรึงกับพอลิเมอร์ด้วยพันธะไอโอนิคและโควาเลนท์ (Immobilized antimicrobials to polymers by ionic and covalent linkages)

การตรึงสารต้านจุลินทรีย์ด้วยพันะไอโอนิคและโควาเลนท์กับพอลิเมอร์ซึ่งจะไม่เกิดการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์เข้าสู่อาหารเป็นอีกแนวทางที่กำลังศึกษาวิจัยกันมาก สมบัติสำคัญของสารต้านจุลินทรีย์และพอลิเมอร์ คือจะต้องมีหมู่ทำหน้าที่ (functional groups) ที่ทำให้เกิดพันธะระหว่างกันได้ ตัวอย่างสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ตรึงกับพอลิเมอร์ เช่น เป็ปไทด์ (peptides) เอนไซม์ กรดอินทรีย์ พอลิอามีน (polyamines) เป็นต้น ส่วนพอลิเมร์ที่ใช้เช่น EVA, Ionomer, Nylon, PVDC, PVC,EVOH, PS, EMA (ethylene methyl acrylate), EMAA (ethylene metacrylic acid) และ Copolymer PE เป็นต้น สารต้านจุลินทรีย์จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนผิวอาหารที่สัมผัสกับวัสดุบรรจุนี้ Appendini และ Hotchkiss (1997) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) กับฟิล์มพลาสติกหลายชนิด พบว่า เซลลูโลสไตรแอซิเตต (cellulose triacetate) มีประสิทธิภาพดีที่สุดเป็ปไทด์หลายชนิดที่แยกได้จากสัตว์ พืช จุลินทรีย์ แมลง รวมทั้งเป็ปไทด์สังเคราะห์มีสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย หมู่ทำหน้าที่อะมิโนและคาร์บอกซิลิคสามารถสร้างพันธะโควาเลนท์กับพอลิเมอร์ Appendini และ Hotchkiss (2001) ได้ทดลองตรึงเปปไทด์ของกรดอะมิโน 14 ชนิด กับ PS พบว่าสามารถยับยั้ง *E. coli* O157:H5 ได้ดี

1.6.5 สารต้านจุลินทรีย์เคลือบพอลิเมอร์หรือดูดซับที่ผิวพอลิเมอร์ (Coating or adsorbing antimicrobials to polymer surface)

สารต้านจุลินทรีย์บางชนิดสลายตัวที่อุณหภูมิสูง จึงไม่สามารถผสมหรือแต่งเติมกับพลาสติกก่อนการขึ้นรูปได้ ต้องใช้การผสมสารต้านจุลินทรีย์กับสารพาหะแล้วนำมาเคลือบผิวพอลิเมอร์หรือให้สารต้านจุลินทรีย์ถูกดูดซับที่ผิวพอลิเมอร์แทน เช่น การผสมสารต้านจุลินทรีย์ในไขเคลือบกระดาษห่ออาหาร เป็นต้น สารเคลือบหรือฟิล์มบริโภคได้นิยมใช้เป็นพาหะสำหรับสารต้านจุลินทรีย์ ใช้เคลือบฟิล์มหรือภาชนะบรรจุพลาสติก เช่น การผสมไนซิน (nisin) ในเมทิลเซลลูโลส (methylcellulose) หรือการผสมไนซินในเซอีน (zein) ที่ใช้เคลือบฟิล์มห่ออาหาร เป็นต้น โปรตีนเป็นสารพาหะที่นิยมใช้เนื่องจากในโมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่มีขั้วและส่วนที่ไม่มีขั้วจึงรวมตัวกับสารต้านจุลินทรีย์และเกาะติดผิวพอลิเมอร์ได้ดี การดูดซับสารที่ผิวพอลิเมอร์แล้วให้สารนั้นค่อยๆ แพร่ไปสู่อาหาร เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่นิยมใช้กับสารต้านจุลินทรีย์ประเภทแบคเทอริโอซินและเอนไซม์ ที่ไม่ทนทานความร้อนสูง เช่น การใช้ไนซินดูดซับที่ผิวของ PE, EVA, PP, Nylon,

PET, PVC และ Acrylic หรือการใช้ในซินผสม EDTA และกรดซิตริก ดูดซับที่ผิวของ LLDPE, Nylon, และ PVC เป็นต้น

1.6.6 พอลิเมอร์ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ (Inherently antimicrobial polymers)

พอลิเมอร์บางชนิดมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ จึงมีการนำมาใช้เป็นฟิล์มหรือสารเคลือบอาหาร พอลิเมอร์ที่มีประจุบวก (cationic polymers) เช่น ไคโตแซน และ พอลิ-แอล-ไลซีน (poly-l-lysine) ซึ่งมีหมู่อามีนที่มีประจุบวกจะดูดเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประจุลบให้ติดกับฟิล์ม ทำให้ผนังเซลล์แตก จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้แต่อาจจะไม่ตาย นิยมใช้ไคโตแซนเป็นสารเคลือบผักและผลไม้ หรือแต่งเติมไคโตแซนด้วยสารต้านจุลินทรีย์ประเภทกรดอินทรีย์หรือสารสกัดจากเครื่องเทศเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ นอกจากนี้ FDA ได้อนุญาตให้ใช้ไคโตแซน เป็น Food Contact Substance (FCS) ฟิล์มแคลเซียมแอลจิเนต (calcium alginate film) มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในธรรมชาติ (natural flora) และ coliforms ในเนื้อสดเป็นผลจากแคลเซียม คลอไรด์ในฟิล์ม นอกจากนี้ ฟิล์มอะคริลิกมีสมบัติต้านจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บของผักและผลไม้สดได้ การดัดแปรพอลิเมอร์ด้วยวิธีทางฟิสิกส์ (physical modification of polymers) เพื่อให้ผิวของพอลิเมอร์มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ เป็นอีกวิธีที่มีการศึกษาวิจัยกันมากและมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การดัดแปร Nylon ด้วยการฉายรังสีอัลตราไวโอเลต หรือเอกซ์ไซเมอร์เลเซอร์ (excimer laser irradiation) ที่ความยาวคลื่น 193 นาโนเมตร จะทำให้เกิดหมู่อามีนที่ผิว Nylon เพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 10 ซึ่งมีสมบัติต้านจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *E. faecalis* และ *Pseudomonas fluorescens*

การใช้สาร antimicrobials ในบรรจุภัณฑ์อาหารมีวัตถุประสงค์ ใช้เพื่อปกป้องตัวบรรจุภัณฑ์หรือวัตถุดิบที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์จากจุลินทรีย์ และช่วยปกป้องอาหารที่อยู่ภายในบรรจุภัณฑ์จากจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่สามารถใช้กับอาหารได้ไม่เป็นอันตรายถ้าใช้ในปริมาณที่พอเหมาะ แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงว่าสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหารจะต้องไม่ส่งผลกระทบกับอาหารที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ด้วย ในอนาคตการบรรจุอาหารด้วยบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์คงจะมีวิวัฒนาการอย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น เพื่อตอบสนองความต้องการที่จะรักษาคุณภาพอาหารให้คงความสด สะอาด และปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์จนถึงมือผู้บริโภค รวมถึงการนำวัสดุหรือสารจากธรรมชาติมาใช้ร่วมกับวัสดุสังเคราะห์ประเภทพลาสติกมากขึ้น ผลประโยชน์สูงสุดคงจะอยู่ที่ผู้บริโภคที่จะได้รับความปลอดภัยและยังไม่กระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

2. เทคโนโลยีการเอนแคปซูลเลชัน (Encapsulation technology)

เทคโนโลยีการเอนแคปซูลเลชันเป็นกระบวนการผลิตอนุภาค หรือหยดของสารขนาดเล็ก ที่ล้อมรอบโดยการเคลือบ (coating) หรือฝัง (embed) ลงไปในสารห่อหุ้มที่ได้จากสารชนิดเดียวกัน (homogeneous matrix) หรือสารผสมหลายชนิด (heterogeneous matrix) ด้วยสารที่สามารถก่อตัวเป็นผนังได้ สารเหล่านี้อาจเป็นพอลิเมอร์ ขี้ผึ้ง หรือไขมัน หรือสารอื่นๆ รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ใช้เทคนิคนี้ได้แก่ ไลโปโซม (liposomes) นาโนพาทิเคิล (nanoparticles) ไมโครพาทิเคิล (microparticles) เพลเลท (pellets) บีดส์ (beads) เป็นต้น ซึ่งผลผลิตที่ได้มีขนาดเล็กตั้งแต่นาโนเมตรจนถึงมิลลิเมตร (วันดี รังสีวิจิตรประภา, 2549) สิ่งที่ได้คือ แคปซูลขนาดเล็กที่เพิ่มคุณสมบัติในการใช้ประโยชน์ โดยวัสดุที่ถูกหุ้มเป็นสารที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา (active) เรียกว่า แกน (core) และวัสดุที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มนั้นจะเรียกว่า ปลอกหุ้ม (shell) หรือ วัสดุห่อหุ้ม (wall material) หรือ วัสดุนำพา (carrier) หรือ แคปซูล (encapsulant) กระบวนการผลิตนี้สามารถใช้ได้กับหยดของของเหลว อนุภาคของแข็ง หรือส่วนประกอบที่เป็นแก๊ส โดยจะถูกหุ้มในลักษณะแผ่นฟิล์มบางๆ กรณีใช้กับอาหารต้องเป็นวัสดุที่มีความปลอดภัย (food grade) นอกจากนี้แกนกลางอาจประกอบด้วยสารชนิดเดียว หรือสารหลายชนิดรวมกันก็ได้ โดยทั่วไปการผลิตเอนแคปซูลเลชันประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การทำให้สารสำคัญที่เป็นแกนอยู่ในรูปอิมัลชัน (emulsion) เช่น ไขมัน (fat) และสารให้กลิ่น (aroma) โดยทำให้ไขมันมีขนาดเล็กลงเพื่อสามารถผนวกเข้ากับสารห่อหุ้ม เช่น พวกโพลีแซคคาไรด์ หรือโปรตีน เป็นต้น และการให้ความร้อน (drying) หรือให้ความเย็น (cooling) แก่สารอิมัลชัน (emulsion) เพื่อเพิ่มความแข็งแรง และความคงตัว (Madene *et al*., 2006; Gharsallaoui *et al*., 2007)

เทคโนโลยีการเอนแคปซูลเลชันได้แพร่หลายในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมด้านเภสัชกรรมและยา ด้านเคมี ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ด้านการเกษตร ด้านความงาม ด้านอาหาร และการพิมพ์ เป็นต้น (Madene *et al*., 2006) อย่างไรก็ตามสมบัติของเทคโนโลยีนี้ขึ้นอยู่กับหลายๆ ปัจจัย เช่น สารห่อหุ้ม โดยพิจารณาจากความสามารถในการกักเก็บสารสำคัญในแคปซูลได้มาก มีความคงตัวที่เหมาะสมระหว่างการเก็บรักษาและการนำไปใช้งาน สารห่อหุ้มไม่ทำปฏิกิริยากับกับสารสำคัญองค์ประกอบทางเคมี และลักษณะโครงสร้างของสารห่อหุ้มมีความจำเพาะต่อตำแหน่งในการแพร่กระจายตัวและปลดปล่อย และเมื่อสารสำคัญหมดไปสารห่อหุ้มสามารถเสื่อมสลายได้ทางสิ่งแวดล้อม (Shulkin and Stover, 2002)

โดยประโยชน์ที่ได้รับจากเทคโนโลยีการเอนแคปซูลเลชัน คือ สามารถลดความไวในการเกิดปฏิกิริยาของสารสำคัญภายในแกนกลางจากปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสง น้ำ และออกซิเจน เป็นต้น สามารถเพิ่มความคงตัว และลดอัตราการส่งสารสำคัญภายในแกนไปสู่สิ่งแวดล้อม

มากเกินไป สามารถนำสารสำคัญไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายโดยเปลี่ยนรูปจากของเหลวมาเป็นของแข็ง สามารถความคุมและอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญในแกนกลางในสภาวะที่เหมาะสมได้และสามารถลดการใช้ปริมาณสารสำคัญเนื่องจากมีขนาดอนุภาคที่เล็กลง (Gharsallaoui *et al*., 2007)

3. ไมโครพาทิเคิล (Microparticles)

ไมโครพาทิเคิล คือ อนุภาคที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 1 ถึง 1,000 ไมโครเมตร แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ ไมโครแคปซูล (microcapsules) และ ไมโครสเฟียร์ (microspheres) ซึ่งอาจมีรูปทรงเป็นทรงกลมหรือไม่ก็ได้ สำหรับไมโครแคปซูลจะมีลักษณะคือ สารสำคัญจะอยู่เป็นแกนกลาง (core) ซึ่งจะถูกห่อหุ้มด้วยผนังที่ทำด้วยพอลิเมอร์ ขี้ผึ้ง หรือไขมัน หรือสารอื่นๆ ทั้งนี้ส่วนของแกนและผนัง ที่เป็นส่วนห่อหุ้มนั้นแยกกันอย่างชัดเจน โดยผนังอาจมีคุณสมบัติเป็นผิวเรียบหรือรูพรุนก็ได้ส่วนสารแกนสามารถอยู่ภายในไมโครแคปซูลในลักษณะอนุภาคของแข็ง สารละลาย สารแขวนตะกอน สารแขวนละออง หรือสารผสมในรูปสารแขวนตะกอน และสารแขวนละออง ในส่วนของไมโครสเฟียร์นั้นสารสำคัญจะกระจายตัวแทรกอยู่ทั่วไปในสารห่อหุ้มในลักษณะต่อเนื่องกัน โดยที่สารสำคัญนี้อาจอยู่ในรูปสารละลายหรือกระจายตัวอยู่ในลักษณะอนุภาคหรือระดับโมเลกุลก็ได้ และโครงสร้างของไมโครสฟียร์นี้ไม่สามารถแยกส่วนผนังหรือส่วนที่ได้ห่อหุ้มได้อย่างชัดเจน (วันดี รังสีวิจิตรประภา, 2549) (Figure 5.)

3.1 วิธีการเตรียมไมโครพาทิเคิลสามารถทำได้หลายวิธี และวิธีที่มีการใช้กันมากในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม คือ

3.1.1 Solvent evaporation method จัดเป็นวิธีที่มีการศึกษากันมากที่สุด โดยสามารถผลิตได้ 2 เทคนิค คือ

3.1.1.1 Single emulsification process สามารถจำแนกได้เป็น

ก. O/W emulsification technique

เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป เนื่องจากสามารถทำได้ง่ายแต่จะได้ผลผลิตต่ำในกรณีที่สารสำคัญละลายได้มากในน้ำ เนื่องจากสารจะแพร่ออกไปสู่วัตภาคภายนอกทำให้ปริมาณสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้มไว้ในพอลิเมอร์หรือไขมันลดต่ำลงการเตรียมไมโครพาทิเคิลโดยวิธี O/W emulsification (Figure 6.) สามารถเตรียมได้ โดยนำวัตภาคภายในประกอบด้วยสารสำคัญละลายในสารละลายของพอลิเมอร์ จากนั้นนำวัตภาคภายในนี้ไปเติมลงในวัตภาคภายนอกซึ่งเป็นสารละลายของสารลดแรงตึงผิวในน้ำบรรจุอยู่ในภาชนะแก้ว จากนั้นทำการปั่นเพื่อลดขนาดของหยดอิมัลชันโดยใช้เครื่องปั่นชนิดที่มีใบพัด (propeller) เป็นเวลาสั้นๆ ในช่วง 5 ถึง 15 นาที จากนั้นหยุดเครื่องปั่นแล้วยกไปปั่นต่อโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแบบใช้แท่งแม่เหล็ก โดยใช้ความเร็วปาน

กลางปั่นต่อไปจนกระทั่งหยดอิมัลชันเปลี่ยนเป็นไมโครพาทิเคิล จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำโดยผ่านกระดาษกรอง แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำให้แห้งปราศจากความดัน (vaccuum dryer) เครื่องทำให้แห้งแบบ freeze dryer หรือตากให้แห้งใน dessicator ที่มีซิลิกาเจล การเกิดไมโครพาทิเคิลนั้นเกิดจาก 4 กระบวนการ คือ ตัวทำละลายแพร่จากวัตภาคภายในไปยังวัตภาคภายนอก แล้วตัวทำละลายจากวัตภาคภายนอกแพร่เข้ามายังวัตภาคภายใน หลังจากนั้นสารสำคัญกระจายตัวจากวัตภาคภายในไปยังวัตภาคภายนอก และพอลิเมอร์จะเปลี่ยนสภาพจากหยดอิมัลชันไปเป็นไมโครพาทิเคิลที่มีผนังแข็ง เนื่องจากสูญเสียตัวทำละลายออกไป ในการเตรียมไมโครพาทิเคิลตัวทำละลายที่เป็นส่วนประกอบของวัตภาคภายในนั้นจะใช้สำหรับละลายพอลิเมอร์ แต่ในระหว่างที่มีการก่อตัวเป็นไมโครพาทิเคิลนั้น ตัวทำละลายจะค่อยๆ ถูกขจัดออกไปโดยการถูกสกัดออกไปอยู่ยังวัตภาคภายนอกแล้วค่อยๆ ระเหยออกไปในระหว่างการกวนสารละลาย และเนื่องจากตัวทำละลายนี้มีความเป็นพิษเมื่อสัมผัสกับผิวหรือสูดดม จึงควรทำการเตรียมไมโครพาทิเคิลนี้ภายใต้ตู้ดูดควัน อย่างไรก็ตามพบว่าถึงแม้เทคนิคนี้จะสามารถทำได้ง่ายแต่จะไม่เหมาะในกรณีที่สารสำคัญละลายได้มากในน้ำเนื่องจากตัวยาจะแพร่ออกไปสู่วัตภาคภายนอกทำให้ปริมาณตัวยาหรือสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้มไว้ในพอลิเมอร์ต่ำลง

ข. O/O emulsification technique

เป็นเทคนิคที่เกิดจากความพยายามที่จะทำให้สารสำคัญที่มีค่าการละลายในน้ำได้สูง คงอยู่ในปริมาณสูงสุดภายในไมโครพาทิเคิล โดยใช้น้ำมันเป็นวัตภาคภายนอกทำให้ลดการแพร่ของสารสำคัญจากวัตภาคภายในไปยังวัตภาคภายนอก เนื่องจากสารสำคัญมีค่าการละลายในน้ำมันน้อย แต่มีข้อเสียคือ การล้างน้ำมันออกจากผิวของไมโครพาทิเคิลทำได้ยากขึ้น และทำให้สูญเสียตัวยาบริเวณผิวของไมโครพาทิเคิลไป เนื่องจากวิธีการ O/W emulsification process พบว่าปริมาณสำคัญของตัวยาหรือสารสำคัญ ที่ถูกห่อหุ้มไว้ในไมโครสเฟียร์ (encapsulation efficiency) สารสำคัญที่ละลายได้ในน้ำมีค่าน้อย ดังนั้นสำหรับสารสำคัญที่สามารถละลายได้ดีในน้ำจึงสามารถใช้วิธีการ O/O emulsification process ได้โดยตัวทำละลายที่ใช้เป็นวัตภาคภายใน ต้องไม่สามารถละลายเข้ากันได้ดีกับวัตภาคภายนอก ซึ่งวิธีการเตรียมโดยทั่วไปทำได้โดยการนำตัวทำละลายอินทรีย์ที่สามารถละลายเข้ากันได้กับน้ำ เช่น อะซิโตไนไตร์ (acetronitrite) หรือ ไดคลอโรมีเทน (dichromethane) มาละลายสารสำคัญและพอลิเมอร์ ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกันก่อนจากนั้นจึงนำไปกระจายในวัตภาคภายนอก ซึ่งเป็นน้ำมัน เช่น น้ำมันถั่ว น้ำมันงา หรือน้ำมันแร่ โดยมีสารลดแรงตึงผิวที่ละลายได้ดีในน้ำมัน เช่น span 40 ซึ่งทำให้เกิดอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมันในระหว่างการเตรียมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ละลายพอลิเมอร์จะค่อยๆ ถูกสกัดออกโดยน้ำมันซึ่งเป็นวัตภาคภายนอก จึงทำให้พอลิเมอร์ซึ่งก่อตัวเป็นหยดอิมัลชันเกิดการตกตะกอน เนื่องจากการสูญเสียตัวทำ

ละลายออกไป ผนังของอิมัลชันนี้จะแข็งตัวเปลี่ยนสภาพจากการเป็นหยดอิมัลชันที่มีสภาพอ่อนนิ่มไปเป็นไมโคร พาทิเคิลที่มีผนังหุ้มที่แข็ง จากนั้นจึงนำไมโครพาทิเคิลที่ได้มาขจัดเอาน้ำมันซึ่งเป็นวัตภาคภายนอกออกไป โดยการล้างด้วยตัวทำละลาย เช่น n – hexane

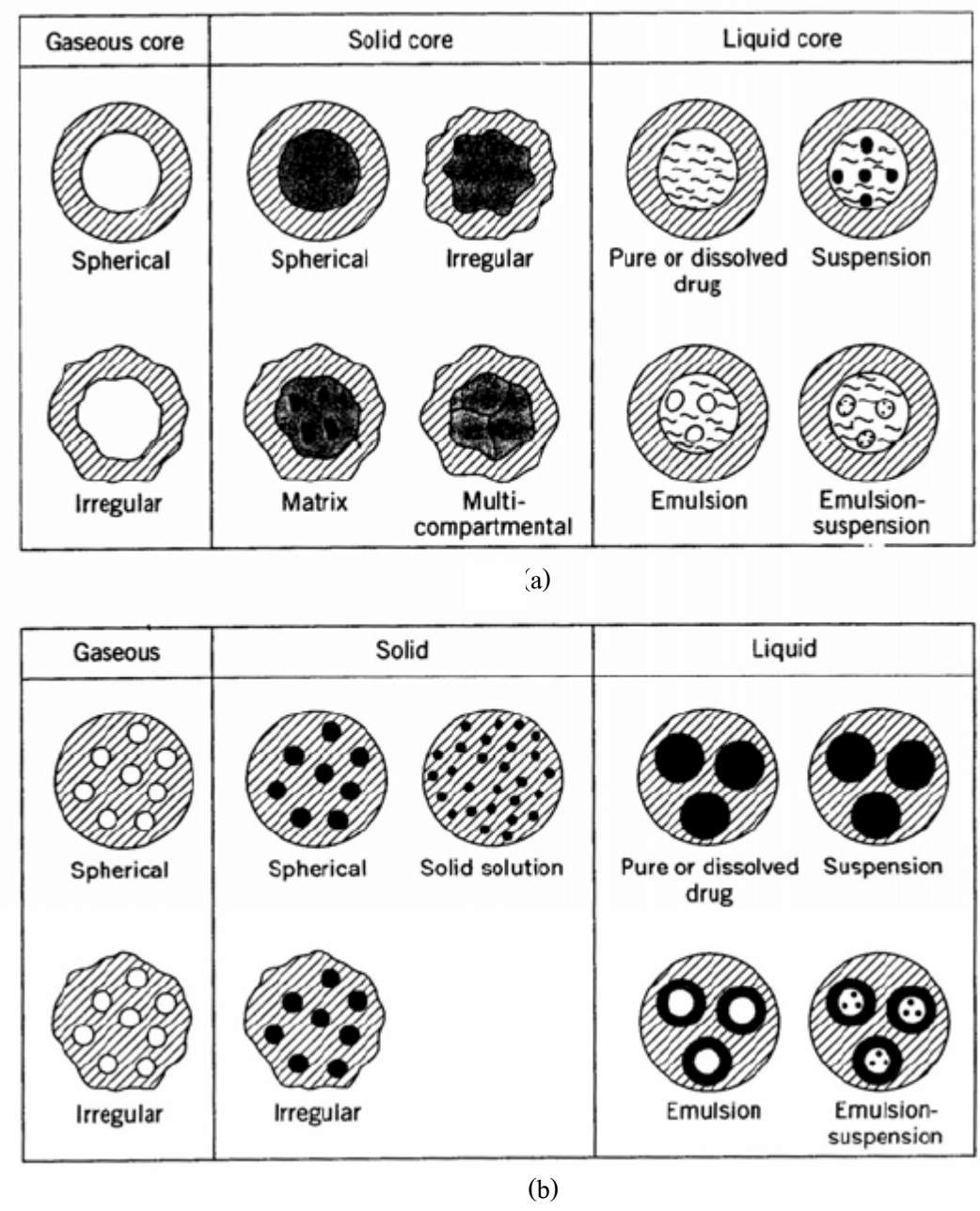


Figure 5. Structure and Characteristic of (a) microcapsules and (b) microsphere.

ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

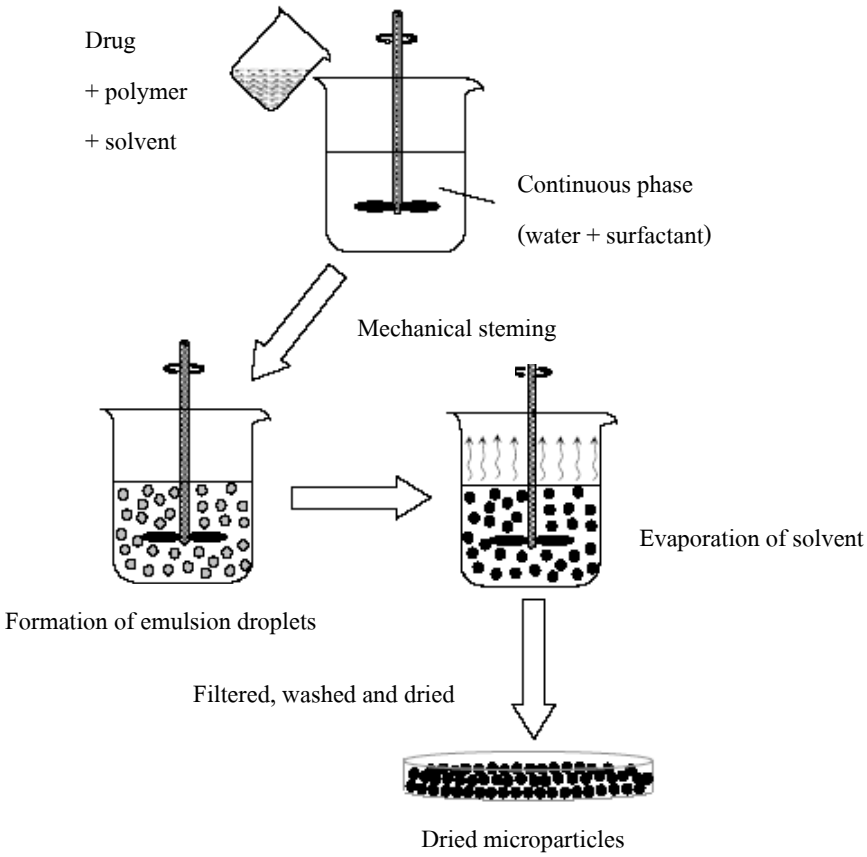


Figure 6. Process for preparing micropaticles O/W solvent type evaporation.
ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.1.1.2 Multiple emulsification process

กระบวนการนี้ใช้ในกรณีที่เป็นสารที่มีความสำคัญละลายในน้ำได้มาก โดยการทำเป็นอิมัลชันเชิงซ้อนจะช่วยลดการสูญเสียตัวยาสู่วัตภาคภายนอก และการล้างไมโครพาทิเคิลสามารถทำได้ง่ายกว่าการใช้น้ำมันเป็นวัตภาคภายนอก วิธีการ Multiple emulsion solvent evaporation method อาจเรียกว่าวิธี double emulsion (W/O/W emulsion) (Figure 7.) มักนิยมใช้กับสารสำคัญที่สามารถละลายได้ดีในน้ำเตรียมได้โดยนำสารสำคัญละลายในน้ำ จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้มาละลายในวัตภาคภายนอกซึ่งประกอบไปด้วยตัวทำละลายอินทรีย์กับพอลิเมอร์ โดยพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ได้แก่พอลีแลคไทด์โคไกลโคไลด์ poly (DL–lactide–co glycolide) (PLG) หรือ พอลีแลคไทด์ (polylactide, PLA) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ คือไดคลอโรมีเทน จากนั้นนำไปคนเพื่อให้เกิดหยดอิมัลชันปฐมภูมิ (primary W/O emulsion) หลังการเกิด primary W/O emulsion แล้วจึงนำไปเติมลงในวัตภาคภายนอกซึ่งประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว เช่น พอลีไวนิลแอลกฮอล์ เพื่อให้เกิดเป็น W/O/W emulsion จากนั้นล้างและทำให้แห้ง เช่นเดียวกันกับวิธีเตรียม

โดย O/W single emulsification เทคนิคนี้นิยมใช้ในการเตรียมสารสำคัญที่มีค่าการละลายในน้ำสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสำคัญในกลุ่มที่เป็นเปปไทด์หรือโปรตีน (วันดี รังสีวิจิตรประภา, 2549)

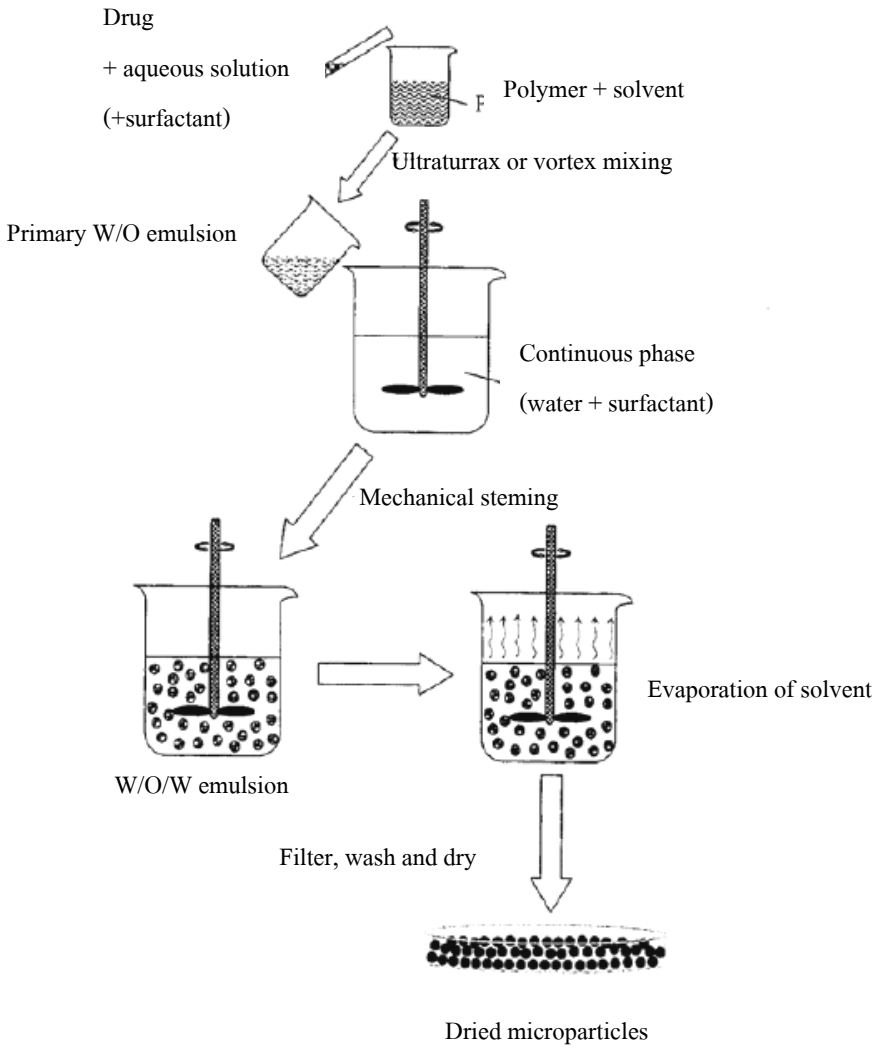


Figure 7. Process for preparing micropaticles W/O/W type multiple emulsions
ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.1.2 Coacervation method (หรือ phase separation)

เป็นปรากฏการณ์ของการแยกวัตภาคในสารละลายที่เป็นน้ำ หรือสารละลายที่ไม่ใช่น้ำของพอลิเมอร์ ซึ่งวิธีการนี้สามารถใช้ได้กับสารสำคัญที่ละลายได้ดีในน้ำ และสารสำคัญที่ไม่สามารถละลายน้ำได้หรือละลายได้น้อย แบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

3.1.2.1 Simple coacervation

หลักการคือ ต้องลดค่าการละลายของพอลิเมอร์โดยการเติมสารตัวกลาง เช่น ตัวทำละลายที่ไม่สามารถละลายพอลิเมอร์ชนิดนั้นๆ ได้ในสารละลายพอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วย

ตัวทำละลายอินทรีย์และตัวยาสำคัญซึ่งจะทำให้พอลิเมอร์ในสารละลายเกิดการเปลี่ยนสภาวะแวดล้อมจึงเกิดการตกตะกอนออกมาห่อหุ้มตัวยาที่ละลายอยู่ในสารละลายนั้น วิธีการเตรียมสามารถสรุปได้ดัง Figure 8. นอกจากการเติมตัวทำละลายที่ไม่สามารถละลายพอลิเมอร์ได้แล้วยังสามารถทำได้ด้วยวิธีต่างๆ ดังต่อไปนี้

ก. การเติมเกลือ

ข. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือพีเอช

ค. การเติมสารละลายที่ไม่ใช่สารทำละลายของพอลิเมอร์

ง. การเติมพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ ที่ไม่เข้ากันกับพอลิเมอร์ที่มีในตัวกลาง

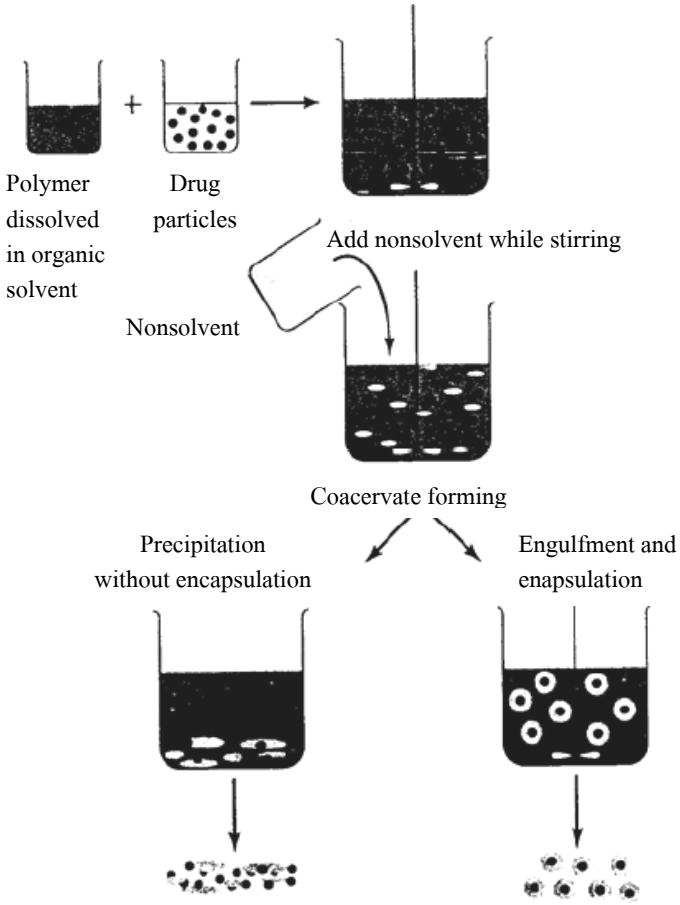


Figure 8. Process for preparing micropaticles coacervation type

ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.1.2.2 Complex coacervation

วิธีนี้เหมาะที่ใช้กับสารสำคัญที่มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ดีในน้ำหรือไม่สามารถละลายในน้ำได้ เกิดจากสารที่ใช้มีอิออน 3 ชนิด ประจุบวก ประจุลบ และอิออนที่มีทั้งประจุชนิดเดียวกัน โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอิออนที่เป็นชนิดเดียวกันหมายถึงพอลิเมอร์ชนิดที่เรียกว่าเป็น unicomplex coacervation แต่ถ้าการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอิออน 2 ชนิด และ 3 ชนิด เรียกว่า dicomplex coacervation และ tricomplex coacervation ตามลำดับ

3.1.3 การพ่นให้แห้งด้วยสเปรย์ (spray drying)

หลักการของวิธีการนี้คือ ใช้เครื่องสเปรย์ดรายเออร์ (Figure 9.) พ่นสารละลายของสารสำคัญและพอลิเมอร์ให้เป็นหยดฝอยๆ ลงไปในลมร้อนทำให้น้ำระเหยออกไปได้เป็นของแข็งแห้งของพอลิเมอร์ที่หุ้มสารสำคัญแยกออกมา การพ่นของเหลวออกมาเป็นอนุภาคละเอียดทำให้พื้นที่ผิวของเหลวเพิ่มขึ้นทำให้การถ่ายเทความร้อนดีขึ้นโดยส่วนมากจะได้เป็นผงเม็ดกลมๆ ออกมาหากต้องการใช้วิธีการนี้ เพื่อให้ได้แคปซูลที่มีเปลือกหรือผนังห่อหุ้มที่เรียบ ผิวเนื้อเข้าเป็นเนื้อเดียวกันต้องสนใจในเรื่องของปฐมสาร (starting materials) และอุณหภูมิของลมที่ทำให้แห้ง

ในปัจจุบันได้มีกระบวนการใหม่ๆ ในการผลิตไมโครสเฟียร์โดยวิธีการทำให้แห้งที่เรียกว่า Supercritical fluid techology แบ่งออกเป็น 2 วิธีคือ Aerosol solvent extraction system (ASES) และ Precipitation with compresed fluid antisolvent (PCA) ในการใช้ ASES เทคนิค ทำได้โดยการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหลวเป็นตัวทำละลายของพอลิเมอร์และสารสำคัญ จากนั้นจึงผ่านสารละลายนี้เข้าไปในเครื่องควบแน่นในอุณหภูมิต่ำๆ และต่อไปยังกระแสลมร้อน จากนั้นลดความดันลงจะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวกลายเป็นไอ เป็นผลให้พอลิเมอร์ตกตะกอน เนื่องจากสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นตัวทำละลายไปจึงได้เป็นไมโครพาทิเคิล สำหรับคาร์บอนไดออกไซด์สามารถทำให้กลับมาเป็นของเหลว เพื่อนำมาใช้ได้อีกต่อไป

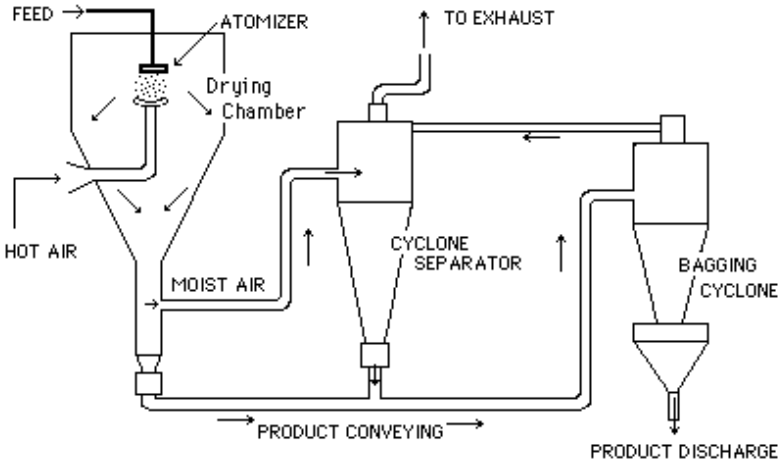


Figure 9. Cyclone spray dryer

ที่มา : http://class.fst.ohio-state.edu/Dairy_Tech/14Spraydrying.htm

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของไมโครพาร์ติเคิล

3.2.1 ปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อขนาดของไมโครพาร์ติเคิล

3.2.1.1 รูปร่างและขนาดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสม

3.2.1.2 อัตราการปั่นผสม

3.2.1.3 ปริมาณของของแข็งที่มีในวัตภาคกระจายตัว

3.2.1.4 ปริมาณและความหนืดของแต่ละวัตภาค

3.2.1.5 อัตราส่วนของวัตภาคทั้งสอง

3.2.1.6 ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้

3.2.1.7 อุณหภูมิและความเป็นกรดด่างระหว่างการเตรียม

3.2.2 ปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อปริมาณการบรรจุสารสำคัญและปริมาณไมโครพาร์ทิเคิล

3.2.2.1 ชนิดของสารทำละลายหรือสารผสม

3.2.2.2 ค่าการละลายของสารสำคัญในตัวกลางที่ใช้

3.2.2.3 อัตราการระเหยสารทำละลาย

3.2.2.4 ชนิดพอลิเมอร์หรือสารที่ใช้เป็นผนัง

3.2.2.5 น้ำหนักโมเลกุลและความเป็นผลึกของพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นผนัง

3.2.2.6 การทำให้ผนังแข็งตัวและขบวนการล้างและทำให้ไมโครพาร์ติเคิลแห้ง

3.2.2.7 ปริมาณพลาสติไซเซอร์ที่ใช้ผสมในพอลิเมอร์

3.3 กลไกการปลดปล่อยสารสำคัญ

ในการปลดปล่อยตัวยา สารเคมี หรือสารสำคัญอาจทำได้หลายวิธีแต่หากกล่าวถึงการใช้ พอลิเมอร์เข้ามาช่วยในการควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญจะต้องอาศัยหลักการ ดังนี้

ระบบที่ใช้หลักการแพร่

3.3.1.1 การควบคุมการปลดปล่อยโดยการแพร่ผ่านเมมเบรน

หลักการคือ ตัวทำละลายซึมผ่านเมมเบรนเข้าไปละลายตัวยาและตัวยาจะแพร่ผ่านเมมเบรนออกมา โดยพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญ พอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบส่วนใหญ่เป็นพวกน้ำตาลคาร์โบไฮเดรต อนุพันธ์ของเซลลูโลส ขี้ผึ้งหรือไขมัน เช่น shellacs, beeswax, acrylic resins, methylcellulose (MC), ethylcellulose (EC), polyvinyl chloride (PVC), polyvinylacetate เป็นต้น (Figure 10.)

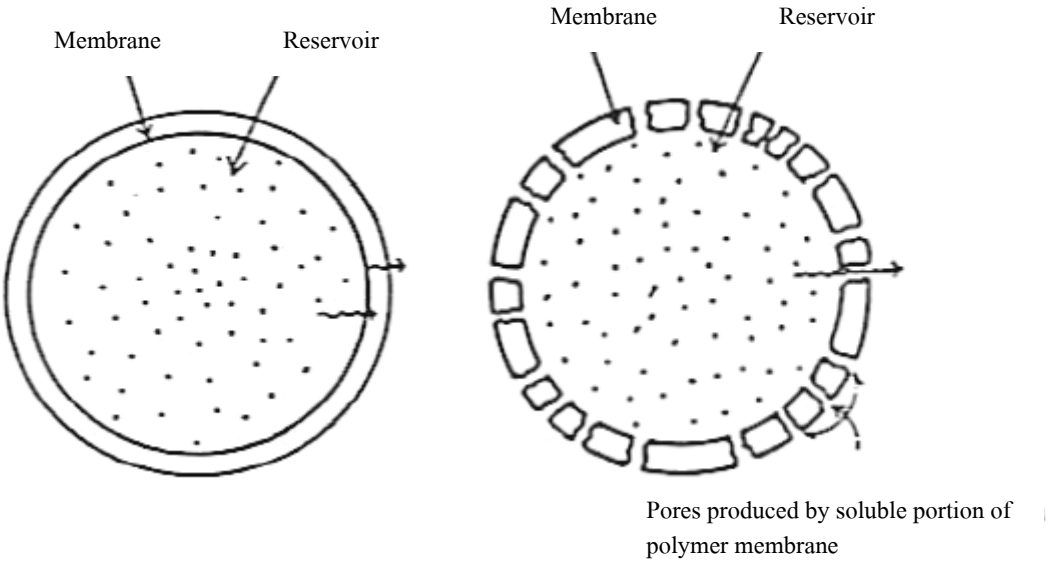
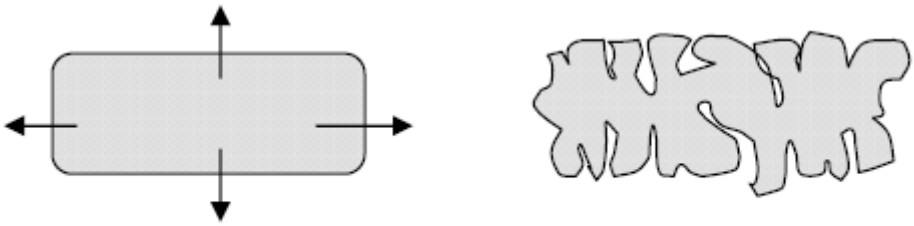


Figure 10. Non soluble membrane and partial soluble membrane
ที่มา : ณรงค์ สาริสุต (2535 อ้างโดย วันดี รังสีวิจิตรประภา, 2549)

3.3.1.2 การควบคุมการปลดปล่อยโดยการแพร่ผ่านแมทริกซ์ (Figure 11.)

หลักการคือ สารสำคัญอยู่ในรูปของแข็งกระจายกันอย่างสม่ำเสมอในสารพอลิเมอร์หรือไขมันที่เฉื่อย จากนั้นนำไปหล่อแบบด้วยแม่พิมพ์ให้เป็นขนาดรูปร่างโดยตัวยาจะถูกละลายแพร่ผ่านช่องว่างรูพรุนภายในเม็ดหรือแกรนูล พอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบในกลุ่มพลาสติกที่ไม่ละลายน้ำ เช่น methylacrylate-methylmethacrylate copolymer, PVC และ polyethylene (PE) ในกลุ่มพอลิเมอร์ที่พองตัวในน้ำ เช่น hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), sodiumcarboxymethylcellulose (CMC) และ methylcellulose (MC) และในกลุ่มไขมัน เช่น carnauba wax และ glyceryl tristearate



(a) (b)

Figure 11. (a) Diffusion of solute through the matrix and (b) Diffusion of solute through the porous or capillary of matrix

ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.3.2 ระบบที่ใช้หลักการละลาย

3.3.2.1 การควบคุมการปลดปล่อยโดยการละลายของเมมเบรน (Figure 12.)

หลักการคือ ตัวยาที่ถูกปลดปล่อยอย่างช้าๆ สามารถทำได้โดยลดอัตราการละลายโดยมีพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ช้าหุ้มไว้ เมื่อพอลิเมอร์ที่เคลือบไว้ละลายหมดตัวยาก็จะถูกปล่อยออกมา ซึ่งอัตราการละลายขึ้นอยู่กับความหนาของพอลิเมอร์ สำหรับพอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบ คือ ส่วนผสมของน้ำตาลคาร์โบไฮเดรตและสารเคลือบเซลลูโลสพอๆ กับส่วนผสมของสารพื้น polyethylene glycol (PEG) พอลิเมอร์และขี้ผึ้งเช่น shellacs wax starch acacia gelatincellulose acetate phthalate เป็นต้น ประโยชน์ที่นำมาใช้ในปัจจุบัน เป็นระบบที่ใช้รับประทาน เช่น Spansule ® และ Spacetab®

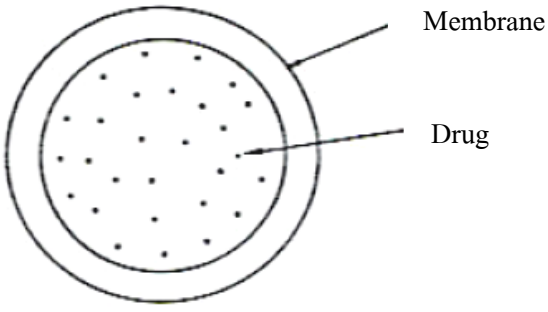


Figure 12. Drug releasing by solubilization of membrane

ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.3.2.2 การควบคุมการปลดปล่อยโดยการละลายของแมทริกซ์ (Figure 13.)

หลักการคือ มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับการละลายของเมมเบรนต่างกันที่แมทริกซ์มีการผสมพอลิเมอร์ที่ละลายได้ช้ากับสารสำคัญ สารสำคัญจะละลายออกมาอย่างช้าๆ พร้อมกับการ

กร่อนละลายของพอลิเมอร์ การปลดปล่อยของยาจะถูกควบคุมโดยการซึมผ่านของน้ำเข้าไป แมทริกซ์ พอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบ เช่น คาร์บอกซีแมททิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส เป็นต้น

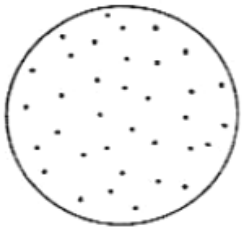


Figure 13. Control of drug releasing by solubilization of membrane
ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.3.3 ระบบที่ใช้แรงดันออสโมซิส (Figure 14.)

หลักการของระบบนี้คือ อาศัยแรงดันออสโมซิส ไปขับเคลื่อนให้สารสำคัญไปปลดปล่อยสารสำคัญในอัตราที่คงที่ส่วนที่กักสารสำคัญ ซึ่งอยู่ในรูปของแข็งหรือของเหลวจะถูกบรรจุและหุ้มล้อมรอบด้วยเยื่อเลือกผ่านเมื่อน้ำซึมผ่านเมมเบรนเข้าไปข้างในจะไปละลายเกลือที่อยู่ในส่วนกักเก็บสารสำคัญทำให้เกิดแรงดันออสโมซิส ดันสารสำคัญที่อยู่ในรูปสารละลายออกมาทางรูเล็กๆ เยื่อเลือกผ่านที่ใช้เช่น เซลลูโลสอะซิเตส พอลีไวนิลแอลกอฮอล์ แอทิลเซลลูโลส เป็นต้น เกลือที่ใช้ เช่นโซเดียมคลอไรด์และโปตัสเซียมคลอไรด์ เป็นต้น ประโยชน์ที่นำมาใช้ในปัจจุบัน ระบบที่ใช้รับประทาน เช่น วิตามินซี เป็นต้น

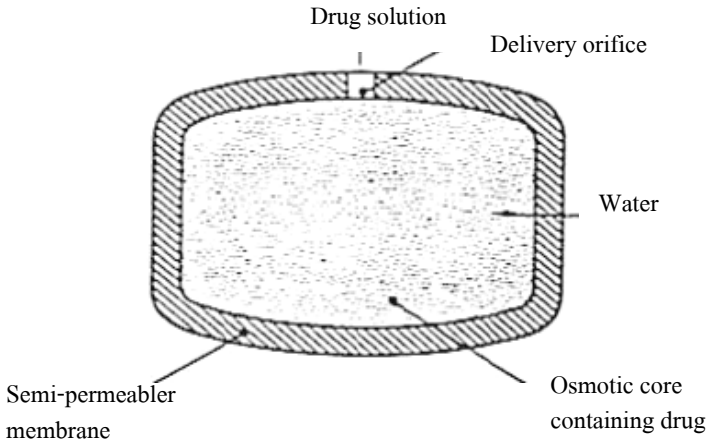


Figure 14. Drug releasing by osmotic pressure
ที่มา : วันดี รังสีวิจิตรประภา (2549)

3.3.4 ระบบที่ควบคุมโดยการพองตัว

หลักการ คือ สารสำคัญจะกระจายตัวสม่ำเสมอทั่วเมทริกซ์ พอลิเมอร์ที่พองตัวได้ดี เนื่องมาจากการเกิดการล้อมรอบของโมเลกุลน้ำ สำหรับพอลิเมอร์ที่ใช้ เช่น เมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีพอรพิลเมทิลเซลลูโลส เป็นต้น สำหรับประโยชน์ที่นำมาใช้ในปัจจุบันระบบที่ใช้รับประทาน เช่น ไดอะซีแปม

3.3.5 ระบบที่ควบคุมโดยการไฮโดรไลซิส

หลักการคือ ตัวยาจะเก็บอยู่ในไมโครแคปซูลขนาดเล็กหรือกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอแล้วถูกปลดปล่อยออกจากเมทริกซ์พอลิเมอร์ โดยการสลายของพอลิเมอร์ ซึ่งจะสลายตัวในร่างกายพอลิเมอร์ที่ใช้ co-(lactide/glycolic)-polymer, polyorthoester เป็นต้น ประโยชน์ที่นำมาใช้ในปัจจุบันเป็นระบบที่ฝังใต้ผิวหนังยานาเทรกโซล

4. การผลิตแคปซูล

การผลิตแคปซูลนั้นวัสดุที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตเป็นสารห่อหุ้ม คือ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) เช่น แป้ง (starch), กัม (gum), corn syrup solids, สตาร์ชดัดแปร (modified starch) ไคโตแซน (chitosan) และมอลโตเด็กตริน (moltodrextin) ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ให้สมบัติในการเป็นเจล ส่งผลทำให้มีความคงตัว ป้องกันการแยกชั้น(flocculation) และเกิดการรวมตัวกัน (coalescence) ซึ่งเป็นลักษณะความคงตัวที่ไม่ถาวรทางกายภาพ นิยมใช้ประโยชน์เป็นสารเอนแคปซูลเลชันส่วนผสมของอาหารพวกสารให้กลิ่น เนื่องจากความสามารถในการละลายได้ดี มีความหนืดต่ำเมื่อปริมาณองค์ประกอบของแข็งสูง (high solids contents) ให้ความคงตัว กระจายตัวได้ดีในอาหาร และราคาถูก (Madene *et al*., 2006)

4.1 แป้งและส่วนผสมจากแป้ง (starch-based ingredients)

แป้งและส่วนผสมจากแป้งใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถรักษา และป้องกันองค์ประกอบของสารระเหย (volatile compound) เอาไว้ สามารถห่อหุ้มสารให้กลิ่น (aroma compound) ทำหน้าที่แทนไขมัน (fat) และสารให้ความคงตัวในกลุ่มอิมัลชัน เม็ดแป้งในธรรมชาติทั่วไปจะมีขนาดของรูพรุนบริเวณผิวหน้าอยู่ที่ 1-3 ไมโครเมตร แสดงให้เห็นว่าขนาดของเม็ดแป้งที่เล็กนี้สามารถรวมกับสารสำคัญโดยการใช้ประโยชน์จากรูพรุน และเม็ดแป้งสามารถเพิ่มขนาดของจำนวนรูพรุนในโครงสร้างนี้ได้โดยใช้เอนไซม์อะไมเลส (amylase) Madene และคณะ (2006) พบว่าการรวมองค์ประกอบของกลิ่นด้วยแป้งสามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ สารประกอบให้กลิ่นรส (flavour compound) จะถูกล้อมรอบด้วย amylase helix จับกันด้วยพันธะ

ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bonding) และการเกิดปฏิกิริยาภายในของสารที่มีขั้ว (polar) คือเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonds) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของแป้ง และสารให้กลิ่น

4.2 มอลโตเด็กตริน

มอลโตเด็กตริน (Figure 15.) ได้จากย่อยแป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่งด้วยกรดหรือเอนไซม์ที่เหมาะสมใช้เป็นสารห่อหุ้มมีความคงตัวในการกับเก็บกลิ่นรสได้ปานกลาง ค่าสมมูลเด็กโทรส (dextrose equivalence, DE) คือ ร้อยละโดยน้ำหนักของน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในตัวอย่างที่อยู่ระหว่าง 10-20 ถูกนำใช้เป็นสารห่อหุ้ม ข้อด้อยของมอลโตเด็กตริน คือความสามารถในการเข้ากันได้ของน้ำและน้ำมัน (emulsifying capacity) ความคงตัวของอิมัลชัน และประสิทธิภาพในการกักเก็บกลิ่นได้ต่ำ (Gharsallaoui *et al.,* 2007; Madene *et al*., 2006)

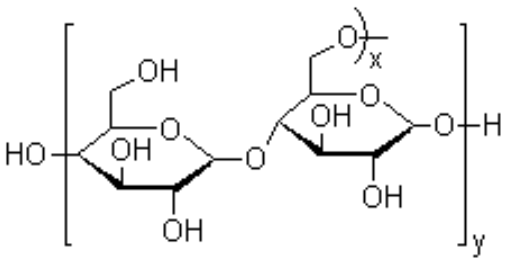


Figure 15. Molecular structure of Maltodextrin

ที่มา : http://petnutritionblog.com/wp-content/uploads/2008/07/maltodextrin.

4.3 ไคโตแซน

ไคโตแซน(Figure 16.) เป็นอนุพันธ์ของไคตินและมีชื่อทางเคมีว่า Poly[β-(1⟶4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็น copolymer ระหว่างเอ็น-อะซิทิลกลูโคซามีน (*N*-acetylglucosamine) และกลูโคซามีน (glucosamine) ได้จากปฏิกิริยาการกำจัดส่วนที่เรียกว่าหมู่อะซิทิล (acetyl group) ของไคตินออกไปด้วยด่างเข้มข้นเรียกว่า ปฏิกิริยาดีอะซิทิลเลชัน (deacetylation) ทำให้โมเลกุลของไคตินที่เป็นเอ็น-อะซิทิลกลูโคซามีนถูกแปลงเป็นกลูโคซามีน ส่งผลให้ไคโตแซนมีส่วนของโมเลกุลที่ว่องไว (active) และพร้อมจะทำปฏิกิริยาอย่างว่องไว หมู่ที่เด่นๆ ได้แก่ หมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 หมู่แอลกอฮอล์ (CH_2OH) และหมู่แอลกอฮอล์(-OH) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 3 และ 6 (Krajewska, 2005; Nair and Laurencin, 2007) ไคโตแซนเป็นพอลิเมอร์อิเลคโตรไลท์ประเภทบวก (cation polyelectrolyte) เนื่องจากหมู่อะมิโน (amino group; $-NH_2$) ในตัวทำละลายที่เป็นกรด (acidic solution) มี pH น้อยกว่า 6.5 ในสายโซ่โมเลกุลของไคโตแซนที่หน่วยของ กลูโคซามีนจะรับโปรตอน และแสดงประจุบวกบนหมู่อะมิโน ($R–NH_3^+$) โดยมีความแตกต่างน้ำหนักโมเลกุล (molecular weingt) อยู่ในช่วง 10 ถึง 1000 กิโลดาลตัน (kDa) และร้อยละ

การกำจัดหมู่อะซิติล (degree of deacetylation; DD) อยู่ระหว่าง 70-95 ซึ่งถือเป็นปัจจัยส่งผลต่อความต่างของไคโตแซน (Sinha *et al*., 2004; George and Abrahum, 2006) เนื่องจากไคโตแซนมีหมู่ที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาทำให้ไคโตแซนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายมีความสามารถเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต (biocompatibility) ไม่ทำปฏิกิริยากับวัตถุอื่น (physiological inertness) ไม่มีความเป็นพิษ (nontoxicity) ไม่เป็นอันตรายในการใช้งาน(harmless product) ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradability) ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial properties) ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (fungistatic) ต่อต้านการเกิดเนื้องอก (antitumoral) ลดคลอเรสเตอรอล (anticholesteremic)มีสมบัติในการดูดซับโลหะหนัก (heavy metal ion chelation ability) และความสามารถรวมกับโปรตีน (affinity to protein) (Krajewska, 2005; Nair and Laurencin, 2007) ซึ่งปัจจัยที่ต้องคำนึงได้แก่ ขนาดอนุภาค (particle size) ความหนาแน่น (density) ความหนืด (viscosity) ระดับการกำจัดหมู่อะซิติล (degree of deacetylation) และน้ำหนักโมเลกุล (Sinha *et al*., 2004)

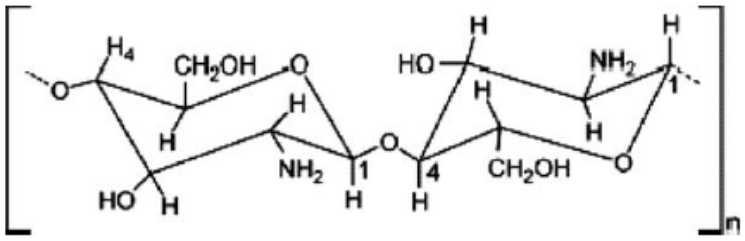


Figure 16. Molecular structure of Chitosan.
ที่มา : George และ Abrahum (2006)

สำหรับสารสำคัญที่บรรจุในแกนกลางส่วนใหญ่นิยมในรูปของไขมันและน้ำมัน (fats and oils), สารประกอบที่ให้กลิ่น (aroma compounds) สารสกัด oleoresins วิตามิน (vitamins) และแร่ธาตุ (minerals) เป็นต้น โดยในงานวิจัยฉบับนี้ได้เลือกสารสกัดกานพลูเป็นสารสำคัญที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาโดยคัดเลือกจากความสามารถในด้านจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร เพื่อนำไปประยุกต์เป็นบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ต่อไป

ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับไมโครเอนแคปซูลเลชัน

Klinkesorn และคณะ (2006) ศึกษาลักษณะความคงตัวของอิมัลชันน้ำมันทูน่าจากเทคนิคการทำแห้ง spray dry โดยใช้พอลิแซคคาร์ไรด์ร่วมกัน 2 ชนิด คือ เลซิติน-ไคโตแซน (lecithin-chitosan) และคอร์น ไซรัป (corn cyrup) ซึ่งเตรียมได้จากวิธี electrostatic layer-by-layer deposition พบว่าให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดในระดับไมโครแคปซูลที่มีสมบัติทาง

กายภาพ และการกระจายตัวที่ดี หยดน้ำมันถูกห่อหุ้มด้วยผนังห่อหุ้มหลายชั้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ถึง 30 ไมครอน ภายในแกนประกอบด้วยหยดน้ำมันทูน่าที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1 ไมครอน มีความชื้นภายในน้อยกว่าร้อยละ 3 มีปริมาณน้ำมันมากกว่าร้อยละ 85 และความสามารถการกระจายตัวในน้ำน้อยกว่า 1 นาที

Jafari และคณะ (2008) ศึกษาการเอนแคปซูลเลชันอนุภาคระดับนาโนของน้ำมันปลา (fish oil) ด้วยวิธี spray drying เปรียบเทียบเทคนิคการทำอิมัลชัน 2 วิธี คือ Microfluidization และ Ultrasonication ซึ่งวิธีดังกล่าวส่งผลต่อประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน (encapsulation efficiency) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของน้ำมันปลาโดยพิจารณาจากปริมาณน้ำมันที่ผิวหน้าและน้ำมันที่ถูกหุ้มด้วยแคปซูล โดยใช้มอลโตเด็กซ์ตรินร่วมกับสตาร์ชดัดแปรหรือเวย์โปรตีนเข้มข้น ที่อัตราส่วน 3 ต่อ 1 พบว่าเทคนิค Microfluidization และการใช้ผนังห่อหุ้มจากมอลโตเด็กซ์ตรินร่วมกับสตาร์ชดัดแปร ให้ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชันน้ำมันปลาดีที่สุด โดยมีขนาดอิมัลชันอยู่ในช่วงนาโน (nano-range) 210 ถึง 280 นาโนเมตร

Klaypradit และ Huang (2008) ศึกษาการเอนแคปซูลเลชันน้ำมันปลา (fish oil) โดยใช้ไคโตแซนเป็นสารหลัก ซึ่งใช้เทคนิค Ultrasonic atomizer โดยกระบวนการผลิต 3 ขั้นตอน คือ Emulsification, Ultrasonic atomization และ Freeze drying จากการศึกษาพบว่าการใช้ส่วนผสมระหว่างไคโตแซนและมอลโตเด็กซ์ตรินจะให้ขนาดของอนุภาคที่เล็กที่สุด มีความคงตัวของอิมัลชันสูงสุด อีกทั้งพบว่าในผงเอนแคปซูลเลชันที่ผลิตได้ด้วยวิธี Ultrasonic atomizer มีปริมาณของ EPA และ DHA (240 มิลลิกรัมต่อกรัม) สูงกว่าทางการค้า (100 มิลลิกรัมต่อกรัม) ขณะที่ปริมาณความชื้นและ water activity ที่ต่ำกว่า และมีลักษณะปรากฏและประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชันเป็นที่ยอมรับมากกว่า ดังนั้นการศึกษาการใช้เทคโนโลยี ultrasonic สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อปรับปรุงความคงตัวของน้ำมันทูน่าและน้ำมันชนิดอื่นๆ ได้

5. สารสกัดน้ำมันกานพลู (Clove extracts)

น้ำมันหอมระเหย (Essential oils) โดยทั่วไปเป็นที่ทราบกันดีว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Burt, 2004) สารสกัดน้ำมันกานพลูได้จากการสกัดดอกกานพลูซึ่งเป็นพืชในตระกูล Myrtaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eugenia caryophyllata* Thunb. กานพลูเป็นไม้ยืนต้น (small evergreen tree) สูง 5 ถึง 15 เมตร ใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ดอกอ่อนมีสีเขียว แต่เมื่อแก่มีสีแดงเข้ม ช่อดอกออกที่ลำต้นหรือกิ่งนิยมเก็บดอกมาทำเครื่องเทศขณะยังตูม (bud) พบปริมาณสารสกัดที่มีคุณประโยชน์หลายชนิด น้ำมันกานพลูได้จากธรรมชาติที่สามารถยับยั้งการเน่าเสียและไม่เป็นอันตรายเมื่อนำไปใช้กับอาหาร สารที่มีประโยชน์หลักที่พบในสารสกัดคือ ยูจีนอล (eugenol) จะมีปริมาณ

แตกต่างกันไปตามส่วนที่นำมาสกัด เช่น น้ำมันหอมระเหยจากส่วนของลำต้นและตาจะมียูจีนอล ประมาณร้อยละ 80-92 ของ ยูจีนอลที่พบทั้งหมด (Alma *et al*., 2007; รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540) ดอกของกานพลูแห้งโดยสกัดด้วยการกลั่นไอน้ำ (distilled water) สารประกอบหลักประกอบด้วย ยูจีนอล (eugenol) ร้อยละ 63.37 ยูจีนิล อะซีเตต (eugeyl acetate) ร้อยละ 13.14 และเบต้าคาร์ไรโอไฟลีน (β-caryophyllene) ร้อยละ 15.94 (Omidbeygi *et al*., 2007) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในการสกัดดอกกานพลูแห้ง 20 กรัม ที่กลั่นด้วยไอน้ำและตัวทำละลายเอทานอล (ethanol) พบว่าได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก 179.8 และ 264.9 ไมโครกรัม ตามลำดับ (Gulcin *et al.,* 2004) ซึ่งสารสำคัญในกานพลูที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ คือสารประกอบยูจีนอลเป็นสารประเภทฟีนอลิก (phenolic compound) สารดังกล่าวสามารถทำลายจุลินทรีย์โดยไปรบกวนการเลือกซึมผ่าน (selective permeability) ของเมมเบรน (cytoplasmic membrane) ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารประกอบที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้โปรตีนสูญเสียสมบัติและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ (Cosentino *et al*., 1999 and Wenqiang *et a*l., 2007) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Azzouz และ Bullerman (1982) ที่กล่าวว่าน้ำมันอบเชยและกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของรา ยีสต์ และแบคทีเรียได้ โดยทดสอบน้ำมันอบเชยและกานพลูร้อยละ 2 ลงใน potato dextrose agar (PDA) สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษของรา 7 ชนิด (*A. flavus, A. parasiticus, A. ochraceus, Penicillium sp. M46, P.roqueforti, P. patulum,* และ *P. citrinum*)ได้อย่างสมบูรณ์ เป็นเวลามากกว่า 21 วัน รวมถึงยับยั้งการเจริญของยีสต์ด้วย (Conner and Beuchat, 1984) ตรงกับงานวิจัยของ Suksrikarm (1987) กล่าวว่าน้ำมันอบเชยและกานพลูสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากมายรวมถึง *Lactobacillus* sp*., Bacillus thermoacidurans, Salmonella* sp*., Corynebacterium michiganense, Pseudomonas striafaciens, Clostridium botulinum, Alternaria* sp*., Aspergillus* sp*., Canninghamella* sp*., Fusarium* sp*., Mucor* sp.,และ *Penicillium* sp. Soliman และ Badeaa (2002) พบว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชยปริมาณ 500 ppm สามารถยับยั้ง *A. flavus, A. parasiticus, A. ochraceus* และ *Fusarium moniliforme* บนอาหาร PDA ได้ นอกจากนี้ August (1978) รายงานว่า การใช้น้ำมันหอมระเหยเอบเชยและกานพลูในระดับความเข้มข้นที่สูงสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษจากสปอร์ของราได้ และ Moreira และคณะ (2005) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของอาหารหลังกระบวนการผลิต (post-harvest processing) ด้วยน้ำมันหอมระเหย (essential oils) ชนิดต่างๆ ได้แก่ ยูคาลิปตัส (eucalyptus), ชา (tea tree), โรสแมรี่ (rosemary), มิ้นท์ (mint), กานพลู (clove), มะนาว (lemon), ออริกาโน (oregano), สน (pine), โหรพา (sweet basil) โดยสังเกตการเหลือรอดและเจริญเติบโตของเชื้อ *E .coli*. O157:H7 สายพันธุ์ ATCC25158, ATCC32922, CI และ CII โดยเพาะเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร บนเพลต BHI agar พบว่าน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีผล

ในการยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้สังเกตได้จากวงใส (clear zone) โดยน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (minimal inhibitory concentration; MIC) และปริมาณความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียต่ำสุด (minimal bactericidal concentration; MBC) คือ 0.25 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร และ 0.3 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสกว้างสุดอยู่ระหว่าง 50-60 มิลลิเมตร ขณะที่น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ มีขอบวงใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 35 มิลลิเมตร ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูจึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ดีที่สุด

Matan และคณะ (2006) ศึกษาความสามารถของน้ำมันอบเชยและกานพลู (cinnamon and clove oils) ในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหารกึ่งแห้ง (intermediate moisture foods) ภายใต้สภาวะบรรยากาศ (atmosphere conditions) ได้แก่ เชื้อรา 4 ชนิด *(Aspergillus flavus, Penicillium roqueforti, Mucor plumbeus* และ *Eurotium sp.*) เชื้อยีสต์ 4 ชนิด *(Debaryomyces hansenii, Pichia membranaefaciens, Zygosaccharomyces rouxii* และ *Candida lipolytica*) และเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด *(Staphylococcus aureus* และ *Pediococcus halophilus*) โดยเพาะแต่ละเชื้อลงเพลตวุ้น (nutrient agar) มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 10^5-10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร พร้อมนำแผ่นกระดาษที่ซับน้ำมันหอมระเหย (essential oils) ในอัตราส่วนที่กำหนดบรรจุลงในถุงเพาช์ (pouch bag) มีการซึมผ่านของออกซิเจน (O_2 permeability) เท่ากับ 4 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (moisture vapour transfer rate; MVTR) เท่ากัน 11 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน ที่ 25 องศาเซลเซียส แล้วทำการปรับสภาวะอากาศโดยมีก๊าซออกซิเจน (น้อยกว่าร้อยละ 0.05 ถึง ร้อยละ 10) คาร์บอนไดออกไซด์ (ร้อยละ 20 ถึง 40) และใช้ก๊าซไนโตรเจนปรับสมดุล พบว่าเชื้อรา *A. flavus,* และ *Eurotium sp.* มีความสามารถในการต้านทานการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด และการใช้อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลู ระหว่าง 1000 ถึง 4000 ไมโครลิตร ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ตามลำดับ เพื่อหาปริมาตรต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราและยีสต์ได้ (minimum inhibitory volume; MIV) พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมที่มากกว่า 1000 ไมโครลิตรขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. lipolytica* และ *P. membranaefaciens* ได้ และที่ 2000 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *A. flavus, P. roqueforti, M. plumbeus, E. sp., D. hanseni* และ *Z. rouxii* ได้ สำหรับเชื้อ *A. flavus* ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นถึง 4000 ไมโครลิตร จึงจะสามารถป้องกันการเจริญได้เป็นอย่างดี และพบว่าการใช้อัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อกานพลูในสัดส่วนที่สูงขึ้นจะมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อสูงขึ้นของ *A. flavus* ด้วย

Mytle และคณะ (2006) ศึกษาสมบัติของน้ำมันดอกกานพลู (clove oil) ต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* บนผิวหน้าไส้กรอกไก่โดยใช้น้ำมันหอมระเหย

ปริมาณ 0.01 (ร้อยละ 1) และ 0.02 (ร้อยละ 2) มิลลิลิตรต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่าง ที่มีเชื้อเริ่มต้น 10^2 และ 10^5 โคโลนีต่อกรัม (cfu/g) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ และ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ตามลำดับ พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 สามารถลดการปนเปื้อนและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นดังกล่าวในไส้กรอกไก่ได้

Braga และคณะ (2007) ศึกษาการใช้ยูจีนอล (eugenol) และเทอร์มอร์ (thymol) เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งในอัตราส่วน 1, 1/2, 1/4 และ 1/8 หรือร่วมกันในสัดส่วน 1+1, 1/2 + 1/2, 1/4 + 1/4 และ 1/8 +1/8 เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการใช้สาร (control) พบว่าการใช้ยูจีนอลและเทอร์มอร์ร่วมกันที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของ *Candida albicans* ถึงร้อยละ 31.40 ± 5.27 โดยการทดสอบเป็นเวลา 1 ถึง 4 ชั่วโมง และเมื่อสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบจำนวนเซลล์ลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น จากเซลล์ที่มีลักษณะเป็นถุง (envelope) กลมและเรียบ เปลี่ยนเป็นเซลล์ที่แบน เหี่ยวย่นและผนังเซลล์ถูกทำลาย

6. ฟิล์มบริโภคได้ (edible film)

ฟิล์มบริโภคได้ หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่บริโภคได้ นำมาใช้กับอาหารโดยเคลือบผิวของอาหารโดยตรง หรือเตรียมแผ่นฟิล์มขึ้นมาก่อนแล้วจึงนำมาใช้กับอาหาร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกัน หรือชะลอการผ่านเข้าออกของก๊าซ ไอน้ำ ไอระเหย สารละลาย จุลินทรีย์ หรือสารอื่นๆ จากอาหาร ฟิล์มที่เตรียมขึ้นอาจใช้สารชนิดเดียว หรือหลายชนิดรวมกัน โดยนำคุณลักษณะเด่นของสารแต่ละชนิดมาใช้ประโยชน์ (Sobral *et al.,* 2001; Guibert, 1986)

6.1 คุณลักษณะของฟิล์ม และสารเคลือบที่บริโภคได้

คุณลักษณะของฟิล์มบริโภคได้นั้น ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่นอาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงมาก จำเป็นต้องใช้ฟิล์มที่มาการต้านทานการซึมผ่านออกซิเจนสูง เป็นต้น ข้อดีของฟิล์มบริโภคได้ มีดังนี้ (Cerqueira *et al.,* 2009; Vasconez, *et al*., 2009)

6.1.1 บริโภคฟิล์มได้พร้อมกับผลิตภัณฑ์บรรจุอันเป็นจุดเด่นที่เห็นได้ชัดในการลดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อม

6.1.2 ในกรณีที่ไม่บริโภคฟิล์มฟิล์มที่ทิ้งไปสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้โดยง่ายเป็นการช่วยลดปัญหามลพิษเช่นกัน

6.1.3 เพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัส ชวนให้น่ารับประทานผลิตภัณฑ์มากขึ้นเมื่อใช้ฟิล์มนี้และเข้าได้ดีกับสารที่ให้กลิ่นรส และความหวาน เป็นต้น

6.1.4 เสริมคุณค่าทางอาหาร

6.1.5 ใช้หุ้มอาหารโดยแยกออกเป็นแต่ละชิ้น เช่น ถั่ว สตอเบอรี่ ซูชิ

6.1.6 ใช้เป็นแผ่นกั้นอาหารระหว่างอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ เนื่องจากการถ่ายเทความชื้นและไขมันในเนื้ออาหารที่แตกต่างกัน เช่น พิซซ่า พาย เป็นต้น

6.1.7 ทำหน้าที่เก็บสาร ป้องกันจุลินทรีย์และสารกันหืน และยังควบคุมอัตราการซึมผ่านของสารกันเสีย จากฟิล์มเข้าสู่เนื้ออาหาร

6.1.8 สามารถทำฟิล์มให้เป็นเม็ดแคปซูลบรรจุสารให้กลิ่นรสในอาหรอย่างมีประสิทธิภาพ (Leavening Agent) ได้เพื่อควบคุมการเติมสารที่ในอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ

6.1.9 สามารถใช้ร่วมกับฟิล์มพลาสติกโดยใช้ฟิลมรับประทานได้สัมผัสกับอาหารโดยตรง

6.2 ชนิดของฟิล์มบริโภคได้

ฟิล์มบริโภคได้แบ่งเป็น 3 ชนิดหลักๆ คือ ฟิล์มโปรตีน ฟิล์มพอลิแซกคาไรด์ และฟิล์มลิพิด

6.2.1 ฟิล์มโปรตีน (protein film) โดยทั่วไปฟิล์มโปรตีนจะมีคุณสมบัติทางกลและคุณสมบัติทางด้านความแข็งแรง และการซึมผ่านของก๊าซดีกว่าฟิล์มที่เตรียมได้จากพอลิแซกคาไรด์ ฟิล์มโปรตีนผลิตได้จากโปรตีนหลายชนิด และยังมีคุณค่าทางอาหารสูงอีกด้วย เช่น คอลลาเจน เจลาติน โปรตีนจากข้าวโพด โปรตีนข้าวสาลี โปรตีนถั่วเหลือง (Ozdemir and Floros, 2008)

6.2.1.1 ฟิล์มโปรตีนข้าวสาลี (wheat gluten protein) กลูเตนเป็นโปรตีข้าวสาลีที่ไม่ละลายน้ำประกอบด้วยไกลอะดิน (gliadin) ร้อยละ 75 (เป็นส่วนที่ละลายในแอลกอฮอล์) ส่วนประกอบนี้มีพันธะของไดซัลไฟด์ (disulfide) ซึ่งมีบทบาทในการเกิดฟิล์มกลูเตนทำให้มีลักษณะการยืดเกาะและการยืดหยุ่นดีฟิล์มกลูเตนมีความแข็งแรงออกซิเจนและคาร์บอกไดออกไซด์ซึมผ่านได้น้อยแต่เป็นฟิล์มที่ชื้นง่าย ฟิล์มกลูเตนสามารถใช้เคลือบผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่า เช่น การนำกลูเตนมาใช้ร่วมกับสารอื่นเพื่อใช้เคลือบถั่วลิสงอบแห้งก่อนการเติมเกลือใช้ทำแคปซูลบรรจุสี และสารให้กลิ่นรสเพื่อใช้เติมในผลิตภัณฑ์ขนมอบ เป็นต้น (Lens *et al.,* 2003)

6.2.1.2 ฟิล์มโปรตีนจากข้าวโพด (corn zein protein) เป็นโปรตีนข้าวโพดกลุ่มหนึ่งที่ละลายในแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 ที่เรียกว่าโพรลามีน (prolamine) สามารถผลิตได้ในทางการค้า zien ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วและไม่ชอบรวมตัวกับน้ำ (Hydrophobic) เช่น ลูซีน อะลานีนและโพรลีนในปริมาณสูงจึงทำให้ zein ไม่ละลายน้ำ ไม่ลายในแอลกอฮอล์บริสุทธ์ และยังประกอบด้วยกรดกลูตามิกในรูปกลูตามีนเป็นส่วนใหญ่จึงใช้ zein เคลือบเม็ดยาและผลิตภัณฑ์ขนม

หวาน เช่น ถั่ว ผลไม้แห้ง แยลลี่ การเคลือบด้วย zein แบบแชลแล็คจะให้ผลดี เพราะมีอัตราการแห้งเร็วกว่า ทำให้ความคงตัวเพิ่มขึ้น สามารถเก็บได้นานในสภาพที่มีความชื้นสูง (Shukla and Cheryan, 2001)

6.2.1.3 ฟิล์มโปรตีนจากนม (milk film) องค์ประกอบส่วนใหญ่ในน้ำนมร้อยละ 95 เป็นโปรตีนซึ่งประกอบด้วย เคซีน อัลลูมิน โกลบลูลิน โปรติเอส-เปปโตนในปริมาณที่ไม่เท่ากันโปรตีนในน้ำนมแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ เคมีน และเวย์โปรตีน ฟิล์มโปรตีนจากนมมีคุณสมบัติป้องกันการซึมผ่านไอน้ำปานกลางมีการนำฟิล์มโปรตีนมาใช้เคลือบผล มะเขือเทศและใช้สำหรับห่ออาหารที่สามารถบริโภค (Nino *et al*., 2005)

6.2.2 ฟิล์มลิพิด (lipid film) การใช้ฟิล์มลิพิดห่อหุ้มอาหารมีมานานแล้ว ในผลิตภัณฑ์ขนมหวาน (confectant) เช่นการเคลือบช็อคโกแลต หรือให้กับผักผลไม้ เช่น การเคลือบผลไม้ด้วยไข (wax) สารประกอบสิพิดหลายชนิดรวมทั้งแอซิทิลเลตโมโนกลีเซอรไรด์ (acetylate monoglyceride) ในธรรมชาติ (natural wax) และสารตึงผิว (surfactant) นำมาใช้เป็นสารเคลือบโดยทั่วไปลิพิดไม่นิยมขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มแต่จะใช้เป็นสารเคลือบโดยมีวัตถุประสงค์ที่จะให้ผลอย่างอื่นด้วย เช่น ลดการเสียดสีของผิวผลไม้ระหว่างการขนส่ง หรือป้องกันการเกิดสีน้ำตาลด้วย เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันต่างๆ เช่น กรดลอริก กรดปาล์มิติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก เป็นต้น หรือน้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว และเลซิทิน ตัวอย่างของฟิล์มลิพิด (Koch *et al.,* 2006; Riederer and Schreiber, 1995) ได้แก่

6.2.2.1 ฟิล์มไขบริโภคได้ (wax) ซึ่งมีคุณสมบัติต้านการซึมผ่านของความชื้นได้ดีมาก โดยเฉพาะไขพารีน (paraffin wax) และไขผึ้ง (bee wax) นอกจากนี้ฟิล์มจากไขพาราฟินและไขคาร์นูบา (carnauba) ยังช่วยลดอัตราการแพร่ของเกลือเบตโซเอตเข้าสู่อาหารได้ดี จึงสามารถใช้รักษาความเข้นข้นของสารกันเสียที่ผิวของอาหารไว้ได้เป็นเวลานาน ในขณะที่ฟิล์มจากขี้ผึ้งให้ผลดังกล่าวต่ำกว่า การเคลือบไขมักจะใช้กับผลไม้สด เช่น ส้ม แอปเปิ้ล แตง มันเทศ มะนาว เป็นต้น เพื่อยืดอายุการเก็บเกี่ยว โดยการเคลือบฟิล์มลิพิดเสริมที่ผิวแทนสารเคลือบผิว (cuticle) อันเป็นไขธรรมชาติที่ถึงชะล้างได้ง่าย อันมีผลทำให้เนื้อเยื่อมีอัตราการสูญเสียน้ำเพิ่มอีกหลายเท่า และทำให้อัตราการหายใจของผักผลไม้สูงขึ้น จึงส่งผลให้ผักและผลไม้เก็บไว้ได้นาน

6.2.2.2 ฟิล์มลิพิดอีกชนิดหนึ่ง คือ สารตึงผิว (surfactant) การเคลือบอาหารด้วยสารตึงผิวจะช่วยลดค่าวอเทอร์แอคทิวิตี ที่ผิวหน้า (superfacial water activity) และลดอัตราการระเหยของน้ำมีผลต่อการเสื่อมสภาพของอาหารช้าลงโดยสารที่ให้ผลดีที่สุด ได้แก่ fatty acid ที่มีจำนวนคาร์บอน 16-18 อะตอม กลีเซอรัลโมโนพาลมิเทตและกลีเซอรัลดมดนสเทียเรต (Kester and Fennema, 1986) ถ้าอาหาร a_w ที่ผิวหน้าต่ำจะลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ลดปฏิกิริยาทางเคมี

และปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วย ดังนั้นสารตึงผิวจึงสามารถป้องกันการเสื่อมสภาพได้ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในมันฝรั่งซึ่งเป็นสาเหตุการเกิดสารพิษ glycoalkaloid เนื่องจากสารตึงผิวช่วยลดการคายคาร์บอนไดออกไซด์จนถึงระดับที่จะยับยั้งการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ได้แก่ สารตึงผิวจำพวก lecithin หรือ hydroxylate lecithin หรือ tween เป็นต้น

6.2.3 ฟิล์มพอลิแซกคาไรด์ (polysaccharide film) สามารถใช้พอลิแซกคาไรด์บางชนิดผลิตฟิล์มหรือสารเคลือบที่รับประทานได้ เช่น แอลจิเนต (alginate) เพกติน (pectin) คาราจิแนน (carageenan) สตาร์ช (starch) สตาร์ชไฮโดรไลเซต (hydrolysate starch) และอนุพันธ์ของเซลลูโลส (cellulose and derivative) แต่เนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้ชอบรวมตัวกับน้ำ (hydrophilic) จึงไม่เหมาะสมที่จะนำฟิล์มเหล่านี้มาใช้ป้องกันการซึมผ่านความชื้น อย่างไรตามพอลิแซกคาไรด์บางตัวที่ใช้เคลือบจะมีลักษณะเหมือนวุ้น (gelatinous) และมีความชื้นสูงซึ่งจะช่วยชะลอการสูญเสียความชื้นของอาหารบางอย่างได้ในช่วงอายุการเก็บสั้นๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยที่สารเคลือบเจลทำหน้าที่เป็นตัวเก็บอาหาร (scarifying agent) มากกว่าเป็นตัวกลางขวางกั้นการส่งผ่านความชื้น เนื่องจากฟิล์มพอลิแซคคาไรด์บางชนิดช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนในลิพิด (lipid oxidation) และองค์ประกอบอื่นในอาหารซึ่งทำให้อาหารเหม็นหืน

6.2.3.1 สตาร์ช (starch) สตาร์ชประกอบด้วยอะมิโลสและอะมิโลเพกติน (amylase and amylopectin) ในปริมาณและอัตราส่วนที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์พืชอะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เส้นตรงและมีคุณสมบัติที่สามารถทำเป็นฟิล์มในตัวเอง (self supporting film) จึงใช้เป็นวัตถุดิบการเตรียมฟิล์มได้ ส่วนสตาร์ชก็สามารถนำมาเตรียมฟิล์มได้เช่นกันแต่เป็นฟิล์มที่มีข้อจำกัดในการใช้งาน ดังนั้นจึงต้องมีการแยกส่วน (fractionation) อะมิโลสจากสตาร์ชเพื่อนำมาเตรียมฟิล์ม ลักษณะของฟิล์มอะมิโลสนี้จะไม่มีสี ไม่มีกลิ่นรส ไม่เป็นพิษ แข็งแรง ยืดหยุ่นเป็นมันวาวมีคุณสมบัติต้านทานกรีส (grease) ได้สูงและออกซิเจนซึมผ่านฟิล์มได้ต่ำ แต่มีข้อเสียคือ ปัญหาการละลายของอะมิโลสเพื่อเตรียมฟิล์ม เมื่อเตรียมฟิล์มจะต้องใช้อุณหภูมิสูง ภายใต้ความดัน จึงนิยมที่จะใช้อนุพันธ์ของอะมิโลสซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่า การใช้งานฟิล์มอะมิโลส เช่น ทำถุงบรรจุกาแฟ ชาซุปสำเร็จรูป ผลิตไส้เทียม สำหรับทำไส้กรอก ใช้เคลือบผลไม้ เช่น ลูกพรุน ลูกกวาดผลไม้ทำให้ผลไม้ไม่เหนียวติดกันเป็นก้อน

6.2.3.2 แอลจิเนต (alginate) นิยมใช้ในรูปโซเดียมแอลจิเนตซึ่งสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลการเกิดฟิล์มของโซเดียมแอลจิเนตเป็นผลจากการเกิดเจล เมื่อแอลจิเนตทำปฏิกิริยากับ polyvalent cation แคลเซียมเป็นไอออนที่ทำให้เกิดเจลที่มีประสิทธิภาพสูงสุด มักใช้ในรูปเกลือแคลเซียมคลอไรด์เพราะทำให้เกิดวุ้นเนื้อแน่น คุณภาพดี การเคลือบด้วยฟิล์มแอจิเนตส่วนใหญ่นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น ชิ้นส่วนเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อไก่ การเคลือบชิ้นเนื้อทำให้มีการสูญเสีย

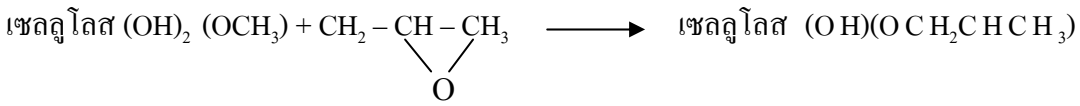
น้ำน้อยกว่าชิ้นเนื้อที่ไม่ได้เคลือบ ถึงแม้ว่าฟิล์มแอลจิเนตจะยอมให้ความชื้นซึมผ่านได้สูง แต่การเคลือบก็ให้ผลดี เนื่องจากเจลในฟิล์มมีปริมาณความชื้นสูง ความชื้นในเจลจะระเหยออกไปก่อนที่ชิ้นเนื้อที่เจลห่อหุ้มไว้จะสูญเสียความชื้น นอกจากนี้ฟิล์มเจลนี้ยังช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อ ช่วยรักษาสีแดงของเนื้อได้นานกว่าเนื้อปกติ ช่วยป้องกันการเกิด lipid oxidation ในอาหารและช่วยให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นด้วย

6.2.3.3 เพกติน (pectin) เป็นกลุ่มสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิแซกคาไรด์ พบในชั้นลาเมลลา (lamella) ส่วนกลางของเซลล์พืช เพกติกที่ใช้เป็นสารเคลือบเป็นชนิดที่มีจำนวนของ methoxyl ต่ำ ซึ่งทำให้เกิดเจลขึ้นได้ เมื่อสารละลายเพกตินทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออนหลังจากทำให้เจลแห้ง จะเกิดเป็นฟิล์มเพกติเนตมักใช้เคลือบบนผิวอาหารโดยตรง ฟิล์มนี้ทำหน้าที่เป็นตัวเก็บรักษาอาหาร (scarifying agent) ป้องกันอาหารที่ห่อหุ้มไม่ให้สูญเสียน้ำเนื่องจากฟิล์มเพกทิเนตยอมให้ไอน้ำซึมผ่านได้สูง ดังนั้นต้องทำให้ฟิล์มยอมให้การซึมผ่านไอน้ำลดลง โดยการเคลือบฟิล์มลิพิดทับบนฟิล์มเพกตินก่อนเพื่อให้ฟิล์มแห้งจึงจะใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้กว้างขึ้น

6.2.3.4 คาราจีแนน (carageenan) เป็นกลุ่มพอลิแซกคาไรด์ซัลเฟตสกัดได้จากสาหร่ายสีแดง เมื่อนำสารคาราจีแนนมาละลายด้วยความร้อนและทำให้เย็นจะเกิดเป็นเจล เจลคาราจีแนนที่ใช้เคลือบอาหารจะใช้ทำหน้าที่เป็นตัวเก็บรักษาอาหาร (scarifying agent) ป้องกันการสูญเสียความชื้นในอาหารที่ห่อหุ้มไว้ มักใช้เคลือบชิ้นเนยแข็งเทียมกึ่งชิ้น (intermediate moisture cheese analog) ด้วยเจลผสมคาราจีแนนและวุ้น (agarose) ที่มีกรดซอร์บิก (sorbic acid) อยู่ด้วย มีผลทำให้จุลินทรีย์เติบโตบนผิวผลิตภัณฑ์ไม่ได้

6.2.3.5 เมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิวเมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose; MC and Hydroxyl propyl methyl cellulose; HPMC) เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วย β-D-กลูโคไพแรโนส ต่อเป็นสายโซ่ยาวด้วยพันธะ1-4 กลูโคซิดิกดัดแปรด้วยปฏิกิริยาอีเทอริฟิเคชันที่มีการผลิตขายได้แก่ เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose; เอมซี)และอนุพันธ์ของเอมซี เช่นไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethylcellulose; เอชพีเอมซี) ทั้งเอมซีและเอชพีเอมซีละลายในน้ำเย็น และจัดเป็นเซลลูโลสอีเทอร์ที่มีการใช้ในอุตสาหกรรม เช่น อาหาร เครื่องสำอาง และยา เพราะมีสมบัติเด่นคือ ให้ความข้น เกิดเจลขณะร้อนได้ (thermal gelation) และให้การยึดติดดี เป็นต้น เอชพีเอมซี ได้จากการนำเมทิลเซลลูโลส (เอมซี) เตรียมได้จากการแช่เส้นใยเซลลูโลสที่มีปริมาณ เซลลูโลสสูงในสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 35-60) เพื่อให้เซลลูโลสพองตัวก่อนได้เซลลูโลสที่เป็นด่าง แล้วให้ทำปฏิกิริยากับเมทิลคลอไรด์ (methyl chloried; CH_3Cl) ที่อุณหภูมิ 70-20 องศาเซลเซียส ถ้านำเอมซีไปดัดแปรอีกครั้ง โดยให้ทำ

ปฏิกิริยากับโพรพิลีนออกไซด์ (propylene oxide) จะได้ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (เอชพีเอมซี) ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เอชพีเอมซีจัดเป็นอนุพันธ์อีเทอร์ของเซลลูโลสที่มีหมู่อีเทอร์สองชนิดในสายโมเลกุลจำนวนของหมู่ของ $-OCH_3$ และ $-OCH_2CH(OH)CH_3$ ในเซลลูโลสรวมถึงอัตราส่วนระหว่างทั้ง 2 หมู่ จะให้เซลลูโลสอีเทอร์ที่มีสมบัติต่างๆ กัน ทั้งเอมซี และเอชพีเอมซีสามารถละลายได้ในน้ำเย็น ให้สารละลายที่มีความหนืดและใสเนียน จุดเด่นของเอมซี และเอชพีเอมซี คือ มีสมบัติเกิดเจลได้ขณะร้อน (50 – 85 องศาเซลเซียส) เพราะทั้งเอมซี และเอซพีเอมซีไม่ละลายในน้ำร้อนแต่เมื่อเย็นตัวลงก็จะกลับคืนเป็นสารละลายที่มีความหนืดอีกครั้ง ถ้าปริมาณ $-OCH_3$ มากเจลที่เกิดขึ้นขณะร้อนจะแน่น ในทางตรงกันข้ามถ้าเพิ่มหมู่ไฮดรอกซีโพรพิล ($OCH_2CH(OH)CH_3$) มากขึ้นเจลจะนุ่มขึ้น การเกิดเจลได้ขณะร้อนมีความสำคัญต่อคุณภาพอาหารทอด ดังนั้นการเคลือบเป็นชั้นบางๆ ก่อนทอด จะช่วยลดการดูดซับน้ำมันในอาหารทอดได้ หรือการใช้เพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์คงรูปได้ โดยเอมซี หรือ เอชพีเอมซีจะทำหน้าที่ช่วยยึดส่วนประกอบในสูตร ตัวอย่างเช่น แฮมเบอร์เกอร์ที่ทำจากโปรตีนถั่วเหลืองหลังการได้รับความร้อน (วรรณา ตุลยธัญ, 2549) จากลักษณะดังกล่าวเอชพีเอมซีจึงเป็นทางเลือกในการนำมาประยุกต์เป็นฟิล์มเพื่อใช้ในการห่อหุ้มอาหาร

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วิธีดำเนินการ

1. การสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกกานพลู

ใช้ดอกกานพลูแห้งซื้อจากร้านขายยาสมุนไพรในจังหวัดสงขลา นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลดัดแปลงตามวิธีของ Wenqiang และคณะ (2007) โดยใช้ดอกกานพลูแห้ง 1000 กรัม ผสมกับเอทานอล 2000 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) เพื่อแยกเศษของแข็งจากสารสกัด ทำสารสกัดหยาบที่ได้ให้เข้มข้นขึ้นโดยระเหยเอทานอล ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บรักษาสารสกัดหยาบในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกระทั่งใช้งาน และทำการวิเคราะห์คุณลักษณะของสารที่สกัดหยาบได้ดังนี้

1.1 องค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดกานพลู

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Zheng and Wang, 2001) โดยนำสารสกัดกานพลูที่ผ่านการทำให้เจือจางจำนวน 400 ไมโครลิตร ผสมกับสาร Folin-Ciocalteu ที่ผ่านการเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วนระหว่าง Folin-Ciocalteu และน้ำ เท่ากับ 1:10 จำนวน 2 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ 4 นาที แล้วเติมสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคาร์บอเนต (saturated sodium carbonate solution; Na_2CO_3, 75 กรัมต่อลิตร) จำนวน 1.6 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล (phenol) ทั้งหมดในตัวอย่าง โดยการเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ Gallic acid ในระดับความเข้มข้น 0 ถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลที่ได้จะแสดงปริมาณมิลลิกรัม gallic acid equivalent (มิลลิกรัม GAE)/กรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

1.2 องค์ประกอบของสารสกัดกานพลูโดยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ตามวิธีของ Wenqiang และคณะ (2007)

โดยใช้ capillary คอลัมน์ชนิด HP-1 (15 เมตร length x 0.25 มิลลิเมตร ID x 0.25 ไมโครเมตร film thickness), ฉีดตัวอย่างแบบ split mode (split ratio 1 :25 v/v) อุณหภูมิ inlet เท่ากับ 230 องศาเซลเซียส สภาวะคอลัมน์ อุณหภูมิเริ่มต้น 80 องศาเซลเซียส คงไว้ 3 นาที และเพิ่มขึ้นในอัตรา 6 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 230 องศาเซลเซียส Ionization mode เป็น Electron Ionization, มวลต่อประจุอยู่ในช่วง 35 ถึง 550 aum

2. การวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด (Minimal bactericidal concentration; MBC)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูที่สามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* TSITR 780, *S. aureus* TISTR 118 และ *L. monocytogenes* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด trypticase soy broth supplemented with yeast extract (TSBYE) และ *R. stolonifer* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด YM agar slant และหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากกานพลูที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ตามวิธีของ Canillac และ Mourey (2001) โดยเติมสารสกัดหยาบกานพลูที่ได้ในหลอดทดลองแต่ละชุดการทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSBYE และ YM agar สำหรับแบคทีเรียและยีสต์รา ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร้อยละ 0 ถึง 16 กรัมต่อปริมาตร หลังจากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ราที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิดลงในแต่ละชุดการทดลองในปริมาณ 1 มิลลิลิตร (โดยควบคุมให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละหลอดให้มีประมาณ $3x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับหาแบคทีเรีย และที่อุณหภูมิห้องสำหรับหายีสต์รา เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (เชื้อ *E. coli*) และ 48 ชั่วโมง (เชื้อ *S. aureus* และ *L. monocytogenes*) ส่วนการหายีสต์และราตรวจสอบโดยใช้อาหาร YM agar คือ ค่า MBC วัดได้จากระดับความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถทำลายการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด

3. การผลิตไมโครเอนแคปซูลเลตของสารสกัดกานพลู ดัดแปลงตามวิธีของ Klaypradit และ Huang (2008)

เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมกับสารสกัดกานพลูปริมาตรร้อยละ 20 ที่ผสมกับทวีน 80 ร้อยละ 2.5 ของสารสกัดกานพลู โดยใช้เครื่องปั่นความเร็วสูงความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จนได้สารผสมที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้วค่อยๆ เติมสารละลายมอลโตเด็กซ์ตรินความเข้มข้นร้อยละ 20 ปั่นผสมต่อด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูงที่ความเร็วรอบเท่าเดิม เป็นเวลา 5 นาที จะได้ไมโครอิมัลชันสารสกัดกานพลูที่มีลักษณะข้นคล้ายครีมและมีลักษณะเป็นสารเนื้อเดียวกัน

4. การศึกษาความสามารถในการประยุกต์ในบรรจุภัณฑ์อาหาร

4.1 การเตรียมฟิล์มบริโภคได้ HPMC ที่เติมสารสกัดจากกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต

โดยใช้พอลิเมอร์ของไฮดรอกซีโพรพีลเมธิลเซลลูโลส (Hydroxypropyl methylcellulose; HPMC) เป็นสารก่อฟิล์ม ซึ่งทำการเตรียมโดยละลาย HPMC ในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติไซเซอร์ร้อยละ 30 ของ HPMC หลังจากนั้นจึงเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตที่ความเข้มข้นต่างๆ (1-5 เท่าของ MBC) หลังจากนั้นนำสารละลายฟิล์มที่ได้ไปขึ้นรูปบนถาด Teflon และทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง หลังจากนั้นบ่มที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 อุณหภูมิ 27$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำฟิล์มที่ได้ (ชุดทดลอง) มาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ และเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ ชุดที่เตรียมฟิล์มโดยไม่การเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต โดยนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติดังนี้

4.1.1 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) (*E. coli*, *S. aureus* และ *L. moncytogenes* และ *R. stolonifer*) ด้วยวิธี Agar Diffusion Method (Richardson *et al*.,1986)

4.1.2 วิเคราะห์ค่าการต้านทานแรงดึงและค่าการยืดตัวเมื่อขาด (Tensile strength and elongation at break by ASTM D882-91) (ASTM, 1995)

4.1.3 วิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability by cup method modified from McHugh *et al.,*1995)

4.1.4 วิเคราะห์ค่าการละลายของแผ่นฟิล์ม (Film solubility) (Jangchud and Chinnan, 1999)

4.1.5 วิเคราะห์ค่าสีด้วยระบบ Hunter (Film colour by Hunter system)

4.1.6 วิเคราะห์โครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของฟิล์ม (Film morphology)

4.1.7 วิเคราะห์ความหนาของฟิล์ม (Film thickness)

* หมายเหตุ ตัวอย่างฟิล์มก่อนนำมาทดสอบ Antimicrobial activity ต้องทำการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง (Pozos *et al*., 2004)

คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสม พิจารณาจากความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร และคุณสมบัติทางกล (Tensile strength and elongation at break) และคุณสมบัติในการป้องกันการผ่านเข้าออกของน้ำ (Water vapour permeability) ซึ่งฟิล์มที่คัดเลือกต้องมีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สูงเป็นอันดับแรก ตามด้วยคุณสมบัติเชิงกลและการซึมผ่านไอน้ำ

4.2 การประยุกต์ใช้แผ่นฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในผลิตภัณฑ์อาหารต้นแบบ

ผลิตภัณฑ์อาหารที่นำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาด้วยฟิล์ม HPMC ที่ผสมสารสกัดกานพลูที่ผ่านกานเอนแคปซูลเลต คือ ขนมปังแผ่นและปูอัดแท่ง โดยนำแผ่นฟิล์มที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 มาห่อปูอัดแท่งโดยนำแผ่นฟิล์มห่อปูอัดแท่งโดย ส่วนขนมปังแผ่นนำแผ่นฟิล์มมาวางคั่นหรือกั้นระหว่างแผ่นโดยให้ผิวหน้าของเนื้อขนมปังสัมผัสกัน นำผลิตภัณฑ์ทั้งสองที่ได้มาทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ โดยทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วสุ่มตัวอย่างเพื่อทดสอบคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ทุกๆ 2 วันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และทุกๆ 3 วันเป็นเวลา 3สัปดาห์ สำหรับขนมปังแผ่นและปูอัดแท่ง ตามลำดับ ดังนี้

4.2.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์

4.2.1.1 Total viable count (mesophile ในผลิตภัณฑ์ขนมปังแผ่น และ psychrophile ในผลิตภัณฑ์ปูอัด)โดยวิธี Standard Method (BAM, 2001)

4.2.1.2 Yeast and Mold โดยวิธี Standard Method (BAM, 2001)

4.2.1.3 Coliform bacteria โดยวิธี MPN (BAM, 2002)

4.2.2 คุณภาพทางกายภาพและเคมีดังนี้

4.2.3.1 วิเคราะห์ Water activity (AOAC, 1995)

4.2.3.2 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter โดยใช้เครื่องวัดสี (colorimeter) Juki

4.2.3.3 วิเคราะห์ค่าทีบีเอ (TBARs value) (Linsley *et al.*, 2005)

5. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิจัยในข้อ 4.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design, CRD) การทดลองข้อ 4.2.2 วางแผนการทดสอบแบบ Randomize Completely Block Design (RCBD) นำข้อมูลเชิงปริมาณที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 10.0 for window และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุ
   - 1.1 ดอกกานพลูแห้งจากร้านขายยาสมุนไพร อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
   - 1.2 ไคโตแซนที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติลร้อยละ 85-90 และน้ำหนักโมเลกุล 5.78×10^5 ดาลตัน จากบริษัท Seafreach Chitosan (Lab), Co., Thailand
   - 1.3 มอลโตเด็กตรินมี dextrose equivalent เท่ากับ 10 จากบริษัท High Science Ltd., Part., Thailand.
   - 1.4 ไฮดรอกซีโพรพีลเมธิลเซลลูโลส (Hydroxypropyl methylcellulose) จากบริษัท Seafreach Chitosan (Lab), Co., Thailand.

2. สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ
   - 2.1 เอทานอล (ethanol) จากบริษัท Merck Ltd., Thailand.
   - 2.2 ทวีน 80 (tween 80) จากบริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด
   - 2.3 Folin-Ciocalteu reagent จาก บริษัท Merck Ltd., Thailand
   - 2.4 Gallic acid จากบริษัท Sigma-Aldrich Fluka
   - 2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB), trypticase soy agar (TSA), yeast extract (YE), Potato dextrose agar (PCA) Hi-media จากบริษัท High Science Ltd., Part., Thailand.
   - 2.6 อาหาร Yeast extract-Malt extract agar (YM agar) Hi-media จากบริษัท High Science Ltd., Part., Thailand
   - 2.7 กลีเซอรอล (glycerol) จากบริษัท วิทยาศรม จำกัด

3. อุปกรณ์

3.1 เครื่อง rotary evaporator รุ่น 2215 ยี่ห้อ BUCHI

3.2 Scanning electron microscopy (SEM) รุ่น JSM-5800 LV ยี่ห้อ JEOL

3.3 Laser Particle Size Analyzer (LPSA) รุ่น LS 230 ยี่ห้อ COULTER

3.4 Gas Chromatograph รุ่น HP 5890 และ Mass Selective Detector รุ่น HP 5972

3.5 เครื่องปั่นความเร็วสูง (homogenizer) รุ่น IKA® T25 ยี่ห้อ ULTRA-TURRAX®

3.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (absorbance) รุ่น SPECTRO 23 จาก LaboMed, Inc.

3.7 ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ รุ่น FN 500 ยี่ห้อ nüve

3.8 เครื่องแยกตะกอนความเร็วสูง (centrifuged) รุ่น CT15RT ยี่ห้อ Techcomp.

3.9 เครื่องกวนแบบใบพัด รุ่น MD 09-002

3.10 เครื่องวัดค่าสี (colorimeter) รุ่น Color Flex ยี่ห้อ Hunter

3.11 เครื่องวัดความแข็งแรงของวัสดุ รุ่น LR30K ยี่ห้อ LLOYD

3.12 ถาด Teflon

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดกานพลู

จากการศึกษาองค์ประกอบเชิงปริมาณเบื้องต้นของสารสกัดกานพลูที่สกัดได้ ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่ามีอยู่ 862.73 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง และเมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (chemical composition) ของสารสกัดจากดอกกานพลูแห้ง พบว่ามีสาร eugenol, Trans-Caryophyllene, eugenol acetate, Δ-Cadinene, α-Copaene และ cadina-1,4-diene เท่ากับร้อยละ 65.67, 20.74, 4.81, 0.67,0.48 และ 0.18 ตามลำดับ (Table 3.)

Table 3. Chemical composition of the extract from clove extracts.

Compounds	(%)
Eugenol	65.67
Trans-Caryophyllene	20.74
Eugenol acetate	4.81
Δ-Cadinene	0.67
α-Copaene	0.48
Cadina-1,4-diene	0.18

2. ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด (Minimal bactericidal concentration, MBC)

ในการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ทั้งหมดของสารสกัดกานพลูต่อความสามารถในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *R. stolonifer, L. monocytogenes, E. coli* และ *S. aureus* พบว่าค่า MBC ของสารสกัดกานพลูต่อเชื้อ 4 ชนิด มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.5, 0.5, 1.0 และ 1.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ (Figure 17.) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากการสกัดดอกกานพลูแห้งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zaika (1988) กล่าวว่าสารสกัดกานพลูมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (strong inhibitory effect) โดยสารประกอบหลักที่สำคัญและพบมากในสารสกัดกานพลูได้แก่ ยูจีนอล ในงานวิจัยของ Vazquez และคณะ (2001) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา (antifungal) ของยูจีนอลและไทม์มอลที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารพิษ citrinin จากรา *Penicillium citrinum* (NRRL 2274 และ NRRL 2269) ในอาหารเลี้ยงเชื้อและเนยแข็งจากประเทศสเปน (Spanish cheeses; Arzua-Ulloa, Cebreiro) พบว่าการใช้ยูจีนอลคู่กับไทม์มอลในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโดยใช้ยูจีนอล 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดี สามารถขยายเวลาการเจริญช่วง lag time เป็น 9 วัน และลดอัตราการเจริญของโคโลนีของราได้ และในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้สมบูรณ์ ส่วนของการใช้ไทม์มอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญของราโดยในเนยแข็ง Arzua-Ulloa ยูจีนอลเพียง 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต่อต้านการเจริญของรา ขณะที่เนยแข็ง Cebreiro สารดังกล่าวจะไม่มีผลในการยับยั้ง และในเรื่องประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษการใช้ยูจีนอลและไทม์มอล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในการต้านสารพิษและการใช้ยูจีนอลคู่กับไทม์มอลเพียง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถชะลอการสร้างสารพิษเป็นเวลา 6 วัน หลังจากนั้นสารพิษจะถูกสร้างขึ้นและการใช้สาร ยูจีนอลหรือไทม์มอล 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเนยแข็ง Arzua-Ulloa ไม่พบการสร้างสารพิษเป็นเวลา 5 วัน จากเหตุผลดังกล่าวสามารถยืนยันได้ว่าสารสกัดกานพลูสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและทำลายแบคทีเรีย (bacteriostatic and bactericidal agent) และรา (antifungal) ได้ เมื่อนำมาเติมในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารระหว่างการเก็บรักษา Cox และคณะ (2000) รายงานว่าการใช้สารสกัดจากกานพลูที่ระดับ MIC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* AG100, *S. aureus* NCTC 8325 และ *Candida albicans* ซึ่งกลไกการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ของสารสกัดกานพลูเกิดจากการเข้าไปหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญภายในเซลล์จุลินทรีย์อีกทั้งมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์หรือรบกวนการทำงานขององค์ประกอบภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ (Davidson, 1993)

นอกจากนี้ Cox และคณะ (2000) รายงานว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เกิดจากสารประกอบในสารสกัดกานพลู (สารประกอบฟีนอลิก) เข้าไปยับยั้งกระบวนการหายใจและทำให้เกิดการรั่วของไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียและ/หรือทำลายเยื่อหุ้มพลาสมาของยีสต์ Prindle และ Wright (1997) กล่าวว่าความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอลิกนั้นเกิดจากการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (enzymatic activity) ของสารสกัดจากสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวทำหน้าที่เกี่ยวกับการผลิตพลังงานภายของจุลินทรีย์รวมถึงทำให้เกิดการตกตะกอนหรือสูญเสียสภาพของโปรตีนในเซลล์จุลินทรีย์

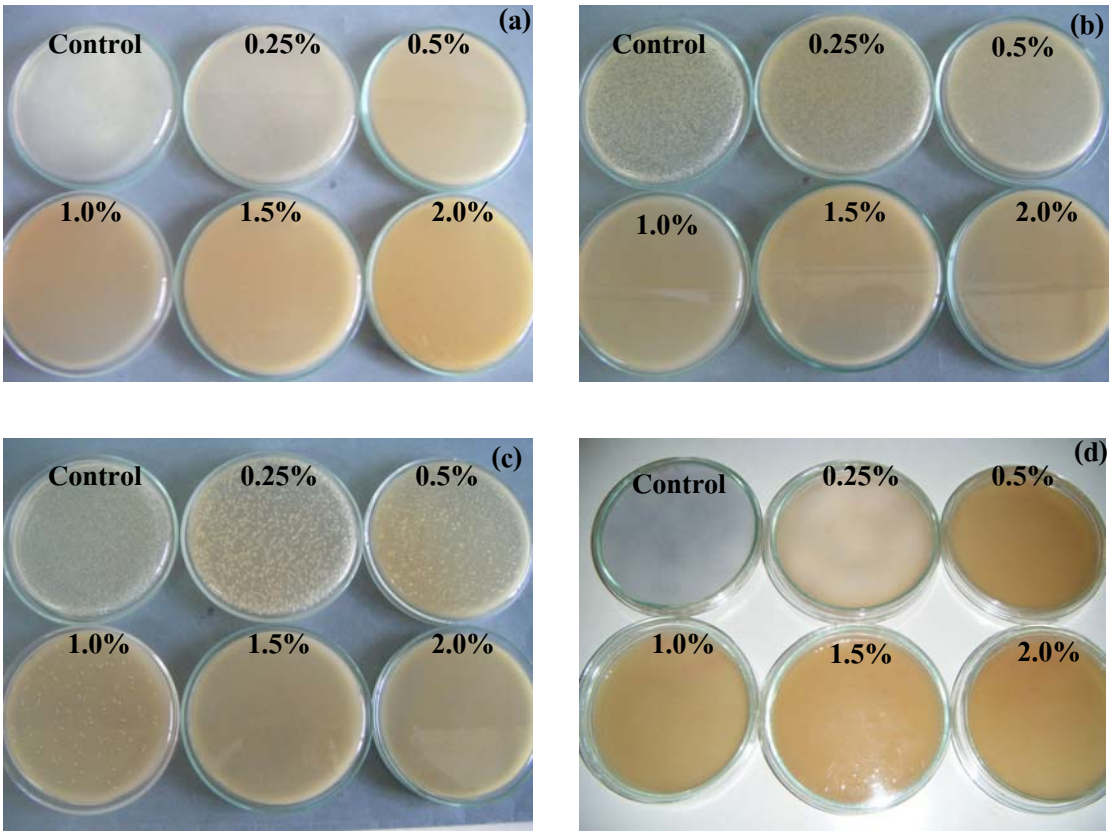


Figure 17. The susceptibility of the *L. monocytogenes* (a), *E. coli* (b), *S. aureus* (c) and *R. stolonifer* (d) to various clove extracts concentrations.

จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบของสารสกัดกานพลู พบว่าสารสกัดกานพลู มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราชนิด *R. stolonifer* ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย และ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่า *E. coli* และ *S. aureus* ตามลำดับ สอดคล้องกับการสรุปผลของ Zaika (1988) พบว่าสารสกัดกานพลูมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ และยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่า

แบคทีเรีย อย่างไรก็ตามผลการทดลองดังกล่าวให้ผลบางส่วนที่แตกต่างกับการทดลองของ Canillac และ Mourey (2001) ซึ่งทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจาก *Picea excelsa* พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบโดยให้เหตุผลว่าเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างส่วน lipophilic ends ของ lipoteichoic acids ในเยื่อบุผิว (cell membrane) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิค (hydrophobic compounds) ขณะที่เยื่อบุเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีคุณสมบัติเป็นประกอบไฮโดรฟิลิก (hydrophilic compounds) ซึ่งจากเหตุผลดังกล่าวจึงอาจทำให้สารสกัดซึ่งมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิคสามารถแทรกซึมเข้าเซลล์จุลินทรีย์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าจึงส่งผลให้สามารถยับยั้งดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่ไม่ได้ระบุชัดเจนว่าแบคทีเรียแกรมบวกจะไวต่อปฏิกิริยามากกว่าแบคทีเรียแกรมลบเสมอไป (Wilkinson *et a*l., 2003) Hao และคณะ (1998) และ Wan และคณะ (1998) ศึกษาพบว่า *Aeromonas hydrophila* เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อสารสกัดน้ำมันจากสมุนไพรที่สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด Moreira และคณะ (2005) และ Zaika (1988) กล่าวว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดสมุนไพรหรือเครื่องเทศ และชนิดของจุลินทรีย์ด้วย

3. ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC (Antimicrobial activity of edible HPMC films)

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคจากไฮดรอกซีโพรพิลเมธิลเซลลูโลส (hydroxylpropyl methylcellulose, HPMC) นั้น ทำการเตรียมโดยการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในปริมาณ 1 ถึง 5 เท่าของ MBC ในสารละลายฟิล์มแล้วทำการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม ซึ่งลักษณะของสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชัน มีลักษณะเป็นครีมข้น เนื้อละเอียด และมีความคงตัว ไม่แยกชั้นในระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อตรวจสอบขนาดของอิมัลชันกานพลูด้วย Laser Particle Size Analyzer พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลาง (particle dimeter) ของอนุภาคอิมัลชันเท่ากับ 40.43 ไมโครเมตร จากการศึกษาพบว่าการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในสารละลายฟิล์ม HPMC ในปริมาณมากกว่าร้อยละ 3.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะแข็งและเปราะไม่สามารถนำมาทดสอบสมบัติได้ ดังนั้นในการศึกษาจึงศึกษาการเติมการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตที่ระดับ 1 ถึง 3 เท่าของ MBC ในสารละลายฟิล์ม HPMC หลังจากนั้นนำแผ่นฟิล์มที่ได้มาทำการทดสอบความสามารถใน

การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* และ *R. stolonifer* โดยตัดฟิล์มลักษณะวงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 16 มิลลิเมตร แล้วนำมาทำการฆ่าเชื้อด้วยแสงยูวีเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาวางในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณ 10^5 cfu หรือ spore/ml จากการศึกษาพบว่าชุดควบคุมซึ่งเป็นฟิล์ม HPMC ที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ สังเกตได้จากการไม่พบขอบวงใสของการยั้บยั้ง (antimicrobial inhibition zones) อย่างไรก็ตาม พบว่าฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด และพบว่าเมื่อปริมาณของสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้น สังเกตได้จากการเพิ่มขึ้นขอบวงใสของการยับยั้ง (Table 4. และ Figure 18.) เมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นจาก 1 เท่าของ MBC เป็น 3 เท่าของ MBC โดยพบว่าขอบวงใสของการยับยั้งมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 18.00$\pm$0.45 มิลลิเมตร เป็น 24.00$\pm$0.50 มิลลิเมตร และเพิ่มขึ้นจาก 17.25$\pm$0.50 มิลลิเมตร เป็น 31.00$\pm$0.52 มิลลิเมตร และเพิ่มขึ้นจาก 18.50$\pm$0.58 มิลลิเมตร เป็น 26.75$\pm$0.96 มิลลิเมตร และเพิ่มขึ้นจาก 28.75$\pm$0.50 มิลลิเมตร เป็น 39.00$\pm$0.82 มิลลิเมตร สำหรับ *R. stolonifer, L. monocytogenes*, *E. coli* และ *S. aureus* ตามลำดับ และพบว่าค่า Antimicrobial index ของเชื้อดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.265 ถึง 1.250 และจาก 0.162 ถึง 2.753 และจาก 0.337 ถึง 1.795 และจาก 2.229 ถึง 4.941 ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารประกอบสำคัญ (active compound) ในสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์ม HPMC นั้นสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยมีการปลดปล่อยออกมาซึ่งสังเกตได้จากบริเวณขอบวงใสของการยับยั้ง ทั้งนี้เนื่องจากประสิทธิภาพของสารสกัดกานพลูมีความสามารถในการทำลายยีสต์และรา (Zaika, 1988; Vazquez *et al*., 2001; Omidbeygi *et al*., 2007; Sukatta *et al*., 2008) และ outer membrane ของแบคทีเรีย (lipopolysaccharides) ส่งผลให้มีการรั่วไหลของสารประกอบภายในเซลล์ออกมาทำให้สูญเสียสมบัติของโปรตีนและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์รวมถึงการสร้าง ATP ด้วย (Cosentino *et al*., 1999; Dadalioglu and Evrendilek, 2004; Wenqiang *et al*., 2007) จากเหตุผลดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตซึ่งเป็นสารป้องกันการเน่าเสียจากธรรมชาติไปประยุกต์ในอุตสาหกรรมอาหาร

Table 4. Antimicrobial activity of HPMC film incorporated with clove extracts against *L. monocytogenes, E. coli, S. aureus* and *R. stolonifer*

Microbial	Crude extracts (%w/v)	Observation at 24 h Inhibitory zone[A] (mm)	Antimicrobial index
L. monocytogenes	0 (Control)	0.00 ± 0.00^{a}	0
	0.5 (1 fold of MBC)	17.25 ± 0.50^{b}	0.162
	1.0 (2 fold of MBC)	25.00 ± 0.32^{c}	1.441
	1.5 (3 fold of MBC)	31.00 ± 0.52^{d}	2.753
E. coli	0 (Control)	0.00 ± 0.00^{a}	0
	1.0 (1 fold of MBC)	18.50 ± 0.58^{b}	0.337
	2.0 (2 fold of MBC)	24.50 ± 0.58^{c}	1.345
	3.0 (3 fold of MBC)	26.75 ± 0.96^{d}	1.795
S. aureus	0 (Control)	0.00 ± 0.00^{a}	0
	1.5 (1 fold of MBC)	28.75 ± 0.50^{b}	2.229
	3.0 (2 fold of MBC)	31.74 ± 0.50^{c}	2.938
	4.5 (3 fold of MBC)	39.00 ± 0.82^{d}	4.941
R. stolonifer	0 (Control)	0.00 ± 0.00^{a}	0
	0.5 (1 fold of MBC)	18.00 ± 0.45^{b}	0.265
	1.0 (2 fold of MBC)	20.00 ± 0.50^{c}	0.563
	1.5 (3 fold of MBC)	24.00 ± 0.50^{d}	1.250

[A] Values are measurements of diameter of inhibitory zone and express in mm. Values (n=3) with different superscript letters are significantly different ($p<0.05$)

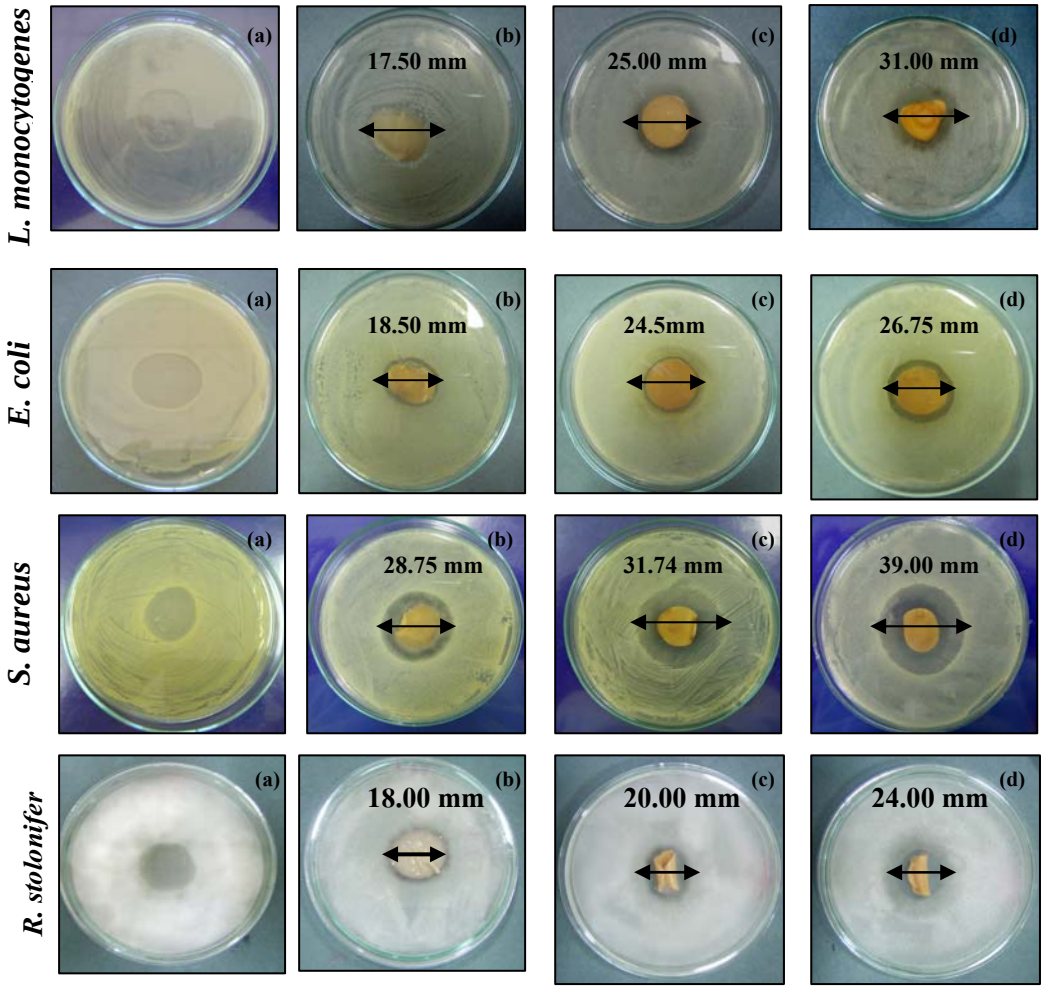


Figure 18. Representative pictures of inhibitory zones of edible HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (a) control, (b) 1 fold of MBC, (c) 2 folds of MBC and (d) 3 folds of MBC on *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* and *R. stolonifer*

4. ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อสมบัติของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

4.1 ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัวเมื่อขาด (Tensile strength and elongation at break) ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

ฟิล์มบริโภคได้จากพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer materials) ต้องสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย ดังนั้นต้องมีความแข็งแรงและทนต่อแรงกระทำที่เกิดขึ้นซึ่งความแข็งแรงของฟิล์มบริโภคได้นั้นสามารถวัดได้จากค่าการต้านทานแรงดึงหมายถึง ความสามารถในการทนต่อแรงดึงหรือแรงที่มากระทำ โดยทดสอบจากลักษณะการยืดออกของตัวอย่างเมื่อได้รับแรงดึงจากภายนอก โดยค่าการต้านทานแรงดึงสูงสุด (maximum tensile stress) จะเกิดที่ yield point หรือ breaking point เรียกว่า ค่าความทนต่อแรงดึง ณ จุดสูงสุด หรือ ณ จุดขาด (tensile strength at yield or at break) ตามลำดับ (ASTM, 1991) สำหรับค่าการยืดตัวเมื่อขาด หมายถึง ค่าที่แสดงถึงความสามารถในการยืดหยุ่น (flexibility) หรือความสามารถในการยืดตัว (stretch ability) ของฟิล์ม ซึ่งค่านี้วัดได้เมื่อฟิล์มขาดลงภายใต้การทดสอบแรงดึงและคำนวณในรูปของร้อยละของความยาวที่เปลี่ยนไปของตัวอย่างระหว่างจุดที่ยึดฟิล์มไว้ถึงระยะที่ยืดออกไป (Gontard *et al.,* 1992) จากผลการทดลองพบว่าการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนเคปซูลเลตลงในฟิล์ม HPMC ส่งผลต่อสมบัติของฟิล์มโดยค่าการต้านทานแรงดึงมีค่าลดลง เมื่อมีการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต ซึ่งค่าการต้านทานแรงดึงสูงสุดของฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีค่าสูงที่สุด (20.38 MPa) และเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตส่งผลให้ค่าการต้านทานแรงดึงลดลงจาก 20.38 MPa เป็น 7.26 MPa เมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชันเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 ถึง 3.0 ส่งผลให้ค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์ม HPMC ลดลง จาก 20.12 MPa ถึง 7.26 MPa (Figure 19a.) แสดงให้เห็นว่าการลดลงของค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์ม HPMC เกี่ยวข้องกับสารสกัดที่เติมลงไปในฟิล์ม Gontard และคณะ (1994) กล่าวว่าการเติมสารสกัด น้ำมันหรือไขมันลงไปเป็นส่วนประกอบของฟิล์มโปรตีนสาลีนั้นจะทำให้ฟิล์มสูญเสียสมบัติเชิงกลฟิล์ม ทั้งนี้เนื่องจากฟิล์มโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่มีการเติมไขมัน (lipid) มีโครงสร้างของฟิล์มมีความสมบูรณ์ (Gontard *et al.,* 1995) ขณะฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต พบว่าที่แผ่นฟิล์มอาจมีไขมันบางส่วนที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูลเลต ซึ่งส่งผลต่อค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์ม HPMC ดังนั้นการผสมไขมันที่มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิค (hydrophobic) ลงในฟิล์มพอลิแซคคาไรด์ที่มีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิค

(hydrophilic) ส่งผลให้ค่าการต้านแรงดึงของฟิล์มมีค่าลดลงแสดงถึงฟิล์มมีความแข็งแรงลดลงด้วย เนื่องจากไขมันบางส่วนจะไปแทรกและกระจายตัวอยู่ระหว่างโครงข่ายของฟิล์ม (matrix) ส่งผลให้ความแข็งแรงลดลง Weller และคณะ (1998) รายงานว่าค่า Young's modulus ของฟิล์มโปรตีนมีค่าลดลงเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากความอ่อนตัวของไขมันบนร่างแหโปรตีน (protein network) และความไม่สมบูรณ์ในโครงสร้างของไขมันในฟิล์มนั้น นอกจากนี้ปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของไขมัน (non-polar) ด้วยกัน และโมเลกุลที่มีขั้ว (polar) ของพอลิเมอร์กับโมเลกุลไขมัน (non-polar) เชื่อว่ามีความแข็งแรงน้อยกว่าโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยกันเอง ดังนั้นฟิล์มบริโภคได้ที่มีการเติมไขมันลงไปจะส่งผลให้ความแข็งแรงฟิล์มลดลงด้วย (Shellhammer and Krochta, 1997; Yang and Paulson, 2000; Bertan *et al*., 2005) อย่างไรก็ตามพบว่าฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 มีค่าการต้านทานแรงดึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่เมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์ม HPMC มากกว่าร้อยละ 1.5 จะส่งผลให้ค่าการต้านทานแรงดึงมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Pranoto และคณะ (2005) ซึ่งทำการศึกษาผลของการเติมน้ำมันกระเทียม (garlic extracts) ในฟิล์มแอลจิเนต (alginate-based edible film) พบว่าน้ำมันกระเทียมส่งผลของค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์มโดยทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงมีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะเมื่อมีการเติมน้ำมันกระเทียมมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.3 และสอดคล้องกับการทดลองของ Bertan และคณะ (2005) พบว่าค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์มที่ผลิตจากเจลาตินจากหนังวัว (bovine hide gelatin) มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มเติมสารพวกไฮโดรโฟบิค

เมื่อพิจารณาผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการยืดตัวเมื่อขาดของฟิล์ม HPMC พบว่าค่าการยืดตัวเมื่อขาดของฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 17.4 ถึง 24.5 เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตสูงขึ้นจากร้อยละ 0 ถึง 1.5 (Figure 19b.) ซึ่งผลการทดสอบดังกล่าวเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับการทดลองของ Shellammer และ Krochta (1997) พบว่าค่าการยืดตัวเมื่อของฟิล์มโปรตีนหางนม (milk whey protein film) มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเติมและความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้นส่วนของไขมันดังกล่าวทำหน้าที่เป็นพลาสติไซเซอร์ อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์มสูงกว่าร้อยละ 1.0 ส่งผลให้ค่าการยืดตัวเมื่อขาดลดลง (Figure 19b.) Gallo และคณะ (2000) กล่าวว่าการที่ค่าการยืดตัวเมื่อขาดมีค่าลดลงนั้นเนื่องจากโมเลกุลไขมันมีความใกล้ชิดกันมากเกินไปในโมเลกุลของฟิล์มแป้งข้าวเจ้า-ไคโตแซน จึงเกิดการรวมตัวกันระหว่างไขมัน มากกว่าการแทรกตัวระหว่างฟิล์มแป้งข้าวเจ้า-ไคโตแซน รวมถึง

เนื่องมาจากสารสกัดกานพลูที่ผ่านกานเอนแคปซูลเลตจะแทรกระหว่างโมเลกุลของ HPMC ส่งผลให้พันธะ (bond) แต่ละโมเลกุลของ HPMC อยู่ห่างกันมากขึ้น

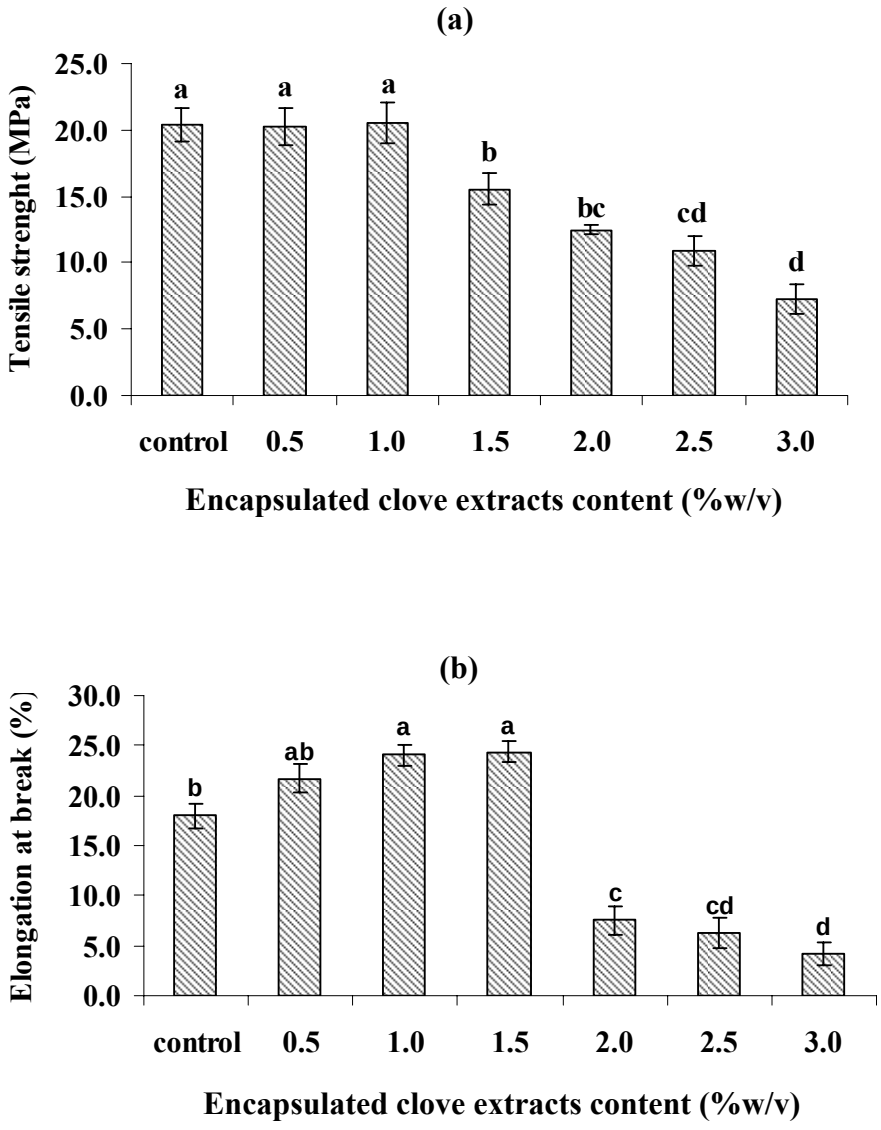


Figure 19. Influence of encapsulated clove extracts content on the tensile strength (a) and elongation at break (b) of edible HPMC films.

Remark : Different letters indicate significantly different groups determined by DMRT (p<0.05).

4.2 ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำ และค่าการละลาย (Water vapor permeability and film solubility) ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability) หมายถึงค่าคงที่ซึ่งได้จากการจำลองสภาวะหนึ่งๆ เพื่อใช้ในการทดสอบความดันไอน้ำในการผ่านผิวหน้าฟิล์มอย่างอิสระ อย่างไรก็ตามวัสดุในกลุ่มไฮโดรฟิลิก (edible or non-edible) เช่น โปรตีนฟิล์ม ซึ่งไม่เป็นไปตามพฤติกรรมในอุดมคติเนื่องจากปฏิกิริยาการแทรกซึม (permeating) ของโมเลกุลน้ำซึ่งอยู่ในกลุ่มมีขั้ว (polar groups) ในโครงสร้างของฟิล์ม (ASTM, 1991) เนื่องจากบทบาทโดยทั่วไปของฟิล์มใช้ในการบริโภคหรือสารเคลือบผิวหน้าอาหารหน้าที่หลักคือการขัดขวางการผ่านของความชื้นระหว่างอาหารและบรรยากาศรอบนั้นหรือระหว่างส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งค่าการซึมผ่านของไอน้ำที่ดีนั้นไม่ควรมีค่าสูง จากการทดลองพบว่า การเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์ม HPMC ส่งผลต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (p<0.05) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตร้อยละ 0.5 ขึ้นไป เนื่องจากสารสกัดกานพลูมีสมบัติของการเป็นไฮโดรโฟบิก ซึ่งสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชันสามารถแทรกตัวในโครงสร้างโครงข่ายของฟิล์ม HPMC และผลลัพธ์ที่ได้คือทำให้ความชื้นและความสามารถในการซึมผ่านฟิล์มลดลง Gontard และคณะ (1994) กล่าวว่าไขมันที่เติมลงไปในฟิล์มในปริมาณที่มากพอจะสามารถช่วยในการป้องกันการซึมผ่านไอน้ำ จากการทดลองพบว่าแนวโน้มของค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม HPMC ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตสูงขึ้น โดยพบว่าค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม HPMC มีค่าลดลงจาก 58.64 g.mm/m^{2}day.kPa เป็น 25.85 g. mm/m^{2}day.kPa (Figure 20a.) เมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 เป็นร้อยละ 3.0 Kamper และ Fennema, 1984; Morrilon และคณะ (2002) กล่าวว่าการเพิ่มองค์ประกอบของไขมันระหว่างร้อยละ 0 ถึง 30 ในฟิล์มบริโภคได้จากวัสดุชีวภาพ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการต้านการซึมผ่านไอน้ำได้ นอกจากนี้ Guillen และคณะ (2009) ทำการศึกษาการเติมน้ำมันดอกทานตะวันลงในฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาคอด (cod gelatin) ที่ร้อยละ 0, 0.3, 0.6 และ 1 พบว่าสามารถปรับปรุงสมบัติด้านไฮโดรโฟบิกส่งผลให้ฟิล์มดังกล่าวมีค่าการซึมผ่านไอน้ำและค่าการละลายของฟิล์ม (soluble matter content) ลดลง

ความสามารถในการต้านทานความชื้นเป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญอย่างหนึ่งของฟิล์มบริโภคได้ในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเก็บรักษาอาหาร (Gontard *et al*., 1992) โดยทั่วไปแล้วค่าการละลายที่มีค่าสูงจะบ่งชี้ถึงความสามารถในการต้านทานน้ำได้ต่ำ อย่างไรก็ตามค่าการละลายที่

สูงอาจเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้งานบางรูปแบบ (Stuchell and Krochta, 1994) จากการศึกษาผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการละลายของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC พบว่าค่าการละลายของแผ่นฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต โดยพบว่าค่าการละลายของแผ่นฟิล์มมีค่าลดลงจากร้อยละ 20.25 เป็นร้อยละ 13.67 เมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 เป็น 3.0 (Figure 20b.) ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีสมบัติไม่ชอบน้ำทำให้ฟิล์มดังกล่าวมีค่าการละลายลดลง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim และ Ustanol (2001) กล่าวว่าการเติมไขมันในฟิล์มโปรตีนหางนม (whey protein) ส่งผลให้ค่าการละลายของฟิล์มมีค่าลดลง

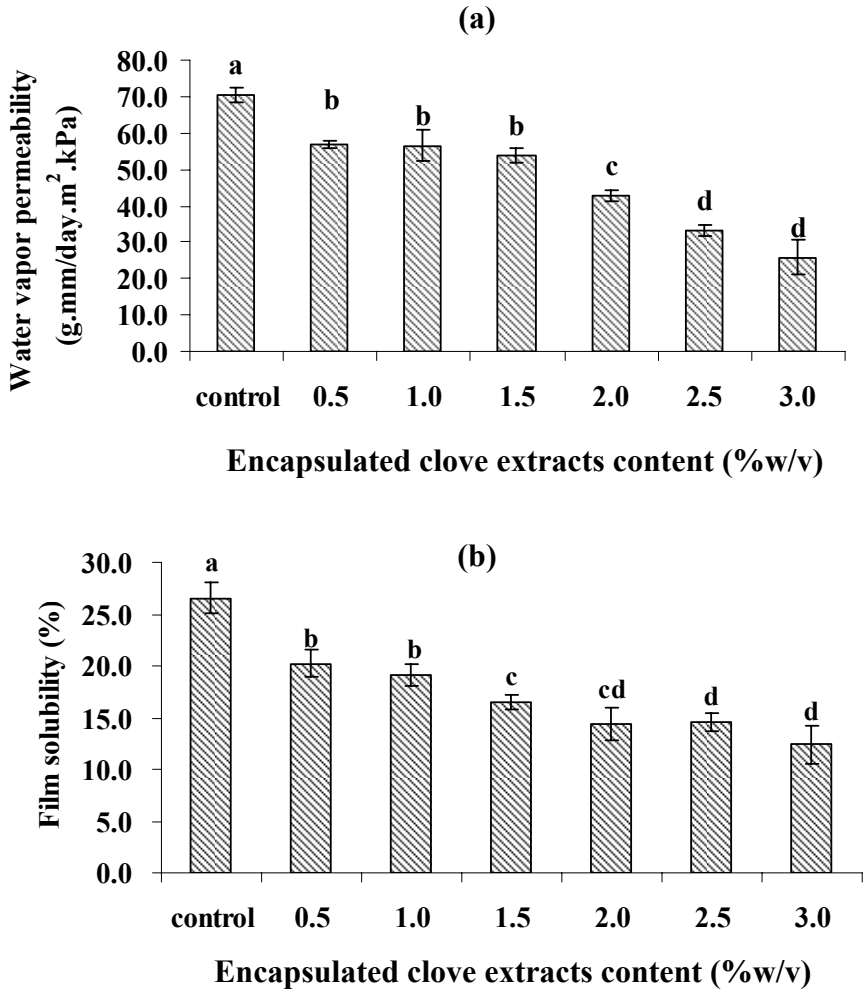


Figure 20. Influence of encapsulated clove extracts content on the water vapor permeability (a) and film solubility (b) of edible HPMC films.

Remark : Different letters indicate significantly different groups determined by DMRT (p<0.05).

4.3 ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าสี (Color) ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

ในการวิเคราะห์ค่าสีนั้นทำการวิเคราะห์ในรูปของค่า L*, a*, b*, ΔE_{ab^*}, hue angle และ chroma ซึ่งผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตต่อค่าสีของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC แสดงดัง Figure 21. จากผลการทดลองพบว่าฟิล์ม HPMC ที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตมีลักษณะใสและโปร่งแสง ส่วนฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตส่งผลให้ฟิล์มที่ได้ส่งผลให้ค่า L*, a*, b* และ chroma ค่าสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลต ซึ่งการที่มีค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้นทำให้ฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองและสว่างมากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตไม่ส่งผลต่อค่า ΔE_{ab} และ hue angle ของฟิล์ม HPMC อย่างมีนัยสำคัญ (Figure 22.) เมื่อพิจารณาผลของปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตต่อค่าสีของฟิล์ม HPMC พบว่าเมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลตเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 เป็นร้อยละ 3.0 ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองแดงมากขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากการเพิ่มขึ้นของค่า a*, b* และ chroma อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (Figure 22.) สาเหตุสำคัญที่ทำให้ฟิล์ม HPMC มีสีเหลืองเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูเลต เนื่องจากสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีสีเหลืองแกมน้ำตาลแดงนั่นเองประกอบกับระหว่างและขั้นตอนการขึ้นรูป (casting process) สารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตยังสามารถรวมตัวกับออกซิเจน (oxidized) เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังกล่าวมีส่วนทำให้ฟิล์ม HPMC ที่ได้มีสีเหลืองและน้ำตาลแดงมากขึ้น ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pranoto และคณะ (2005) ซึ่งศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้ alginate ที่ผสมน้ำมันกระเทียมพบว่า ฟิล์ม alginate ที่ไม่มีการเติมน้ำมันกระเทียมลักษณะฟิล์มจะมีความใสและแสงสามารถส่องผ่านได้ และเมื่อมีการเติมน้ำมันกระเทียมลงไปจะส่งผลต่อลักษณะปรากฏของฟิล์มและค่าสีและค่าการส่องผ่านเปลี่ยนไป จะเห็นว่าค่าสีมีแนวโน้มเป็นสีเหลืองเพิ่มขึ้นสังเกตได้จาก b* value ที่ความเข้มข้นอย่างน้อยร้อยละ 0.3 ปริมาตรต่อปริมาตร ในทางกลับกัน L*value จะมีค่าลดลงเมื่อมีการเติมปริมาณของน้ำมันกระเทียมสูงขึ้นซึ่งชี้ให้เห็นว่าถึงฟิล์มดังกล่าวจะมีสีที่คล้ำขึ้น

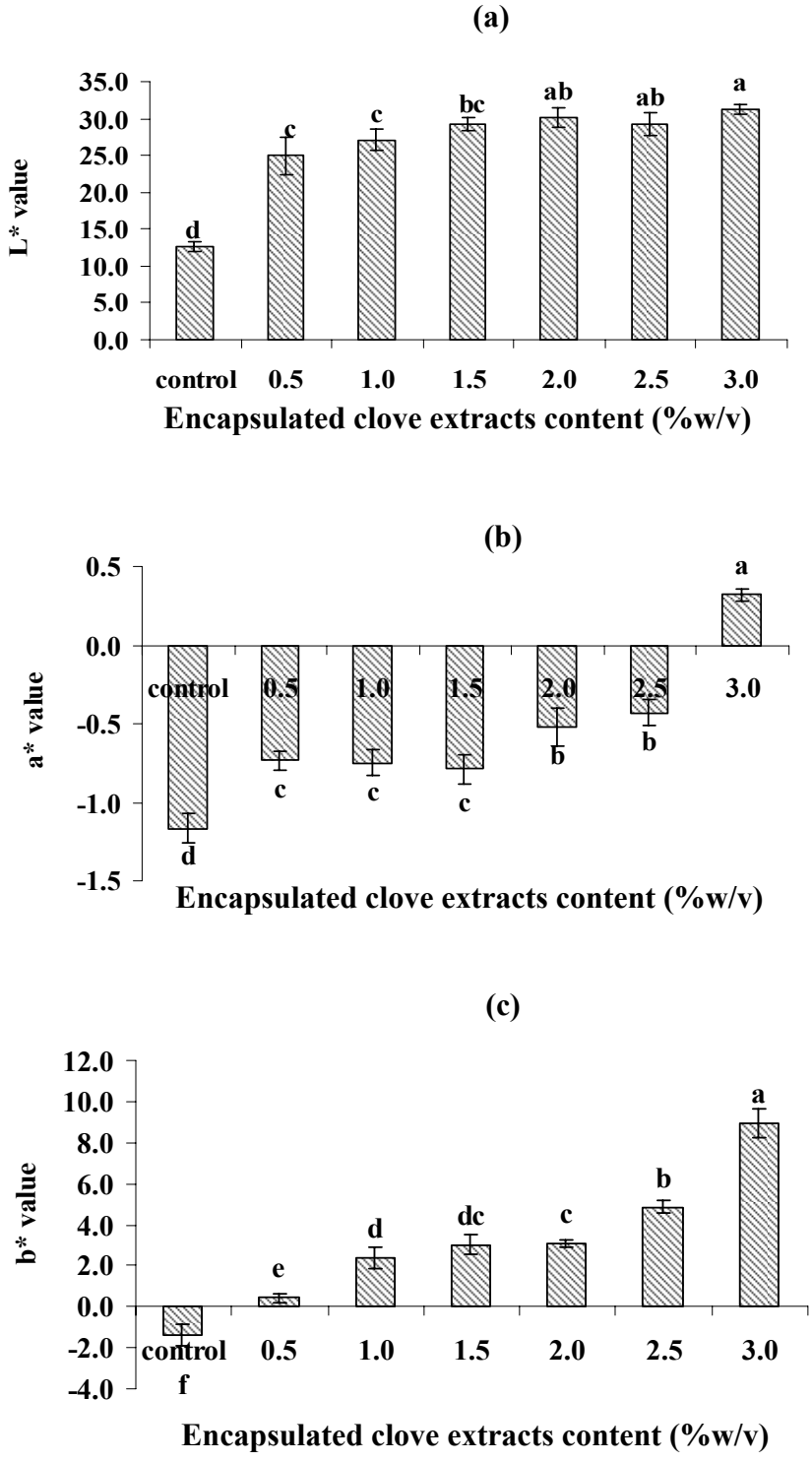


Figure 21. Influence of encapsulated clove extracts content on the L*(a), a* (b) and b*(c) values of edible HPMC films.

Remark : Different letters indicate significantly different groups determined by DMRT (p<0.05).

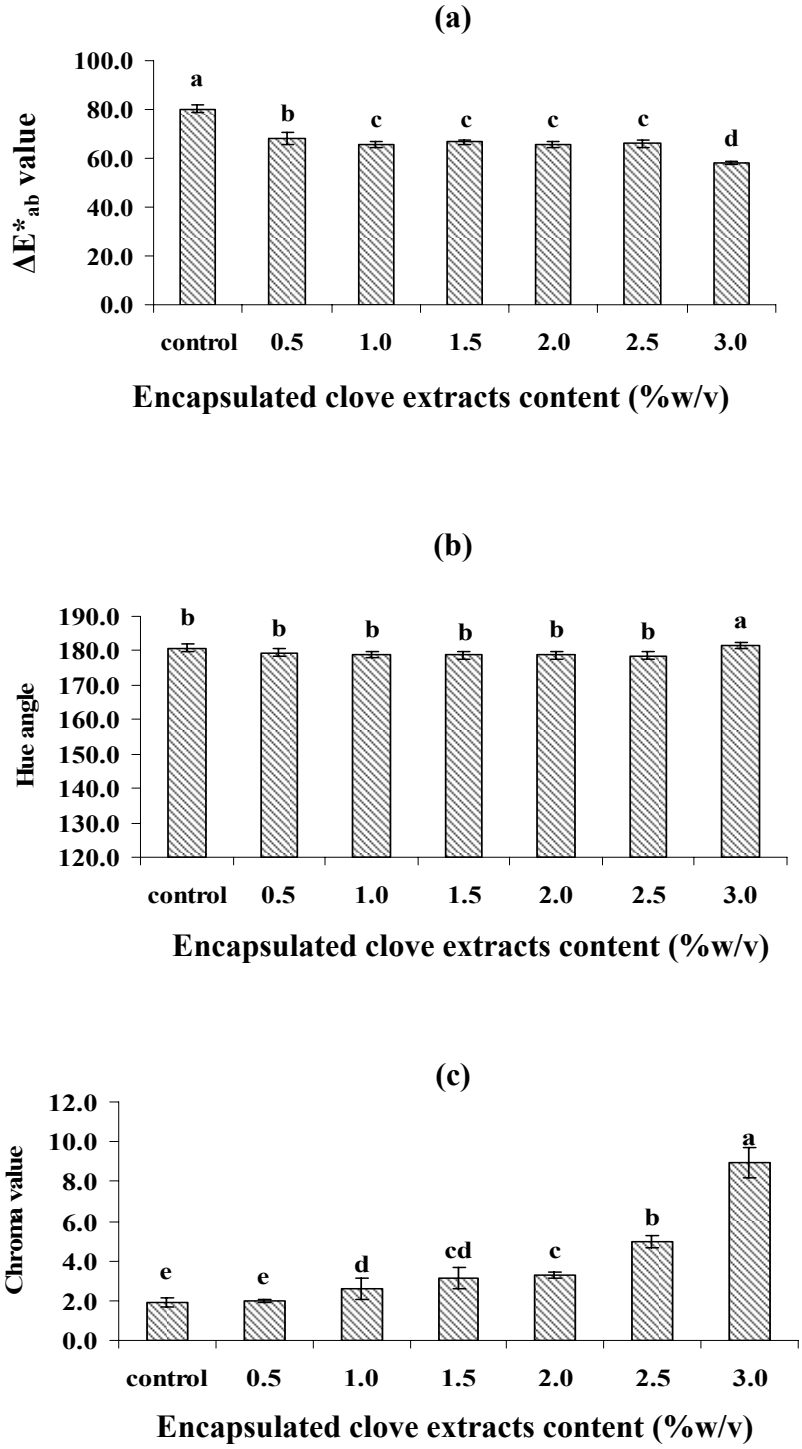


Figure 22. Influence of encapsulated clove extracts content on the ΔE^*_{ab} (a), hue angle (b) and chroma (c) of edible HPMC films.

Remark : Different letters indicate significantly different groups determined by DMRT (p<0.05).

4.4 ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการส่องผ่านแสง (Transparency) ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

จากการสังเกตฟิล์ม HPMC ด้วยตาเปล่าพบว่ามีความใสสูง อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตลงไปฟิล์ม HPMC ส่งให้ฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองเข้มขึ้นและมีค่าการส่องผ่านของแสงลดลง เป็นผลมาจากค่าการกระเจิงแสง (light-scattering effect) ของสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตของฟิล์ม HPMC จากการทดลองพบว่าค่าการส่องผ่านของแสงของฟิล์ม HPMC ที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีค่าเท่ากับ 1.32 และเมื่อเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตพบว่าค่าการส่องผ่านของแสงมีค่าลดลง เมื่อพิจารณาผลของปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อค่าการส่องผ่านของแสง พบว่าเมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 เป็นร้อยละ 3.0 น้ำหนัก/ปริมาตร ส่งผลให้ค่าการส่องผ่านของแสงลดลงจาก 1.28 เป็น 0.68 (Figure 23.) Yang และ Paulson (2000); Pommet และคณะ (2003); Bertan และคณะ (2005) กล่าวว่าการเติมไขมันลงไปในฟิล์มที่ผลิตจากวัสดุชีวภาพเป็นสาเหตุให้ค่าการส่องผ่านของแสงมีค่าลดลง ขณะเดียวกัน Bertan และคณะ (2005) กล่าวว่าฟิล์มมีความทึบเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของสารกลุ่มไฮโดรโฟรบิค

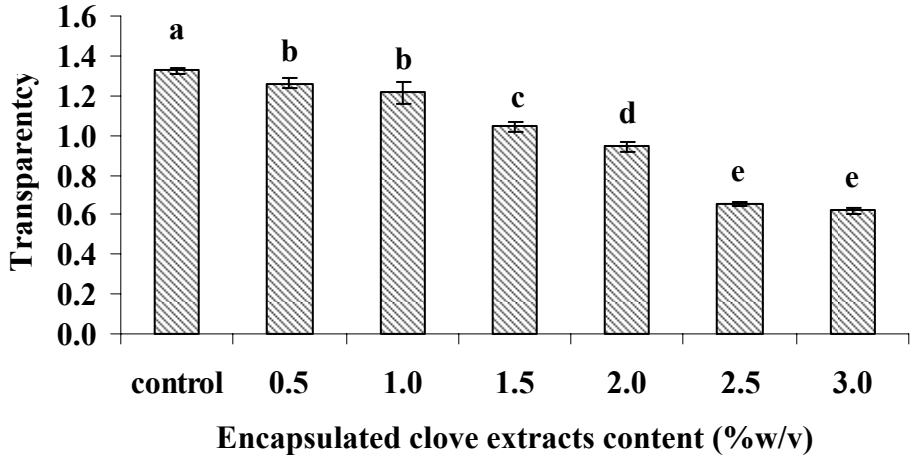


Figure 23. Influence of encapsulated clove extracts content on the transparency of edible HPMC films.

Remark : Different letters indicate significantly different groups determined by DMRT (p<0.05).

4.5 ผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิว (morphology) ของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC

การศึกษาผลของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตต่อคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy, SEM) พบว่าการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC จะส่งผลต่อลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มที่ได้ โดยฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลต ดัง Figure 24.b-g จะมีลักษณะพื้นผิวไม่เรียบและความสม่ำเสมอลดลง เมื่อเทียบกับฟิล์ม HPMC ที่ไม่มีการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตซึ่งจะให้ลักษณะพื้นผิวเรียบและสม่ำเสมอกว่า (Figure 24.a) และเมื่อพิจารณาปริมาณของการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์ม HPMC พบว่าการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในปริมาณที่สูงขึ้น ส่งผลให้ลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์ม HPMC ที่ได้มีความขรุขระมากขึ้น โดยสังเกตจากขนาดของอนุภาคที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตบนผิวหน้าฟิล์มมีขนาดใหญ่ขึ้นตามปริมาณการเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในฟิล์ม HPMC ซึ่งสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้การรวมกลุ่มกันระหว่างอนุภาคสารสกัดกานพลูการเอนแคปซูลเลตซึ่งมีปริมาณที่สูงเกินไปในแผ่นฟิล์ม และความสามารถในการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มและสมบัติทางกลด้อยลง

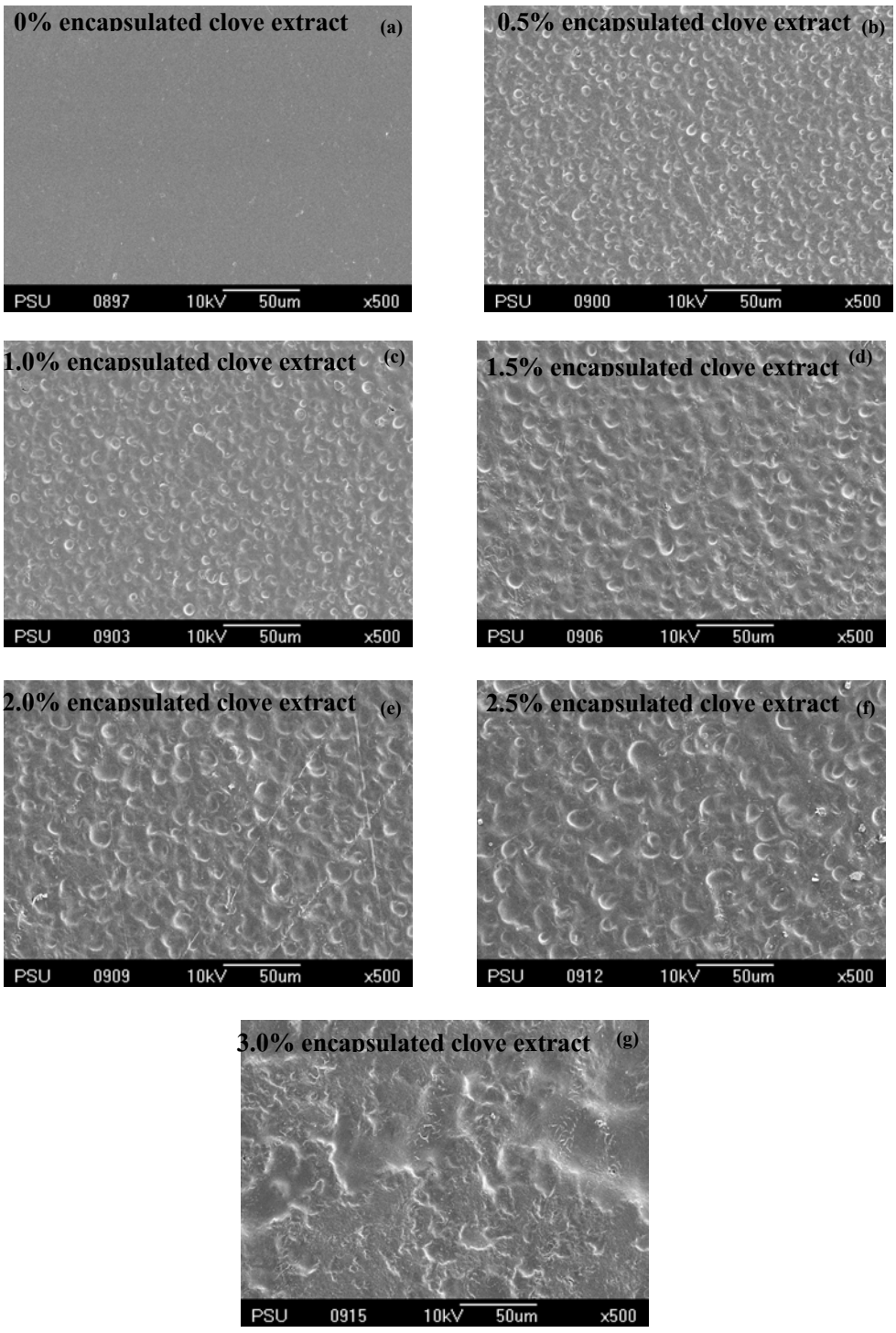


Figure 24. Scanning electron micrograph of edible HPMC films containing various encapsulated clove extracts content.

5. การประยุกต์ใช้แผ่นฟิล์ม HPMC ที่ผสมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในผลิตภัณฑ์อาหารต้นแบบ

ในการคัดเลือกแผ่นฟิล์มเพื่อใช้สำหรับผลิตภัณฑ์อาหาร ใช้เกณฑ์ในการพิจารณาจากความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ 4 ชนิด สมบัติเชิงกล และสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำ ตามลำดับ จากการพิจารณาเกณฑ์การคัดเลือก สามารถคัดเลือกฟิล์มบริโภคได้จาก HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชันที่เหมาะสมคือ ฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตเท่ากับร้อยละ 1.5 และเมื่อนำฟิล์มที่ผ่านการคัดเลือกดังกล่าวมาเปรียบเทียบสมบัติทางกลกับฟิล์มสังเคราะห์ทางการค้าชนิด polyethylene (PE) ซึ่งเป็นพลาสติกที่ใช้มากและชื่อสามัญเรียกว่าถุงเย็น มักจะใช้ทำถุงฟิล์มหดและฟิล์มยืด ขวดน้ำ เป็นต้น เนื่องจากยืดตัวได้ดี ทนต่อการทิ่มทะลุและฉีกขาด พร้อมทั้งสามารถใช้ความร้อนเชื่อมติดปิดผนึกได้ดี (ปุ่น และ สมพร, 2541) พบว่าค่าการต้านทานแรงดึง (Tensile strength) ของฟิล์มที่ผ่านการคัดเลือกมีค่าเท่ากับ 15.45 MPa ส่วนฟิล์มสังเคราะห์ชนิด PE ในทางการค้ามีค่าเท่ากับ 15 MPa หรือ 2000 Psi จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าฟิล์มที่ผ่านการคัดเลือก HPMC มีสมบัติทางกลที่ดีกว่ากับฟิล์มสังเคราะห์ชนิด PE นำฟิล์มที่ผ่านการคัดเลือกมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยในงานวิจัยครั้งนี้จะเรียกว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์ ในการทดลองได้เลือกใช้กับตัวอย่างอาหาร 2 ชนิด ได้แก่ ปูอัดแท่งและขนมปังแผ่น โดยปูอัดแท่งแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง (Figure 25.) ได้แก่ ปูอัดแท่งชุดควบคุมและปูอัดแท่งชุดทดลอง โดยปูอัดแท่งชุดควบคุมจะห่อด้วยฟิล์มสังเคราะห์ (polyethylene; PE) และปูอัดแท่งชุดทดลองถูกห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ ทั้งสองชุดการทดลองทำการบรรจุลงถุงพลาสติกพอลิเอธิลลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene) และเก็บรักษาปูอัดแท่งทั้งสองชุดการทดลองที่อุณหภูมิตู้เย็น 6-8 องศาเซลเซียส และในส่วนขนมปังแผ่นแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง (Figure 26.) ได้แก่ ขนมปังแผ่นชุดควบคุมและขนมปังแผ่นชุดทดลอง โดยขนมปังแผ่นชุดควบคุมจะไม่คั่นแผ่นฟิล์มใดๆ ระหว่างแผ่นขนมปัง และขนมปังแผ่นชุดทดลองจะนำแผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์มาวางสลับคั่นระหว่างแผ่น ทั้งสองชุดการทดลองบรรจุลงถุงพลาสติกพอลิเอธิลลีนความหนาแน่นต่ำและเก็บรักษาขนมปังแผ่นทั้งสองชุดการทดลองที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างอาหาร 2 ชนิด ทดสอบคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ โดยทำการสุ่มตัวอย่างๆ ละ 3 ซ้ำ โดยปูอัดแท่งจะสุ่มทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และขนมปังแผ่นทำการสุ่มทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

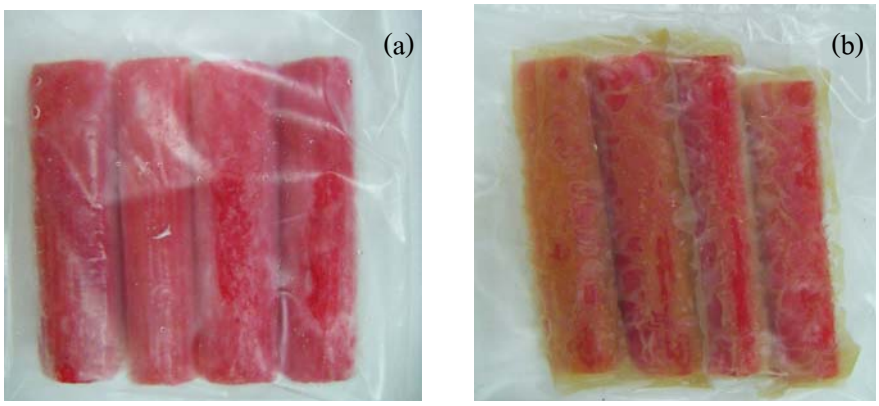


Figure 25. Illustrative of imitated crab meat wrapped with PE (a) and HPMC films incorporated with encapsulated clove extracts (b).

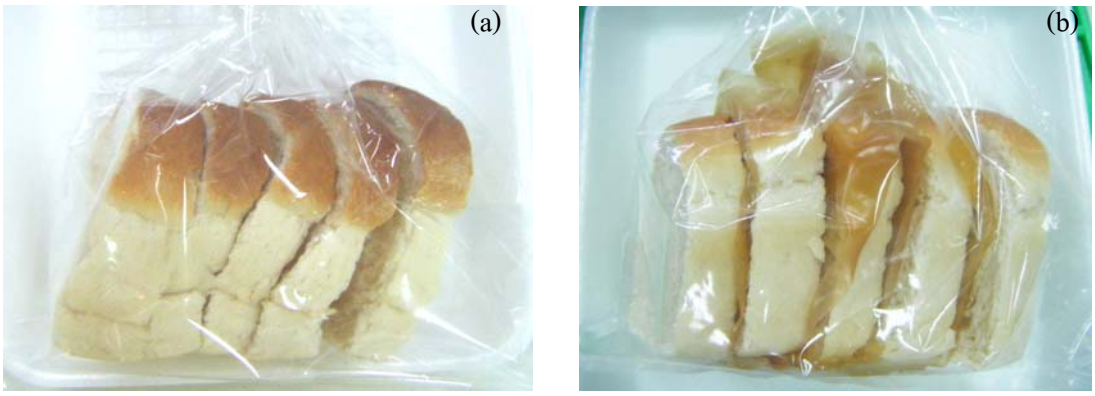


Figure 26. Illustrative of sliced bread packed in PE (a) and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (b).

5.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปูอัดแท่งระหว่างการเก็บรักษา

ปูอัดแท่งที่ใช้ในการทดลองเป็นปูดอัดแท่งแช่แข็ง หลังจากนั้นนำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส ก่อนห่อปูอัดแท่งด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ และนำตัวอย่างมาทดสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์และด้านกายภาพ ในการทดลองแบ่งปูอัดแท่งนั้นทำการแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ปูอัดที่ห่อด้วยฟิล์ม PE (ชุดควบคุม) และปูอัดที่ห่อด้วยต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) (Figure 25.) โดยคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ปูอัดแท่งตามมาตรฐานชุมชน (2548) กล่าวว่าปูอัดในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องมีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกันไม่แตกหรือยุ่ยเละ หรือแห้งจากการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่แข็ง ลักษณะเนื้อสามารถแยกออกเป็นเส้นได้ สีเนื้อปูอัดต้องมีสี

ขาว ส่วนที่เป็นผิวต้องมีสีสม่ำเสมอ กลิ่นรสต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของปูอัด ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเหม็น รสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัสต้องเหนียวนุ่ม และยืดหยุ่น

จากการสังเกตลักษณะปรากฏ (Appearance) ภายนอกของปูอัดแท่งชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ลักษณะสีภายนอกของปูอัดแท่งชุดควบคุมไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 21 โดยจะเกิดเมือกที่บริเวณผิวหน้าปูอัดแท่งในวันที่ 18 หลังจากนั้นเกิดจุดของเชื้อราในวันที่ 21 เมื่อพิจารณาปูอัดแท่งชุดทดลองพบว่า ลักษณะสีภายนอกไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 หลังจากนั้นในวันที่ 6 ถึงวันที่ 21 พบว่าลักษณะสีภายนอกของปูอัดแท่งเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื่องจากผิวด้านนอกของปูอัดแท่งมีลักษณะชื้น เมื่อสัมผัสกับฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลู ส่งผลให้สารสกัดกานพลูแพร่จากฟิล์มต้านจุลินทรีย์ไปยังปูอัดแท่งจึงทำให้ปูอัดแท่งมีสีเหลืองขึ้น และเมื่อทำการเก็บรักษาจนถึงวันที่ 24 พบว่ามีจุดของเชื้อราเกิดขึ้น เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านกลิ่น (Odor) ของปูอัดแท่งชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ปูอัดแท่งชุดควบคุมมีกลิ่นปูอัดปกติในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 12 จากนั้นกลิ่นปูอัดจะลดลงในระหว่างวันที่ 15 ถึงวันที่ 21 โดยวันที่ 18 ของการเก็บรักษากลิ่นปูอัดมีการเปลี่ยนแปลงและลักษณะผิวหน้าด้านนอกเริ่มมีเมือกเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ ดังแสดงใน Table 5. ที่มีปริมาณ TVC ของปูอัดแท่งในวันที่ 18 เท่ากับ 4.4×10^5 CFU/กรัม เมื่อพิจารณาปูอัดแท่งชุดทดลองพบว่า มีกลิ่นปูอัดปกติในวันที่ 0 หลังจากนั้นในระหว่างวันที่ 3 ถึงวันที่ 12 มีกลิ่นของกานพลูผสมกับกลิ่นปูอัดแท่ง และในระหว่างวันที่ 15 ถึงวันที่ 24 กลิ่นปูอัดจะลดลงและยังคงได้กลิ่นกานพลูผสมอยู่ นอกจากนี้กลิ่นไม่สดของปูอัด ตรวจพบในวันที่ 24 ซึ่วสอดคล้องกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ของปูอัดแท่งมีค่า TVC เท่ากับ 6.7×10^5 CFU/กรัม การเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านเนื้อสัมผัส (Texture) ของปูอัดแท่งชุดควบคุมและชุดทดลอง ระว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 24 วัน พบว่า เนื้อสัมผัสของปูอัดแท่งชุดควบคุมมีความชุ่มน้ำในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 9 และมีลักษณะแข็งกระด้างในวันที่ 12 ถึงวันที่ 21 เนื่องจากสูญเสียความชื้นในอาหารระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาปูอัดแท่งชุดทดลองพบว่า เนื้อสัมผัสของปูอัดแท่งยังคงมีความชุ่มน้ำในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 9 และมีลักษณะแข็งกระด้างในวันที่ 12 ถึงวันที่ 24 เนื่องจากสูญเสียความชื้นในอาหารระหว่างการเก็บรักษาและจากการดูดซับน้ำในอาหารของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของฟิล์มที่ใช้ห่อปูอัดแท่ง ระหว่างฟิล์ม PE (ชุดควบคุม) และฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าฟิล์ม PE ไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา โดยมีลักษณะขาวขุ่น ไม่ดูดซับน้ำ ไม่เปราะหรือฉีกขาด ในขณะเดียวกันพบว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์ มีลักษณะเปลี่ยนแปลงโดยฟิล์มเกิดการพองตัว เนื่องจากฟิล์ม ต้านจุลินทรีย์มีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก

ซึ่งสามารถดูดซับน้ำได้ ส่งผลให้ฟิล์มเกิดการพองตัวขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าความโปรงแสงและความยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง (ไม่ได้แสดงผล)

Table 5. Sensory attributes of imitated crab meat wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

Days	Experiment gr.	Appearance	Odor	Texture
0	Control	On white and red side are usual	fresh	Fresh, juicy
	Treatment	On white and red side are usual	fresh	Fresh, juicy
3	Control	On white and red side are usual	fresh	Fresh, juicy
	Treatment	On white and red side are usual yellow, swell	fresh and clove odor	Fresh, juicy
6	Control	On white and red side are usual	fresh	Fresh, juicy
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	fresh and clove odor	Fresh, juicy
9	Control	On white and red side are usual	fresh	Fresh, juicy
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	fresh and clove odor	Fresh, juicy
12	Control	On white and red side are usual	fresh	A little bit hard
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	fresh and clove odor	A little bit hard
15	Control	On white and red side are usual	Low freshness	A little bit hard
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	Low freshness and clove odor	A little bit hard

Days	Experiment gr.	Appearance	Odor	Texture
18	Control	Slime occurred	Low freshness	Hard
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	Low freshness and clove odor	Hard
21	Control	Slime occurred and yellow dot, orange dot and white dot were noticed	Low freshness	Hard
	Treatment	On red side is usual but white side is mild yellow	Low freshness and clove odor	Hard
24	Control	-	-	-
	Treatment	Slime occurred and yellow dot, orange dot and green dot were noticed	Low freshness and clove odor	Hard

5.1.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ Total viable count (TVC) และ Coliform bacteria ของปูอัดแท่งที่ห่อด้วยฟิล์ม PE (ชุดควบคุม) และปูอัดแท่งที่ห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ดังแสดง Table 6. โดยการตรวจสอบ TVC ซึ่งเป็นการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง หากพบว่ามีจุลินทรีย์มากเกินกว่าค่ามาตรฐานหรือค่าที่กำหนดให้มีได้ในผลิตภัณฑ์แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบไม่ควรนำมาบริโภคหรือนำออกจำหน่าย ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณ Coliform bacteria ซึ่งเป็นการตรวจสอบแบคทีเรียในกลุ่มที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่นและถูกขับออกมากับอุจจาระการตรวจพบ Coliform bacteria บ่งชี้ถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีในแหล่งน้ำ อาหาร รวมถึงกระบวนการผลิต นอกจากนี้ยังบ่งชี้ว่าอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร เช่น ไทฟอยด์ บิด อหิวาตกโรค เป็นต้น โดยทั่วไปเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ปูอัด มผช. 727/2548 ได้กำหนดค่า TVC ต้องน้อยกว่า 1 x 10^4 CFU/กรัม และ MPN ของ *E. coli* โดยวิธี MPN ต้องน้อยกว่า 3 ต่อกรัม

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของปูอัดแท่งชุดทดลองและปูอัดแท่งชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าปูอัดแท่งชุดควบคุมไม่พบ การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในวันที่ 0 ถึงวันที่ 9 แต่จะพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างวันที่ 12 ถึง 21 โดยปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 4.3 x 10^2 เป็น 3.0 x 10^7 CFU/กรัม เมื่อนำมาพิจารณากับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปูอัดซึ่งกำหนดค่า TVC ต้องน้อยกว่า 1 x 10^4 CFU/กรัม พบว่า ปูอัดแท่งชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้ 15 วัน ซึ่งมีค่า TVC ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด (4.6 x 10^3 CFU/กรัม) เมื่อพิจารณาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของปูอัดแท่งชุดทดลองพบว่า ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในวันที่ 0 ถึงวันที่ 18 แต่จะพบการเจริญของเชื้อในวันที่ 21 ถึงวันที่ 24 โดยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 3.0 x 10^3 เป็น 6.7 x 10^5 CFU/กรัม เมื่อนำมาพิจารณากับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมปังปอนด์ พบว่าปูอัดแท่งชุดทดลองสามารถเก็บรักษาได้ 21 วัน โดยมีค่า TVC ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด เมื่อพิจารณาผลการตรวจสอบปริมาณ Coliform bacteria ของปูอัดแท่งชุดควบคุมและชุดทดลองในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 21 พบ Coliform bacteria น้อยกว่า 3 MPN ทั้งสองชุดการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากปูอัดแท่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการให้ความร้อนและผ่านการแช่แข็งจึงทำให้สามารถลดจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนได้ จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าปูอัดแท่งที่ห่อด้วยฟิล์ม PE และปูอัดแท่งที่ห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 7-8 องศาเซลเซียส สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 15 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ (โดยอ้างอิงปริมาณจุลินทรีย์จากมาตรฐานชุมชน ปี 2548) ดังนั้นฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตจาก HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการ

เอนแคปซูลเลต สามารถใช้ห่อผลิตภัณฑ์และมีฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ส่งผลให้สามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้

Table 6. Total viable count and coliform bacteria of imitated crab meat wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (1.5%).

Days	Imitated crabmeat wrapped with PE film		Imitated crab meat wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts	
	Total viable count CFU/g	Coliform	Total viable count CFU/g	Coliform
0	ND	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
3	ND	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
6	ND	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
9	ND	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
12	4.3×10^2	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
15	4.6×10^3	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
18	4.4×10^5	< 3 MPN	ND	< 3 MPN
21	3.0×10^7	< 3 MPN	3.0×10^3	< 3 MPN
24	-	-	6.7×10^5	< 3 MPN

Remark: ND = Not detected

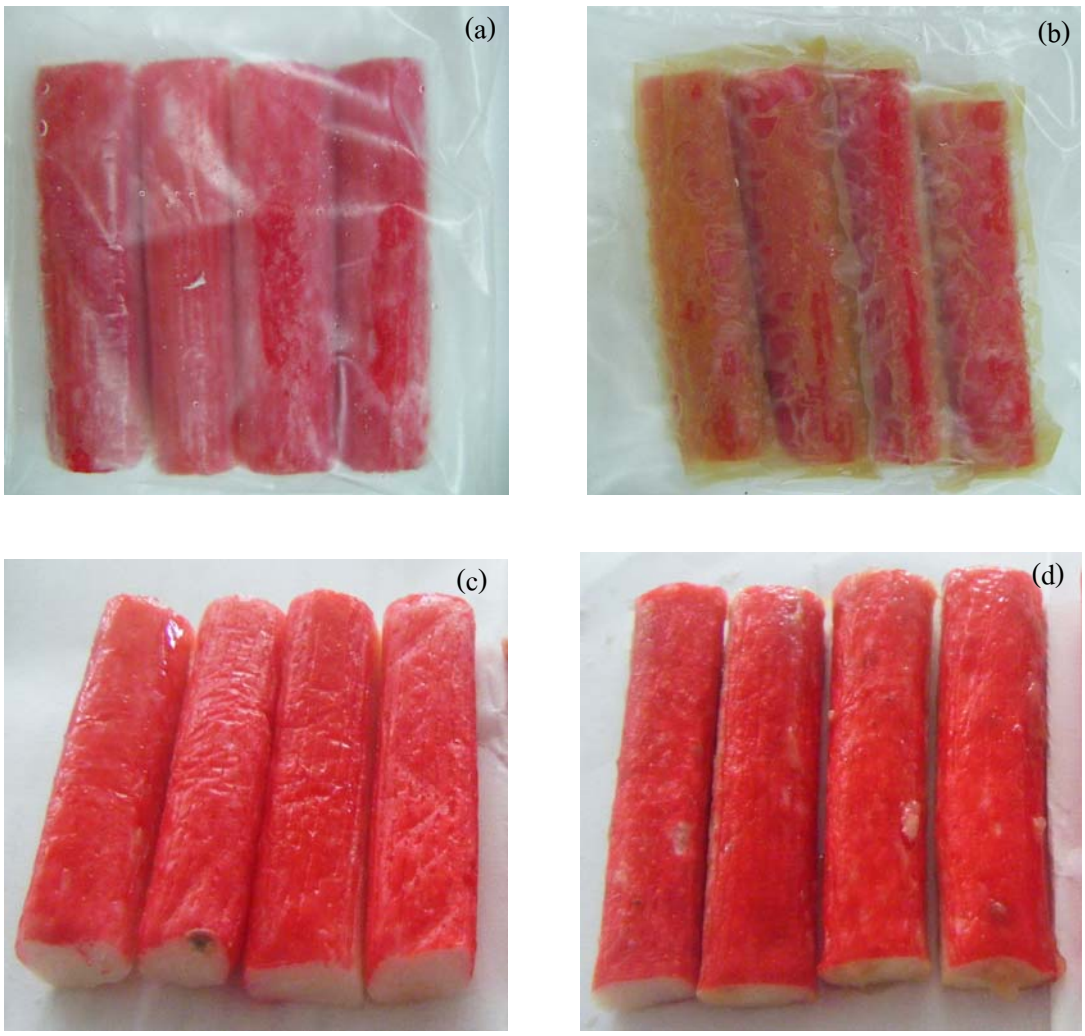


Figure 27. Illustrative pictures of imitated crab meat wrapped with PE film (a), imitated crab meat wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extract (b) at 0 day of storage, imitated crab meat wrapped with PE film (c) and imitated crab meat wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (d) at 24 day of storage, respectively.

5.1.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและกายภาพ

จากผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและกายภาพ ของปูอัดแท่งที่ห่อด้วยฟิล์ม PE (ชุดควบคุม) และห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) ตลอดอายุการเก็บ โดยคุณภาพทางเคมีได้แก่ ค่า TBARs และคุณภาพทางกายภาพได้แก่ ค่า Water activity (a_w) และค่าสี พบว่าปูอัดแท่งชุดควบคุมมีค่า TBARs เพิ่มขึ้นจาก 3.818 ถึง 16.201 มิลลิกรัม (malonaldehyde) ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ค่า a_w ลดลงจาก 0.9835 ถึง 0.9507 และค่าสี (color) ของด้านสีแดงและด้านสีขาวของปูอัดมีค่า L* เท่ากับ 40.51-41.63, a* เท่ากับ 51.71-53.68, b* เท่ากับ 20.16-20.83 และ L* เท่ากับ 76.67-78.72, a* เท่ากับ 3.96-6.73, b* เท่ากับ 12.26-13.14 ตามลำดับ และปูอัดห่อแท่งชุดทดลองมีค่า TBARs เพิ่มขึ้นจาก 3.8181 ถึง 16.6286 มิลลิกรัม (malonaldehyde) ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ค่า a_w ลดลงจาก 0.9835 ถึง 0.9479 และค่าสีของด้านสีแดงและสีขาวของปูอัดมีค่า L* เท่ากับ 39.61-42.87, a* เท่ากับ 50.36-51.96, b* เท่ากับ 20.16-21.56 (p>0.05) และ L* เท่ากับ 66.51-78.72 (p>0.05), a* เท่ากับ 6.13-7.33, b* เท่ากับ 12.29-19.71 (p<0.05) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า TBARs ของปูอัดแท่งชุดควบคุม และชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าค่า TBARs ของปูอัดแท่งทั้งสองชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสามารถเกิดขึ้นได้จากลิพิดที่อยู่ในอาหาร (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเพิ่มขึ้นค่า TBARs ของปูอัดแท่งชุดทดลอง มีการเพิ่มขึ้นที่ช้ากว่าปูอัดแท่งชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกรดไขมันที่มีในอาหารได้ เมื่อเปรียบเทียบค่า a_w ของปูอัดแท่งชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นค่า a_w ของปูอัดแท่งทั้งสองชุดการทดลองมีค่าลดลงส่งผลให้เนื้อสัมผัสมีลักษณะกระด้างขึ้น เนื่องการสูญเสียความชื้นในอาหารให้กับบรรยากาศรอบๆ ที่ซึมผ่านเข้าออกบรรจุภัณฑ์ เมื่อพิจารณาโครงสร้างของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้บรรจุผลิตภัณฑ์พบว่า โครงสร้างของ PE จะสามารถป้องกันความชื้นได้ดีพอสมควร แต่จุดอ่อนของ PE คือ สามารถปล่อยให้ไขมันซึมผ่านได้ง่าย ด้วยเหตุนี้อาหารที่ไวต่ออากาศเมื่อใส่ถุงเย็นคุณภาพอาหารจะแปลงเปลี่ยนไปเพียงไม่กี่วัน (ปุ่น และ สมพร, 2541) นอกจากนี้ปูอัดแท่งชุดทดลองที่ห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์จะมีการดูดซับน้ำของฟิล์มร่วมด้วย ซึ่งสังเกตได้จากฟิล์มต้านจุลินทรีย์มีลักษณะบวมและพองขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่าสี ของปูอัดแท่ง ชุดควบคุมและ ชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ปูอัดแท่งชุดควบคุมมีค่าสีในด้านสีขาวและด้านสีแดงไม่มีการเปลี่ยนแปลง (p>0.05) ตลอดอายุการเก็บรักษา (Figure 29a,b และ Figure 30a,b) และเมื่อพิจารณาปูอัดแท่งชุดควบคุมค่าสีในด้านสีขาว (Figure 30a.) มีการเปลี่ยนแปลงโดยสีของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ ซึ่งเกิดจากการผสมสารสกัดกานพลูที่มีสีเหลืองลงในฟิล์มจึงส่งผลให้สีของสารสกัดกานพลูจากฟิล์มติดที่ผิวด้านนอกของปูอัดแท่งด้านสี

ขาว ส่งผลให้ด้านสีขาวมีความขาวลดลง (L* value) ดัง Figure 30a. และมีค่า b* value เพิ่มขึ้นดัง Figure 30c. (p<0.05)

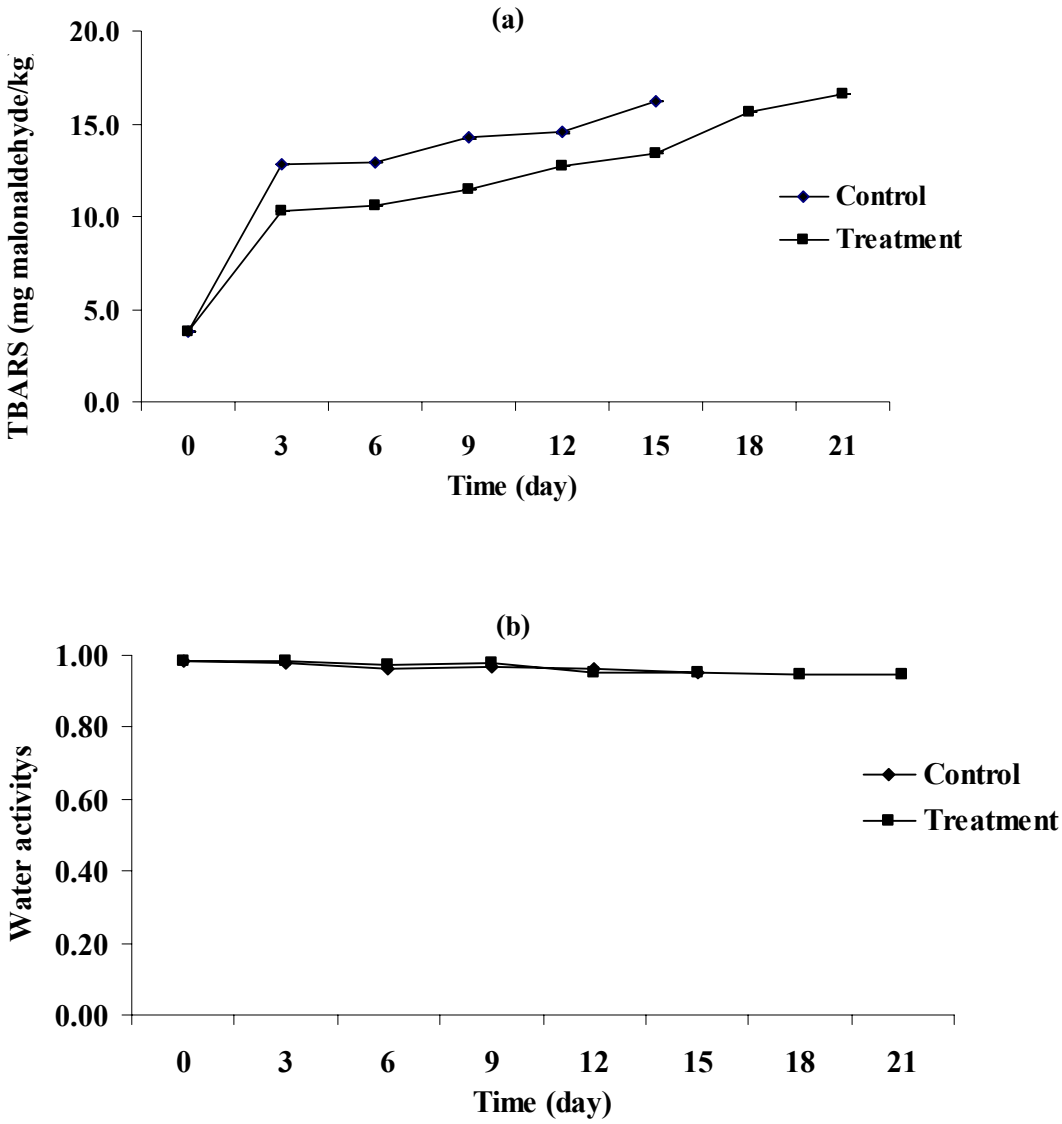


Figure 28. TBARs (mg malonaldehyde/kg) (a) and water activity (b) of imitated crab meat wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

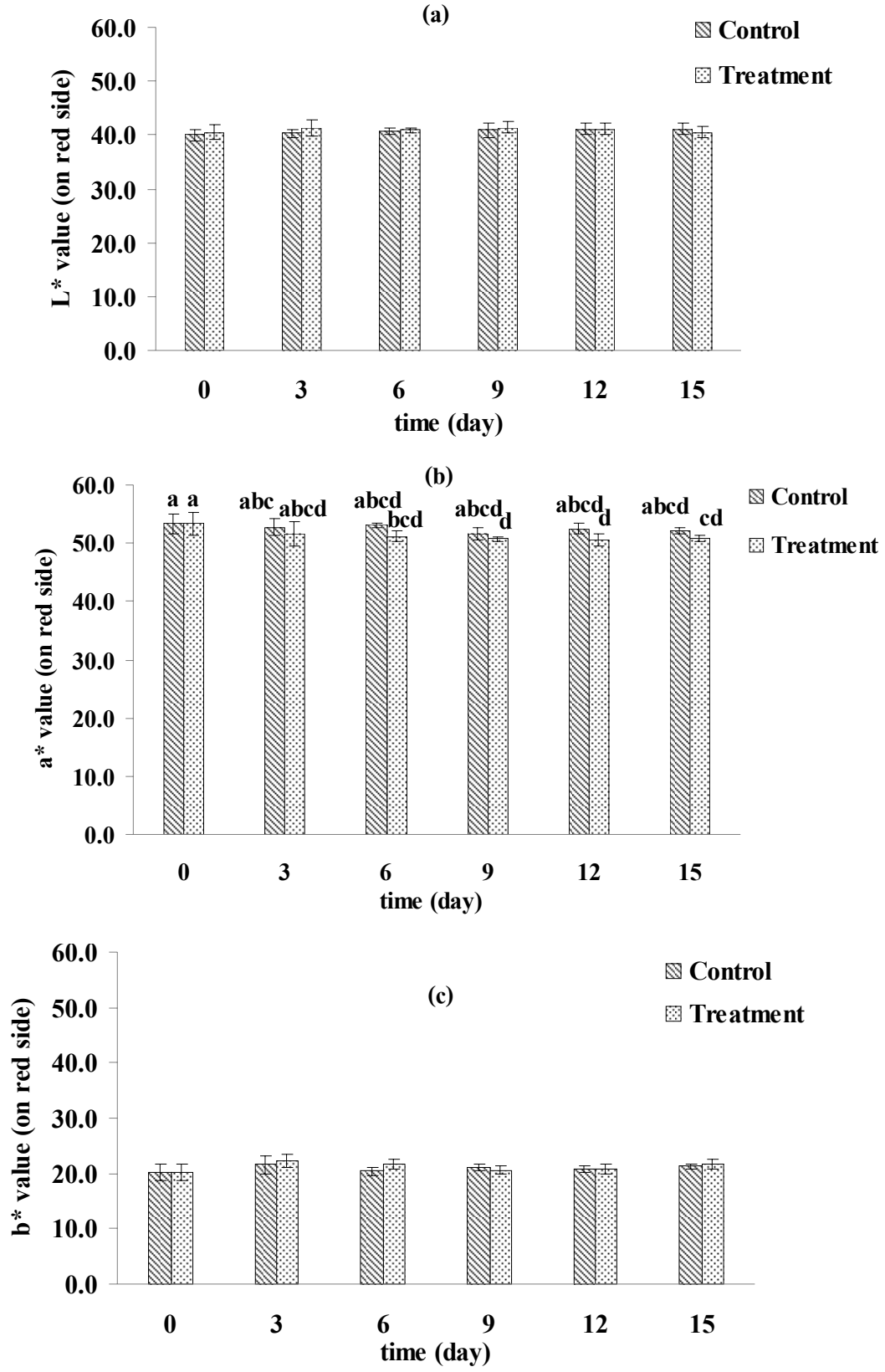


Figure 29. L* (a), a* (b) and b* (c) of imitated crab meat (red side) wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

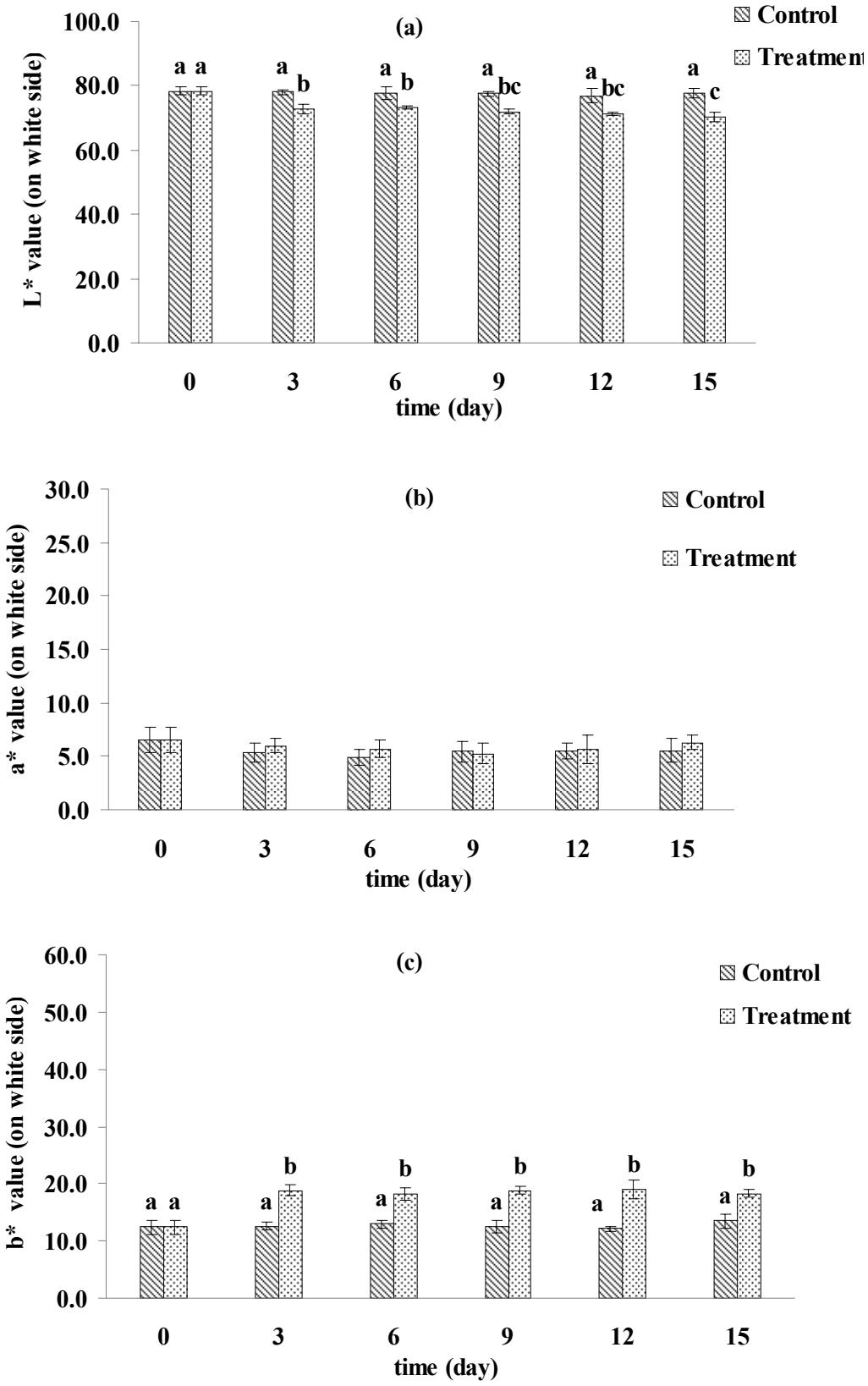


Figure 30. L* (a), a* (b) and b* (c) of imitated crab meat (white side) wrapped with PE film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

5.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพขนมปังแผ่นระหว่างการเก็บรักษา

ขนมปังแผ่นที่ใช้ในการทดลองเป็นขนมปังปอด์นที่ผลิตขึ้นเอง (Home made) ไม่มีส่วนผสมของวัตถุกันเสีย โดยลักษณะของขนมปังมีลักษณะคือ เนื้อของขนมปังมีสีขาว และขอบขนมปังมีสีน้ำตาลอ่อน และนำมาสไลด์เป็นแผ่นและคั่นระหว่างแผ่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ก่อนการบรรจุลงถุงพลาสติกพอลิเอธิลลีนความหนาแน่นต่ำ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและนำตัวอย่างมาทดสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์และกายภาพ โดยในการทดลองทดลองแบ่งขนมปังแผ่นออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ขนมปังแผ่นที่ไม่คั่นแผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดควบคุม) และขนมปังแผ่นที่คั่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) (Figure 26.) โดยคุณลักษณะของขนมปังแผ่น ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมปังปอนด์ (2548) กำหนดว่าต้องมีรูปทรงที่สม่ำเสมอ มีสีที่ดีตามธรรมชาติของขนมปัง ไม่ไหม้เกรียม กลิ่นรสต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมปัง และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึง ประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน รสขม ลักษณะเนื้อสัมผัสต้องเหนียวนุ่ม ยืดหยุ่น ไม่แห้งหรือแข็งกระด้าง จากการสังเกตลักษณะปรากฏ (Appearance) ภายนอกของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1สัปดาห์ พบว่าวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ขนมปังแผ่นชุดควบคุมมีลักษณะปกติ และในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาพบการเจริญของราดำและราเขียวที่เนื้อขนมปังแผ่นและขอบขนมปัง เมื่อพิจารณาขนมปังแผ่นชุดทดลอง พบว่าในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ขนมปังแผ่นมีลักษณะปกติ หลังจากนั้นในวันที่ 6 พบการเจริญของจุดราดำและราเขียวที่บริเวณเนื้อขอบและเนื้อขนมปังส่วนที่ไม่คั่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านกลิ่น (Odor) ของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าขนมปังแผ่นชุดควบคุมมีกลิ่นขนมปังปกติในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 2 หลังจากนั้นกลิ่นขนมปังจะลดลงในวันที่ 3 และพบกลิ่นอับจากขนมปังในวันที่ 4 ของการเก็บ เมื่อพิจารณาขนมปังแผ่นชุดทดลอง พบว่าขนมปังแผ่นมีกลิ่นขนมปังกับกลิ่นกานพลูในระหว่างการเก็บวันที่ 1 ถึงวันที่ 2 หลังจากนั้นในระหว่างวันที่ 3 ถึงวันที่ 5 กลิ่นขนมปังจะลดลงและยังคงมีกลิ่นกานพลูจากแผ่นฟิล์มลุมีกลิ่นอับจากขนมปังในวันที่ 6 ในส่วนการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านเนื้อสัมผัส (Texture) ของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลองระหว่างการเก็บรักษา พบว่าขนมปังแผ่นชุดควบคุมเนื้อขนมปังมีลักษณะนุ่มในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 1 หลังจากนั้นเนื้อขนมปังมีความนุ่มลดลงในวันที่ 2 และวันที่ 3 และพบว่าเนื้อขนมปังจะแข็งและกระด้างในวันที่ 4 เมื่อพิจารณาขนมปังแผ่นชุดทดลองพบว่าเนื้อขนมปังจะมีความนุ่มในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 1 หลังจากนั้นในวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 เนื้อขนมปังมีความนุ่มลดลง และเนื้อขนมปังไม่นุ่มและกระด้างขึ้นในวันที่ 5 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ จากการใช้คั่นระหว่างขนมปังแผ่นตลอดระหว่างการเก็บรักษา พบว่าฟิล์มมีการเปลี่ยนแปลง คือฟิล์มจะมีลักษณะอ่อนตัวลงและมีการพองตัวขึ้นเล็กน้อยระหว่างวันที่ 2 ถึงวันที่ 6

เนื่องจากฟิล์มดังกล่าวมีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิกจึงสามารถดูดซับความชื้นในอากาศและอาหารได้ (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง)

Table 7. Sensory attributes of sliced bread without film and applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

Days	Experiment gr.	Appearance	Odor	Texture
0	Control	White yellow and brown edge	Bread smell	Sticky, soft
	Treatment	White yellow and brown edge	Bread smell	Sticky, soft
1	Control	White yellow and brown edge	Bread smell	Sticky, soft
	Treatment	White yellow and brown edge	Bread smell and little clove odor	Sticky, soft
2	Control	White yellow and brown edge	Bread smell	Soft and a little dry
	Treatment	White yellow and brown edge	Bread smell and little clove odor	Soft and a little dry
			Clove odor	
3	Control	White yellow and brown edge	Low bread smell	Soft and a little dry
	Treatment	White yellow and brown edge	Low bread smell and little clove odor	A little dry
4	Control	White yellow and brown edge and little green and black dot at bread and edge were observed	Off flavor and fungus smell	Hard
	Treatment	White yellow and brown edge	Low bread smell and clove odor	A little dry

Days	Experiment gr.	Appearance	Odor	Texture
5	Control	-	-	-
	Treatment	White yellow and brown edge and a little dried face	Low bread smell and clove odor	A little dry
6	Control	-	-	-
	Treatment	White yellow and brown edge and little green and black dot at bread and edge were observed	Off flavor, fungus smell and clove odor	Hard

Table 8. Total viable count, yeast and mold of sliced bread with and without HPMC film and HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

Days	Slide bread without film		Slide bread with film incorporated with encapsulated clove extracts		HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts	
	TVC CFU/g	Yeast and mold Spores/g	TVC CFU/g	Yeast and mold Spores/g	TVC CFU/g	Yeast and mold Spores/g
0	4.1×10^{2}	ND	4.1×10^{2}	ND	ND	ND
2	2.41×10^{5}	3.0×10^{1}	1.32×10^{5}	ND	5.1×10^{3}	ND
4	1.43×10^{7}	3.2×10^{3}	3.7×10^{5}	ND	2.37×10^{3}	ND
6	-	-	8.3×10^{7}	2.2×10^{3}	1.83×10^{5}	ND

Remark : ND = Not detected

5.2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของขนมปังแผ่น ได้แก่ Total viable count (TVC) และยีสต์และรา 2 ชุดการทดลองได้แก่ ขนมปังแผ่นที่ไม่มีการคั่นระหว่างแผ่นด้วยแผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดควบคุม) และขนมปังแผ่นที่คั่นระหว่างแผ่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของขนมปังแผ่นชุดทดลองและชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 4 ของการเก็บขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่า TVC เพิ่มขึ้นจาก 4.1×10^{2} เป็น 1.43×10^{7} CFU/กรัม และเพิ่มขึ้นจาก 4.1×10^{2} เป็น 3.7×10^{5} CFU/กรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาระยะเวลาการเก็บที่เท่ากัน พบว่า การเจริญของจุลินทรีย์ในขนมปังแผ่นชุดทดลองเพิ่มขึ้นช้ากว่าชุดควบคุม และเมื่อพิจารณาการตรวจนับจำนวนของยีสต์และรา พบว่าขนมปังชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 3.0×10^{1} เป็น 3.2×10^{3} CFU/กรัม ในระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 0 ถึงวันที่ 4 ขณะที่ขนมปังแผ่นชุดทดลองตรวจไม่พบการเจริญของยีสต์และรา โดยพบว่าขนมปังแผ่นชุดทดลองที่เก็บในวันที่ 5 ถึงวันที่ 6 จะพบการเจริญของยีสต์รา ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 3.6×10^{2} ถึง 2.2×10^{3} CFU/กรัม ตามลำดับ ดัง Table 8. และ Figure 31.

เมื่อพิจารณาอายุการเก็บของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลอง จากการตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร โดยอ้างอิงมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ขนมปังปอนด์ (มผช.747-2548) กำหนดว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^{4} CFU/กรัม และจำนวนยีสต์และราน้อยกว่า 100 CFU/กรัม พบว่าขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลองมีอายุการเก็บไม่เกิน 1 วัน แสดงให้เห็นว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตจากฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตไม่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ แต่เมื่อพิจารณาค่า TVC พบว่า สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ (แบคทีเรียและรา) แสดงให้เห็นว่าฟิล์มสามารถต่อต้านและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยสามารถลดและยับยั้งการเจริญของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียและฟังไจบางชนิดก่อโรค (pathogens) และเป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย (food spoilage) (Matan *et al*., 2006; Mytle *et al*., 2006; Burt, 2004; Gulcin *et al*., 2004) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาลักษณะของผลิตภัณฑ์ขนมปังแล้วพบว่าขนมปังที่ผ่านการสไลด์เป็นแผ่นโดยปกติโอกาสเกิดเชื้อได้มากกว่าขนมปังที่ไม่ผ่านการสไลด์ เนื่องจากการสไลด์เป็นแผ่น เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศ ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ ดังนั้นการใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์สัมผัสหรือประกบ (contact) เป็นการยืนยันได้ว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์สามารถลดการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์และรา ได้

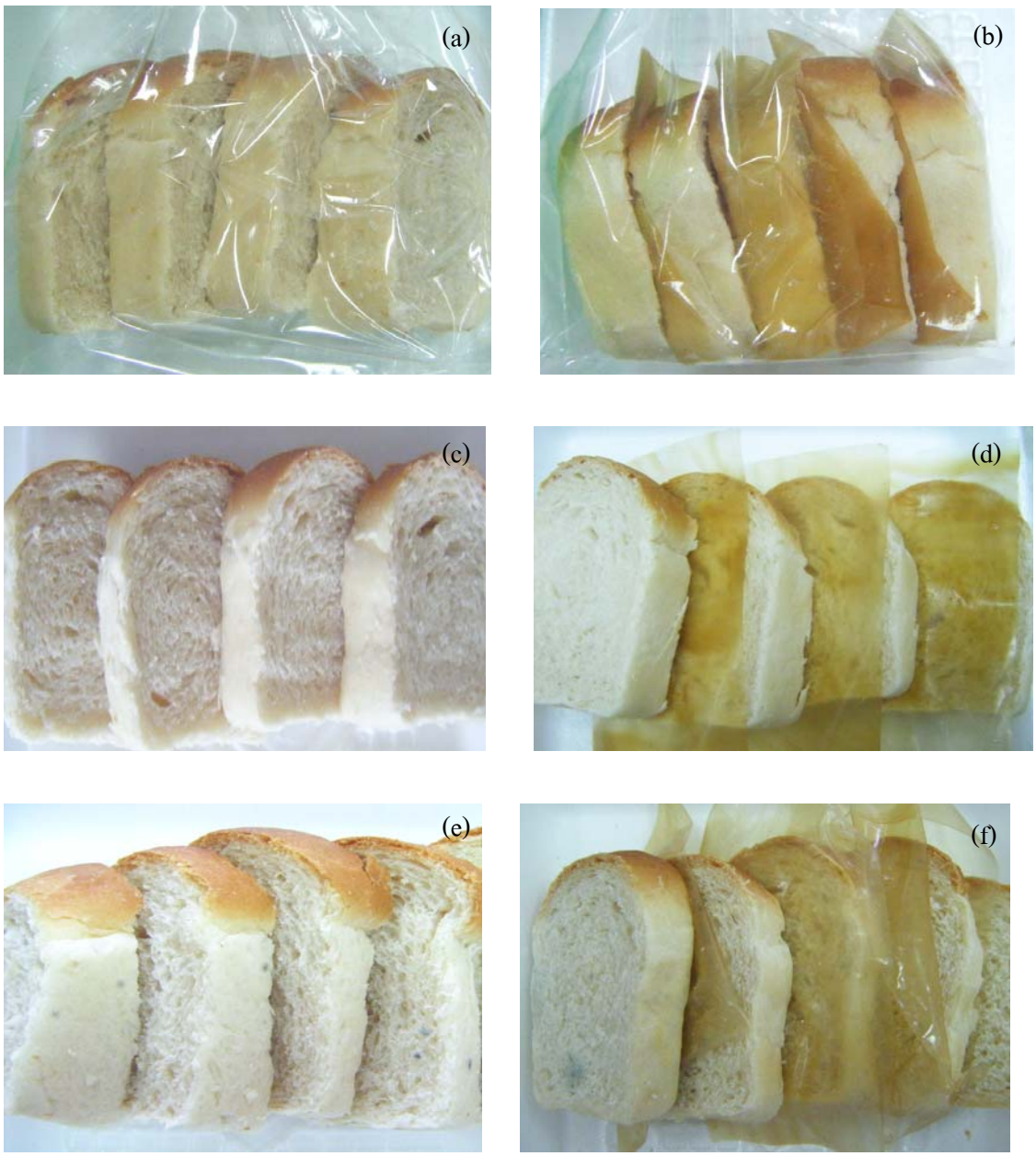


Figure 31. Illustrative pictures of sliced bread with no film (a), sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (b) at 0 day of storage and sliced bread applied with not film (c) and sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (d) at 2 days of storage and sliced bread applied with not film (e) at 4 days of storage and sliced bread applied with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts (f) at 6 days of storage, respectively.

1.2.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมี

จากผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและกายภาพ ของขนมปังแผ่นที่ไม่มีการคั่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดควบคุม) และขนมปังแผ่นคั่นระหว่างแผ่นด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ (ชุดทดลอง) ระหว่างอายุการเก็บ 1สัปดาห์ โดยคุณภาพทางเคมีได้แก่ ค่า TBARs และคุณภาพกายภาพได้แก่ ค่า Water activity (a_w) และค่าสี พบว่าขนมปังแผ่นชุดควบคุมมีค่า TBARs เพิ่มขึ้นจาก 1.876 ถึง 6.269 มิลลิกรัม (malonaldehyde) ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง, ค่า a_w ลดลงจาก 0.944 ถึง 0.931 และมีค่าสี (color) ได้แก่ L* เท่ากับ 75.346-75.883, a* เท่ากับ 1.177-1.733 และ b* เท่ากับ 18.852-20.935 ขณะที่ขนมปังแผ่นชุดทดลองมีค่า TBARs เพิ่มขึ้นจาก 1.876 ถึง 3.499 มิลลิกรัม (malonaldehyde) ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง, ค่า a_w ลดลงจาก 0.959 ถึง 0.938 และมีค่าสี ได้แก่ L* เท่ากับ 75.307-76.947, a* เท่ากับ 1.177-1.563, b* เท่ากับ 18.447-19.575 เมื่อเปรียบเทียบค่า TBARs ของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลอง ระหว่างอายุการเก็บรักษาพบว่า ค่า TBARs ของขนมปังแผ่นชุดควบคุมในระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 4 มีค่า TBARs ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าขนมปังแผ่นชุดทดลอง (Figure 32a.) แสดงให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มต้านจุลินทรีย์สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงค่าความหืนได้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับสารสำคัญจากสารสกัดกานพลูในแผ่นฟิล์ม จากการวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดกานพลูมีสารสำคัญหลักได้แก่ ยูจีนอล และยูจีนอลอะซิเตด เป็นต้น และซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารกันหืนได้ (Lee and Shibamoto, 2001) และเมื่อพิจารณาค่า a_w ของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดควบคุมระหว่างอายุการเก็บรักษา พบว่า ค่า a_w ของขนมปังแผ่นทั้งสองชุดการทดลองมีค่าลดลง เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากความชื้นในขนมปังแผ่นเกิดสูญเสียไปกับบรรยากาศ โดยแนวโน้มค่า a_w ของขนมปังแผ่นชุดควบคุม มีค่าลดลงมากกว่าขนมปังแผ่นชุดทดลอง (Figure 32b.) เนื่องจากขนมปังแผ่นชุดทดลองมีการใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์คั่นระหว่างแผ่น ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการดูดความชื้นของฟิล์ม เมื่อพิจารณาค่าสีของขนมปังแผ่นชุดควบคุมและชุดทดลองระหว่างอายุการเก็บ พบว่า ความสว่าง (L* value) ของขนมปังแผ่นทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างระหว่างอายุการเก็บ (p>0.05) นอกจากนี้พบว่าค่า b* value ของชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น (Figure 33.c) แสดงถึงแนวโน้มเนื้อขนมปังมีสีเหลืองเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Millard reaction เป็นปฏิกิริยาระหว่าง reducing sugar ได้แก่ กลูโคส หรือ ฟรักโทส โดยกลูโคสได้จากแป้งสาลีที่ผลิตขนมปังแผ่นกับกลุ่มอะมิโนของโปรตีน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

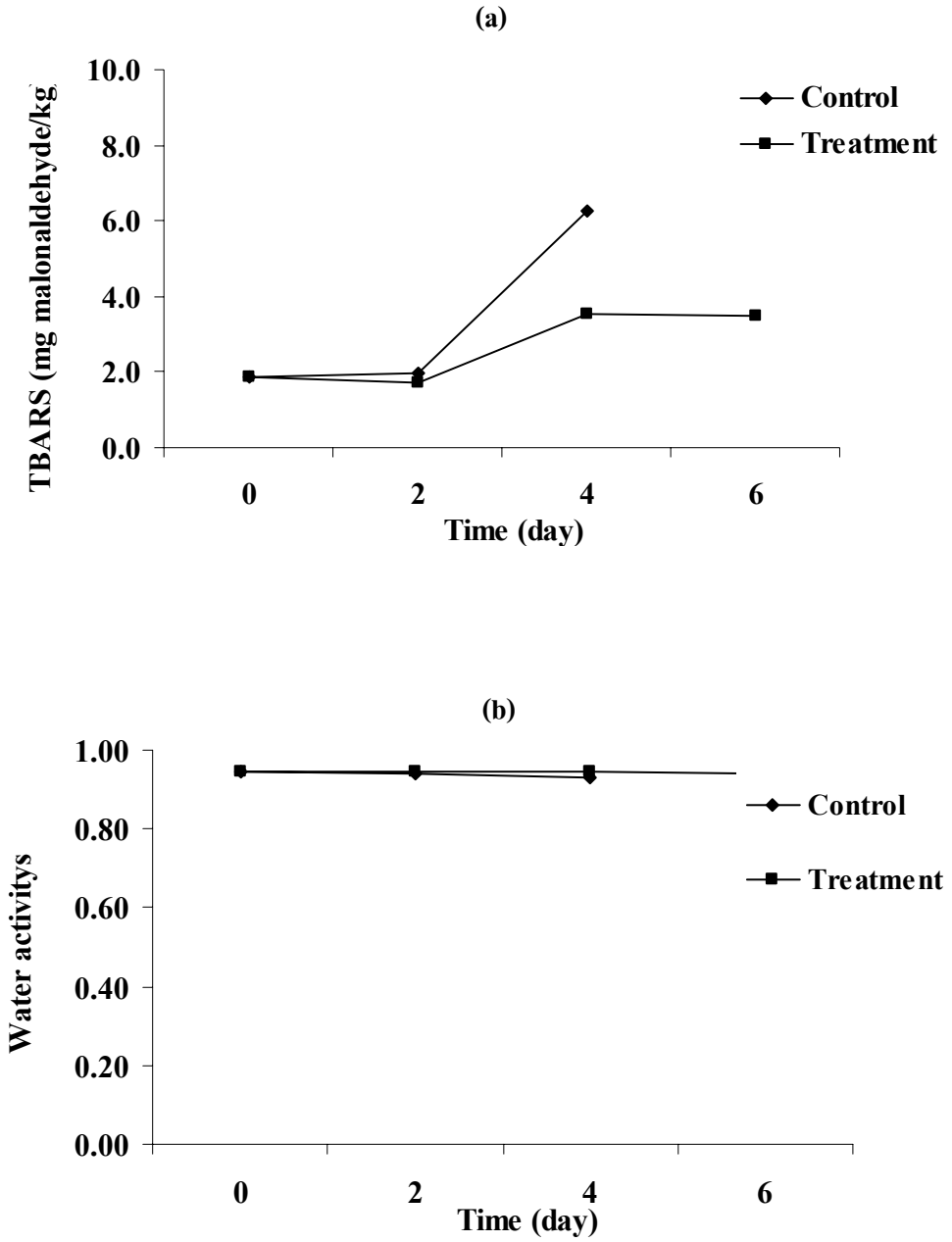


Figure 32. TBARs (mg malonaldehyde/kg) (a) and water activity (b) of sliced bread without film and wrapped HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

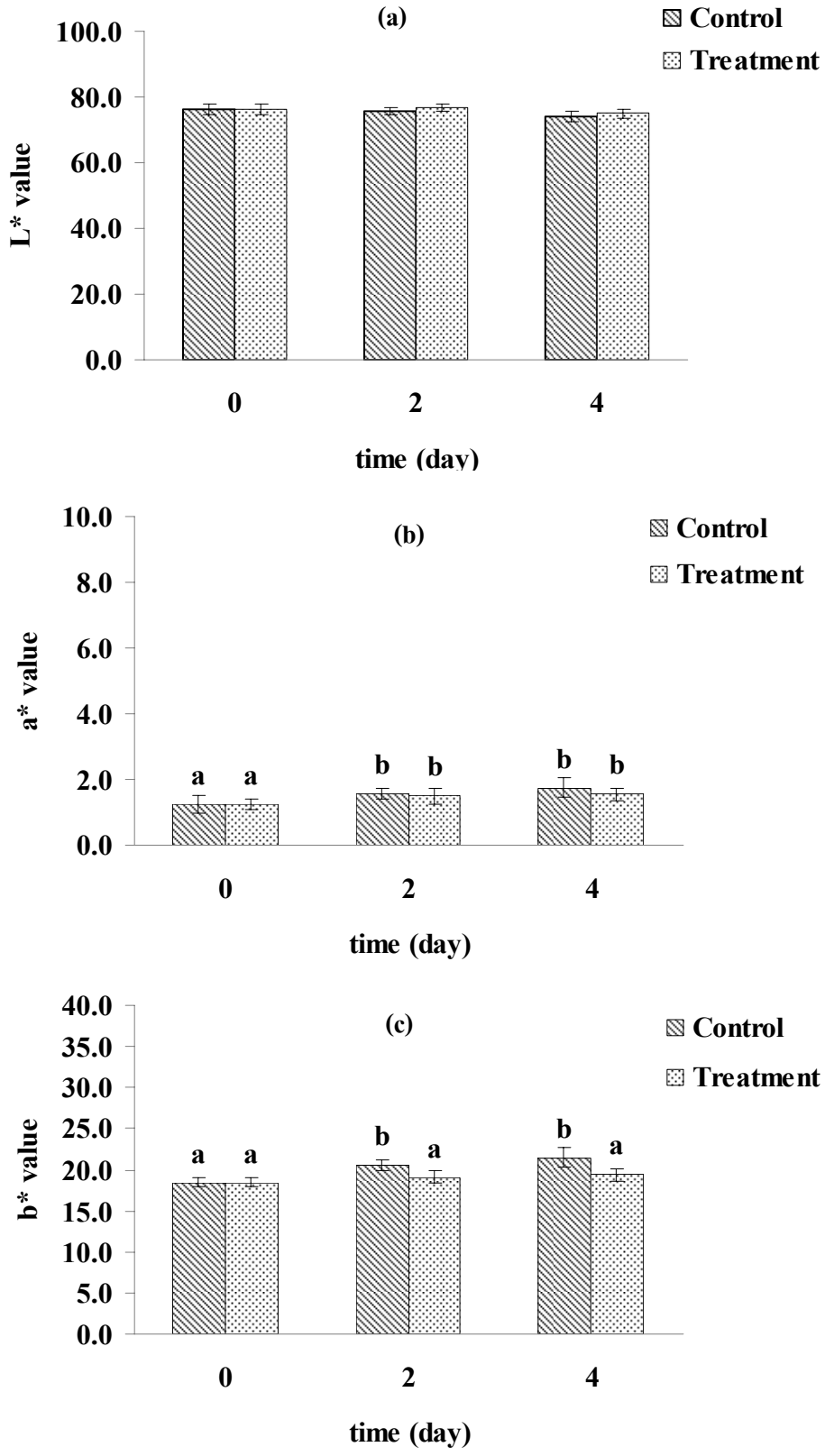


Figure 33. L* (a), a* (b) and b* (c) of sliced bread without film and wrapped with HPMC film incorporated with encapsulated clove extracts during storage.

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

- องค์ประกอบหลัก (major components) สารสกัดจากกานพลูแห้งประกอบด้วย eugenol, trans-caryophyllene และ eugenol acetate เท่ากับร้อยละ 65.67, 20.74 และ 4.81 ตามลำดับ และสารประกอบดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยค่า MBC ในการทำลายเชื้อ *R. stolonifer, L. monocytogenes, E. coli* และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.5, 0.5, 1.0 และ 1.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ

- การเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตร้อยละ 3.0 น้ำหนักต่อปริมาตรขึ้นไป ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีลักษณะแข็งและเปราะ ขณะที่ฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตในปริมาณร้อยละ 0.5-3.0 น้ำหนักต่อปริมาตร มีขอบวงใสของการยับยั้งเชื้อ *R. stolonifer*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *S. aureus* และมีดัชนีชี้วัดความสามารถต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

- การเติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีผลต่อสมบัติทางกลของฟิล์ม HPMC โดยพบว่าค่าการต้านทานแรงดึงสูงสุด ค่าการยืดตัวเมื่อขาด ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ และค่าการละลายของแผ่นฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตส่งผลต่อค่าสีโดยฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองสว่างเพิ่มขึ้น และค่าการส่องผ่านของแสงลดลง

- ลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม HPMC ที่ไม่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีผิวหน้าเรียบ สม่ำเสมอและไม่มีฟองอากาศ ขณะที่ฟิล์ม HPMC ที่เติมสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตจะมีลักษณะผิวหน้าขรุขระ และเมื่อปริมาณสารสกัดกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตเพิ่มขึ้นส่งผลให้ผิวหน้ามีความขรุขระและอนุภาคเอนแคปซูลเลตหนาแน่นขึ้นด้วย

- ผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ และคุณภาพทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์มีค่าต่ำกว่าการใช้ฟิล์มสังเคราะห์หรือไม่มีการใช้ฟิล์มใดๆ

ข้อเสนอแนะ

หากมีการศึกษาต่อไปหรือผลิตฟิล์มบริโภคได้ที่เติมสารสกัดจากกานพลูนั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

- ศึกษาส่วนของปริมาณสารสกัดที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูลเลต ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดมีผลต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ ซึ่งส่งผลให้การวิจารณ์ผลมีความชัดเจนมากขึ้น
- ศึกษาการเพิ่มคุณสมบัติในการต้านทานความชื้นของฟิล์ม เนื่องจากฟิล์มที่ใช้ (HPMC) มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก ดังนั้นเมื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ทำให้มีการดูดซับความชื้นและติดกับผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการเพิ่มสมบัติไฮโดรโฟบิค เช่นการเติมไขมัน จะส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความสามารถใช้งานหลากหลายขึ้น
- ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลตมีกลิ่นและมีโอกาสรบกวนรสชาติของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ควรพิจารณาถึงผลกระทบดังกล่าวด้วย

เอกสารอ้างอิง

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2550. การบรรจุแบบแอคตีฟ (Active packaging). *ใน* การบรรจุอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 286-320. บริษัท เอส.พี.เอ็ม. การพิมพ์ จำกัด. กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร (Food chemistry). พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

ปุ่น คงเจริญเกียรติ และสมพร คงเจริญเกียรติ. 2541. บรรจุภัณฑ์พลาสติก. *ใน* บรรจุภัณฑ์อาหาร. เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 60-66. บริษัท แพคเมทส์ จำกัด. กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. กานพลู. *ใน* พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. (ประสิทธิ์ สันติวัฒนา, บรรณาธิการ). หน้า 92. โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ

วรรณา ตุลยธัญ. 2549. อนุพันธ์ของโพลีแซคคาร์ไรด์. *ใน* เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้าที่ 177-187. กรุงเทพฯ.

วันดี รังสีวิจิตรประภา. 2549. เอกสารประกอบการบรรยาย เรื่อง ไมโครเอนแคปซูเลชัน (Microencapsulation). วิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม 4 มหาวิทยาลัยอุบลราธานี.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ขนมปังปอนด์ มผช. 747/2548 (ออนไลน์).
สืบค้นจาก : http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps747_48.pdf(12 พฤษภาคม 2552)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ปูอัด มผช. 727/2548. (ออนไลน์).
สืบค้นจาก : http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps727_48.pdf(12 พฤษภาคม 2552)

Alma, M.H., Ertas, M., Nitz, S. and Kollmannsberger, H. 2007. Chemical composition and content of essential from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). Bioresour. Technol. 2 : 265-269.

American Society for Testing and Materials (ASTM). 1991. Standard test method for tensile properties of plastics. D638. In Annual Book of American Standard Testing Method. 15.09 : 159-171.

American Society for Testing and Materials (ASTM). 1995. Standard test methods for tensile properties of thin plastics sheeting D882-91. In Annual Book of American Standard Testing Methods. 8.01 : 182-190.

Appendini, P., and Hotchkiss, J. 1997 . Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. Packag.Technol. Sci. 10 : 271-279.

Appendini, P., and Hotchkiss, J. 2001. Surface modification of polystyrene by the attachment of an antimicrobial peptide. J. Appl. Polym. Sci. 81 : 609-616.

Appendini, P. and Hotchkiss, J.H., 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 3 : 113-126.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official methods of analysis: 15th Ed. Arlington, VA.

August, K.T. 1987. Cysteine-onion oil interaction: its biological importance and the saporation of interaction product by chromatography. Food Sci. Techno. 10 : 12.

Azzouz, M.A. and Bullerman, L.B. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. J. Food Prot. 45 : 1298-1301.

Bertan, L. C., Palmu, P. S. T., Siani, A. C. and Grosso, C. R. F. 2005. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. Food Hydrocolloids. 19 : 73-82.

Braga, P.C., Sasso M.D., Culici, M. and Alfieri, M. 2007. Eugenol and thymol, alone or in combination, induce morphological alterations in the envelope of *Candida albicans*. Fitoterapia. 78 : 396–400.

Burt, S. 2004. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int. J. Food Microbiol. 94 : 223-253

Canillac, N. and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity of the essential oil of Picea excelsa on *Listeria monocytogenes Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. Food Microbiol. 18 : 261-268.

Cerqueira, M.A., Lima, A.M., Teixeira, J.A., Moreira, R.A. and Vicente, A.A. 2009. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. J. Food Eng. 94 : 372-378.

Conner , D.E. and Beuchat, L.R. 1984. Effect of essential oils plants on growth of food spoilage yeasts. J. Food Sci. 49 : 429–434.

Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. Lett. Appl. Microbiol. 29 : 130-135.

Cox, S. D., Mann, J. L., Markham, H. C., Bell, J. E. and Gustafson, J. R. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oils of *Malaleuca alternifolia*. J. Appl. Microbiol. 88 : 170–177.

Dadalioglu, I., and Evrendilek, G. 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. J. Agri. Food Chem. 52 : 8255-8260.

Davidson, P. M. 1993. Parabens and phenolic compunds. *In* Antimicrobials in foods. (Davidson, P. M. and Branen, A. L., eds.). p 263–305.

Feng, P. and Weagant, S.D. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual (Online). Available : http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html(25 November 2007)

Gallo, J.A.Q., Debeaufort, F, Callegarin, F. and Voilley, A. 2000. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. J. Membr. Sci. 180 : 37-46.

George, M. and Abraham, E. 2006. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. J. Controlled Release. 114 : 1-14.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Res. Int. 40 : 1107-1121.

Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1994. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. Int. J. Food Sci. Technol. 29 : 39-50.

Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.L. 1992. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. J. Food Sci. 57 : 190-195.

Gontard, N., Marchesseau, S., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1995. Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. Int. J. Food Sci. Technol. 30 : 49-56.

Google. 2009. Cyclone Spray Dryer. (Online). Available http://class.fst.ohio-state.edu/Dairy_Tech/14Spraydrying.html(8 Febuary 2009)

Guilbert, S., 1986. Technology and application of edible protective film. *In* Food Packaging and Preservation. (Matathoulthi, M.,ed.). p. 371–394. Elsevier Applied Science Publishers. New York.

Guillén, M.C.G., Mateos, M.P., Estaca, J.G., Caballero, E.L. and Montero, P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. Trends Food Sci. Technol. 20 : 3-16.

Gulcin, I., Sat, I.G., Beydemir, S., Mahfuz, M. and Kufrevioglu, O.I. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophylata* Thunb.) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). Food Chem. 87: 393–400.

Hao, Y.Y., Brackett, R.E. and Doyle, M.P., 1998. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and aeromonas hydrophila by plant extracts in refrigerated cooked beef. J. Food Prot. 61: 307-312.

Jafari, S.M., Assadpoor, E., Bhandari, B. and He, Y. 2008. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. Food Res. Int. 41 : 172-183.

Jangchud, A. and Chinnan, M. S. 1999. Properties of peanut protein film: Sorption Isotherm and plasticizer effect. Lebensm. Wiss. Technol. 32 : 89-94.

Kamper, S.L. and Fennema, O. 1984a. Water vapor permeability of edible bilayer films. J. Food Sci. 49 : 1478 – 1481.

Kim, S.J., and Ustunol, Z. 2001. Solubility and moisture sorption isotherms of whey-proteinbased edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. J. Agric. Food Chem. 49 : 4388-4391.

Klaypradit, W. and Huang, Y.W. 2008. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. LWT Food Sci. Tech. 41 : 1133-1139.

Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E.A. and McClements, D.J. 2006. Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. Food Res. Int. 39 : 449-457.

Koch, K., Hartmann, K.D., Schreiber, L., Barthlott, W. and Neinhuis, C. 2006. Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. Environ. Exp. Bot. 56 : 1-9.

Krajewska, B. 2005. Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan material. Sep. Purif. Technol. 41 : 305-312.

Larry, M., L. and Peeler, J. T. 2001. Aerobic Plate Count. Bacteriological Analytical Manual (Online). Available http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html(25 November 2007)

Lee, K.G. and Shibamoto, T. 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. Food Chem. 74 : 443-448.

Lens, J.P., de Graaf, L. A., Stevels, W. M., Dietz, C. H. J. T., Verhelst, K. C. S., Vereijken, J. M. and Kolster, P. 2003. Influence of processing and storage conditions on the mechanical and barrier properties of films cast from aqueous wheat gluten dispersions. Ind. Crops Prod. 17 : 119-130.

Linsley, M.D., Ekincia, F.J., Ortiz, D., Rogers, E. and Shea, T.B. 2005. Monitoring thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs) as an assay for oxidative damage in neuronal cultures and central nervous system. J. Neurosci. Methods. 141 : 219–222.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. J. Food Sci. Technol. 41 : 1–21.

Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan V. and Parker, M. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. Int. J. Food Microbiol. 107 : 180-185.

McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., and Krochta, J. M. 1995. Hydrophobic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. Food Sci. 58 : 899-903.

Moreira, M.R., Ponce, A.G, Valle, C.E.D. and Roura, S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT Food Sci. Technol. 38 : 565–570.

Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M. and Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutri. 42 : 67-89.

Mytle, N., Anderson, G.L., Doyle, M.P. and Smith, M.A. 2006. Antimicrobial activity of clove (*Syzgium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. Food Cont. 17 : 102–107.

Nair, L.S. and Laurencin, C.T. 2007. Biodegradable polymers as biomaterials. Prog. Polym. Sci. 32 : 762-798.

Nino, M.R.R., Sánchez, C.C., Ruíz-Henestrosa, V.P. and Patino, J.M.R. 2005. Milk and soy protein films at the air–water interface. Food Hydrocol. 19 : 417-428.

Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Nafhdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Cont. 18 : 1518-1523.

Ozdemir, M. and Floros, J.D. 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. Journal of Food Eng. 86 : 215-224.

Pommet, M., Redl, A., Morel, M-H. and Guilbert, S. 2003. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. Polym. 44 : 115-122.

Pozos, N., Scow, K., Wuertz, S. and Darby, J. 2004. UV disinfection in a model distribution system:: biofilm growth and microbial community. Water Res. 38 : 3083-3091.

Pranoto, Y., Salokhe, V.M. and Rakshit, S.K. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food Res. Int. 38 : 267-272.

Prindle, R. F., and Wright, E. S. 1997. Phenolic compounds. *In* Disinfection sterilization and preservation (Block, S. S. ,ed.). Philadelfia. Lea & Febiger.

Quintavalla, S. and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Sci. 62 : 373-380.

Richardson, H.,Emslie-Smith, A. H., and Senior, B.W. 1986. Agar diffusion method for the assay of colicins. American Society for Microbiology. 16 : 1468-1474.

Riederer, M. and Schreiber, L., 1995. Waxes – the transport barriers of plant cuticles. *In* Waxes : Chemistry, Molecular Biology and Functions. (Hamilton, R.J., ed.). p. 131-156. The Oily Press. Dundee.

Sealed air. 2009. Cryovac® Oxygen Scavenging Systems (Online). Available http://www.sealedair.com.br/products/specialty/os_systems.html(8 Febuary 2009)

Shellhammer, T.H. and Krochta, J.M. 1997. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. J. Food Sci. 62 : 390-394.

Shulkin, A. and Stover, H.D.H. 2002. Polymer microcapsules by interfacial polyaddition between styrene–maleic anhydride copolymers and amines. J. Membr. Sci. 209 : 421-432.

Shukla, R. and Cheryan, M. 2001. Zein: the industrial protein from corn. Ind. Crops Prod. 13 : 171-192.

Sinha, V.R., Singla, A.K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K. and Dhawan, S. 2004. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs-review. Int. J. Pharm. : 274. 1-33.

Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D. and Roques M. A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocol. 15 : 423-432

Soliman, K.M. and Badeaa, R.I. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food Chem. Toxicol. 40 : 1669-1675.

Stuchell, Y.M. and Krochta, J.M. 1994. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. J. Food Sci. 59 : 1332 – 1337.

Sukatta, U. Haruthaithanasan, V., Chantarapanont, W., Dilokkunanant, U. and Suppakul, P. 2008. In vitro Antifungal Activity of Clove and Cinnamon oil and their Synergistic Against Postharvest Decay of Grape. In Proceedings of 46th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry . 29 Jan-1Feb 2008. P. 497-504.

Suksrikarm, B., 1987. Herb and Spice. Amorn Printing, Thailand.

Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A. and Bandler, R. 2001. Yeasts, molds and mycotoxins. Bacteriological Analytical Manual (Online). Available http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html(25 November 2007)

Vasconez, M.B., Flores, S.K., Campos, C.A., Alvarado, J. and Gerschenson, L.N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. Food Res. Int. 42 : 762-769.

Vazquez, B.I., Fente, C., Franco, C.M., Vazquez, M.J. and Cepeda, A. 2001. Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. Int. J. Food Microbiol. 67 : 157–163.

Vermeiren, L., F. Devlieghere, M. van Beest, N. de Kruijf, and J. Debevere. 1999. Developments in the active packaging of foods. Trends Food Sci. Technol. 10 : 77-86.

Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J., 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J. Appl. Microbiol. 84 : 152–158.

Wenqiang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., Shaokun, T. and Can, Q. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. Food Chem. 101 : 1558-1564.

Weller, C.L., Gennadios, A. and Saraiva. R.A. 1998. Edible bilayer films from zein and grain Sorghum wax or Carnauba wax. Lebensm. Wiss. Technol. 31 : 279–285.

Wikipedia. 2009. Maltodextrin (Online). Available http://petnutritionblog.com/wp-content/uploads/2008/07/maltodextrin(8 Febuare 2009)

Wilkinson, J.M., Hipwell, M., Ryan, T. and Cavanagh, H.M.A., 2003. Bioactivity of backhousia citriodora: antibacterial and antifungal activity. J. Agric. Food Chem. 51 : 76- 81.

Yang, L. and Paulson, A. T. 2000. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. Food Res. Int. 33 : 571-578.

Zaika, L. L. 1988. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. J. Food Saf. 9 : 97-118.

Zheng, W. and Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chem. 49 : 5165–5170.

ภาคผนวก

ภาคภนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์

1. อาหาร Brilliant Green Bile Broth 2%

ส่วนผสม

1.	Peptic digest of animal tissue	10	กรัม
2.	Lactose	10	กรัม
3.	Oxgall	20	กรัม
4.	Brilliant green	0.0133	กรัม
5.	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม นำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7.2±0.2 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หลอดละ 8 มิลลิลิตร ภายในหลอดบรรจุ durham tube นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหาร Lauryl Sulfate Tryptone (LST) Broth

ส่วนประกอบ

1.	Tryptose peptone	20	กรัม
2.	Lactose	5	กรัม
3.	Dipotassium Phosphate	2.75	กรัม
4.	Monopotassium Phosphate	2.75	กรัม
5.	Sodium Chloride	5	กรัม
6.	Sodium Lauryl Sulfate	0.1	กรัม
7.	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม ใช้แท่งแก้วคนสารละลายให้เข้ากัน ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.8±0.2 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หลอดละ 10 มิลลิลิตร ภายในหลอดบรรจุ durham tube นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหาร Peptone Water

ส่วนประกอบ

1. Peptone	0.1	กรัม
2. NaCl	0.85	กรัม
3. น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม ใช้แท่งแก้วคนสารละลายให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหาร Plate Count Agar (PCA)

ส่วนประกอบ

1. Pancreatic Digest of Casein	5	กรัม
2. Yeast extract	2.5	กรัม
3. Agar	15	กรัม
4. น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม นำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7.1±0.1นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหาร Trypticase soy agar supplemented with yeast extract (TSAYE)

ส่วนประกอบ

1.	Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
2.	Papaicdigest of soyabean meal	5	กรัม
3.	Sodium chloride	5	กรัม
4.	Yeast extract	6	กรัม
5.	Agar	15	กรัม
6.	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม ใช้แท่งแก้วคนสารละลายให้เข้ากัน ในกรณีที่สารเคมีบางชนิดละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7.3$\pm$0.2 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

6. อาหาร Trypticase soy broth supplemented with yeast extract (TSBYE)

ส่วนประกอบ

1.	Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
2.	Papaicdigest of soyabean meal	5	กรัม
3.	Sodium chloride	5	กรัม
4.	Yeast extract	6	กรัม
5.	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม ใช้แท่งแก้วคนสารละลายให้เข้ากัน ในกรณีที่สารเคมีบางชนิดละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7.3$\pm$0.2 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. อาหาร YM agar (Yeast extract-Malt extract Agar)

ส่วนประกอบ

1. Yeast extract	3	กรัม
2. Malt extract	3	กรัม
3. Peptone	5	กรัม
4. Glucose	10	กรัม
5. Agar	20	กรัม
6. น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม ใช้แท่งแก้วคนสารละลายให้เข้ากัน ในกรณีที่สารเคมีบางชนิดละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

8. อาหาร Plate Count Agar (PCA)

ส่วนประกอบ

9. Pancreatic Digest of Casein	5	กรัม
10. Yeast extract	2.5	กรัม
11. Agar	15	กรัม
12. น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์หรือภาชนะที่จะผสม นำไปต้มซึ่งความร้อนจะช่วยให้ละลาย ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 7.0 ± 0.2 ด้วย NaOH 1 นอมัล หรือ Acetic acid 1 นอมัล นำส่วนผสมที่ได้เทใส่ test tube หรือขวดฝาเกลียว นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำความร้อนสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์

1. การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total variable count) โดยวิธี Standard plate count เทคนิคการ pour plate (BAM, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร Plate Count Agar (PCA)
2. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร ในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1.1 ชั่งอาหารหนัก 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 จากขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1}

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีเปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่มีกำลังเจือจาง 10^{-2}

1.3 ทำให้ตัวอย่างเจือจางต่อไปเป็น 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ

1.4 เขย่าตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-4} อีกหลายๆ ครั้ง แล้วใช้ปิเปต 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างลงในจานเพาะเลี้ยง 3 จาน จานละ 1 มิลลิลิตร

1.5 ทำเช่นเดียวกับข้อ 4 โดยใช้ปิเปตอันเดิมแต่ใช้ตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-3}

1.6 ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีวุ้นอยู่เทลงในจานเพาะเลี้ยง (ข้อ 4 และข้อ 5) ประมาณจานละ 15-20 มิลลิลิตร แกว่งจานเพาะเลี้ยงเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างกับวุ้นเข้ากันดีตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็ง กลับจากเพาะเลี้ยงละเก็บจากเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง สำหรับตรวจวัดเชื้อจุลินทรย์ ชนิด mesophile bacteria

1.7 ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็น จำนวน Colony Forming Unit (CFU) ต่อกรัมตัวอย่าง

การคำนวณ จำนวน CFU ต่อกรัมตัวอย่าง

CFU = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี x ระดับความเจือจาง

2. การวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์ม โดยวิธี Most probably number of coliform organisms (MPN) (BAM, 2002)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Presumptive test

1. อาหาร LST (Lactose broth) พร้อมหลอดดักจับแก๊ส 10 มิลลิลิตร
2. เปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

Confirmed test

อาหาร Brilliant Green Bile Broth 2% พร้อมหลอดจับแก๊ส

วิธีการ

Presumptive test

2.1 ชั่งตัวอย่างในถุงพลาสติกทนร้อน 10 กรัม เติมเปปโตนร้อยละ 90 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1}

2.2 ทำการเจือจางตัวอย่างไปจนกระทั่งได้ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ 10^{-2} และ10^{-3}

2.3 ปิเปตตัวอย่างที่ 10^{-3} 10^{-2} และ 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหาร LST ความเข้มข้นละ 3 หลอด ตามลำดับ เขย่าตัวอย่างให้เข้ากับอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง ดูแก๊สที่หลอดดักจับแก๊ส ถ้ามีแก๊สถือว่าให้ผลบวก บันทึกผล แล้วทำ Confirmed test

Confirmed test

2.4 หลังจากดูผลใน 24 ชั่วโมง ว่ามีแก๊สเกิดขึ้นกี่หลอด ส่วนหลอดที่ยังไม่เกิดแก๊สให้นำกลับไปบ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วนำมาดูผลใหม่

2.5 นำหลอดที่มีแก๊สทุกหลอดมาเขย่าเบาๆ แล้วถ่ายเชื้อแต่ละหลอดลงในอาหาร Brilliant Green Bile Broth 2% หลอดต่อหลอดแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.6 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ตรวจดูผลหลอดที่ให้แก๊สแล้วบันทึกผลในตาราแล้วเปิดหาค่า Most Probable Number (MPN)

3. วิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา โดยวิธี Standard plate count เทคนิคการ pour plate (BAM, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร YM agar (Yeast extract-Malt extract Agar)
2. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร ในขวดฝาเกลียว ปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

3.1 ชั่งตัวอย่างในถุงพลาสติกทนร้อน 10 กรัม เติมเปปโตนร้อยละ 90 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1}

3.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีเปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่มีกำลังเจือจาง 10^{-2}

3.3 ทำให้ตัวอย่างเจือจางต่อไป เป็น 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ

3.4 เขย่าตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-4} อีกหลายๆ ครั้ง แล้วใช้ปิเปต 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างลงในจานเพาะเลี้ยง 2 จาน จานละ 1 มิลลิลิตร

3.5 ทำเช่นเดียวกับข้อ 4 โดยใช้ปิเปตอันเดิมแต่ใช้ตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-3}

3.6 ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีวุ้นอยู่เทลงในจานเพาะเลี้ยง (ข้อ 4 และ ข้อ 5) ประมาณจานละ 15-20 มิลลิลิตร แกว่งจานเพาะเลี้ยงเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างกับวุ้นเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว กลับจานเพาะเลี้ยงและเก็บจากเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

3.7 ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวน CFU ต่อกรัมตัวอย่าง

4. การคำนวณดัชนีชี้วัดความสามารถต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial index) ของฟิล์ม HPMC ที่เติมกานพลูที่ผ่านกานเอนแคปซูลเลต

สามารถคำนวณ Antimicrobial index ของสารสกัดได้จากสูตร

Antimicrobial index = (พื้นที่ Inhibition zone – พื้นที่ฟิล์ม) / พื้นที่ฟิล์ม

ตัวอย่างเช่น

S. aureus ของฟิล์ม HPMC สารสกัดน้ำมันกานพลูที่ผ่านการเอนแคปซูลเลชันร้อยละ 1.5 โดยวิธี Agar diffusion assay พบว่า เกิด Inhibition zone 6.488 ตารางเซนติเมตร โดยพื้นที่ของฟิล์มเป็น 2.009 ตารางเซนติเมตร

ดังนั้นสามารถคำนวณค่า

Antimicrobial index = (พื้นที่ Inhibition zone – พื้นที่ฟิล์ม) / พื้นที่ฟิล์ม

= (6.488 - 2.009) / 2.009

= 2.229

สรุปได้ว่า จากการทดลองครั้งนี้ มี Antimicrobial index เท่ากับ 2.229

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

1. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์

1.1 วิเคราะห์ความชื้น ด้วยวิธี Gravimetric **(AOAC, 1995)**

วิธีการ

1.1.1 อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่งโมง แล้วนะออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

1.1.2 กระทำซ้ำเช่นข้อ 1 จนได้ผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

1.1.3 สำหรับตัวอย่าง (ฟิล์ม HPMC, ขนมปังแผ่นสไลด์, ปูอัดแท่ง) สุ่มตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักที่ 1-3 กรัม ลงในภาชนะหาความชื้น นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีก และกระทำซ้ำเช่นเดิมจนได้จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ และหลังอบ}}{\text{ตัวอย่างน้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

1.2 การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs) (Linsley *et al.*, 2005)

สารเคมี

1. TBA ร้อยละ 0.375
2. Trichloroacetic acid ร้อยละ 15
3. NaCl 0.25 N

วิธีการ

1.2.1 เติมตัวอย่าง 0.5 กรัม ในสารละลาย TBA ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร

1.2.2 ต้มสารละลายผสมในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที

1.2.3 ทำให้เย็นลงโดยน้ำไหล

1.2.4 เหวี่ยงแยกสารละลายที่ความเร็วรอบ 3600 xg เป็นเวลา 20 นาที

1.2.5 วัดค่า OD ที่ 532 นาโนเมตร

1.2.6 คำนวณปริมาณ TBARS (thiobarbituric reactive substances) ในรูปของ malondialdehyde โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ไมโครกรัม) รายงานค่า TBARS เป็น mg malondialdehyde / kg sample

2. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม (Physical properties)

2.1 ความหนาของฟิล์ม (Film Thickness)

2.1.1 วัดความหนาของฟิล์มด้วยเครื่องไมโครมิเตอร์แบบดิจิตอล สุ่มวัด 5 ตำแหน่ง บนชิ้นทดสอบโดยแต่ละชุดมีค่าไม่ต่างกัน 0.01 มิลลิเมตร

2.1.2 หาค่าเฉลี่ยของความหนาของฟิล์มชิ้นทดสอบแต่ละชิ้น

2.2 การทดสอบความต้านทานแรงดึงขาด และการยืดตัวเมื่อขาด (Tensile Strength and Elongation at Break; ε) ASTM D 882-91

2.2.1 เลือกตัวอย่างที่ไม่มีรายขาด พับ หรือตำหนิอื่นๆ

2.2.2 ตัดตัวอย่าง 15 ชิ้น กว้าง x ยาว เท่ากับ 2.54 x 12 เซนติเมตร และวัดความหนาแล้วหาค่าเฉลี่ย

2.2.3 เริ่มต้นจับชิ้นทดสอบด้วยปากจับ (grip separation) และดึงชิ้นทดสอบด้วยด้วยอัตราเร็ว 50 มิลลิเมตรต่อนาที

2.2.4 ค่าความต้านทานแรงดึงขาดคำนวณได้จากค่าแรงดึงสูงสุดที่ตัวอย่างได้รับ ณ จุดขาด และร้อยละการยืดตัวเมื่อขาด คำนวณได้จาก

$$\% \varepsilon = 100 \times (d_{after} - d_{before})/d_{before}$$

d คือ ระยะห่างของตัวอย่างที่ปากจับจับไว้ก่อนหรือหลังการขาดของตัวอย่าง

2.3 การวัดการซึมผ่านไอน้ำ (Water vapor permeability; WVP) ASTM E96-92

2.3.1 ตัดฟิล์มตัวอย่าง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร อย่างละ 4 แผ่น และวัดความหนาของฟิล์มแต่ละแผ่นแผ่นละ 5 จุด

2.3.2 ชั่งสารดูดความชื้นประมาณ 20 กรัม ใส่ลงใน test disc (ถ้วยสแตนเลส)

2.3.3 นำฟิล์มพลาสติกที่ได้มาวางบริเวณปากถ้วยแล้วปิดฝาและปิดสกรูให้แน่น

2.3.4 นำถ้วยสแตนเลสที่ได้ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยทำการชั่งน้ำหนักถ้วยทุกๆ 3 ชั่วโมง

2.3.5 นำผลการเพิ่งขึ้นของน้ำหนักมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเพื่อนำมาคำนวณอัตราการซึมผ่านไอน้ำ ดังนี้

Water vapor transmission rate (WVTR) = (weight) / (time* area) : (g/m^2 . day)

Water vapor permeability (WVP) = (weight thickness) / (time*area)(delta P) : (g.mm/m2.day.kPa)

Pressure (kPa) calculated from :

ตัวอย่าง: วัดค่า RH ร้อยละ 50 ที่ 25 องศาเซลเซียส (77 อาศาฟาเรนไฮต์) อ่านค่า saturated pressure (P_{sat}) จาก psychometric chart ได้ 0.46 $Ib/inch^2$ ดังนั้น

ที่ 50% RH ของ vapor pressure (P_v) คือ

$0.5 = P_v / 0.46$ ($RH = P_v / P_{sat}$)

$P_v = (0.46)*(0.5)$

$= 0.23$ $Ib/inch^2$

14.7 $Ib/inch^2$ = 101.3 kPa = Psi.

ถ้า 0.23 $Ib/inch^2$ = (101.3 kPa)* (0.23 $Ib/inch^2$) / (14.7 $Ib/inch^2$)

= 1.58 kPa

ที่ 0 % RH; $0 = P_v / 0.46$

$P_v = 0 / 0.46$

$P_v = 0$ $Ib/inch^2$

Delta P = 1.58 - 0 kPa

2.4 ค่าการละลายของฟิล์ม (Film Solubility)

2.4.1 ตัดตัวอย่างฟิล์ม ชิ้นละ 20 มิลลิเมตร x 20 มิลลิเมตร ทำให้แห้งที่ด้วย vacuum oven ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในตู้อบสุญญากาศ (3.4 kPa) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยให้น้ำหนักของตัวอย่างคงที่ แตกต่างกันไม่เกิน 0.0001 กรัม

2.4.2 ใส่ตัวอย่างลงในหลอดฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร เทสารละลายโซเดียมเป็นโซเอต ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

2.4.3 ปิดฝาหลอดแล้วนำไปเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

2.4.4 แยกสารละลายและฟิล์มตัวอย่างจากหลอดฝาเกลียว ผ่านลงในกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatmam No.1) โดยใช้น้ำกลั่นกลั่วหากมีเศษตัวอย่างติดอยู่

2.4.5 นำกระดาษกรองที่กรองตัวอย่างจากข้อ 4 ไปอบให้แห้ง ด้วยเครื่อง vacuum oven เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4.6 ทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ ต่อ 1 ตัวอย่าง

2.4.7 คำนวณ ค่าการละลายของฟิล์มจาก

$$\%\,\mathrm{FS\,(db)} = \frac{(\text{film mass before test - film mass after test})}{\text{film mass before test}} \times 100\%$$

2.5 ค่าสีของฟิล์ม (color)

2.5.1 ตัดตัวอย่างฟิล์ม ชิ้นละ 10 เซนติเมตร x 10 เซนติเมตร

2.5.2 ทำการค่าคาริเบลตด้วย standard plate (calibration plate CX0384, L*= 92.82, a*= -1.24 และ b*= 0.5)

2.5.3 วัดค่าสีของฟิล์มตัวอย่าง ด้วยระบบ CIE colorimeter ได้แก่ L*, a* และ b* [(L* = 0 (black) ถึง 100 (white), a* = -60 (green) ถึง +60 (red) และ b* = -60 (blue) ถึง +60 (yellow)]

2.5.4 คำนวณหาค่า Total color difference (ΔE^*_{ab}), hue angle (H) และ chroma (C) จากสมการ

$\Delta L^* = L^*_{sample} - L^*_{standard}$, $\Delta a^* = a^*_{sample} - a^*_{standard}$, $\Delta b^* = b^*_{sample} - b^*_{standard}$

$\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$

$C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$

$H = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ when $a^* > 0$ and $b^* > 0$

$H = 180^o + \tan^{-1} (b^*/a^*)$ when $a^* < 0$

$H = 360^o + \tan^{-1} (b^*/a^*)$ when $a^* > 0$ and $b^* < 0$

หมายเหตุ ให้ปรับสภาวะของฟิล์มก่อนการทดสอบ ที่สภาวะ 60% RH and 27 ± 2^oC for 72 h.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนนทรีย์ เกียรติสมบูรณ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5011020015

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนการพัฒนาสาขาอุตสาหกรรมเกษตรสู่ความเป็นเลิศ จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Kiatsomboon, N., Chantachum. S. and Bourtoom. T. 2009. Antimicrobial Activity and Properties of Edible Films Incorporated with Encapsulated Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) oil. In Proceedings of The 10th Annual Conference of Thai Society of Agricultural Engineering. Suranaree University of Technology Thailand. 1-3 April 2009. P. 235-238. (Poster presentation)