

การทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากมะกรูดโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอย  
สำหรับต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลาสดอบ

นางสาววรรณา ปานเกต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2554  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

MICROENCAPSULATION OF KAFFIR LIME EXTRACT USING SPRAY DRYING  
FOR ANTIMICROBIAL IN FRESH FISH PASTE PRODUCT

Miss Warunya Panket

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากมะกรูดโดยการทำแห้ง  
แบบพ่นฝอยสำหรับด้านจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์พลาสติก

โดย

นางสาววรรณญา ปานเกตุ

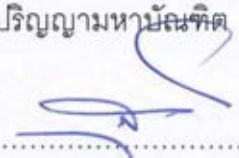
สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

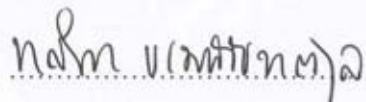
อาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

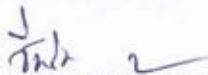
  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(อาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

  
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพล ภูมิสะอาด)

วิทยุณา ปานเกต : การทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากมะกรูดโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอย สำหรับด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลาสดบด (MICROENCAPSULATION OF KAFFIR LIME EXTRACT USING SPRAY DRYING FOR ANTIMICROBIAL IN FRESH FISH PASTE PRODUCT) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร.ชาลีตา บรมพิชัยชาติกุล, 167 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อใช้เป็นสารด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารสด ในขั้นตอนแรกเป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันมะกรูดและการทดสอบฤทธิ์การด้านจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันมะกรูดมีองค์ประกอบหลักคือ  $\beta$ -pinene และ limonene และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) อยู่ในช่วงร้อยละ 0.4-0.7 โดยน้ำหนัก และเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) เฉลี่ยอยู่ในช่วง 9.53-23.73 มิลลิเมตร ซึ่งน้ำมันมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* และ *Pseudomonas fluorescens* ตามลำดับ ขั้นตอนที่สอง ศึกษาการทำไมโครแคปซูลด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารเคลือบ 2 ชนิดคือ ผงบุกกลูโคแมนแนน (KGM) และผงบุกกลูโคแมนแนนผสมกับกัมอะราบิก (KGM-GA) พบว่าเมื่อใช้ผงบุกผสมกัมอะราบิก (KGM-GA) มี % total oil, % inner oil และปริมาณสารสำคัญบางชนิด เช่น terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -terpineol เหลืออยู่มากกว่าการใช้ KGM เพียงชนิดเดียว จากนั้นแปรอุณหภูมิลมร้อนเข้าการอบแห้งที่ 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิอากาศร้อนเข้า 180 องศาเซลเซียส ไมโครแคปซูลที่ได้จากภาวะนี้มีปริมาณ % total oil, % inner oil และความสามารถในยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าภาวะอื่น ดังนั้นในขั้นตอนที่สามนำไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดที่ผลิตจากสภาวะที่เลือกในขั้นตอนที่สองไปใช้ร่วมกับเนื้อปลาสดโดยใช้ไมโครแคปซูลที่มีปริมาณน้ำมันมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และ 1 โดยน้ำหนัก คลุกผสมกับเนื้อปลาสด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส พบว่าเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูด สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลาสดได้มากกว่า 6 วัน และมากกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ไม่เกิน 9 วัน และความเข้มข้นของน้ำมันมะกรูดทั้งสองสภาวะให้ผลวิเคราะห์ทางด้านเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของเนื้อปลาสดไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แต่ให้ผลแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จากนั้นในขั้นตอนสุดท้าย ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำมันมะกรูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* ได้ เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลเป็นเวลา 14 วัน, *Salmonella Typhimurium* เมื่อเก็บไมโครแคปซูลไว้เป็นเวลา 21 วัน, *Staphylococcus aureus* เมื่อเก็บไมโครแคปซูลไว้เป็นเวลา 79 วัน และ *Escherichia coli* เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลไว้เป็นเวลา 94 วัน ตามลำดับที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังคงมีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้ เมื่อเก็บนานมากกว่า 3 เดือน ทั้ง 3 อุณหภูมิที่เก็บรักษา และเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาสั้น ไมโครแคปซูลจะมีค่า  $L^*$  ลดลง และมีค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต..... วิทยุณา ปานเกต  
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..... น.ส.ท. บ. (อ.พิชญ์ชาติกุล)  
ปีการศึกษา.....2554.....



## 5272521023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : MICROENCAPSULATION / KONJAC GLUCOMANNAN / KAFFIR LIME / SPRAY DRYING  
WARUNYA PANKET : MICROENCAPSULATION OF KAFFIR LIME EXTRACT USING SPRAY  
DRYING FOR ANTIMICROBIAL IN FRESH FISH PASTE PRODUCT. ADVISOR: CHALEEDA  
BAROMPICHAICHARTKUL, Ph.D., 167 pp.

This research is aimed to study a suitable condition to encapsulate Kaffir lime oil using spray drying to use as antimicrobial substances in food products. In the first part, Kaffir lime oil components and its antimicrobial activity was determined. The results showed that the main components in Kaffir lime oil were  $\beta$ -pinene and limonene. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values of Kaffir lime oil was in the range of 0.4 to 0.7 % w/w and clear zone of inhibition was in the range of 9.53-23.73 mm. *Vibrio cholerae* was sensitive to Kaffir lime oil more than *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* and *Pseudomonas fluorescens*, respectively. In the second part, microencapsulation of Kaffir lime oil was produced by spray drying using 2 coating materials namely Konjac glucomannan (KGM) and Konjac glucomannan mixed with Gum arabic (KGM-GA). The results showed that KGM-GA showed ability to retain %total oil, %inner oil and amount of active compounds such as terpinene-4-ol and  $\alpha$ -terpineol more than using just KGM alone. The suitable condition of spray drying was studied at different air inlet temperatures (160, 180 and 200 °C). The results showed that spray drying at air inlet temperature of 180 °C yielded the highest %total oil, %inner oil and its ability to inhibit bacteria better than other conditions. In the third part, Microencapsules of Kaffir lime oil (0.8 and 1 % w/w) were mixed with fresh fish paste and stored at  $4\pm 1^\circ\text{C}$ . The results showed that they could extend the shelf life of fish paste more than 6 days over the control but not exceed 9 days. In addition, physical, chemical and microbiological properties of fish paste mixed with Kaffir lime oil microcapsules were not significantly different ( $p > 0.05$ ). However, they were different from control significantly ( $p \leq 0.05$ ). In the final part, changes of the Kaffir lime oil microencapsules during storage were studied at 35, 45 and 55 °C for 3 months. Kaffir lime oil that extracted from the microcapsules could inhibit the bacteria *Pseudomonas fluorescens* for 14 days, *Salmonella Typhimurium* for 21 days, *Staphylococcus aureus* for 79 days and *Escherichia coli* for 94 days during storage at 35 °C. Furthermore, it still had ability to inhibit *Vibrio cholerae* during 3 months at 3 storage temperatures. For  $L^*$  value of the powder decrease, while  $b^*$  value increased significantly ( $p \leq 0.05$ ).

Department : .....Food Technology.....

Student's Signature ..... Warunya Panket .....

Field of Study : .....Food Technology.....

Advisor's Signature ..... Chaleeda Barompichaichartkul .....

Academic Year : .....2011.....

## กิตติกรรมประกาศ

ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณในความกรุณาและความช่วยเหลือจากอาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทาง การแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆที่เกิดขึ้นได้เป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาในการทำวิจัยที่ผ่านมา รวมทั้งขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พาสวดี ประทีปะเสน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพล ภูมิสะอาด ที่กรุณาเสียสละเวลามาร่วมในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้ความกรุณาเสนอแนะความคิดเห็น และคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์สำหรับในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ Dr inż. Janusz Adamiec และ prof. dr hab. inż. Ireneusz Zbiciński รวมทั้งนักศึกษาปริญญาโทและเอก และผู้ช่วยอาจารย์ Halina Marczak Faculty of Process and Environmental Engineering, Technical University of Lodz ประเทศโปแลนด์ ที่ช่วยสนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษา ช่วยชี้แนะ และให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ จนสามารถประสบผลสำเร็จในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยให้ความรู้ต่างๆมากมายสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับงานวิจัย ขอขอบพระคุณบริษัท จัมโบ้ อคาเซีย จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์กัมอะราบิกที่ใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำและกำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้ได้เป็นอย่างดี ตลอดจนนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้องและเพื่อนสนิท ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ตลอดมาจนสามารถประสบความสำเร็จจุล่งในการทำวิจัยครั้งนี้

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	4
2.1 น้ำมันหอมระเหย (essential oil).....	4
2.2 มะกรูด.....	7
2.3 ไมโครเอนแคปซูลเลชัน (microencapsulation).....	10
2.4 การทำไมโครแคปซูลโดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย.....	12
2.5 สารเคลือบ (wall).....	17
2.6 ผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบด.....	29
2.7 การเปลี่ยนแปลงผลิตภัณฑ์อาหารผงในระหว่างการเก็บรักษา.....	33
บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย.....	36
3.1 วัตถุประสงค์ จุลินทรีย์ อุปกรณ์และสารเคมี.....	36
3.2 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	39
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง.....	47
4.1 การประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกรูด.....	47
4.2 การศึกษากระบวนการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดโดยใช้ เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย .....	52
4.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้น ของน้ำมันมะกรูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักในระหว่าง การเก็บรักษา.....	71

4.4 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาของไมโครแคปซูล น้ำมันหอมระเหยมะกรูด.....	83
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	95
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	95
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	96
รายการอ้างอิง.....	98
ภาคผนวก.....	110
ภาคผนวก ก.....	111
ภาคผนวก ข.....	121
ภาคผนวก ค.....	124
ภาคผนวก ง.....	127
ภาคผนวก จ.....	134
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	167



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด.....	8
2.2	องค์ประกอบทางเคมีของกัมอะราบิกจากต้น <i>Acacia senegal</i> และ <i>Acacia seyal</i> .....	21
2.3	องค์ประกอบของแป้งบุกทางการค้า.....	26
3.1	อัตราส่วนของสารละลายอิมัลชันก่อนนำไปอบแห้งแบบพ่นฝอย.....	42
4.1	ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution และเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกรูดและยาปฏิชีวนะพื้นฐานด้วยวิธี disc diffusion (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร).....	50
4.2	ปริมาณสาร $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไม้โครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID.....	54
4.3	ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงไม้โครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส.....	56
4.4	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากสารละลายไม้โครแคปซูลน้ำมันมะกรูด (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร).....	59
4.5	ปริมาณสาร $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไม้โครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID.....	60
4.6	ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของไม้โครแคปซูลน้ำมันมะกรูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ.....	62
4.7	ขนาดอนุภาคของผงไม้โครแคปซูลน้ำมันมะกรูด.....	64
4.8	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากสารละลายไม้โครแคปซูลน้ำมันมะกรูดที่ใช้สารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร).....	70
4.9	ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution ของไม้โครแคปซูลน้ำมันมะกรูด.....	71

ตารางที่	หน้า
4.10 จำนวนจุลินทรีย์ Escherichia coli ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	74
4.11 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อปลาบดจากวันที่เริ่มต้นของการเก็บรักษา (วันที่0) จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่12).....	78
4.12 ค่าเฉลี่ย $L^*$ ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	79
4.13 ค่าเฉลี่ย $a^*$ ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	80
4.14 ค่าเฉลี่ย $b^*$ ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	81
ง.1 จำนวนจุลินทรีย์ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	128
ง.2 ค่าสมบัติต่างๆของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	129
ง.3 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก.....	130
ง.4 สมบัติต่างๆ ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	131
ง.5 ค่าสีในระบบ CIE $L^*a^*b^*$ ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	132

ตารางที่	หน้า
ง.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ น้ำมันมะกูดจากไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	133
จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดและยาปฏิชีวนะพื้นฐานด้วยวิธี disc diffusion.....	135
จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสาร $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นพ่นฝอยอุณหภูมิ อากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID .....	135
จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและ เคมีของผงไมโครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส.....	136
จ.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสาร $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านการ อบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID.....	137
จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและ เคมีของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศ ขาเข้าการอบแห้งต่างๆ.....	137
จ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ ไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด จากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการ อบแห้งต่างๆ.....	139
จ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ของเนือปลาดและเนือปลาดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน มะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	139
จ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> ของเนือปลาดและเนือปลาดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน มะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	140

๑.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ ระเหยได้ (TVB-N) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความ เข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บ รักษา 12 วัน.....	141
๑.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณความชื้นของเนื้อปลาบดและ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	142
๑.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%storage loss) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน มะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	142
๑.12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย $L^*$ ของเนื้อปลาบด และ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	143
๑.13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย $a^*$ ของเนื้อปลาบด และ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	144
๑.14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย $b^*$ ของเนื้อปลาบด และ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	145
๑.15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อปลาบดและ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก .....	146
๑.16	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บ รักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	146
๑.17	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	147
๑.18	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	148



ตารางที่	หน้า
จ.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียส.....	162
จ.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ เก็บรักษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	163
จ.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Vibrio cholerae</i> ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จาก ไมโครแคปซูลที่เก็บ รักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	165



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย.....	6
2.2 ลักษณะของไมโครแคปซูล ที่ประกอบด้วยสารเคลือบ เรียกว่าวอลล์ (wall) หรือเชลล์ (shell) และสารสำคัญที่ถูกกักเก็บ เรียกว่าแกน (core).....	10
2.3 ไมโครแคปซูลรูปแบบต่างๆ.....	10
2.4 การทำไมโครแคปซูลโดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย.....	12
2.5 ทิศทางการเคลื่อนที่ของละอองของเหลวและอากาศร้อนในถังอบแห้งแบบต่างๆ.....	15
2.6 แบบจำลองขั้นตอนการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย.....	16
2.7 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของแกมมาอะราบิก.....	21
2.8 รูปแบบการจัดเรียงตัวของน้ำตาลดี-แมนโนส (M) และดี-กลูโคส (G) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4-ไกลโคซิดิก (-) ในโมเลกุลกลูโคแมนแนน.....	25
2.9 โครงสร้างโมเลกุลของกลูโคแมนแนน.....	25
4.1 วงใส (clear zone) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูด โดยวิธี disc diffusion ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....	49
4.2 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องGC-MS.....	51
4.3 โครงสร้างขององค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด.....	51
4.4 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลจากสารเคลือบบุกเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องGC-MS.....	54
4.5 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID.....	55
4.6 โครงสร้างแบบจำลอง wattle-blossom model ของแกมมาอะราบิก ซึ่งส่วนที่เป็นกลุ่ม arabinogalactan block จะถูกเชื่อมต่อกันด้วยสายโพลีเปปไทด์.....	57
4.7 ทิศทางการจัดเรียงตัวของแกมมาอะราบิกระหว่างผิวหน้าของน้ำกับน้ำมัน.....	58
4.8 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM-GA เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ .....	61
4.9 ภาพถ่ายจาก scanning electron microscope (SEM) แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลที่กำลังขยาย 500 เท่า .....	64

ภาพที่	หน้า
4.10 ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะไมโครแคปซูลที่ถูกทำให้แตกออก ที่กำลังขยาย 2,500-3,000 เท่า.....	65
4.11 ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะผนังภายในของไมโครแคปซูลที่ถูกทำให้แตกออก ที่กำลังขยาย 3,000-8,000 เท่า.....	66
4.12 วงใส (clear zone) ของไมโครแคปซูล ด้วยวิธี disc diffusion ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....	69
4.13 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	72
4.14 จำนวนจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	73
4.15 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (TVB-N) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	75
4.16 ปริมาณความชื้นของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	76
4.17 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%storage loss) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน.....	77
4.18 การยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก.....	82
4.19 ค่า water activity ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	83
4.20 ค่าร้อยละความชื้นของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	84

ภาพที่	หน้า
4.21 ค่าการละลายของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	85
4.22 ค่า $L^*$ value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	86
4.23 ค่า $a^*$ value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	87
4.24 ค่า $b^*$ value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	87
4.25 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จาก ไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ <i>Salmonella Typhimurium</i> และ <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	88
4.26 เส้นแวนโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	89
4.27 เส้นแวนโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i> .....	90
4.28 เส้นแวนโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ <i>Vibrio cholerae</i> .....	91
4.29 ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะไมโครแคปซูลเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่กำลังขยาย 500 และ 3,000 เท่า.....	93

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันสมุนไพรไทยเป็นที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษาค้นคว้ากันมากขึ้น น้ำมันหอมระเหยเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่ได้จากการสกัดส่วนต่างๆของพืชเหล่านี้ ให้กลิ่นหอมเฉพาะตัว มีสรรพคุณช่วยบำบัดโรค และมีการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆเช่น อาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ เป็นต้น มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านของไทย มีราคาค่อนข้างถูกและหาได้ง่าย นิยมใช้แต่งกลิ่นหรือดับกลิ่นคาวในอาหาร นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรคได้ด้วย ใบและผิวของผลมะกรูดมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีงานวิจัยพบว่ามีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย แต่เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีความไวต่อสิ่งแวดล้อม สามารถระเหยและเสื่อมสลายไปได้ง่าย จึงไม่สะดวกในการจัดการ การขนส่งและการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

กระบวนการเอนแคปซูเลชัน (encapsulation) เป็นการเคลือบหรือห่อหุ้มผลิตภัณฑ์สารสำคัญที่ต้องการกักเก็บไว้ด้วยสารชนิดอื่น ซึ่งช่วยป้องกันผลกระทบจากสภาพแวดล้อมภายนอก พร้อมทั้งสามารถควบคุมและชะลอการปลดปล่อยสารออกมาตามระยะเวลาที่ต้องการเพื่อสามารถนำไปใช้เป็นวัตถุเติมในการแปรรูปและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจในการนำมาใช้เก็บรักษาสารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยไว้ให้คงอยู่นานขึ้น สะดวกต่อการจัดการผลิตภัณฑ์ และสามารถนำไปใช้ในรูปแบบที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมากวิธีหนึ่งในการทำไมโครแคปซูล เนื่องจากต้นทุนการผลิตต่ำ กำลังการผลิตสูง และใช้ระยะเวลาสั้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่ศึกษากระบวนการเอนแคปซูเลชันโดยใช้สารพอลิเมอร์จากคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ เช่น ไฮโดรคอลลอยด์วุ้น โมลโทเดกซ์ทรีน สตาร์ชดัดแปร และกัมอะราบิก เป็นสารเคลือบผลิตภัณฑ์กัมอะราบิกเป็นสารเคลือบที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไมโครแคปซูลสารให้กลิ่นรสเนื่องจากละลายน้ำได้ง่าย มีความหนืดต่ำ และมีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี แต่เนื่องจาก

กัมมะระบิกมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงมีการศึกษาหาสารตัวอื่นมาใช้ทดแทนหรือเป็นส่วนผสมเพิ่มเข้าไป เพื่อพัฒนาลักษณะไมโครแคปซูลให้ดีขึ้น และลดปริมาณการใช้กัมมะระบิกลง

บุกเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติชนิดหนึ่งซึ่งมีสารกลูโคแมนแนนเป็นองค์ประกอบ มีคุณสมบัติเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์สามารถใช้เป็นสารเคลือบหรือห่อหุ้มของเหลว เมื่อละลายน้ำได้สารละลายที่มีความข้นหนืด เป็นสารให้ความคงตัว (stabilizer) ได้ จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากสารกลูโคแมนแนนสกัดจากบุกเป็นสารเคลือบเพื่อกักเก็บสารสำคัญไว้ งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษากระบวนการทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากมะกรูด โดยใช้สารกลูโคแมนแนนสกัดจากบุกเป็นตัวกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์ในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด โดยการอบแห้งแบบพ่นฝอย เก็บรักษาในสภาพเป็นผง และนำไปประยุกต์ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ปลาสด เพื่อเป็นแนวทางพัฒนาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในกระบวนการแปรรูป ชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร ทดแทนวัตถุเจือปนอาหารสังเคราะห์ อีกทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ และใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

### สมมุติฐานงานวิจัย

การทำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูด โดยใช้ผงบุกเป็นสารเคลือบเพื่อกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์ในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด สามารถนำไปใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร ช่วยชะลอการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษากระบวนการเอนแคปซูลเสขินสารสกัดจากมะกรูดด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่สภาวะต่างๆ โดยใช้บุกและกัมมะระบิกเป็นสารเคลือบ
2. ศึกษาสมบัติทางเคมี กายภาพและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลที่ได้
3. ทดสอบและนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ปลาสดบด เพื่อชะลอการเสื่อมเสียเนื่องจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์
4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดในระหว่างการเก็บรักษา

### ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันมะกูดในการยับยั้งจุลินทรีย์ 5 ชนิด ได้แก่ *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas fluorescens* โดยวิธี agar dilution และ disc diffusion
2. ศึกษากระบวนการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ผงบุกและกัมอะราบิกเป็นสารเคลือบ
3. ศึกษาสมบัติทางเคมี กายภาพและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด ด้วยวิธี disc diffusion
4. ศึกษาผลของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด เมื่อนำไปใช้คลุกผสมกับเนื้อปลาสดและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4\pm 1$  องศาเซลเซียส
5. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดในระหว่างการเก็บรักษาระยะเวลา 3 เดือน



## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 น้ำมันหอมระเหย (essential oil)

น้ำมันหอมระเหย คือ สารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มักมีกลิ่นหอมและระเหยง่าย สามารถพบได้ในพืชบางวงศ์ โดยพืชหอมจะมีเซลล์พิเศษ ต่อมหรือท่อสร้างเพื่อกักเก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ สามารถพบได้ตามส่วนต่างๆของพืชหอม ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด และเนื้อไม้ โดยพืชจะสร้างขึ้นมาเพื่อล่อแมลงให้เกิดการผสมเกสร หรือป้องกันตนเองจากแมลงศัตรูพืช เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราก่อโรคต่างๆ พืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยมีกระจายอยู่ในตระกูลพืชต่างๆ เช่น พืชตระกูลส้ม (Rutaceae) ตระกูลขิง (Zingiberaceae) เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยถูกนำมาใช้ประโยชน์กันมาเป็นระยะเวลาอันยาวนานแล้ว และพัฒนาต่อมาเรื่อยๆจนถึงในระดับอุตสาหกรรม ในปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างมาก มีการนำไปใช้เพื่อแต่งกลิ่นของผลิตภัณฑ์อาหาร ใช้เป็นสารให้ความหอมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรบำบัดและสปา นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ต่างๆได้อีกด้วย น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนั้นมีราคาค่อนข้างสูงกว่าสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาเนื่องจากการสกัดค่อนข้างยากและได้ปริมาณน้อย และมีลักษณะกลิ่นเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว รวมทั้งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยและสร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภคมากกว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้น ที่ผ่านมามีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยในด้านต่างๆ มากขึ้น เช่น เทคโนโลยีการผลิต การแยกองค์ประกอบที่สำคัญ และสรรพคุณของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ (ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ, 2548)

##### 2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

ในน้ำมันหอมระเหยชนิดหนึ่งจะประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนจำนวนมากตั้งแต่ 50-500 ชนิด ผสมผสานกันมากน้อยเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมเฉพาะตัว ซึ่งจะมีผลต่อกลิ่นและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของพืชชนิดนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นสารจำพวกเทอร์พีน (terpene) โครงสร้างเป็นเส้นตรงหรือวงแหวน ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene) ตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไป

สูตรโครงสร้างโดยทั่วไป  $(C_5H_8)_n$  ซึ่งบางครั้งอาจเรียกรวมสารประกอบที่ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน โดยไม่คำนึงถึงหมู่ฟังก์ชันนัล (functional group) ว่าเทอร์พีนอยด์ ส่วนเทอร์พีนจะใช้เรียกกลุ่มพวกที่เป็นไฮโดรคาร์บอนมากกว่า (รัตน อินทรานุปกรณ์, 2547) สารที่พบในน้ำมันหอมระเหยจะเป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ส่วนใหญ่จะเป็นพวกโมโนเทอร์พีนและเซสควิเทอร์พีน นิธิยา รัตนานนท์ (2551), ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ (2548) และ Bakkali และคณะ (2008) ได้แบ่งกลุ่มเทอร์พีนอยด์ที่พบมากในน้ำมันหอมระเหยไว้ดังนี้

#### 2.1.1.1 โมโนเทอร์พีน (monoterpenes) ประกอบด้วย 2 หน่วยไอโซพรีน (C10)

- ไฮโดรคาร์บอน เช่น limonene, myrcene, pinenes, sabinene
- แอลดีไฮด์ เช่น geranial, neral, citronellal, phellandral
- แอลกอฮอล์ เช่น geraniol, linalool, menthol,  $\alpha$ -terpineol, carveol
- คีโตน เช่น menthone, carvone, pulegone, camphor, thuyone
- เอสเทอร์ เช่น linalyl acetate, menthyl,  $\alpha$ -terpinyl acetate
- อีเทอร์ เช่น 1,8-cineole, menthofurane

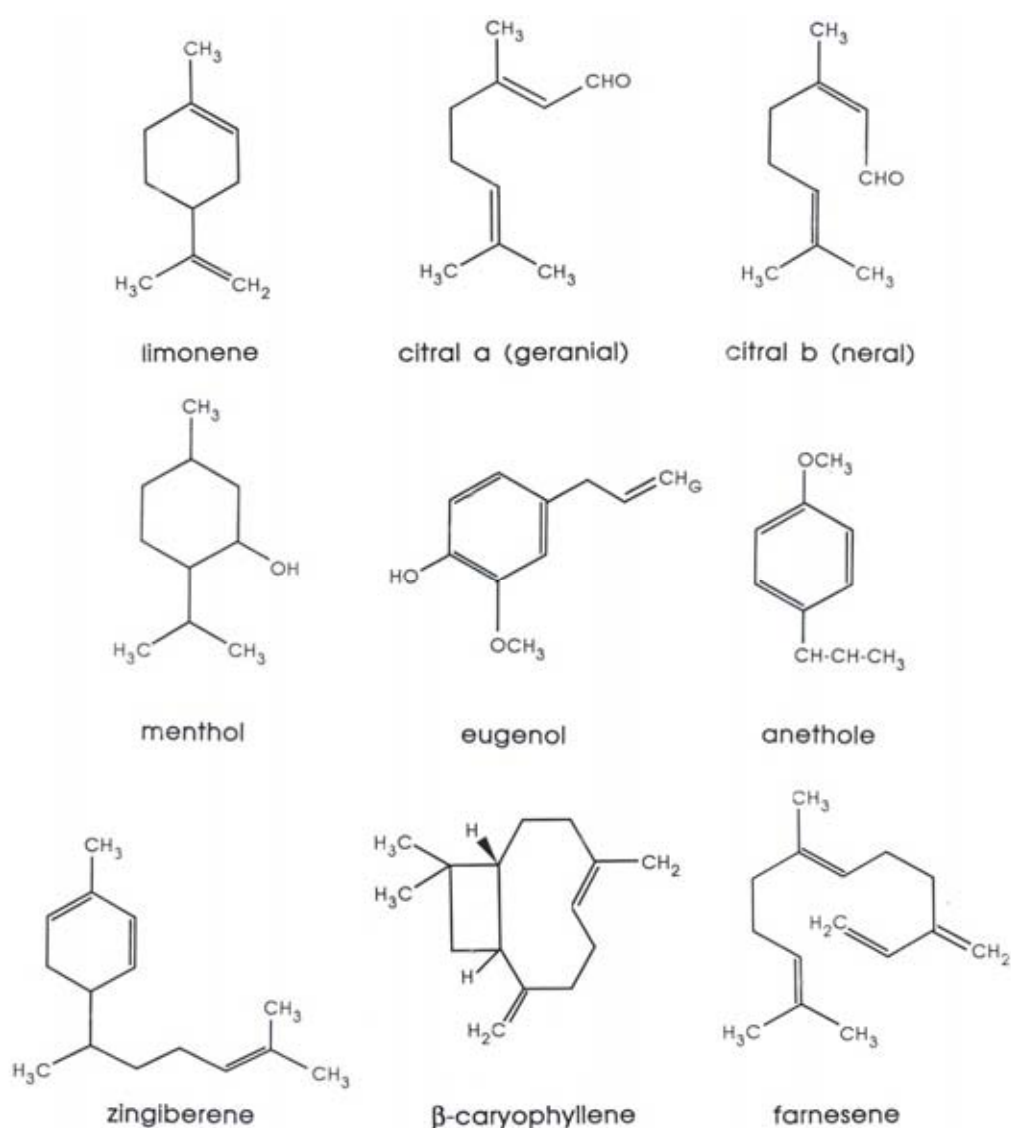
2.1.1.2 เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) ประกอบด้วย 3 หน่วยไอโซพรีน (C15) เช่น caryophyllene, zingiberene, farnesol, azulene และ farnesene เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบสารประกอบจำพวกฟีนิลโพรเพน (phenylpropenes) หรือฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นวงอะโรมาติก แต่จะพบได้น้อยกว่าสารกลุ่มเทอร์พีน ตัวอย่างเช่น eugenol และ anethole

### 2.1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันและกลิ่นหอมออกจากพืชมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของพืชที่นำมาสกัด วิธีที่นำมาใช้สกัดทั่วไป ได้แก่ การกลั่นโดยใช้ น้ำ (water distillation) การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ (steam distillation) การกลั่นที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำต่ำ (hydrodiffusion) การบีบอัด (expression or cold pressing) การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage) และการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent extraction) ซึ่งผลผลิตที่สกัดได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น แหล่งที่มาของพืช อายุ ฤดูกาลของพืช เทคนิควิธีการกลั่นและเวลาที่ใช้ในการกลั่น เป็นต้น

(จำรัส เซ็นนิล และพิศสม มะลิสุวรรณ, 2546; ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ, 2548) น้ำมันหอมระเหยสามารถระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ สกัดออกมาใหม่ๆ จะไม่มีสีหรือมีสีอ่อน เมื่อสัมผัสแสง อากาศ หรือเก็บไว้นานอาจถูกออกซิไดซ์ทำให้มีสีเข้มขึ้นและระเหยสูญเสียไปได้ จึงต้องเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิท (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)



ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย  
ที่มา : ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ (2548)

## 2.2 มะกรูด

มะกรูด หรือชื่อตามท้องถิ่นคือ ส้มกรูด มะขูด มะหูด มะกูด มะขุน โก๋ร้ยเขียว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus hystrix* DC. เป็นพืชในตระกูลส้ม (Rutaceae) ชื่อภาษาอังกฤษ เช่น Kaffir lime, Leech lime, Porcupine orange, Mauritus papeda มะกรูดเป็นพืชพื้นเมืองของเอเชียแถบอบอุ่นและเขตร้อน ในประเทศไทยปลูกไว้ทั่วไปตามบ้านและสวน มะกรูดมีลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ตามกิ่งและลำต้นมีหนามแหลม ใบหนาสีเขียว กลมมน มีลักษณะคอดกลางใบแบ่งออกเป็นสองส่วน ดอกมีสีขาวออกเป็นกระจุก 3-5 ดอก ผลค่อนข้างกลมมีขนาดใหญ่กว่าผลมะนาว ผลเป็นสีเขียวเมื่อแก่จัดจะเป็นสีเหลือง เปลือกและผิวของผลขรุขระและหนา มีกลิ่นหอมและมีน้ำมันหอมระเหยอยู่เป็นจำนวนมาก เนื้อภายในเป็นสีเหลืองอ่อนและมีน้ำรสเปรี้ยว ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ตอนกิ่งหรือทาบกิ่ง ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์คือ ใบ ผิวและน้ำของผลมะกรูด มะกรูดเป็นเครื่องเทศที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการปรุงแต่งกลิ่นรส ช่วยดับกลิ่นคาวของอาหาร ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงและอาหารหลายชนิด เช่น ต้มยำ แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน ห่อหมกปลา ทอดมันปลากราย นอกจากนี้แล้วยังนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหอมและเครื่องสำอางค์ เช่น เป็นส่วนผสมของแชมพู ครีမ် สบู่ มะกรูดยังมีสรรพคุณทางยาและเป็นส่วนผสมของยาต่างๆหลายชนิด เช่น ใช้เป็นยาบำรุงกำลัง ยากระตุ้นการหลังของเอนไซม์ ฟอกเลือดบำรุงโลหิตสตรี ให้เป็นยาขับลมในลำไส้ เป็นส่วนผสมของยาลม แก้จุกเสียด และมีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระอีกด้วย (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527; ศิริเพ็ญ จริเกษม และคณะ, 2548)

### 2.2.1 องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

สารเคมีสำคัญที่พบในมะกรูดอยู่ในส่วนน้ำมันหอมระเหย ซึ่งพบในส่วนใบและผิวของผลมะกรูด เมื่อนำมะกรูดมากลั่นด้วยไอน้ำผิวมะกรูดจะให้ น้ำมันหอมระเหย 4% ส่วนที่ใบมะกรูดจะให้ น้ำมันหอมระเหย 0.08% ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบและผิวมะกรูดจะแตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.1 น้ำมันหอมระเหยที่ใบมะกรูดส่วนใหญ่ประกอบด้วย citronellal 65.4% ส่วนที่ผิวมะกรูดองค์ประกอบหลักคือ  $\beta$ -pinene 30.6%, limonene 29.2%, sabinene 22.6% (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527; นิจศิริ เว็องรังษี, 2542; Lawrence *et al.*, 1971)

ตารางที่ 2.1 ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด

สารเคมี	ปริมาณร้อยละ	
	ผิวมะกรูด	ใบมะกรูด
$\alpha$ -pinene	2.5	0.2
camphene	0.2	เล็กน้อย
$\beta$ -pinene	30.6	4.9
sabinene	22.6	-
myrcene	1.4	0.6
limonene	29.2	0.6
1,8 cineol	1.3	-
$\gamma$ -terpinene	0.1	0.2
<i>p</i> -cymene	0.1	0.1
terpinolene	0.1	0.2
<i>trans</i> -sabinene hydrate	0.6	-
citronella	4.2	65.4
copaene	0.6	0.1
linalool	0.5	2.9
$\beta$ -cubebene	0.5	0.1
caryophyllene	0.3	0.4
terpinene-4-ol and <i>p</i> -elemene	0.2	-
citronellyl acetate	0.2	5.4
$\alpha$ -terpineol	0.7	-
gereneol	0.1	-
geranial	0.1	-
elemol	0.3	-
nerolidol	0.1	-
geranyl acetate, citronellol	0.4	6.4
$\delta$ -cardinene	0.3	-
<i>trans</i> -ocimene	-	0.3
isopulegol	-	4.9
สารที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้	2.8	7.6

ที่มา : ดัดแปลงจาก Lawrence และคณะ (1971)

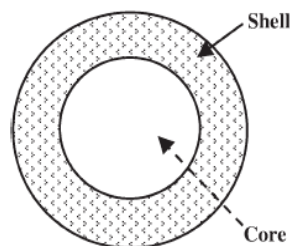
## 2.2.2 ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ของมะกรูดอยู่ที่ส่วนน้ำมันหอมระเหย ซึ่งน้ำมันผิวมะกรูดมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำมันจากใบมะกรูด น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดสามารถยับยั้ง *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527) Nanasombat และ Lohasupthawee (2005) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Salmonella* จำนวน 20 ซีโรไทป์, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Serratia marcescens* ของน้ำมันหอมระเหย 11 ชนิดและสารสกัดหยาบ 9 ชนิด จากกระวาน, อบเชย, กานพลู, ผักชี, ยี่ห่วย, กระเทียม, ขิง, กะเพรา, ใบและผิวมะกรูด, ตะไคร้, ดอกจันทร์เทศ, ลูกจันทร์เทศ, พริกไทยดำ, พริกไทยขาว และขมิ้น ด้วยวิธี disc diffusion และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี microbroth dilution พบว่าสารสกัดหยาบจากกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีที่สุด ส่วนน้ำมันหอมระเหยนั้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดมีความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นที่นำมาศึกษา และน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดให้ผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากใบมะกรูด อาภากร สุภาพิพัฒน์ (2551) ได้ศึกษาค่า MIC ของจุลินทรีย์ *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Weltevreden*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี agar dilution พบว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยผลมะกรูดอยู่ในช่วง 0.4-0.6 % v/v นอกจากนี้ ภัทสนันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฐฐา เลานกุลจิตต์ (2552) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากมะกรูด มะนาว และส้มโอ ที่สกัดได้ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้น  $10 \times 10^4$  ppm ในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Leuconostoc mesenteroides* และ *Lactobacillus plantarum* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดี สารสกัดจากมะนาวและมะกรูดด้วยวิธีการกลั่นและสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถยับยั้ง *Leuconostoc mesenteroides* ได้ดีเช่นกัน และพืชทั้ง 3 ชนิดจากวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆที่ศึกษาได้ดีไม่แตกต่างกับการใช้สารปฏิชีวนะ streptomycin ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml



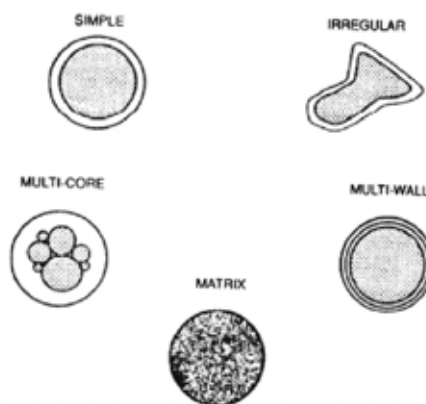
### 2.3 ไมโครเอนแคปซูลชัน (microencapsulation)

ไมโครเอนแคปซูลชัน คือ เทคนิคการกักเก็บสารของเหลว ของแข็ง หรือก๊าซ ด้วยสารอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆห่อหุ้มสารสำคัญเหล่านั้นไว้ ทำหน้าที่คล้ายบรรจุภัณฑ์ และสามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาเมื่ออยู่ในสภาวะที่กำหนด อนุภาคไมโครแคปซูลประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ ส่วนที่เป็นสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บไว้ภายใน เรียกว่าแกน (core) เช่น สารสกัด น้ำมัน น้ำมันหอมระเหย สารให้กลิ่นรส หรือตัวยาสำคัญ เป็นต้น และส่วนสารที่ทำหน้าที่เป็นสารเคลือบหรือเรียกว่าวอลล์ (wall) หรือเชลล์ (shell) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารโพลีเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ (ภาพที่ 2.2) โดยทั่วไปแล้วไมโครแคปซูลมีขนาดอยู่ในช่วง 1- 1,000 ไมโครเมตร มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือรูปแบบต่างๆ ดังภาพที่ 2.3 ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารแกน องค์ประกอบของสารเคลือบ และเทคนิคที่ใช้ในการผลิต (Benita, 2006; Chen and Mujumdar, 2008; Dziezak, 1988 cited in Gharsallaoui *et al.*, 2007)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของไมโครแคปซูล ซึ่งประกอบด้วยสารเคลือบ เรียกว่าวอลล์ (wall) หรือเชลล์ (shell) และสารสำคัญที่ถูกกักเก็บ เรียกว่าแกน (core)

ที่มา : Ghosh (2006)



ภาพที่ 2.3 ไมโครแคปซูลรูปแบบต่างๆ

ที่มา : Gibbs และคณะ (1999)

เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูลชันมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมากในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ และอุตสาหกรรมเกษตร ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ส่วนใหญ่จะใช้ในการพัฒนาและการผลิตวัตถุดิบอาหาร สารให้กลิ่นรส วัตถุกันเสีย โดยใช้สารจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ได้ตรงตามความต้องการ มีคุณภาพ ลักษณะสี กลิ่นหรือเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

### 2.3.1 วัตถุประสงค์ในการทำไมโครแคปซูล

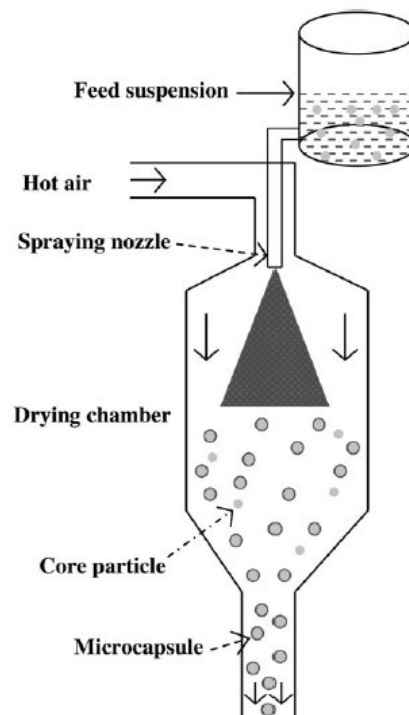
Gharsallaoui และคณะ (2007) และ Risch และ Reineccius (1988) ได้กล่าวถึงวัตถุประสงค์และข้อดีของการนำไมโครแคปซูลไปใช้ไว้ดังนี้

- ลดการทำปฏิกิริยาของสารสำคัญกับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น แสง ออกซิเจน น้ำ หรือสารเคมี
- ลดการระเหยหรืออัตราการปลดปล่อยของสารสำคัญออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก
- เพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะต่อการนำไปใช้งาน เช่น เปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นของแข็ง ง่ายต่อการนำไปใช้หรือผสมกับส่วนผสมอื่น
- สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญตามกำหนดระยะเวลาที่ต้องการ
- ช่วยรักษากลิ่นรสหรือกลบกลิ่นที่ไม่ต้องการ
- ช่วยเจือจางสารสำคัญ ในกรณีต้องการใช้สารปริมาณน้อยแต่สามารถกระจายได้ทั่วถึงในส่วนผสมจำนวนมาก

การทำเอนแคปซูลชันมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี เช่น การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying), การอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิต่ำ (Spray cooling หรือ Spray chilling), การอัดรีด (Milt Extrusion), อินคลูชันคอมเพล็กซ์เซชัน (Inclusion complexation), โคอะเซอร์เวชัน (Coacervation หรือ Phase separation), การตกผลึกร่วม (Cocrystallization), การอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying), การอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum drying), การดักจับด้วยไลโปโซม (Liposome entrapment) เป็นต้น เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก โดยเฉพาะการใช้งานในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถเดินเครื่องได้ต่อเนื่อง กำลังการผลิตสูง ใช้ระยะเวลาสั้นและต้นทุนการผลิตต่ำ

## 2.4 การทำไมโครแคปซูลโดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย

ในกระบวนการทำไมโครแคปซูลโดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยนั้น ขั้นตอนการเตรียมสาร สภาวะในการเตรียม รวมทั้งวิธีการที่ใช้เตรียมสารสำหรับเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นก่อนเข้าสู่เครื่องอบแห้ง มีส่วนช่วยให้ไมโครแคปซูลที่ได้สมบูรณ์ขึ้น ขั้นตอนที่สำคัญคือ การทำให้สารเคลือบ เกิดเป็นฟิล์มบางๆ ล้อมรอบอนุภาคสารที่ต้องการกักเก็บหรือทำให้อยู่ในรูปอิมัลชัน โดยอาจมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์ร่วมด้วย จากนั้นไฮโมจิโนส์ให้เกิดการกระจายตัวได้เป็นอนุภาคอิมัลชันขนาดเล็กก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการอบแห้ง เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการอบแห้งที่เปลี่ยนสภาพวัตถุดิบที่มีลักษณะเป็นของเหลวให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ของแข็งที่เป็นผงแห้ง โดยการฉีดพ่นผ่านหัวสเปร์ย์ของเครื่อง Spray dryer ทำให้น้ำระเหยออกไป ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงแห้งเกิดขึ้นเนื่องจากเกิดการระเหยอย่างรวดเร็ว ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีคุณภาพดีไม่ถูกทำลายด้วยความร้อนมากนัก (Chen and Mujumdar, 2008; Gharsallaoui *et al.*, 2007; Risch and Reineccius, 1988) ภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 การทำไมโครแคปซูลโดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย  
ที่มา : Ghosh (2006)

## 2.4.1 หลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย

สรรพชัย เทียมทวีสิน (2529), Gharsallaoui และคณะ (2007) และ Master (1979) ได้อธิบายหลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลักดังนี้

### 2.4.1.1 การทำให้ของเหลวมีอนุภาคเล็กกระจายตัวเป็นละออง (Atomization)

ของเหลวจะผ่านเข้าสู่หัวฉีดของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยและถูกฉีดพ่นเป็นละอองฝอยออกมา เกิดการถ่ายเทความร้อนระหว่างอากาศร้อนและอนุภาคของเหลวในระดับที่เหมาะสม อนุภาคที่มีขนาดเล็กจะทำให้มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสความร้อนเพิ่มขึ้น เกิดการถ่ายเทความร้อนได้อย่างรวดเร็ว ระเหยความชื้นได้มาก สภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมส่วนของการฉีดพ่นกระจายขึ้นอยู่กับธรรมชาติและความหนืดของของเหลวที่ป้อนเข้าสู่เครื่อง และส่วนนี้มีความสำคัญมากต่อการผลิต เนื่องจากจะส่งผลต่อลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์กับอัตราการป้อนสารเข้าสู่เครื่องอบแห้ง อัตราการป้อนสารสูงจะทำให้ได้อนุภาคขนาดใหญ่ หัวฉีดพ่นฝอยมีหลายรูปแบบโดยแบ่งเป็น 3 แบบหลัก คือ

- Rotary atomizers หัวฉีดส่วนพ่นฝอยใช้แรงจากการหมุนเหวี่ยง ลักษณะหัวฉีดคล้ายกับจานหมุนหรือวงล้อ โดยของเหลวจะถูกป้อนไปยังศูนย์กลางของจานหมุน และถูกเหวี่ยงออกไปยังเส้นรอบวงด้วยความเร็วของการหมุนเหวี่ยงที่สูงมาก จากนั้นของเหลวจะหลุดออกจากจานหมุนอย่างรวดเร็วกลายเป็นละอองฝอยกระจายตัวในถังอบแห้ง (drying chamber) สามารถควบคุมขนาดของอนุภาคได้โดยการปรับความเร็วของจานหมุน ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 30-120 ไมโครเมตร โดยขนาดอนุภาคจะแปรผันตรงกับอัตราการป้อนสารและความหนืดของของเหลว แต่แปรผกผันกับความเร็วและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานหมุน
- Pressure nozzles หัวฉีดพ่นฝอยใช้แรงจากความดัน พลังงานจากความดันถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานจลน์ ของเหลวจะถูกหมุนรอบแกน nozzle ด้วยความเร็วสูง ภายใต้ความดันและถูกเหวี่ยงออกไปทางรูเปิดเล็กๆของหัวฉีด และแตกกระจายเป็นละอองฝอย ทิศทางการพ่นเป็นรูปกรวย หัวฉีดชนิดนี้ใช้ความดันสูงและลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่ละเอียดเท่าหัวฉีดแบบแรก ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 120-250 ไมโครเมตร โดยขนาดอนุภาคจะแปรผันตรงกับอัตราการป้อนสารและความหนืดของของเหลว แต่แปรผกผันกับความดันที่ใช้

- Two-fluid nozzle ของเหลวและอากาศแยกส่วนกัน มี 2 หัวฉีด คือ หัวฉีดอากาศและหัวฉีดของเหลว อากาศและของเหลวจะสัมผัสกันภายใน nozzle ด้วยแรงจากพลังงานจลน์ โดยของเหลวจะถูกกระแทกด้วยอากาศภายใต้ความดัน กลายเป็นละอองฝอยออกมา

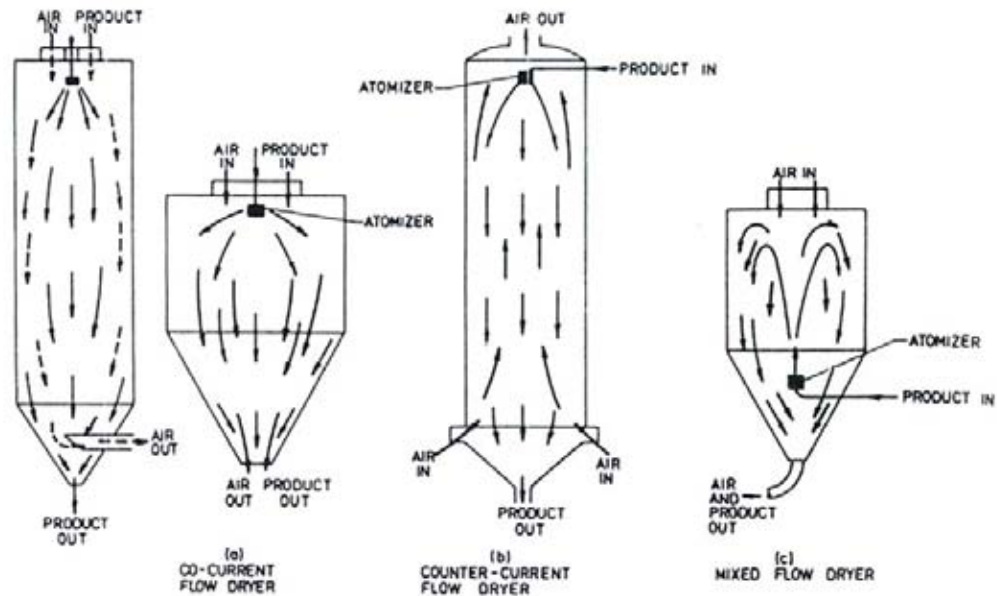
#### 2.4.1.2 การสัมผัสระหว่างอากาศร้อนกับอนุภาคของเหลว (Droplet-hot air contact หรือ Spray-air contact)

ของเหลวที่ถูกฉีดพ่นเป็นละอองฝอยจะสัมผัสกับลมร้อนที่เข้ามาในบริเวณถังอบแห้ง เกิดการถ่ายโอนความร้อนและถ่ายโอนมวลสารระหว่างอากาศร้อนกับอนุภาคละอองของเหลว เพื่อให้เกิดการระเหยน้ำออกไป การสัมผัสระหว่างอากาศร้อนและอนุภาคของเหลว แบ่งได้เป็น 3 แบบหลักคือ

- Co-current flow dryer อากาศร้อนจะเคลื่อนที่ในทิศทางเดียวกับละอองของเหลว อากาศร้อนที่สุดจะสัมผัสกับละอองของเหลวส่วนที่ชื้นที่สุดก่อน จากนั้นอุณหภูมิจะค่อยๆ ลดลง ลักษณะนี้จะใช้กันมากโดยเฉพาะกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่สามารถทนความร้อนได้สูง เนื่องจากจะเกิดการระเหยน้ำอย่างรวดเร็ว ผลิตภัณฑ์จึงไม่สูญเสียคุณภาพเนื่องจากความร้อนมากนัก

- Counter-current flow dryer อากาศร้อนเคลื่อนที่ในทิศทางตรงกันข้ามกับละอองของเหลว อนุภาคของเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำจะมีอุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงเคียงกับอุณหภูมิอากาศร้อน อนุภาคส่วนที่แห้งที่สุดจะสัมผัสอากาศส่วนที่ร้อนที่สุดที่เข้ามาก่อน แบบนี้เหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่ทนความร้อนได้สูงหรือต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพบางอย่าง เช่น ความโปร่ง

- Mixed flow dryer เป็นการไหลแบบผสมกันของสองแบบแรก ละอองของเหลวและอากาศร้อนจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันและสวนทางกัน



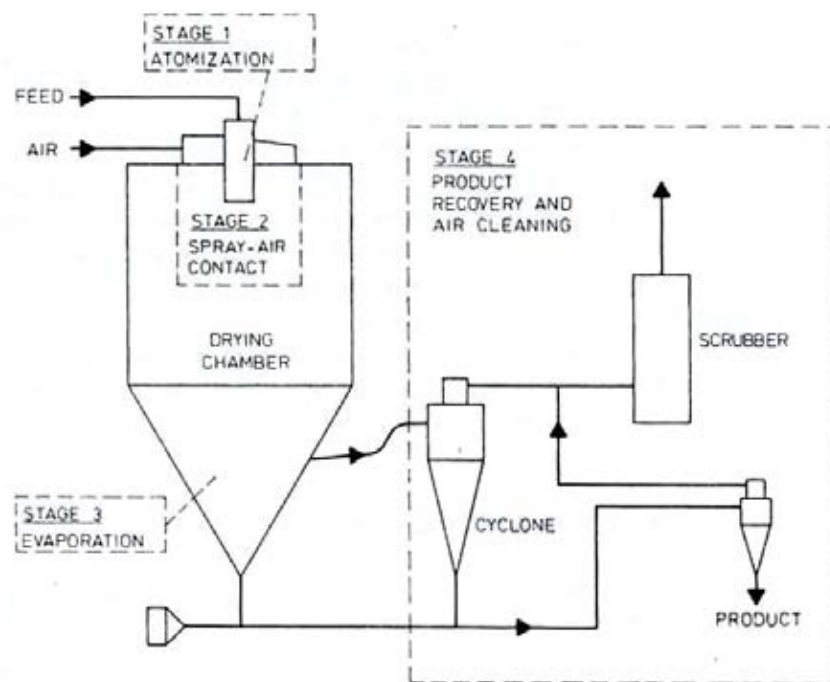
ภาพที่ 2.5 ทิศทางการเคลื่อนที่ของละอองของเหลวและอากาศร้อนในถังอบแห้งแบบต่างๆ  
ที่มา : Master (1979)

#### 2.4.1.3 การระเหยน้ำ (Evaporation of droplet water)

การระเหยน้ำเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนความร้อนและถ่ายโอนมวลสารระหว่างอากาศร้อนกับอนุภาคละอองของเหลว เมื่อความร้อนสัมผัสกับอนุภาคละอองของเหลวจะเกิดการถ่ายโอนความร้อนจากอากาศไปสู่อนุภาคของเหลวโดยการพา และความชื้นภายในอนุภาคจะเคลื่อนที่มาที่ผิวอนุภาคโดยการแพร่และถูกส่งไปยังอากาศร้อนโดยการพา ละอองของเหลวที่สัมผัสกับอากาศร้อนจะเกิดการระเหยน้ำออกอย่างรวดเร็ว โดยในช่วงแรกความชื้นของละอองของเหลวยังมีมากพอ ความชื้นที่ผิวของละอองของเหลวจึงระเหยออกไปได้อย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ น้ำที่อยู่ภายในอนุภาคเคลื่อนที่มาแทนที่ที่ผิวของอนุภาคและระเหยออกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งผิวของอนุภาคละอองของเหลวเริ่มแห้ง อัตราการระเหยมีค่าลดลง เกิดความหนาของชั้นผิวบนอกแห้งเพิ่มมากขึ้น ของแข็งภายในอนุภาคจับตัวกัน ผิวรอบนอกของอนุภาคแข็งและหดตัวกลายเป็นลักษณะคล้ายเปลือกห่อหุ้มสารสำคัญภายในไว้

#### 2.4.1.4 การแยกผลิตภัณฑ์ผงออกจากส่วนอากาศร้อน (Dry product-humid air separation หรือ Product recovery and air cleaning)

ผลิตภัณฑ์ผงที่ตกลงสู่ส่วนล่างของถังอบแห้ง จะถูกลมร้อนพาไปยังส่วนไซโคลน (cyclone) เพื่อแยกผลิตภัณฑ์ออกจากลมร้อน โดยลมร้อนจะออกไปทางด้านบนของส่วนไซโคลนผ่านไปยังตัวกรองอากาศ ส่วนผลิตภัณฑ์จะตกกระทบผนังของไซโคลนและเคลื่อนที่ลงมาไปยังส่วนล่างลงสู่ภาชนะที่รองรับไว้



ภาพที่ 2.6 แบบจำลองขั้นตอนการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย  
ที่มา : Master (1979)

#### 2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์

Master (1979) ได้อธิบายว่าปัจจัยต่างๆในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ส่งผลกระทบท่อลักษณะและสมบัติของผลิตภัณฑ์แห้งที่ได้ เช่น ขนาดอนุภาคผง ความหนาแน่น ความชื้น ลักษณะปรากฏ รวมทั้งความสามารถในการกักเก็บสารสำคัญหรือกลิ่นรส มีดังนี้

2.4.2.1 พลังงานที่ใช้ในกระบวนการอบแห้ง เมื่อเพิ่มพลังงานให้กับส่วนการพ่นฝอย เช่น ความดัน หรือ ความเร็วการหมุนเหวี่ยงจานหมุนของหัวฉีดพ่นฝอย ทำให้ขนาดละอองของเหลวที่ออกมา มีขนาดเล็กลง ความหนาแน่นสูงขึ้น

**2.4.2.2 คุณสมบัติของของเหลวเริ่มต้น** ถ้าของเหลวที่นำมาผ่านเครื่องพ่นฝอย มีความหนืดสูง ปริมาณของแข็งมาก หรืออุณหภูมิของเหลวต่ำ ก่อนป้อนเข้าเครื่อง ทำให้อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่

**2.4.2.3 อัตราการป้อนของเหลว** การเพิ่มอัตราการป้อนเพิ่มขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์มีอนุภาคขนาดใหญ่ ความชื้นของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น

**2.4.2.4 ชนิดของหัวฉีดพ่นฝอย (Atomizer)** หัวฉีดแบบ rotary atomizers ให้ขนาดอนุภาคที่เล็กและละเอียดกว่าแบบ nozzles

**2.4.2.5 อัตราการไหลของอากาศ** อัตราการไหลของอากาศเป็นตัวควบคุมระยะเวลาที่ละอองของเหลวอยู่ในถังอบแห้ง ถ้าอัตราการไหลของอากาศต่ำ ระยะเวลาของละอองของเหลวอยู่ในถังอบแห้งนานขึ้น จึงมีระยะเวลาสัมผัสกับอากาศร้อนนานขึ้น ความชื้นของผลิตภัณฑ์ต่ำลง

**2.4.2.6 อุณหภูมิอากาศร้อน** อุณหภูมิอากาศร้อนมีผลต่อลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ได้ ถ้าอุณหภูมิอากาศร้อนขาเข้าสูงขึ้น ทำให้อัตราการระเหยน้ำได้เร็ว ระยะเวลาอบแห้งสั้น ความหนาแน่นผลิตภัณฑ์ลดลง ผลิตภัณฑ์แห้งมีโอกาสเกิดรูพรุนและรอยแตกสูง ส่วนการเพิ่มอุณหภูมิอากาศร้อนขาออก ทำให้ความชื้นลดลง ส่วนการลดอุณหภูมิขาออก ทำให้ความชื้นในผลิตภัณฑ์สูงขึ้น เกิดการจับตัวเป็นกลุ่มก้อน (agglomeration)

นอกจากปัจจัยต่างๆของกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยเหล่านี้แล้ว ในขั้นตอนการเตรียมสารก่อนผ่านเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยก็ยังมีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผง รวมไปถึงชนิดของสารเคลือบ และชนิดของสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บด้วย

## 2.5 สารเคลือบ (wall)

สารเคลือบ คือ สารที่ใช้เคลือบหรือห่อหุ้มสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บไว้ภายใน ปกป้องสารสำคัญจากสิ่งแวดล้อมภายนอก นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งให้สารในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยและสามารถเปลี่ยนรูปได้เมื่อได้รับความร้อนหรือสภาวะที่กำหนด สารที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลส่วนใหญ่เป็นสารประเภทโพลีเมอร์และโพลีเมอร์จากคาร์โบไฮเดรต เช่น กัมอะราบิก มอลโตเดกซ์ทริน กลูโคสไซรัป สตาร์ชดัดแปร ไฮโดลเดกซ์ทริน



ซูโครส เจลาติน แวกซ์ ไขมันและโปรตีน เป็นต้น สารเคลือบมีความสำคัญมากต่อประสิทธิภาพและความเสถียรของไมโครแคปซูล การเลือกใช้สารเคลือบจึงต้องคำนึงถึงคุณสมบัติต่างๆซึ่งสารเคลือบที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Risch and Reineccius, 1988)

- มีความสามารถในการขึ้นรูปฟิล์มหรือเกิดฟิล์มห่อหุ้มสารสำคัญไว้ได้
- มีความยืดหยุ่นและแข็งแรงเพียงพอ
- มีคุณสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี
- มีคุณสมบัติในการยึดติดกับสารที่ต้องการกักเก็บได้ดีโดยไม่ทำปฏิกิริยากัน
- มีความหนืดต่ำ เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นสูง
- ไม่ดูความชื้นง่ายเมื่ออยู่ในสถานะของแข็ง
- มีความคงตัวสูง สามารถป้องกันสารสำคัญจากสภาพแวดล้อมภายนอก เช่น

ออกซิเจน น้ำ แสง ความร้อน หรือสารเคมี

- สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน
- ไม่มีกลิ่นรส
- ต้นทุนต่ำ

มีการศึกษาอิทธิพลต่างๆที่มีผลต่อการผลิตไมโครแคปซูลด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย Soottitantawat และคณะ (2005) ศึกษาอิทธิพลของขนาดหยดอิมัลชัน D-limonene และขนาดของผงไมโครแคปซูลที่ได้จากการใช้วิธีการเตรียมที่ต่างกัน พบว่าการเตรียมอนุภาคอิมัลชัน (emulsion size) ให้มีขนาดเล็ก ทำให้สามารถกักเก็บสารในระหว่างการอบแห้งแบบพ่นฝอย (% retention during spray drying) ได้ดีกว่าอิมัลชันขนาดใหญ่ เนื่องจากอิมัลชันที่มีขนาดใหญ่ต้องใช้เวลาในกระบวนการทำแห้งนาน อนุภาคของอิมัลชันสัมผัสความร้อนในระหว่างการทำแห้งนานขึ้น จึงทำให้เหลือน้ำมันที่ถูกกักเก็บไว้ภายในไมโครแคปซูลน้อยลง และมีน้ำมันที่ผิวอนุภาค (surface oil) มาก ดังนั้นอิมัลชันที่มีขนาดเล็กจึงมีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย (%retention during spray drying) ได้ดีกว่า และการใช้ความเร็วรอบของหัวหมุนเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยต่ำ ส่งผลให้ได้อนุภาคผงไมโครแคปซูล (powder size) ขนาดใหญ่ มีพื้นที่ผิว (specific surface area) น้อย ทำให้อัตราการปลดปล่อยสารสำคัญและการเกิดปฏิกิริยาต่างๆกับสิ่งแวดล้อมภายนอกช้าลง และชั้นของสารเคลือบที่หนาทำให้สามารถปกป้องสารสำคัญภายในไว้ได้ดีกว่า ดังนั้นการเตรียมขนาดอนุภาคอิมัลชันให้มี

ขนาดเล็ก และการใช้ความเร็วรอบของหัวหมุนของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยต่ำ ทำให้ได้อนุภาคผงไมโครแคปซูลขนาดใหญ่ และเกิดอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญได้ช้ากว่า

Baranauskiene และคณะ (2006) ศึกษาการกักเก็บองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน สารสกัดของตะไคร้หอมและมาร์จอแรม โดยใช้นมผงขาดมันเนย (skimmed milk powder, SMP) กับเวย์โปรตีน (whey protein concentrate, WPC) เป็นสารเคลือบด้วยความเข้มข้น 30% (w/w) ใช้ น้ำมันหอมระเหย 20% อุณหภูมิอากาศเข้าการอบแห้งแบบพ่นฝอย  $190 \pm 5$  องศาเซลเซียส พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บกลิ่นรสแตกต่างกันไปตามชนิดของสารเคลือบและชนิดของสารที่ต้องการกักเก็บ โดยน้ำมันหอมระเหยออริกาโนสามารถถูกกักเก็บได้มากกว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมและมาร์จอแรม เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยออริกาโนมีสารสำคัญที่เป็นสารประกอบในกลุ่ม phenolic เช่น thymol และสาร monoterpene alcohol เช่น citronellol และ terpinene-4-ol ซึ่งมีโครงสร้างเป็น hydroxyl group สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของโปรตีนได้ สอดคล้องกับภาพที่ได้จากกล้อง scanning electron microscopy (SEM) ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยออริกาโนให้ลักษณะเป็นทรงกลม ผิวเรียบ ไม่มีร่องรอยยื่นหรือส่วนที่ยื่นออกมาเมื่อเทียบกับไมโครแคปซูลของสารสกัดจากตะไคร้หอมและมาร์จอแรม และการใช้สารเคลือบ SMP ให้ %encapsulation efficiency ที่สูงกว่าการใช้สารเคลือบ WPC เช่นเดียวกับลักษณะไมโครแคปซูลที่ได้จาก SMP มีรูปร่างกลมและเรียบกว่า WPC ซึ่งมีบางส่วนเป็นรอยยุบย่นและมีรูรั่วเกิดขึ้น

Murúa-Pagola, Beristain-Guevara และ Martínez-Bustos (2009) ได้ศึกษาการใช้สตาร์ชดัดแปรจากปฏิกิริยา esterification 3 ชนิด คือ starch phosphate, starch acetate, starch succinate (n-octenyl succinylated starch, n-OSA) และสตาร์ชดัดแปรทางการค้า modified starch N-LOK โดยใช้ความเข้มข้นสารเคลือบ 30% (w/v) กักเก็บน้ำมันจากผิวส้ม 20% ของน้ำหนักของแข็งทั้งหมด ใช้ อุณหภูมิอากาศเข้าการอบแห้งแบบพ่นฝอย  $180 \pm 1$  องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ n-OSA ให้ลักษณะความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี เนื่องจากความเป็น hydrophobic octenyl side chain จึงสามารถกักเก็บปริมาณน้ำมันทั้งหมดได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้สตาร์ชดัดแปรชนิดอื่น

สภาวะที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการกักเก็บ และสารที่ใช้เป็นตัวเคลือบห่อหุ้มสารสำคัญนั้น รวมทั้งขนาดอนุภาคอิมัลชัน และสภาวะในการอบแห้ง สารเคลือบเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บของไมโคร

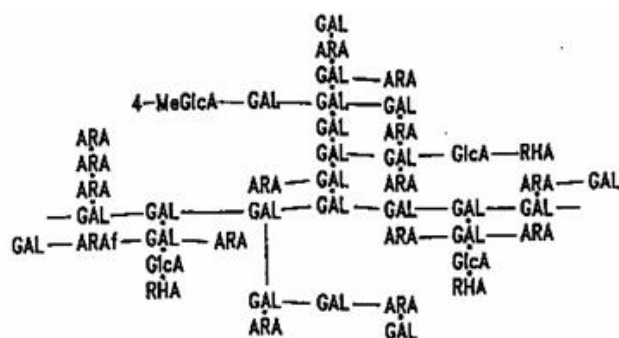
แคปซูล การเลือกใช้สารที่จะนำมาทำเป็นสารเคลือบ จึงต้องเลือกให้มีคุณสมบัติเหมาะสมกับสารที่ต้องการกักเก็บ และมีความสามารถเพียงพอที่จะกักเก็บสารสำคัญนั้นไว้ได้ตามระยะเวลาที่ต้องการ

### 2.5.1 กัมอะราบิก (gum arabic หรือ acacia gum)

กัมอะราบิกเป็นสารจากธรรมชาติซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารไฮโดรคอลลอยด์ นิยมนำมาใช้เป็นสารเคลือบในการทำไมโครแคปซูลสารให้กลิ่นรสและน้ำมันหอมระเหยต่างๆ เนื่องจากความสามารถในการฟอร์มฟิล์มและสมบัติความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดีในตัวเอง กัมอะราบิกเป็นน้ำยางที่หลั่งออกมาจากกิ่งก้านของพืชในกลุ่มอคาเซีย เช่น *Acacia senegal*, *Acacia seyal* เมื่อแห้งแข็งตัวจะให้ลักษณะเป็นก้อนใสคล้ายแก้วเกาะตามกิ่งก้านและลำต้น ประเทศที่ผลิตกัมอะราบิกส่วนใหญ่เป็นประเทศในแถบทวีปแอฟริกา ได้แก่ ซูดาน ไนจีเรีย เซเนกัล และมาลี กัมอะราบิกที่มีการนำมาใช้มักจะมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ เป็นผง หรือเป็นเกล็ดสีขาวถึงขาวเหลือง ไม่มีกลิ่นรส และไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ได้รับการกำหนดให้เป็น GRAS (Generally Recognized as Safe) และมาตรฐานของ United State Pharmacopia, Food Chemical Codex และ EU Number E414 รวมทั้งผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทย ในแง่โภชนาการกัมอะราบิกจัดเป็นสารไม่ให้พลังงาน เนื่องจากถูกย่อยได้ต่ำมากในระบบการย่อยของร่างกายมนุษย์ (มูทาดา คัททับ, 2543; Gharsallaoui *et al.*, 2007; Risch and Reineccius, 1988; Williams and Phillips, 2000)

#### 2.5.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของกัมอะราบิก

โครงสร้างหลักของโมเลกุลกัมอะราบิกเป็นโพลีแซคคาไรด์เชิงซ้อน ประกอบด้วยหน่วยย่อยของปีต้า-กาแล็กโทไพราโนสที่ต่อกันด้วยพันธะ 1-3 และแยกแขนงเป็นจำนวนมากด้วยกรดกลูคูโรนิก ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1-6 (นิธิยา รัตนานนท์, 2551) ในโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลและอนุพันธ์น้ำตาล ได้แก่ galactose, arabinose, rhamnose, glucuronic acid และ 4-O-methylglucuronic acid สูตรโครงสร้างหลักของกัมอะราบิกดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของกัมอะราบิก (Galactose, GAL; Arabinose, ARA; Glucuronic acid, GlcA; Rhamnose, RHA; 4-O-methylglucuronic acid, 4-MeGlcA) ที่มา : Risch และ Reineccius (1988)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของกัมอะราบิกจากต้น *Acacia senegal* และ *Acacia seyal*

องค์ประกอบ	<i>Acacia senegal</i>	<i>Acacia seyal</i>
% galactose	44	38
% arabinose	27	46
% rhamnose	13	4
% glucuronic acid	14.5	6.5
% 4-O-methylglucuronic acid	1.5	5.5
% nitrogen	0.36	0.15
Specific rotation/degrees	-30	+51
Average molecular mass (Mw)	380,000	850,000

ที่มา : ดัดแปลงจาก Williams และ Phillips (2000)

นอกจากนี้ยังมีไนโตรเจนเล็กน้อย ซึ่งกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ hydroxyproline และ serine องค์ประกอบทางเคมีต่างๆจะมีปริมาณแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก ฤดูกาล อายุ และสายพันธุ์ ดังตารางที่ 2.2 (Risch and Reineccius, 1988; Williams and Phillips, 2000)

### 2.5.1.2 สมบัติของกัมอะราบิก

โครงสร้างของกัมอะราบิกมีส่วนของกิ่งก้านแตกออกไปมาก ดังนั้นจึงทำให้ละลายน้ำได้ดี สามารถละลายได้ทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น สามารถทนต่อกรด-ด่าง (pH) ได้ในช่วงกว้าง ภาวะในการเกิดเจลของกัมอะราบิกคล้ายกับสตาร์ช สารละลายกัมอะราบิกที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 40% จะมีความหนืดต่ำมากและแสดงพฤติกรรมการไหลแบบ newtonian ความหนืดของสารละลายกัมอะราบิกจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 40-50% และจะเป็นการไหลแบบ pseudoplastic สามารถละลายกัมอะราบิกได้ความเข้มข้นสูงสุดถึง 55% ดังนั้นจึงเป็นสมบัติพิเศษที่ดีของกัมอะราบิกที่แตกต่างจากไฮโดรคอลลอยด์กัมชนิดอื่น

กัมอะราบิกมีประสิทธิภาพสูงในการทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ เนื่องจากการมีโปรตีนในโครงสร้างช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมัน ช่วยป้องกันการเกิดการรวมตัวของอนุภาคหยดน้ำมัน (coalescence) เกิดการกระจายตัวได้ดี เมื่อหุ้มอยู่ที่ผิวหน้าของหยดไขมันแล้วจะมีประจุอยู่โดยรอบและเป็นประจุชนิดเดียวกันจึงทำให้เกิดการผลักกันตลอดเวลา ช่วยป้องกันหยดไขมันเข้ามาใกล้รวมตัวกันทำให้อิมัลชันคงรูปอยู่ได้นาน (stable after emulsion) และไม่จับตัวเป็นก้อนได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาพแห้ง (ฉันทรา พูนศิริ, 2549; นิธิยา รัตนานนท์, 2551; มูทาดา คัททับ, 2543)

### 2.5.1.3 การใช้ประโยชน์จากกัมอะราบิก

กัมอะราบิกใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมยา เครื่องสำอางค์และสิ่งทอ ในอุตสาหกรรมอาหารใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม กลิ่นรส เคลือบผิวอาหาร ลูกอมลูกกวาดขนมหวาน เบเกอรี่ รวมทั้งใช้เป็นสารเคลือบในการผลิตสารให้กลิ่น encapsulated flavor พบว่าเมื่อผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยแล้ว กัมอะราบิกยังให้คุณสมบัติที่เป็นฟิล์มหุ้มอยู่โดยรอบ มีการเกาะติดสูง ทำให้เกิดการกักเก็บส่วนที่เป็นสารให้กลิ่นรสไว้ได้สูง และลดการระเหยของสารให้กลิ่นรส ไม่มีผลกระทบต่อความหนืด กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามกัมอะราบิกนั้นมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาหาสารตัวอื่นทดแทนหรือเป็นส่วนผสมเพิ่มเข้าไป เพื่อพัฒนาลักษณะไม่ใคร่แคบซูลให้ดีขึ้น และลดปริมาณการใช้กัมอะราบิกลง (นิธิยา รัตนานนท์, 2551; มูทาดา คัททับ, 2543; Gharsallaoui *et al.*, 2007; Risch and Reineccius, 1988)

Krishnan, Kshirsagar และ Singhal (2005) ได้ศึกษาการผลิตไมโครแคปซูลโดยใช้สารเคลือบกัมอะราบิก มอลโตเดกซ์ทรีน และสตาร์ชดัดแปร (HI-CAP100) ความเข้มข้น 30% w/v เพื่อกักเก็บองค์ประกอบสำคัญของโพลิโอเรซินจากกระวานซึ่งเป็นพืชที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติเผ็ดร้อน กระวานจัดเป็นเครื่องเทศที่มีราคาค่อนข้างแพง แต่กลิ่นรสของกระวานอาจเสื่อมสลายไปได้ เมื่อได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อากาศ น้ำ ความร้อน หรือสารเคมี ใช้สารสกัดของกระวาน 5% w/w ของสารเคลือบ และ tween80 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ ผ่านกระบวนการโฮโมจีไนส์ และอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิเข้าในการอบแห้ง  $178 \pm 2$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก  $120 \pm 5$  องศาเซลเซียส เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์อัตราการกักเก็บสารสำคัญของกระวาน พบว่ากัมอะราบิกสามารถเป็นตัวกักเก็บสารได้แก่ 1,8-cineole,  $\alpha$ -terpinyl acetate และ total volatiles ในไมโครแคปซูลโพลิโอเรซินกระวานได้ดีที่สุด

Turchiuli และคณะ (2005) ได้ศึกษาการใช้กัมอะราบิกผสมกับมอลโตเดกซ์ทรีน ในอัตราส่วน 3:2 และ 2:3 ความเข้มข้นสารเคลือบ 30, 40 และ 50% (w/w) กักเก็บน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ sunflower oil, oleic acid, rapeseed oil, grapes pip oil โดยใช้ 5% (w/w) โดยน้ำหนักของแข็ง นำไปโฮโมจีไนส์ให้เป็นเนื้อเดียวกัน อบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิอากาศขาเข้าในการอบแห้ง  $200 \pm 2$  และ  $220 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคลือบ อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น และเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 40% w/w อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส รวมทั้งการใช้อัตราส่วนกัมอะราบิกต่อมอลโตเดกซ์ทรีน 3:2 ทำให้อนุภาคไมโครแคปซูลมีลักษณะเป็นสายไม่เป็นทรงกลม เนื่องจากปริมาณกัมอะราบิกมากขึ้น อิมัลชันมีความหนืดมาก อนุภาคของสารละลายที่ใช้ในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแคปซูลน้ำมันพืช คือความเข้มข้นสารเคลือบ 40% w/w อัตราส่วนกัมอะราบิกต่อมอลโตเดกซ์ทรีน 2:3 อุณหภูมิอากาศขาเข้า  $220 \pm 2$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิอากาศขาออก 100 องศาเซลเซียส อัตราการป้อน 24 มิลลิลิตรต่อนาที

## 2.5.2 บุก

บุก หรือชื่อสามัญภาษาอังกฤษ เช่น Elephant Yam, Elephant Foot Yam, Elephant Bread, Sweet Yam จัดเป็นพืชซึ่งอยู่ในตระกูล Araceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Amorphophallus spp.* มีหลายสปีชีส์ด้วยกัน เช่น *A. konjac* K. Koch, *A. bulbifer* Bl., *A.*

*oncophyllus* Prain ex Hook f. เป็นต้น (มงคล เกษประเสริฐ, 2547; Takigami, 2000) บุกเป็นพืชล้มลุก ลำต้นอวบ มีหัวใต้ดินสีน้ำตาล ก้านใบยาว แผ่นใบหยักเว้าเป็นแฉกคล้ายขนนก ใบต่างเป็นดวงๆสีเขียว ใช้ระยะเวลา 3-5 ปี จึงจะออกดอก ดอกสีม่วงแดงมีกาบหุ้มช่อดอกเป็นรูปกรวย ช่อดอกมีลักษณะเป็นแท่งยาวพอกับกาบหุ้มช่อดอก ดอกมีกลิ่นเหม็น ผลเป็นผลสดเนื้อนุ่มสีแดง มีจำนวนมากและติดเป็นช่อ หัวบุกมีลักษณะกลมค่อนข้างแบน บุกมีถิ่นกำเนิด และแพร่กระจายพันธุ์ในหลายประเทศ ทางตะวันออกของเทือกเขาหิมาลัยจนถึงประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย อินโดจีน ฟิลิปปินส์ และทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของทวีปออสเตรเลีย ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งซึ่งมีบุกอยู่มากมายหลายชนิดขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่และภูมิอากาศที่แตกต่างกัน และมีชื่อเรียกต่างกันไปตามภูมิภาคและลักษณะของบุก เช่น บุกบ้าน บุกป่า บุกจร บุกเขา บุกด่าง บุกแดง บุกเนื้อทราย เป็นต้น แหล่งที่พบมากคือทางแถบตะวันตก เช่น จังหวัดตาก กาญจนบุรี กำแพงเพชร พะเยา และเชียงใหม่ เป็นต้น (วันดี กฤษณพันธ์, 2539)

ส่วนต่างๆของบุกสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น ต้นอ่อนและช่อดอกเป็นพืชผัก ส่วนหัวและต้นใบใช้เป็นอาหารสัตว์ รวมทั้งใช้เป็นยาสมุนไพรมาตั้งแต่โบราณ ส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์หลักคือส่วนหัว หัวบุก *A. konjac* K. Koch. ชาวจีนและญี่ปุ่นใช้เป็นอาหารและยามาเกือบ 2,000 ปี บุกมีชื่อเรียกทั่วไปว่า Konjac ชาวญี่ปุ่นนำมาแปรรูปเป็นเส้นวุ้น หรือก้อนวุ้นบริโภคเป็นอาหารโดยเชื่อว่าแป้งบุกมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยทำความสะอาดลำไส้ และพัฒนาเป็นอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารจากบุกในชื่อ คอนนิยากู (konyaku) หัวบุกต่าง (*A. kerrii* N.E. Br.) ใช้บริโภคเป็นอาหารพวกแป้งโดยใช้เนื้อบุกที่ต้มสุกมาแปรรูปเป็นอาหาร ส่วนหัวบุกเนื้อทราย (*A. oncophyllus* Prain.) เป็นบุกที่ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมผลิตแป้งบุกหรือกลูโคแมนแนน เนื่องจากมีปริมาณกลูโคแมนแนนสูงซึ่งถือเป็นเส้นใยอาหาร สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและส่งออกในรูปแบบของวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูป (มงคล เกษประเสริฐ, 2547)

### 2.5.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของบุก

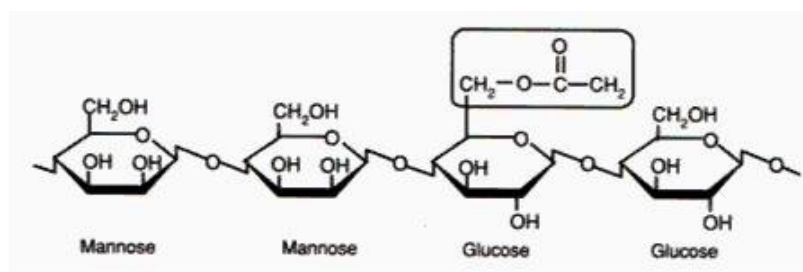
ในหัวบุกและก้านใบพบแป้ง, ซาโปนิน, สารเมือก (mucilage), แคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) ซึ่งเป็นสารทำให้เกิดการแพ้และคันได้ นอกจากนี้อาจพบสารแอลคาลอยด์โคนิอิน (coniine) ซึ่งเป็นสารที่มีรสขมและอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค องค์ประกอบต่างๆขึ้นอยู่กับอายุ พันธุ์บุก และแหล่งที่ปลูก สารสำคัญในหัวบุกคือ กลูโคแมนแนน ซึ่งเป็นสารคาร์โบไฮเดรตประเภทเฮเทอโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) จัดเป็นเฮมิเซลลูโลส

(hemicellulose) โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลดี-แมนโนส (D-mannose) และดี-กลูโคส (D-glucose) ในอัตราส่วน 1.6:1 หรือ 3:2 เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4-ไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1,4-linked) เชื่อมต่อเป็นสายยาวหรืออาจแตกกิ่งเล็กน้อย มีรูปแบบการจัดเรียงตัวหลายแบบ ดังภาพที่ 2.8 (Kato and Matsuda, 1969; Takigami, 2000) กลูโคแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย  $0.67 \times 10^6 - 1.9 \times 10^6$  และมีหมู่อะซิทธิลกระจายอยู่บ้างโดยจะเชื่อมต่อกับสายโซ่ในตำแหน่งของ C-6 (ภาพที่ 2.9) ซึ่งหมู่อะซิทธิลมีผลต่อการละลายน้ำและการเกิดเจลของแป้งบุก (Li and Xie, 2004)

1. G-G-M-M-M-M-G-M
2. G-G-M-G-M-M-M-M
3. M-M-M-G-G
4. G-G-M-M-G-M-M-M-M-G-G-M

**ภาพที่ 2.8** รูปแบบการจัดเรียงตัวของน้ำตาลดี-แมนโนส (M) และดี-กลูโคส (G) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4-ไกลโคซิดิก (-) ในโมเลกุลกลูโคแมนแนน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Takigami (2000)



**ภาพที่ 2.9** โครงสร้างโมเลกุลของกลูโคแมนแนน

ที่มา : Tye (1991)

ปริมาณของกลูโคแมนแนนขึ้นอยู่กับพันธุ์บุกที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น เช่นบุกต่างมีปริมาณกลูโคแมนแนน 3-6 % ส่วนบุกเนื้อทรายที่ใช้ในอุตสาหกรรมมีปริมาณกลูโคแมนแนน 44-55 % กลูโคแมนแนนจะไม่ถูกย่อยได้ในร่างกายมนุษย์ ดังนั้นจึงจัดเป็นสารไม่ให้พลังงาน ช่วยลดการดูดซึมกลูโคสในระบบทางเดินอาหาร และมีการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ (วันชัย ดีเอกนามกุล, 2539 อ่างถึงโน มงคล เกษประเสริฐ, 2547; วันดี กฤษณพันธ์, 2539)



### 2.5.2.2 การผลิตแป้งบุกหรือผงวุ้นบุก (konjac flour)

การสกัดแป้งบุกจากหัวบุกทำได้โดยนำหัวบุกที่ล้างทำความสะอาดแล้วมาหั่นสไลด์เป็นแผ่น มีการเติมสารฟอกสีปริมาณเล็กน้อยเพื่อฟอกสีของแป้งบุกให้ขาว และนำไปทำแห้ง จากนั้นคัดแยกแป้งบุกและส่วนที่ไม่บริสุทธิ์ด้วยลมเป่า หรือใช้วิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ethanol คุณภาพของแป้งบุกทางการค้าจะพิจารณาจาก ความขาว ความชื้น ความบริสุทธิ์ของกลูโคแมนแนน และความหนืดเมื่อละลายน้ำ (Takigami, 2000)

#### ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของแป้งบุกทางการค้า

	Japanese konjac tuber		Chinese konjac tuber (bonded)	
	Ordinary flour	Purified flour	Ordinary flour	Purified flour
Viscosity (mPas)*	15.0–15.2	17.0–18.0	13.5–13.6	18.0
Whiteness	66–68	73	69.9	68.9
Water*	6.5	6.6	8.4	5.3
Protein*	2.1	1.1	3.0	1.5
Lipid*	1.3	0.3	0.9	0.3
Carbohydrate*	84.6	89.2	82.2	90.0
Fibre*	0.5	0.6	0.6	0.8
Ash*	5.0	2.2	4.9	2.1
Sulphur dioxide	0.65 g/kg	0.17 g/kg	2.1 g/kg	0.64 g/kg
Arsenic*	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
Lead*	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
Trimethyl amine**	490ppm	85ppm	760ppm	170ppm
Number of germ	Less than 300/g	Less than 300/g	420/g	Less than 300/g
Coliform bacteria	negative	negative	negative	negative

\* 1% konjac aqueous solution at 35°C after 4 h stirring at 90 rpm.  
 \* g/100 g of konjac flour.  
 \*\* nitrogen-containing substances.

ที่มา : Takigami (2000)

### 2.5.2.3 สมบัติของแป้งบุก

แป้งบุกมีลักษณะและสมบัติที่ต่างจากแป้งที่มาจากพืชหัวชนิดอื่นทั่วไป แป้งบุกเป็นโพลีเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ แต่ต้องใช้เทคนิคจำเพาะในการละลายแป้งบุก ที่สำคัญคือในขั้นตอนการละลายจะต้องกวนตลอดเวลาจนกระทั่งแป้งบุกละลายหมด ไม่เช่นนั้น แป้งบุกจะจับตัวเป็นก้อน และสารละลายแป้งบุกยังให้ลักษณะแตกต่างจากโพลีแซคคาไรด์อื่นๆ ดังนี้

**ความหนืดและการพองตัว** แป้งบุกสามารถดูดน้ำได้มาก เมื่อนำมาละลายน้ำ อนุภาคจะดูดซับน้ำ และเกิดการพองตัวได้เป็นสารละลายชั้นหนืดที่มีลักษณะแบบ pseudoplastic โดยสามารถพองตัวได้ถึง 27-40 เท่า โดยปริมาตรของแป้งบุก ถ้ามีความบริสุทธิ์มากก็จะสามารถพองตัวได้มากขึ้น อัตราการดูดซับน้ำขึ้นอยู่กับระยะเวลาและอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะมีผลให้อัตราการดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (มงคล เกษประเสริฐ, 2547; Tye, 1991) ทำให้ความข้นหนืดของสารละลายเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ช่วงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่กลูโคแมนแนนสามารถพองตัวได้ดีที่สุด และการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคแมนแนนมีผลทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (Fennema, 1996 อ้างถึงใน ชูสิทธิ์ หงส์กุลทรัพย์, 2549) ดังนั้นความหนืดของแป้งบุกจึงขึ้นอยู่กับหัวบุกที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นและกระบวนการขั้นตอนในการผลิตและการสกัดด้วย

**การเกิดเจลของแป้งบุก** การเกิดเจลของแป้งบุกแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible) สามารถเกิดขึ้นได้ในสภาวะที่มีต่าง โดยสารละลายต่างจะเกิดปฏิกิริยา deacetylation จับกับหมู่อะซิทิลของกลูโคแมนแนนและหลุดออกมา ทำให้เกิดการฟอร์มเจลเป็นโครงร่างตาข่ายด้วยพันธะไฮโดรเจน ในสภาวะที่เป็นต่างนี้จะทำให้เจลบุกมีเสถียรภาพมากขึ้น ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายแป้งบุกที่สามารถฟอร์มเป็นเจลได้คือ 0.5% สารละลายต่างที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ โฟแทสเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมคาร์บอเนต และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ นอกจากนี้ยังสามารถใช้แป้งบุกร่วมกับกัมหรือแป้งบางชนิดได้ เช่น ทำให้เกิดการฟอร์มเจลแบบผันกลับได้ด้วยความร้อน (thermoreversible) เมื่อใช้ร่วมกับแคปป์ปาคาราจีแนน (kappa carrageenan) (Takigami, 2000; Tye, 1991) การใช้แป้งบุกร่วมกับสารชนิดอื่นทำให้เกิดเจลที่มีลักษณะจำเพาะขึ้น สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น สารให้ความคงตัว (stabilizer) สารทำให้เกิดเจล เป็นต้น

#### 2.5.2.4 การใช้ประโยชน์จากผงบุกกลูโคแมนแนน

กลูโคแมนแนนจะไม่ถูกย่อยได้ในร่างกายมนุษย์ ดังนั้นจึงจัดเป็นสารไม่ให้พลังงาน ทำให้อิ่มเร็วไม่หิวบ่อย ช่วยลดการดูดซึมกลูโคสในระบบทางเดินอาหาร ใช้เป็นอาหารในผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ลดน้ำตาลและปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้ ตามมาตรฐานการใช้สารเคมีประกอบอาหาร (Food Chemical Codex) ของสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้ผงบุกกลูโคแมนแนนเป็นส่วนผสมของอาหารได้ เช่น ใช้เป็นสารทำให้เกิดเจล สารให้ความเข้มข้น สารทำให้เกิดฟิล์ม สารให้ความคงตัว มีการนำผงบุกไปใช้ประโยชน์

ในด้านอุตสาหกรรมอาหารในรูปแบบต่างๆ เช่น เพิ่มเส้นใยอาหารและรักษาความรู้สึกในปาก (mouthfeel) ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ใช้เป็นสารเพิ่มปริมาณเนื้อ (Bulking), ทดแทนไขมันและรักษาความชื้น (moisture enhancer) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ช่วยทำให้เกิดเจลและเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาและปลาเส้นซูริมิ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับผงบุกกลูโคแมนแนนในด้านอื่นๆ Tian และคณะ (1999) ได้ตัดแปรรูปให้มีลักษณะเป็น konjac glucomannan ester (KGME) เพื่อให้มีสมบัติความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ สามารถใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ใน o/w emulsion Yang และคณะ (2001) ได้นำผงบุกกลูโคแมนแนนไปใช้ในการเคลือบผลไม้บางชนิด เช่น แคนตาลูปและแอปเปิ้ล สามารถควบคุมอัตราการหายใจ การส่งผ่านก๊าซต่างๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน และไอน้ำ สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงและการสุกของผลิตภัณฑ์ได้ Zhang, Xie และ Gan (2005) รายงานว่าผงบุกกลูโคแมนแนนมีความสามารถในการฟอร์มฟิล์มได้ดี ให้ลักษณะฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่น สามารถเกิดฟิล์มที่มีลักษณะโปร่งแสงเมื่อใช้ร่วมกับ polyacrylamide, gelatin, chitosan และ sodium carboxymethylcellulose เป็นต้น

มีงานวิจัยเกี่ยวกับการนำผงบุกกลูโคแมนแนนมาใช้ในกระบวนการเอนแคปซูลेशन Nussinovitch (2004) รายงานว่ากลูโคแมนแนนจากบุก เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ในกระบวนการทำไมโครแคปซูลเป็นสารเคลือบหรือห่อหุ้มของเหลว เช่น เอนไซม์ สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological agent) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmaceutical agent) และฤทธิ์ทางระบบภูมิคุ้มกัน (immunological agent) โดยมีความหนาเพียงพอที่จะสามารถกักเก็บของเหลวภายในไว้โดยไม่แตกออกเมื่อได้รับอิทธิพลของอุณหภูมิช่วง -20 ถึง 90 องศาเซลเซียสได้ Yang, Xiao และ Ding (2009) ได้มีการผลิตไมโครแคปซูลเพื่อกักเก็บน้ำมันสวิตทอเรนท (sweet orange oil) โดยใช้สารเคลือบต่างๆ ได้แก่ กัมอะราบิก, มอลโตเดกซ์ตริน, สตาร์ชดัดแปร sodium octenyl succinate (SSOS) และผงบุกกลูโคแมนแนน (KGM) และใช้ tween80 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ นำไปผ่านกระบวนการโฮโมจีไนส์ จากนั้นนำอิมัลชันที่ได้ทำการอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิเข้าการอบแห้ง 160 องศาเซลเซียส พบว่าไมโครแคปซูลน้ำมันสวิตทอเรนทที่ใช้สารเคลือบกัมอะราบิก, KGM และ SSOS ได้ % Encapsulation yield ในการกักเก็บกลิ่นรสได้ดีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ได้ % Encapsulation yield มากกว่าการใช้มอลโตเดกซ์ตรินอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) และไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบกัมอะราบิก, KGM และ SSOS ได้องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันสวิตทอเรนทคล้ายกับน้ำมันสวิตทอเรนท

เริ่มต้นมากกว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และการใช้สัดส่วนสารเคลือบต่อน้ำมันที่ 2:1 และ 3:1 ได้ % Microencapsulation yield ต่ำ ส่วนการใช้สัดส่วนสารเคลือบต่อน้ำมันที่ 4:1, 5:1 และ 6:1 ทำให้ได้ % Microencapsulation yield ที่สูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารเคลือบต่อน้ำมันคือ 4:1 เนื่องจากการใช้สารเคลือบในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นมากกว่านี้ไม่ได้มีผลทำให้ % Microencapsulation yield สูงขึ้นแล้ว และการผสม KGM กับกัมอะราบิก 80:20 ทำให้ได้ % Microencapsulation yield ที่สูงขึ้นมากกว่าการใช้สารเคลือบเพียงตัวเดียว ส่วนการใช้ KGM ผสมกับมอลโตเดกซ์ทริน พบว่าจะทำให้ได้ % Microencapsulation yield ต่ำกว่าการใช้สารเคลือบกับอะราบิก KGM หรือ SSOS เพียงตัวเดียว เนื่องจากมอลโตเดกซ์ทรินไม่มีคุณสมบัติความเป็นอิมัลซิไฟเออร์

## 2.6 ผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบด

เนื้อปลาแช่แข็งและผลิตภัณฑ์จากปลาเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ประมงที่เป็นที่ต้องการของตลาดในปัจจุบัน เนื่องจากกระแสการบริโภคสินค้าอาหารเพื่อสุขภาพ ประกอบกับการเกิดโรคระบาดในสัตว์บก เช่น เนื้อวัว เนื้อไก่ ทำให้ผู้บริโภคบางกลุ่มหันมานิยมบริโภคเนื้อปลากันมากขึ้น ส่งผลให้อุตสาหกรรมอาหารผลิตภัณฑ์ประเภทปลาขยายตัวอย่างมากมีความต้องการสูงทั้งในประเทศและต่างประเทศ

เนื้อปลาบด (Minced fish) หมายถึง เนื้อปลาที่ผ่านกระบวนการทำให้ละเอียดโดยแยกหนังและกระดูกออก เนื้อปลาอาจมาจากการขูดด้วยมือหรือเครื่องรีดบดเนื้อปลา และจำหน่ายให้ผู้บริโภคในสภาพสดหรือเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์แปรรูปอื่นๆ เช่น ลูกชิ้น ไส้กรอก ซูริมิ เป็นต้น (สุทธิมา ไชยเชาว์, 2545; มกอช. 7411-2548) ในเนื้อปลามีความชื้น 75-83% ปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยมาก แต่มีปริมาณไขมันหลายชนิด ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ปลา เนื้อปลามีโปรตีนประมาณ 12-26% ปริมาณไนโตรเจนที่พบไม่ได้มาจากโปรตีนเพียงอย่างเดียว แต่อาจมาจากกรดอะมิโนอิสระ และจากด่างระเหยง่าย เช่น แอมโมเนีย ไตรเมทิลเอมีน ครีเอทีน กรดยูริก คาร์โบเนชั่น และฮีสตามีน เป็นต้น (บุษกร อุตริชาติ, 2550) ความเหนียวเป็นคุณสมบัติที่ต้องการสำหรับเนื้อปลาบด ความเหนียวจะขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนไมโอซิน ซึ่งทำให้เกิดความยืดหยุ่น เนื้อปลาแต่ละชนิดให้ความเหนียวแตกต่างกัน กรณีปลาน้ำจืด ปลาทราย และปลาสด ซึ่งเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง จัดเป็นปลาที่มีความเหนียวมากกว่าปลาชนิด

อื่น จึงนิยมนำมาทำทอดมันปลา และลูกชิ้นปลา นอกจากนี้ยังอาจมีการเติมแป้งและเกลือเพื่อช่วยเพิ่มความเหนียวให้กับลูกชิ้นมากยิ่งขึ้น (ชุตินา ไชยเชาวน์, 2545)

ไทยเป็นผู้นำตลาดผลิตภัณฑ์ประมงที่สำคัญของโลกในหลายรายการ ในช่วงปี 2538-2547 การส่งออกปลาแช่แข็งและผลิตภัณฑ์สุริมิของไทยมีอัตราการเติบโตเฉลี่ยร้อยละ 8.93 และในปี 2553 การส่งออกผลิตภัณฑ์เนื้อปลาแบบฟิลเลและแบบอื่น (รวมทั้งเนื้อปลาบด) มีมูลค่ากว่า 12,526 ล้านบาท (นุชจรินทร์ เกตุนิล, 2548; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) และมีแนวโน้มเติบโตขึ้นได้อีกมาก อย่างไรก็ตามการส่งออกของไทยยังคงมีข้อจำกัดด้านวัตถุดิบไม่เพียงพอต่อการส่งออก การตรวจเข้มงวดของประเทศปลายทางที่นำเข้า การถูกตีกลับสินค้าที่ไม่ได้มาตรฐาน รวมทั้งคู่แข่งจากประเทศเพื่อนบ้าน ดังนั้นคุณภาพมาตรฐานและความปลอดภัยของสินค้าจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึง เพื่อไม่ให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค รวมทั้งการถูกกีดกันทางการค้าสร้างความเสียหายให้กับประเทศได้

## 2.6.2 การเน่าเสียของเนื้อปลา

สัตว์น้ำประเภทปลาสามารถเกิดการเน่าเสียได้โดยปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) หรือเกิดจากจุลินทรีย์ ได้เช่นเดียวกับเนื้อสัตว์ประเภทอื่น แต่เนื้อปลาจะมีการเน่าเสียที่เร็วกว่า เนื่องจากมีความเป็นกรดต่ำกว่าเนื้อสัตว์บก จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีการซึมของน้ำออกจากเนื้อปลาอีกด้วย

แบคทีเรียที่อยู่ในแหล่งน้ำจะอาศัยเกาะตามผิวหนังของปลา เหงือก และลำไส้ปลา เมื่อปลาทายลงเนื้อเยื่อของปลาจะกลายเป็นอาหารของแบคทีเรีย แบคทีเรียจะสร้างน้ำย่อยออกมาเพื่อละลายเนื้อเยื่อของปลาแล้วนำไปใช้ในการเจริญเติบโตแพร่พันธุ์ และถ่ายของเสียออกมาไว้แทน ปลาจะเน่าเสียเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับจำนวนแบคทีเรียที่มีอยู่บนตัวปลา อุณหภูมิตัวปลา ระยะเวลาหลังปลาทาย รวมทั้งความสะอาดและขั้นตอนการผลิต เมื่อเนื้อปลาเน่าเสีย สีของปลาจะซีด มีสีเหลืองหรือน้ำตาลเกิดขึ้น และมีเมือกเพิ่มขึ้น เนื้อปลานิ่มและ มีน้ำซึมออกมาจากเนื้อ เนื้อปลาฉีกขาดง่าย และถ้าปลาที่มีไขมันสูง อาจมีกลิ่นเหม็นหืนเกิดขึ้น (มัทนา แสงจินดา วงษ์, 2545; บุษกร อุตรักษาติ, 2550)

## 2.6.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ปลา

การใช้จุลินทรีย์เป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษาเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่ง เพื่อควบคุมคุณภาพ มาตรฐานและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ปลาต่อผู้บริโภค มัทนา แสงจินดา วงษ์ (2545) ได้แบ่งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้กำหนดในมาตรฐานอาหารไว้ดังนี้

**2.6.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนี (Indicator organism)** บ่งชี้ถึงความสด ความสะอาดของผลิตภัณฑ์ สุขลักษณะของโรงงานและพนักงาน ซึ่งจะก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคเมื่อมีปริมาณมากเกินไปเกินกำหนด ซึ่งได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ (aerobic plate count, APC), *Escherichia coli*, fecal streptococci

*Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform group) จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระ การพบเชื้อนี้ในอาหารแสดงถึงมีการปนเปื้อนจากอุจจาระอาจโดยตรงหรือทางอ้อม เชลเป็นรูปท่อนหรือแท่งสั้น แบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ หมักน้ำตาลแล็กโทส ให้กรดและแก๊ส ให้ผลลบเมื่อทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิช่วง 10 ถึง 45 องศาเซลเซียส แหล่งที่อยู่ในดิน น้ำ ผัก ผลไม้ ลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น การเป็นพิษของแบคทีเรียพวกนี้ ทำให้เด็กท้องเดินและอาจตายได้ บางสายพันธุ์สามารถทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่ได้

**2.6.3.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่อผู้บริโภค (Pathogenic organism)** จุลินทรีย์บางชนิดอันตรายสูงต่อสุขภาพของผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคซึ่งใช้ในการกำหนดมาตรฐาน ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Virio cholerae* ในที่นี้ขอกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะแบคทีเรียที่เป็นโทษที่มีโอกาสปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาสดแช่เย็นและแช่แข็ง ได้แก่

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมเกาะกันเป็นสายสั้นๆ หรือคล้ายพวงของุ่น ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 4 องศาเซลเซียส และในอาหารที่มีความเป็นกรด-เบส 4.2 ถึง 9.3 และเจริญได้ที่ทั้งภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจน และมีค่า water activity ในช่วง 0.83 ถึง 0.94 มีความต้านทานความร้อนสูง  $D_{60}$  (Decimal reduction time ที่ 60 องศาเซลเซียส) ในน้ำเกลือต้องใช้เวลา 2 นาที จึงจะทำลายได้หมด สามารถอยู่ในที่เย็นและแห้งได้เป็นระยะเวลาานาน *Staphylococcus aureus*

พบได้ทั่วไปในบรรยากาศ ในสัตว์ และร่างกายคน เช่น จมูก ผิวหนัง แผล เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ปลาที่มีการแปรรูป เนื่องจากคนงานต้องสัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง ถ้าสุขลักษณะไม่ดีก็มีโอกาสที่เชื้อจะปนเปื้อนไปสู่ผลิตภัณฑ์อาหารได้ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการให้ความร้อนในระดับปานกลางอาจทำให้มีเชื้อหลงเหลืออยู่ได้และหากมีสารพิษเหลืออยู่ เมื่อผู้บริโภคบริโภคสารพิษเข้าไปอาจทำให้เกิดโรคขึ้นได้ ดังนั้นจึงต้องควบคุมสุขลักษณะของพนักงานและอุณหภูมิของวัตถุดิบให้ดี

*Salmonella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นท่อนเล็ก ๆ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่ทนความร้อน สามารถทำลายได้ในระยะเวลาไม่นาน จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งมีหลาย serotypes ทุก serotypes ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยปกติ *Salmonella* มักพบในสัตว์ปีกและสัตว์เนื้อ แต่ถ้าพบในสัตว์น้ำแสดงว่าแหล่งน้ำที่สัตว์อาศัยอยู่นั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ ซึ่งอาจมาจากอุจจาระของคนหรือสัตว์ *Salmonella* สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในที่เย็นและทนอยู่ได้ในอาหารแช่แข็ง เมื่อนำอาหารมาละลายแล้วนำไปรับประทานโดยไม่ปรุงสุกอาจทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

*Vibrio cholerae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่ทนความร้อน เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรค ในผลิตภัณฑ์ปลาจะพบการปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้มาจากแหล่งน้ำที่มีการระบาดของโรคนี้ มักพบการระบาดของโรคในช่วงฤดูร้อน อาการของโรคจะมีการปวดท้อง ท้องเดินอย่างรุนแรง ถ่ายอุจจาระเหลวสีเหมือนน้ำข้าวขำ ผู้ป่วยอาจตายเนื่องจากเสียเกลือแร่ในร่างกายไปมาก เชื้อชนิดนี้สามารถทำลายได้หมดในอุณหภูมิน้ำเดือด

**2.6.3.3 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage organism)** จุลินทรีย์กลุ่มนี้ เมื่อปนเปื้อนในอาหารทำให้อาหารนั้นเสียและอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonads* เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารที่เก็บในตู้เย็น *Pseudomonads* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลเจลลาที่ส่วนหัว เจริญได้ในที่มีอากาศเท่านั้น พบตามธรรมชาติในน้ำและดิน เป็นแบคทีเรียไม่ทนต่อความร้อน สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียส บางชนิดเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส *Pseudomonads* ที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของอาหารพบได้ในดิน แหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม ได้แก่ *P. ambigua*, *P. coharens*, *P. convexa*, *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. incognata*, *P. ovalis*, *P. perolens* และ *P. putrefaciens* (Thatcher and Clark, 1978 อ้างถึงใน มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2545)

## 2.7 การเปลี่ยนแปลงผลิตภัณฑ์อาหารผงในระหว่างการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ คือช่วงระยะเวลาของการเก็บรักษาตั้งแต่ผลิตภัณฑ์นั้น ถูกผลิตขึ้นจนกระทั่งผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงเสื่อมเสียคุณภาพไปจนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะของตัวผลิตภัณฑ์เอง ภาชนะบรรจุที่ใช้ และสภาวะในการเก็บรักษาด้วย (อุษา สิทธิสาร, 2549) ซึ่งจะส่งผลทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารผงเกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านต่างๆดังนี้

### 2.7.1 ความชื้น

เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาสั้นๆ ผลิตภัณฑ์จะมีความชื้นสูงขึ้น มวลผลิตภัณฑ์ จะเกิดการจับตัวเกาะกันเป็นก้อนแข็งได้ง่าย และจะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงต่างๆได้ด้วย ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมักจะดูดความชื้นได้เร็ว เนื่องจากโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุน ทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของผลิตภัณฑ์ได้ง่าย โดยเกิดการเชื่อมโยงของ ส่วนของเหลวที่เข้มข้นระหว่างอนุภาค และเมื่อส่วนของเหลวที่เชื่อมโยงกันเกิดการแข็งตัว กลายเป็นของแข็ง ทำให้อนุภาคติดกันและทำลายสมบัติการไหลอย่างอิสระของผลิตภัณฑ์ (free flowing property) นอกจากนี้ยังอาจส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียสารให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีการยุบตัวของผนังอนุภาคผง ทำให้สารให้กลิ่นรสที่ถูกกักเก็บไว้ถูกปลดปล่อยออกมาได้ (ประศาสตร์ พุตระกูล, 2545; อุษา สิทธิสาร, 2549) ดังนั้นการควบคุมความชื้นของผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในระดับต่ำจึงมีความสำคัญมากต่ออายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากช่วยป้องกันการจับตัว เป็นก้อน และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากปฏิกิริยาต่างๆด้วย Prakittachakul (2525) รายงานว่า การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มะนาวผงในซองอลูมิเนียม (laminated aluminium foil) สามารถช่วยรักษา ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในระดับต่ำกว่าการใช้ของพลาสติกพอลิเอธิลีน (PE) นอกจากนี้การบรรจุผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศ สามารถช่วยป้องกันไม่ให้ความชื้นเกิดการ เปลี่ยนแปลงไปมาก (ประศาสตร์ พุตระกูล, 2545) เช่นเดียวกับ วรณีย์ มาวิมล (2545) ศึกษาการ ผลิตมะนาวผงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่บรรจุในถุงอลูมิเนียม พอลิแบบสุญญากาศ เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าความชื้นไม่มีความแตกต่างกัน

### 2.7.2 การละลาย

ประศาสตร์ พุตระกูล (2545) รายงานว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ต้อง ใช้เวลาในการละลายมะนาวผงเพิ่มขึ้น เนื่องจากมะนาวผงมีสมบัติ hygroscopic มาก



เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดการจับตัวเป็นก้อน จึงทำให้ต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้นในการละลาย  
 วรณดี มาวิมล (2545) พบว่ามะนาวผงที่บรรจุแบบสุญญากาศในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บรักษา  
 เป็นเวลา 6 เดือนที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่าความสามารถในการละลายของ  
 มะนาวผงมีค่าลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ทั้ง 2 อุณหภูมิ  
 เช่นเดียวกับ อมรรัตน์ ตั้งสกุล (2550) ศึกษาอายุการเก็บของไมโครแคปซูลโพลิโอเรซิน  
 หอมหัวใหญ่ที่บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ามีค่าการละลายไม่แตกต่างกัน  
 ทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

### 2.7.3 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การเกิดออกซิเดชันเป็นการเสื่อมเสียที่พบบ่อยมากในอาหารแห้งที่มีองค์ประกอบไขมัน  
 ในสถานะที่มีออกซิเจน โดยออกซิเจนทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ตำแหน่งพันธะคู่หรือ  
 พันธะสาม ทำให้โมโนเมอร์ ไดเมอร์ และพอลิเมอร์ของไขมันมีระดับการออกซิไดส์สูงขึ้น เกิดสาร  
 ไดเมอร์ และพอลิเมอร์ที่ไม่มีขั้ว และเกิดสารประกอบที่ระเหยได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีสีคล้ำ  
 เกิดสารและกลิ่นที่ไม่ต้องการ ซึ่งความเข้มของแสง ความชื้น และอุณหภูมิ มีผลต่อการเกิด  
 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (นฤชยา โพธิ์เทศ, 2552; พรเทพ เมฆารักษ์ภิญโญ, 2537) การเกิดปฏิกิริยา  
 ออกซิเดชันของไขมันหรือการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันหอมระเหย ส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่ผิดปกติ  
 รวมทั้งการสูญเสียสารสำคัญบางชนิด Tatum, Show และ Bergy (1967) พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลง  
 ของลิโมนีนในระหว่างกระบวนการให้ความร้อนแก่สารละลายในการผลิตน้ำส้มผอง และ  
 หลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง โดยเกิดสารเฟอร์ฟูรอลและไดอะซีทิลในน้ำส้ม  
 ผองขึ้น นอกจากนี้ Hardas และคณะ (2002) กล่าวว่าน้ำมันที่อยู่บริเวณผิวของอนุภาคไมโคร  
 แคปซูลมีผลต่อความเสถียรของไมโครแคปซูล เนื่องจากน้ำมันที่ผิวส่วนนี้ไม่ถูกปกป้องจึงสามารถ  
 เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้มาก Partanen และคณะ (2005) ได้ศึกษาการทำไมโคร  
 แคปซูลน้ำมันเมล็ดชี่บักทอร์นจากสารเคลือบสตาร์ชออกทีนดิสซัลไฟด์ และมอลโทเดกซ์ทริน  
 ผสมกับอะราบิก พบว่าความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไมโครแคปซูล  
 ด้วยเช่นกัน เมื่อความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นส่งผลให้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วขึ้น โดย  
 ความชื้นสัมพัทธ์มีผลทำให้โครงสร้างของไมโครแคปซูลยุบตัว เกิดการซึมผ่านออกซิเจนเข้าไป  
 ภายในไมโครแคปซูล ทำให้น้ำมันภายในเกิดออกซิเดชันได้เร็วขึ้น

## 2.7.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลมีผลต่อคุณลักษณะและคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้ ซึ่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารแห่งที่ผ่านความร้อนสูงและมีองค์ประกอบของโมเลกุลของน้ำตาลจะเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic browning reaction) สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ การเกิดคาราเมลไลเซชัน (caramelization) และการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)

ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน เป็นการใช้ความร้อนสูงสลายโมเลกุลของน้ำตาลให้แยกออก (thermolysis) และเกิดพอลิเมอร์เซชันของสารประกอบคาร์บอนได้เป็นสารสีน้ำตาล ส่วนปฏิกิริยาเมลลาร์ด เกิดจากน้ำตาลแอลโดสหรือคีโตสซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซิงกับเอมีน เมื่อได้รับความร้อนในภาวะที่มีน้ำเพียงเล็กน้อย จะทำให้เกิดสารประกอบต่างๆ หลายชนิด ซึ่งมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของอาหาร ปฏิกิริยาเหล่านี้เกิดขึ้นในขณะที่ให้ความร้อนหรือระหว่างการเก็บรักษา โดยน้ำตาลรีดิวซิงจะทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนในโมเลกุลของแอมโมเนีย กรดอะมิโน และโปรตีน ได้เป็นไกลโคซิลเอมีน (N-substituted glycosylamine) และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้สารสีน้ำตาล (นิธิยา รัตนพานนท์, 2551) ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และความเข้มข้นของสารที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา (อุษา สิทธิสารถ, 2549) ความชื้นที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น ประศาสตร์ พุทธระกูล (2545) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ค่าความสว่างของมะนาวผงดกลดลง น้ำมะนาวจากมะนาวผงมีสีน้ำตาลมากขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกและการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ทั้งในภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ อุษา สิทธิสารถ (2549) เมื่อเก็บน้ำผึ้งผงไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง พบว่าน้ำผึ้งผงคั้นรูปจะมีค่าสี L ลดลง และหลังจากเดือนที่ 6 เป็นต้นไป น้ำผึ้งคั้นรูปที่เก็บที่อุณหภูมิห้องจะมีค่าสี L ต่ำกว่าน้ำผึ้งคั้นรูปที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับค่า a และ b มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิสูงจะเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น ภัทรี ทิพยรักษ์ (2549) รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 35 องศาเซลเซียส เป็น 55 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำมากขึ้นด้วยเช่นกัน

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ จุลินทรีย์ อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

- น้ำมันหอมระเหยมะกรูด (บริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
- ผงบุกกลูโคแมนแนน (บริษัท Yunnan Genyun Konjac Resource Corp., ประเทศจีน)
- กัมอะราบิก (food grade) (บริษัท จัมโบ้ อคาเซีย จำกัด, ประเทศไทย)
- เนื้อปลาทรายบด (ตลาดสดมีนบุรี กรุงเทพฯ)

##### 3.1.2 จุลินทรีย์

*Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ปทุมธานี) *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 และ *Vibrio cholerae* O1 Eltor Inaba DMST 16261 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (นนทบุรี) *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

##### 3.1.3 สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ/วัสดุ

- Cellulase E.C. 3.2.1.4 (*Trichoderma reesei* ATCC 26921) (บริษัท Sigma-Aldrich, ประเทศอเมริกา)
- Limonene, analytical standard (ยี่ห้อ Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- Beta-Pinene, analytical standard (ยี่ห้อ Fluka, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- Tween 20 (บริษัท VWR International, ประเทศอังกฤษ)
- Tween 80 (บริษัท VWR International, ประเทศอังกฤษ)

- เอทานอล 95% (บริษัท ห้าอุตสาหกรรม, ประเทศไทย)
- Tetracycline disc (บริษัท Becton, Dickinson and Company, ประเทศอเมริกา)
- Paper Disc ขนาด 6 มิลลิเมตร (บริษัท Whatman International, ประเทศอังกฤษ)
- Mueller Hinton Agar (บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย)
- Mueller Hinton Broth (บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย)
- Nutrient Agar (บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย)
- Nutrient Broth (บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย)
- Plate Count Agar (บริษัท Merck, ประเทศเยอรมนี)
- Peptone water (บริษัท Merck, ประเทศเยอรมนี)
- *E. coli* / Coliform Count Plate (บริษัท 3M PetrifilmTM, ประเทศอเมริกา)
- Staph Express Count (บริษัท 3M PetrifilmTM, ประเทศอเมริกา)
- กระดาษกรอง (บริษัท Whatman International, ประเทศอังกฤษ)
- ถุงอลูมิเนียมฟอยล์ PET/AL/PE ความหนา 12/7/40 ไมครอน (บริษัท เจนจรัสเคมี ซัพพลาย จำกัด, ประเทศไทย)

### 3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- เครื่องกวนผสม (Mixer) รุ่น RW 20 Digital (ยี่ห้อ IKA, ประเทศเยอรมนี)
- เครื่องตีผสมแรงดันสูง (Homogenizer) Ystral รุ่น D79282 (บริษัท Ballrechten-Dottingen, ประเทศเยอรมนี)
- เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย Buchi mini spray dryer รุ่น B-290 (บริษัท BUCHI Labortechnik AG, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- เครื่องวัด water activity analyzer รุ่น MS1 (ยี่ห้อ Novasina, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- เครื่องวัดสี chroma meter รุ่น CR-400 (บริษัท Minolta, ประเทศญี่ปุ่น)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น 5310 (บริษัท Kubota, ประเทศญี่ปุ่น)

- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Shaking Water Bath) (ยี่ห้อ GFL, ประเทศเยอรมนี)
- เครื่องตีบดผสมตัวอย่าง (Stomacher) รุ่น 400 (บริษัท Seward, ประเทศอังกฤษ)
- เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AB 204 (บริษัท Mettler Toledo, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) รุ่น SS-320 (บริษัท Tomy Seiko, ประเทศญี่ปุ่น)
- ตู้อบแห้ง (บริษัท WTB Binder, ประเทศเยอรมนี)
- เครื่องเขย่า (Shaker) Innova รุ่น 2000 (บริษัท New Brunswick Scientific, ประเทศอเมริกา)
- Micropipette ขนาด 2-20 ไมโครลิตร รุ่น 4500 (ยี่ห้อ Finnpiette, ประเทศอเมริกา)
- Micropipette ขนาด 20-200 ไมโครลิตร (ยี่ห้อ BIOHIT, ประเทศฟินแลนด์)
- Micropipette ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร (ยี่ห้อ BIOHIT, ประเทศฟินแลนด์)
- Micro-burette
- จานแก้ว Conway
- Mutivac (บริษัท Multivac Sepp Haggemüller GmbH & Co., ประเทศเยอรมนี)
- เครื่อง Gas chromatography with flame Ionization detector (GC-FID) รุ่น 19091J-413 (ยี่ห้อ Agilent, ประเทศอเมริกา)
- เครื่อง Gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) รุ่น 19091J-433 (ยี่ห้อ Agilent, ประเทศอเมริกา)
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น JSM-5800 LV (ยี่ห้อ JEOL, ประเทศญี่ปุ่น)
- เครื่อง Ultrasonic Bath (Sonicator) (ยี่ห้อ Fisher Scientific, ประเทศเยอรมนี)

## 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 การประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

#### 3.2.1.1 การเตรียมจุลินทรีย์

เลี้ยงจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ loop ที่ผ่านการเผาไฟ เชื้อเชื้อ Streak ในจานอาหารเพาะเชื้อ nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ loop เชื้อโคโลนีเดี่ยว เก็บใน slant เอียง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับเป็น stock เชื้อไว้ใช้ต่อไป (กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกันโดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) (วัลย์รัตน์ จันทรปานนท์, 2547)

ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากตัวอย่างที่เก็บไว้มา Streak ในplateที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยว โดยใช้loopเชียวโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนี นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton Broth (MHB) ปริมาตร 35 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และเจือจางให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7 log CFU/ml (กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

หมายเหตุ ตรวจนับปริมาณเชื้อเริ่มต้น ด้วยการปิเปตเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร เจือจางในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และเจือจางในหลอดถัดไปให้ได้ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นปิเปต 0.1 มิลลิลิตรในแต่ละหลอดลงในจานอาหารเพาะเชื้อ MHA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมปลอดเชื้อ Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 25-250 โคโลนี ทดลอง 2 ซ้ำ(กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) (อากาศร สุภาพิพัฒน์, 2551)

### 3.2.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยมะกรูดในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี agar dilution

เตรียมน้ำมันหอมระเหยมะกรูดความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2,... ถึง 1 โดยน้ำหนัก ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่หลอมเหลวและ Tween 20 ร้อยละ 0.4 จากนั้นเทบนจานเพาะเชื้อรอกจนอาหารแข็งตัว จากนั้นหยดเชื้อแบคทีเรีย (ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 7 log CFU/ml) ปริมาตรตำแหน่งละ 2 ไมโครลิตร ใช้จานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MHA และ Tween 20 โดยไม่ผสมน้ำมันมะกรูดเป็นตัวอย่างควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตความหนาแน่นของโคโลนีที่เจริญเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยค่า MIC คือช่วงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันมะกรูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) (Mayachiew and Devahastin, 2008)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

### 3.2.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยมะกรูดในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (Disc diffusion method)

ใช้ sterile cotton swab จุ่มเชื้อแบคทีเรีย (ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 7 log CFU/ml) เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA จากนั้นนำ sterile paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) จุ่มน้ำมันหอมระเหยมะกรูดและวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ใช้ Tetracycline เป็น positive control บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ด้วยเครื่องวัดเวอร์เนีย (กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) (Ponce *et al.*, 2003)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.1.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด ได้แก่  $\beta$ -Pinene และ Limonene โดยวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดด้วยเทคนิค GC-MS และวิเคราะห์หาปริมาณสาร  $\beta$ -Pinene และ Limonene โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ด้วยเทคนิค GC-FID (ภาคผนวก ก.1)

3.2.2 การศึกษากระบวนการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย

3.2.2.1 การเตรียมสารเคลือบและน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

เตรียมสารละลายสารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 9 โดยน้ำหนัก จากผงบุกกลูโคแมนแนน (KGM) และผงบุกกลูโคแมนแนนผสมกับกัมอะราบิก (KGM-GA) โดยย่อยสารละลายบุกกลูโคแมนแนนด้วยเอนไซม์เซลลูเลสก่อน ในอัตราส่วนเอนไซม์ 4.2 ยูนิตต่อผงบุก 1 กรัม ระหว่างการย่อยให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 ชั่วโมง

สูตรที่ 1 กรณีของสารเคลือบ KGM อย่างเดียว หลังจากย่อยสารละลายบุกเป็นเวลา 7 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส 20 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นเติม Tween 80 ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก เพื่อเป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer 5 นาที ในส่วนสูตรที่ 2 สารเคลือบ KGM-GA หลังจากย่อยสารละลายบุกเป็นเวลา 7 ชั่วโมง เพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ และเติมกัมอะราบิก ระหว่างการกวนผสมให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนที่ใช้ดังตารางที่ 3.1

หลังจากนั้นนำตัวอย่างสารเคลือบที่เตรียมได้ เติมน้ำมันหอมระเหยมะกรูดร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม 5 นาที และเครื่อง homogenizer 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปอบแห้ง (ดัดแปลงจาก Yang, Xiao and Ding, 2009)



**ตารางที่ 3.1** อัตราส่วนของสารละลายอิมัลชันก่อนนำไปอบแห้งแบบพ่นฝอย

ส่วนประกอบ	สูตร 1 (%)	สูตร 2 (%)
ผงบุกกลูโคแมนแนน (KGM)	9.0	7.2
กัมอาระบิก (GA)	-	1.8
น้ำมันหอมระเหยมะกรูด	2.0	2.0
น้ำ	89.0	89.0

### 3.2.2.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย

3.2.2.2.1 คัดเลือกสารเคลือบที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูด จากสารเคลือบ KGM และ KGM-GA โดยใช้การอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ภาวะอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส อุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส นำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่ได้บรรจุแบบสุญญากาศในถุงออลูมิเนียมฟอยล์ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพต่อไป ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-test

3.2.2.2.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการอบแห้งแบบพ่นฝอยของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูด โดยเตรียมสารเคลือบที่คัดเลือกได้จาก 3.2.2.2.1 จากนั้นนำไปอบแห้งแบบพ่นฝอยแปรอุณหภูมิอากาศขาเข้าที่ 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส อุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส นำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่ได้บรรจุแบบสุญญากาศในถุงออลูมิเนียมฟอยล์เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

### 3.2.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผงไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

- ปริมาณสาร  $\beta$ -Pinene และ Limonene ในน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูล วิเคราะห์โดยใช้ผงไมโครแคปซูล 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 5 มิลลิลิตร และตัวทำละลายเฮกเซน 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง Ultrasonic Bath (Sonicator) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเปิดเฉพาะสารละลายในชั้นเฮกเซนแยกออกมา เขย่าให้เข้ากัน (Yang *et al.*, 2009) และฉีดเข้า GC-FID (ภาคผนวก ก.1) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสาร  $\beta$ -Pinene และ Limonene โดยเทียบกับสารมาตรฐาน

- ร้อยละผลได้ (%yield) คำนวณตามสมการที่ 1

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักไมโครแคปซูลที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (KGM + GA + น้ำมันหอมระเหยมะกรูด)}} \quad (1)$$

- ค่า water activity ( $a_w$ ) วัดด้วยเครื่อง water activity analyzer
- ค่าความชื้น (ภาคผนวก ก.2)
- ค่าการละลาย (water solubility index, WSI) (ภาคผนวก ก.3)
- ค่าความแตกต่างสี ระบบ CIE  $L^*a^*b^*$  วัดด้วยเครื่อง chroma meter
- ปริมาณน้ำมันทั้งหมด (% total oil) วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Clevenger apparatus (ภาคผนวก ก.4)

- ปริมาณน้ำมันที่ผิวของไมโครแคปซูล (% surface oil) วิเคราะห์ด้วย Soxhlet extraction method (ภาคผนวก ก.5)

- ปริมาณน้ำมันที่ถูกกักเก็บ (% inner oil) วิธีคำนวณตามสมการที่ 2

$$\% \text{ inner oil} = \% \text{ total oil} - \% \text{ surface oil} \quad (2)$$

- ลักษณะปรากฏที่ได้ วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) (ภาคผนวก ก.6) และวัดขนาดอนุภาคจากภาพถ่าย SEM ด้วยเครื่องวัดเวอร์เนีย และคำนวณกลับเทียบอัตราส่วนกับขนาดจริงในภาพ

- ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผงไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูด วิเคราะห์ด้วยวิธี disc diffusion ทดสอบเช่นเดียวกับน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

โดยใช้ sterile paper disc จุ่มในไมโครแคปซูลที่ละลายน้ำ โดยมีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก

คัดเลือกไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกูดที่มีลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด 1 สูตร นำมาวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี agar dilution เช่นเดียวกับการทดสอบน้ำมันหอมระเหยมะกูด

เตรียมไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นน้ำมันมะกูดช่วงร้อยละ 0.1, 0.2,... ถึง 1 โดยน้ำหนัก (คำนวณจากปริมาณน้ำมันทั้งหมดในไมโครแคปซูล) ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่หลอมเหลว และเทบนจานเพาะเชื้อรองอาหารแข็งตัว จากนั้นหยดเชื้อแบคทีเรีย (ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 7 log CFU/ml) ปริมาตรตำแหน่งละ 2 ไมโครลิตร ใช้จานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MHA โดยไม่ผสมไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดเป็นตัวอย่างควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตความหนาแน่นของโคโลนีที่เจริญเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยค่า MIC คือช่วงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันมะกูดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (กรณี *Pseudomonas fluorescens* ทำเช่นเดียวกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) (ดัดแปลงจาก Mayachiew and Devahastin, 2008)

### 3.2.3 การนำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกูดไปใช้กับเนื้อพลาสติก เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

#### 3.2.3.1 การเตรียมเนื้อปลา

นำไมโครแคปซูลที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.2.2 มาคลุกผสมกับเนื้อปลากรายบด น้ำหนักตัวอย่างละ  $25 \pm 1$  กรัม บรรจุในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีน โดยใช้ปริมาณผงไมโครแคปซูลให้มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อปลากรายที่ไม่คลุกผสมไมโครแคปซูล เก็บในสภาวะที่มีอากาศอุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างตรวจทุก 3 วัน เป็นระยะเวลา 12 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

### 3.2.3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพและจุลินทรีย์ของเนือปลา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* (ภาคผนวก ข)
- ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (Total Volatile Basic Nitrogen; TVB-N) โดยวิธี Conway (ภาคผนวก ก.7)
- ค่าความชื้น (ภาคผนวก ก.2)
- การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (% storage loss) (ภาคผนวก ก.8)
- ค่าความแตกต่างสี ระบบ CIE  $L^*a^*b^*$  ของเนือปลาด้วยเครื่อง chroma meter

### 3.2.3.3 การประเมินการยอมรับของผู้บริโภค

คัดเลือกความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด จากการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพและจุลินทรีย์ของเนือปลาที่คลุกผสมไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกูดมา 1 สูตร นำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยประเมินลักษณะปรากฏด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผู้บริโภคต่อเนือปลาบดที่ใช้ไมโครแคปซูลและไม่ใช้ไมโครแคปซูล ด้วยวิธีทดสอบ 7-point hedonic scale โดยให้ผู้ประเมินจำนวน 50 คน (ภาคผนวก ก.9)

### 3.2.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกูด

นำไมโครแคปซูลที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.2.2 บรรจุใส่ถุงอูมิเนียมพอยล์ จำนวน 20 กรัม ปิดผนึกในสภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผงไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกูด ทุก 1 สัปดาห์ ทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

- ค่า  $a_w$  ด้วยเครื่องวัด water activity analyzer
- ค่าความชื้น (ภาคผนวก ก.2)
- ค่าการละลาย (ภาคผนวก ก.3)

- ค่าความแตกต่างสี ระบบ CIE  $L^*a^*b^*$  ด้วยเครื่อง chroma meter
- ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas fluorescens* ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูล โดยใช้วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3

วิเคราะห์ลักษณะปรากฏที่ได้ของไมโครแคปซูลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ภาคผนวก ก.6) ในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษา

วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

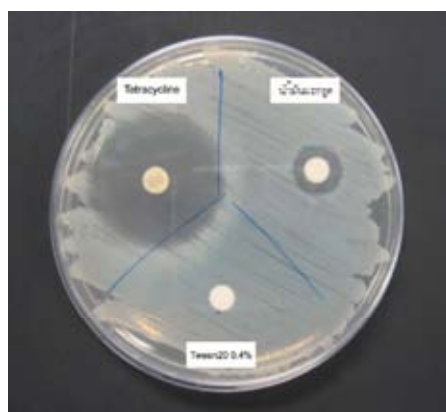
## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

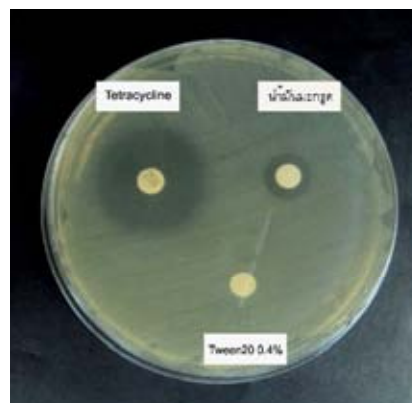
#### 4.1 การประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกูด

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยมะกูดต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholerae* ด้วยวิธีการทดสอบแบบ Disc diffusion ซึ่งพิจารณาจากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (clear zone) พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะกูดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยมากกว่า 8 มิลลิเมตร แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ทุกชนิดมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ (Ponce et al., 2003) ซึ่งค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของน้ำมันมะกูดอยู่ในช่วงระหว่าง 9.94-23.56 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.1) โดยที่น้ำมันมะกูดมีฤทธิ์ยับยั้ง *Vibrio cholerae* ได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย 23.56 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium และ *Pseudomonas fluorescens* ตามลำดับ และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันมะกูดโดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี agar dilution พบว่าน้ำมันมะกูดมีค่า MIC อยู่ในช่วงร้อยละ 0.4-0.7 โดยน้ำหนัก (ตารางที่ 4.1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fisher และ Phillips (2006) ที่ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar dilution พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะกูดฝรั่ง (*Citrus bergamia*) มีค่า MIC การยับยั้ง *Escherichia coli* O157 ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร อภากร สุภาพิพัฒน์ (2551) รายงานว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกูดต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium และ *Salmonella* Weltevreden ด้วยวิธี agar dilution อยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-0.6 โดยปริมาตรเช่นกัน Dabbah, Edwards และ Moats (1970) ศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas* sp. ได้ ส่วน De Castillo และคณะ (2000) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวสด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio cholerae* O1 ได้ดี สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio cholerae* O1 เริ่มต้นจำนวน  $10^6$  CFU/ml ได้หมดภายในเวลา 3 ชั่วโมง และจำนวน  $10^8$  CFU/ml มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง

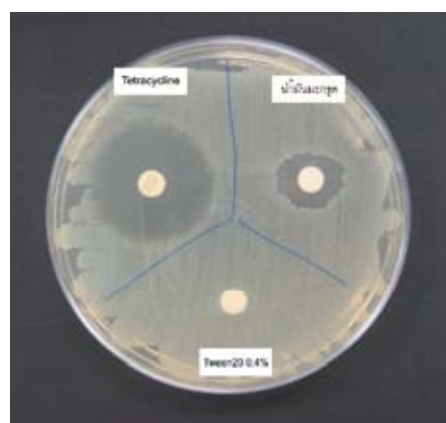
ภายใน 24 ชั่วโมง Lawrence และคณะ (1971) รายงานว่าน้ำมันจากผลมะกรูดมีองค์ประกอบหลักคือ  $\beta$ -pinene และ limonene ซึ่ง Sokovic และคณะ (2007) รายงานว่า limonene และ  $\beta$ -pinene สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* และ *Escherichia coli* แต่ไม่ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ได้ นอกจากนี้ Fisher และ Phillips (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มด้วยวิธี disc diffusion พบว่า น้ำมันเลมอน (*Citrus limon*) มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้มากกว่า *Escherichia coli* O157 แต่น้ำมันจากส้ม (*Citrus sinensis*) สามารถยับยั้ง *Escherichia coli* O157 ได้มากกว่า *Staphylococcus aureus* ทั้งนี้พืชในตระกูลส้มแต่ละชนิดจะให้ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีภายในที่แตกต่างกันของพืชแต่ละชนิดเอง รวมทั้งชนิดสายพันธุ์และความไวของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดสอบด้วย โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจากโครงสร้างแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) อีกชั้นหนึ่งซึ่งมีปริมาณไขมันสูงถึงร้อยละ 11-22 ทำให้สารต้านจุลินทรีย์ซึมผ่านไปได้ช้ากว่า แต่จากการศึกษาของสุภาภร ศรีเนาวรัตน์กุล (2552) พบว่าน้ำมันออริกาโน คาราครอล ลินาลอล สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบของสารที่มีความเข้มข้นน้อยหรือไม่มีขั้วอยู่ จึงสามารถละลายได้ดีในชั้นไขมันของผนังเซลล์แกรมลบ สามารถแพร่ผ่านเข้าไปทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรนได้ เช่นเดียวกับ ปทุม อรุณวัชรินทร์ (2551) ศึกษาการใช้สารสกัดจากสมุนไพรยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสัตว์พร้อมบริโภคน้ำมันมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella Typhimurium* ได้ดี นอกจากนี้ Fisher และ Phillips (2008) ได้รายงานที่น้ำมันจากพืชตระกูลส้มสามารถมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งจากการทดลองน้ำมันมะกรูดมีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆได้เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา และมีฤทธิ์ยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้เช่นเดียวกัน โดยความไวต่อการถูกทำลายที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะตัวโครงสร้างออกแกแนลภายในที่ซับซ้อนของแบคทีเรียแต่ละชนิดเองด้วย



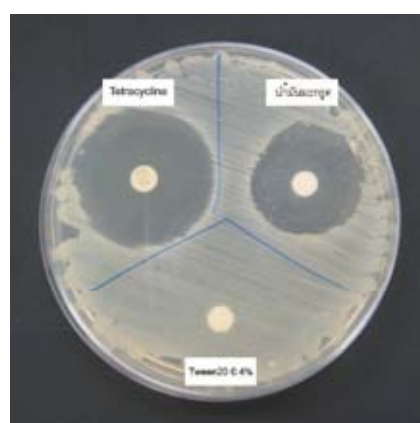
*Staphylococcus aureus*



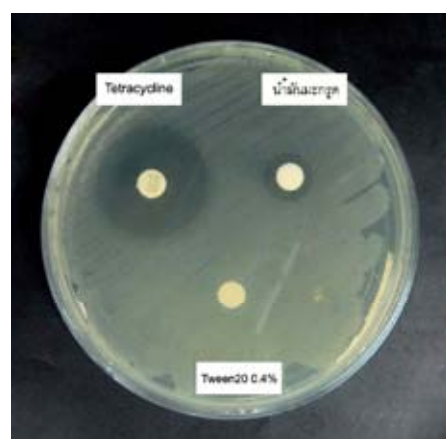
*Salmonella Typhimurium*



*E.coli*



*Vibrio cholerae*



*Pseudomonas fluorescens*

ภาพที่ 4.1 วงใส (clear zone) ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูด โดยวิธี disc diffusion ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

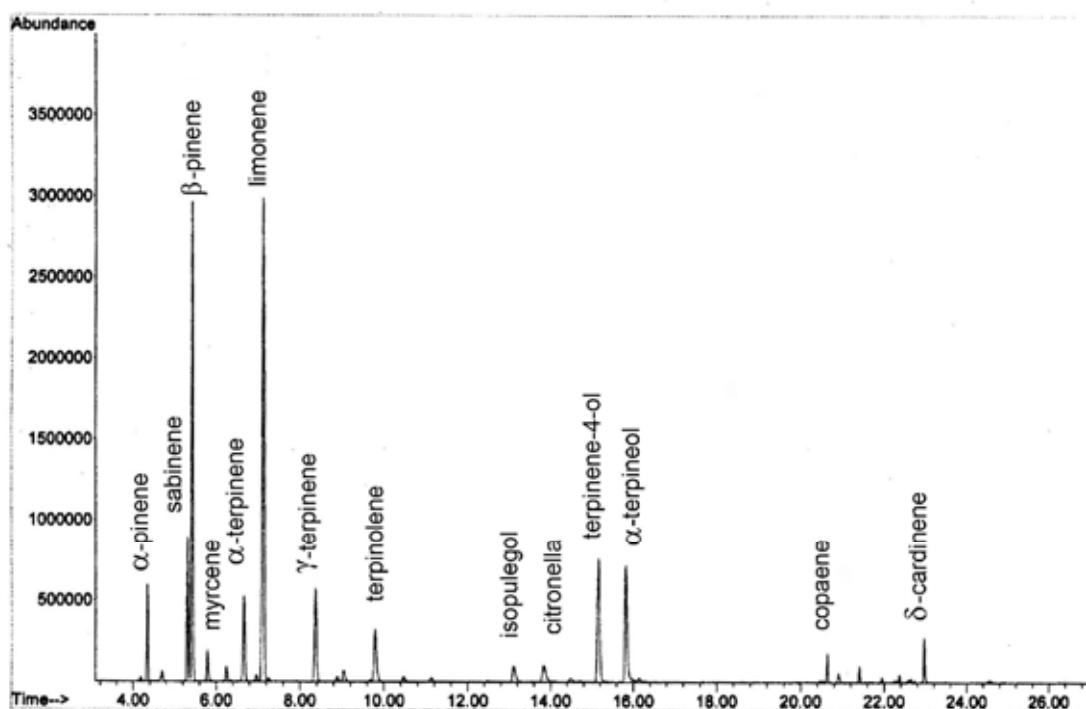


ตารางที่ 4.1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution และเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกรูดและยาปฏิชีวนะพื้นฐานด้วยวิธี disc diffusion (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร)

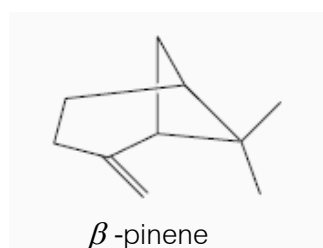
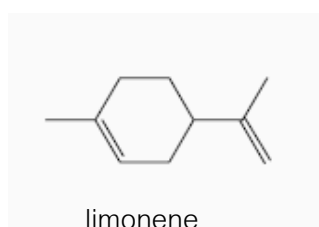
เชื้อจุลินทรีย์	น้ำมันมะกรูด		Tetracycline
	MIC (% w/w)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (mm)	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	11.03 ± 0.56 <sup>b</sup>	26.98 ± 1.10 <sup>b</sup>
<i>Salmonella</i> Typhimurium	0.5	10.36 ± 0.65 <sup>ab</sup>	22.97 ± 0.88 <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	0.5	13.85 ± 0.63 <sup>c</sup>	23.52 ± 0.92 <sup>a</sup>
<i>Vibrio cholerae</i>	0.4	23.56 ± 1.55 <sup>d</sup>	27.46 ± 1.77 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.7	9.94 ± 0.76 <sup>a</sup>	22.72 ± 0.70 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography and Mass Spectrometry, GC-MS) พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะกรูดมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดปริมาณเล็กน้อยแตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.2 โดยมีองค์ประกอบหลักคือ  $\beta$ -pinene และ limonene เช่นเดียวกับงานวิจัยของณัฐฐา เลหากุลจิตต์ และคณะ (2552) พบว่า  $\beta$ -pinene และ limonene เป็นสารหลักในน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดที่สกัดได้ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ยังพบองค์ประกอบสารชนิดอื่นซึ่งมีปริมาณตามลำดับดังนี้คือ sabinene, terpinene-4-ol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpinene, terpinolene,  $\delta$ -cadinene, copaene, myrcene, Isopulegol และ citronella และสารอื่นๆอีกหลายชนิดในปริมาณเล็กน้อย



ภาพที่ 4.2 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS



ภาพที่ 4.3 โครงสร้างขององค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด  
ที่มา : Insuan (2003)

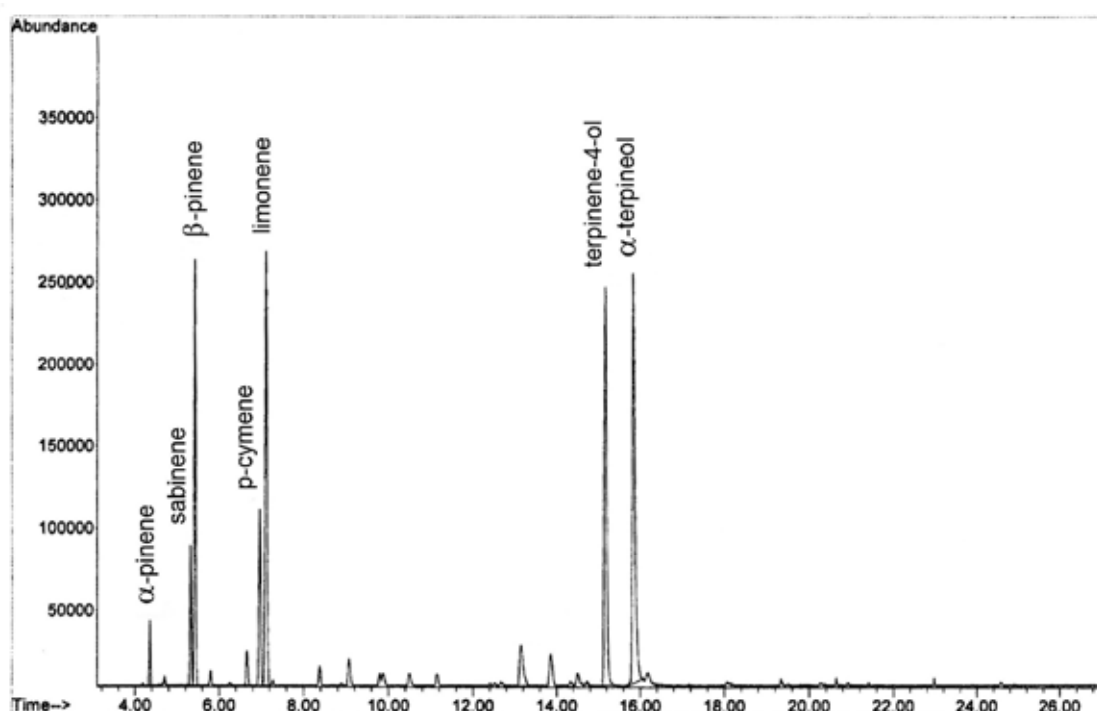
จากการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยมะกรูดในเชิงปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดตัวตรวจวัดเฟรมไอออไนเซชัน (Gas Chromatography/Flame Ionization Detector, GC-FID) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยมะกรูดมีปริมาณสาร limonene 38.78% และ  $\beta$ -pinene 36.62% Lawrence และคณะ (1971) รายงานว่าน้ำมันจากผลมะกรูดมีองค์ประกอบหลักคือ  $\beta$ -pinene 30.6%, limonene 29.2% และสารประกอบอื่นๆอีกหลายชนิด ส่วนจักรพันธ์ จุลศรีไกวัด และคณะ (2008) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่กลั่นด้วยไอน้ำมีองค์ประกอบหลักได้แก่ limonene 19.72%,  $\beta$ -pinene 19.01%, citronellal 15.20% และ sabinene 12.36% ทั้งนี้ องค์ประกอบทางเคมีที่สกัดได้จากพืชตระกูลส้มมีปริมาณสารมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับ

ปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก ฤดูกาล การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาและวิธีการสกัดด้วย (ชยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงส์, 2545) ซึ่งในงานวิจัยนี้พบว่า น้ำมันหอมระเหยมะกรูดมีปริมาณ limonene มากที่สุด รองลงมาคือ  $\beta$ -pinene และ sabinene ตามลำดับ และมี citronella ในปริมาณเล็กน้อย Dorman และ Deans (2000) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ พบว่าสารซึ่งเป็นองค์ประกอบแต่ละตัว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน โดย limonene มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ส่วน  $\beta$ -pinene สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ ส่วน Sokovic และคณะ (2007) รายงานว่า limonene และ  $\beta$ -pinene สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* และ *Escherichia coli* แต่ไม่ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* Bakkali และคณะ (2008) กล่าวว่าโดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติทางด้านชีวภาพมีองค์ประกอบพื้นฐานมาจากสารในกลุ่มเทอร์พีนและเทอร์พีนอยด์ โดยสารพวกเทอร์พีนซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในน้ำมันหอมระเหยมะกรูด สามารถที่จะระบวงวนและผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างส่วนที่เป็นไขมัน ทำลายฟอสโฟลิพิดบนเยื่อหุ้มเซลล์ เมมเบรนของแบคทีเรีย เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในไขมัน รวมทั้งทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายนำไปสู่การรั่วไหลของสารออกมานอกเซลล์ ไม่สามารถควบคุมการเข้าออกของสารต่างๆ เซลล์จึงสลายตัวและตายในที่สุด

#### 4.2 การศึกษากระบวนการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย

จากการทำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ผงบุกกลูโคแมนแนน (KGM) และสารเคลือบสองชนิดคือ ผงบุกกลูโคแมนแนนผสมกับกัมอะราบิก (KGM-GA) กักเก็บน้ำมันหอมระเหยมะกรูดร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก อบแห้งที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก 80 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันที่สกัดออกมาได้จากไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดด้วยเทคนิค GC-MS พบสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักเหลืออยู่ลดลงจากเริ่มต้น โดยมีปริมาณสารจากมากไปน้อยตามลำดับดังนี้ได้แก่ limonene,  $\beta$ -pinene  $\alpha$ -terpineol, terpinene-4-ol, *p*-cymene, sabinene และ  $\alpha$ -pinene และสารชนิดอื่นๆ เหลืออยู่ในปริมาณเล็กน้อย (ภาพที่ 4.4) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันลดลงจากเริ่มต้นมาก และมีสาร *p*-cymene เพิ่มขึ้นมาจากองค์ประกอบเริ่มต้น

ปริมาณสารที่ลดลงอาจเนื่องมาจากสารสำคัญเกิดการระเหยสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการอบแห้ง เช่นเดียวกับงานวิจัยของอาภากร สุภาพิพัฒน์ (2551) ศึกษาการทำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย พบว่ามีปริมาณสารสำคัญลดลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกระชายบริสุทธิ์ โดยพบองค์ประกอบเหลือเพียง 2 ชนิดหลังการทำแห้ง คือ แคมเฟอร์ และ เมทิลซินนาเมต ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ มีเหลืออยู่มายน้อยขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ความดันไอของสารระเหยแต่ละชนิด อุณหภูมิในการอบแห้ง รวมทั้งโครงสร้างของสารระเหยนั้น โดยสารในกลุ่มเทอร์พีนที่ไม่มีออกซิเจนในโมเลกุลจะเกิดการสูญเสียมากกว่ากลุ่มที่มีออกซิเจนในโมเลกุล เนื่องจากความสามารถในการระเหยที่แตกต่างกันและการเกิดออกซิเดชันในขณะอบแห้ง นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการอบแห้งสารระเหยบางส่วนอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารชนิดอื่นได้จากปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยมะกรูดเป็นสารในกลุ่มโมโนเทอร์พีนที่มีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุล สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายในภาวะที่มีความร้อน แสง และออกซิเจนเป็นตัวเร่ง จึงทำให้สารระเหยบางชนิดลดลงและกลายเป็นสารชนิดอื่นเพิ่มขึ้นได้ (พิชามญชุ์ สว่างสุข, 2551; Venskutonis, 1997) จากงานวิจัยของ Sawamura และคณะ (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันหอมระเหยเลมอน (*Citrus limon*) เมื่อเก็บไว้ในปัจจัยต่างๆ เช่น ภาวะอุณหภูมิสูง มีการสัมผัสอากาศและเก็บไว้เป็นเวลานาน พบว่าปริมาณ limonene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene, sabinene, myrcene ลดลง แต่มีสาร *p*-cymene, *cis*- และ *trans*- limonene oxide เพิ่มมากขึ้น ซึ่ง  $\gamma$ -terpinene สามารถเปลี่ยนฟอร์มกลายเป็น *p*-cymene จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือการเปลี่ยนรูปจาก limonene ไปเป็น  $\alpha$ -terpineol ได้ (Hiramoto, Tokoro and Kanisawa, 1999) Nguyen และคณะ (2009) ศึกษาอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันเลมอนพบว่าปริมาณ limonene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene,  $\alpha$ -terpinene มีแนวโน้มลดลง และนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ *p*-cymene และ limonene oxides เช่นเดียวกัน

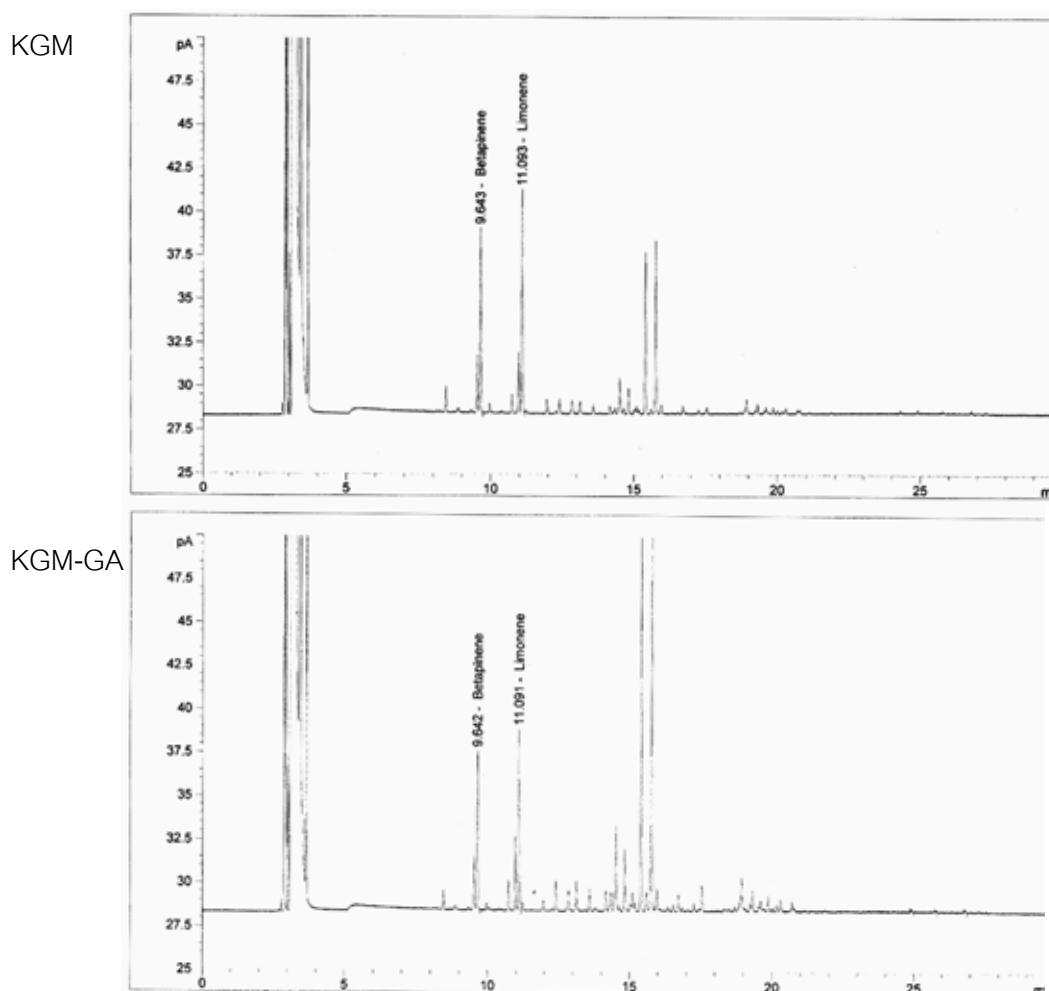


ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลจากสารเคลือบบุกเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องGC-MS

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบฟุ้งยอญอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

สารเคลือบ	$\beta$ -pinene		Limonene	
	% ในผงไมโครแคปซูล <sup>ns</sup>	% ในน้ำมันมะกรูด <sup>ns</sup>	% ในผงไมโครแคปซูล <sup>ns</sup>	% ในน้ำมันมะกรูด <sup>ns</sup>
KGM	0.20 ± 0.01	2.54 ± 0.09	0.24 ± 0.02	2.95 ± 0.30
KGM-GA	0.18 ± 0.02	2.20 ± 0.30	0.20 ± 0.03	2.44 ± 0.40

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ ns ในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-test



ภาพที่ 4.5 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารองค์ประกอบหลักด้วยเทคนิค GC-FID ของน้ำมันหอมระเหยมะกรูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM และ KGM-GA พบว่าสามารถกักเก็บสารสำคัญได้แก่  $\beta$ -pinene และ limonene ไว้ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่มีปริมาณสารสำคัญลดลงจากน้ำมันมะกรูดเริ่มต้นอย่างมาก (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5) โดยน้ำมันในไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM มีปริมาณ  $\beta$ -pinene และ limonene ลดลงจากน้ำมันมะกรูดเริ่มต้น 34.08% และ 35.83% ตามลำดับ ส่วนน้ำมันในไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA มีปริมาณ  $\beta$ -pinene และ limonene ลดลงจากน้ำมันมะกรูดเริ่มต้น 34.42% และ 36.34% ตามลำดับ และสังเกตเห็นได้ว่าโครมาโทแกรมของน้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM-GA (ภาพที่ 4.5) จะมีสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆเหลืออยู่มากกว่าโครมาโทแกรมของน้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียว แสดง

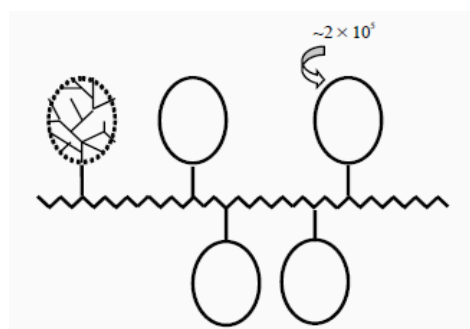
ว่าไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA สามารถกักเก็บสารได้มากกว่า เช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันทั้งหมดของไมโครแคปซูล (% total oil) จากวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง Clevenger apparatus และปริมาณน้ำมันที่ผิวของไมโครแคปซูล (% surface oil) จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ให้ปริมาณน้ำมันทั้งหมด (% total oil) สูง ปริมาณน้ำมันที่ผิวของไมโครแคปซูล (% surface oil) ต่ำ และปริมาณน้ำมันที่ถูกกักเก็บไว้ (% inner oil) สูงกว่าการใช้สารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 4.3) แสดงให้เห็นว่าไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA สามารถกักเก็บปริมาณน้ำมันมะกรูดไว้ได้ดีกว่า แต่ให้ลักษณะทางกายภาพ สี ความชื้น ค่า water activity ( $a_w$ ) ค่าการละลาย และปริมาณร้อยละผลได้ ไม่แตกต่างกับสารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียว ( $p > 0.05$ )

**ตารางที่ 4.3** ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผงไมโครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศเข้า 160 องศาเซลเซียส

ผลวิเคราะห์	สารเคลือบ	
	KGM	KGM-GA
ร้อยละผลได้ <sup>ns</sup>	42.95 ± 7.32	44.81 ± 5.03
Water activity <sup>ns</sup>	0.17 ± 0.09	0.14 ± 0.04
% ความชื้น <sup>ns</sup>	4.60 ± 1.33	4.35 ± 0.76
% Total oil (w/w)	32.26 ± 1.34 <sup>a</sup>	69.09 ± 6.47 <sup>b</sup>
% Surface oil (w/w)	30.87 ± 3.51 <sup>b</sup>	13.87 ± 0.62 <sup>a</sup>
% Inner oil (w/w)	4.43 ± 7.67 <sup>a</sup>	56.86 ± 4.31 <sup>b</sup>
ค่าการละลาย (WSI) <sup>ns</sup>	69.73 ± 3.14	69.06 ± 0.80
ค่าสี		
$L^*$ <sup>ns</sup>	77.20 ± 0.26	76.94 ± 0.10
$a^*$ <sup>ns</sup>	-1.00 ± 0.05	-0.99 ± 0.04
$b^*$ <sup>ns</sup>	1.69 ± 0.05	1.75 ± 0.04

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-test

ไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA มีปริมาณน้ำมันทั้งหมด (% total oil) และปริมาณน้ำมันที่ถูกกักเก็บไว้ (% inner oil) และปริมาณสารสำคัญชนิดอื่น ๆ มากกว่าการใช้สารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียว แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการกักเก็บสารที่ดีกว่า เนื่องจากกัมอะราบิก (GA) เป็นไฮโดรคอลลอยด์จากธรรมชาติซึ่งมีสมบัติความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ในตัวเอง มีส่วนโครงสร้างหลักเป็นคาร์โบไฮเดรตประกอบด้วยน้ำตาลและอนุพันธ์น้ำตาลหลายชนิดต่อและแตกกิ่งแขนงกัน และมีองค์ประกอบของโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 2 GA มีส่วนที่เป็นอะราบินอกาแลคแตนโปรตีน (arabinogalactan protein) ซึ่งเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนของโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ กลุ่ม arabinogalactan block มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ  $2 \times 10^5$  จะถูกเชื่อมต่อกันด้วยสายโพลีเปปไทด์ ตามแบบจำลอง wattle-blossom model (ภาพที่ 4.6)



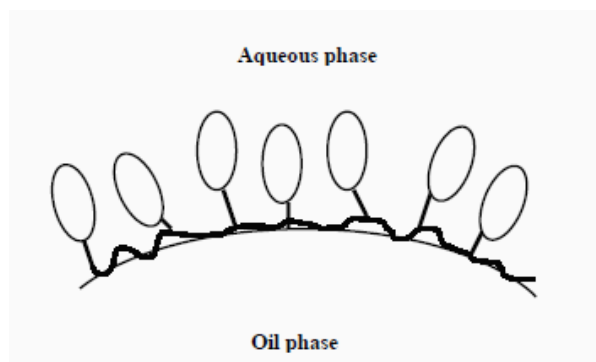
ภาพที่ 4.6 โครงสร้างแบบจำลอง wattle-blossom model ของกัมอะราบิก ซึ่งส่วนที่เป็นกลุ่ม arabinogalactan block จะถูกเชื่อมต่อกันด้วยสายโพลีเปปไทด์

ที่มา : Jayme และคณะ (1999)

เมื่ออยู่ในระบบอิมัลชันน้ำกับน้ำมัน บริเวณผิวสัมผัสระหว่างน้ำมันกับโมเลกุลน้ำมีแรงดึงผิวจึงไม่สามารถรวมตัวกันได้ กัมอะราบิกสามารถใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์โดยส่วนที่เป็นโปรตีนจะมีบทบาทช่วยลดแรงดึงผิวระหว่างน้ำกับน้ำมัน กัมอะราบิกจะหันด้านที่เป็นโปรตีนไปในส่วนที่เป็นน้ำมัน สายโพลีเปปไทด์มีสมบัติไฮโดรโฟบิกจะจับยึดกับส่วนของน้ำมันไว้ และหันด้านที่เป็นกลุ่ม arabinogalactan block มาทางผิวของน้ำ (ภาพที่ 4.7) และช่วยอิมัลชันลดการเกิดการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคที่กระจายตัว (flocculation) และการรวมตัวของอนุภาค (coalescence) ในสารละลาย (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Jayme, Dunstan and Gee, 1999; Williams and Phillips, 2000) ส่วน KGM เมื่อละลายน้ำโมเลกุลจะพองตัวและดูดซับน้ำเข้าไว้ สร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ ทำให้เกิดลักษณะเจลที่มีความหนืด เมื่อนำไปทำแห้งจะได้ฟิล์มที่มีลักษณะเหนียวทนต่ออุณหภูมิและแรงทางกล สามารถห่อหุ้มสารที่อยู่ภายในไว้ได้ดี ดังนั้นเมื่อผสมสารเคลือบ KGM และ GA ทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน คุณสมบัติความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดีของ GA และ



ความสามารถในการฟอร์มฟิล์มที่ดีของ KGM จึงมีผลช่วยทำให้ไมโครแคปซูลมีความสามารถในการกักเก็บที่ดีขึ้น (Yang, Xiao and Ding, 2009; Zhanga, Xie and Gan, 2005) มากกว่าการใช้สารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียว



ภาพที่ 4.7 ทิศทางการจัดเรียงตัวของกัมอะราบิกระหว่างผิวหน้าของน้ำกับน้ำมัน  
ที่มา : Jayme และคณะ (1999)

เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดด้วยวิธี disc diffusion โดยละลายไมโครแคปซูลให้มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก พบว่าทุกภาวะในการทดลองไม่สามารถยับยั้ง *Salmonella Typhimurium* และ *Pseudomonas fluorescens* ได้ อาจเนื่องจากน้ำมันมะกูดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดนี้ได้น้อยกว่าเชื้ออื่นอยู่แล้ว ประกอบกับการอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นการใช้อุณหภูมิที่สูงในการอบแห้ง ดังนั้นสารสำคัญภายในน้ำมันมะกูดที่มีจุดเดือดต่ำระเหยง่ายจึงเกิดการสูญเสียไปบางส่วน ดังเช่นภาพที่ 4.4 และในการทดสอบความสามารถการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลมีข้อจำกัด เนื่องจากสามารถละลายไมโครแคปซูลได้สูงสุดที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดเพียงร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ดังนั้นผลการวิเคราะห์ความสามารถการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลจึงมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับน้ำมันมะกูดบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยน้ำหนัก แต่ไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ยังคงสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ตามลำดับ ในขณะที่ไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM ไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดได้ (ตารางที่ 4.4) สอดคล้องกับประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมัน % total oil และ % inner oil ไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA มีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันสูงกว่าสารเคลือบ KGM ชนิดเดียว

ถึงแม้จากผลวิเคราะห์ GC-FID ของน้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM และ KGM-GA จะพบว่าปริมาณสารที่องค์ประกอบหลักได้แก่  $\beta$ -pinene และ limonene

ไม่แตกต่างกัน แต่จากรูปโครมาโทแกรมของการวิเคราะห์ GC-FID (ภาพที่ 4.5) จะเห็นได้ว่าไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM-GA จะมีสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆเหลืออยู่มากกว่าไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM เพียงชนิดเดียว ซึ่งสารชนิดอื่นรวมถึงพวกที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในรูปของแอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ และคีโตน ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี โดยเฉพาะสาร terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -terpineol มีปริมาณสูงมากและมากกว่าองค์ประกอบหลัก  $\beta$ -pinene และ limonene Inouye, Takizawa และ Yamaguchi (2001) กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบในกลุ่มเทอร์พีนแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีมาก สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยส่งผลทำให้เกิดการเสียหายของโปรตีนและความผิดปกติในการผ่านเข้าออกสารของเซลล์ (Dorman and Deans, 2000) มีรายงานพบว่า terpinene-4-ol สามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Pseudomonas aeruginosa* ส่วน  $\alpha$ -pinene สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ส่วน  $\alpha$ -terpineol มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio vulnificus* และ *Pseudomonas fluorescens* และ  $\alpha$ -terpinene สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้ ส่วน sabinene พบว่าไม่มีความสามารถยับยั้ง *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ (Carson and Riley, 1995; Dorman and Deans, 2000; Giwanon *et al.*, 2000; Kim, Marshall and Wei, 1995; Papadopoulos *et al.*, 2006; Sokovic *et al.*, 2007)

**ตารางที่ 4.4** เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากสารละลายไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร)

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)				
	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio cholera</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
KGM	-	-	-	-	-
KGM-GA	8.17 ± 0.45	-	10.62 ± 0.43	15.40 ± 0.55	-

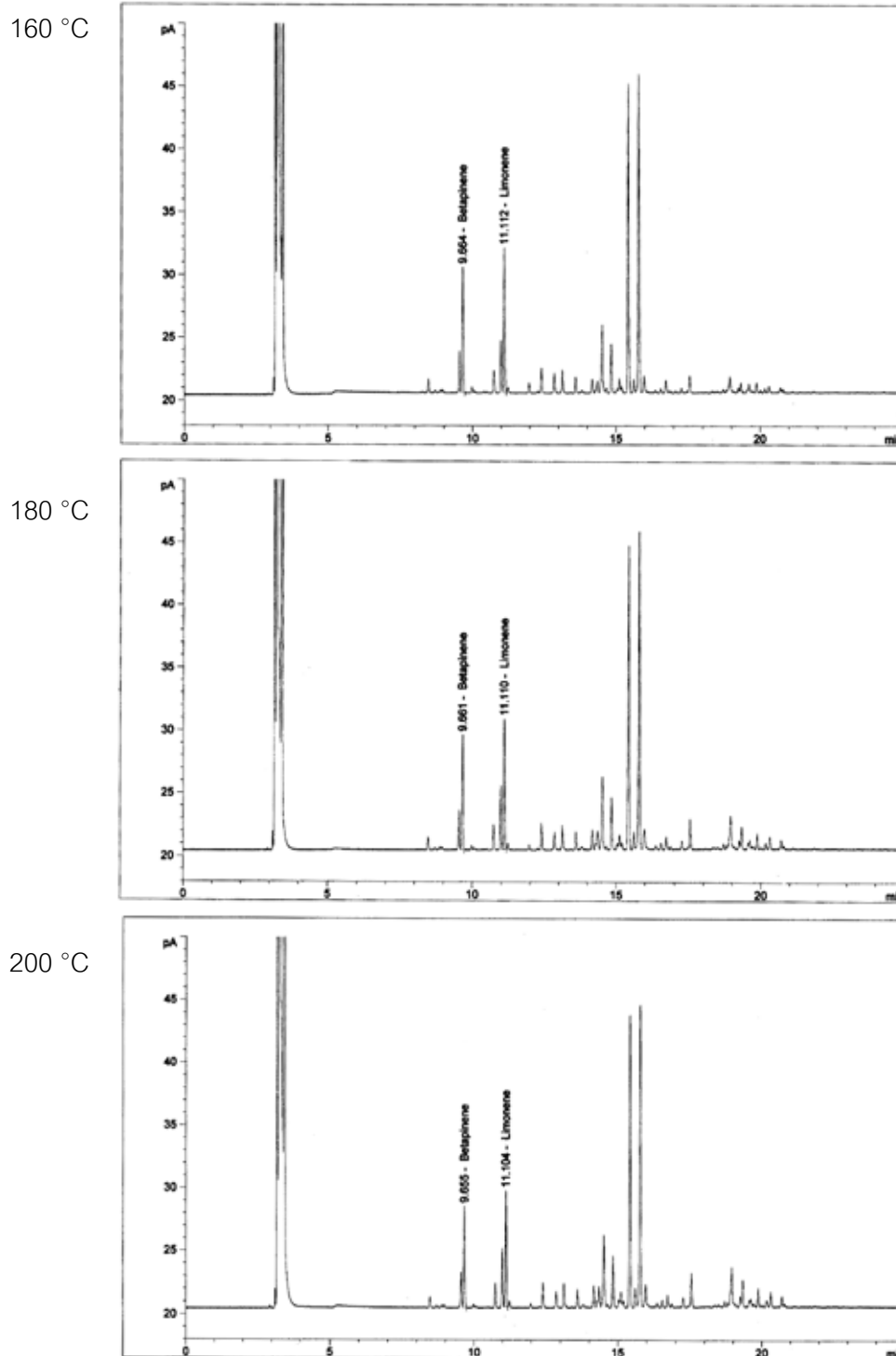
หมายเหตุ - : ไม่มีวงใสเกิดขึ้น

ดังนั้นจึงเลือกใช้สารเคลือบ KGM-GA ทำการทดลองต่อไปโดยแปรอุณหภูมิอากาศขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ของน้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่ผ่านกระบวนการอบแห้งด้วยอุณหภูมิอากาศขาเข้าทั้ง 3 อุณหภูมิ มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.8) แสดงให้เห็นว่าช่วงความแตกต่างของอุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้ง 160 ถึง 200 องศาเซลเซียส ยังไม่ส่งผลกระทบต่อทำให้เกิดการลดลงของสารสำคัญสองชนิดนี้มากนัก Risch และ Reineccius (1988) รายงานว่าอุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่เหมาะสมต่อการกักเก็บสารให้กลิ่นรสอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 160 ถึง 200 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงไม่ค่อยเห็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญในช่วงอุณหภูมินี้มากนัก แต่จะเห็นได้ว่าปริมาณสารสำคัญมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิการอบแห้งที่สูงขึ้น

**ตารางที่ 4.5** ปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

อุณหภูมิการอบแห้ง	$\beta$ -pinene		Limonene	
	% ในผงไมโครแคปซูล <sup>ns</sup>	% ในน้ำมันมะกรูด <sup>ns</sup>	% ในผงไมโครแคปซูล <sup>ns</sup>	% ในน้ำมันมะกรูด <sup>ns</sup>
160 °C	0.18 ± 0.02	2.20 ± 0.30	0.20 ± 0.03	2.44 ± 0.40
180 °C	0.17 ± 0.03	2.16 ± 0.39	0.19 ± 0.03	2.33 ± 0.32
200 °C	0.17 ± 0.07	2.08 ± 0.88	0.18 ± 0.07	2.25 ± 0.83

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ ns ในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range



ภาพที่ 4.8 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไม้โครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบ KGM-GA เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID ที่อุณหภูมิอากาศเข้าการอบแห้งต่างๆ

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ

ผลวิเคราะห์	อุณหภูมิอากาศขาเข้าของการอบแห้ง		
	160 °C	180 °C	200 °C
ร้อยละผลได้ <sup>ns</sup>	44.81 ± 5.03	51.88 ± 6.21	43.89 ± 7.34
Water activity <sup>ns</sup>	0.14 ± 0.04	0.20 ± 0.01	0.28 ± 0.09
% ความชื้น <sup>ns</sup>	4.35 ± 0.76	5.01 ± 0.13	6.34 ± 1.18
% Total oil (w/w) <sup>ns</sup>	69.09 ± 6.47	71.74 ± 0.06	67.68 ± 3.74
% Surface oil (w/w) <sup>ns</sup>	13.87 ± 0.62	14.84 ± 3.88	12.50 ± 7.55
% Inner oil (w/w) <sup>ns</sup>	56.86 ± 4.31	56.91 ± 3.94	52.23 ± 4.14
ค่าการละลาย (WSI) <sup>ns</sup>	69.06 ± 0.80	67.08 ± 3.20	67.08 ± 2.21
ค่าสี			
<i>L</i> <sup>*</sup>	76.94 ± 0.10 <sup>b</sup>	76.92 ± 0.59 <sup>b</sup>	75.85 ± 0.33 <sup>a</sup>
<i>a</i> <sup>*</sup> <sup>ns</sup>	-0.99 ± 0.04	-1.01 ± 0.07	-0.97 ± 0.09
<i>b</i> <sup>*</sup>	1.75 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.93 ± 0.14 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range

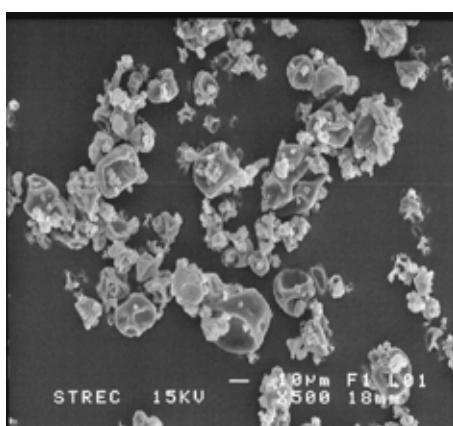
ส่วนลักษณะทางเคมีและกายภาพของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งทั้ง 3 ภาวะ มีปริมาณความชื้น ค่า water activity ( $a_w$ ) ปริมาณน้ำมันที่วิเคราะห์ได้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) (ตารางที่ 4.6) แต่จะสังเกตเห็นได้ว่าอุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งที่สูงขึ้น ผงไมโครแคปซูลมีแนวโน้มปริมาณความชื้นที่สูงขึ้น อาจเนื่องมาจากเมื่ออุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งเพิ่มขึ้น ทำให้ใช้ระยะเวลาในการอบแห้งที่สั้นลง ระยะเวลาที่ผงไมโครแคปซูลสัมผัสกับความชื้นลดลง Chen และ Mujumdar (2008) กล่าวว่าถ้าควบคุมสภาวะตัวแปรอื่นๆให้คงที่ การเพิ่มอุณหภูมิอากาศออก

จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นน้อยลง ในขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิอากาศขาเข้าให้สูงขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นคงเหลืออยู่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิอากาศขาเข้า 180 องศาเซลเซียส มีค่า % total oil และ % inner oil สูงกว่าอุณหภูมิอื่น ซึ่งการเพิ่มอุณหภูมิมร่อนในการอบแห้งให้สูงขึ้น ทำให้อนุภาคผลิตภัณฑ์ฟอรั่มรูปได้เร็วขึ้น ระยะเวลาที่น้ำมันมะกูดสัมผัสกับความชื้นน้อยลง แต่เมื่ออุณหภูมิสูงมากเกินไปจะส่งผลทำให้สารสำคัญระเหยสูญเสียไปได้เช่นกัน (Risch and Reineccius, 1988) สำหรับค่าสีของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อค่า  $L^*$  ซึ่งแสดงถึงความสว่าง และค่า  $b^*$  ที่แสดงระดับสีเหลือง-น้ำเงิน ของผงไมโครแคปซูล เมื่อเพิ่มอุณหภูมิอากาศขาเข้าสูงมากถึง 200 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อสีของผงไมโครแคปซูลทำให้ค่า  $L^*$  ลดต่ำลง และค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ไมโครแคปซูลมีสีคล้ำขึ้นเล็กน้อย

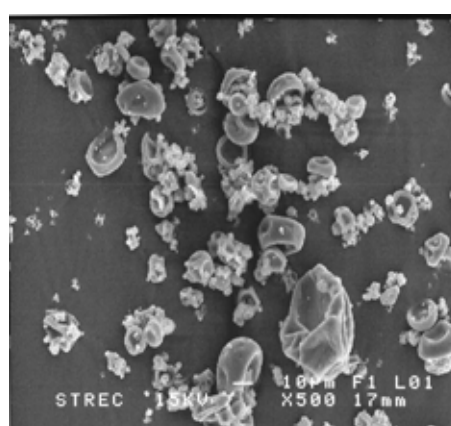
เมื่อนำไมโครแคปซูลที่เตรียมจากสารเคลือบ KGM และ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งในช่วง 160 ถึง 200 องศาเซลเซียส มาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าขนาดอนุภาคและลักษณะรูปร่างของไมโครแคปซูลไม่แตกต่างกัน โดยขนาดอนุภาคมีทั้งเล็กและใหญ่ จากการวัดขนาดอนุภาคจากภาพถ่าย SEM ด้วยเครื่องวัดเวอร์เนีย และคำนวณกลับเทียบอัตราส่วนกับขนาดจริงในภาพพบว่า มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 4.8-18.5 ไมครอน (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.9) เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ใช้ (Mini Spray Dryer B-290) มีส่วนหัวฉีดพ่นฝอยเป็นแบบ two-fluid nozzle และจะมีขนาดอนุภาคโดยทั่วไปอยู่ในช่วง 2-25 ไมโครเมตร (Arpagaus and Schwartzbach, 2008) นอกจากขนาดอนุภาคจะขึ้นอยู่กับชนิดของหัวฉีดส่วนพ่นฝอยแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น ความหนืดของสารละลายก่อนอบแห้ง ความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด (Gharsallaoui *et al.*, 2007) รวมทั้งระดับการย่อยของเอนไซม์ในสารละลายบุงกลูโคแมนแนนอีกด้วย อนุภาคไมโครแคปซูลมีลักษณะคล้ายทรงกลมมีรอยยุบลงไป แต่ไม่แตกออก อาจเกิดขึ้นเนื่องจากผลของการหดตัวของหดยอดิมัลชันเมื่อสัมผัสกับความชื้นสูงในช่วงระยะเวลาของการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Rosenberg, Kopelman and Talmon, 1985) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Krishnan, Kshirsagar และ Singhal (2005) ศึกษาการผลิตไมโครแคปซูลโดยใช้สารเคลือบกัมอะราบิก มอลโตเดกซ์ทริน และสตาร์ชดัดแปร เพื่อกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากโอลิโอเรซินกระวาน แสดงให้เห็นว่าไมโครแคปซูลที่ใช้กัมอะราบิกเป็นสารเคลือบมีลักษณะทรงกลมที่รอยยุบลงไป แต่มีความสามารถที่จะกักเก็บสารสำคัญไว้ได้ดีที่สุด เนื่องจากไมโครแคปซูลจะให้ลักษณะคล้ายพลาสติก มีความยืดหยุ่นในการฟอรั่มฟิล์มห่อหุ้มสารสำคัญไว้ จึงไม่เปราะแตกหักง่าย

ตารางที่ 4.7 ขนาดอนุภาคของผงไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด

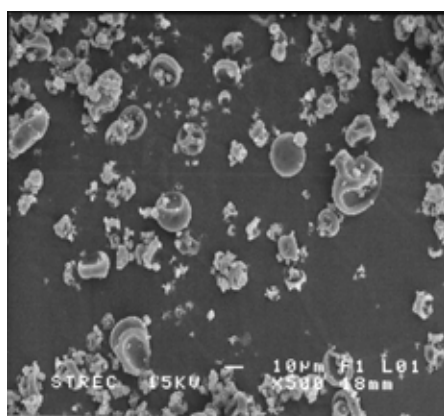
ตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (ไมครอน)
KGM 160 °C	5.1 – 15.0
KGM-GA 160 °C	5.0 – 18.5
KGM-GA 180 °C	4.8 – 12.6
KGM-GA 200 °C	5.4 – 16.8



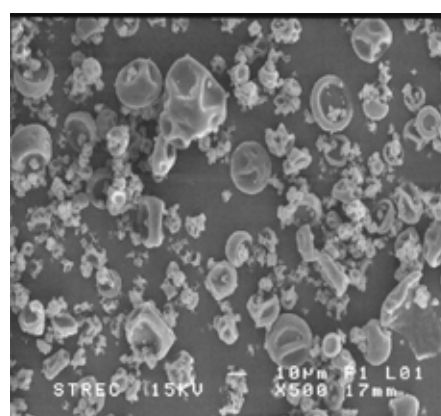
KGM 160°C



KGM-GA 160°C



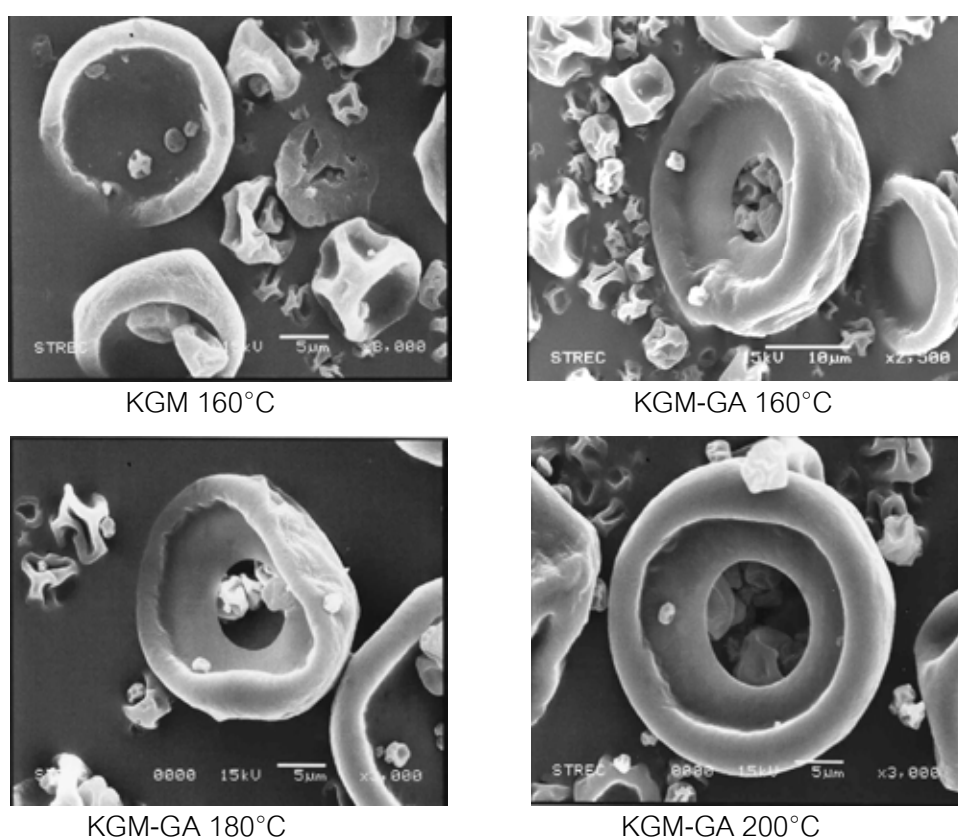
KGM-GA 180°C



KGM-GA 200°C

ภาพที่ 4.9 ภาพถ่ายจาก scanning electron microscope (SEM) แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลที่กำลังขยาย 500 เท่า

จากนั้นเมื่อทำไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดี้ให้แตกออก เพื่อสังเกตลักษณะภายในของไมโครแคปซูล จะเห็นว่าลักษณะอนุภาคค่อนข้างหลากหลาย บางอนุภาคถูกห่อหุ้มไว้สองชั้นมีอนุภาคเล็กถูกห่อหุ้มอยู่ในอนุภาคใหญ่ บางอนุภาคสารเคลือบห่อหุ้มน้ำมันไว้ชั้นเดียว (ภาพที่ 4.10) ลักษณะแบบที่มีอนุภาคเล็กถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคใหญ่อีกชั้นหนึ่งนั้น ทำให้สามารถกักเก็บน้ำมันไว้ภายในได้ดีและป้องกันสารสำคัญจากสิ่งแวดล้อมภายนอกได้มาก แต่ก็ทำให้การปลดปล่อยสารสำคัญออกมาเมื่อต้องการใช้งานยากด้วยเช่นกัน อาจทำให้ต้องใช้ระยะเวลาเพิ่มขึ้นในการปลดปล่อยสารเนื่องจากมีผนังสารเคลือบห่อหุ้มป้องกันไว้ถึงสองชั้น

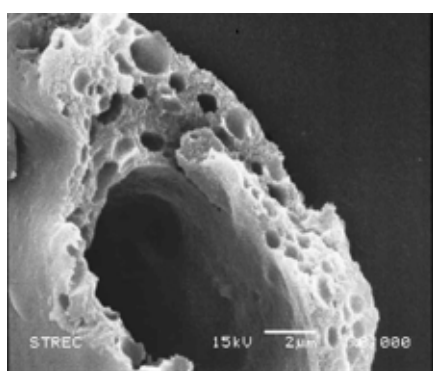


ภาพที่ 4.10 ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะไมโครแคปซูลที่ถูกทำให้แตกออกที่กำลังขยาย 2,500-3,000 เท่า

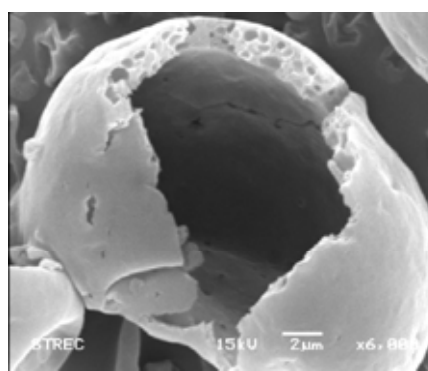
ส่วนในภาพที่ 4.11 แสดงลักษณะผนังสารเคลือบและภายในของไมโครแคปซูลที่ห่อหุ้มหยदन้ำมันไว้ มีหยदनน้ำมันขนาดใหญ่ถูกกักเก็บไว้ตรงกลาง และบางอนุภาคมีหยदनน้ำมันขนาดเล็กๆกระจายอยู่ที่บริเวณผนังของสารเคลือบ หรือบางส่วนอาจเป็นโพรงอากาศเนื่องมาจากฟองอากาศในขั้นตอนเตรียมสารละลายก่อนเข้าเครื่องอบแห้งหรือการได้รับความร้อนสูงใน



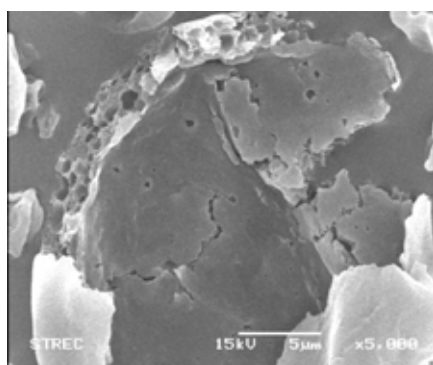
ระหว่างการอบแห้ง การที่เกิดหยดน้ำมันกระจายอยู่บริเวณที่ผนังของสารเคลือบด้วยนั้น ทำให้ไมโครแคปซูลสามารถกักเก็บน้ำมันไว้ได้มากขึ้น Soottitantawat และคณะ (2005) รายงานว่าไมโครแคปซูลที่มีผนังสารเคลือบบางและมีการกระจายตัวของอนุภาคหยดน้ำมันที่ผนังของสารเคลือบด้วยนั้น ทำให้ไมโครแคปซูลสามารถปลดปล่อยสารออกมาได้ง่ายขึ้น แต่น้ำมันส่วนที่อยู่ในบริเวณผนังของสารเคลือบก็มีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมภายนอกได้ด้วยเช่นกัน



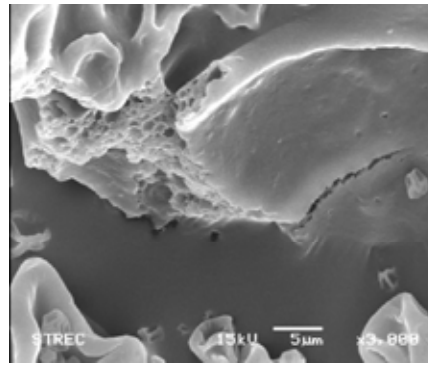
KGM 160°C



KGM-GA 160°C



KGM-GA 180°C



KGM-GA 200°C

**ภาพที่ 4.11** ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะผนังภายในของไมโครแคปซูลที่ถูกทำให้แตกออกที่กำลังขยาย 3,000-8,000 เท่า

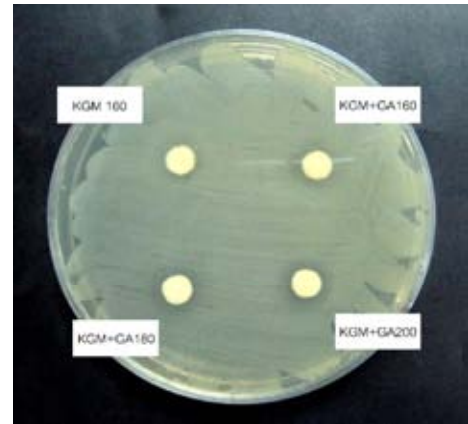
จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศเข้าการอบแห้ง 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส ด้วยวิธีการพิจารณาจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Disc diffusion) พบว่าทั้ง 3 อุณหภูมิ สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Salmonella Typhimurium* และ *Pseudomonas fluorescens* ได้ (ตารางที่ 4.8) ซึ่งผลการวิเคราะห์น้ำมันมะกูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลด้วยเทคนิค GC-MS และ GC-FID แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของน้ำมันมะกูด

ลดลงจากน้ำมันมะกรูดบริสุทธิ์ โดยจากเดิมมีองค์ประกอบได้แก่ limonene,  $\beta$ -pinene, sabinene, terpinene-4-ol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpinene, terpinolene,  $\delta$ -cadinene, copaene, myrcene, Isopulegol และ citronella เมื่ออยู่ในรูปของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดมีชนิดและปริมาณสารองค์ประกอบลดลง โดยมีสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักเหลืออยู่ คือ limonene,  $\beta$ -pinene  $\alpha$ -terpineol, terpinene-4-ol, *p*-cymene, sabinene และ  $\alpha$ -pinene ตามลำดับ Carson และ Riley (1995) รายงานว่าสาร *p*-cymene ไม่มีฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ ส่วน Kim และคณะ (1995) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสาร terpineol สามารถยับยั้ง *Vibrio vulnificus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella Typhimurium* ได้ดีตามลำดับ De Castillo และคณะ (2000) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวสด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio cholerae* O1 เริ่มต้นจำนวน  $10^4$  CFU/ml ได้หมดภายในเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน  $10^6$  CFU/ml ภายในเวลา 3 ชั่วโมง และจำนวน  $10^8$  CFU/ml มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องภายใน 24 ชั่วโมง แสดงให้น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวมีฤทธิ์ยับยั้ง *Vibrio cholerae* ได้ดีมาก นอกจากนี้ Dorman และ Deans (2000) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชด้วยวิธี agar diffusion พบว่า limonene มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย 11.2 มิลลิเมตร แต่ไม่มีวงใสการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ส่วน  $\beta$ -pinene มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสคือ 7.8, 7.4 และ 6.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน terpinene-4-ol มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสคือ 14.4, 13.7 และ 17.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ  $\alpha$ -pinene มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสคือ 8.9 และ 8.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีวงใสในการยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ได้ และพบว่า sabinene ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดในการทดสอบ ในส่วนของ *Pseudomonas fluorescens* นั้นยังไม่มีข้อมูลการทดสอบด้วยสารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหยมากนัก โดย Papadopoulos และคณะ (2006) ได้รายงานว่ามีสาร terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -terpineol มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* ได้ Lin และคณะ (2010) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของอิมัลชันที่เติมน้ำมันจากผิวส้มพบว่าอิมัลชันที่มีการเติมน้ำมันจากผิว

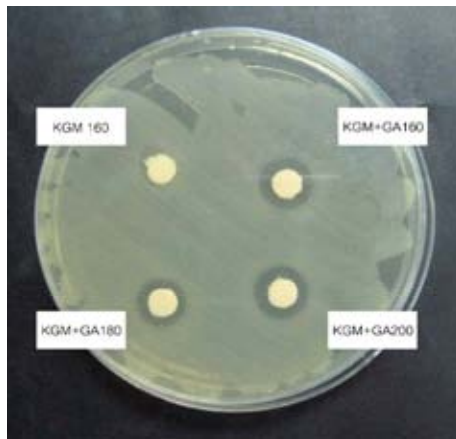
ส้มสามารถยับยั้ง *Vibrio parahaemolyticus* ได้ดีมากเมื่อเทียบกับ *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยสามารถยับยั้ง *Vibrio parahaemolyticus* ได้เมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำมันจากผิวส้มเพียงร้อยละ 1 ในขณะที่จุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดจะถูกยับยั้งเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันผิวส้มร้อยละ 2.5 ขึ้นไป จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นว่าสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในพืชตระกูลส้มมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ *Vibrio* spp. ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายจากไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดที่มีความสามารถยับยั้ง *Vibrio cholerae* ได้ดีที่สุด ถึงแม้จะผ่านการให้ความร้อนสูงในกระบวนการอบแห้ง รองลงมาคือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium และ *Pseudomonas fluorescens* ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า *Escherichia coli* สามารถถูกยับยั้งได้ดีด้วย limonene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineol, terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -pinene ส่วนจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* สามารถถูกยับยั้งได้ด้วย  $\beta$ -pinene, terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -pinene นอกจากนี้ *Salmonella* Typhimurium ยังถูกยับยั้งได้ด้วยสาร limonene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineol และ  $\alpha$ -pinene แต่มีความไวต่อสารทดสอบต่ำกว่า *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* (Sokovic et al., 2007) จึงทำให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสต่ำกว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ส่วน *Pseudomonas fluorescens* สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยสารบางชนิดคือ  $\alpha$ -terpineol และ terpinene-4-ol ดังนั้นเมื่อผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูด องค์ประกอบทางเคมีต่างๆมีปริมาณลดลงจึงทำให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลงไปด้วย ทำให้ไม่พบการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้มีความไวต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะกรูดต่ำกว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ทดสอบอยู่แล้วด้วย ทั้งนี้ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารเคมีต่างๆนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะตัวโครงสร้างออกแกแนลภายในที่ซับซ้อนของแบคทีเรียแต่ละชนิดเองด้วย จึงทำให้มีความไวต่อการถูกทำลายต่างกัน



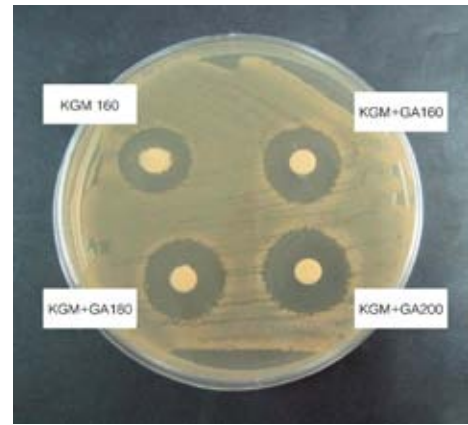
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella Typhimurium*



*E.coli*



*Vibrio cholerae*



*Pseudomonas fluorescens*

ภาพที่ 4.12 วงใส (clear zone) ของไมโครแคปซูล ด้วยวิธี disc diffusion ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

**ตารางที่ 4.8** เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากสารละลายไมโครแคปซูลน้ำมันมะกอกที่ใส่สารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ (เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร)

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio cholera</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
160°C	8.17 ± 0.45 <sup>a</sup>	-	10.62 ± 0.43 <sup>a</sup>	15.40 ± 0.55 <sup>a</sup>	-
180°C	8.88 ± 0.49 <sup>b</sup>	-	11.43 ± 0.31 <sup>b</sup>	16.53 ± 0.59 <sup>b</sup>	-
200°C	8.72 ± 0.43 <sup>ab</sup>	-	11.04 ± 0.45 <sup>ab</sup>	15.97 ± 0.35 <sup>ab</sup>	-

หมายเหตุ - : ไม่มีวงใสเกิดขึ้น

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range

จากผลการทดลองภาวะอุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งที่ 180 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงกว่าอุณหภูมิที่ 160 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาร่วมกับผลวิเคราะห์ความสามารถในการกักเก็บ % total oil และ % inner oil ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสมีแนวโน้มสูงกว่าอุณหภูมิอื่น ปริมาณน้ำมันถูกกักเก็บไว้ได้มาก สารต่างๆที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพก็มีโอกาสเหลืออยู่มากกว่าด้วยเช่นกัน จึงอาจส่งผลให้มีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าภาวะอื่น ดังนั้นจึงตัดสินใจเลือกใช้สารเคลือบ KGM-GA ภาวะอบแห้งที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 180 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส ในการศึกษาในขั้นตอนการใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์เนือปลาบดต่อไป และจากการวิเคราะห์ค่า MIC ของไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 180 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่า MIC เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.6 ไปถึงมากกว่า 1.0 โดยน้ำหนัก (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution ของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูด

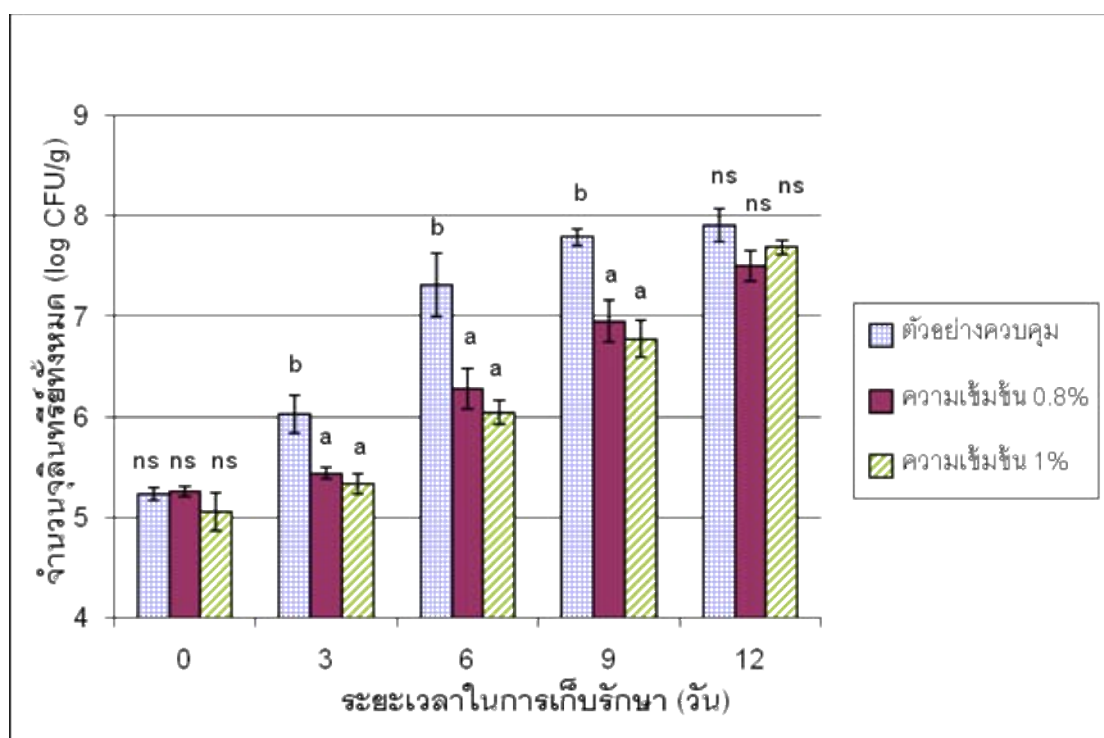
เชื้อจุลินทรีย์	MIC (%w/w)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.7
<i>Salmonella</i> Typhimurium	>1.0
<i>Escherichia coli</i>	0.7
<i>Vibrio cholerae</i>	0.6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	>1.0

#### 4.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อปลาทอดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา

ไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 180 องศาเซลเซียส นำมาคลุกผสมกับเนื้อปลาทอด (น้ำหนักตัวอย่าง  $25 \pm 1$  กรัม) โดยใช้ปริมาณผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากกว่านี้ต้องใช้ผงไมโครแคปซูลเพิ่มขึ้นมากจนทำให้ไม่สามารถคลุกผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกับเนื้อปลาได้ ในการทดลองเปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อปลาทอดที่ไม่คลุกผงไมโครแคปซูล เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างมาตรวจลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ทุก 3 วัน เป็นระยะเวลา 12 วัน

จากการทดลองในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างเนื้อปลาทอดที่ใช้ผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.24, 5.26 และ 5.06 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 ภาวะ (ภาพที่ 4.13) เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งจะสังเกตเห็นได้ว่าตัวอย่างควบคุมจะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเร็วกว่าเนื้อปลาที่ใช้ผงไมโครแคปซูลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 935-2533 เนื้อปลาทอดเยือกแข็ง กำหนดเกณฑ์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน  $1 \times 10^7$  CFU/g ดังนั้นจากการทดลองตัวอย่างควบคุมจึงมีอายุการเก็บรักษาได้น้อยกว่า 6 วัน ส่วนเนื้อปลาที่ใช้ผงไมโครแคปซูลที่มี

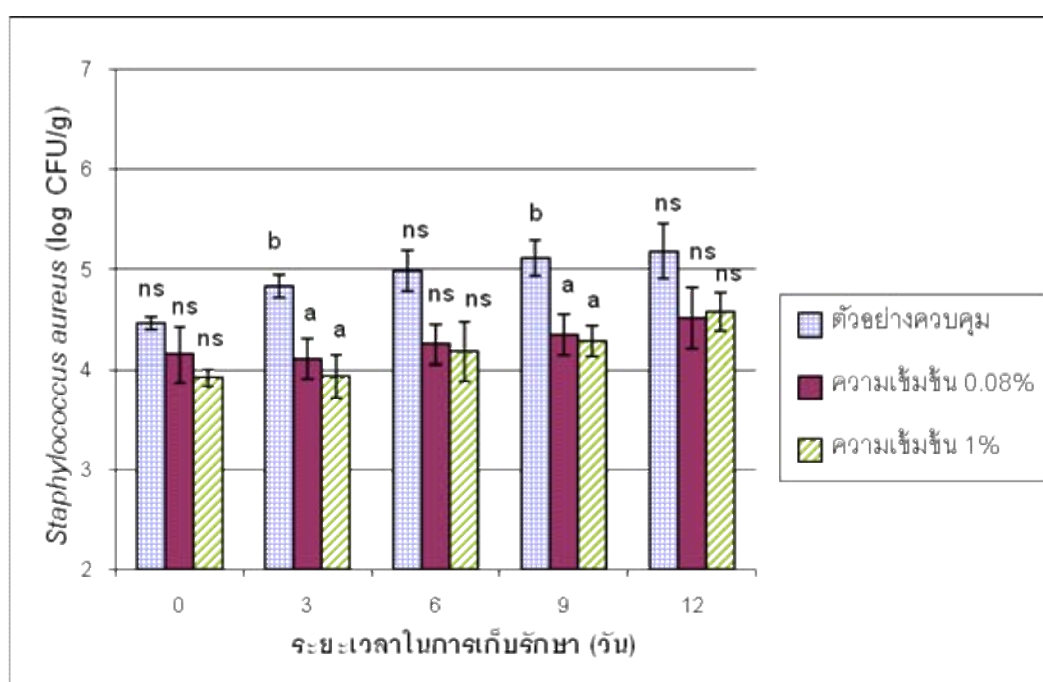
ความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อยๆเพิ่มขึ้นจนเกินเกณฑ์มาตรฐานในช่วงวันที่ 9 ของการเก็บ ดังนั้นเนื้อปลาที่คลุกผสมผงไมโครแคปซูลสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ไม่เกิน 9 วัน มากกว่าตัวอย่างควบคุม และเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) Kingchaiyaphum และ Rachtanapun (2012) ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่เติมผสมในกุ้งแช่แข็ง พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะกูดสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของกุ้งแช่แข็งได้มากกว่าตัวอย่างควบคุม โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างต่ำในระยะเวลาช่วงแรกของการเก็บรักษา จากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนเกินเกณฑ์มาตรฐานหลังจาก 15 วัน



ภาพที่ 4.13 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

สำหรับการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และ 1 โดยน้ำหนัก พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ลดลงจากตัวอย่างควบคุมในทุกวันที่เก็บรักษา จนถึงในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อปลาบดมีปริมาณจุลินทรีย์ 4.51 และ 4.58 log CFU/g ตามลำดับ (ภาพที่ 4.14) ลดลงจากตัวอย่างควบคุม 0.69 และ 0.60 log CFU/g ตามลำดับ

ส่วนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* พบการเจริญ <10 CFU/g ในเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลร้อยละ 0.8 และ 1 โดยน้ำหนัก ในทุกวันที่เก็บรักษา



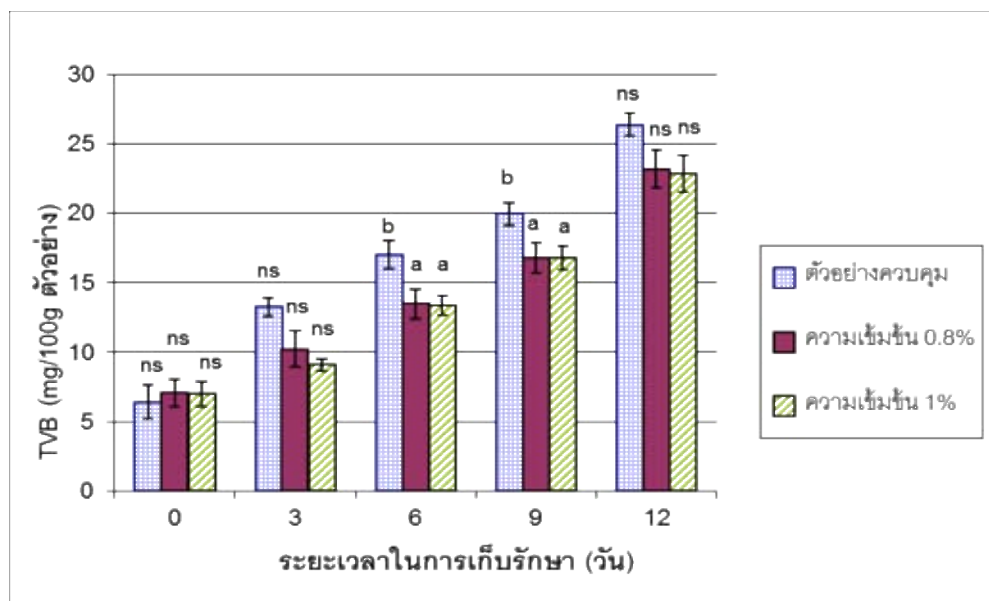
ภาพที่ 4.14 จำนวนจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน



ตารางที่ 4.10 จำนวนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> (CFU/g)		
	ตัวอย่างควบคุม	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 0.8%	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 1%
0	$2.33 \times 10^2$	<10	<10
3	$3.00 \times 10^2$	<10	<10
6	$2.13 \times 10^3$	<10	<10
9	$6.53 \times 10^3$	<10	<10
12	$1.33 \times 10^4$	<10	<10

เมื่อเก็บรักษาในระยะเวลาสั้นขึ้น เชื้อจุลินทรีย์จะย่อยสลายโปรตีนที่มีอยู่ในเนื้อปลาเป็นแอมโมเนีย จึงวัดความสดของเนื้อปลาได้โดยการวัดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (Total volatile basic nitrogen; TVB-N) Bank, Nickelson และ Finne (1980) และ Lannelongue และคณะ (1982) อ้างถึงใน Masniyoma, Benjakul และ Visessanguan (2005) รายงานความสัมพันธ์ของปริมาณ TVB-N กับคุณภาพของปลาไว้ดังนี้ ปลาสดจะมีค่า TVB-N น้อยกว่า 12 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ปลาที่ยังบริโภคได้มีค่า TVB-N 12-20 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ปลาที่เริ่มมีกลิ่นเล็กน้อยมีค่า 20-25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนปลาที่เน่าเสียแล้วไม่สามารถบริโภคได้จะมีค่า TVB-N มากกว่า 25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากการทดลองในวันแรกเนื้อปลาตัวอย่างควบคุมและเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลมีค่า TVB-N ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.43-7.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ภาพที่ 4.15) จากงานวิจัยการผลิตลูกชิ้นปลาจากปลาเปิดของจิราวรรณ แย้มประยูร (2529) รายงานว่าค่า TVB-N ของเนื้อปลาที่แยกกระดูกออกสำหรับนำไปผลิตลูกชิ้นปลาในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา มีค่า 7.68 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนวราทิพย์ สมบุญฤทธิ์ (2530) พบว่าค่า TVB-N ของเนื้อปลานิลสดที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นก่อนการทำซูริมีมีค่า 6.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งจากการทดลองมีค่า TVB-N อยู่ในช่วงระหว่างนี้เช่นเดียวกัน

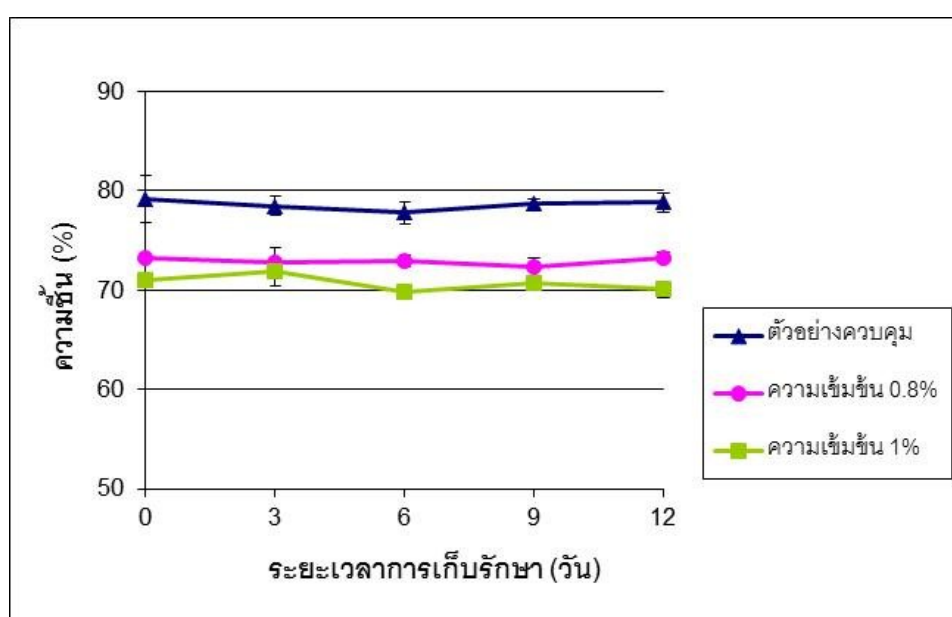


ภาพที่ 4.15 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (TVB-N) ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อปลามีค่า TVB-N ค่อนข้างต่ำในระยะเวลา 3 วันแรก และมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเก็บระยะเวลาขึ้นจนถึง 9 วัน ตัวอย่างควบคุมมีค่า TVB-N สูงเพิ่มขึ้นเป็น 19.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แสดงถึงเนื้อปลาที่เริ่มมีกลิ่นเสียแล้ว ส่วนเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า TVB-N 16.75 และ 16.77 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าไม่แตกต่างกันทั้ง 2 ภาวะ แต่ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ( $p \leq 0.05$ ) จนกระทั่งวันที่ 12 ค่า TVB-N ของตัวอย่างควบคุมและเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า 26.36, 23.19 และ 22.87 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ แสดงถึงเนื้อปลาที่กลิ่นและเน่าเสียจนไม่สามารถบริโภคได้แล้วทุกภาวะในการทดลอง

จากภาพที่ 4.16 ค่าความชื้นของเนื้อปลาในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ตัวอย่างควบคุมและเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าความชื้นร้อยละ 79.21, 73.46 และ 71.05 ตามลำดับ ค่าความชื้นของเนื้อปลามีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณผงไมโครแคปซูลมากขึ้น และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วัน เนื้อปลามีปริมาณความชื้นค่อนข้างคงที่ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้นทุกสภาวะที่ทดลอง

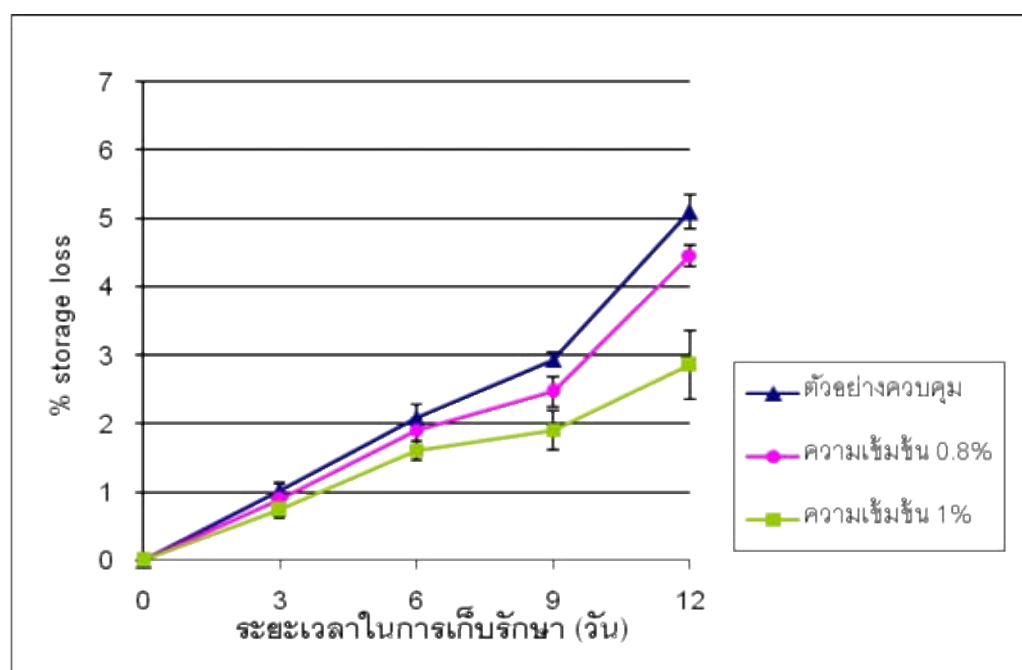
จากงานวิจัยการศึกษาการผลิตลูกชิ้นปลาผสมเนื้อหอยของไสริยา เกิดพิบูลย์ (2545) พบว่าการเก็บรักษาลูกชิ้นปลาผสมเนื้อหอยที่บรรจุสถานะบรรยากาศเป็นเวลา 15 วัน ค่าความชื้นของลูกชิ้นปลามีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเป็นการเก็บรักษาในสภาวะที่อากาศภายนอกสามารถซึมผ่านเข้าออกได้ ปริมาณความชื้นจึงไม่ค่อยเกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา โดยจากการทดลองตัวอย่างควบคุมมีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 78-79 ส่วนเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 72-73 และ 70-72 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.16 ปริมาณความชื้นของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ในส่วนค่าการสูญเสียน้ำหนัก (% storage loss) ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายขององค์ประกอบภายในส่วนที่เป็นโปรตีน รวมถึงเป็นผลจากการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยจะมีลักษณะการเฝื่อนน้ำและสูญเสียน้ำหนักของผลิตภัณฑ์สามารถบ่งบอกถึงการเน่าเสียของเนื้อปลา โดยทั่วไปเนื้อปลาจะมีการสูญเสียน้ำหนักประมาณ 3-5% โปรตีนในเนื้อปลาสูญเสียสภาพ ทำให้ความสามารถในการคั่งน้ำลดลง เกิดการสูญเสียน้ำเกิดขึ้น (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546; Parry, 1993) จากภาพที่ 4.17 ในทุกสภาวะตลอดการเก็บ 12 วัน การสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ตัวอย่างควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุดถึง ร้อยละ 5.09

เนื้อปลาที่มีลักษณะเป็นน้ำเมือกเยิ้ม เนื้อปลานิ่มและมาก (ตารางที่ 4.11 วันที่ 12) และเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีการสูญเสียน้ำหนักร้อยละ 4.45 และ 2.86 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.11 วันที่ 12) เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานาน เนื้อปลาจะมีลักษณะนิ่มและ เนื่องมาจากการย่อยของกล้ามเนื้อ การแยกตัวของเส้นใยไมโอไฟบริล และการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อเกี่ยวพันในตัวปลา ต่อมาจะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์จากในตัวปลาและจากจุลินทรีย์ ย่อยเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ทำให้เนื้อปลามีลักษณะนิ่มลง รวมทั้งเกิดการขับน้ำเมือกออกมาที่ผิวเพื่อปรับสภาพให้อยู่รอดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมของตัวปลา ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นและกลิ่นรสที่เปลี่ยนไปจนกระทั่งเน่าเสียในที่สุด (กนกอร อินทราพิเชฐ, 2538 อ่างถึงโน เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546; ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2524; มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2545)

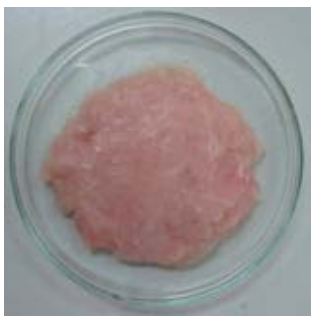


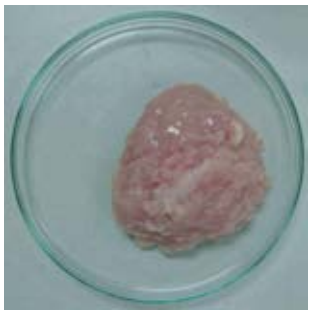




ภาพที่ 4.17 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%storage loss) ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

Sikorski (1990) รายงานว่าการเติมแป้งในเนื้อปลาสด ช่วยทำหน้าที่เป็นสารดูดความชื้นและเพิ่มความคงตัวให้เนื้อปลาสดในกระบวนการแช่แข็งและการทำละลาย เมื่อเม็ดแป้งเริ่มเกิดเจลบางส่วนทำให้ขนาดของเม็ดแป้งเริ่มเปลี่ยนแปลง เม็ดแป้งจะดูดซับน้ำที่มีอยู่ภายในโปรตีน

ปลา ทำให้เม็ดแป้งบวมพองอยู่ในโครงสร้างของเนื้อปลา (Kong, Ogawa and Iso, 1999) กลูโคแมนแนนจากแป้งบุกสามารถดูดซับน้ำและเกิดการพองตัวเมื่อผสมกับน้ำ กลไกคล้ายกับการพองตัวของแป้ง (Nishinari, Kim and Kohyama, 1987 อ้างถึงในชูสิทธิ์ หงส์กุลทรัพย์, 2549; Tye, 1991) ดังนั้นจึงช่วยดูดซับน้ำภายในเนื้อปลาไว้ได้ และการเติมแป้งในผลิตภัณฑ์ต้องใช้ในปริมาณที่พอเหมาะ ถ้าใช้ปริมาณมากเกินไปทำให้ผลิตภัณฑ์เปราะแตกง่าย ซึ่งโดยปกติแล้วปริมาณแป้งที่เติมลงไปจะอยู่ในช่วงร้อยละ 5-8 (Lee, 1984; Lee, Wu and Okada, 1992 อ้างถึงใน ไสรยา เกิดพิบูลย์, 2545) เมื่อเติมไมโครแคปซูลในเนื้อปลาปริมาณมากเกินไปจะส่งผลทำให้ลักษณะปรากฏของเนื้อปลาต่างจากตัวอย่างควบคุม จะเห็นได้ว่าเนื้อปลาที่มีคลุกผงไมโครแคปซูลจะมีลักษณะแห้งไม่ฉ่ำน้ำ (ตารางที่ 4.11) โดยเฉพาะเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูล ความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก จะให้ลักษณะแห้งแข็งกระด้างมากขึ้น

**ตารางที่ 4.11** ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อปลาสดจากวันที่เริ่มต้นของการเก็บรักษา(วันที่0) จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 12)

วันที่เก็บ	ตัวอย่างควบคุม	ความเข้มข้น 0.8%	ความเข้มข้น 1.0%
วันที่ 0			
วันที่ 12			

จากการวัดค่าความแตกต่างสีของเนื้อปลา ด้วยระบบ CIE  $L^*a^*b^*$  ค่า  $L^*$  เป็นค่าแสดงถึงความสว่างของผลิตภัณฑ์ที่มีค่าจาก 100 จนถึง 0 ซึ่งแสดงถึงความสว่างจากสีขาวไปจนถึงสีดำ เนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลให้ลักษณะปรากฏด้านสีแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างเห็นได้ชัด เนื้อปลาที่คลุกไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ให้ค่า  $L^*$  ในวันที่เริ่มเก็บรักษา 64.74 และ 65.11 สูงกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งมีค่า 50.48 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 4.12) ความสว่างที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากผงไมโครแคปซูลมีค่า  $L^*$  สูงถึง 71.53 แตกต่างจากค่า  $L^*$  ของเนื้อปลาปกติอยู่แล้ว เมื่อคลุกกับเนื้อปลาบดจึงทำให้เนื้อปลาที่ได้มีผลค่า  $L^*$  สูงขึ้นตามไปด้วย

**ตารางที่ 4.12** ค่าเฉลี่ย  $L^*$  ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าเฉลี่ย $L^*$ ของเนื้อปลา		
	ตัวอย่างควบคุม	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 0.8%	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 1%
0	50.48 ± 1.07 <sup>a</sup>	64.74 ± 0.10 <sup>b</sup>	65.11 ± 0.49 <sup>b</sup>
3	48.47 ± 0.66 <sup>a</sup>	64.65 ± 0.66 <sup>b</sup>	64.78 ± 1.03 <sup>b</sup>
6	47.88 ± 0.20 <sup>a</sup>	63.56 ± 0.24 <sup>b</sup>	63.70 ± 0.31 <sup>b</sup>
9	47.43 ± 0.24 <sup>a</sup>	63.81 ± 0.24 <sup>b</sup>	63.83 ± 0.42 <sup>b</sup>
12	48.14 ± 0.39 <sup>a</sup>	63.17 ± 0.38 <sup>b</sup>	64.25 ± 0.29 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เช่นเดียวกับค่า  $a^*$  ซึ่งแสดงถึงความเป็นสีแดง (ค่าบวก) ไปจนถึงสีเขียว (ค่าลบ) เนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า  $a^*$  ในวันที่เริ่มเก็บรักษา 5.79 และ 5.48 ตามลำดับ ต่ำกว่าเนื้อปลาตัวอย่างควบคุมซึ่งมีค่า

$a^*$  7.65 (ตารางที่ 4.13) แสดงถึงเนือปลาที่มีสีแดงสดลดลงเมื่อคลุกผงไมโครแคปซูล และเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานขึ้นเนือปลาจะมีค่า  $a^*$  ลดลง สีแดงลดลงและมีสีคล้ำขึ้น ส่วนค่า  $b^*$  ซึ่งแสดงค่าความเป็นสีเหลือง (ค่าบวก) และสีน้ำเงิน (ค่าลบ) เนือปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า  $b^*$  ในวันที่เริ่มเก็บรักษา 6.32 และ 6.71 สูงกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งมีค่า  $b^*$  3.01 (ตารางที่ 4.14) เนือปลาที่มีการคลุกผงไมโครแคปซูล ส่งผลให้มีความเป็นสีเหลืองสูงกว่าตัวอย่างควบคุมเช่นกัน

**ตารางที่ 4.13** ค่าเฉลี่ย  $a^*$  ของเนือปลาสด และเนือปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าเฉลี่ย $a^*$ ของเนือปลา		
	ตัวอย่างควบคุม	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 0.8%	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 1%
0	$7.65 \pm 0.26^b$	$5.79 \pm 0.18^a$	$5.48 \pm 0.48^a$
3	$6.55 \pm 0.62^c$	$4.34 \pm 0.13^b$	$3.21 \pm 0.30^a$
6	$6.19 \pm 0.32^b$	$3.69 \pm 0.31^a$	$3.10 \pm 0.50^a$
9	$4.94 \pm 0.38^b$	$4.00 \pm 0.49^{ab}$	$3.18 \pm 0.28^a$
12	$4.32 \pm 0.35^{ns}$	$3.80 \pm 0.33^{ns}$	$3.14 \pm 0.35^{ns}$

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

สีของไฮโดรคอลลอยด์มีผลต่อลักษณะปรากฏด้านสีของผลิตภัณฑ์เนือปลาสด จากการทดลองเนือปลาที่ใช้ผงไมโครแคปซูลมีค่า  $a^*$  ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจากสีของไมโครแคปซูลทำให้ลักษณะปรากฏสีของเนือปลาเปลี่ยนไป เนือปลามีลักษณะปรากฏสีแดงซีดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเก็บเนือปลาเป็นระยะเวลานานขึ้นเนือปลาสดที่ใช้ผงไมโครแคปซูลมีค่าสีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนตัวอย่างควบคุมค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีแนวโน้มต่ำลง เนือปลาที่มีสีแดงซีดลง

มีสีคล้ำขึ้นและมีสีออกเขียวบริเวณผิวด้านนอก การเปลี่ยนแปลงสีเนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงสารไมโอโกลบินในเนื้อปลา โดยเปลี่ยนสภาพไปเป็นเมตไมโอโกลบิน ทำให้เนื้อปลามีสีเปลี่ยนเป็นสีเทาหรือสีน้ำตาลเกิดขึ้น นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อปลาอาจมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ เช่น สีเหลืองออกเขียวมาจากการเจริญของ *Pseudomonas fluorescens* หรือสีเหลืองจากการเจริญของ *Micrococcus* เป็นต้น (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529; Potter and Hotchkis, 1995 อ้างถึงในเนตรนรินทร์ ชุนสูงเนิน, 2546)

**ตารางที่ 4.14** ค่าเฉลี่ย  $b^*$  ของเนื้อปลาสด และเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าเฉลี่ย $b^*$ ของเนื้อปลา		
	ตัวอย่างควบคุม	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 0.8%	ความเข้มข้น น้ำมันมะกูด 1%
0	$3.01 \pm 0.57^a$	$6.32 \pm 0.20^b$	$6.71 \pm 0.13^b$
3	$2.60 \pm 0.53^a$	$6.42 \pm 0.23^b$	$7.05 \pm 0.42^b$
6	$1.01 \pm 0.26^a$	$6.59 \pm 0.52^b$	$7.02 \pm 0.25^b$
9	$0.54 \pm 0.52^a$	$6.76 \pm 0.17^b$	$7.41 \pm 0.21^b$
12	$0.25 \pm 0.39^a$	$6.81 \pm 0.28^b$	$7.55 \pm 0.22^b$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

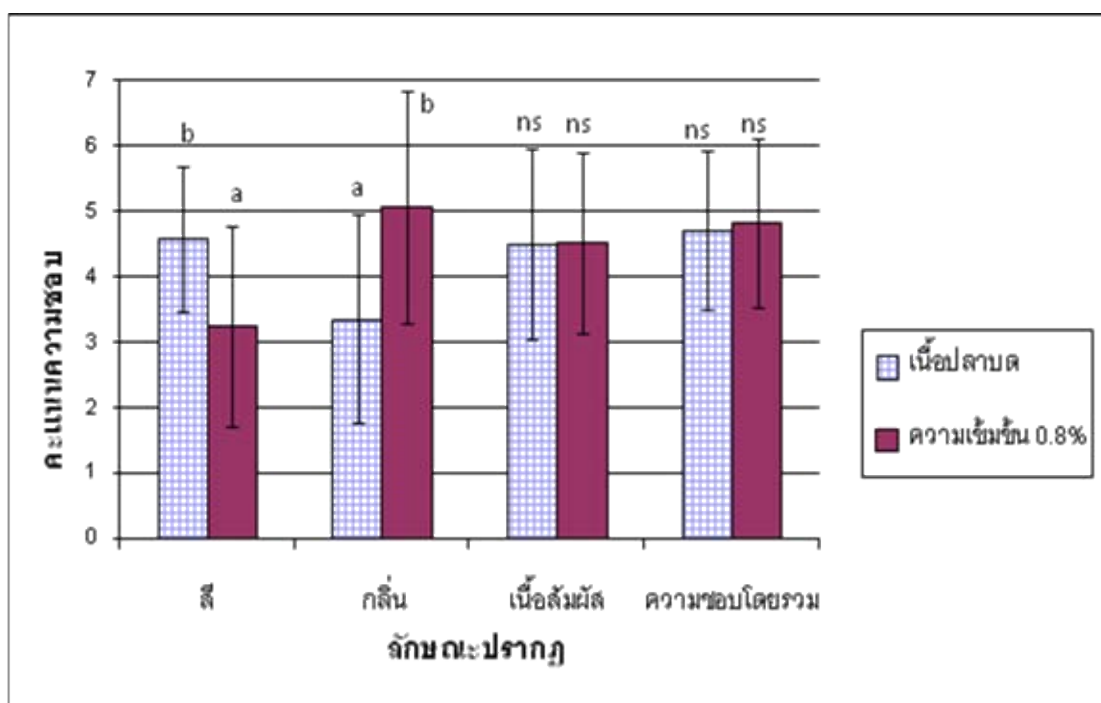
ปฐลูที่เนื้อปลาสดที่ผสมผงประกอบไนโตรเจน ส่งผลให้ ลกติก โครแคปซูลทำให้เนื้อปลามีสีแดงซีดลงอย่างเห็นได้ชัด □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพ พบว่าเนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ให้ลักษณะทางเคมี กายภาพ และการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน แต่เนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 ใช้ผงไมโครแคปซูลในปริมาณที่น้อยกว่า การคลุกผสมให้เข้ากันกับเนื้อปลาในขั้นตอนการ



เตรียมตัวอย่างง่ายกว่า และให้ลักษณะปรากฏใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมมากกว่าเนือปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจึงเลือกใช้เนือปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก นำไปใช้ประเมินการยอมรับของผู้บริโภคในขั้นตอนต่อไป

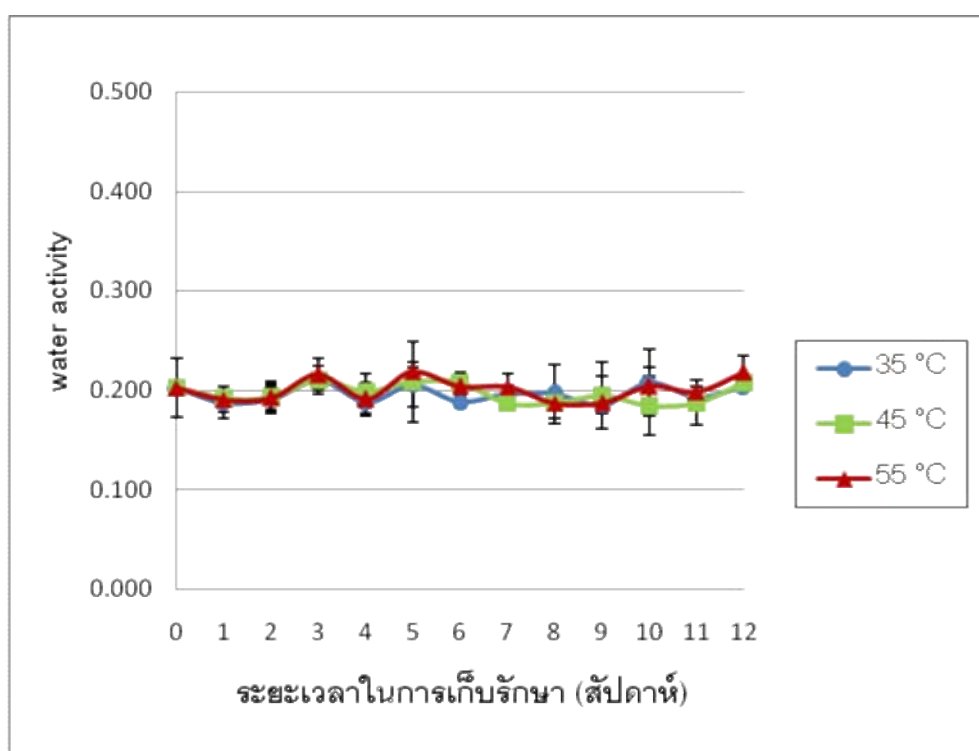
การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อเนือปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก และเนือปลาสดตัวอย่างควบคุม ด้วยวิธีทดสอบ 7-point hedonic scale โดยใช้ผู้ประเมินจำนวน 50 คน ผลการประเมินลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับที่ไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) (ภาพที่ 4.18) แต่คะแนนความชอบด้านสีของผู้บริโภคที่มีต่อเนือปลาสดคลุกผงไมโครแคปซูลมีคะแนนต่ำกว่าเนือปลาสดที่ไม่ได้คลุกผงไมโครแคปซูล ( $p\leq 0.05$ ) เนื่องจากเนือปลาสดคลุกผงไมโครแคปซูลให้ลักษณะสีเนือปลาเป็นสีชมพูอ่อนไม่แดงสดจึงยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีความชอบด้านกลิ่นของเนือปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูล เนื่องจากกลิ่นของน้ำมันมะกูดจากผงไมโครแคปซูลช่วยดับกลิ่นคาวของปลา ทำให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค



ภาพที่ 4.18 การยอมรับของผู้บริโภคต่อเนือปลาสดและเนือปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก

#### 4.4 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูด

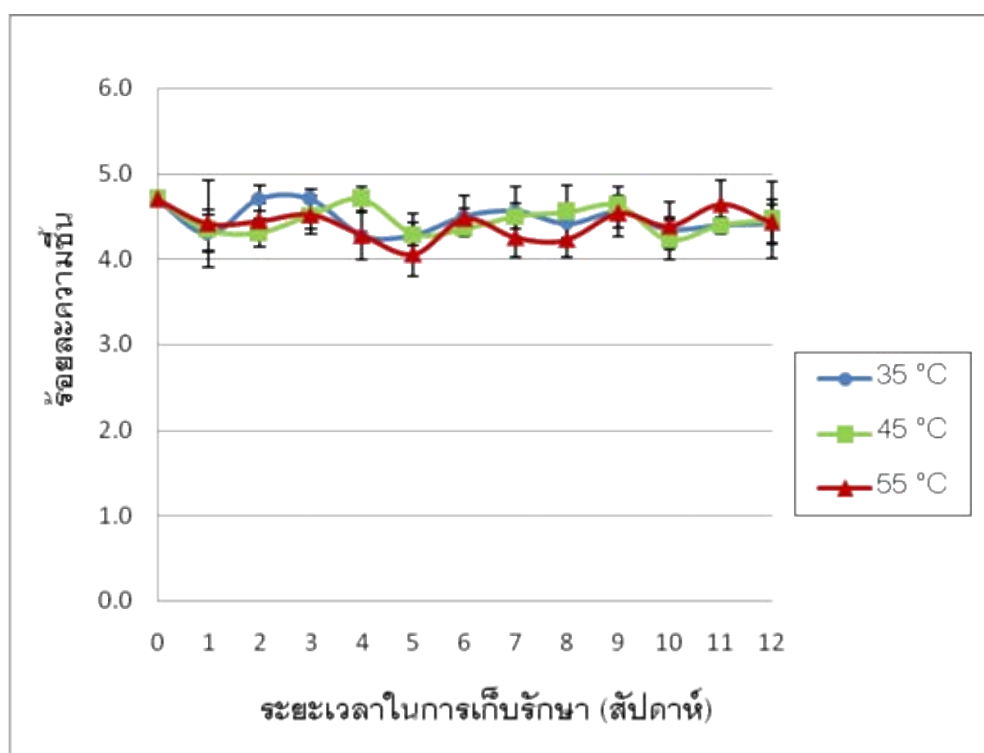
เตรียมสารเคลือบ KGM-GA นำไปผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้ง 180 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส จากนั้นบรรจุใส่ถุงออลูมิเนียมฟอยล์ น้ำหนักถุงละ  $20 \pm 1$  กรัม ปิดผนึกในสภาวะสุญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทุก 1 สัปดาห์ จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยมะกรูดตลอดอายุการเก็บ 12 สัปดาห์ พบว่าค่า water activity ของผงไมโครแคปซูลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.185-0.219 (ภาพที่ 4.19)



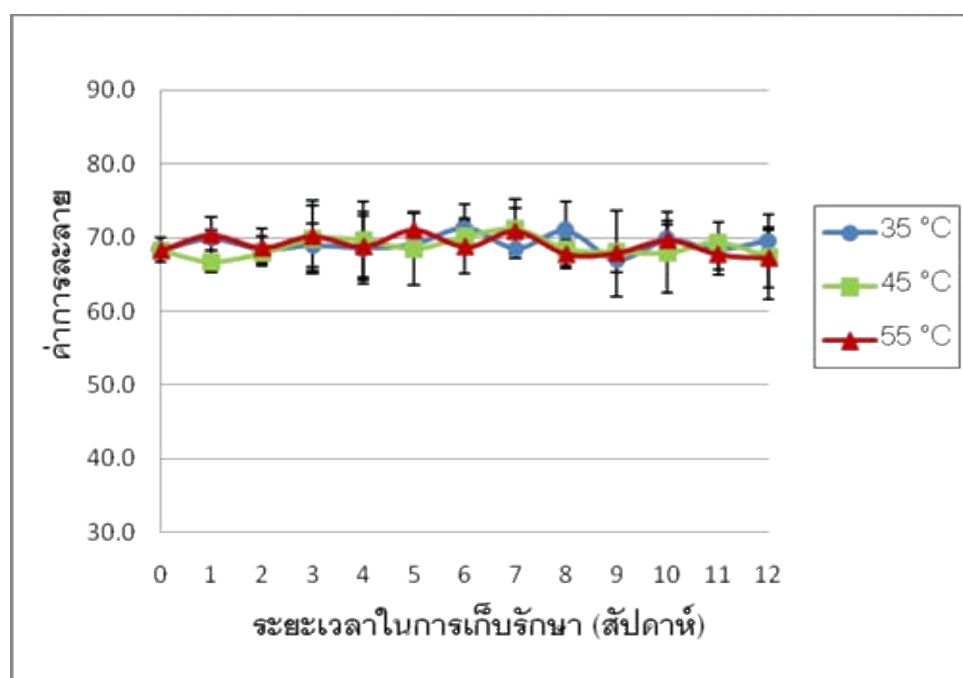
ภาพที่ 4.19 ค่า water activity ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

เช่นเดียวกับค่าความชื้น ผงไมโครแคปซูลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส มีค่าความชื้นในช่วงร้อยละ 4.06-4.74 มีค่าไม่แตกต่างกันทั้ง 3 อุณหภูมิ (ภาพที่ 4.20) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์บรรจุถุงออลูมิเนียมฟอยล์ซึ่งประกอบด้วยชั้นของพอลิเอสเตอร์

เทอร์, อลูมิเนียม และพอลิเอทิลีน (PET/AL/PE) ซึ่งมีความหนา 12/7/40 ไมครอน รวมทั้งปิดผนึกแบบสุญญากาศ ดังนั้นจึงสามารถป้องกันออกซิเจนและความชื้นที่จะซึมผ่านเข้ามาทำปฏิกิริยากับผงไมโครแคปซูลได้ จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นมากนัก ไมโครแคปซูลจึงยังคงมีคุณภาพดีแห้งและไม่จับตัวเป็นก้อน ซึ่งไมโครแคปซูลที่ดูดความชื้นง่ายนั้นจะมีผลต่อผนังของไมโครแคปซูลที่ใช้สารเคลือบที่มีสมบัติละลายน้ำได้ ทำให้ผนังไมโครแคปซูลเกิดการเปลี่ยนแปลง คุณสมบัติในการห่อหุ้มสารลดตลง และสารให้กลิ่นสามารถถูกปลดปล่อยออกมาได้ (ลัดดา ศรีสุวรรณ, 2552) ในส่วนของการละลาย ไมโครแคปซูลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส มีค่าการละลายอยู่ในช่วง 66.76-71.37 (ภาพที่ 4.21) มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) เช่นเดียวกับงานวิจัยของอมรรัตน์ ตั้งสกุล (2550) พบว่าค่าการละลายของไมโครแคปซูลโอลิโอเรซินหอมหัวใหญ่ที่บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ไม่แตกต่างกันเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน



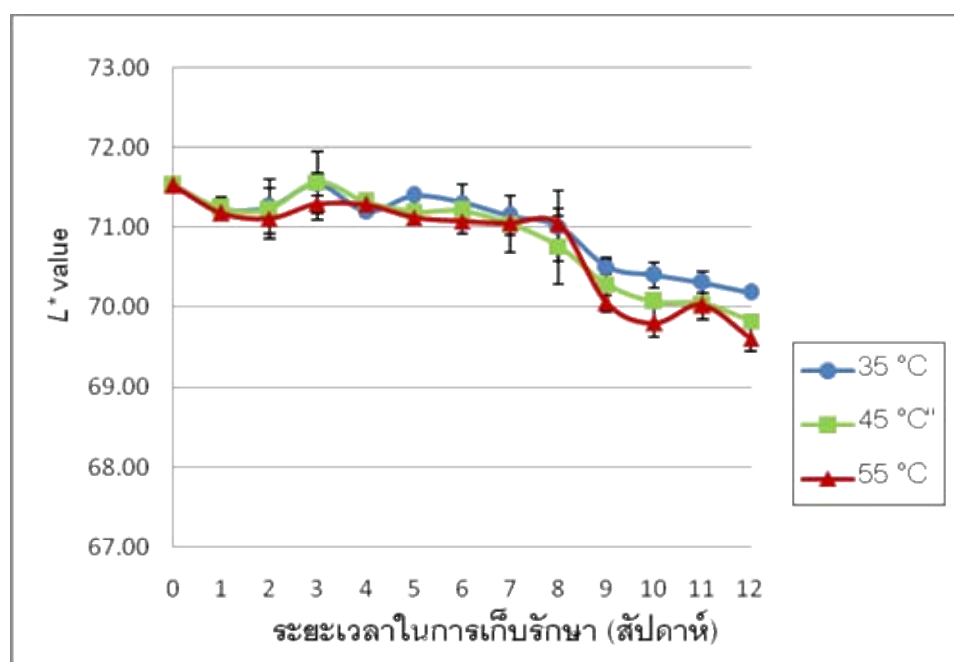
ภาพที่ 4.20 ค่าร้อยละความชื้นของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 4.21 ค่าการละลายของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ค่าความแตกต่างสี ในระบบ CIE  $L^*a^*b$  ของผงไมโครแคปซูลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ค่า  $L^*$  ซึ่งแสดงถึงความสว่างของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มลดลงจากวันเริ่มต้นค่า  $L^*$  มีค่า 71.53 จนถึงสัปดาห์ที่ 12 มีค่าลดลงเป็น 70.18, 69.83 และ 69.60 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.22) ผงไมโครแคปซูลมีค่าความสว่างลดลงหรือมีสีคล้ำขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานขึ้นและที่อุณหภูมิสูงขึ้น การลดลงของค่า  $L^*$  ของผงไมโครแคปซูลนั้นอาจเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ผลิตภัณฑ์บรรจุแบบสุญญากาศดังนั้นจึงช่วยลดการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศลงได้ แต่อาจจะมีอากาศมาจากส่วนที่เป็นรูช่องว่างในชั้นสารเคลือบของไมโครแคปซูล ซึ่งอาจจะเกิดจากฟองอากาศที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเตรียมสารละลายก่อนอบแห้งหรือในระหว่างการให้ความร้อนของการอบแห้ง เมื่อเวลานานขึ้นและอุณหภูมิสูงขึ้นสารระเหยที่ถูกกักเก็บไว้เกิดการแพร่ออกมายังในส่วนชั้นของสารเคลือบและที่ผิวด้านนอกไมโครแคปซูลมากขึ้น เมื่อมีปริมาณน้ำมันที่ผิวมากขึ้นจะส่งผลให้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากขึ้น ทำให้ไมโครแคปซูลมีค่า  $L^*$  ลดลง (ฮาภากร สุภาพิพัฒน์, 2551) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน อาจเกิดปฏิกิริยามเมลลาร์ด (Maillard reaction) ขึ้นได้ด้วย โดยเกิดจากหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซิงทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนใน

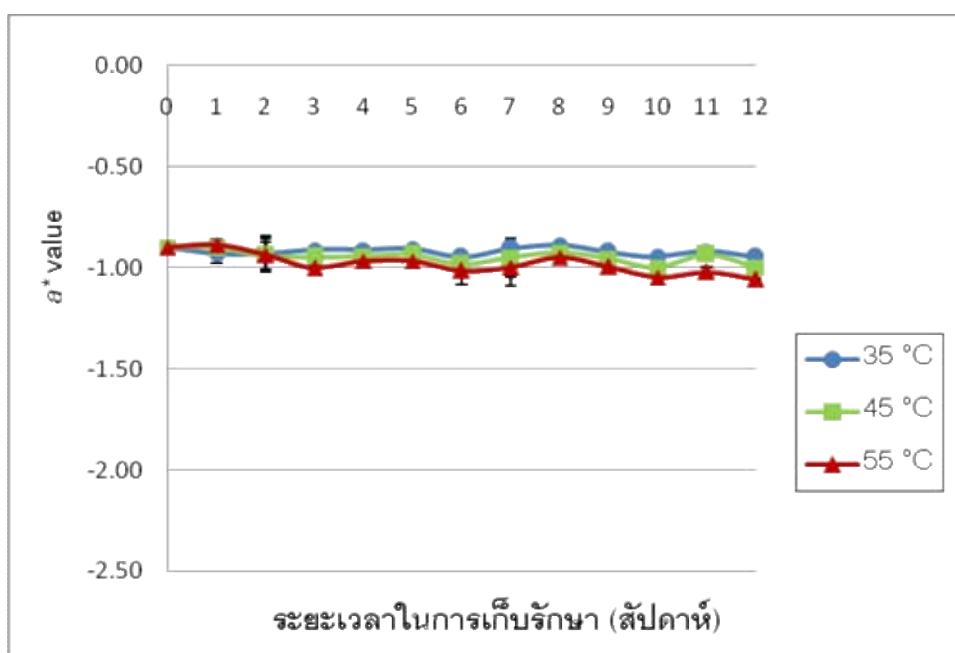
โมเลกุลของกรดอะมิโนและโปรตีน ได้เป็นไกลโคซิลเอมีน (N-substituted glycosylamine) และเกิดปฏิกิริยาต่อเนืองจนได้สารสีน้ำตาลเกิดขึ้น ซึ่งระยะเวลาและอุณหภูมิที่เก็บรักษา รวมทั้งความชื้นมีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (นิธิยา รัตนานนท์, 2551) แต่เนื่องจากไมโครแคปซูลมีค่าความชื้นและค่า water activity ต่ำ จึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษามากนัก ไมโครแคปซูลมีค่า  $L^*$  ลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานและอุณหภูมิสูงขึ้น โดยปัจจัยระยะเวลาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า  $L^*$  อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เช่นเดียวกับภทรีทิพย์รักษ์ (2549) ศึกษาอายุการเก็บของเครื่องต้มลูกเต๋อยผงบรรจุถุงลามิเนตที่ภาวะสุญญากาศเก็บที่อุณหภูมิห้อง, 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์จะมีค่า  $L^*$  ลดลง เมื่อเก็บไว้ผลิตภัณฑ์ไว้เป็นเวลานานและอุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด



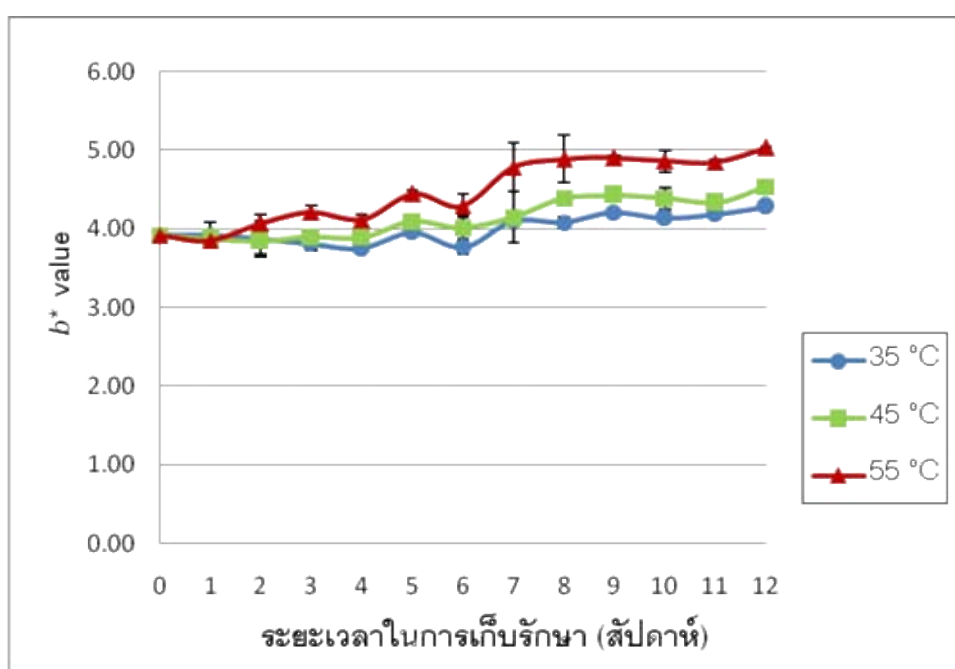
ภาพที่ 4.22 ค่า  $L^*$  value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ในส่วนค่า  $a^*$  ซึ่งแสดงถึงความเป็นสีแดง (ค่าบวก) ไปจนถึงสีเขียว (ค่าลบ) (ภาพที่ 4.23) ผงไมโครแคปซูลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส มีค่า  $a^*$  เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยจาก -0.90 เป็น -0.95, -1.00 และ -1.06 ตามลำดับในสัปดาห์สุดท้ายของการเก็บรักษา ส่วนค่า  $b^*$  แสดงค่าความเป็นสีเหลือง (ค่าบวก) และสีน้ำเงิน (ค่าลบ) ผงไมโครแคปซูลจากวันที่เริ่มเก็บมีค่า  $b^*$  3.92 และเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ไมโครแคปซูลที่เก็บที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส มีค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้นเป็น 4.28, 4.54 และ 5.03 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.24)

เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งจะเห็นได้ว่าทั้งอุณหภูมิและระยะเวลา ส่งผลต่ออัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาและการเปลี่ยนแปลงค่า  $b^*$  ไมโครแคปซูลมีสีเหลืองมากขึ้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานขึ้นและอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



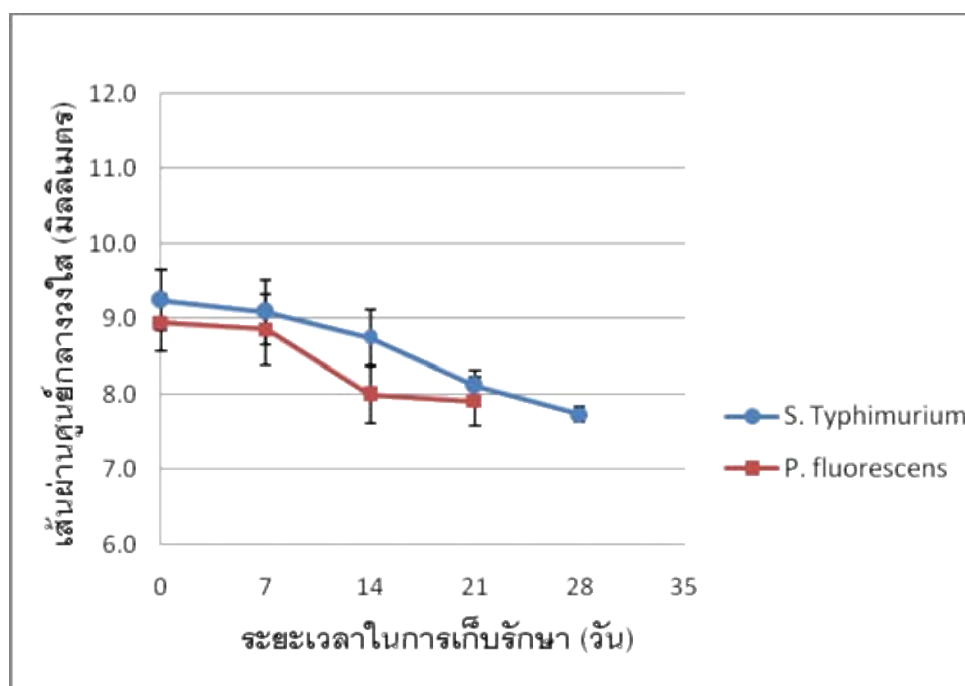
ภาพที่ 4.23 ค่า  $a^*$  value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 4.24 ค่า  $b^*$  value ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55

### องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

จากการประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas fluorescens* ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากผงไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสต้องมากกว่า 8 มิลลิเมตร ซึ่งแสดงถึงความไวของจุลินทรีย์ที่มีต่อสารต้านจุลินทรีย์ (Ponce *et al.*, 2003) พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น ซึ่งน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลมีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella* Typhimurium ได้ไม่ดี สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.25) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้มีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยมะกูดน้อยอยู่แล้ว เมื่อทำให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูลที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย มีการให้ความร้อนสูงปริมาณสารสำคัญลดลงไปมาก จึงทำให้อายุการเก็บของไมโครแคปซูลเพื่อยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดนี้ได้ไม่ดี

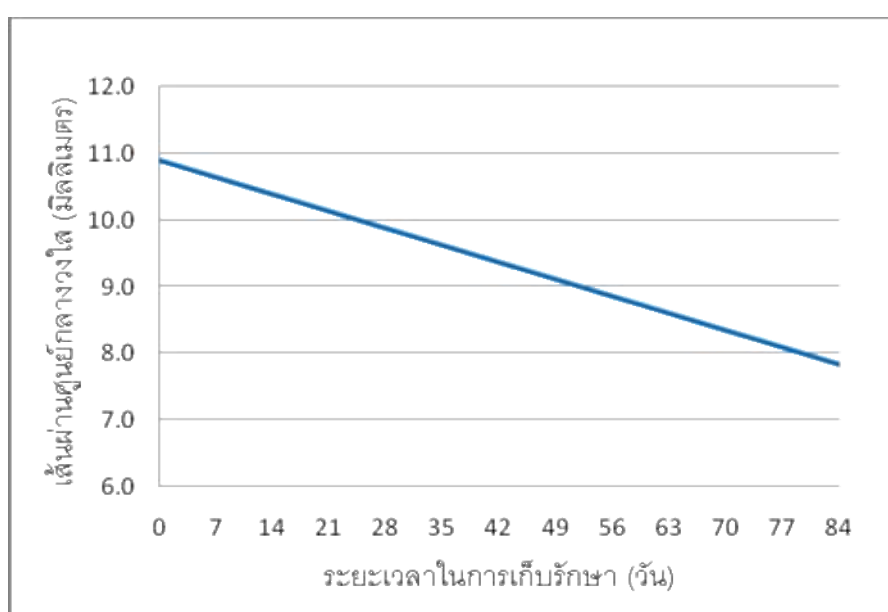


ภาพที่ 4.25 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Pseudomonas fluorescens*

ในส่วนของการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เมื่อพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกับระยะเวลาในการเก็บรักษา ได้สมการเส้นตรงดังนี้

$$\text{สมการ } y = 10.903 - 0.0364x \quad r^2 = 0.898$$

เมื่อแทนค่า  $y$  คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ใช้เป็นเกณฑ์หมดอายุของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 8 มิลลิเมตร จะได้ค่า  $x$  คือ อายุการเก็บรักษา (วัน) (ตัวอย่างวิธีคำนวณในภาคผนวก ค.) พบว่า น้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ เมื่อเก็บไมโครแคปซูลไว้เป็นระยะเวลา 79 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.26 เส้นแนวโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

น้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลยังคงสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ได้ดี โดยสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกับระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 45 และ 55 องศาเซลเซียส ได้สมการเส้นตรงดังนี้

ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

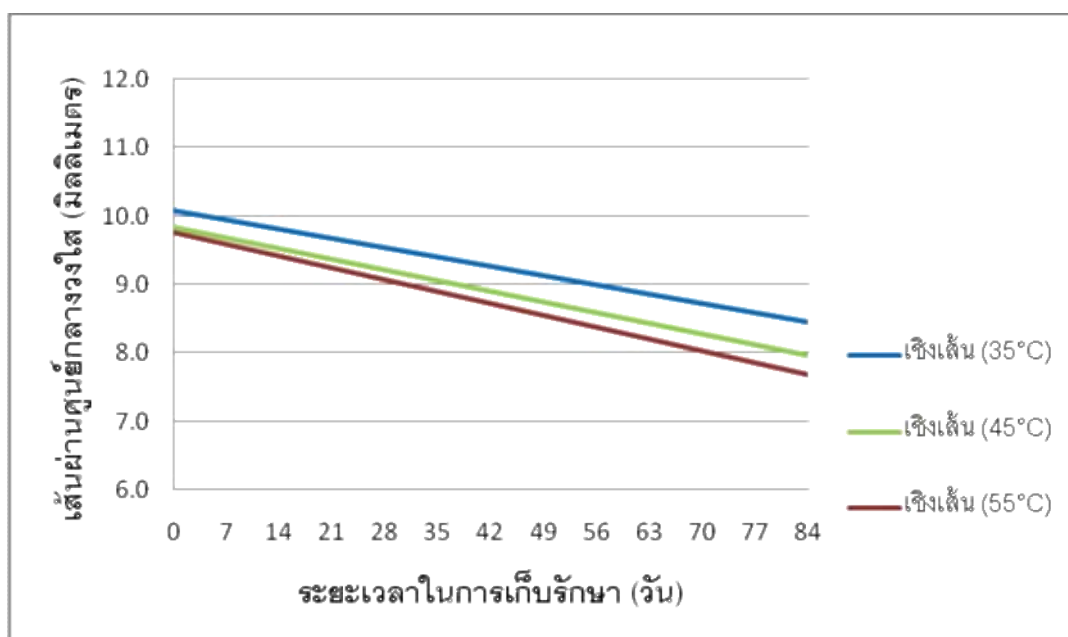
$$\text{สมการ } y = 9.8451 - 0.0225x \quad , \quad r^2 = 0.776$$



ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ } y = 9.7648 - 0.0248x, \quad r^2 = 0.713$$

เมื่อแทนค่า  $y$  คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ใช้เป็นเกณฑ์หมดอายุของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 8 มิลลิเมตร จะได้ค่า  $x$  คือ อายุการเก็บรักษา (วัน) พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้ง *Escherichia coli* ของไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บได้ 82 วัน ส่วนไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บได้ 71 วัน จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า  $Q_{10}$  และทำนายอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้เท่ากับ 94 วัน (ตัวอย่างวิธีคำนวณในภาคผนวก ค.)



ภาพที่ 4.27 เส้นแนวโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกอกที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

น้ำมันหอมระเหยมะกอกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio cholerae* ได้ดีที่สุด เมื่อนำมาทำไมโครแคปซูลจึงยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ดีที่สุดเช่นกัน ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บไว้นานขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลง แต่ยังคงมีอายุการเก็บได้นานมากกว่า 3 เดือน ทั้ง 3 อุณหภูมิ (ภาพที่ 4.28) จึงไม่สามารถคำนวณหาค่า  $Q_{10}$  ได้ จากการสร้างสมการเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ย

เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกับระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในระหว่างการเก็บรักษา 3 เดือน ได้สมการดังนี้

ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ } y = 23.437 - 0.059x \quad r^2 = 0.907$$

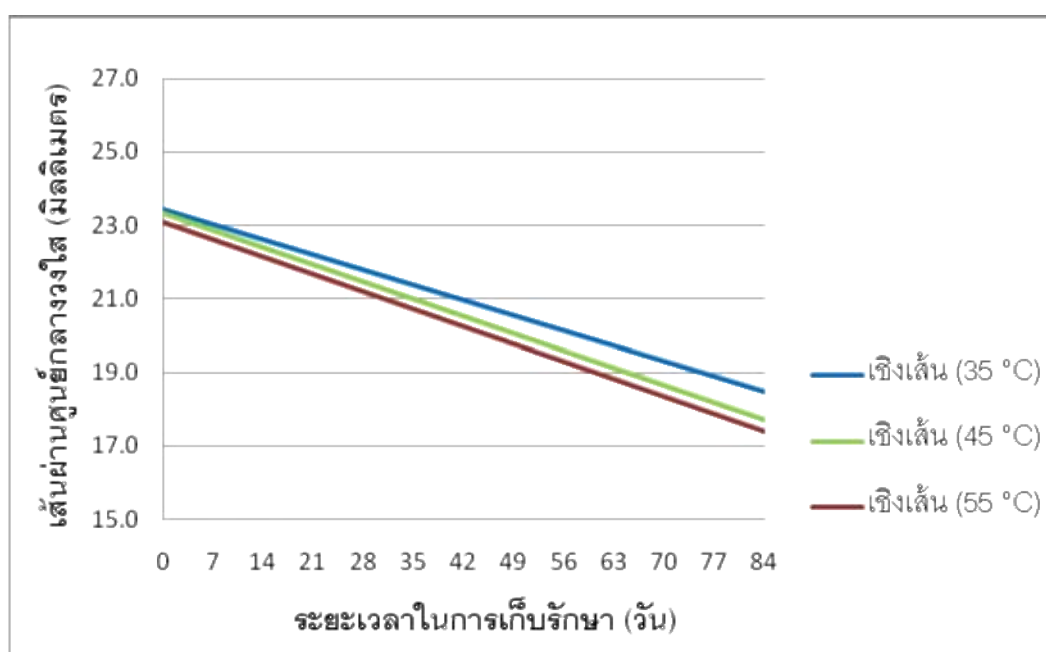
ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ } y = 23.337 - 0.0671x \quad r^2 = 0.906$$

ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ } y = 23.096 - 0.0679x \quad r^2 = 0.919$$

เมื่อแทนค่า  $y$  คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ใช้เป็นเกณฑ์หมดอายุของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 8 จะได้ค่า  $x$  คือ อายุการเก็บรักษา (วัน) พบว่าไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บได้ประมาณ 261, 228 และ 222 วัน ตามลำดับ

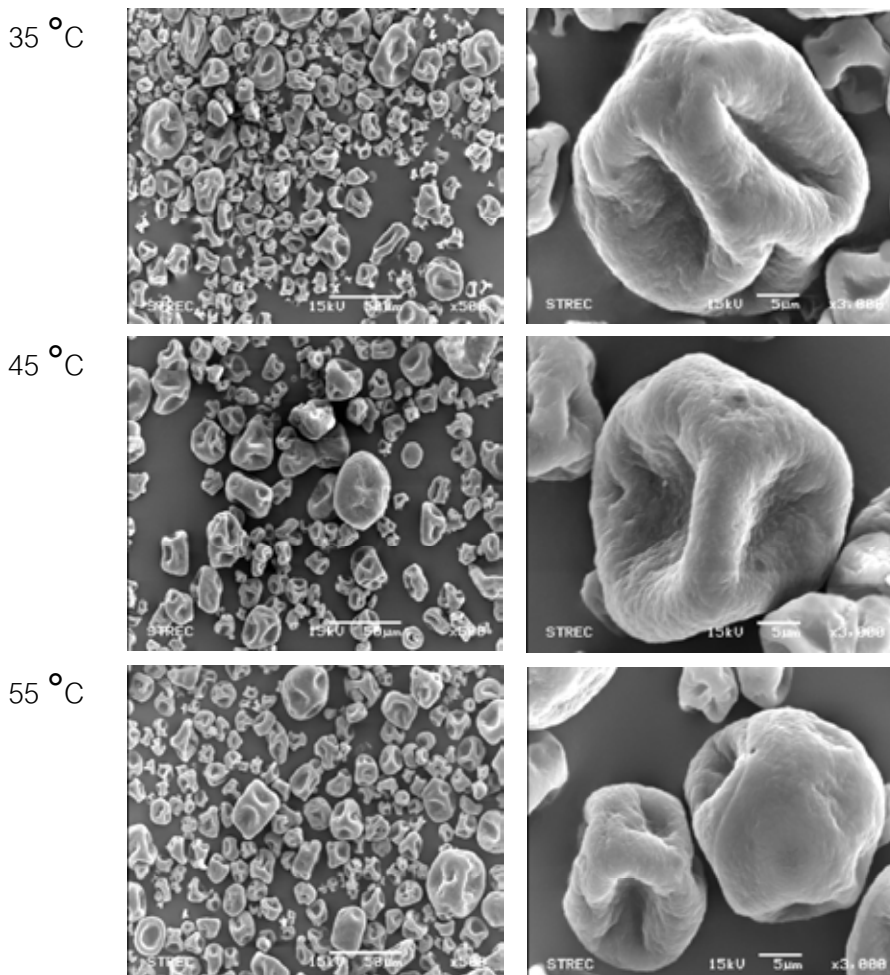


ภาพที่ 4.28 เส้นแนวโน้มของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae*

จากผลการเก็บไมโครแคปซูลเป็นระยะเวลา 3 เดือน น้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีอยู่เมื่อเริ่มต้นเก็บรักษา ถึงแม้การอบแห้งจะทำให้ปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ลดลงไปแล้วยังคงมีสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆเหลืออยู่ด้วยจึงยังสามารถยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดได้ รวมถึงสารพวกที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในรูปของแอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ และคีโตน โดยเฉพาะสาร terpinene-4-ol และ  $\alpha$ -terpineol ซึ่งมีปริมาณสูงและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี ดังนั้นน้ำมันที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 เดือน จึงยังคงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้อยู่ และจะเห็นได้ว่าน้ำมันมะกูดบริสุทธิ์มีความสามารถยับยั้งเชื้อชนิดไหนได้มาก อายุการเก็บของสารในไมโครแคปซูลเพื่อต้านจุลินทรีย์ชนิดนั้นก็ยิ่งจะมากด้วย แต่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น อาจเนื่องจากปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดการแพร่ผ่านออกจากไมโครแคปซูล โดยสารสำคัญอาจเกิดปฏิกิริยาต่างๆทำให้มีการสูญเสียหรือเปลี่ยนรูปไป เนื่องจากระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา รวมทั้งความร้อนในขั้นตอนการสกัดน้ำมันจากไมโครแคปซูลด้วย จึงทำให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลง Krishnan และคณะ (2005) ได้ศึกษาอายุการเก็บรักษาของไมโครแคปซูลโพลิเอเรซินกระวานจากสารเคลือบกัมอะราบิกเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสาร 1,8-cineole,  $\alpha$ -terpinyl acetate และ total volatile ในโพลิเอเรซินของกระวานมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น Ladaniya (2008) กล่าวว่าน้ำมันเลมอนสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปได้ โดยมีการสูญเสียสารจำพวกแอลดีไฮด์และเอสเทอร์ รวมทั้งเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและไอโซเมอไรเซชันของสารในกลุ่มเทอร์พีนได้ทันทีตั้งแต่เริ่มต้นหลังจากสกัดน้ำมันออกมาจนกระทั่งในระหว่างการเก็บรักษา Nguyen และคณะ (2009) ศึกษาอิทธิพลของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันเลมอนพบว่า ปริมาณสารองค์ประกอบหลักในน้ำมันเลมอนมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากปัจจัยสภาวะที่มีการสัมผัสอากาศมากที่สุด รองลงมาคือปัจจัยของระยะเวลา อุณหภูมิ และแสงตามลำดับ ซึ่งในการทดลองนั้นไมโครแคปซูลบรรจุแบบสุญญากาศในถุงอลูมิเนียมฟอยล์จึงสามารถปกป้องสารสำคัญจากปัจจัยในด้านของอากาศและแสงไว้ได้ดี สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูลจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงไปช้าทำให้ยังคงยับยั้งเชื้อบางชนิดได้ และจากผลการทดลองอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียสให้ผลฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าไมโครแคปซูลสามารถปกป้องสารสำคัญจากความร้อนไว้ได้ระดับหนึ่ง แต่ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลจะมีแนวโน้มลดลงมาจากปัจจัย

ด้านของระยะเวลาเป็นหลัก การเก็บไมโครแคปซูลไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น ทำให้ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

จากการวิเคราะห์ลักษณะอนุภาคของผงไมโครแคปซูลด้วยกล้อง SEM ในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษา พบว่าไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส อนุภาคผงมีรูปร่างไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเริ่มต้น รูปร่างทรงกลมที่มีรอยยุบบุบตัวของผนังอนุภาค และอนุภาคกระจายตัวยังไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อนหรือเกาะติดกันทั้ง 3 ภาวะ (ภาพที่ 4.29) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณความชื้นและค่า water activity ที่ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน ไมโครแคปซูลไม่มีการดูดความชื้นหรือจับตัวเป็นก้อนเกิดขึ้น



ภาพที่ 4.29 ภาพถ่ายจาก SEM แสดงลักษณะไมโครแคปซูล เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่กำลังขยาย 500 และ 3,000 เท่า

แต่เมื่อใช้กำลังขยายที่สูงมากซูมเข้าไปใกล้อนุภาค จะเห็นได้ว่าอนุภาคไม่แข็งแรง เปลือกของอนุภาคเปราะเกิดรอยปริแตกได้ง่ายขึ้นเมื่อถูกแรงมากกระทำ ซึ่งเกิดขึ้นทั้ง 3 คุณสมบัติที่เก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาขึ้น เปลือกของอนุภาคไมโครแคปซูลจะไม่แข็งแรง เริ่มเกิดการเสียหายของสารห่อหุ้ม เพราะง่ายขึ้นเมื่อถูกแรงจากภายนอกมากกระทำ ความสามารถที่ปกป้องสารสำคัญภายในไว้ได้ลดลง ทำให้สารสำคัญภายในสามารถแพร่ผ่านออกมาได้ มีโอกาสสูญเสียสารสำคัญที่ถูกกักเก็บไว้ได้จึงทำให้ผลการต้านจุลินทรีย์ที่ได้ลดลง

การที่มีน้ำมันออกมาอยู่ที่ผิวมากขึ้น ทำให้มีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาต่างๆกับสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลวิเคราะห์ค่าสีเมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลไว้เป็นเวลานาน ไมโครแคปซูลมีค่า  $L^*$  ลดลง และมีค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันที่ผิวมากขึ้นจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีค่าความสว่างลดลงและมีสีเหลืองมากขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของลัดดา ศรีสุวรรณ (2552) ศึกษาความสามารถในการกักเก็บสารให้กลิ่นส้มของไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการดมกลิ่น พบว่าเมื่อระยะเวลาขึ้นผู้ทดสอบจะได้กลิ่นส้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากผนังไมโครแคปซูลเกิดการเสียหายส่งผลทำให้มีน้ำมันของสารให้กลิ่นส้มออกมาอยู่บริเวณที่ผิวหน้าไมโครแคปซูลมากขึ้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาขึ้น ทำให้มีปริมาณน้ำมันออกมาที่ผิวมากขึ้น แสดงว่าความสามารถในการกักเก็บสารลดลงแต่เกิดการปลดปล่อยเพิ่มขึ้น

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

น้ำมันมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ทดลอง โดยมีฤทธิ์ยับยั้ง *Vibrio cholerae* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* และ *Pseudomonas fluorescens* ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยมะกรูดในเชิงปริมาณด้วยเทคนิค GC-MS และ GC-FID พบว่ามีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ limonene 38.78% และ  $\beta$ -pinene 36.62% นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ยังพบองค์ประกอบสารชนิดอื่นซึ่งมีปริมาณตามลำดับดังนี้คือ sabinene, terpinene-4-ol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpinene, terpinolene,  $\delta$ -cadinene, copaene, myrcene, Isopulegol และ citronella และสารอื่นๆอีกหลายชนิดในปริมาณเล็กน้อย เมื่อนำน้ำมันมะกรูดมาทำให้อยู่ในรูปของไมโครแคปซูลด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักเหลืออยู่ลดลงจากเริ่มต้น โดยมีปริมาณสารจากมากไปน้อยตามลำดับดังนี้ได้แก่ limonene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineol, terpinene-4-ol, *p*-cymene, sabinene และ  $\alpha$ -pinene และสารชนิดอื่นๆเหลืออยู่ในปริมาณเล็กน้อย ความร้อนจากการอบแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลทำให้สารสำคัญของน้ำมันมะกรูดเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือสูญเสียไปบางส่วน ภาวะที่เหมาะสมในการทำไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดคือ การใช้สารเคลือบผงบุกกลูโคแมนแนนผสมกัมอะราบิก (KGM-GA) อบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส ให้ค่า % total oil และ % inner oil สูง และมีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าภาวะอื่นที่ใช้ในการทดลอง อนุภาคของไมโครแคปซูลที่ได้มีลักษณะทรงกลมมีรอยยุบบุบลงไปแต่ไม่แตกออก บางอนุภาคมีอนุภาคเล็กถูกห่อหุ้มอยู่ในอนุภาคใหญ่อีกชั้น เมื่อนำผงไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดไปใช้ร่วมกับเนื้อปลาสด โดยใช้ไมโครแคปซูลให้มีปริมาณน้ำมันมะกรูดเข้มข้นร้อยละ 0.8 และ 1 โดยน้ำหนัก พบว่าความเข้มข้นทั้งสองภาวะส่งผลต่อทางด้านเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของเนื้อปลาสดไม่แตกต่างกัน แต่ให้ผลต่างจากตัวอย่างควบคุม สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลาสดได้มากกว่า 6 วัน แต่ไม่เกิน 9 วัน มากกว่าตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามเนื้อปลาสดคลุกผงไมโครแคปซูลมีลักษณะปรากฏที่ค่อนข้างแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม คะแนนความชอบด้านสีของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อปลาสดคลุกผงไมโครแคปซูลมีแนวโน้มต่ำกว่าเนื้อปลาสดที่ไม่ได้คลุกผงไมโครแคปซูล แต่ผู้บริโภค

ส่วนใหญ่มีแนวโน้มความชอบด้านกลิ่นของเนือปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูล เนื่องจากกลิ่นของน้ำมันมะกูดช่วยดับกลิ่นคาวปลาได้ และจากการเก็บรักษาไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำมันมะกูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลมีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* ได้ เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลเป็นเวลา 14 วัน, *Salmonella* Typhimurium เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลเป็นเวลา 21 วัน, *Staphylococcus aureus* เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลเป็นเวลา 79 วัน และ *Escherichia coli* เมื่อเก็บผงไมโครแคปซูลเป็นเวลา 94 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังคงมีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้ โดยมีอายุการเก็บนานมากกว่า 3 เดือน ทั้ง 3 อุณหภูมิที่เก็บรักษา และจากภาพถ่าย SEM จะเห็นได้ว่าไมโครแคปซูลที่เก็บไว้เป็นเวลานาน 3 เดือน เปลือกของอนุภาคไม่แข็งแรง น้ำมันที่อยู่ภายในจึงมีโอกาสที่จะแพร่ผ่านออกมาที่ผิวได้มาก ส่งผลให้ผิวด้านนอกมีปริมาณน้ำมันมากขึ้น เช่นเดียวกับค่าสีของไมโครแคปซูลเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานขึ้น ไมโครแคปซูลมีค่า  $L^*$  ลดลง และมีค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันที่ผิวมากขึ้นจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีค่าความสว่างลดลงและมีสีเหลืองมากขึ้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น มีปริมาณน้ำมันออกมาที่ผิวมากขึ้น ความสามารถในการกักเก็บสารลดลงและเกิดการปลดปล่อยเพิ่มขึ้นส่งผลต่ออายุการเก็บของไมโครแคปซูล

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- ในขั้นตอนการเตรียมสารละลายบุกมีหลายขั้นตอนและใช้เวลาค่อนข้างนาน เนื่องจากผงบุกกลูโคแมนแนนมีความหนืดสูงมาก จึงต้องผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ก่อน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ คุณสมบัติของสารละลายบุกก่อนและหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ และวิธีการย่อยสารละลายบุก เพื่อช่วยลดระยะเวลาในขั้นตอนการเตรียมสารเคลือบ และให้ผลิตภัณฑ์ได้จากการย่อยมีความสม่ำเสมอมากขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อขนาดและลักษณะของอนุภาคไมโครแคปซูลที่ได้

- ในการนำไมโครแคปซูลไปใช้ร่วมกับเนือปลาบด ต้องใช้ผงไมโครแคปซูลปริมาณมาก เพื่อให้มีความเข้มข้นน้ำมันมะกูดมากพอที่จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นถ้าปรับปรุงการทำไมโครแคปซูลให้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันไว้ได้มากขึ้น จะส่งผลให้ใช้ไมโครแคปซูลกับผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่น้อยลง ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะปรากฏไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุม

มาก และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น ดังนั้นจึงอาจต้องมีการศึกษาปัจจัยด้านอื่น ๆ ที่จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บสารของไมโครแคปซูล เช่น อัตราส่วนปริมาณน้ำมันที่ใช้ อัตราส่วนของสารเคลือบ ขนาดของอนุภาคอิมัลชันในขั้นตอนการเตรียมสารละลาย ระยะเวลาการกวนผสมด้วยเครื่อง homogenizer ความเสถียรของอิมัลชันก่อนเข้าเครื่องอบแห้ง ชนิดของหัวฉีดพ่นฝอย อัตราการป้อนสาร ขนาดของผงไมโครแคปซูลที่ได้ รวมทั้งเทคนิคอื่นๆ ที่ช่วยในการอบแห้ง เช่น agglomeration เป็นต้น

- การทดสอบพฤติกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายผงไมโครแคปซูลด้วยวิธี disc diffusion ควรทดลองละลายผงไมโครแคปซูลในสารละลาย DMSO แทนการละลายน้ำ และหาวิธีการที่ปั่นตัวอย่างสารละลายไมโครแคปซูลเพื่อให้ไขมันที่อยู่ภายในแพร่ออกมาได้ทั้งหมด

- จากงานวิจัยจะเห็นได้ว่าไมโครแคปซูลน้ำมันมะกอกมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้สูง ดังนั้นจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่นๆ ที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อของชนิดนี้ได้

- เนื้อปลาที่คลุกผงไมโครแคปซูลจะมีสีชมพูอ่อนไม่สีแดงสดเหมือนสีเนื้อปลาปกติ จึงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากนัก ดังนั้นอาจนำไปใช้กับเนื้อปลาที่มีสีขาว เช่น ปลานิล ปลากระพง ซึ่งจะให้ลักษณะสีใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์มากกว่า และการใช้ผงไมโครแคปซูลร่วมกับผลิตภัณฑ์เนื้อปลา ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ไขมันมะกอกบริสุทธิ์คลุกกับเนื้อปลาด้วย

- ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับการปลดปล่อยของไมโครแคปซูล และศึกษาเพิ่มเติมในขั้นตอนวิธีการหาปริมาณสารที่เป็นองค์ประกอบภายในไมโครแคปซูล เพื่อให้ได้ปริมาณสารที่มีอยู่ทั้งหมดในไมโครแคปซูล



## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กนกอร อินทราพิเชษฐ. 2538. เอกสารประกอบคำสอน เรื่องการเปลี่ยนแปลงของวัสดุชีวภาพหลังการเก็บเกี่ยว. สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- คู่มือแปลผล 3M. 2554. กรุงเทพฯ: บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย.
- จักรพันธ์ จุลศรีไกววัล, สรินยา ชัดชุ่มแสง, เอื้อพร ไชยวรรณ และสุวรรณา เวชชภิกุล. 2008. ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยเพื่อสุขภาพจากมะกรูดและส้มโอและการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 3 (2): 203-209.
- จิราวรรณ แย้มประยูร. 2529. การเก็บรักษาและการใช้เนื้อปลาที่แยกกระดูกด้วยเครื่องในการผลิตลูกชิ้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- จำรัส เ็นนิล และพิสสม มะลิสุวรรณ. 2546. หอมระเหย ศาสตร์แห่งการบำบัด. นนทบุรี: สำนักพิมพ์มรดกสยาม.
- ฉันทรา พูนศิริ. 2549. เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21 (4): 57-60.
- ชยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงศ์. 2545. คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 2 เครื่องยาพฤษภวัตถุ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.
- ชุตินา ไชยเชาวน์. 2545. ผลของชนิดและปริมาณของแป้งที่ใช้ต่อคุณภาพของลูกชิ้นปลานิล. รายงานการวิจัย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม.
- ชูลิทธิ หงส์กุลทรัพย์. 2549. การผลิตผงบุกโดยการสกัดแบบเปียกร่วมกับการทำแห้งแบบพ่นกระจายและการประยุกต์ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ณัฐฐา เลานกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น, ศศิธร สิงขรอาจ และอาภาพรธรณ ชฎาไพศาล. 2552. น้ำมันหอมระเหยพืชวงศ์ส้มที่สกัดโดยการกลั่นพร้อมสกัด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 40 (1): 79-82.

- ธารินี ยศสุนทร. 2544. การผลิตลูกชิ้นปลาผสมแมงกระพุนและการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นฤชยา โพธิ์เทศ. 2552. การใช้ไมโครแคปซูลกลุ่มคาร์โบไฮเดรตกักเก็บกลิ่นรสจากสมุนไพร โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบฉีดพ่นเป็นละอองฝอย เพื่อปรับปรุงอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบจากข้าวกล้องเริ่มงอก. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นิจศิริ เวียงรังษี. 2542. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นิตยา รัตนานนท์. 2551. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- นุชจรินทร์ เกตุนิล. 2548. เนื้อปลาแช่แข็งและผลิตภัณฑ์ซูริมิ สินค้าที่มีโอกาสเติบโตสูง. วารสารสถาบันอาหาร 7 (40): 22-31.
- เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน. 2546. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อมรรคาพิมพ์.
- บุษกร อุดรภิกษาติ. 2550. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. สงขลา: โครงการส่งเสริมการผลิตเอกสารวิชาการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- เบญจวรรณ โชติประดิษฐ์. 2545. การพัฒนาปลาเส้นจากซูริมิปลาดุกอุยเทศเสริมเส้นใยอาหารจากแป้งบุก. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปทุม อรุณวัชรินทร์. 2551. การประยุกต์ใช้สารสกัดจากสมุนไพรในฟิล์มบริโอคได้เพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมบริโอค. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประศาสตร์ พุตระกุล. 2545. การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตมะนาวผงโดยวิธี Spray drying ให้โรงงานอุตสาหกรรมเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม. รายงานผลการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2524. ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปราณีศา เชื้อโพธิ์หัก และนางนุช รักสกุลไทย. 2534. การปรับปรุงการทำลูกขึ้นปลา ผลของการล้างการใช้สารโพสเฟต และชนิดของแป้งต่อคุณภาพของลูกขึ้นปลา. อาหาร. 21 (1): 38-47.
- พรเทพ เมฆารักษ์ภิญโญ. 2537. ผลของการทำแห้งแบบเยือกแข็งและแบบพ่นฝอยต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พาขวัญ ทองรักษ์. 2546. การยืดอายุการเก็บรักษาปลาหมึกแช่แข็งโดยวิธีการจุ่มน้ำร้อนและกรดแล็กติก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พิชามณูช สุว่างสุข. 2551. ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในตะไคร้ (Cymbopogon citratus (DC.) Stapf). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ภัทรี ทิพย์รักษ์. 2549. การพัฒนากระบวนการผลิตเครื่องต้มลูกเต๋อย Coix lacryma-jobi Linn. ผง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ภัสจันท์ หิรัญ, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฐฐา เลานกุลจิตต์. 2552. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะนาว มะกรูดและส้มโอในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40 (1): 91-94.
- มงคล เกษประเสริฐ. 2547. บุกและการใช้ประโยชน์จากบุกในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2545. ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มูทาดา คัททับ. 2543. กัมอาร์บิก สารธรรมชาติมหัศจรรย์. วารสารสถาบันอาหาร 3 (14): 34-36.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- ลัดดา ศรีสุวรรณ. 2552. การศึกษาความสามารถในการกักเก็บสารให้กลั่นบนกระดาษด้วยวิธีเอนแคปซูล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีบรรณารักษศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วรรณี มาวิมล. 2545. การพัฒนากรรมวิธีการผลิตมะนาวผงและการประเมินอายุการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- วราทิพย์ สมบุญฤทธิ์. 2530. คุณภาพเนื้อปลาบดแบบซูริมิจากปลาหลังเขียวและปลานิลสดและแช่เยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วัลย์รัตน์ จันทร์ปานนท์. 2547. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือขจัดแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน. รายงานผลการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วันชัย ดีเอกนามกุล. 2539. คุณภาพของสมุนไพรและเครื่องเทศไทย. ใน การสัมมนาเรื่องสมุนไพรไทยเพื่อสังคมไทย. กรุงเทพฯ: คณะอนุกรรมการประสานงานวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมทางพืช สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- วันดี กฤษณพันธ์. 2539. สมุนไพรน้ำรู้. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศิริเพ็ญ จริเกษม, ศิริพันธ์ ทับทิมเทศ, ธัญวรรณ์ กางสงคราม, อุบล ฤกษ์อำ และจรัส ทิษยากร. 2548. น้ำมันหอมระเหยไทย ตอนที่ 1. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: เซเว่นพรีนติ้งกรุ๊ป.
- สรราชัย เทียมทวีสิน. 2529. ผลของตัวแปรในกระบวนการพ่นแห้งต่อคุณภาพนมผงที่โรงแม่ผงสวนดุสิต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเคมีเทคนิค บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. เนื้อปลาบดเยือกแข็ง. มอก. 935-2533.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. การปฏิบัติที่ดีในการผลิตสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเล่ม 2 การผลิตปลาสด ปลาแล่เยือกแข็ง เนื้อปลาบด และการผลิตซูริมิเยือกแข็ง. มกอช. 7411-2548.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถิติการส่งออกเนื้อปลาแบบฟิลเลและเนื้อปลาแบบอื่น (จะบดหรือไม่ก็ตาม) [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.oae.go.th/oae\\_report/export\\_import/export\\_result.php](http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php) [2554, ธันวาคม 3]

- สุชาดา ไชยสวัสดิ์, วราภรณ์ เมธาวิริยะศิลป์ และเพ็ญประภา บัวลอย. 2550. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม. กรุงเทพฯ: การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33.
- สุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล. 2552. ประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากพืชสำหรับการบรรจุอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุวรรณ วิรัชกุล. 2544. โปรตีนปลา: ชูริมิและอาหารทะเลจากชูริมิ. ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.
- โสธยา เกิดพิบูลย์. 2545. การศึกษาวิธีการผลิตลูกชิ้นปลาผสมเนื้อหอย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อมรรัตน์ ตั้งสกุล. 2550. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโกลีโอเรซินหอมหัวใหญ่ชนิดผงโดยการเอนแคปซูเลชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี.
- อัจฉรา ชัยน. 2549. คุณภาพเนื้อและไขมันของไก่เบอร์ส ไก่โรดไอแลนด์เรด และไก่แม่ฮ่องสอนที่เลี้ยงด้วยอาหารไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อาภากร สุภาพิพัฒน์. 2551. การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย เพื่อด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อุษา สิทธารถ. 2549. การพัฒนาการแปรรูปน้ำผึ้งผงและการประเมินอายุการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

### ภาษาอังกฤษ

- Ahmed, M., Akter, M. S., Lee, J. C., and Eun, J. B. 2010. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. Food Science and Technology 43: 1307-1312.

- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> ed. Washington, D.C: Association of Official Analytical Chemist International.
- APHA. 1992. Compendium of Method for the Microbiological Examination of Food. 3<sup>rd</sup> ed. Washington, D.C: American Public Health Association.
- Arpagaus, C., and Schwartzbach, H. 2008. Scale-up from bench-top research to laboratory production [Online]. Available from: [http://www.mybuchi.com/uploads/media/Best\\_Buchi\\_52\\_Scale-up\\_B-290\\_Niro\\_MOBILE\\_MINOR\\_06.pdf](http://www.mybuchi.com/uploads/media/Best_Buchi_52_Scale-up_B-290_Niro_MOBILE_MINOR_06.pdf) [2012, April 6]
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology 46: 446–475.
- Banks, H., Nickelson, R., and Finne, G. 1980. Shelf-life studies on carbon dioxide package finfish from the gulf of Mexico. Journal of Food Science 45: 157-162.
- Baranauskiene, R., Venskutonis, P. R., Dewettinck, K., and Verhé, R. 2006. Properties of oregano, citronella and marjoram flavors encapsulated into milk protein-based matrices. Food Research International 39: 413–425.
- Benita, S. 2006. Microencapsulation Methods and Industrial Applications. 2<sup>nd</sup> ed. London: Taylor & Francis Group.
- Carson, C. F., and Riley, T. V. 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Applied Microbiology 78 (3): 264-269.
- Chen, X. D., and Mujumdar, A. S. 2008. Drying Technologies in Food Processing. UK: Blackwell Publishing.
- Dabbah, R., Edwards, V. M., and Moats, W. A. 1970. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. Applied Microbiology 19 (1): 27-31.
- De Castillo, M. C., et al. 2000. Bactericidal activity of lemon juice and lemon derivatives against *Vibrio cholerae*. Biological and Pharmaceutical Bulletin 23 (10): 1235-1238.

- Dorman, H. J. D., and Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308–316.
- Dziezak, J. D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. Food Technology (April): 136–151.
- Fennema, O. R. 1996. Food Chemistry. New York: Marcel Dekker.
- Fisher, K., and Phillips, C. A. 2006. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. Journal of Applied Microbiology 101: 1232–1240.
- Fisher, K., and Phillips, C. A. 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? Trends in Food Science & Technology 19: 156-164.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., and Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview Food Research International 40: 1107-1121.
- Ghosh, S. K. 2006. Functional coatings: by polymer microencapsulation. Belgien: Wiley-VCH Verlag.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., and Mulligan, C. N. 1999. Encapsulation in the food industry: A review Internatioanl Journal of Food Sciences and Nutrition. 50: 213–224.
- Giwanon, R., Thubthimthed, S., Rerk-am, U., and Sunthorntanasart, T. 2000. Antimicrobial activity of terpinen-4-ol and sabinene. The Thai Journal of Pharmaceutical Science 27 (14): 27.
- Hardas, N., Danviriyakul, S., Foley, J. L., Nawar, W. W., and Cinachoti, P. 2002. Effect of relative humidity on the oxidative and physical stability of encapsulated milk fat. Journal of the American Oil Chemists' Society 79 (2):151–8.
- Hasegawa, H. 1987. Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products. Singapore: Southeast Asian Fisheries Development Center.

- Helander, I. M., et al. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 3590-3595.
- Hiramoto, T., Tokoro, K., and Kanisawa, T. 1999. Instability of citrus flavors and recent attempts at their stabilization. In R. Teranishi, E. L. Wick, and I. Hornstein (ed.), Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress, p. 109. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers.
- Huss, H. H. 1988. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Rome: FAO Fisheries Series No. 29.
- Inouye, S., Takizawa, T. and Yamaguchi, H. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 47: 565-573.
- Insuan, W. 2003. Extraction of aromatic compounds from citrus fruit peel by using superheated water. Master's Thesis, Department of Chemistry Faculty of Science Kasetsart University.
- Jayme, M. L., Dunstan, D. E., and Gee, M. L. 1999. Zeta potentials of gum arabic stabilised oil in water emulsions. Food Hydrocolloids 13: 459-465.
- Kato, K., and Matsuda, K. 1969. Studies of the chemical structure of konjac mannan: I. Isolation and characterization of oligosaccharides from the partial hydrolyzate of the mannan. Agricultural Biology Chemistry 33: 1446-1453.
- Kim, J., Marshall, M. R., and Wei C. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens? Journal of Agricultural and Food Chemistry 43 (11): 2839-2845.
- Kingchaiyaphum, W., and Rachtanapun, C. 2012. Antimicrobial and antioxidative activities of essential oils in Chinese sausage (Kun-Chiang). Asian Journal of Food and Agro-Industry 5 (2): 156-162.
- Kong, C. S., Ogawa, H., and Iso, N. 1999. Compression properties of fish-meat gel as affected by gelatinization of added starch. Journal of Food Science 64 (2): 283-286.



- Krishnan, S., Kshirsagar, A. C., and Singhal, R. S. 2005. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. Carbohydrate Polymers 62: 309–315.
- Ladaniya, M. S., 2008. Fruit biochemistry. In Citrus Fruit Biology Technology and Evaluation, pp.125-190. USA: Elsevier.
- Lanelongue, M., Finne, G., Hanna, M. O., Nickelson, R., and Vanderzant, C. 1982. Microbiological and chemical changes during storage of swordfish (*Xiphias gladius*) steaks in retail packages containing CO<sub>2</sub> enriched atmospheres. Journal of Food Protection 45: 1197–1203.
- Lawrence, B. M., Hogg, J. W., Terhune, S. T., and Podimuang, V. 1971. Constituents of the leaf and peel oils of *Citrus hydrix*, D.C. Phytochem 10 (6): 1404-1405.
- Lee, C. M. 1984. Surimi process technology. Food Technology 38 (11): 69-80.
- Lee, C. M., Wu, M. C., and Okada, M. 1992. Ingredients and formation technology for surimi-based product. In Surimi Technology. New York: Marcel Dekker.
- Li, B., and Xie, B. 2004. Synthesis and characterization of konjac glucomannan / poly (vinyl alcohol) interpenetrating polymer networks. Journal of Applied Polymer Science 93: 2775–2780.
- Lin, C., Sheu, S., Hsu, S., and Tsai, Y. 2010. Determination of bactericidal efficacy of essential oil extracted from orange peel on the food contact surfaces. Food Control 21: 1710-1715.
- Lota, M. L., De Rocca Serra, D., Tomi, F., and Casanova, J. 2000. Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. Biochemical Systematics and Ecology 28: 61-78.
- Masniyoma, P., Benjakul, S., and Visessanguan, W. 2005. Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technology 38: 745–756.
- Masters, K. 1979. Spray drying fundamentals: Process stages and layouts. In Spray Drying Handbook. 3<sup>rd</sup> ed. USA: John Wiley & Sons.

- Mayachiew, P., and Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology 41: 1153-1159.
- Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C. I., and Martínez-Bustos, F. 2009. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. Journal of Food Engineering 91: 380–386.
- Nanasombat, S., and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonella* and other Enterobacteria. KMITL Science and Technology Journal. 5 (3): 527-538.
- Nguyen, H., Campi, E. M., Jackson, W. R., and Patti, A. F. 2009. Effect of oxidative deterioration on flavour and aroma components of lemon oil. Food Chemistry 112: 388–393.
- Nishinari, K., Kim, K. Y., and Kohyama, K. 1987. Solution properties of konjac mannan. In Abstracts of 2<sup>nd</sup> International Workshop on Plant Polysaccharides. Grenoble.
- Nussinovitch, A. 2004. Encapsulating liquid with hydrocolloid membrane stable from about -20 to 90 degrees C without bursting. United States Patent. 6,680,184.
- Papadopoulos, C.J., Carson, C. F., Hammer K. A., and Riley T. V. 2006. Susceptibility of pseudomonads to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and components. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 58: 449–451.
- Parry, R. T. 1993. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. Glasgow: Blackie Academic & Professional.
- Partanen, P., Hakala, P., Sjövall, O., Kallio, H., and Forssell, P. 2005. Effect of relative humidity on the oxidative stability of microencapsulated sea buckthorn seed oil. Journal of Food Science 70 (1): 37-43.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., and Roura, S. I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technology 36: 679-684.
- Potter, N. N., and Hotchkis, J. H. 1995. Food Science. New York: Chapman and Hall.

- Prakittachakul, P. 2525. A study of dehydration process of lime juices. Master's Thesis, Department of Chemical Technology Graduate School Chulalongkorn University.
- Risch, S. J., and Reineccius, G. A. 1988. Flavor Encapsulation. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, D.C: American Chemical Society.
- Rosenberg, M., Kopelman, I. J., and Talmon, Y. 1985. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. Journal of Food Science 50 (1): 139–144.
- Sawamura, M., Son, U. S., Choi, H. S., Kim, M. S. L., Phi, N. T. L., Fears, M., and Kumagai, C. 2004. Compositional changes in commercial lemon essential oil for aromatherapy. International Journal of Aromatherapy 14 (1): 27-36.
- Sikorski, Z. E. 1990. Seafood: Resources, Nutritional Composition and preservation. U.S.A: CRD Press.
- Sokovic, M., Marin, P. D., Brkic, D., van Griensven, L. J. L. D. 2007. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria [Online]. Available from: [http://www.baltikjunior.com/origano\\_doc/sinisa\\_stankovic\\_1.pdf](http://www.baltikjunior.com/origano_doc/sinisa_stankovic_1.pdf) [2011, November 20]
- Soottitantawat, A., et al. 2005. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying. Innovative Food Science and Emerging Technologies 6: 107–114.
- Tagigami, S. 2000. Konjac mannan. In G. O. Phillips, and P. A. Williams (ed.), Handbook of Hydrocolloids, pp. 413-424. England: Woodhead Publishing.
- Tatum, J. H., Show, P. E., and Bergy, R. E. 1967. Some compounds from during non-enzymatic browning of orange powder. Journal of Agricultural and Food Chemistry 15: 773-779.
- Thatcher, F. S., and Clark, D. S. 1978. Microorganisms in Foods 1: Their significance and methods of enumeration. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Canada: University of Toronto Press.
- Tian, B. S., Dong, C. M., Luo, D. F., and Yao, S. N. 1999. Preparation of konjac glucomannan esters of long fatty acid and studies on the emulsifying properties. Acta Polymerica Sinica 3: 326–331.

- Turchiuli, C., et al. 2005. Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 6: 29– 35.
- Tye, R. J. 1991. Konjac flour: Properties and application. Food Technology 45 (3): 86-92.
- Venskutonis, P. R. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). Food Chemistry 59 (2): 219-227.
- Williams, P. A. and Phillips, G. O. 2000. Gum arabic. In Handbook of Hydrocolloids, pp.156-168. England: Woodhead Publishing.
- Yang, J., Xiao, J. X., and Ding, L. Z. 2009. An investigation into the application of konjac glucomannan as a flavor encapsulant. European Food Research and Technology 229: 467-474.
- Yang, L., Yang, X. M., Petcavich, R. J., and Mao, L. J. 2001. Coating materials for preserving fresh produce. United States Patent 6,203,833.
- Zhang, Y. Q., Xie, B. J., and Gan, X. 2005. Advance in the applications of konjac glucomannan and its derivatives. Carbohydrate Polymer 60: 27-31.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณสาร Beta-Pinene และ Limonene ในน้ำมันมะกรูดโดยใช้เทคนิค  
แก๊สโครมาโตกราฟี GC-MS และ GC-FID

---

Operating condition of GC

---

Column HP-5

Model Number Agilent	19091J-413
Norminal length	30.0 m
Norminal diameter	320.00 um
Norminal film thickness	0.25 um
Initial flow	1.0 ml/min

Oven

Initial temp	60 °C
Initial time	3.00 min

Ramps:

#	Rate	Final temp	Final time
1	5.00	250	10.00

Injection

Initial temperature	230 °C
Split ratio	90:1
Split flow	89.9 ml/min
Gas type	Helium

Detector

Type	FID
Temperature	240 °C

---

---

**Operating condition of GC-MS**

---

**Column** HP-5

Model Number Agilent	19091J-433
Norminal length	30.0 m
Norminal diameter	250.00 um
Norminal film thickness	0.25 um
Initial flow	1.0 ml/min

**Oven**

Initial temp	69 °C
Initial time	1.00 min

## Ramps:

#	Rate	Final temp	Final time
1	1.00	80	2.00
2	10.00	200	1.00

**Injection**

Initial temperature	250 °C
Split ratio	100:1
Split flow	79.9 ml/min
Gas type	Helium

**Detector**

Type	MS
Temperature	280 °C

---



## ก.2 การวัดปริมาณความชื้น (AOAC, 2006)

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว เกลี่ยตัวอย่างให้สม่ำเสมอ
2. นำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่
3. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่ได้หลังอบ และคำนวณหาปริมาณความชื้นดังสมการนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \left[ \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง}} \right] \times 100$$

## ก.3 การวัดค่าการละลาย (water solubility index, WSI) (Ahmed *et al.*, 2010)

1. ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 20 กรัม เขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง vortex mixer
2. นำตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
4. เทส่วนใสด้านบนลงในถ้วยอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่
5. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกรับน้ำหนักของแข็งแห้งที่ได้ และคำนวณหาค่าการละลาย ดังสมการนี้

$$\text{Water solubility index (WSI)} = \frac{\text{ปริมาณของแข็งในส่วนใส}}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด(เริ่มต้น)}} \times 100$$

#### ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด (% total oil)

ปริมาณน้ำมันทั้งหมดของไมโครแคปซูล (% total oil) คือน้ำมันที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในและน้ำมันที่ผิวด้านนอกของไมโครแคปซูล หาได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ ด้วยเครื่อง Clevenger apparatus โดยซึ่งผงไมโครแคปซูล 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 160 มิลลิลิตร กลั่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง อ่านค่าปริมาณน้ำมันที่ได้ บันทึกปริมาณน้ำมันที่สกัดออกมาได้ (ดัดแปลงจาก Baranauskiene *et al.*, 2006)



$$\text{Total oil (g)} = \frac{M_{\text{oil extract}} \times (M_{\text{KGM}} + M_{\text{cellulase}} + M_{\text{GA}} + M_{\text{tween 80}} + M_{\text{kaffir lime oil}})}{M_{\text{powder}}}$$

$$\% \text{ Yield Total oil} = \frac{\text{Total oil (g)}}{M_{\text{kaffir lime oil}}}$$

เมื่อ  $M_{\text{oil extract}}$  = น้ำหนักของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้ (ปริมาณน้ำมันมะกูดที่สกัดได้ x ความหนาแน่นของน้ำมันมะกูด)

$M_{\text{KGM}}$  = น้ำหนักของผงบุกกลูโคแมนเนนที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{cellulase}}$  = น้ำหนักของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{GA}}$  = น้ำหนักของกัมอะราบิกที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{tween 80}}$  = น้ำหนักของ tween 80 ที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{kaffir lime oil}}$  = น้ำหนักของน้ำมันมะกูดเริ่มต้นที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{powder}}$  = น้ำหนักของผงที่ได้จากการทำไมโครแคปซูล

#### ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่ผิวของไมโครแคปซูล (% surface oil)

ปริมาณน้ำมันที่ผิว (% surface oil) คือ ปริมาณน้ำมันที่อยู่ผิวด้านนอกของอนุภาคไมโครแคปซูล ใช้วิธี Soxhlet extraction method โดยการชั่งผงไมโครแคปซูล 5 กรัม ใส่ในตัวทำละลายเฮกเซน 140 มิลลิลิตร สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักน้ำมันที่เหลืออกอยู่ หลังระเหยตัวทำละลายออกไป (ดัดแปลงจาก Baranauskiene *et al.*, 2006)



$$\text{Surface oil (g)} = \frac{M_{\text{oil extract}} \times (M_{\text{KGM}} + M_{\text{cellulase}} + M_{\text{GA}} + M_{\text{tween 80}} + M_{\text{kaffir lime oil}})}{M_{\text{powder}}}$$

$$\% \text{ Yield Surface oil} = \frac{\text{Surface oil (g)}}{M_{\text{kaffir lime oil}}}$$

เมื่อ  $M_{\text{oil extract}}$  = น้ำหนักของน้ำมันมะกรูดที่สกัดได้ (ปริมาตรน้ำมันมะกรูดที่สกัดได้ x ความหนาแน่นของน้ำมันมะกรูด)

$M_{\text{KGM}}$  = น้ำหนักของผงบุกกลูโคแมนเนนที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{cellulase}}$  = น้ำหนักของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{GA}}$  = น้ำหนักของกัมอะราบิกที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{tween 80}}$  = น้ำหนักของ tween 80 ที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{kaffir lime oil}}$  = น้ำหนักของน้ำมันมะกรูดเริ่มต้นที่ใช้ในการทำไมโครแคปซูล

$M_{\text{powder}}$  = น้ำหนักของผงที่ได้จากการทำไมโครแคปซูล

#### ก.6 การวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างภายนอกและภายในของไมโครแคปซูล ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

เตรียมไมโครแคปซูลที่รูปร่างสมบูรณ์เพื่อส่องดูรูปร่างภายนอก และผงไมโครแคปซูลที่ถูกทำให้แตกก่อน โดยการบด สับและฉีกด้วยสก็อตเทปเพื่อดูรูปร่างภายในของไมโครแคปซูล โรยผงตัวอย่างลงบนแผ่นเทปกาวสองหน้าซึ่งด้านหนึ่งติดอยู่กับแท่งทองเหลือง จากนั้นนำไปเคลือบทองด้วยเครื่องเคลือบทอง แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด วิเคราะห์ที่ 15 kv acceleration voltage

ก.7 การวัดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (Total Volatile Basic Nitrogen; TVB-N) โดยวิธี Conway (Hasegawa, 1987)

**สารเคมี**

1. สารละลายกรด trichloroacetic acid ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) (TCA) ความเข้มข้น 4% โดยละลาย TCA 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร
2. สารละลาย mixed indicator เตรียมโดยใช้ methyl red 0.02 กรัม และ bromocresol green 0.01 กรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร
3. สารละลาย inner ring เตรียมโดยละลายกรดบอริก 10 กรัม ในเอทานอล 200 มิลลิลิตร เติมสารละลาย mixed indicator 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร
4. สารละลายอิมิตัว potassium carbonate ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) เตรียมโดยใช้  $\text{K}_2\text{CO}_3$  60 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดเล็กน้อย 10 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นและกรองด้วยกระดาษกรอง
5. สารละลาย Hydrochloric acid (HCl) 0.02 N

**วิธีวิเคราะห์**

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาทรายสด 2 กรัม เติมสารละลาย TCA 4% ปริมาตร 8 มิลลิลิตร บดด้วยแท่งแก้วและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41
3. เตรียมจาน Conway และทา grease ที่ขอบฝาจาน
4. ปิเปตสารละลาย inner ring ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงบริเวณ inner ring ของจาน Conway
5. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร ลงบริเวณ outer ring ของจาน Conway ด้านหนึ่ง (กรณี blank ให้ใช้ TCA 4% 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง)
6. ปิเปตสารละลายอิมิตัว  $\text{K}_2\text{CO}_3$  ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงบริเวณ outer ring ของจาน Conway อีกด้านหนึ่ง (ระวังอย่าเพิ่งให้ผสมกับสารละลายตัวอย่าง)
7. ปิดฝาจาน Conway และหนีบด้วยคลิป จากนั้นหมุนจานเบาๆ ในลักษณะเลขแปด เพื่อให้สารละลายตัวอย่างและสารละลายอิมิตัว  $\text{K}_2\text{CO}_3$  บริเวณ outer ring ผสมกัน
8. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

9. ไตเตรทสารละลายบริเวณ inner ring ด้วย 0.02 N HCl โดยใช้ไมโครบิวเรต จนกระทั่งสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู

10. นำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (TVB-N) ดังสมการนี้

$$\text{TVB-N (mg/100g ตัวอย่าง)} = \frac{(V_S - V_B) \times (N_{\text{HCl}} \times 14 \times [(W_S \times M/100) + V_E] \times 100}{W_S}$$

เมื่อ  $V_S$  = ปริมาตรของสารละลาย HCl ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

$V_B$  = ปริมาตรของสารละลาย HCl ที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)

$N_{\text{HCl}}$  = ความเข้มข้นของสารละลาย HCl ที่ใช้ในการไตเตรท

$W_S$  = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

$M$  = ร้อยละความชื้นของตัวอย่าง

$V_E$  = ปริมาตรของ TCA 4% ที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง

#### ก.8 การวัดการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา (% storage loss) (อัจฉรา ชัยน, 2549)

บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นของเนื้อปลา 6 ตัวอย่างในแต่ละทริตเมนต์ และชั่งน้ำหนักเนื้อปลาชุดเดิมทุก 3 วัน นำมาคำนวณหาการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา ดังสมการนี้

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำ} = \left[ \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา}} \right] \times 100$$

#### ก.9 การประเมินการยอมรับของผู้บริโภค

ประเมินลักษณะปรากฏด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผู้บริโภคต่อเนื้อปลาสดที่ผสมไมโครแคปซูลและไม่ผสมไมโครแคปซูล ด้วยวิธีทดสอบ 7-point hedonic scale โดยใช้ผู้ประเมินจำนวน 50 คน

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic test

เพศ.....

วันที่.....

ตัวอย่าง เนื้อปลาสด

รหัสตัวอย่าง.....

โปรดทดสอบตัวอย่าง แล้วให้คะแนนความชอบของผลิตภัณฑ์ที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด ตามระดับคะแนนดังนี้

ลักษณะปรากฏด้านสี

1 2 3 4 5 6 7

ไม่ชอบมาก เจ็บๆ ชอบมาก

ลักษณะปรากฏด้านกลิ่น

1 2 3 4 5 6 7

ไม่ชอบมาก เจ็บๆ ชอบมาก

ลักษณะปรากฏด้านเนื้อสัมผัส

1 2 3 4 5 6 7

ไม่ชอบมาก เจ็บๆ ชอบมาก

ความชอบโดยรวม

1 2 3 4 5 6 7

ไม่ชอบมาก เจ็บๆ ชอบมาก

ภาคผนวก ข.

วิธีตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์



## การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์

### 1. การเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา

1. นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เติมน้ำสะอาดละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 225 มิลลิลิตร
2. ตีปั่นตัวอย่างด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที ได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10
3. เจือจางตัวอย่าง โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer และเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับจนถึง dilution ที่ต้องการ

#### ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (APHA, 1992)

1. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ลงใน petri dish ที่ปลอดเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส เขย่าให้กระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
3. รอจนอาหารแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35\pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา  $48\pm 3$  ชั่วโมง
4. ตรวจนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี นำมาคูณกลับด้วยระดับความเจือจาง รายงานผลเป็นโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

#### ข.2 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Escherichia coli* (คู่มือแปลผล 3M, 2554)

ตรวจวิเคราะห์เชื้อด้วยแผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป 3M Petrifilm™ E. coli / Coliform Count Plate (EC)

1. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นด้านล่างที่วางบนพื้นราบ แล้วค่อยๆ ปล่อยให้แผ่นฟิล์มแผ่นบนปิด อย่าให้เกิดฟองอากาศ

2. วางแผ่นสำหรับกด (spreader) โดยให้ด้านเรียบคว่ำหน้าลงสัมผัสแผ่นฟิล์มและวงกลมครอบบริเวณหยดตัวอย่าง จากนั้นใช้นิ้วกดตรงกลางแผ่น spreader ให้ตัวอย่างกระจายทั่วบริเวณวงกลม รอ 2-3 นาที ให้เนื้อเจลแข็งตัวก่อนเคลื่อนย้าย
3. บ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ  $35\pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา  $24\pm 2$  ชั่วโมง โดยให้ด้านใสหงายขึ้น ซ้อนแผ่นกันได้ไม่เกิน 20 แผ่น
4. นับโคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊สอยู่ในรัศมีไม่เกินหนึ่งช่วงโคโลนี โดยนับช่วงโคโลนีระหว่าง 15-150 โคโลนี กรณีที่ทุกแผ่นจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 โคโลนี ให้นับจำนวนโคโลนีในแผ่นที่มีการเจือจางน้อยที่สุด นำมาคูณกลับด้วยความเจือจาง แล้วรายงานผลเป็นโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

### ข.3 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* (คู่มือแปลผล 3M, 2554)

ตรวจวิเคราะห์เชื้อด้วยแผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป 3M Petrifilm™ Staph Express Count (STX)

1. ปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นด้านล่างที่วางบนพื้นราบ แล้วค่อยๆ ปล่อยแผ่นฟิล์มแผ่นบนปิด อย่าให้เกิดฟองอากาศ
2. วางแผ่นสำหรับกด (spreader) ใช้นิ้วกดตรงกลางแผ่น spreader ให้ตัวอย่างกระจายทั่วบริเวณวงกลม รอ 2-3 นาที ให้เนื้อเจลแข็งตัวก่อนเคลื่อนย้าย
3. บ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ  $35\pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา  $24\pm 2$  ชั่วโมง โดยให้ด้านใสหงายขึ้น ซ้อนแผ่นกันได้ไม่เกิน 20 แผ่น
4. นับโคโลนีสีม่วงแดง โดยนับช่วงโคโลนีระหว่าง 1-150 โคโลนี กรณีที่ทุกแผ่นจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 โคโลนี ให้นับจำนวนโคโลนีในแผ่นที่มีการเจือจางน้อยที่สุด นำมาคูณกลับด้วยความเจือจาง แล้วรายงานผลเป็นโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

ภาคผนวก ค.

การคำนวณอายุการเก็บรักษา

## การคำนวณหาอายุการเก็บรักษาของสารต้านจุลินทรีย์ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส

โดยพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) กับระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยใช้เกณฑ์กำหนดการหมดอายุของผลิตภัณฑ์จากเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) 8 มิลลิเมตร (Ponce *et al.*, 2003) จากนั้นสร้างสมการเส้นตรงและประมาณอายุการเก็บรักษา

ตัวอย่างวิธีการคำนวณ

อายุการเก็บของไมโครแคปซูลในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

กำหนดให้           ค่า x คือ อายุการเก็บรักษา (วัน)

ค่า y คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่ใช้เป็นเกณฑ์หมดอายุของผลิตภัณฑ์ มีค่าเท่ากับ 8

ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ} \quad y = 9.8451 - 0.0225x \quad , \quad r^2 = 0.776$$

$$\text{แทนค่า} \quad 8 = 9.8451 - 0.0225x$$

$$x = (8 - 9.8451) / (-0.0225)$$

$$x = 82$$

อายุการเก็บของไมโครแคปซูลที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ *Escherichia coli* เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บได้ 82 วัน

เช่นเดียวกับการคำนวณไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

$$\text{สมการ} \quad y = 9.7648 - 0.0248x \quad r^2 = 0.713$$

พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้ง *Escherichia coli* ของไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บได้ 82 วัน ส่วนไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศา

เซลเซียส มีอายุการเก็บได้ 71 วัน จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า  $Q_{10}$  และทำนายอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้เท่ากับ 94 วัน วิธีคำนวณดังนี้

$$Q_{10} = \frac{\Theta_T}{\Theta_{T+10}}$$

$$Q_{10} = \frac{\text{อายุการเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส}}{\text{อายุการเก็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส}}$$

$$Q_{10} = 82 / 71$$

$$Q_{10} = 1.15$$

$$Q_{10}^{(T_2-T_1)/10} = \frac{\Theta_{T_1}}{\Theta_{T_2}}$$

$$\Theta_{35} = Q_{10}^{\Delta/10} \times \Theta_{45}$$

$$\Theta_{35} = 1.15^{(45-35)/10} \times 82$$

$$\Theta_{35} = 94 \text{ วัน}$$

ภาคผนวก ง.

ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ง.1 จำนวนจุลินทรีย์ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดย น้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)			จำนวนจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i>		
	ควบคุม	น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	น้ำมันมะกูด 1.0 % w/w	ควบคุม	น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	น้ำมันมะกูด 1.0 % w/w
0	5.237±0.06 <sup>ns</sup>	5.256±0.05 <sup>ns</sup>	5.059±0.19 <sup>ns</sup>	4.460±0.06 <sup>ns</sup>	4.148±0.27 <sup>ns</sup>	3.918±0.09 <sup>ns</sup>
3	6.027±0.19 <sup>b</sup>	5.437±0.06 <sup>a</sup>	5.332±0.10 <sup>a</sup>	4.832±0.12 <sup>b</sup>	4.105±0.20 <sup>a</sup>	3.929±0.21 <sup>a</sup>
6	7.310±0.31 <sup>b</sup>	6.276±0.21 <sup>a</sup>	6.043±0.12 <sup>a</sup>	4.983±0.20 <sup>ns</sup>	4.249±0.20 <sup>ns</sup>	4.174±0.30 <sup>ns</sup>
9	7.787±0.08 <sup>b</sup>	6.951±0.21 <sup>a</sup>	6.774±0.18 <sup>a</sup>	5.113±0.18 <sup>b</sup>	4.341±0.21 <sup>a</sup>	4.276±0.15 <sup>a</sup>
12	7.905±0.16 <sup>ns</sup>	7.503±0.15 <sup>ns</sup>	7.689±0.07 <sup>ns</sup>	5.180±0.28 <sup>ns</sup>	4.511±0.31 <sup>ns</sup>	4.575±0.19 <sup>ns</sup>

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี

Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ ง.2 ค่าสมบัติต่างๆของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	TVB-N (mg/100 g)			% ความชื้น			% storage loss		
	ควบคุม	น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	น้ำมันมะกูด 1.0 % w/w	ควบคุม	น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	น้ำมันมะกูด 1.0 % w/w	ควบคุม	น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	น้ำมันมะกูด 1.0 % w/w
0	6.434±1.21 <sup>ns</sup>	7.100±0.96 <sup>ns</sup>	7.025±0.89 <sup>ns</sup>	79.210±2.39 <sup>b</sup>	73.246±0.18 <sup>a</sup>	71.045±0.60 <sup>a</sup>	0.000	0.000	0.000
3	13.243±0.65 <sup>ns</sup>	10.266±1.27 <sup>ns</sup>	9.091±0.45 <sup>ns</sup>	78.463±0.94 <sup>b</sup>	72.845±1.42 <sup>a</sup>	71.833±1.44 <sup>a</sup>	1.013±0.10 <sup>ns</sup>	0.884±0.25 <sup>ns</sup>	0.739±0.07 <sup>ns</sup>
6	17.014±1.03 <sup>b</sup>	13.468±1.08 <sup>a</sup>	13.328±0.72 <sup>a</sup>	77.775±1.10 <sup>c</sup>	72.938±0.64 <sup>b</sup>	69.855±0.66 <sup>a</sup>	2.092±0.19 <sup>b</sup>	1.911±0.17 <sup>ab</sup>	1.609±0.14 <sup>a</sup>
9	20.149±0.54 <sup>b</sup>	16.753±1.09 <sup>a</sup>	16.772±0.86 <sup>a</sup>	78.651±0.44 <sup>b</sup>	72.339±0.96 <sup>a</sup>	70.713±0.48 <sup>a</sup>	2.945±0.09 <sup>c</sup>	2.469±0.22 <sup>b</sup>	1.909±0.29 <sup>a</sup>
12	26.363±0.82 <sup>ns</sup>	23.192±1.38 <sup>ns</sup>	22.867±1.32 <sup>ns</sup>	78.794±0.98 <sup>c</sup>	73.294±0.56 <sup>b</sup>	70.039±0.85 <sup>a</sup>	5.093±0.26 <sup>b</sup>	4.450±0.16 <sup>b</sup>	2.856±0.49 <sup>a</sup>

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test



ตารางที่ 3.3 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อน้ำมันมะกูดที่เคลือบและเคลือบที่เคลือบผิวไม่เคลือบที่เคลือบผิวที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก

ตัวอย่าง	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
ควบคุม	4.58±1.11 <sup>b</sup>	3.36±1.59 <sup>a</sup>	4.50±1.45 <sup>ns</sup>	4.72±1.21 <sup>ns</sup>
น้ำมันมะกูด 0.8 % w/w	3.24±1.55 <sup>a</sup>	5.06±1.78 <sup>b</sup>	4.52±1.37 <sup>ns</sup>	4.82±1.30 <sup>ns</sup>

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ ๔.4 สมบัติต่างๆ ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (สัปดาห์)	Water activity			% ความชื้น			ค่าการละลาย		
	35 °C <sup>ns</sup>	45 °C <sup>ns</sup>	55 °C <sup>ns</sup>	35 °C <sup>ns</sup>	45 °C <sup>ns</sup>	55 °C <sup>ns</sup>	35 °C <sup>ns</sup>	45 °C <sup>ns</sup>	55 °C <sup>ns</sup>
0 <sup>NS</sup>	0.202±0.03	0.202±0.03 <sup>n</sup>	0.202±0.03	4.704±0.07	4.704±0.07	4.704±0.70	68.34±1.66	68.34±1.66	68.34±1.66
1 <sup>NS</sup>	0.188±0.02	0.192±0.00	0.191±0.01	4.296±0.22	4.338±0.25	4.414±0.51	69.86±2.87	66.76±1.54	70.30±0.72
2 <sup>NS</sup>	0.191±0.01	0.193±0.01	0.193±0.02	4.708±0.15	4.305±0.16	4.443±0.21	68.40±1.81	67.86±0.94	68.70±2.59
3 <sup>NS</sup>	0.210±0.01	0.211±0.01	0.216±0.02	4.702±0.11	4.512±0.16	4.515±0.23	68.94±2.95	69.92±4.37	70.14±4.99
4 <sup>NS</sup>	0.188±0.01	0.199±0.02	0.191±0.01	4.274±0.05	4.698±1.20	4.274±0.29	68.60±4.91	69.62±5.29	68.7±4.23
5 <sup>NS</sup>	0.206±0.02	0.209±0.04	0.219±0.00	4.283±0.25	4.289±0.14	4.055±0.26	69.10±1.00	68.49±4.94	71.08±2.23
6 <sup>NS</sup>	0.188±0.01	0.208±0.01	0.204±0.01	4.502±0.24	4.353±0.06	4.477±0.11	71.37±3.16	70.13±2.43	68.72±3.57
7 <sup>NS</sup>	0.196±0.01	0.187±0.01	0.204±0.01	4.558±0.30	4.501±0.15	4.249±0.23	68.56±0.41	71.20±4.05	70.91±3.11
8 <sup>NS</sup>	0.196±0.03	0.187±0.00	0.187±0.01	4.414±0.24	4.553±0.30	4.225±0.20	70.94±3.93	68.44±2.31	67.73±1.90
9 <sup>NS</sup>	0.185±0.01	0.195±0.03	0.187±0.03	4.557±0.29	4.628±0.11	4.538±0.17	67.05±1.69	68.09±0.09	67.86±5.89
10 <sup>NS</sup>	0.208±0.03	0.185±0.03	0.204±0.02	4.343±0.14	4.221±0.23	4.387±0.28	69.68±2.09	67.97±5.52	69.73±2.59
11 <sup>NS</sup>	0.193±0.00	0.188±0.02	0.199±0.01	4.390±0.06	4.390±0.10	4.645±0.27	68.48±3.55	69.35±1.03	67.71±1.97
12 <sup>NS</sup>	0.204±0.00	0.208±0.00	0.218±0.02	4.419±0.23	4.460±0.45	4.434±0.26	69.65±1.34	67.43±5.70	67.30±4.16

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ ns ในแต่ละแถวแนวตั้ง และ NS ในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ

ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ ๓.5 ค่าสีในระบบ CIE  $L^*a^*b^*$  ของผงไมโครแคปซูลระหว่างการรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (สัปดาห์)	$L^*$			$a^*$			$b^*$		
	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C
0	71.53±0.08 <sup>ef,NS</sup>	71.53±0.08 <sup>cd,NS</sup>	71.53±0.08 <sup>e,NS</sup>	-0.90±0.01 <sup>ns,NS</sup>	-0.90±0.01 <sup>c,NS</sup>	-0.90±0.01 <sup>e,NS</sup>	3.92±0.06 <sup>ab,NS</sup>	3.92±0.06 <sup>ab,NS</sup>	3.92±0.06 <sup>ab,NS</sup>
1	71.23±0.09 <sup>cdef,NS</sup>	71.24±0.14 <sup>cd,NS</sup>	71.18±0.09 <sup>cd,NS</sup>	-0.9±0.05 <sup>ns,NS</sup>	-0.90±0.01 <sup>c,NS</sup>	-0.89±0.03 <sup>e,NS</sup>	3.92±0.16 <sup>ab,NS</sup>	3.88±0.04 <sup>ab,NS</sup>	3.85±0.09 <sup>a,NS</sup>
2	71.26±0.24 <sup>cdef,NS</sup>	71.24±0.37 <sup>cd,NS</sup>	71.11±0.18 <sup>cd,NS</sup>	-0.93±0.09 <sup>ns,NS</sup>	-0.94±0.07 <sup>abc,NS</sup>	-0.94±0.08 <sup>de,NS</sup>	3.88±0.23 <sup>ab,NS</sup>	3.85±0.18 <sup>a,NS</sup>	4.07±0.10 <sup>abc,NS</sup>
3	71.54±0.14 <sup>f,NS</sup>	71.57±0.38 <sup>d,NS</sup>	71.30±0.20 <sup>d,NS</sup>	-0.91±0.01 <sup>ns,NS</sup>	-0.95±0.02 <sup>abc,NS</sup>	-1.00±0.01 <sup>abcd,NS</sup>	3.81±0.09 <sup>ab,A</sup>	3.90±0.08 <sup>ab,A</sup>	4.21±0.08 <sup>cd,B</sup>
4	71.20±0.06 <sup>cde,NS</sup>	71.32±0.03 <sup>cd,NS</sup>	71.29±0.04 <sup>cd,NS</sup>	-0.91±0.02 <sup>ns,B</sup>	-0.94±0.01 <sup>abc,A</sup>	-0.97±0.02 <sup>bcde,A</sup>	3.76±0.02 <sup>a,A</sup>	3.89±0.04 <sup>ab,B</sup>	4.12±0.07 <sup>bc,C</sup>
5	71.40±0.04 <sup>def,B</sup>	71.20±0.15 <sup>bcd,A</sup>	71.13±0.03 <sup>cd,A</sup>	-0.91±0.01 <sup>ns,B</sup>	-0.93±0.01 <sup>abc,B</sup>	-0.97±0.03 <sup>bcde,A</sup>	3.96±0.03 <sup>bc,A</sup>	4.10±0.04 <sup>bc,B</sup>	4.45±0.04 <sup>d,C</sup>
6	71.32±0.23 <sup>cdef,NS</sup>	71.21±0.06 <sup>bcd,NS</sup>	71.08±0.15 <sup>cd,NS</sup>	-0.95±0.01 <sup>ns,NS</sup>	-0.98±0.02 <sup>ab,NS</sup>	-1.01±0.07 <sup>abcd,NS</sup>	3.76±0.09 <sup>a,A</sup>	4.02±0.14 <sup>abc,A</sup>	4.29±0.15 <sup>cd,B</sup>
7	71.15±0.07 <sup>cd,NS</sup>	71.04±0.36 <sup>bc,NS</sup>	71.06±0.14 <sup>cd,NS</sup>	-0.90±0.01 <sup>ns,NS</sup>	-0.95±0.10 <sup>abc,NS</sup>	-1.00±0.09 <sup>abcd,NS</sup>	4.10±0.06 <sup>cd,A</sup>	4.15±0.33 <sup>cd,A</sup>	4.78±0.31 <sup>e,B</sup>
8	71.02±0.45 <sup>c,NS</sup>	70.76±0.48 <sup>b,NS</sup>	71.05±0.10 <sup>c,NS</sup>	-0.89±0.01 <sup>ns,B</sup>	-0.92±0.03 <sup>bc,AB</sup>	-0.95±0.02 <sup>cde,A</sup>	4.08±0.06 <sup>cd,A</sup>	4.39±0.03 <sup>e,A</sup>	4.89±0.30 <sup>e,B</sup>
9	70.50±0.09 <sup>b,NS</sup>	70.28±0.34 <sup>a,NS</sup>	70.05±0.09 <sup>b,NS</sup>	-0.92±0.01 <sup>ns,C</sup>	-0.95±0.01 <sup>abc,B</sup>	-0.99±0.01 <sup>abcd,A</sup>	4.21±0.01 <sup>de,A</sup>	4.43±0.01 <sup>e,B</sup>	4.91±0.03 <sup>e,C</sup>
10	70.40±0.16 <sup>ab,B</sup>	70.07±0.05 <sup>a,A</sup>	69.80±0.19 <sup>a,A</sup>	-0.94±0.01 <sup>ns,C</sup>	-1.00±0.01 <sup>a,B</sup>	-1.05±0.02 <sup>ab,A</sup>	4.14±0.04 <sup>de,A</sup>	4.39±0.14 <sup>e,B</sup>	4.86±0.14 <sup>e,C</sup>
11	70.31±0.13 <sup>ab,NS</sup>	70.05±0.20 <sup>a,NS</sup>	70.03±0.02 <sup>b,NS</sup>	-0.92±0.01 <sup>ns,B</sup>	-0.93±0.01 <sup>abc,B</sup>	-1.02±0.03 <sup>abc,A</sup>	4.19±0.01 <sup>de,A</sup>	4.34±0.01 <sup>de,B</sup>	4.85±0.03 <sup>e,C</sup>
12	70.18±0.02 <sup>a,C</sup>	69.83±0.06 <sup>a,B</sup>	69.60±0.16 <sup>a,A</sup>	-0.95±0.01 <sup>ns,C</sup>	-1.00±0.01 <sup>a,B</sup>	-1.06±0.01 <sup>a,A</sup>	4.28±0.00 <sup>e,A</sup>	4.54±0.01 <sup>e,B</sup>	5.03±0.02 <sup>e,C</sup>

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน และ A,B,C,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 3.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกูดจากไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ระยะเวลา ในการเก็บ (สัปดาห์)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>			<i>Vibrio cholerae</i>		
	35 °C	35 °C	35 °C	35 °C	45 °C	55 °C	35 °C	45 °C	55 °C
0	8.95±0.38 <sup>b</sup>	9.25±0.40 <sup>b</sup>	10.73±0.51 <sup>e</sup>	10.63±0.80 <sup>e,NS</sup>	10.63±0.80 <sup>e,NS</sup>	10.63±0.80 <sup>d,NS</sup>	23.07±0.14 <sup>d,NS</sup>	23.07±0.14 <sup>f,NS</sup>	23.07±0.14 <sup>e,NS</sup>
1	8.86±0.48 <sup>b</sup>	9.09±0.43 <sup>b</sup>	10.68±0.55 <sup>e</sup>	10.06±0.23 <sup>de,NS</sup>	9.75±0.33 <sup>d,NS</sup>	10.08±0.15 <sup>d,NS</sup>	23.03±0.63 <sup>d,NS</sup>	23.03±0.41 <sup>f,NS</sup>	22.75±0.58 <sup>e,NS</sup>
2	8.00±0.39 <sup>a</sup>	8.75±0.38 <sup>b</sup>	10.73±0.38 <sup>e</sup>	9.89±0.51 <sup>cd,NS</sup>	9.52±0.21 <sup>cd,NS</sup>	9.22±0.46 <sup>c,NS</sup>	23.09±0.68 <sup>d,NS</sup>	22.97±0.58 <sup>f,NS</sup>	22.50±0.46 <sup>e,NS</sup>
3	7.92±0.33 <sup>a</sup>	8.12±0.21 <sup>a</sup>	10.71±0.42 <sup>e</sup>	9.53±0.37 <sup>bcd,NS</sup>	8.99±0.29 <sup>abcd,NS</sup>	8.75±0.46 <sup>bc,NS</sup>	23.05±0.17 <sup>d,NS</sup>	22.97±0.65 <sup>f,NS</sup>	22.42±0.60 <sup>e,NS</sup>
4	-	7.73±0.10 <sup>a</sup>	9.94±0.24 <sup>d</sup>	9.25±0.18 <sup>abc,BS</sup>	9.03±0.55 <sup>bcd,NS</sup>	8.60±0.51 <sup>abc,NS</sup>	21.27±0.47 <sup>c,NS</sup>	20.92±0.66 <sup>e,NS</sup>	20.75±0.40 <sup>d,NS</sup>
5	-	-	9.19±0.51 <sup>c</sup>	9.11±0.24 <sup>ab,NS</sup>	8.77±0.45 <sup>abc,NS</sup>	8.52±0.26 <sup>abc,NS</sup>	21.33±0.60 <sup>c,B</sup>	20.43±0.55 <sup>de,AB</sup>	19.65±0.31 <sup>c,A</sup>
6	-	-	9.02±0.23 <sup>bc</sup>	8.82±0.25 <sup>ab,B</sup>	8.40±0.22 <sup>ab,A</sup>	8.16±0.09 <sup>ab,A</sup>	20.42±0.60 <sup>bc,NS</sup>	20.05±0.23 <sup>cd,NS</sup>	19.77±0.24 <sup>c,NS</sup>
7	-	-	8.55±0.26 <sup>abc</sup>	9.12±0.36 <sup>ab,NS</sup>	8.67±0.51 <sup>ab,NS</sup>	8.50±0.48 <sup>abc,NS</sup>	20.08±0.51 <sup>b,NS</sup>	19.27±0.49 <sup>bc,NS</sup>	19.88±0.55 <sup>c,NS</sup>
8	-	-	8.97±0.49 <sup>bc</sup>	9.02±0.35 <sup>ab,NS</sup>	8.55±0.65 <sup>ab,NS</sup>	8.22±0.29 <sup>ab,NS</sup>	19.90±0.54 <sup>b,NS</sup>	19.17±0.59 <sup>b,NS</sup>	19.03±0.63 <sup>bc,NS</sup>
9	-	-	8.65±0.43 <sup>abc</sup>	8.87±0.43 <sup>ab,NS</sup>	8.38±0.33 <sup>ab,NS</sup>	8.44±0.18 <sup>ab,NS</sup>	20.08±0.55 <sup>b,NS</sup>	19.62±0.63 <sup>bcd,NS</sup>	19.20±0.48 <sup>c,NS</sup>
10	-	-	8.25±0.52 <sup>ab</sup>	8.82±0.25 <sup>ab,NS</sup>	8.50±0.23 <sup>ab,NS</sup>	8.30±0.35 <sup>ab,NS</sup>	19.83±0.56 <sup>b,NS</sup>	19.06±0.17 <sup>b,NS</sup>	19.05±0.43 <sup>bc,NS</sup>
11	-	-	8.56±0.24 <sup>abc</sup>	8.82±0.18 <sup>ab,B</sup>	8.37±0.20 <sup>ab,A</sup>	8.10±0.20 <sup>ab,A</sup>	19.51±0.33 <sup>b,B</sup>	18.87±0.38 <sup>b,AB</sup>	18.33±0.38 <sup>b,A</sup>
12	-	-	7.88±0.48 <sup>a</sup>	8.63±0.20 <sup>a,B</sup>	8.17±0.36 <sup>a,AB</sup>	7.90±0.18 <sup>a,A</sup>	17.79±0.69 <sup>a,NS</sup>	17.35±0.30 <sup>a,NS</sup>	16.77±0.43 <sup>a,NS</sup>

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a,b,c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน และ A,B,C,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ

ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

**ภาคผนวก จ**

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

ตารางที่ ๑.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของน้ำมันมะกรูดและยาปฏิชีวนะพื้นฐานด้วยวิธี disc diffusion

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Kaffir lime oil	Between Groups	1165.554	4	291.389	353.056	.000
	Within Groups	33.013	40	.825		
	Total	1198.567	44			
Tetracycline	Between Groups	190.348	4	47.587	36.828	.000
	Within Groups	51.686	40	1.292		
	Total	242.035	44			

ตารางที่ ๑.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไม้โคโรแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบฟอยอุณหภูมิอากาศเข้า 160 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

Independent Samples Test						
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Beta-pinene (%in powder)	Equal variances assumed	2.017	.229	1.840	4	.140
	Equal variances not assumed			1.840	2.327	.189
Beta-pinene (%in oil)	Equal variances assumed	2.023	.228	1.842	4	.139
	Equal variances not assumed			1.842	2.324	.189
Limonene (%in powder)	Equal variances assumed	.296	.615	1.735	4	.158
	Equal variances not assumed			1.735	3.713	.163
Limonene (%in oil)	Equal variances assumed	.297	.615	1.735	4	.158
	Equal variances not assumed			1.735	3.712	.163

ตารางที่ ๑.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ และเคมีของผงไมโครแคปซูลที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิอากาศขาเข้า 160 องศาเซลเซียส

Independent Samples Test						
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
WSI	Equal variances assumed	8.157	.046	.356	4	.740
	Equal variances not assumed			.356	2.260	.752
% Yieldd	Equal variances assumed	.643	.481	-.306	3	.780
	Equal variances not assumed			-.336	2.913	.760
water activity	Equal variances assumed	0.759	.433	.450	4	.676
	Equal variances not assumed			.450	2.937	.684
% moisture content	Equal variances assumed	1.040	.365	0.291	4	.786
	Equal variances not assumed			0.291	3.180	.789
% Total oil	Equal variances assumed	3.590	.131	-9.653	4	.001
	Equal variances not assumed			-9.653	2.172	.008
% Surface oil	Equal variances assumed	3.210	.171	6.444	3	.008
	Equal variances not assumed			8.194	2.183	.011
%Inner oil	Equal variances assumed	2.242	.209	-10.319	4	.000
	Equal variances not assumed			-10.319	3.147	.002

ตารางที่ ๑.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสาร  $\beta$ -pinene และ limonene ในน้ำมันมะกรูดที่สกัดจากไมโครแคปซูลจากสารเคลือบ KGM-GA ที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Beta-pinene (%in powder)	Between Groups	.000	2	.000	.038	.963
	Within Groups	.013	6	.002		
	Total	.013	8			
Beta-pinene (%in oil)	Between Groups	.026	2	.013	.038	.963
	Within Groups	2.039	6	.340		
	Total	2.064	8			
Limonene (%in powder)	Between Groups	.000	2	.000	.087	.918
	Within Groups	.012	6	.002		
	Total	.012	8			
Limonene (%in oil)	Between Groups	.055	2	.028	.087	.917
	Within Groups	1.895	6	.316		
	Total	1.950	8			

ตารางที่ ๑.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกรูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้าการอบแห้งต่างๆ

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
WSI	Between Groups	7.869	2	3.934	.749	.512
	Within Groups	31.508	6	5.251		
	Total	39.377	8			
% Yielld	Between Groups	76.448	2	38.224	.974	.472
	Within Groups	117.764	3	39.255		
	Total	194.211	5			
water activity	Between Groups	.026	2	.013	3.569	.109
	Within Groups	.018	5	.004		
	Total	.045	7			
% moisture content	Between Groups	6.148	2	3.074	3.884	.096
	Within Groups	3.958	5	.792		
	Total	10.106	7			



ตารางที่ ๑.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ และเคมีของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิ อากาศเข้าการอบแห้งต่างๆ (ต่อ)

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
% Total oil	Between Groups	17.171	2	8.585	.352	.723
	Within Groups	97.657	4	24.414		
	Total	114.828	6			
% Surface oil	Between Groups	6.814	2	3.407	.105	.903
	Within Groups	129.499	4	32.375		
	Total	136.314	6			
% Inner oil	Between Groups	30.958	2	15.479	.888	.480
	Within Groups	69.753	4	17.438		
	Total	100.710	6			
L*	Between Groups	3.125	2	1.563	9.991	.005
	Within Groups	1.408	9	.156		
	Total	4.533	11			
a*	Between Groups	.003	2	.002	.372	.699
	Within Groups	.040	9	.004		
	Total	.044	11			
b*	Between Groups	.086	2	.043	4.423	.046
	Within Groups	.088	9	.010		
	Total	.174	11			

**ตารางที่ ๑.6** การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลน้ำมันมะกูดจากสารเคลือบ KGM-GA ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า การอบแห้งต่างๆ

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Between Groups	1.688	2	.844	4.044	.039
	Within Groups	3.130	15	.209		
	Total	4.818	17			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Between Groups	2.002	2	1.001	6.272	.010
	Within Groups	2.394	15	.160		
	Total	4.396	17			
<i>Vibrio cholerae</i> O1 E1tor Inaba DMST 16261	Between Groups	3.853	2	1.927	7.445	.006
	Within Groups	3.882	15	.259		
	Total	7.735	17			

**ตารางที่ ๑.7** การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0วัน	Between Groups	.047	2	.023	1.672	.325
	Within Groups	.042	3	.014		
	Total	.089	5			
3วัน	Between Groups	.561	2	.281	17.236	.023
	Within Groups	.049	3	.016		
	Total	.610	5			
6วัน	Between Groups	1.821	2	.910	17.582	.022
	Within Groups	.155	3	.052		
	Total	1.976	5			
9วัน	Between Groups	1.172	2	.586	20.942	.017
	Within Groups	.084	3	.028		
	Total	1.256	5			
12วัน	Between Groups	.162	2	.081	4.494	.125
	Within Groups	.054	3	.018		
	Total	.216	5			

ตารางที่ ๑.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0วัน	Between Groups	.297	2	.148	5.134	.108
	Within Groups	.087	3	.029		
	Total	.383	5			
3วัน	Between Groups	.918	2	.459	14.122	.030
	Within Groups	.098	3	.033		
	Total	1.016	5			
6วัน	Between Groups	.800	2	.400	7.132	.072
	Within Groups	.168	3	.056		
	Total	.969	5			
9วัน	Between Groups	.869	2	.435	13.311	.032
	Within Groups	.098	3	.033		
	Total	.967	5			
12วัน	Between Groups	.545	2	.273	3.931	.145
	Within Groups	.208	3	.069		
	Total	.754	5			

ตารางที่ ๑.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ (TVB-N) ของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0วัน	Between Groups	.531	2	.266	.251	.793
	Within Groups	3.176	3	1.059		
	Total	3.708	5			
3วัน	Between Groups	18.325	2	9.163	12.305	.036
	Within Groups	2.234	3	.745		
	Total	20.559	5			
6วัน	Between Groups	17.451	2	8.726	9.509	.050
	Within Groups	2.753	3	.918		
	Total	20.204	5			
9วัน	Between Groups	15.292	2	7.646	10.363	.045
	Within Groups	2.213	3	.738		
	Total	17.505	5			
12วัน	Between Groups	14.919	2	7.460	5.163	.107
	Within Groups	4.334	3	1.445		
	Total	19.254	5			

ตารางที่ ๑.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณความชื้นของเนือปลาบดและเนือปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0วัน	Between Groups	71.397	2	35.698	17.513	.022
	Within Groups	6.115	3	2.038		
	Total	77.512	5			
3วัน	Between Groups	51.040	2	25.520	15.389	.026
	Within Groups	4.975	3	1.658		
	Total	56.015	5			
6วัน	Between Groups	63.745	2	31.872	46.686	.005
	Within Groups	2.048	3	.683		
	Total	65.793	5			
9วัน	Between Groups	70.341	2	35.170	79.340	.003
	Within Groups	1.330	3	.443		
	Total	71.671	5			
12วัน	Between Groups	80.978	2	40.489	50.054	.005
	Within Groups	2.427	3	.809		
	Total	83.405	5			

ตารางที่ ๑.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%storage loss) ของเนือปลาบดและเนือปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
3วัน	Between Groups	.113	2	.057	2.121	.201
	Within Groups	.160	6	.027		
	Total	.273	8			
6วัน	Between Groups	.358	2	.179	6.208	.035
	Within Groups	.173	6	.029		
	Total	.530	8			
9วัน	Between Groups	1.611	2	.806	17.684	.003
	Within Groups	.273	6	.046		
	Total	1.885	8			
12วัน	Between Groups	7.955	2	3.978	35.994	.000
	Within Groups	.663	6	.111		
	Total	8.618	8			

ตารางที่ ๑.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย  $L^*$  ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และ ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
L* 0วัน	Between Groups	417.814	2	208.907	447.477	.000
	Within Groups	2.801	6	.467		
	Total	420.615	8			
3วัน	Between Groups	528.042	2	264.021	411.063	.000
	Within Groups	3.854	6	.642		
	Total	531.896	8			
6วัน	Between Groups	425.403	2	212.702	3.641E3	.000
	Within Groups	.234	4	.058		
	Total	425.637	6			
9วัน	Between Groups	358.286	2	179.143	1.855E3	.000
	Within Groups	.290	3	.097		
	Total	358.576	5			
12วัน	Between Groups	324.514	2	162.257	1.259E3	.000
	Within Groups	.387	3	.129		
	Total	324.901	5			

ตารางที่ ๑.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย  $a^*$  ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูดร้อยละ 0.8 และร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
a* 0วัน	Between Groups	8.227	2	4.114	37.745	.000
	Within Groups	.654	6	.109		
	Total	8.881	8			
3วัน	Between Groups	17.450	2	8.725	53.260	.000
	Within Groups	.983	6	.164		
	Total	18.433	8			
6วัน	Between Groups	15.640	2	7.820	48.759	.001
	Within Groups	.802	5	.160		
	Total	16.442	7			
9วัน	Between Groups	3.104	2	1.552	8.848	.034
	Within Groups	.702	4	.175		
	Total	3.805	6			
12วัน	Between Groups	1.398	2	.699	6.063	.088
	Within Groups	.346	3	.115		
	Total	1.744	5			

ตารางที่ ๑.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าเฉลี่ย  $b^*$  ของเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลที่มีความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 และ ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
b*0 วัน	Between Groups	24.790	2	12.395	98.462	.000
	Within Groups	.755	6	.126		
	Total	25.546	8			
3วัน	Between Groups	34.813	2	17.407	100.901	.000
	Within Groups	1.035	6	.173		
	Total	35.848	8			
6วัน	Between Groups	67.476	2	33.738	255.118	.000
	Within Groups	.793	6	.132		
	Total	68.269	8			
9วัน	Between Groups	57.676	2	28.838	252.007	.000
	Within Groups	.343	3	.114		
	Total	58.019	5			
12วัน	Between Groups	64.396	2	32.198	350.805	.000
	Within Groups	.275	3	.092		
	Total	64.671	5			



ตารางที่ ๑.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการยอมรับของผู้บริโภคต่อเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดที่คลุกผงไมโครแคปซูลความเข้มข้นของน้ำมันมะกูด้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
สี	Equal variances assumed	9.254	.003	4.981	98	.000
	Equal variances not assumed			4.981	88.838	.000
กลิ่น	Equal variances assumed	1.071	.303	-5.044	98	.000
	Equal variances not assumed			-5.044	96.776	.000
เนื้อสัมผัส	Equal variances assumed	.209	.648	-.071	98	.944
	Equal variances not assumed			-.071	97.742	.944
ความชอบโดยรวม	Equal variances assumed	1.899	.171	-.397	98	.692
	Equal variances not assumed			-.397	97.485	.692

ตารางที่ ๑.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	51.245	12	4.270	.585	.834
	Within Groups	189.760	26	7.298		
	Total	241.005	38			
ค่าความชื้น	Between Groups	.941	12	.078	1.982	.070
	Within Groups	1.029	26	.040		
	Total	1.970	38			
water activity	Between Groups	.003	12	.000	.638	.791
	Within Groups	.009	26	.000		
	Total	.011	38			
L*	Between Groups	8.305	12	.692	22.388	.000
	Within Groups	.804	26	.031		
	Total	9.108	38			
a*	Between Groups	.013	12	.001	1.301	.276
	Within Groups	.022	26	.001		
	Total	.035	38			
b*	Between Groups	1.133	12	.094	11.271	.000
	Within Groups	.218	26	.008		
	Total	1.351	38			

ตารางที่ ๑.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	56.752	12	4.729	.364	.965
	Within Groups	338.109	26	13.004		
	Total	394.861	38			
ค่าความชื้น	Between Groups	.898	12	.075	1.755	.112
	Within Groups	1.108	26	.043		
	Total	2.006	38			
water activity	Between Groups	.003	12	.000	.616	.810
	Within Groups	.011	26	.000		
	Total	.014	38			
L*	Between Groups	13.248	12	1.104	16.848	.000
	Within Groups	1.704	26	.066		
	Total	14.952	38			
a*	Between Groups	.035	12	.003	2.306	.036
	Within Groups	.033	26	.001		
	Total	.068	38			
b*	Between Groups	2.212	12	.184	12.308	.000
	Within Groups	.389	26	.015		
	Total	2.601	38			

ตารางที่ ๑.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	57.115	12	4.760	.423	.940
	Within Groups	292.672	26	11.257		
	Total	349.786	38			
ค่าความชื้น	Between Groups	1.138	12	.095	1.437	.212
	Within Groups	1.716	26	.066		
	Total	2.854	38			
water activity	Between Groups	.005	12	.000	1.400	.228
	Within Groups	.007	26	.000		
	Total	.012	38			
L*	Between Groups	15.433	12	1.286	78.616	.000
	Within Groups	.425	26	.016		
	Total	15.858	38			
a*	Between Groups	.096	12	.008	4.425	.001
	Within Groups	.047	26	.002		
	Total	.144	38			
b*	Between Groups	6.409	12	.534	26.258	.000
	Within Groups	.529	26	.020		
	Total	6.937	38			

ตารางที่ ๑.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 1

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	23.296	2	11.648	3.161	.115
	Within Groups	22.111	6	3.685		
	Total	45.407	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.021	2	.011	.088	.917
	Within Groups	.727	6	.121		
	Total	.748	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.105	.902
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.006	2	.003	.243	.792
	Within Groups	.071	6	.012		
	Total	.077	8			
a*	Between Groups	.003	2	.001	1.565	.284
	Within Groups	.006	6	.001		
	Total	.009	8			
b*	Between Groups	.007	2	.003	.284	.762
	Within Groups	.071	6	.012		
	Total	.078	8			

ตารางที่ ๑.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 2

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	1.133	2	.566	.156	.859
	Within Groups	21.735	6	3.623		
	Total	22.868	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.252	2	.126	4.160	.074
	Within Groups	.182	6	.030		
	Total	.433	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.016	.984
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.039	2	.020	.256	.782
	Within Groups	.457	6	.076		
	Total	.496	8			
a*	Between Groups	.000	2	.000	.012	.988
	Within Groups	.038	6	.006		
	Total	.038	8			
b*	Between Groups	.088	2	.044	1.381	.321
	Within Groups	.192	6	.032		
	Total	.280	8			

ตารางที่ ๑.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 3

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	2.148	2	1.074	.061	.941
	Within Groups	105.419	6	17.570		
	Total	107.567	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.071	2	.036	1.208	.362
	Within Groups	.177	6	.030		
	Total	.249	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.191	.831
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.134	2	.067	.974	.430
	Within Groups	.414	6	.069		
	Total	.548	8			
a*	Between Groups	.012	2	.006	42.538	.000
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.013	8			
b*	Between Groups	.267	2	.134	19.798	.002
	Within Groups	.041	6	.007		
	Total	.308	8			

ตารางที่ ๑.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 4

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	1.974	2	.987	.042	.959
	Within Groups	139.853	6	23.309		
	Total	141.827	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.360	2	.180	5.049	.052
	Within Groups	.214	6	.036		
	Total	.574	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.419	.676
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.002	8			
L*	Between Groups	.022	2	.011	5.105	.051
	Within Groups	.013	6	.002		
	Total	.034	8			
a*	Between Groups	.005	2	.002	10.950	.010
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.006	8			
b*	Between Groups	.198	2	.099	45.035	.000
	Within Groups	.013	6	.002		
	Total	.211	8			

ตารางที่ ๑.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 5

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	10.900	2	5.450	.540	.609
	Within Groups	60.539	6	10.090		
	Total	71.440	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.106	2	.053	1.074	.399
	Within Groups	.297	6	.050		
	Total	.403	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.204	.821
	Within Groups	.004	6	.001		
	Total	.005	8			
L*	Between Groups	.120	2	.060	7.433	.024
	Within Groups	.048	6	.008		
	Total	.169	8			
a*	Between Groups	.005	2	.003	10.167	.012
	Within Groups	.002	6	.000		
	Total	.007	8			
b*	Between Groups	.386	2	.193	151.209	.000
	Within Groups	.008	6	.001		
	Total	.394	8			



ตารางที่ ๑.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 6

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	10.564	2	5.282	.553	.602
	Within Groups	57.274	6	9.546		
	Total	67.837	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.038	2	.019	.796	.494
	Within Groups	.144	6	.024		
	Total	.182	8			
water activity	Between Groups	.001	2	.000	3.405	.103
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.084	2	.042	1.657	.267
	Within Groups	.153	6	.025		
	Total	.237	8			
a*	Between Groups	.007	2	.003	1.760	.250
	Within Groups	.011	6	.002		
	Total	.018	8			
b*	Between Groups	.427	2	.213	12.866	.007
	Within Groups	.100	6	.017		
	Total	.526	8			

ตารางที่ ๑.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 7

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	12.395	2	6.198	.707	.530
	Within Groups	52.577	6	8.763		
	Total	64.972	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.162	2	.081	1.478	.301
	Within Groups	.329	6	.055		
	Total	.492	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	2.481	.164
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.019	2	.009	.184	.836
	Within Groups	.309	6	.051		
	Total	.328	8			
a*	Between Groups	.013	2	.007	1.122	.385
	Within Groups	.035	6	.006		
	Total	.048	8			
b*	Between Groups	.861	2	.430	6.206	.035
	Within Groups	.416	6	.069		
	Total	1.277	8			

ตารางที่ ๑.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 8

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	17.070	2	8.535	1.051	.406
	Within Groups	48.714	6	8.119		
	Total	65.784	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.162	2	.081	1.284	.343
	Within Groups	.379	6	.063		
	Total	.541	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.232	.800
	Within Groups	.002	6	.000		
	Total	.002	8			
L*	Between Groups	.153	2	.076	.525	.617
	Within Groups	.872	6	.145		
	Total	1.025	8			
a*	Between Groups	.006	2	.003	6.205	.035
	Within Groups	.003	6	.000		
	Total	.009	8			
b*	Between Groups	.987	2	.494	15.908	.004
	Within Groups	.186	6	.031		
	Total	1.174	8			

ตารางที่ ๑.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 9

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	1.808	2	.904	.072	.931
	Within Groups	75.099	6	12.517		
	Total	76.907	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.014	2	.007	.164	.853
	Within Groups	.251	6	.042		
	Total	.264	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.136	.875
	Within Groups	.004	6	.001		
	Total	.004	8			
L*	Between Groups	.304	2	.152	3.508	.098
	Within Groups	.260	6	.043		
	Total	.564	8			
a*	Between Groups	.008	2	.004	33.091	.001
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.009	8			
b*	Between Groups	.769	2	.384	1.048E3	.000
	Within Groups	.002	6	.000		
	Total	.771	8			

ตารางที่ ๑.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 10

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	6.172	2	3.086	.223	.806
	Within Groups	82.982	6	13.830		
	Total	89.154	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.044	2	.022	.435	.666
	Within Groups	.305	6	.051		
	Total	.350	8			
water activity	Between Groups	.001	2	.000	.640	.560
	Within Groups	.004	6	.001		
	Total	.005	8			
L*	Between Groups	.543	2	.271	13.066	.007
	Within Groups	.125	6	.021		
	Total	.667	8			
a*	Between Groups	.016	2	.008	34.333	.001
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.017	8			
b*	Between Groups	.803	2	.402	29.222	.001
	Within Groups	.082	6	.014		
	Total	.886	8			

ตารางที่ ๑.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการ  
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 11

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	5.191	2	2.596	.452	.656
	Within Groups	34.458	6	5.743		
	Total	39.650	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.129	2	.065	2.194	.193
	Within Groups	.176	6	.029		
	Total	.305	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	.454	.655
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.146	2	.073	3.735	.088
	Within Groups	.118	6	.020		
	Total	.264	8			
a*	Between Groups	.018	2	.009	28.655	.001
	Within Groups	.002	6	.000		
	Total	.020	8			
b*	Between Groups	.713	2	.356	1.002E3	.000
	Within Groups	.002	6	.000		
	Total	.715	8			

ตารางที่ ๑.30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของสมบัติของผงไมโครแคปซูลระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ที่ 12

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ค่าการละลาย	Between Groups	10.473	2	5.236	.304	.748
	Within Groups	103.188	6	17.198		
	Total	113.661	8			
ค่าความชื้น	Between Groups	.003	2	.001	.012	.988
	Within Groups	.643	6	.107		
	Total	.645	8			
water activity	Between Groups	.000	2	.000	1.909	.228
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.001	8			
L*	Between Groups	.513	2	.257	26.021	.001
	Within Groups	.059	6	.010		
	Total	.573	8			
a*	Between Groups	.018	2	.009	273.000	.000
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.018	8			
b*	Between Groups	.872	2	.436	3.018E3	.000
	Within Groups	.001	6	.000		
	Total	.873	8			

ตารางที่ ๑.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>staphylococcus aureus</i> 35 °C	Between Groups	39.535	12	3.295	18.568	.000
	Within Groups	4.613	26	.177		
	Total	44.148	38			
<i>E. coli</i> 35 °C	Between Groups	12.652	12	1.054	7.560	.000
	Within Groups	3.626	26	.139		
	Total	16.277	38			
<i>Vibrio cholerae</i> 35 °C	Between Groups	102.784	12	8.565	30.806	.000
	Within Groups	7.229	26	.278		
	Total	110.013	38			
<i>Salmonella typhimurium</i> 35 °C	Between Groups	5.017	4	1.254	11.651	.001
	Within Groups	1.077	10	.108		
	Total	6.094	14			
<i>pseudomonas fluorescens</i> 35 °C	Between Groups	2.721	3	.907	5.789	.021
	Within Groups	1.254	8	.157		
	Total	3.975	11			



ตารางที่ ๑.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียส

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>E. coli</i> 45 °C	Between Groups	17.424	12	1.452	7.736	.000
	Within Groups	4.880	26	.188		
	Total	22.303	38			
<i>Vibrio cholerae</i> 45 °C	Between Groups	132.933	12	11.078	48.376	.000
	Within Groups	5.954	26	.229		
	Total	138.887	38			
<i>E. coli</i> 55 °C	Between Groups	23.112	12	1.926	12.790	.000
	Within Groups	3.915	26	.151		
	Total	27.028	38			
<i>Vibrio cholerae</i> 55 °C	Between Groups	134.301	12	11.192	54.526	.000
	Within Groups	5.337	26	.205		
	Total	139.637	38			

ตารางที่ ๑.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จาก ไมโครแคปซูลที่เก็บรักษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 1	Between Groups	.203	2	.102	1.661	.267
	Within Groups	.367	6	.061		
	Total	.570	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 2	Between Groups	.690	2	.345	1.992	.217
	Within Groups	1.039	6	.173		
	Total	1.728	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 3	Between Groups	.947	2	.473	3.301	.108
	Within Groups	.861	6	.143		
	Total	1.807	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 4	Between Groups	.657	2	.329	1.669	.265
	Within Groups	1.182	6	.197		
	Total	1.839	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 5	Between Groups	.532	2	.266	2.443	.167
	Within Groups	.654	6	.109		
	Total	1.186	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 6	Between Groups	.662	2	.331	8.411	.018
	Within Groups	.236	6	.039		
	Total	.899	8			

ตารางที่ ๑.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ต่อ)

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 7	Between Groups	.611	2	.305	1.491	.298
	Within Groups	1.228	6	.205		
	Total	1.839	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 8	Between Groups	.969	2	.484	2.301	.181
	Within Groups	1.263	6	.211		
	Total	2.232	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 9	Between Groups	.424	2	.212	1.952	.222
	Within Groups	.651	6	.109		
	Total	1.075	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 10	Between Groups	.407	2	.204	2.590	.155
	Within Groups	.472	6	.079		
	Total	.879	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 11	Between Groups	.786	2	.393	10.609	.011
	Within Groups	.222	6	.037		
	Total	1.008	8			
<i>E. coli</i> สัปดาห์ที่ 12	Between Groups	.827	2	.413	6.073	.036
	Within Groups	.408	6	.068		
	Total	1.235	8			

ตารางที่ ๑.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio cholerae* ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 1	Between Groups	.161	2	.080	.268	.774
	Within Groups	1.798	6	.300		
	Total	1.959	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 2	Between Groups	.586	2	.293	.876	.464
	Within Groups	2.007	6	.334		
	Total	2.593	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 3	Between Groups	.711	2	.355	1.313	.336
	Within Groups	1.623	6	.271		
	Total	2.334	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 4	Between Groups	.417	2	.209	.764	.506
	Within Groups	1.638	6	.273		
	Total	2.056	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 5	Between Groups	4.276	2	2.138	8.371	.018
	Within Groups	1.533	6	.255		
	Total	5.809	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 6	Between Groups	.637	2	.319	2.016	.214
	Within Groups	.948	6	.158		
	Total	1.586	8			

ตารางที่ ๑.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio cholerae* ของน้ำมันมะกูดที่สกัดได้จากไมโครแคปซูลที่เก็บรักษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ต่อ)

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 7	Between Groups	1.087	2	.544	2.026	.213
	Within Groups	1.610	6	.268		
	Total	2.697	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 8	Between Groups	1.307	2	.653	1.909	.228
	Within Groups	2.053	6	.342		
	Total	3.360	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 9	Between Groups	1.172	2	.586	1.907	.229
	Within Groups	1.843	6	.307		
	Total	3.015	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 10	Between Groups	1.212	2	.606	3.425	.102
	Within Groups	1.061	6	.177		
	Total	2.273	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 11	Between Groups	2.083	2	1.041	7.910	.021
	Within Groups	.790	6	.132		
	Total	2.873	8			
<i>Vibrio cholerae</i> สัปดาห์ที่ 12	Between Groups	1.591	2	.795	3.173	.115
	Within Groups	1.504	6	.251		
	Total	3.095	8			

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววรรณญา ปานเกตุ เกิดเมื่อวันที่ 17 พฤษภาคม พ.ศ. 2527 ที่กรุงเทพฯ สำเร็จ การศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตจาก สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2550 จากนั้นเข้าทำงานที่บริษัทบางกอกดีไฮเดรทมารีนโปรดักส์ จ.ปทุมธานี เป็นระยะเวลา 2 ปี และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2552

นำเสนอผลงานทางวิชาการ แบบบรรยาย เรื่องไมโครเอนแคปซูเลชันของสารสกัดจาก มะกรูดโดยการอบแห้งแบบพ่นกระจายและสมบัติการต้านจุลินทรีย์ ในการประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 9 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ในวันที่ 30 มิถุนายน 2554