



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

ปริญญญา

เทคโนโลยีการบรรจุ

สาขา

เทคโนโลยีการบรรจุ

ภาควิชา

เรื่อง ประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากพืชสำหรับการบรรจุอาหาร

Efficacy of Antimicrobial and Antioxidant Films Containing Natural Plant Extracts for Food Packaging

นามผู้วิจัย นางสาวสุภากร ศรีเนาวรัตน์กุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์สายพิน ทานัฒนาลัย, D.Eng.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธัญญารัตน์ จิณกาญจน์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากพืช
สำหรับการบรรจุอาหาร

Efficacy of Antimicrobial and Antioxidant Films Containing Natural Plant Extracts
for Food Packaging

โดย

นางสาวสุภากร ศรีเนาวรัตน์กุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)
พ.ศ. 2552

สุภากร ศรีเนาวรัตน์กุล 2552: ประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากพืชสำหรับการบรรจุอาหาร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ) สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D. 234 หน้า

น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย คือ ลินาลอล จีรานีโอลและคาวาครอลถูกนำมาศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้นและกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟิวชัน วิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชันประเมินโดยวิธีการเจือจางในวุ้นและอาหารเหลว ที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยแสดงบริเวณต้านขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 7.04-18.10 มิลลิเมตร ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชันอยู่ในช่วง 12.5- >200 และ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยน้ำมันออริกานและคาวาครอลแสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ขณะที่น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานและคาวาครอลแสดงกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันได้ดีที่สุด การผลิตฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เดิมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลมีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาได้ทุกชนิดเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเนื้อวุ้นและวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เดิมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานและคาวาครอลมีประสิทธิภาพในการต้านปฏิริยาออกซิเดชัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและวิธีการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เมื่อนำฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอลประยุกต์ใช้ในการห่อเนื้อสุกรบดในการต้านจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชัน พบว่าฟิล์มสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรบดได้ การทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์กับฟิล์มควบคุมได้ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา ฟิล์มต้านปฏิริยาออกซิเดชันเดิมคาวาครอลร้อยละ 1.0 สามารถช่วยรักษาสีแดง มีค่าพีเอช ค่าเปอร์ออกไซด์และค่าทีบีอีน้อยกว่าเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา ผลการศึกษาในครั้งนี้เน้นให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอลมาใช้เป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชันเพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและทำให้อาหารมีคุณภาพและความปลอดภัยที่ดียิ่งขึ้น

Supathon Srinaovaratkul 2009: Efficacy of Antimicrobial and Antioxidant Films Containing Natural Plant Extracts for Food Packaging. Master of Science (Packaging Technology), Major Field: Packaging Technology, Department of Packaging Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Panuwat Suppakul, Ph.D. 234 pages.

Essential oils of ylang ylang, fingerroot, oregano and their principal constituents including linalool, geraniol and carvacrol, respectively have been studied for antimicrobial activity using an agar well diffusion method and for their antioxidant activity using a β -carotene diffusion method, a β -carotene bleaching method and a radical scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The minimum inhibitory concentration (MICs) and minimum oxidative bleaching inhibitory concentration (MOBICs) of these oils and their principal constituents were determined using an agar dilution method and a broth dilution method, respectively. At the concentration of $50 \mu\text{l mL}^{-1}$, essential oils and their principal constituents showed a zone of inhibition, ranging from 7.04 to 18.10 mm. in diameter. The MICs (12.5 - $>200 \mu\text{l mL}^{-1}$) and MOBICs ($0.195 \mu\text{l mL}^{-1}$), oregano and carvacrol possessed the strongest antimicrobial activity, whereas ylang ylang, fingerroot, oregano and carvacrol possessed the strongest antioxidant activity. Cellulose ether films containing oregano or carvacrol as antimicrobial additive were quantitatively investigated their *in vitro* antimicrobial activity against target microorganisms using a headspace diffusion and a total plate count method. All of these incorporated films showed positive antimicrobial activity against all test strains. Cellulose ether films containing ylang ylang, fingerroot, oregano or carvacrol as antioxidant additive showed positive antioxidant activity against both oxidative bleaching of β -carotene and DPPH radical. Carvacrol incorporated cellulose ether-coated LDPE film was applied to wrap samples of minced pork as antimicrobial and antioxidant film. The results showed an inhibitory effect of this antimicrobial film against microbial growth in naturally contaminated minced pork. In addition, sensory panelists did not perceive a difference between minced pork wrapped in carvacrol incorporated cellulose ether-coated LDPE and in control film. Cellulose ether-coated LDPE film containing carvacrol 1%w/w could reveal ability to keep redness and significantly showed a lower pH, peroxide value (POV) and thiobarbituric acid (TBA) value ($P \leq 0.05$) during storage period. These studies highlight the encouraging potential use of cellulose ether film containing carvacrol as antimicrobial and antioxidant packaging film for enhancing quality and safety of packaged foods.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาณุวัฒน์ สรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือในการวางแผนการวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษา แนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. สายพิน ทานัชนาสัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. สุพจน์ ประทีปถิ่นทอง ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ประจำห้องปฏิบัติการพัฒนาการบรรจุภัณฑ์ ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภิญญา ศิลาชัยย ประธานการสอบที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณบริษัท รามาโปรดักชั่น จำกัดและบริษัท ดาวเคมีคอล จำกัดที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างเมทิลเซลลูโลสสำหรับการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ เครื่องมือในการทำวิจัยและช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน รวมทั้งเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุทุกท่านและที่มีอาจกล่าวนามในที่นี้ได้ทั้งหมด ที่ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือและกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณลุง คุณป้า คุณน้า น้องสาว หลานและคุณเดชพันธุ์ สวัสดิ์ ที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดมาโดยตลอดเพื่อสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านและหากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

สุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล

กุมภาพันธ์ 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(11)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	51
อุปกรณ์	51
วิธีการ	55
ผลและวิจารณ์	64
สรุปและข้อเสนอแนะ	158
สรุป	158
ข้อเสนอแนะ	160
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	162
ภาคผนวก	183
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	184
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชัน	189
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางเคมี	199
ภาคผนวก ง แบบทดสอบคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัส	204
ภาคผนวก จ ตารางผลการทดลอง	206
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	234

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบทางเคมี	22
2	สมบัติทางกายภาพของลินาลอล	25
3	สมบัติทางกายภาพของจีรานีออล	28
4	สมบัติทางกายภาพของควาครอล	30
5	สถิติการบริโภคเนื้อสุกรของโลก	45
6	กิจกรรมการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	65
7	ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	73
8	กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิลฟิวชัน	80
9	ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	88
10	ค่า EC_{50} ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	89
11	ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	94
12	ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานโอหรือควาครอลร้อยละ 0.5 ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือรุ่น	104
13	ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานโอหรือควาครอลร้อยละ 1.0 ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือรุ่น	105
14	จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ต่อจานเพาะเชื้อในการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมน้ำมันออริกานโอ หรือควาครอลต่อการต้านจุลินทรีย์	108
15	ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานโอหรือควาครอลร้อยละ 0.5 ทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์	110

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานหรือคาเวนด็อยล 1.0 ทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์	111
17	กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟิวน	113
18	กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง	118
19	ร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0	118
20	การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่างของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โอสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส	139
21	การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่างของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โอสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	140

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก1 จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	186
จ1 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระดังงา (<i>Cananga odorata</i>)	207
จ2 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของลินาลอล (linalool)	209
จ3 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระชาย (<i>Boesenbergia pandurata</i>)	211
จ4 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของจีรานีโอล (geraniol)	213
จ5 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันออริกาน (<i>Origanum vulgare</i>)	215
จ6 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของคาวาครอล (carvacrol)	217
จ7 กิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญใน น้ำมันหอมระเหยทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชิ่ง	219
จ8 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส	220
จ9 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	222
จ10 ค่าสีของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศา เซลเซียส	224
จ11 ค่าสีของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศา เซลเซียส	226
จ12 ค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศา เซลเซียส	228

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
จ13 ค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศา เซลเซียส	229
จ14 ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส	230
จ15 ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส	231
จ16 ค่า TBA ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศา เซลเซียส	232
จ17 ค่า TBA ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศา เซลเซียส	233

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ระยะและการด้านการเจริญของจุลินทรีย์	4
2 ระบบการบรรจุน้ำอาหารและปรากฏการณ์เคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร	5
3 การทำปฏิกิริยากับอนุโมลลิสรของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการชะงักปฏิกิริยาถูกโซ่	13
4 โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหย	20
5 โครงสร้างทางเคมีของลินาลอล	25
6 โครงสร้างทางเคมีของจีรานีออล	27
7 โครงสร้างทางเคมีของควาครอล	30
8 โครงสร้างเมทิลเซลลูโลส	42
9 โครงสร้างไฮดรอกซีพโรพิลเมทิลเซลลูโลส	43
10 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของควาครอลต่อการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) <i>Micrococcus luteus</i> (ข) <i>Escherichia coli</i> (ค) <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	74
11 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันกระดังงา ลินาลอล น้ำมันกระชาย จีรานีออล น้ำมันออริกานอล ควาครอลและบิวทิเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล	83
12 ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ (ก) น้ำมันกระดังงา (ข) น้ำมันออริกานอล และ (ค) ควาครอล เมื่อใช้ตัวทำละลาย DMSO	96
13 ฟิล์มเซลลูโลสไฮดรอกซี	99
14 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสไฮดรอกซีต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานอล หรือควาครอล เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้น ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (ก) <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (ข) <i>Candida albicans</i> และที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (ค) <i>Bacillus cereus</i> (ง) <i>Salmonella Enteritidis</i>	101
15 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสไฮดรอกซีต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานอลหรือควาครอลร้อยละ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น (ก) <i>Bacillus cereus</i> (ข) <i>Escherichia coli</i> และ (ค) <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	106

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
16 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิजनของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ที่เติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย (ก) น้ำมันกระดังงา (ข) น้ำมันกระชาย (ค) น้ำมันออริกาน (ง) คาวาครอล และ (จ) บิวทิเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการดึฟฟิวชัน	114
17 เนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมน้ำมันคาวาครอล	121
18 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมน้ำมันคาวาครอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	123
19 ปริมาณยีสต์และราของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมน้ำมันคาวาครอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	126
20 ปริมาณ <i>Escherichia coli</i> ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมน้ำมันคาวาครอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	128
21 ปริมาณ <i>Staphylococcus aureus</i> ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมน้ำมันคาวาครอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	131

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ปริมาณ <i>Listeria monocytogenes</i> ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	133
23	ปริมาณ <i>Pseudomonas</i> sp. ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	135
24	ปริมาณ <i>Salmonella</i> sp.ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	137
25	ค่า L* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	144
26	ค่า a* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมคาวาครอร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส	145

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
27	ค่า b^* ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส	146
28	การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสุกอบห่อ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส (ก) วันที่ 0 (ข) วันที่ 1 (ค) วันที่ 2 (ง) วันที่ 3 (จ) วันที่ 5 และ (ฉ) วันที่ 7	147
29	การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสุกอบห่อ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส (ก) วันที่ 0 (ข) วันที่ 1 (ค) วันที่ 2 (ง) วันที่ 3 (จ) วันที่ 5 และ (ฉ) วันที่ 7	148
30	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส	150
31	การเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส	153
32	การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส	156

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ข1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH	194
ข2 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของบีเอชเอที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	195
ข3 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันกระดังงาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	196
ข4 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของลินาโลลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	196
ข5 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันกระชายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	197
ข6 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของจีรานีโอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	197
ข7 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันออริกานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	198
ข8 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของควาครอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	198

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

A	=	absorbance
AA	=	antioxidant activity
AM	=	molar absorptivity index
AOAC	=	Association of Official Analytical Chemists
a	=	redness
a _w	=	water activity
BHA	=	butylate hydroxyanisole
BHT	=	butylated hydroxytoluene
BP	=	baired parker agar
b	=	yellowness
°C	=	degree Celsius
CA	=	pseudomonas cetrimide agar
CFU	=	colony forming unit
CMC	=	carboxymethyl cellulose
cm	=	centrimeter
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
DPPH	=	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DP	=	degree of polymerization
DS	=	degree of substitution
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
EFSA	=	European Food Safety Authority
EMB	=	eosin methylene blue agar
ESR	=	electron spin resonance
FDA	=	Food and Drug Administration
FRAP	=	ferric reducing antioxidant power
GRAS	=	generally recognised as safe
g	=	gram
HCl	=	hydrochloric acid

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

HPMC	=	hydroxypropylmethyl cellulose
ICMSF	=	The International Commission on Microbiological Specifications for Foods
IU	=	international unit
KI	=	potassium iodide
kg	=	kilogram
L	=	lightness
LDL	=	low-density lipoproteins
LDPE	=	low-density polyethylene
LEB	=	Listeria Enrichment Broth
log	=	logarithm
M	=	molar
MC	=	methyl cellulose
MICs	=	minimum inhibitory concentrations
MOBICs	=	minimum oxidative bleaching inhibitory concentrations
MPN	=	most probable number
MW	=	molecular weight
μl	=	microliter
meq	=	milliequivalents
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
NaOH	=	sodium hydroxide
NB	=	nutrient broth
ORAC	=	oxygen radical absorbance capacity
pH	=	positive potential of the hydrogen ions
ppm	=	part per million
PCA	=	plate count agar
PCL	=	luminol-photochemiluminescence

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

PDA	=	potato dextrose agar
PEG-400	=	polyethylene-400
PG	=	propyl gallate
POV	=	peroxide value
ROS	=	reactive oxygen species
RVSP	=	rappaport-vassiliadis soya peptone broth
r^2	=	correlation coefficient
SS	=	salmonella shigella agar
spp.	=	subspecies
TBA	=	thiobarbituric acid number
TBARS	=	thiobarbituric acid reaction substances
TCA	=	trichloroacetic acid
TEAC	=	total equivalent antioxidant capacity
TRAP	=	total reducing antioxidant power
WHO	=	World Health Organization
YMB	=	yeast malt broth

ประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติ
จากพืชสำหรับการบรรจุอาหาร

Efficacy of Antimicrobial and Antioxidant Films Containing Natural Plant
Extracts for Food Packaging

คำนำ

ผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อผ่านการเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งสามารถเกิดการเสื่อมเสียได้ทั้งการเสื่อมเสียทางกายภาพ การเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีและการเสื่อมเสียที่เกิดจากจุลินทรีย์ โดยการเสื่อมเสียดังกล่าวส่งผลให้อาหารเกิดการสูญเสียคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส คุณค่าทางด้านโภชนาการ การไม่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจากอายุการเก็บรักษาที่สั้นและอันตรายจากสารพิษหรือจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเสื่อมเสียของอาหารซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยอมรับของผู้บริโภค อันได้แก่ ผลกระทบที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัสของอาหาร เช่น สี กลิ่นรส ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวก่อให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ การเสื่อมเสียของอาหารและยังเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของอาหารด้วย เนื่องจากไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ในปริมาณมากจะก่อให้เกิดสารพิษ นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดสิ่งผิดปกติในระดับโมเลกุลของเซลล์สิ่งมีชีวิต ก่อให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ หรือการเกิดโรคในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจุลินทรีย์ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อการเสื่อมเสียของอาหาร โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านเคมีและกายภาพ ทำให้อาหารมีกลิ่นรส สีและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป โดยการปนเปื้อนเนื่องจากจุลินทรีย์จะส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมอาหารและสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของอาหารทางจุลชีววิทยาจึงมีความสำคัญต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคอีกด้วย (วิลาวัณย์, 2539)

ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจในการใช้สารสกัดธรรมชาติจากพืช เช่น น้ำมันหอมระเหย และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้น เนื่องจากองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีที่สำคัญที่มีคุณสมบัติของสารชีวกิจกรรม (bioactivities) ซึ่งอาจนำมาใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันในการป้องกันโรคบางประเภท หรือสารเคมีสังเคราะห์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายจากการตกค้างของสารเคมีต่าง ๆ จากการที่ผู้บริโภคตระหนักถึงอันตราย

จากสารสังเคราะห์และหั่นมานิยมการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น ทำให้แนวทางการพัฒนามุ่งเน้นไปที่ความพยายามในการนำสารต้านจุลินทรีย์และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้นในการควบคุมคุณภาพของอาหารซึ่งได้มีการศึกษามานานทั้งในประเทศและต่างประเทศ เช่น น้ำมันกระชาย จิง ข่า ขมิ้น กระวาน กระเทียม หัวหอม อบเชย กานพลู ไทม์ เชจ โรสแมรี ออริกาโน ลิโมนีน ไทมอลและคาเวอรอล เป็นต้น (Shelef, 1983; Bagamboula *et al.*, 2004; Norajit *et al.*, 2007; Wei and Shibamoto, 2007)

เทคโนโลยีการบรรจุแบบแอคทีฟ (active packaging) มีการพัฒนามากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อกลุ่มผู้บริโภคที่ต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ความสดและความปลอดภัย โดยบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารและยังคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ ฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันจัดเป็นตัวอย่างหนึ่งของการบรรจุแบบแอคทีฟที่สามารถใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย แต่มักประสบปัญหาการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทำให้อายุการวางจำหน่ายและการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สั้นลง โดยปัญหาดังกล่าวส่งผลต่อความปลอดภัยและการยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการพัฒนาระบบบรรจุ หรือวัสดุบรรจุโดยการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์และต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลงในฟิล์มจึงเป็นที่น่าสนใจ เพื่อชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร สามารถรักษาคุณภาพ ความสด ความปลอดภัยและยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนั้นยังเป็นแนวทางในการนำน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร รวมถึงสามารถสร้างองค์ความรู้และเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการผลิตบรรจุภัณฑ์อาหารในเชิงพาณิชย์ต่อไป

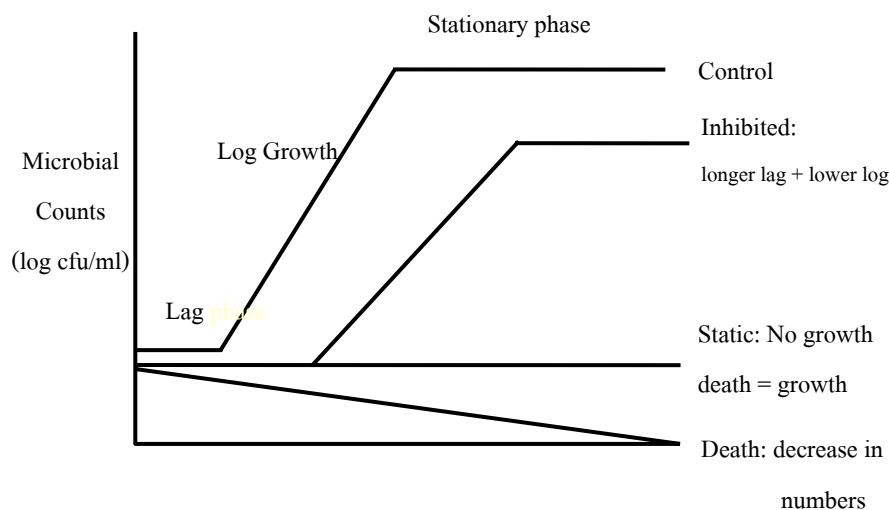
วัตถุประสงค์

1. ศึกษากิจกรรมการด้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย
2. ศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย
3. ศึกษากิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย
4. ศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย
5. ศึกษาการประยุกต์ฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันจากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์อาหาร

การตรวจเอกสาร

1. การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์ (antimicrobial packaging)

การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์ คือ ระบบการบรรจุที่สามารถฆ่า หรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของการบรรจุแบบแอคทีฟที่สามารถลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจจะเกิดขึ้นในอาหาร หรือวัสดุบรรจุ โดยการลดอัตราการเจริญและประชากรสูงสุดของจุลินทรีย์และ/หรือยั้งระยะแรก (แล็กเฟส) ของการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นปัญหา หรือโดยการเข้าสัมผัสกับจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่ ว่องไวอีกต่อไป (Han, 2000) ดังภาพที่ 1 โดยเกิดจากการใส่สารต้านจุลินทรีย์ในระบบของภาชนะบรรจุ หรือใช้วัสดุพอลิเมอร์ที่มีการใส่สารต้านจุลินทรีย์ลงไป ซึ่งมีเป้าหมายหลักเพื่อการประกันความปลอดภัย การรักษาคุณภาพและการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร



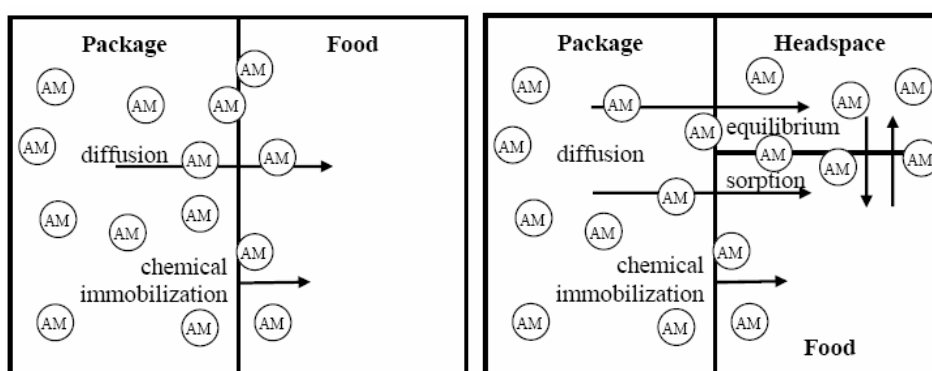
ภาพที่ 1 ระยะและการดำเนินการเจริญของจุลินทรีย์

ที่มา: Hotchkiss (1997)

บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์สามารถประยุกต์ใช้งานได้ดีกับอาหารที่เป็นของแข็ง หรือกึ่งของแข็ง (semisolids) หรืออาหารแปรรูปขั้นต่ำ อาหารที่เตรียมง่าย เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สดแปรรูป หรือรมควัน เช่น แฮม เบคอน ไส้กรอก ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์นม เช่น เนยแข็ง เป็นต้น การเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในวัสดุบรรจุทำให้สารต้านจุลินทรีย์สามารถถูกปลดปล่อย

จากบรรจุภัณฑ์ในช่วงระยะเวลานานขึ้น ทำให้สารต้านจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ได้นานขึ้นในระหว่างการขนส่ง การเก็บรักษาเพื่อรอการกระจายสินค้าและในระหว่างการวางจำหน่าย ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งสำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทดแทนการใช้วิธีอื่น ๆ เช่น การใช้ความร้อน การใช้ไอน้ำ หรือการฉายรังสี เป็นต้น ส่งผลให้ในปัจจุบันมีการศึกษาด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในวัสดุทางการบรรจุอาหารกันอย่างแพร่หลาย เช่น กรดอินทรีย์ต่าง ๆ โพลีแซ็กคาไรด์ (potassium sorbates) แบคทีริโอซิน (bacteriocins) สารสกัดจากพืช หรือเครื่องเทศ เอนไซม์ โปรตีน ไอออนของโลหะ พอลิเมอร์และก๊าซบางชนิด เป็นต้น (Devlieghere *et al.*, 2000; Han, 2000; Cutter 2002a, 2002b; Suppakul *et al.*, 2003; Cha and Chinnan, 2004; Inatsu *et al.*, 2005; Pranoto *et al.*, 2005; Zivanovic *et al.*, 2005; Seydim and Sarikus, 2006) เพื่อตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องของกลุ่มผู้บริโภคและแนวโน้มทางการตลาดในปัจจุบันและในอนาคต

โดยส่วนใหญ่ระบบการบรรจุอาหารจะประกอบด้วยวัสดุบรรจุ อาหาร บรรยากาศ ภายในภาชนะบรรจุ ซึ่งมีทั้งระบบภาชนะบรรจุ/อาหาร หรือภาชนะบรรจุ/บรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ/อาหาร ซึ่งจะเกิดการแพร่ของสาร (diffusion) และการดูดซับสมดุล (equilibrium sorption) ซึ่งระบบจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร เช่น ของแข็ง หรือของเหลว ดังภาพที่ 2 ในระบบการบรรจุแบบต้านจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ระบบใหญ่ ๆ คือ ระบบที่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร (migrating system) และระบบที่ไม่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร (non-migrating System)



ภาพที่ 2 ระบบการบรรจุอาหารและปรากฏการณ์เคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร
ที่มา: Yogesh (2006)

1.1 ประเภทของการบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

- 1.1.1 ซอง หรือแผ่นปลดปล่อยสารระเหย (sachets/pads)
- 1.1.2 การพ่นก๊าซ หรือแผ่นปลดปล่อยก๊าซ (gas flushing or emitting pads)
- 1.1.3 สารเคลือบ หรือฟิล์มเคลือบด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial coatings or coated films)
- 1.1.4 ฟิล์มดูดซับด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial adsorbed films)
- 1.1.5 ฟิล์มเกาะติดต่อด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial immobilized films)
- 1.1.6 ฟิล์มแต่งเติมด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial incorporated films)
- 1.1.7 สารเคลือบ หรือฟิล์มด้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด (inherently antimicrobial coatings or films)
- 1.1.8 ฟิล์มด้านจุลินทรีย์ดัดแปรพื้นผิว (surface modified antimicrobial films)

1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

ปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณาในการออกแบบบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ คือ กิจกรรมจำเพาะของสารด้านจุลินทรีย์ (specific activity) การต้านทานของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารด้านจุลินทรีย์ การละลายของสารด้านจุลินทรีย์สู่พื้นผิวอาหาร ธรรมชาติทางเคมีของอาหารและสารด้านจุลินทรีย์ สภาพการเก็บรักษา การจัดจำหน่ายและการขนส่ง สภาพของกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มและบรรจุภัณฑ์ คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารด้านจุลินทรีย์ ข้อกฎหมาย หรือข้อบังคับต่าง ๆ (Han, 2003) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1.2.1 กิจกรรมจำเพาะของสารด้านจุลินทรีย์

สารด้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์แบบจำเพาะ ดังนั้นการคัดเลือกสารด้านจุลินทรีย์ชนิดใดจะขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการต้าน เพราะอาหารแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน เช่น ค่าพีเอช (pH) ค่าออกซิเจนแอคติวิตี (water activity, a_w) ความดันออสโมติกและอุณหภูมิในการเก็บรักษา เป็นต้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงในอาหารจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสภาพเช่นนี้จะเป็นตัวกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดและเจริญเด่นขึ้นมาได้ (วรารุณ,

2548) ดังนั้นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงต้องเลือกใช้สารต้านจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับชนิดของอาหารที่ต้องการและสามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะอาหารในบรรจุภัณฑ์

1.2.2 การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์

อัตราการปลดปล่อยของสารต้านจุลินทรีย์ควรมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุบรรจุในอัตราที่เร็วกว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะทำให้ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ลดลง ถูกทำลาย หรือสูญเสียประสิทธิภาพไปก่อนที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ ในทางตรงกันข้ามหากการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ช้าเกินไปจะทำให้เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ก่อนที่สารต้านจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมา ดังนั้นการที่จะทำให้สารต้านจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพได้ดีนั้นจะต้องมีการควบคุมระดับความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์บริเวณพื้นผิวของอาหารให้มีค่ามากกว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (minimum inhibitory concentrations; MICs)

1.2.3 การละลายของสารต้านจุลินทรีย์สู่พื้นผิวอาหาร

การเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถละลายในอาหารได้ดีสู่พื้นผิวของอาหาร เมื่อเวลาผ่านไปความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์จะลดลงจนมีค่าต่ำกว่าค่า MICs จึงทำให้สารต้านจุลินทรีย์นั้นมีประสิทธิภาพลดลง ขณะที่สารต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายได้น้อยในอาหาร ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นบริเวณพื้นผิวอาหารต่ำและสามารถละลายในอาหารได้ในปริมาณคงที่แม้ว่าความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในภาชนะบรรจุจะลดลง ดังนั้นระบบนี้จึงสามารถรักษาระดับความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ให้มีค่าสูงกว่าค่า MICs ได้นานทำให้มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้นานกว่า

1.2.4 ธรรมชาติทางเคมีของอาหารและสารต้านจุลินทรีย์

ความสามารถในการละลายของสารต้านจุลินทรีย์มีความสำคัญ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์บางชนิดสามารถละลายน้ำได้ บางชนิดไม่สามารถละลายในน้ำได้ นอกจากนั้นประสิทธิภาพในการทำงานของสารต้านจุลินทรีย์ยังขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของอาหารอีกด้วย ดังนั้น

การเลือกใช้สารต้านจุลินทรีย์ยังควรคำนึงถึงความเข้ากันได้ระหว่างสารต้านจุลินทรีย์กับวัสดุบรรจุ
ร่วมกับค่าพีเอชของอาหารที่ทำการบรรจุด้วย

1.2.5 สถานะการเก็บรักษา การจัดจำหน่ายและการขนส่ง

อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา การจัดจำหน่ายและการขนส่งมีผลต่อ
การเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในสถานะอุณหภูมิและระยะเวลาที่
เหมาะสม ดังนั้นจึงควรเลือกใช้อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่
ยังสามารถคงคุณภาพของอาหารไว้ได้

1.2.6 สถานะของกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มและบรรจุภัณฑ์

กระบวนการผลิต หรือขึ้นรูปฟิล์มและบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ความร้อน เช่น การอัด
รีดและการฉีดขึ้นรูป สิ่งที่ต้องพิจารณาคือ ความสามารถในการทนความร้อนและสถานะรุนแรง
เนื่องจากกระบวนการผลิตดังกล่าวอาจทำให้สารต้านจุลินทรีย์บางชนิดเสื่อมสลาย หรือ
ประสิทธิภาพลดลงเนื่องจากความร้อน ในขณะเดียวกันกระบวนการแปรรูปที่ต้องใช้ตัวทำละลาย
ในการทำละลายและขึ้นรูป ควรพิจารณาถึงความสามารถในการละลายและรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน
ของพอลิเมอร์และสารต้านจุลินทรีย์

1.2.7 คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงในวัสดุบรรจุต้องมีความเหมาะสม
เนื่องจากการเติมสารต้านจุลินทรีย์อาจส่งผลต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของวัสดุบรรจุได้ การเติมสาร
ต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้โครงสร้างไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ขัดขวางการเกิด
อันตรกิริยาของสารโซ่พอลิเมอร์บริเวณโครงสร้างผลึกและทำให้บริเวณอสัณฐานเกิดการอึดตัว
ส่งผลให้คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้

1.2.8 ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์บางชนิดเป็นสารที่มีกลิ่น หรือรสที่รุนแรง หากใส่ในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส รวมทั้งวัตถุดิบบางชนิดที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม หรือสารเคลือบบริโภคได้ ควรคำนึงถึงสารที่สามารถก่อให้เกิดภูมิแพ้ได้ เช่น โปรตีนจากถั่วลิสง โปรตีนถั่วเหลือง เป็นต้น

1.2.9 ข้อกฎหมาย หรือข้อบังคับต่าง ๆ

การเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์อาหาร ควรคำนึงถึงกฎหมายและข้อบังคับต่าง ๆ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ไม่ใช่องค์ประกอบในอาหาร ดังนั้นสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้จึงควรมีความปลอดภัยในการบริโภค

2. การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์มีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีในการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่ต้องคำนึงถึง เช่น ลักษณะของงานทดสอบ ชนิดของเชื้อทดสอบ จำนวนเชื้อทดสอบ ลักษณะทางกายภาพ หรือทางเคมีของสารต้านจุลินทรีย์ ความผันแปรในองค์ประกอบและปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ เป็นต้น (มาลิน, 2542; Holley and Patel, 2005)

2.1 การคัดเลือกรูปแบบการต้านจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ (screening for antimicrobial activity)

2.1.1 การแพร่ของสารทดสอบในอาหารแข็ง (agar diffusion method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ อาศัยหลักการแพร่ซึมของสารต้านจุลินทรีย์สู่อาหารแข็ง โดยนำสารต้านจุลินทรีย์ใส่ในอาหารแข็งที่ได้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่มสังเกตโดยรอบอาหารแข็งว่ามีบริเวณต้าน หรือบริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อจุลินทรีย์เจริญขึ้นหรือไม่ ความกว้างของบริเวณต้านที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อสารต้านจุลินทรีย์ วิธีนี้สามารถบอกได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความไวต่อ

สารต้านจุลินทรีย์ทดสอบหรือไม่ อีกทั้งยังสะดวก ประหยัด ทำได้ครั้งละมาก ๆ และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น

2.1.2 การแพร่ของสารทดสอบจากกระดาษซับกลมลงสู่อาหารแข็ง (agar-disc diffusion method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ อาศัยหลักการแพร่ซึมของสารต้านจุลินทรีย์สู่อาหารแข็ง โดยนำสารต้านจุลินทรีย์ใส่ในกระดาษซับกลมซึ่งอยู่ทางด้านบนของอาหารแข็งที่ได้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่มสังเกตรอบบริเวณสิ่งรองรับว่ามีบริเวณต้าน หรือ บริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อจุลินทรีย์เจริญขึ้นหรือไม่ ความกว้างของบริเวณต้านที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อสารต้านจุลินทรีย์ การใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยมเนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยที่ควรคำนึงถึง คือ ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ ความหนาของอาหารแข็ง ความสามารถในการละลายและขนาดโมเลกุลของสารต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นจะมีผลต่อการแทรกซึมของสารต้านจุลินทรีย์รอบแผ่นกระดาษซับกลม ในปัจจุบันพบว่าวิธีนี้นิยมใช้ในการทดสอบการต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มที่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน

2.1.3 การแพร่ของสารทดสอบจากหลุมเจาะลงสู่อาหารแข็ง (agar-well diffusion method)

วิธีนี้มีหลักการทดสอบและการวัดผลเช่นเดียวกับการแพร่ของสารทดสอบจากกระดาษซับกลมลงสู่อาหารแข็ง แต่เจาะหลุมอาหารแข็ง แล้วใส่สารต้านจุลินทรีย์ลงไป หลุมเจาะแทนการวางแผ่นกระดาษซับกลม วิธีนี้มักใช้เป็นวิธีคัดเลือกเบื้องต้นเมื่อมีจำนวนของสารต้านจุลินทรีย์และเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเป็นจำนวนมาก (Deans *et al.*, 1993; Dorman and Deans, 2000) ในกรณีทดสอบกับน้ำมันหอมระเหยอาจมีการเติมไตรฟีนิล เตตระโซเลียม คลอไรด์ (triphenyl tetrazolium chloride) ลงไปในอาหารแข็งด้วย เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญได้ง่ายและสามารถมองเห็นบริเวณต้านได้ชัดเจนยิ่งขึ้น (Elgayyar *et al.*, 2001; Mourey and Canillac, 2002)

2.2 การตรวจสอบฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ (determination of strength of antimicrobial properties)

2.2.1 การเจือจางในอาหารแข็ง (agar dilution method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบความไวของเชื้อเชิงปริมาณ โดยการนำสารต้านจุลินทรีย์เจือจางด้วยน้ำ หรือตัวทำละลายที่เหมาะสมจนได้ระดับความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นทดสอบ จากนั้นผสมกับอาหารแข็งตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง แล้วทำการเพาะเชื้อทดสอบ ถ้ายเชื้อลงบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้เป็นจุด ๆ สังเกตการเจริญของเชือบนอาหารหลังการเพาะบ่ม วิธีนี้สามารถทดสอบหาค่า MICs โดย ณ ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่เจริญถือเป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Pintore *et al.*, 2002) วิธีนี้เหมาะสมกับการทดสอบเชื้อจำนวนมากและสามารถทำการทดสอบจุลินทรีย์หลายชนิดในเวลาเดียวกันได้อีกทั้งสามารถสังเกตการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นได้อีกด้วย

2.2.2 การเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงปริมาณ สามารถทดสอบในหลอดทดลอง โดยนำสารต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่เท่ากันเจือจางในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในลักษณะลดลงในอัตราร้อยละ 50 จากนั้นใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบลงในอาหาร ภายหลังการเพาะบ่มจะสังเกตความขุ่นใสของอาหารและแปลผลการทดสอบ ประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์พิจารณาจากค่าความขุ่นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม หากอาหารเหลวนั้นมีความขุ่นแสดงว่าเกิดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และสารต้านจุลินทรีย์นั้นมีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้น้อย พิจารณาในกรณีที่สารต้านจุลินทรีย์ชนิดนั้นต้องไม่มีผลทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดความขุ่นด้วย วิธีนี้สามารถทดสอบหาค่า MICs ได้ ณ จุดที่ความเข้มข้นของสารที่เปลี่ยนอาหารเหลวจากขุ่นเป็นใส การทดสอบด้วยวิธีนี้มีความไวกว่าการเจือจางในอาหารแข็ง สามารถทราบผลได้เร็ว ให้ผลการทดสอบที่แน่นอน ทราบปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ได้โดยละเอียดถูกต้องและใช้ทดสอบวิธีการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ได้

2.3 การตรวจสอบความเร็วและระยะเวลาของกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ (determination of rapidity and duration of antimicrobial activity)

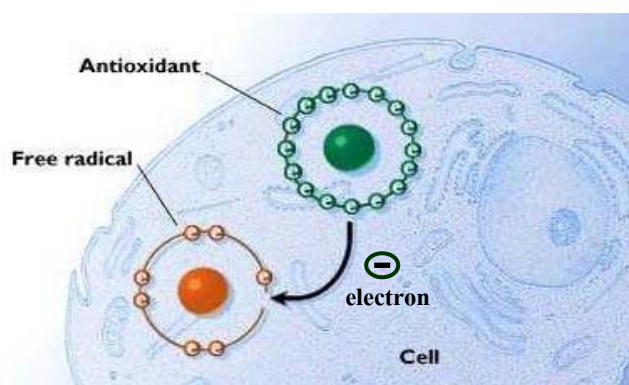
วิธี time-kill analysis เป็นการวัดความเร็วในการทำลายจุลินทรีย์ หรือระยะเวลาในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นการทดสอบโดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีสารต้านจุลินทรีย์ หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญ หรือการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ โดยแสดงเป็นกราฟการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่เรียกว่า “inhibition curve” หรือกราฟการทำลายจุลินทรีย์ที่เรียกว่า “killing curve” วิธีนี้มีช่วงการวิเคราะห์ที่กว้าง แต่มีข้อเสียหลายประการ เช่น การวิเคราะห์ทางสถิติค่อนข้างทำได้ยาก ใช้เวลาในการทดสอบนานและเสียค่าใช้จ่ายสูง

2.4 การสังเกตผลทางกายภาพจากกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ (observation of physical effects of antimicrobial activity)

วิธีนี้เป็น การทดสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy) เพื่อใช้ในการพิจารณาความเสียหายของผนังเซลล์และการสูญเสียองค์ประกอบภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เมื่อสัมผัสกับสารต้านจุลินทรีย์ โดยวิธีนี้จำเป็นอย่างยิ่งที่ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างทดสอบจะต้องมีความแตกต่างกันอันเนื่องมาจากผลของสารต้านจุลินทรีย์ มิใช่ความผิดพลาดเนื่องมาจากการเตรียมตัวอย่างซึ่งทำให้เซลล์จุลินทรีย์ได้รับความเสียหาย

3. การบรรจุภัณฑ์ปฏิริยาออกซิเดชัน (antioxidant packaging)

ระบบการบรรจุภัณฑ์ปฏิริยาออกซิเดชัน คือ ระบบการบรรจุที่สามารถต้านการเกิดปฏิริยาออกซิเดชัน หรือทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลางโดยการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อหยุดปฏิริยาถูกโซ่ที่เกิดขึ้น เมื่อสารต้านปฏิริยาออกซิเดชันให้อิเล็กตรอนไปแล้วจะไม่นับเป็นอนุมูลอิสระอีก เนื่องจากเกิดความเสถียรในทุก ๆ โครงสร้าง (Charanjit and Kapoor, 2001) แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการชะงักปฏิกิริยา
ลูกโซ่

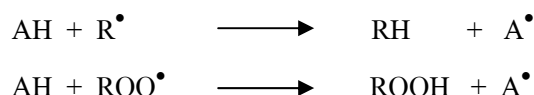
ที่มา: ดัดแปลงจาก Charanjit and Kapoor (2001)

บรรจุภัณฑ์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นระบบหนึ่งที่สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การเหม็นหืนและการเปลี่ยนแปลงสีของอาหาร ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยการเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลงไปในอาหาร หรือวัสดุบรรจุ เช่น ฟิล์มแต่งเติมด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant incorporated films) เป็นต้น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาหารจะเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของอาหาร ดังนั้นการเคลื่อนย้ายของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงควรมีความสามารถละลายในอาหารได้ดีสู่บริเวณพื้นผิวของอาหาร โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีความสามารถในการละลายได้น้อยในอาหาร ซึ่งจะมีความเข้มข้นบริเวณผิวอาหารต่ำและสามารถละลายในอาหารได้ในปริมาณคงที่ แม้ว่าความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในภาชนะบรรจุจะลดลง ดังนั้นระบบนี้จึงสามารถรักษาระดับความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันให้มีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (minimum oxidative bleaching inhibitory concentrations; MOBICs) ได้นาน ทำให้มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้นานกว่า (Akkasit *et al.*, 2008)

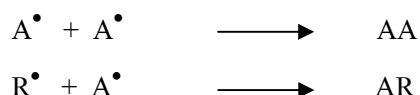
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถแบ่งได้ตามกลไกการเกิดปฏิกิริยา คือ กลุ่มสารประกอบที่ชะงักการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยการให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนกับไขมันที่มีอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดความเสถียรในโครงสร้างและไม่เกิดการแตกตัวอีกเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนั้นสามารถแบ่งได้ตามชนิดของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนี้

3.1 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ สารที่ไปต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นตอน propagation ดังนี้



อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารประกอบที่มีความเสถียร



(เมื่อ AH = สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะให้ผลในปฏิกิริยาอโตออกซิเดชัน (autooxidation) เช่น การหืนของไขมัน หรือน้ำมันเนื่องจากออกซิเจนในอากาศแต่จะไม่เกิดผลในปฏิกิริยารีดอกซ์ โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะป้องกันไม่ให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide; ROOH) ซึ่งเป็นผลผลิตปฐมภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (primary lipid oxidation product) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิสังเคราะห์ประเภทฟีนอลิก เช่น บิวทิลเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล (butylate hydroxyanisole; BHA) บิวทิลเลต ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene; BHT) และพรอพิล แกลเลต (propyl gallate; PG) เป็นต้น

3.2 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants)

เป็นสารพวงคีเลต (chelate) หรือซีเควสเทน (sequesten) มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเล็กน้อย หรือไม่มีเลย แต่สามารถเสริมฤทธิ์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิโดยทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะซึ่งเป็นตัวกระตุ้นในปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพื่อยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ หรือสามารถลดค่าพีเอชของสารละลาย เช่น กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก กรดฟอสฟอริกและเอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซีติก แอซิด (ethylenediaminetetraacetic acid; EDTA) เป็นต้น ตัวอย่างการใช้สารผสมระหว่างสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิและทุติยภูมิ เช่น

PG ร่วมกับกรดซิตริกและกรดฟอสฟอริก หรือ BHA ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริกและกรดฟอสฟอริก เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการนำสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เช่น การเติม BHA หรือ BHT ในอุตสาหกรรมน้ำมันพืช ทางการแพทย์และสุขภาพในการป้องกันและรักษาโรค เช่น การชะลอภาพโรคมะเร็ง โรคเอดส์ โรคหัวใจ เป็นต้น และในอุตสาหกรรมอื่น ๆ เช่น การใช้สารแทนนินในอุตสาหกรรมเครื่องหนัง เป็นต้น และได้มีการขยายตัวและศึกษากันอย่างแพร่หลาย โดยการนำมาเติมลงในวัสดุบรรจุ หรือทำเป็นสารเคลือบบริโภคได้ ซึ่งมีการใช้ทั้งสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์และจากธรรมชาติ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยและปราศจากการตกค้างจากสารเคมีต่าง ๆ ในร่างกายและไม่เป็นอันตราย ดังนั้นจึงมีการใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติทดแทนสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น น้ำมันหอมระเหย สารสกัดจากพืช โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น (Ouattara *et al.*, 2002; Lacroix *et al.*, 2004; Akkasit *et al.*, 2008; Alejandra *et al.*, 2008; Oliu *et al.*, 2008)

ความสามารถและปริมาณในการปลดปล่อยสารออกจากวัสดุบรรจุของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากธรรมชาติมีความแตกต่างกันเนื่องจากคุณสมบัติของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้น ๆ เช่น ขนาดโมเลกุล ความสามารถในการละลายและการทนต่อสภาวะกระบวนการผลิต คือ มีความสามารถในการรักษาคุณภาพของอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ มีความเสถียรต่อค่าพีเอชและความร้อนขณะการแปรรูปอาหาร ดังนั้นการเลือกใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เหมาะสมจึงมีความสำคัญยิ่ง

ปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณาในการออกแบบบรรจุภัณฑ์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะคล้ายคลึงกับบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ คือ กิจกรรมจำเพาะของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน การละลายของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสู่พื้นผิวอาหาร ธรรมชาติทางเคมีของอาหารและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สภาพการเก็บรักษา การจัดจำหน่ายและการขนส่ง สภาพของกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มและบรรจุภัณฑ์ คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ข้อกฎหมาย หรือข้อบังคับต่าง ๆ เป็นต้น

4. การทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเครื่องเทศและสมุนไพรมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี โดยในการคัดเลือกวิธีทดสอบจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น สารตั้งต้นที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ปริมาณ ชนิด หรือคุณสมบัติของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างทดสอบ ความเฉพาะของอนุมูลอิสระและสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ เป็นต้น (Charanjit and Kapoor, 2001) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคัดเลือกวิธีทดสอบที่เหมาะสมกับเครื่องเทศและสมุนไพรที่นำมาทดสอบ ซึ่งวิธีการวัดกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเครื่องเทศและสมุนไพรสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันภายใต้สภาวะเร่ง (Schwarz *et al.*, 2001)

4.1 วิธีทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging method)

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีจุดประสงค์เพื่อที่จะจำลองสภาวะกลไกพื้นฐานที่เหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน โดยการวัดการลดลงของอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร หรือการเปลี่ยนแปลงของอนุมูลอิสระเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา (Suhaj, 2006)

DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความเสถียร (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) สามารถใช้ในการวัดความสามารถของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอาศัยการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีความเสถียร โดยมีหลักการ คือ เมื่อสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่อนุมูลอิสระ DPPH จะเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ DPPH ที่มีความคงตัว ทำให้ DPPH ซึ่งมีสีม่วงแดงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรมีค่าลดลง หากสารตัวอย่างใดมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ หรือสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีจะทำให้สีม่วงแดงของ DPPH จางลงได้มากกว่าสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยและมักใช้เปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA BHT หรือแอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol) เป็นต้น โดยแสดงผลเป็นร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ

วิธีนี้เป็นวิธีการที่ง่าย สะดวกรวดเร็วและสามารถประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผัก ผลไม้ น้ำมันหอมระเหย เครื่องเทศและสมุนไพรได้จึงมีการใช้วิธีนี้ทดสอบกันอย่างแพร่หลาย เช่น การตรวจวัดกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากกระวาน (*Ammomum subulatum* R.) จิง (*Zinziber officinale* R.) ขมิ้น (*Curcuma longa* L.) พริกไทย (*Piper nigrum* L.) โรสแมรี่ (*Officinalis labiatae*) เซา (*Salvia officinalis*) ไทม์ (*Thymus vulgaris*) ออริกาโน (*Origanum vulgare*) อบเชย (*Cinnamomum iners*) เบอรรี่ (*Synsepalum dulcificum*) และราสเบอร์รี่ (*Rubus idaeus*) เป็นต้น (พิชญ์อร, 2547; Kikuzaki *et al.*, 2001; Schwarz *et al.*, 2001; Bozan *et al.*, 2003)

4.2 วิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิฟชัน (β -carotene agar diffusion method)

เป็นวิธีการซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Dorman *et al.* (2000) โดยดัดแปลงมาจาก Araujo and Pratt (1985) เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย ใช้หลักการการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิก โดยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกเพอร์ออกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีน หากน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ก็จะเข้าไปจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกทำให้ลดการสูญเสียสีส้มของเบต้าแคโรทีนลงได้ โดยการวัดบริเวณด้านสีเหลืองล้อมรอบหลุมวุ้นที่บรรจุน้ำมันหอมระเหยที่มีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กล่าวคือน้ำมันหอมระเหยชนิดใดที่แสดงบริเวณด้านสีเหลืองล้อมรอบหลุมวุ้นมีขนาดกว้างจะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีบริเวณด้านสีเหลืองล้อมรอบหลุมวุ้นน้อย นอกจากนั้นยังสามารถประเมินค่า MOBICs ของน้ำมันหอมระเหยได้

วิธีนี้เป็นวิธีการที่สามารถประเมินคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยได้ เช่น การตรวจวัดกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่าง ๆ ดังนี้ ชมพู (*Eugenia caryophyllata*) ออริกาโน (*O. vulgare*) ไทม์ 2 สายพันธุ์ (*T. vulgaris* และ *T. capitatus*) อบเชย (*C. iners*) โหระพา (*Ocimum basilicum*) เซเวอรี่ (*Satureja montana*) ลาเวนเดอร์ (*Lavandula hybrida*) มะกรูดฝรั่ง (*Monarda didyma*) สน (*Juniperus communis*) เปปเปอร์มินท์ (*Mentha piperita*) เพลาโกเนียม (*Pelargonium odoratissimum*) และไทม์บรา (*Thymbra sintenesii*) โดยพบว่าชมพูแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด (Piccaglia *et al.*, 2007)

4.3 วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชซิง (β -carotene bleaching method)

เป็นวิธีการซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Miller (1971) โดยดัดแปลงมาจาก Marco (1968) เพื่อวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช ใช้หลักการการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดคลิโนเลอิกในอิมัลชันเฟส โดยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระของกรดคลิโนเลอิกเพอร์ออกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีน เช่นเดียวกันกับวิธีเบต้าแคโรทีนอาการ์ดิฟฟวชันดังกล่าวข้างต้น

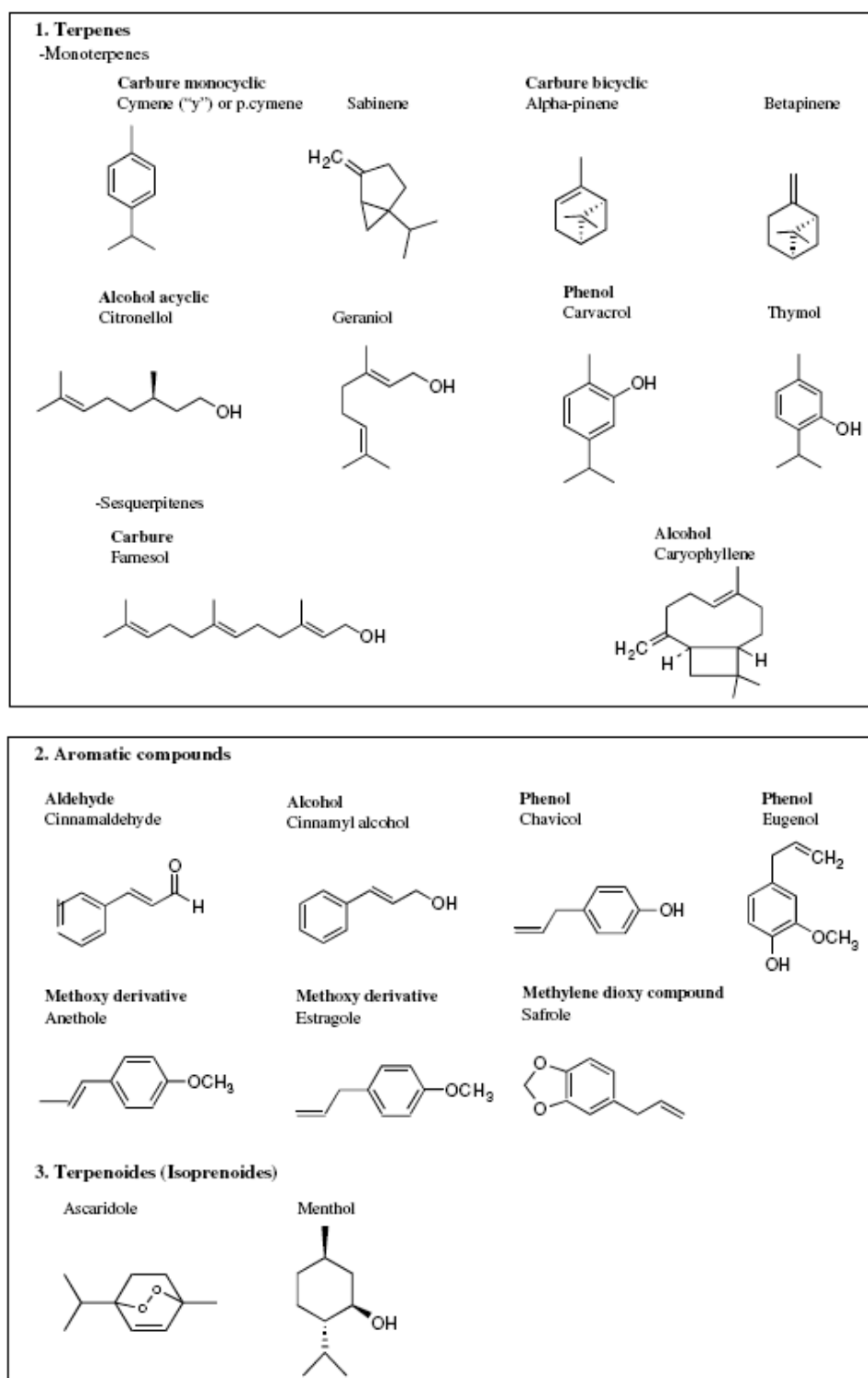
การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทำได้โดยการผสมสารเบต้าแคโรทีนร่วมกับกรดคลิโนเลอิก โดยมีทวิน (Tween) เป็นตัวกลางที่ช่วยให้เบต้าแคโรทีนและกรดคลิโนเลอิกเข้ากันได้ดี จากนั้นกระตุ้นโดยใช้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียสเพื่อให้เกิดการออกซิเดชันของกรดคลิโนเลอิกได้ดียิ่งขึ้น กรดคลิโนเลอิกจะออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีนทำให้สูญเสียสีส้ม การเปลี่ยนแปลงสีของสารเบต้าแคโรทีนจากการถูกออกซิไดซ์สามารถวัดได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

วิธีการนี้มีความไวสูง นอกจากนั้นการใช้ความร้อนเป็นตัวกระตุ้นเพื่อเร่งการเกิดปฏิกิริยาก็ควบคุมได้ยากและไม่จำเพาะเจาะจงจึงทำให้ผลที่ได้มีความผันแปรสูง อย่างไรก็ตามมีการตรวจวัดกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีนี้เป็นจำนวนมาก เช่น กระดังงา (*Cananga odorata*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) จิง (*Z. officinale* R.) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globules* L.) โรสแมรี่ (*O. labiatae*) ไทม์ (*T. vulgaris*) พริกไทย (*P. nigrum* L.) ออริกาโน (*O. vulgare*) ดอกอัญชัน (*Clitoria termatea* Linn.) ชาเขียว (*Camellia sinensis*) อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) กานพลู (*Syzygium aromaticum* Linn.) (Kulisic *et al.*, 2004; Sacchetti *et al.*, 2005; Phoopuritham *et al.*, 2006) เป็นต้น

5. น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ปัจจุบันสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศได้มีการนำมาประยุกต์ใช้เป็นอย่างมากทั้งด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยารักษาโรคและเครื่องสำอาง เนื่องจากผู้บริโภคประจักษ์ถึงอันตรายจากวัตถุ หรือสารสังเคราะห์มากขึ้น พืชประกอบด้วยพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและพบเฉพาะในพืชบางชนิด สารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ให้สี กลิ่น หรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวของพืชชนิดนั้น ๆ ซึ่งชนิดและปริมาณของสารพฤษเคมีในเซลล์พืชย่อมแตกต่างกันไปตามชนิด ตำแหน่งของพืช อายุและสภาพแวดล้อมของพืช (जरศักดิ์, 2539) สมุนไพรประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological action) ซึ่งมักเรียกว่าเป็นสารแอคทีฟ (active constituents) ที่สามารถนำมาใช้เป็นยาได้ เครื่องเทศ หรือสมุนไพร หรือสารสกัดจากเครื่องเทศ และสมุนไพรนั้น นอกจากจะให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวแล้วยังสามารถช่วยด้านการเจริญของจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อีกด้วย เครื่องเทศและสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ กานพลู (*S. aromaticum* Linn.) อบเชย (*C. iners*) พริก (*Capsicum frutescens*) กระเทียม (*Allium sativum*) ไทม์ (*T. vulgaris*) ออริกาโน (*O. vulgare*) โรสแมรี่ (*O. labiatae*) โหระพา (*O. basilicum*) ยี่ห่วย (*Ocimum gratissimum*) ผักชี (*Coriandrum sativum*) ลูกจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) กระวาน (*Ammomum subulatum* Roxb) มินต์ (*Mentha requienii*) ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum* Linn.) ตะไคร้ (*Cymbopogon citrates* Stapf.) และขมิ้น (*C. longa* L.) เป็นต้น

น้ำมันหอมระเหย (volatile oils หรือ essential oils หรือ ethereal oils) เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อนประกอบขึ้นเป็นน้ำมันที่มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว องค์ประกอบทางเคมีของสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหยแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ เทอร์ปีนและสารประกอบอะโรมาติก โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหยแสดงดังภาพที่ 4 น้ำมันหอมระเหยได้จากการสกัดน้ำมันที่พืชสมุนไพรสร้างขึ้น โดยเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น รากและเหง้า เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายหรือด้านการเจริญของจุลินทรีย์แบบไม่จำกัดชนิดและด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูง (ชยันต์ และ วิเชียร, 2545; สุมนหา, 2545; Suhaj, 2006)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหย

ที่มา: Bakkali *et al.* (2007)

การได้มาซึ่งน้ำมันหอมระเหยสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดด้วยตัวทำละลาย เช่น สกัดด้วยน้ำมัน แอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ แต่วิธีที่นิยมและมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ การกลั่นด้วยไอน้ำ โดยน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการกลั่นแล้วจะแยกชั้นกับน้ำ จากนั้นจึงมีการแยกน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีกลิ่นหอมและมีความเข้มข้นสูง ดังนั้นการนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมก่อนนำมาใช้จริง เพื่อลดปริมาณการใช้น้ำมันหอมระเหยในปริมาณที่น้อยที่สุดแต่ยังคงประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงสุด (นฤมล, 2550)

ลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหยเป็นของเหลว ใส ไม่มีสี หรือมีสีอ่อน ๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้นและเมื่อตั้งทิ้งไว้นาน ๆ อาจถูกออกซิไดซ์ (oxidized) ทำให้สีเข้มขึ้นจึงต้องเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิท กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น น้ำมันตะไคร้หอมประกอบด้วยจีรานีโอล (geraniol) ซิโตรเนลลา (citronella) และบอร์นีโอล (borneol) ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติในการไล่แมลง หรือน้ำมันตะไคร้ประกอบด้วยซิตรอล (citral) ลินาลอล (linalool) และจีรานีโอลซึ่งทำให้มีคุณสมบัติช่วยในการขับลม แก้จุกเสียด โดยอาจจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบทางเคมีได้หลายกลุ่มดังตารางที่ 1

ความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยอาจเนื่องมาจากความหลากหลายของสายพันธุ์และชนิดของพืช ความแตกต่างทางด้านพันธุกรรม หรือปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น สภาพอากาศ เวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวและวิธีการสกัด เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้จะทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน (Perry *et al.*, 1999) การกระจายตัวของสารชีวโมเลกุลในส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่มีรูปแบบที่แน่นอน เช่น น้ำมันจากเปลือกอบเชยพบซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) เป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่ใบของอบเชยพบยูจินอลเป็นองค์ประกอบหลัก

ตารางที่ 1 การจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบหลัก	น้ำมันหอมระเหย	แหล่งที่พบ
ไฮโดรคาร์บอน	ลิโมนีน (limonene)	น้ำมันกระวาน (cardamom oil)
	ไพเนน (pinene)	น้ำมันสน (turpentine oil)
		น้ำมันไพล
แอลกอฮอล์	จีรานีออล	น้ำมันดอกกุหลาบ (rose oil)
	เมนทอล (menthol)	น้ำมันสะระแหน่ (peppermint oil)
อัลดีไฮด์	ซิโตรเนลลา	น้ำมันตะไคร้หอม (citronella oil)
	ซินนามาลดีไฮด์	น้ำมันอบเชย (cinnamon)
คีโตน	คาร์วอน (carvone)	น้ำมันเทียนตาบ (caraway oil)
ฟีนอล	ยูจีนอล (eugenol)	น้ำมันกานพลู (clove oil)
	ไทมอล (thymol)	น้ำมันไทม์ (thyme oil)
ฟีนอลิกอีเทอร์	อะนีโธล (anethole)	น้ำมัน โป๊ยกั๊กหรือน้ำมันจันทน์แปด
		กลีบ (anise) น้ำมันเทียนข้าวเปลือก
		(fennel oil)
ออกไซด์	ยูคาลิปตอล (eucalyptol)	น้ำมันยูคาลิปตัส (eucalyptus)
		น้ำมันเสม็ดขาว (cajuput oil)
เอสเทอร์	เมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate)	น้ำมันระกำ (wintergreen oil)

ที่มา: รัตนา (2547)

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบจากธรรมชาติประกอบด้วยสารสำคัญประมาณ 20-60 ชนิดในปริมาณและความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยในน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะพบสารสำคัญหลัก 2-3 ชนิดในปริมาณสูงถึงร้อยละ 20-70 เช่น น้ำมันออริกาโน (*Origanum compactum*) พบสารสำคัญหลัก คือ คาวาครอลร้อยละ 30 และไทมอลร้อยละ 27 น้ำมันผักชี (*C. sativum*) พบสารสำคัญหลัก คือ ลินาลอลร้อยละ 68 น้ำมันอาทิมีเซียร์ (*Artemisia herba-alba*) พบสารสำคัญหลัก คือ แอลฟาและเบตา-ทูโยน (α - and β -thuyone) ร้อยละ 57 และแคมฟอร์ (Camphor) ร้อยละ 24 เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วการพิจารณาคุณสมบัติทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยจะพิจารณาจากสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหย (Betts, 2001; Pichersky *et al.*, 2006)

5.1 น้ำมันกระดังงาและสารสำคัญหลัก

5.1.1 น้ำมันกระดังงา (*Cananga odorata*)

กระดังงาไทย ชื่อสามัญ Ylang-Ylang, Kananga, Perfume tree และ Flower of flowers มีถิ่นกำเนิดบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบแพร่กระจายในทวีปเอเชียเขตร้อน กระดังงาไทยเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ กลีบดอกสีเหลือง หรือเหลืองอมเขียว มีกลิ่นหอมแรงอบอวลและระเหยช้าติดทนจึงนิยมใช้เป็นส่วนผสมของน้ำหอมชั้นสูงในยุโรป เช่น Chanel No.5, Coco Chanel และในวงการสุคนธบำบัด นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน ใช้เป็นส่วนผสมของยาหอมไทย แก้ลมวิงเวียน แก้ลมจุกเสียด บำรุงร่างกาย บำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ โรคข้อต่ออักเสบ โรคผิวหนังอักเสบ เป็นต้น (อุดมลักษณ์, 2549) และสามารถใช้เป็นองค์ประกอบในอาหาร หรือสารเพิ่มกลิ่นรสในอาหารได้ เนื่องจากได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration; FDA) และการรับรองความปลอดภัยเมื่อใช้ในอาหาร (generally recognised as safe; GRAS)

การกลั่นน้ำมันกระดังงา มักใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำ หรือไอน้ำ ซึ่งปริมาณน้ำมันกระดังงาที่ได้จะแตกต่างกันขึ้นกับอายุของดอก พบว่าดอกที่มีกลีบดอกสีเหลืองแกมเขียวเหลือง อายุ 7-8 สัปดาห์ ให้ผลผลิตสูงประมาณร้อยละ 1.0-2.3 (ปริมาตรโดยน้ำหนัก) น้ำมันกระดังงาที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวใสค่อนข้างหนืดสีเหลืองมะนาว มีรสขม ค่าความถ่วงจำเพาะ 0.934 โดยพบองค์ประกอบของสารสำคัญหลัก 8 ชนิด คือ ลินาลอลร้อยละ 19 เบตา-คาร์ิโอโอฟิลลีน (β -caryophyllene) ร้อยละ 10.7 เจอร์มาครีน ดี (germacrene D) ร้อยละ 10.3 พารา-เมทิลอะนิโซล (*p*-methylanisole) ร้อยละ 8.4 จีรานิล อะซิเตท (geranyl acetate) ร้อยละ 7.8 เบนซิล เบนโซเอท (benzyl benzoate) ร้อยละ 7.6 เบนซิล อะซิเตท (benzyl acetate) ร้อยละ 4.6 และเมทิล เบนโซเอท (methyl benzoate) ร้อยละ 3.6 โดยพบลินาลอลในอัตราส่วนที่สูงที่สุด

Hammer *et al.* (1999) ศึกษาจุลินทรีย์ 10 ชนิดและความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ร้อยละปริมาตรโดยปริมาตร) ของน้ำมันกระดังงา พบว่าน้ำมันกระดังงามีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ *Aeromonas sobria*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* และ *Escherichia coli* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.0, 1.0, 2.0 และ 2.0 (ปริมาตรโดยปริมาตร) ตามลำดับ ขณะที่ *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*,

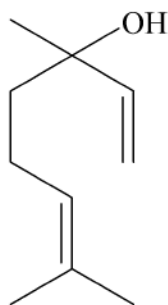
Salmonella Typhimurium และ *Serratia marcescens* มีระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดมากกว่าร้อยละ 2.0 (ปริมาตรโดยปริมาตร)

Ontengco and Torres (2000) ศึกษาการต้านจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระดังงาที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำและสารปฏิชีวนะต่าง ๆ โดยวิธีการเจือจางในอาหารแข็งพบว่าน้ำมันกระดังงาสามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa*, *Citrobacter* sp. และ *Klebsiella* sp. ได้

Wei and Shibamoto (2007) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย 13 ชนิด เช่น กุหลาบ (*Rosa damascene* M.) กระดังงา (*C. odorata*) มะลิ (*Jasminum officinale* L.) เปปเปอร์มินท์ (*M. piperita* L.) ลาเวนเดอร์ (*L. officinalis* L.) จิง (*Z. officinale* R) เป็นต้น เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอลฟาโทโคฟีรอลโดยวิธี DPPH พบว่าน้ำมันมะลิมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดถึงร้อยละ 90 รองลงมา คือ แอลฟา-โทโคฟีรอลร้อยละ 86 น้ำมันกุหลาบร้อยละ 70 และน้ำมันกระดังงาร้อยละ 62 นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระปานกลางตั้งแต่ร้อยละ 39-55

5.1.2 ลิनाลอล

ลินาลอล (3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol) เป็นโมโนเทอร์ปีนที่มีหมู่แอลกอฮอล์เป็นหมู่ทำหน้าที่ สังเคราะห์จากไอโซเพนทีนิลไพโรฟอสเฟต (isopentenyl pyrophosphate) พบในองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องเทศ หรือสมุนไพรต่าง ๆ เช่น มินท์ (*M. reguienii*) อบเชย (*C. iners*) ลอเรียล (*Laurus nobilis*) พืชตระกูลส้ม เป็นต้น น้ำมันมีสีเหลืองอ่อนจนถึงไม่มีสี ใช้เป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมน้ำหอม เครื่องสำอาง โลชั่น แชมพู หรือสบู่ สำหรับผู้ที่มีการแพ้กลิ่นหอมควรหลีกเลี่ยงการใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ เนื่องจากมีส่วนผสมของลินาลอล ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของลินาลอลและตารางที่ 2 แสดงสมบัติทางกายภาพของลินาลอล



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของลินาลอล

ที่มา: Letizia *et al.* (2003)

ตารางที่ 2 สมบัติทางกายภาพของลินาลอล

สมบัติ	ข้อมูลจำเพาะ
ชื่อทางเคมี	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol
สูตรโมเลกุล	$C_{10}H_{18}O$
น้ำหนักโมเลกุล	154.25 g/mol
ลักษณะปรากฏ	น้ำมัน สีเหลืองอ่อนถึงไม่มีสี
จุดหลอมเหลว	$< 20^{\circ}C$
จุดเดือด	$198-199^{\circ}C$
ความหนาแน่น	$0.858-0.868 \text{ g/cm}^3$

ที่มา: ดัดแปลงจาก Letizia *et al.* (2003)

การศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของลินาลอล จากงานวิจัยต่าง ๆ พบว่าลินาลอลมีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Bacillus subtilis* M45, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* และ *Botrytis cinerea* เป็นต้น อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของลินาลอลค่อนข้างน้อยหรือไม่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น *S. Typhimurium*, *E. coli* โดยจากการศึกษาต่าง ๆ พบว่าต้องมีการเพิ่มปริมาณของลินาลอลจึงจะทำให้ลินาลอลมีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Bickers *et al.*, 2003)

5.2 น้ำมันกระชายและสารสำคัญหลัก

5.2.1 น้ำมันกระชาย (*Boesenbergia pandurata*)

กระชายเป็นพืชผักประเภทเดียวกับ ขิง ข่าและขมิ้น มีถิ่นกำเนิดในจีนและประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินเรียกว่า เหง้า หัวมีรากสะสมอาหาร ลักษณะเป็นแท่งกลม อวบน้ำ ผิวมีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีเหลืองมีกลิ่นหอมและรุนแรง มีสรรพคุณทางยาในการแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ บำรุงสมอง บำรุงกำลัง รักษาโรคบิด ใช้ในการประกอบอาหาร หรือไล่แมลง เป็นต้น (นิจศิริ, 2534)

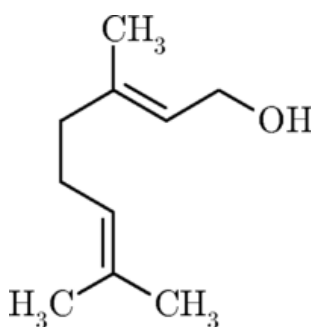
กระชายเป็นพืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยเช่นเดียวกับเครื่องเทศชนิดอื่น ๆ แต่ น้ำมันกระชายมีปริมาณค่อนข้างน้อยประมาณร้อยละ 0.08 เมื่อกลั่นด้วยไอน้ำ น้ำมันกระชายที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำจากส่วนของเหง้ากระชายพบว่ามีองค์ประกอบของสารสำคัญหลัก 5 ชนิด คือ จีรานีออล แคมฟอร์ ออซิเมน (ocimen) ยูคาลิปตัสและแคมฟิน (camphene) โดยพบจีรานีออลในอัตราส่วนที่สูงที่สุดและสารที่พบรองลงมา คือ แคมฟอร์

Norajit *et al.* (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหยจากกระวาน (*A. xanthioides* W.) กระชาย (*B. pandurata* H.) ขิง (*Z. officinale* Roscoe.) ข่า (*Alpinia galanga* Sw.) และขมิ้น (*C. longa* L.) ต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันกระชายและกระวานมีความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* และ *S. aureus* ขณะที่น้ำมันขิงมีความสามารถในการต้านการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus*

Thongson *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ ได้แก่ ขิง (*Z. officinale*) กระชาย (*B. pandurata* H.) และขมิ้น (*C. longa* L.) โดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เช่น เฮกเซน (hexane) ไอโซโพรพานอล (isopropanol) ร่วมกับอัลตราซาวด์ (ultrasound) ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง พบว่าการสกัดกระชายด้วยเฮกเซนร่วมกับไอโซโพรพานอลและไม่ใช้อัลตราซาวด์สามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดขณะที่การสกัดกระชายด้วยไอโซโพรพานอลร่วมกับอัลตราซาวด์สามารถต้านการเจริญของ *S. Typhimurium* DT 104 ได้ดีที่สุด

5.2.2 จีรานีออล

จีรานีออล (3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol) หรือโรดินอล (rhodinol) เป็นโมโนเทอร์ปีน มีองค์ประกอบเป็นคาร์บอน 10 อะตอมที่มีหมู่แอลกอฮอล์เป็นหมู่ทำหน้าที่ โดยเป็นสารองค์ประกอบหลักที่สามารถพบได้ในน้ำมันกระชาย น้ำมันมีสีเหลืองใสถึงเหลืองอ่อน ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อละลายจีรานีออลในสารละลายกรด จีรานีออลจะเปลี่ยนเป็นวงเทอร์ปีน หรือแอลฟา-เทอร์ปีนอล (α -terpineol) จีรานีออลมีกลิ่นคล้ายกุหลาบ มักนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำหอม หรือเป็นสารแต่งเติมกลิ่น เช่น พืช ราชเบอร์รี่ องุ่น ส้ม มะนาว เป็นต้น นอกจากนั้นจีรานีออลยังมีความสามารถในการใช้เป็นยาฆ่าแมลงอีกด้วย ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของจีรานีออลและตารางที่ 3 แสดงสมบัติทางกายภาพของจีรานีออล



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของจีรานีออล

ที่มา: Anonymous (2007b)

ตารางที่ 3 สมบัติทางกายภาพของจีรานีโอล

สมบัติ	ข้อมูลจำเพาะ
ชื่อทางเคมี	3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol
สูตรโมเลกุล	C ₁₀ H ₁₈ O
น้ำหนักโมเลกุล	154.25 g/mol
ลักษณะปรากฏ	น้ำมัน สีเหลืองใสถึงเหลืองอ่อน
จุดหลอมเหลว	15 °C
จุดเดือด	229 °C
ความหนาแน่น	0.889 g/cm ³

ที่มา: Anonymous (2007b)

จากการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย พบว่าจีรานีโอลมีความสามารถในการต้านการเจริญของ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด 0.08, 0.5, 0.5 และ 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (Burt, 2004; Bakkali *et al.*, 2007)

5.3 น้ำมันออริกาโนและสารสำคัญหลัก

5.3.1 น้ำมันออริกาโน (*Origanum vulgare*)

ออริกาโนอยู่ในสปีชีส์ออริกันัม (*origanum*) พบในประเทศแถบยุโรป เมดิเตอร์เรเนียน เอเชียใต้และเอเชียกลาง มีความสูง 20-80 เซนติเมตร ใบขนาด 1-4 เซนติเมตร ดอกสีม่วงขนาด 3-4 มิลลิเมตร น้ำมันออริกาโนเป็นของเหลวสีเหลืองถึงเหลืองแดง กลิ่นคล้าย ไทม์ รสขม ออริกาโนมีสรรพคุณทางยาใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ เช่น โรคหวัด โพรงจมูกอักเสบ ปวดท้อง ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ เป็นต้น หรือใช้ในการประกอบอาหาร

น้ำมันออริกานอนักได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำจากส่วนของใบและดอก น้ำมันออริกานอมือองค์ประกอบของสารสำคัญหลัก 4 ชนิด คือ คาร์วาคโรล (carvacrol) ร้อยละ 80 ไทมอลร้อยละ 64 พาราไซมีน (*p*-cimene) ร้อยละ 52 และแกมมา เทอร์พีนีน (γ -terpinene) ร้อยละ 2-52 (Burt, 2004) ซึ่งคาร์วาคโรลและไทมอลเป็นสารสำคัญหลักประเภทฟีนอล (phenols) ที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากช่วยในการเปลี่ยนแปลงและยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการซึมผ่านของของเหลวออกจากเซลล์จุลินทรีย์ และทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด (Lambert *et al.*, 2001)

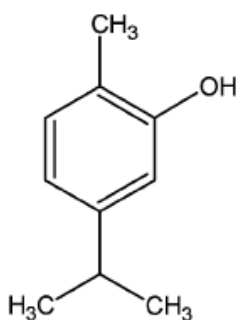
ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาชนิดของจุลินทรีย์และความเข้มข้นของน้ำมันออริกานอต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันออริกานอมีความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา เช่น จุลินทรีย์ธรรมชาติ (Natural microflora), *Aeromonas hydrophila*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *Brochotrix thermosphacta*, *Salmonella enterica*, *S. marcescens*, *Salmonella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella sonnei*, *K. pneumonia*, *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *C. albicans* และ *Aspergillus ochraceus* (Burt, 2004; Souza *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2007)

น้ำมันออริกานอมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สูง เนื่องจากน้ำมันออริกานอมีองค์ประกอบของกรดฟีนอลิก (phenolic) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ดังรายงานของ Fasseas *et al.* (2007) ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานอ (*O. vulgare*) และเซจ (*S. officinalis*) ต่อเนื้อหมูดิบที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและเนื้อหมูปรุงสุกที่ผ่านการปรุงที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าน้ำมันออริกานอมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเนื้อหมูดิบและเนื้อหมูปรุงสุกได้

จากประสิทธิภาพของน้ำมันออริกานอดังกล่าวข้างต้น ทำให้มีการนำน้ำมันออริกานอมาใช้ในการถนอมอาหารกันอย่างแพร่หลาย เช่น การจุ่มเนื้อสัตว์ลงในน้ำมันออริกานอซึ่งช่วยในการยืดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ก่อนที่จะนำมาทำการปรุงให้สุก (Skandamis and Nychas, 2002) การเติมน้ำมันออริกานอลงในฟิล์มโปรตีนก่อนที่จะนำไปห่อหุ้มอาหาร (Rababah and Ashbolt, 2000) หรือใช้เป็นองค์ประกอบในสารเคลือบบริโภคได้เพื่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์และต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Alejandra *et al.*, 2008)

5.3.2 คาวาครอล

คาวาครอล (2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol) เป็นสารประกอบฟีนอลิก และเป็นสารองค์ประกอบหลักที่พบได้ในเครื่องเทศและสมุนไพรหลายชนิด เช่น ออริกาน (O. vulgare) มินท์ (M. reguieinii) ไทม์ (T. vulgaris) เป็นต้น โดยในใบออริกานมีปริมาณ คาวาครอลร้อยละ 2-5 ในขณะที่น้ำมันออริกานพบคาวาครอลในปริมาณสูงถึงร้อยละ 40-70 คาวาครอลมีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีความข้น มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ปรสิตร และสามารถนำไปใช้เป็นยาฆ่าแมลง (Ahn *et al.*, 1998; Ultee *et al.*, 2002) ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของคาวาครอลและตารางที่ 4 แสดงสมบัติทางกายภาพของคาวาครอล



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของคาวาครอล

ที่มา: Veldhuizen *et al.* (2006)

ตารางที่ 4 สมบัติทางกายภาพของคาวาครอล

สมบัติ	ข้อมูลจำเพาะ
ชื่อทางเคมี	2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol
สูตรโมเลกุล	C ₁₀ H ₁₄ O
น้ำหนักโมเลกุล	150.22 g/mol
ลักษณะปรากฏ	น้ำมัน ข้น
จุดหลอมเหลว	0 °C
จุดเดือด	236-237 °C

ที่มา: Anonymous (2007a)

ควาครอลมีความสามารถในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากควาครอลจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ หรือที่เอนไซม์ ซึ่งจะทำการกิจกรรมของเอนไซม์และค่าพีเอชเปลี่ยนแปลงไป มีผลต่อการเคลื่อนย้ายของโปรตอนและสารผ่านเข้าออกเซลล์จุลินทรีย์ จนทำให้จุลินทรีย์ตายไปในที่สุด ดังการศึกษาต่าง ๆ เช่น Veldhuizen *et al.* (2006) ทดสอบฤทธิ์การด้านการเจริญของ *S. aureus* โดยใช้ความเข้มข้นของควาครอล 0, 1.1, 1.3, 1.5, 1.7 และ 1.9 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของควาครอลเพิ่มขึ้นจะสามารถยืดระยะแล็กเฟส (lag phase) และสามารถด้านการเจริญของ *S. aureus* ได้และเมื่อใช้ความเข้มข้นของควาครอลอย่างน้อย 1.7 มิลลิโมลาร์จะไม่พบการเจริญของ *S. aureus*

Bagamboula *et al.* (2004) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันไทม์และสารสำคัญหลักในน้ำมันไทม์ ได้แก่ ควาครอลและไทมอล โดยผสมในน้ำล้างผักกาดหอมเพื่อด้านการเจริญของจุลินทรีย์ *Shigella* sp. พบว่าเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (ปริมาตรโดยปริมาตร) *Shigella* sp. มีการเจริญลดลง ในขณะที่เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตรโดยปริมาตร) *Shigella* sp. มีจำนวนต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจสอบได้ (detection limit)

เมื่อพิจารณาคูณสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกริยาออกซิเดชันของควาครอลพบว่าเครื่องเทศ หรือสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เช่น พริกไทยดำ (*P. nigrum*) ยี่หระ (*O. gratissimum*) มินท์ (*M. reguienii*) ออริกาน (*O. vulgare*) โรสแมรี่ (*O. labiatae*) ไทม์ (*T. vulgaris*) พืชจำพวกผักชีลาว (*Anethum graveolens*) และออริกานแอลจีเรีย (*Algerian origanum*) ซึ่งมีควาครอลเป็นองค์ประกอบหลัก พบว่ามีคุณสมบัติในการด้านการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันได้ (Suhaj, 2006) จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีการศึกษาโดยการนำควาครอลไปใช้ในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของควาครอลร้อยละ 0.2 สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหมู่น้ำมันดอกทานตะวันที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้ (Marinova and Yanishlieva, 1992)

6. จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในอาหาร

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ หรือทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียก่อปัญหาให้กับหลายประเทศทั่วโลก โดยทำให้เกิดความเสียหายทั้งชีวิต ทรัพย์สินและความเชื่อมั่นของผู้บริโภค ทั้งยังก่อให้เกิดการสูญเสียดุลทางการค้าของประเทศ จึงถือเป็นปัญหาที่มีความสำคัญอย่างมาก ในช่วงเวลาที่ผ่านมามีรายงานจากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) เกี่ยวกับการเกิดโรคทางอาหารซึ่งมีปริมาณสูงขึ้นในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น จึงทำให้ผู้บริโภคทั่วโลกเริ่มตระหนักถึงบทบาทความสำคัญของจุลินทรีย์ที่เจริญ หรือปนเปื้อนในอาหารซึ่งก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในอาหารมากขึ้น

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมีมากมายหลายชนิด โรคอาหารเป็นพิษในมนุษย์เกิดได้จากการบริโภคอาหาร หรือน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิต หรืออาหาร/เครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ (toxins) ที่สร้างจากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียและรา (สุดสาย, 2545) คณะกรรมาธิการนานาชาติสำหรับเกณฑ์ทางด้านจุลชีววิทยาทางอาหาร (The International Commission on Microbiological Specifications For Foods; ICMSF) ได้แบ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารตามระดับความรุนแรงออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้

1. อันตรายนั้รุนแรง มีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพ เช่น *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Clostridium botulinum* และ *Salmonella typhi* เป็นต้น
2. อันตรายนั้กลาง แต่อาจแพร่กระจายได้ เช่น *Salmonella* sp., pathogenic *E. coli* (เช่น enterotoxigenic) และ *Shigella* sp. เป็นต้น
3. อันตรายนั้กลาง สามารถควบคุมได้ เช่น *S. aureus*, *B. cereus*, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Clostridium perfringens* เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ผู้บริโภคไม่สามารถยอมรับได้ ทั้งในแง่ของกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัสและรูปลักษณ์ของอาหาร เป็นต้น ในบางกรณีจุลินทรีย์ไม่ได้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารโดยตรงแต่จะส่งผลให้จุลินทรีย์ธรรมชาติ (microflora) สามารถเจริญและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น เช่น กรณีของแบคทีริโอฟาจ (bacteriophages) ซึ่งจะเข้าไปเจริญภายในเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์และทำให้จุลินทรีย์นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงไปและเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารได้ (วรารุณี, 2548)

6.1 *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้นตรง ขนาด 1.0-1.5 ไมครอน (2-4.5 เท่าของความกว้าง) เคลื่อนที่โดยใช้หนวด (flagellum) ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างสารสี ไม่มีแคปซูล โคโลนีสมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ตรงกลางโค้งนูน สีขาวนวล มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นคู่ บางครั้งพบเป็นสายสั้น ๆ เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและให้พลังงาน เปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 25-30 องศาเซลเซียสและสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 4 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอช 5.5-9.0 ไม่เจริญในสภาพที่มีเกลือร้อยละ 4-5 สามารถถูกทำลายโดยอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ พบมากในอาหารทะเล (เช่น ปลา กุ้ง หอยนางรม) เนื้อสัตว์ หอยทาก ผัก ผลไม้และน้ำคั้น

6.2 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus แบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และสร้างสารพิษ โดยจะจับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเจริญอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 ช่วง a_w มากกว่า 0.92 เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย สปอร์ของแบคทีเรียนี้ทนความร้อนปานกลาง ทนต่อสภาวะแช่เยือกแข็งและสภาวะแห้ง เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า *B. cereus gastroenteritidis* เกิดจากสารพิษ (toxin) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นระหว่างเจริญในอาหาร พบได้ในผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์และเครื่องปรุงแต่งรสต่าง ๆ

6.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli แบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสถานที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) ในช่วง 7-10 องศาเซลเซียสจนถึง 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 4.4-8.5 ค่า a_w ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.95 เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการอุจจาระร่วง โดยสามารถ

แบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Enterotoxigenic (ETEC) Enteroinvasive (EIEC) Enteropathogenic (EPEC) Enterohemorrhagic (EHEC) และ Enteroaggregative (EaggEC) ซึ่งในแต่ละกลุ่มมีลักษณะแตกต่างกันในด้านพยาธิสภาพ การเกิดโรค คุณสมบัติเฉพาะด้านความรุนแรงของเชื้อและลักษณะพิเศษตาม O:H Serotypes ในบางกรณีอาจมีความแตกต่างในกลุ่มอาการคลินิกและลักษณะทางระบาดวิทยา เป็นเชื้อที่บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนที่เกี่ยวข้องกับระบบบำบัดน้ำ (อุจจาระ) ในอาหาร หรือเครื่องดื่ม เช่น นมดิบ นานมดิบ ผักสด ขณะเดียวกันแบคทีเรียชนิดนี้สามารถด้านการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกายได้อีกด้วย

6.4 *Escherichia coli* O157:H7

Escherichia coli O157:H7 แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง เจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สามารถใช้น้ำตาลซอร์บิทอลจึงสามารถใช้ลักษณะนี้เป็นตัวคัดแยก *E. coli* O157:H7 ออกจาก *E. coli* ทั่วไป *E. coli* O157:H7 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ไม่เจริญ หรือเจริญน้อยมากที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในหลายประเทศทั่วโลก ก่อโรคโดยสร้าง Shiga toxin (Stx) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกับ Stx ของเชื้อ *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดอาการร่วงได้ในมนุษย์และสัตว์ สร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือกลำไส้ โดยการปนเปื้อนของเชื้อจากอาหารและเครื่องดื่ม เช่น เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์นม อาหารปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ (มาลีย์, 2545)

6.5 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นทรงกลม หรือรูปไข่ เส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า 2 ไมโครเมตร เจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน ไม่สร้างสปอร์และมักจะไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 48-50 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้ทนความร้อนและสามารถอยู่รอดในน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เจริญได้ในสภาพด่างพีเอช 9.6 ทนเกลือได้ที่ร้อยละ 6.5 พบในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ อาหารสัตว์ ฟิซบางชนิด เครื่องมือที่ใช้ในโรงนม น้ำลายและอุจจาระ เป็นต้น เชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในนมและผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้เข้มข้น ครีม ผลไม้บรรจุกระป๋อง เป็นต้น

6.6 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes แบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่งขนาด 1.0-2.0 x 0.5 มิลลิเมตร เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยหนวด ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ทนต่ออุณหภูมิ ต่ำ (psychotroph) เจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 3-42 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0-9.0 ค่า a_w ต่ำสุดที่เจริญได้ คือ 0.92 ทนเกลือได้ดี เชื้อชนิดนี้สามารถ ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปัจจุบันพบเชื้อ *L. monocytogenes* 5 สายพันธุ์ คือ *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seligeri*, *L. ivanovii* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคลิสเทอริโอซิส (listeriosis) สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ ดิน สิ่งปฏิกูลต่าง ๆ อาหารสัตว์และพบมากในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก วัว หมู แกะ ปลา หอย นมและอาหารแช่แข็ง (สุมนฑา, 2545)

6.7 *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-3.5 ไมโครเมตร โคโลนีสีเหลือง ต้องการออกซิเจนในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 25-30 องศาเซลเซียส เจริญในที่ที่มีเกลือสูงถึงร้อยละ 5 สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรด แต่ไม่ผลิตก๊าซ สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ในดิน ฝุ่น น้ำและบนผิวหนังของมนุษย์และสัตว์ เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อ ไก่ ปลา หอย รวมทั้ง ไข่กรอกและหมูแฮม

6.8 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน หรือโค้งเล็กน้อย ขนาด 0.5-1 x 1.5-4 ไมโครเมตร โคโลนีมีขนาดใหญ่ กระจายและมักเป็นเงาคล้ายโลหะ (metallic sheen) เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยหนวดซึ่งอยู่ที่ปลายเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญ ทนต่อความเข้มข้นของเกลือได้สูง เจริญในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ 10-42 องศาเซลเซียส แต่โดยส่วนใหญ่เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ ดิน ผักและอุจจาระของคน เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารที่แช่หรือเก็บในตู้เย็น หรือที่อุณหภูมิต่ำ

6.9 *Salmonella Enteritidis*

Salmonella Enteritidis แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้หางที่อยู่รอบเซลล์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้ผลผลิตเป็นกรดและก๊าซ เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-45.6 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เชื้อชนิดนี้จะสามารถเจริญแข่งกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้ดีกว่า ช่วงพีเอชในการเจริญอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 ค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญอยู่ที่ 0.93-0.95 เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เมื่อบริโภคอาหารที่มีเซลล์ที่มีชีวิต เชื้อชนิดนี้สามารถเพิ่มจำนวนในอาหารได้และมักพบปนเปื้อนในอาหารหลายชนิด เช่น เนื้อสัตว์ นม ไข่ อาหารทะเลและผัก โดยเฉพาะสัตว์ปีกซึ่งเป็นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญ

6.10 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นก้าง หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น โคโลนีมีสีเหลือง หรือทอง ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชที่เหมาะสมคือ 7-7.5 ค่า a_w ต่ำที่สุดสำหรับการเจริญในสภาพที่มีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90 เชื้อชนิดนี้บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ผลิตสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) สามารถพบได้ในอากาศ ผุนละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหาร และนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ อาหารที่มักพบเชื้อชนิดนี้ ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสด ผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น

6.11 *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus แบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 9.5-45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 5-11 สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.5-8 สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ตามแหล่งธรรมชาติในน้ำทะเลและน้ำกร่อย เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ หรือกระเพาะและลำไส้อักเสบ ข้อมูลจากสำนักกระบาดวิทยา ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2545 พบว่าเชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

คิดเป็นร้อยละ 78 โดยเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป โดยเฉพาะอาหารทะเล เช่น กุ้ง ปู ปลา หอย อาหารที่ผ่านความร้อนไม่เพียงพอ หรืออาหารปรุงสุกที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ

6.12 *Candida albicans*

Candida albicans ยีสต์ รูปร่างกลม รูปไข่ รูปทรงกระบอก หรือทรงยาว สืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบมัลติโพลาร์ บัคคิง (multipolar budding) ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ ไม่มีเมดูลีแคโรทีนอยด์จึงทำให้เห็นการสร้างสีของเซลล์ได้ อาจมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ขึ้นภายนอกเซลล์จึงอาจเกิดปฏิกิริยาเชิงบวกกับไอโอดีนได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส ยีสต์ชนิดนี้สามารถพบได้ในอาหารทั้งประเภทเนื้อสัตว์ สัตว์ปีกและประเภทผักและผลไม้

6.13 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae ยีสต์ รูปร่างกลม รูปทรงแบนอย่างไข่ ทรงกระบอก หรือทรงยาว สืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบมัลติเลตเทอรัล บัคคิง (multilateral budding) สร้างสปอร์ที่มีรูปร่างกลมภายในเซลล์ของยีสต์ (ascus) สามารถหมักน้ำตาลได้อย่างดี ยกเว้นน้ำตาลเล็กโทส ยีสต์สายพันธุ์นี้ถูกใช้เป็นยีสต์ขนมปัง (bread yeast) และยีสต์ทำเบียร์ (brewers' yeast) โดยทั่วไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ ไวน์ เอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) กลีเซอรอลและแอลกอฮอล์ นอกจากนั้นยังเป็นยีสต์ที่ทนต่อวัตถุดิบเสียอีกด้วย

6.14 *Zygosaccharomyces rouxii*

Zygosaccharomyces rouxii ยีสต์ รูปร่างกลม รูปรี ทรงกระบอก หรือยาว สืบพันธุ์ทั้งแบบสร้างสปอร์และแตกหน่อหลายขั้ว หมักน้ำตาลได้ดี สามารถเจริญในที่ที่มี a_w ต่ำมากเท่ากับ 0.62 ค่าพีเอช 1.8 หรือในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลและเกลือสูง (บุษกร, 2550)

7. อนุมูลอิสระและกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

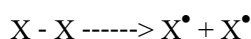
7.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ คือ สารที่มีอะตอมหรือหมู่อะตอม หรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet หรือ unpaired electron) เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย จำนวนอิเล็กตรอนเดี่ยวนี้อาจมีหนึ่งตัว หรือหลายตัวต่อหนึ่งอนุมูลก็ได้ โดยปกติอะตอม หรืออนุมูลที่เสถียรจะต้องมีจำนวนอิเล็กตรอน อยู่เป็นคู่เสมอ หากอิเล็กตรอนวงนอกในโมเลกุลไม่เป็นจำนวนคู่เนื่องจากสูญเสียอิเล็กตรอน ออกไป หรือได้รับจากอิเล็กตรอนภายนอกเพิ่มเข้ามา อะตอม หรือโมเลกุลจะว่องไวต่อการ เกิดปฏิกิริยาเคมีมาก มีพลังงานภายในสูงขึ้น ต้องหาทางจับ หรือทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุ อื่นเสมอ โดยสามารถตรวจวัดด้วยอิเล็กตรอน สปิน เรโซแนนซ์ (electron spin resonance; ESR) โมเลกุล หรืออะตอมชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและ ออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species; ROS) เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (super oxide; O_2^-) ไฮดรอกซิล (hydroxyl; $\cdot OH$) เพอร์ออกไซด์ (peroxyl; $\cdot OOH$) ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ (hydrogenperoxide; H_2O_2) เป็นต้น (สุเชตร, 2548)

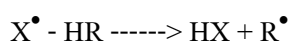
อนุมูลอิสระเกิดได้ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายใน ร่างกายเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง ขณะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ภายนอกร่างกายอาจเกิดได้จากการติดเชื้อทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส สิ่งแวดล้อมภายนอกต่าง ๆ เช่น มลพิษ โอโซน ฝุ่น ควันบุหรี่ คลื่นและรังสีในธรรมชาติ ได้แก่ แสงแดด คลื่นความร้อน หรือรังสีแกมมา เป็นต้น นอกจากนั้นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารก็เป็นสาเหตุให้เกิดอนุมูล อิสระได้เช่นกัน เช่น อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง หรืออาหารที่มีธาตุเหล็กมากกว่าปกติ

หลักการทางเคมีและอนุมูลอิสระ ROS เกิดขึ้นได้โดย

7.1.1 ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)



7.1.2 อนุมูลอิสระอื่นๆ

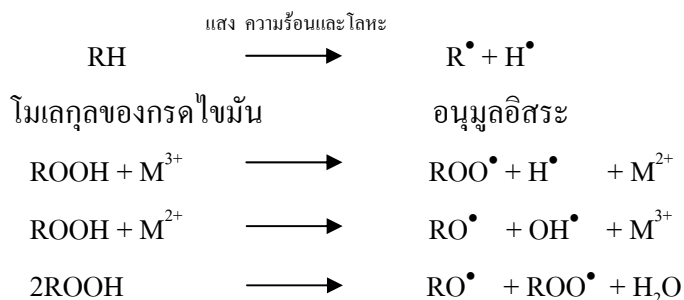


จากที่กล่าวข้างต้น อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายและในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นต้องหาทางป้องกันการทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น ร่างกายจึงสร้างระบบเพื่อป้องกันตัวเอง คือ ระบบต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือระบบป้องกันอนุมูลอิสระซึ่งประกอบไปด้วยสาร หรือเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เพื่อชะลอ หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินไปกว่าที่สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะจัดการได้ ทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress โดยจะส่งผลกระทบต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (aging) และรุนแรงไปจนถึงการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น (Papaz, 1999)

7.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

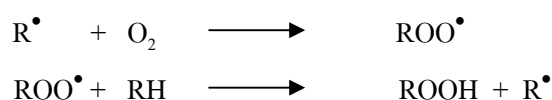
ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีน้ำมัน หรือไขมันเป็นองค์ประกอบ การเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจเกิดจากกลไกที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ หรือเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) กรดลิโนเลนิก (linolenic acid) และกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) เป็นต้น เนื่องจากกรดไขมันเหล่านี้เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่มากกว่าหนึ่งพันธะในโครงสร้างจึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นนี้จะนำไปอย่างต่อเนื่อง โดยอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (free radical chain reaction) กลไกการเกิดปฏิกิริยาแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

7.2.1 Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ



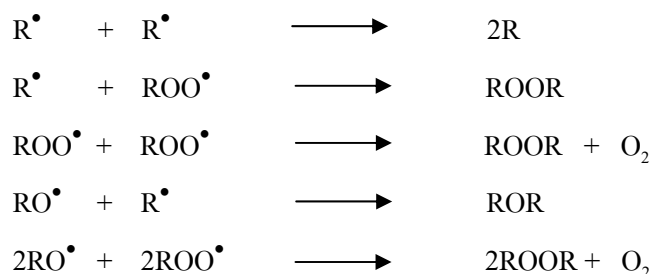
กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในช่วง initiation โมเลกุลของออกซิเจนจะทำปฏิกิริยาบริเวณพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหาร เกิดการสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมตรงตำแหน่งพันธะคู่ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ คือ อนุมูลไฮโดรคาร์บอนและไฮโดรเจนอะตอมซึ่งมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วถ้ามีตัวกระตุ้น (catalyst) ที่เหมาะสม เช่น แสง ความร้อนและโลหะ ในขณะเดียวกันตัวกระตุ้นดังกล่าวอาจจะทำให้เกิดการสลายตัวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหารได้โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอาหารและได้อนุมูลอิสระที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากเช่นกัน (Allen and Hamilton, 1994)

7.2.2 Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ



อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างต่อเนื่อง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy; $\text{ROO}^\bullet$) ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide; ROOH) และอนุมูลไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon; $\text{R}^\bullet$) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนซ้ำเช่นนี้เรื่อยไป ไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นผลผลิตปฐมภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (primary lipid oxidation product) สารนี้เป็นสารที่ไม่เสถียรจึงเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้โดยการสลายตัวหรือทำปฏิกิริยากับสารอื่น ทำให้ได้สารประกอบชนิดใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันและเป็นสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนในอาหาร เช่น อัลดีไฮด์ (aldehyde) แอลกอฮอล์ (alcohol) คีโตน (ketone) และไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นผลผลิตทุติยภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (secondary lipid oxidation products)

7.2.3 Termination เป็นปฏิกิริยาสุดท้ายที่ทำให้ผลผลิตที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical)



ขั้นตอนสุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา อนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากันเองและเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระปฏิกิริยาที่จะสิ้นสุดลง เมื่อไม่มีอนุมูลอิสระเหลืออยู่เพียงพอเพื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนแต่ยังมีออกซิเจนเหลือมากพอสามารถที่จะเริ่มต้นเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในช่วง initiation เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้ใหม่อีกครั้ง

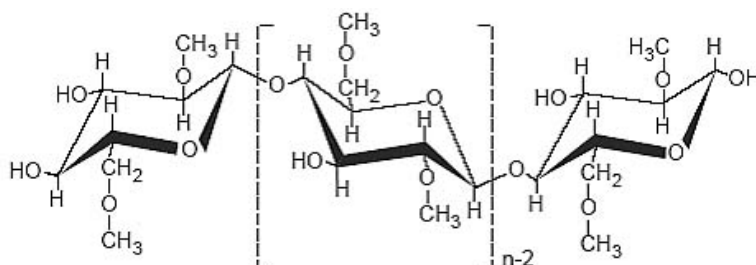
8. เซลลูโลสอีเทอร์ (cellulose ether)

เซลลูโลสอีเทอร์ คือ พอลิเมอร์ที่ได้มาจากเซลลูโลส เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสโดยเกิดจากปฏิกิริยาการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมที่หมู่ไฮดรอกซิลด้วยเมทิล (methyl) คาร์บอกซีเมทิล (carboxy methyl) และไฮดรอกซีพروพิลเมทิล (hydroxyl propyl methyl) ซึ่งในการผลิตฟิล์มบริโภคได้ที่อยู่ในรูปของเซลลูโลสอีเทอร์ ได้แก่ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxy methyl cellulose; CMC) เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose; MC) ไฮดรอกซีพروพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxy propyl methyl cellulose; HPMC) เป็นต้น อนุพันธ์เหล่านี้ละลายได้ในน้ำ ความยาวของสายเซลลูโลสอีเธอร์ยังคงเท่ากับของเซลลูโลส แต่ชนิดของหมู่อีเทอร์และระดับของการแทนที่ (degree of substitution; DS) จำนวนหมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุลของแอนไฮโดรกลูโคส (anhydro glucose) จะมีอิทธิพลต่อสมบัติในการดูดน้ำ การเกิดเจลและการเพิ่มความหนืดของอนุพันธ์เซลลูโลสที่ต่างชนิดกัน

8.1 เมทิลเซลลูโลส

เมทิลเซลลูโลสเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสเตรียมได้โดยใช้เซลลูโลสให้ทำปฏิกิริยากับสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30-60 ซึ่งจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์สามหน่วยต่อแอนไฮโดรกลูโคสหนึ่งหน่วยในโมเลกุลของเซลลูโลส ได้เป็นสารละลายเซลลูโลสในด่าง จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับเมทิลคลอไรด์ (methyl chloride) ได้เป็นเมทิลเซลลูโลสอีเทอร์ โครงสร้างของเมทิลเซลลูโลสแสดงดังภาพที่ 8

เมทิลเซลลูโลสมี DS เท่ากับ 1.3-2.6 ถ้าเมทิลเซลลูโลสมี DS สูงมากจะกระจายตัวได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เท่านั้น เมทิลเซลลูโลสไม่กระจายตัวในน้ำร้อน แต่กระจายตัวได้ดีในน้ำเย็นและไม่มีประจุ โดยเมทิลเซลลูโลสที่ผลิตทางการค้าจะมีระดับของการพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization; DP) แตกต่างกัน ทำให้มีสมบัติในการกระจายตัวและการให้ความหนืดแตกต่างกันด้วย การเกิดปฏิกิริยาเมทิลเลชัน (methylation) ที่หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลเซลลูโลสจะทำให้สายของโมเลกุลเซลลูโลสแยกตัวออกจากกัน น้ำจึงสามารถแทรกตัวเข้าไปได้ง่าย การกระจายตัวจึงดีขึ้น เมทิลเซลลูโลสจะเกิดเป็นเจลได้เมื่อได้รับความร้อนและจะกลับเป็นของเหลวที่มีความข้นหนืดเมื่อปล่อยให้เย็นลง ซึ่งความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายได้รับความร้อนและจะเกิดเป็นเจลได้ ณ อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ถ้ามีอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) น้ำตาลซูโครส (sucrose) กลีเซอรอล (glycerol) และซอร์บิทอล (sorbitol) ปนอยู่ด้วย จะทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลลดลง แต่เมื่อเติมเอทานอล หรือพรอพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ลงไป ทำให้อุณหภูมิในการเกิดเจลสูงขึ้นและถ้าให้หมู่ไฮดรอกซีพรีอฟิลแทนที่หมู่เมทิลในโมเลกุลของเมทิลเซลลูโลสบางส่วน จะทำให้เกิดเป็นเจลที่อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 85 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับสัดส่วนของหมู่เมทิลและไฮดรอกซีพรีอฟิลด้วยเช่นกัน (นิธิยา, 2545)



ภาพที่ 8 โครงสร้างเมทิลเซลลูโลส

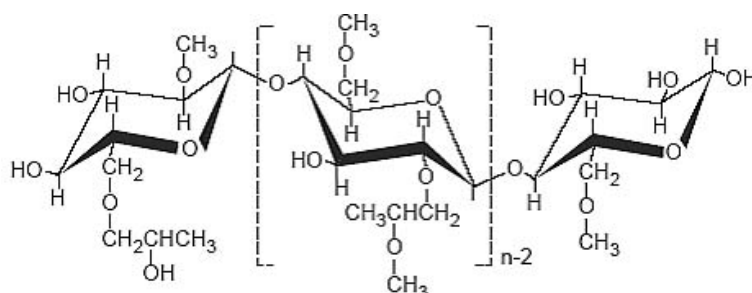
ที่มา: Stephen (1995)

มีการอธิบายการเกิดฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลสว่า เมื่อละลายเมทิลเซลลูโลสในตัวทำละลายจะเกิดการพองตัวเนื่องจากมีโมเลกุลของตัวทำละลายเข้าไปแทรกอยู่ ขณะเดียวกันความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งระหว่างสายพอลิเมอร์จะถูกทำลาย ทำให้สายโซ่เริ่มกระจายตัว ความหนืดลดลงและคงที่ เมื่อการกระจายของโมเลกุลเกิดอย่างสมบูรณ์ ในระหว่างการระเหยของตัวทำละลาย สายโซ่จะเชื่อมต่อกันใหม่ได้แผ่นฟิล์มเมทิลเซลลูโลส ถ้ามีการเติมพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) ลงไป สารดังกล่าวจะไปแทรกอยู่ระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น

เมทิลเซลลูโลสถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น ใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดและอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ในแชมพู ยาสีฟันและสบู่เหลว ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ไอศกรีม ลูกชิ้น ใช้เป็นสารป้องกันการตกตะกอนในสารแขวนลอย เช่น CMC หรือเติมลงในกาว หรือสารยึดติด เพื่อเพิ่มความแข็งแรง ความยืดหยุ่นและแรงยึดเกาะให้กาว เป็นต้น

8.2 ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส

ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี โดยเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมที่หมู่ไฮดรอกซิลด้วยไฮดรอกซีพรอพิลเมทิล โครงสร้างของไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส แสดงดังภาพที่ 9 ซึ่งไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสจะเกิดเป็นเจลได้เมื่อได้รับความร้อนและจะกลับเป็นของเหลวที่มีความเข้มข้นหนืดเมื่อปล่อยให้เย็นลง



ภาพที่ 9 โครงสร้างไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส

ที่มา: Stephen (1995)

ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสและเมทิลเซลลูโลสกระจายตัวได้ดีในน้ำที่อุณหภูมิต่ำและกลายเป็นเจลที่อุณหภูมิสูง สมบัตินี้ช่วยทำให้อิมัลชัน (emulsion) ชนิดน้ำมันในน้ำมีความคงตัวดีที่อุณหภูมิต่ำ โดยนำไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสและเมทิลเซลลูโลสมากระจายตัวในน้ำร้อนจะช่วยชะลอการพองตัวและการคุดน้ำของสารเหล่านี้ เมื่อปล่อยให้เย็นลงจะทำให้ได้อิมัลชันที่มีความหนืดสูงและอนุภาคน้ำมันที่มีขนาดเล็ก (นิธิยา, 2545) สารทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถเกิดเป็นฟิล์มได้ดี (Nisperos-Carriedo, 1994; Debeaufort and Voilley, 1997) มีลักษณะโปร่งใสเหนียวและยืดตัวได้ดี ละลายได้ในน้ำ ไม่ละลายในไขมันและน้ำมัน การเติมพลาสติกไซเซอร์มีผลต่อหมู่ไฮดรอกซีพรอพิลที่ถูกแทนที่ในไฮดรอกซีพรอพิลเซลลูโลส ทำให้ฟิล์มมีความคงตัวต่ำ สามารถปรับปรุงสมบัติด้านการละลายในน้ำโดยใช้เมลามีน ฟอรัลดีไฮด์เรซิน (melamine formaldehyde resins) และในการเกิดพอลิเมอร์แบบเชื่อมโยงข้ามจะทำให้ฟิล์มไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้อาจใช้ร่วมกับลิพิดเพื่อปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของความชื้นให้ดีขึ้น (Fennema, 1996)

ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสมีสมบัติในการเกิดเจลได้ไม่ดีเท่าเมทิลเซลลูโลส แต่สามารถแก้ไขได้โดยการเติมพลาสติกไซเซอร์ลงไป เพื่อช่วยให้เกิดเจลได้ดีขึ้นและนำมาใช้ในการผลิตสารเคลือบ หรือฟิล์มที่ช่วยลดการดูดซับน้ำมันของอาหารประเภททอด เช่น มันฝรั่ง และหัวหอมทอด โดยเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสจะเป็นตัวช่วยป้องกันไม่ให้น้ำมันที่ใช้ทอดอาหารถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้ออาหารมากเกินไปและช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหรือความชื้นออกจากผลิตภัณฑ์อาหาร (นิธิยา, 2545) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเคลือบที่ผิวของผักและผลไม้ เพื่อลดอัตราการแพร่ผ่านของแก๊สจากการหายใจ ซึ่งเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (Garcia *et al.*, 2002; Salvador *et al.*, 2008)

มีรายงานวิจัยต่าง ๆ นำเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ดังรายงานของ Grower *et al.* (2004) ศึกษาการปลดปล่อยไนซินจากสารเคลือบของเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสแล้วนำไปเคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low-density polyethylene; LDPE) พบว่าฟิล์มที่เติมไนซิน 5000, 7500 และ 10,000 หน่วยสากล (international unit; IU) ต่อตารางเซนติเมตร สามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้ นอกจากนี้ Franklin *et al.* (2004) ศึกษาการต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* บนพื้นผิวของไส้กรอกโดยฟิล์มเคลือบเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลสที่เติมไนซิน พบว่าฟิล์มเคลือบนี้สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ได้ตลอดอายุการเก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 15 วัน

9. เนื้อสุกร

เนื้อสุกร (pork) หมายถึง เนื้อเยื่อจากซากสุกรซึ่งสามารถใช้บริโภคเป็นอาหารได้ โดยมี กล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) จากสุกรเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในปริมาณสูงสุด อาจผ่าน กระบวนการแช่เย็น แต่ยังไม่ได้อุณหภูมิใดๆ อย่างอื่น เพื่อวัตถุประสงค์ในการถนอมอาหาร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547)

ในปัจจุบันพบการบริโภคเนื้อสัตว์ในปริมาณสูงทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ จาก สถิติการบริโภคเนื้อสุกรของโลก ปี พ.ศ.2550 พบว่าประเทศที่มีอัตราการบริโภคสูงที่สุด คือ จีน โดยบริโภคในปริมาณ 55,324 พันตัน และมีอัตราการบริโภคที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ส่วน ประเทศที่มีอัตราการบริโภคขยายตัวเพิ่มขึ้น ได้แก่ รัสเซีย บราซิลและเวียดนาม ส่วนไทยมีการ บริโภคในปริมาณ 867 พันตัน โดยทุกประเทศทั่วโลกมีอัตราการบริโภคเพิ่มขึ้นร้อยละ 3.50 รวมทั้งไทยมีอัตราการบริโภคเพิ่มขึ้นร้อยละ 11.72 ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สถิติการบริโภคเนื้อสุกรของโลก

หน่วย: พันตัน							
ประเทศ	2545	2546	2547	2548	2549	2550	สัดส่วนปี2550 (%)
จีน	43,193	45,054	46,648	49,652	52,536	55,324	54.04
EU-25	19,746	20,043	19,773	19,466	20,072	20,122	19.66
สหรัฐอเมริกา	8,685	8,816	8,817	8,671	8,657	8,874	8.67
รัสเซีย	2,453	2,420	2,337	2,476	2,580	2,715	2.65
ญี่ปุ่น	2,377	2,373	2,562	2,507	2,530	2,501	2.44
บราซิล	1,975	1,957	1,979	2,039	2,205	2,305	2.25
เวียดนาม	1,190	1,244	1,386	1,583	1,698	1,815	1.77
เม็กซิโก	1,349	1,423	1,556	1,556	1,585	1,640	1.60
เกาหลี	1,137	1,294	1,331	1,305	1,314	1,310	1.28
ฟิลิปปินส์	1,072	1,167	1,169	1,198	1,240	1,272	1.24
ไทย	703	675	741	731	776	867	0.85
อื่น ๆ	3,949	3,831	3,840	4,052	3,721	3,629	3.54
รวม	87,829	90,297	92,139	95,236	98,914	102,374	100.00

ที่มา: ดัดแปลงจาก นิรนาม (2551)

เนื้อสุกรอายุการเก็บสั้น เน่าเสียได้ง่าย ทั้งการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์และการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมี เช่น การเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว นอกจากนั้นอาจพบการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการขายและการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น จากการที่ผู้บริโภคให้ความสนใจในการเลือกผลิตภัณฑ์อาหารโดยดูจากลักษณะปรากฏ ได้แก่ สี รูปร่าง ขนาดและตำหนิที่ผิว จากคุณลักษณะทั้งหมดที่กล่าวข้างต้น พบว่าสีมีอิทธิพลมากที่สุด เพราะสีที่ผิดปกติจะทำให้ผู้บริโภคปฏิเสธอาหารชนิดนั้น (สุกเวท และพัชรีย์, 2550) ทำให้ผู้ผลิตบางรายลักลอบใช้สารเร่งเนื้อแดง เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ทั้งที่เป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และเป็นสารอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงศึกษาความเป็นไปได้ในการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสุกรโดยการใช้ฟิล์มแต่งเติมสารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ

9.1 ลักษณะทั่วไปของเนื้อสุกร

ลักษณะทั่วไปของเนื้อสุกร คือ อยู่ในสภาพปกติ สะอาด ไม่มีกลิ่นผิดปกติ กลิ่นแปลกปลอม หรือกลิ่นไม่พึงประสงค์และต้องไม่มีรอยฟกช้ำ รอยขีดข่วน หรือแผลหนอง มีสีชมพูปนเทาจนถึงชมพูเข้ม มีค่าพีเอชไม่ต่ำกว่า 5.7 หลังฆ่า 1 ชั่วโมงและ/หรือมีค่าพีเอชไม่เกิน 6.2 หลังฆ่าที่ 24 ชั่วโมง ปราศจากอาการของโรคติดเชื้อและพยาธิต่าง ๆ ปราศจากพยาธิในเนื้อ ได้แก่ *Trichinella spiralis*, *Cysticercus cellulosae*, *Sarcocystis* sp. เป็นต้น จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 5×10^5 โคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง โคลิฟอร์มกำหนดค่า most probable number (MPN) ต้องไม่เกิน 5×10^3 ต่อกรัมตัวอย่าง *Salmonella* sp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม *S. aureus* กำหนดค่า MPN ต้องไม่เกิน 1×10^2 ต่อกรัมตัวอย่าง นอกจากนั้นต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สารปนเปื้อน สารพิษตกค้าง และยาสัตว์ตกค้างให้เป็นไปตามข้อกำหนดของกฎหมาย (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547)

9.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์

เนื้อสัตว์เน่าเสียได้ง่ายเนื่องจากมีค่าพีเอช ค่า a_w และสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ลักษณะทางกายภาพของเนื้อที่มีช่องว่างและโพรงอากาศมากมายทำให้เอื้อต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์อีกด้วย โดยปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการกำหนดอายุการเก็บรักษาของเนื้อ คือ การเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น อุณหภูมิที่เก็บรักษาและสภาวะบรรยากาศที่ใช้ในการเก็บรักษา เช่น

การบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ หรือการบรรจุภายใต้สุญญากาศ เป็นต้น (งามทิพย์, 2538)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ คือ ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อ หรือผลิตภัณฑ์เนื้อ คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา โดยการเสื่อมเสียของเนื้อสุกจะเสื่อมเสียเร็วกว่าเนื้อชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเนื้อสุกมีวิตามินบีรวมสูงถึงร้อยละ 5.04 โดยมีผลโดยตรงจากอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ขณะที่เนื้อวัวและเนื้อแกะมีวิตามินบีรวมร้อยละ 3.79 และ 5.05 ตามลำดับ แต่ไม่มีผลในสัตว์ที่มีกระเพาะสำหรับเคี้ยวเอื้อง ซึ่งภายในกระเพาะอาหารจะมีจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบีและสารอื่น ๆ ได้ (บุญกร, 2550)

เนือบด การเน่าเสียมักเกิดจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศเป็นสำคัญ ก่อนที่เนื้อจะเสียจะพบจุลินทรีย์ที่สร้างเม็ดสี (pigment) เป็นจำนวนมาก ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ ราและแบคทีเรียสร้างสปอร์ แต่หลังจากเนื้อเน่าเสียแล้วจะพบแบคทีเรียที่ไม่สร้างเม็ดสี แบคทีเรียท่อนสั้น ดิดีแกรมลบและเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (สุมณฑา, 2545) โดยการเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรียมักพบ *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Acinetobacter* sp., *Moraxella* sp. กับ *Aeromonas* sp. โดย *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp. กับ *Moraxella* sp. เป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ทำให้เนื้อเน่าเสีย นอกจากนั้นเป็นเชื้อที่มักพบเจริญตามมา จากการศึกษพบว่าเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นของแบคทีเรียในเนือบดจะมีประมาณ 10^4 - 10^5 โคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง โดยเชื้อที่พบ คือ *Acinetobacter* sp. และ *Moraxella* sp. ร้อยละ 22 *Corynebacterium* sp. ร้อยละ 14 *Flavobacterium* sp. ร้อยละ 10 นอกจากนั้นเป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ร้อยละ 54 (สัญญาชัย, 2543)

จากการศึกษาขององค์การความปลอดภัยทางอาหารแห่งยุโรป (European Food Safety Authority; EFSA) ในปี 2004 และปี 2005 พบว่าเนื้อสุกและเนื้อสัตว์ปีกมีการปนเปื้อนของโรคซาลโมเนลโลซิส (salmonellosis) ร้อยละ 12.2-18.3 นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของโรคแคมไพโลแบคทีริโอซิส (campylobacteriosis) ร้อยละ 36.7-41.1 นอกจากนั้นยังเป็นแหล่งปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างสารพิษต่าง ๆ เช่น *S. aureus*, *B. cereus* และ *C. perfringens* ถึงร้อยละ 11.2-25.0 และจากการศึกษาของ Olsen *et al.* (2000) พบว่าจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในเนื้อสุก ได้แก่ *Salmonella* sp. ร้อยละ 40 *Y. enterocolitica* ร้อยละ 20 *C. perfringens* ร้อยละ 10 และ *S. aureus* ร้อยละ 10 นอกจากนั้น Mataragas *et al.* (2008) ได้รวบรวมงานวิจัยต่าง ๆ ที่ได้มีการศึกษาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกและสัตว์ปีก ซึ่งพบได้ในระหว่าง

กระบวนการผลิตและการจัดจำหน่าย โดยจุลินทรีย์ที่มักปนเปื้อน ได้แก่ *Salmonella* sp., *L. monocytogenes*, *S. aureus* enterotoxin, *Y. enterocolitica*, *E. coli*, *Campylobacter* sp., *C. perfringens*, *Bacillus* sp., *B. cereus* และ Hepatitis E Virus

9.3 การเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมี

ไขมันในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกันมาก ทั้งชนิดและปริมาณ เช่น เนื้อสุกรมีปริมาณไขมันร้อยละ 45.0 รองลงมา คือ เนื้อไก่วงง เนื้อลูกแกะและเนื้อวัวร้อยละ 20.2, 14.8 และ 11.0 ตามลำดับ (บุษกร, 2550) ไขมันของเนื้อสัตว์มีกลิ่นหืนได้ง่าย ทำให้ไม่สามารถเก็บได้นาน กรดไขมันในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดก็แตกต่างกันมาก ทำให้คุณภาพอาหาร คุณภาพการรับประทาน และคุณภาพการเก็บรักษาแตกต่างกันไป ในเนื้อไก่ เนื้อวัว เนื้อสุกรและเนื้อแกะจะมีน้ำมัน (กลีเซอไรด์) ที่มีพันธะคู่ประมาณร้อยละ 40-50 และมากกว่า 1 พันธะคู่ร้อยละ 2 การเกิดกลิ่นผิดปกติมักเกิดขึ้นกับกรดไขมันของฟอสโฟลิปิด (Pomeranz, 1991)

สาเหตุใหญ่ของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี โดยส่วนใหญ่มักเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์โดยออกซิเจนมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยานี้ ทั้งนี้อาจร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง เกลือ ก๊าซโอโซน สารเปอร์ออกไซด์ (peroxide) และ โลหะหนักต่างๆ เป็นต้น

นอกจากนี้อาจพบการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการวางขายและการเก็บรักษา โดยการแช่เย็น เช่น การซีดจางเนื่องจากแสงและออกซิเจนในอากาศ การสูญเสียความชื้นที่ผิวเนื้อ การเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอากาศ เป็นต้น โดยสีแดงสดของเนื้อมีความเสถียรต่ำเมื่อเก็บไว้ 2-3 วันในตู้เย็นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (งามทิพย์, 2538) เนื่องจากไขมันในเนื้อสัตว์มักอยู่ร่วมกับโปรตีน เมื่อไขมันเกิดการเติมออกซิเจนจะมีผลให้เหล็กเฟอร์ในไมโอโกลบินเกิดการเติมออกซิเจนเร็วขึ้นและเปลี่ยนไปเป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ เหล็กจากฮีโมโกลบินและเหล็กจากสารประกอบอื่น ๆ ที่มีไซโตโครมจะช่วยเร่งให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดเร็วขึ้นอีกด้วย (Pomeranz, 1991) การเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมีดังกล่าวข้างต้นก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสและสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ทำลายโครงสร้างของโปรตีนและทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Chiu and Kuo (2007) ศึกษาความเข้มข้นของแลคโตเฟอริน (lactoferrin) ต่อการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อสุกรบด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน พบว่าการเติมแลคโตเฟอริน 40-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ทำให้มีค่าของอนุพันธ์กรดไทโอบาร์บิทริก (thiobarbituric acid reaction substances; TBARS) ต่ำกว่าตัวควบคุมในวันที่ 3, 6 และ 9 และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจากตัวควบคุมในวันที่ 3, 6 และ 9 เช่นกัน และการเติมแลคโตเฟอรินความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตัวอย่าง สามารถลดจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกได้ในวันที่ 0, 3 และ 9 ของการเก็บรักษา โดยการเติมแลคโตเฟอรินไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของเนื้อสุกรบด

Lacroix *et al.* (2004) ศึกษาการต้านการเจริญของจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้รังสีแกมมาพร้อมกับกรดแอสคอร์บิกในเนื้อบดปริมาณไขมันร้อยละ 23 จากนั้นเคลือบด้วยสารเคลือบบริโกลได้ ทดสอบโดยการฉายรังสีที่ 0, 1, 2 และ 3 กิโลเกรย์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 7 วันประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และปริมาณ TBARS โดยผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกรดแลกติกและ *B. thermosphacta* สามารถต้านทานต่อรังสีแกมมาได้มากกว่า *Enterobacteriaceae* sp. และ *Pseudomonas* sp. และเมื่อใช้รังสีแกมมาพร้อมกับกรดแอสคอร์บิกทำให้ปริมาณ TBARS มีค่าคงที่ ซึ่งการใช้รังสีแกมมาที่ 1, 2 และ 3 กิโลเกรย์ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อบดได้ 4, 7 และ 10 วันตามลำดับ เช่นเดียวกับ Banon *et al.* (2007) ใช้สารสกัดชาเขียวและสารสกัดจากเมล็ดองุ่นซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อวัวเปรียบเทียบกับแอสคอร์เบต (ascorbate) บรรจุภายใต้สภาพบรรยากาศปกติ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดสามารถชะลอการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ การสูญเสียสีแดงและการเกิดออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อวัวได้ 3 วัน

Ha *et al.* (2001) ทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันของเนื้อบด โดยใช้สารสกัดจากส้มโอความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 เดิมลงในฟิล์มพอลิเอทิลีนหลายชั้นที่ได้จากกระบวนการโคเอกซ์ทรูชัน (co-extrusion) หรือใช้เป็นสารเคลือบ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบว่าวิธีการใช้สารสกัดจากส้มโอเคลือบไปบนฟิล์มพอลิเอทิลีนสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากระบวนการโคเอกซ์ทรูชัน โดยฟิล์มที่ได้จากกระบวนการโคเอกซ์ทรูชันและเติมสารสกัดจากส้มโอความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของ *Micrococcus flavus* ATCC 10240 ได้เท่านั้น ขณะที่ฟิล์มที่เคลือบด้วยสารสกัดจากส้มโอความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของ *E. coli* IFO 3301, *S. aureus* IFO 3060

และ *B. subtilis* IFO 12113 และฟิล์มที่เติมสารสกัดจากส้มโอจากทั้งกระบวนการโคเอกซ์ทรูชัน หรือใช้เป็นสารเคลือบสามารถลดอัตราการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศและโคลิฟอร์มได้ นอกจากนี้ยังสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

- 1.1 เมทิลเซลลูโลส (Methocel A15 Premium) (Dow Chemical company, USA)
- 1.2 ไฮดรอกซีพروพิลเมทิลเซลลูโลส (Methocel E15 Premium) (Dow Chemical company, USA)
- 1.3 เนื้สุกรบคอนามัยเกรดเอ (บริษัทเบทาโกร ฟู้ดส์ จำกัด, ประเทศไทย)

2. น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

- 2.1 น้ำมันกระดังงา (ลินาลอลร้อยละ 19) (บริษัทเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
- 2.2 น้ำมันกระชาย (จีรานีออิลร้อยละ 15) (บริษัทเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
- 2.3 น้ำมันออริกาน (คาวาครอลร้อยละ 55) (Herbal Remedies, USA)
- 2.4 ลินาลอล (ร้อยละ 80) (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 2.5 จีรานีออิล (ร้อยละ 98) (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 2.6 คาวาครอล (ร้อยละ 97) (Fluka chemie, Switzerland)

3. จุลินทรีย์

- 3.1 *Aeromonas hydrophila* DMST 2798 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.2 *Bacillus cereus* DMST 5040 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.3 *Candida albicans* TISTR 5779 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ประเทศไทย)
- 3.4 *Enterococcus faecalis* TISTR 379 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ประเทศไทย)
- 3.5 *Escherichia coli* DMST 4212 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)

- 3.6 *Escherichia coli* O157:H7 DMST 12743 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.7 *Listeria monocytogenes* DMST 17303 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.8 *Micrococcus luteus* DMST 15503 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.9 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 15501 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.10 *Saccharomyces cerevisiae* DMST 22805 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.11 *Salmonella* Enteritidis DMST 15676 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.12 *Staphylococcus aureus* DMST 8840 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.13 *Vibrio parahaemolyticus* DMST 21243 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 3.14 *Zygosaccharomyces cerevisiae* TISTR 5044 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ประเทศไทย)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 4.1 nutrient broth (NB) (Hi-media, India)
- 4.2 yeast malt broth (YMB) (Hi-media, India)
- 4.3 potato dextrose agar (PDA) (Hi-media, India)
- 4.4 plate count agar (PCA) (Hi-media, India)
- 4.5 baird parker agar (BP) (Difco, USA)
- 4.6 salmonella shigella agar (SS) (Difco, USA)
- 4.7 pseudomonas cetremide agar (CA) (Difco, USA)
- 4.8 eosin methylene blue agar (EMB) (Difco, USA)
- 4.9 rappaport-vassiliadis soya peptone broth (Difco, USA)
- 4.10 listeria enrichment broth (LEB) (Difco, USA)
- 4.11 PALCAM listeria selective agar (Difco, USA)
- 4.12 PALCAM listeria selective supplement (Difco, USA)
- 4.13 ฐึนผง (agar powder, Chili)

5. สารเคมี

- 5.1 ก्लीเซอรอล (J.T. Baker, USA)
- 5.2 พอลิเอทิลีน ไกลคอล น้ำหนักโมเลกุล 400 (PEG-400) (Unilab, England)
- 5.3 ไดเมทิลซัลโฟไซด์ (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Germany)
- 5.4 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka chemie, Switzerland)
- 5.5 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka chemie, Switzerland)
- 5.6 เบต้าแคโรทีน (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 5.7 คลอโรฟอร์ม (FDH laboratory supplies, England)
- 5.8 อะซีโตน (FDH laboratory supplies, England)
- 5.9 กรดลิโนเลอิก (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 5.10 2,2-ไดฟีนิล-1-พิกิริลไฮดราซีน (DPPH) (Fluka chemie, Switzerland)
- 5.11 กรดแลกติก (Ajax Finechem, Australia)
- 5.12 แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (บริษัทคอมเพลกซ์เคมีคอลเอนด์อ์ควิปเมนต์ จำกัด, ประเทศไทย)
- 5.13 พรอพิลีน ไกลคอล (Fluka Chemie, Switzerland)
- 5.14 กรดไทโอบาร์บิทริก (Sigma-Aldrich Chemie, Germany)
- 5.15 บิวทิลไฮดรอกซีอะนิโซล (BHA) (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 5.16 บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT) (Sigma-Aldrich, Singapore)
- 5.17 พอลิเอทิลีน ซอร์บิแทน มอนอพาลมิเตด (Tween 40) (Fluka Chemie, Switzerland)
- 5.18 กรดอะซิติก (Fluka Chemie, Switzerland)
- 5.19 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Fluka Chemie, Switzerland)
- 5.20 โซเดียมไทโอซัลเฟต (Fluka Chemie, Switzerland)
- 5.21 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Ajax Finechem, Australia)

6. อุปกรณ์

- 6.1 ลวดเย็บเย็บ
- 6.2 จานเพาะเชื้อ (Griener, Germany)
- 6.3 ไมโครปิเปต (Biohit, USA)
- 6.4 หลอดเก็บจุลินทรีย์ ขนาด 1 มิลลิลิตร

6.5 แท่งแก้วสามเหลี่ยม

6.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์

6.7 ตัวเจาะหลุมวุ้น (cork boror) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร

6.8 ตัวเจาะหลุมวุ้น (cork boror) เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

6.9 ถาดสำหรับเทฟิล์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร

6.10 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)

6.11 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

6.12 ชุดเครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลอง

7. เครื่องมือ

7.1 หม้อนึ่งความดัน (Huxley model HL-340, Taiwan)

7.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)

7.3 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (Binder model KBF 240, Germany)

7.4 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Memmert, Germany)

7.5 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (Contherm model CAT 180, New Zealand)

7.6 ตู้ปลอดเชื้อ (ISSCO laminar flow model VS-123, USA)

7.7 เครื่องให้ความร้อน (Thermolyne model SD 46920, England)

7.8 เครื่องเหวี่ยงแยก (Becman model GS-15R, England)

7.9 เครื่องผสม (Vortex mixer model CTL 107, Canada)

7.10 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (model AN-10, Japan)

7.11 เครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV spectrophotometer) (JASCO model 7800, USA)

7.12 เครื่องวัดสี (Minolta model CM-310, Japan)

7.13 เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius model BP2110S, Germany)

7.14 เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius model BP110S, Germany)

7.15 เทอร์โมมิเตอร์ 100 องศาเซลเซียส

7.16 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (MACOH, England)

- 7.17 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert model INE-700, Germany)
- 7.18 เตาไฟฟ้าพร้อมเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (hotplate stirrer) (model HTS1003, Japan)
- 7.19 เครื่องตีปนอาหาร (bagmixer) (model 400, France)
- 7.20 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH-meter) (Hanna model HI-8424, USA)
- 7.21 เครื่องไมโครเวฟ (LG model MS-2323L, Japan)

วิธีการ

1. การศึกษาผลกระทบการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยโดยดัดแปลงวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น (Chung *et al.*, 1990) นำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ความเข้มข้นของเซลล์ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค pour plate รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเจาะหลุมด้วยตัวเจาะหลุมวุ้นเบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร หยดน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยซึ่งเจือจางด้วย DMSO ความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร หลุมละ 40 ไมโครลิตร (Hili *et al.*, 1997) ทั้งนี้ใช้ DMSO เป็นตัวควบคุมผลเชิงลบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ จากนั้นประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่เกิดขึ้นตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (Nascimento *et al.*, 2000)

2. การศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ทดสอบวิธีเดียวกันกับข้อ 1. โดยเตรียมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลักษณะลดลงในอัตราร้อยละ 50 เริ่มต้นจาก 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ทดสอบ คือ 0.78 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 และ 0.78 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) หลุมละ 40 ไมโครลิตร บันทึกค่า MICs ที่เกิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่เกิดขึ้นตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (Nascimento *et al.*,

2000) โดยค่า MICs จะนำมาพิจารณาสำหรับการกำหนดความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในการผลิตฟิล์มต้านจุลินทรีย์

3. การศึกษากิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

3.1 วิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟฟวชัน

วิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟฟวชัน (Dorman *et al.*, 2000) นำสารละลายเบต้าแคโรทีนเทลงในจานเพาะเชื้อ รอให้วุ้นแข็งตัวเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเจาะหลุมด้วยตัวเจาะหลุมวุ้นเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร หยคน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ปริมาณ 15 ไมโครลิตรลงในหลุมวุ้น อบในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนสีพื้นหลังของวุ้นที่เป็นสีส้มในตอนแรกถูกฟอกจางลง จากนั้นประเมินกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันโดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองโดยรอบหลุมวุ้น รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร การปรากฏสีเหลือง หรือยังคงสีส้มโดยรอบหลุมวุ้นบรรจุสารทดสอบแสดงถึงคุณสมบัติการเป็นสารต้านปฏิริยาออกซิเดชันของสารทดสอบ

3.2 วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง

วิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง (Phoopuritham *et al.*, 2006) เตรียมสารละลายผสมระหว่างเบต้าแคโรทีน กรดลิโนเลอิก ทวิน-40 และน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการทดสอบลงในหลอดทดลอง ควบคุมการเกิดปฏิริยาด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ณ เวลาเริ่มต้นและเวลา 180 นาที รายงานผลเป็นร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชัน (antioxidant activity; AA)

คำนวณร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารทดสอบจากการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนจากสูตร

$$\%AA = \frac{Ae_{(180)} - Ac_{(180)}}{Ac_{(0)} - Ac_{(180)}} \times 100$$

เมื่อ

$Ae_{(180)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบ (extract) ที่เวลา 180 นาที

$Ac_{(0)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (control) ที่เวลา 0 นาที

$Ac_{(180)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่เวลา 180 นาที

3.3 วิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

วิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Phoopuritham *et al.*, 2006) เตรียมสารละลาย DPPH และน้ำมันหอมระเหยหรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการทดสอบลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน ตั้งให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร รายงานผลเป็นร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ (%scavenging)

คำนวณร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ จากสูตร

$$\%scavenging = 1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}} \times 100$$

4. การศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟฟิวชันและวิธีเบต้าแคโรทีนบลิชชิง ดังข้อ 3.1 และ 3.2 โดยเตรียมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลักษณะลดลงในอัตราร้อยละ 50 เริ่มต้นจาก 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ทดสอบ คือ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) การแปลผลทดสอบบันทึกค่า MOBICs ตามวิธีดังกล่าวข้างต้น

5. การเตรียมฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

เตรียมฟิล์มโดยดัดแปลงวิธีของ Franklin *et al.* (2004) โดยละลายเมทิลเซลล์โลส 7 กรัม และไฮดรอกซีพروพิลเมทิลเซลล์โลส 3 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมเอทานอล 200 มิลลิลิตร พอลิเอทิลีนไกลคอล-400 ปริมาณ 6 มิลลิลิตรและน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) จากนั้นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์เป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ฟองอากาศแตกตัว เทสารละลายฟิล์มที่ได้ลงบนถาด ตั้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกฟิล์มออก จากนั้นเก็บในตู้ควบคุมสภาพที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 3-5 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

6. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

6.1 วิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้น

ทดสอบฟิล์มตามวิธีการของ Murray *et al.* (1995) นำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ความเข้มข้นของเซลล์ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค pour plate รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวางแผ่นฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) เป็นเวลา 2 นาที โดยตัดเป็นแผ่น

วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ จากนั้นประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่เกิดขึ้นตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (Nascimento *et al.*, 2000)

6.2 วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวัน

ทดสอบฟิล์มตามวิธีการของ Sanla-Ead *et al.* (2006) เทอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 15 มิลลิลิตร รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวเป็นเวลา 30 นาที โดยนำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ความเข้มข้นของเซลล์ 50 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค spread plate วางแผ่นฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ใต้ฝาของจานเพาะเชื้อและนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาประกบกับตัวจานเพาะเชื้อและปิดผนึกโดยรอบด้วยพาราฟิล์ม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ ประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญเปรียบเทียบกับตัวควบคุม รายงานผลเป็นดัชนีการต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial index)

คำนวณดัชนีการต้านจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบเมื่อทดสอบด้วยฟิล์มควบคุมและฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ จากสูตร

$$\text{antimicrobial index} = \frac{\varnothing_C - \varnothing_M}{\varnothing_C}$$

เมื่อ

$\varnothing_C$ = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยฟิล์มควบคุม

$\varnothing_M$ = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

6.3 วิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

ทดสอบฟิล์มตามวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณต่าง ๆ ในจานเพาะเชื้อ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ จำนวน 5 ตำแหน่ง มาตำแหน่งละ 1 โคโลนี ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปิดตัวอย่างที่ผ่านการบ่มแล้ว ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงที่ละ 10 เท่า คูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค spread plate จากนั้นประเมินกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์โดยพิจารณาจากปริมาณจุลินทรีย์ ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) และรายงานผลเป็นร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์ (% reduction) เมื่อทดสอบด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

7. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชัน

7.1 ทดสอบฟิล์มด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิชั่น โดยตัดฟิล์มเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำมาวางบนสารละลายเบต้าแคโรทีน จากนั้นทำการทดสอบตามวิธีดังกล่าวข้างต้น (หัวข้อ 3.1) บันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองโดยรอบฟิล์ม รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร

7.2 ทดสอบฟิล์มด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยตัดฟิล์มให้มีสัดส่วนของพื้นที่ฟิล์มต่อสารละลายเป็น 1 ตารางเซนติเมตร ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการทดสอบตามวิธีดังกล่าวข้างต้น (หัวข้อ 3.2 และ 3.3)

8. การศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด

ศึกษาการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์เดิมควาครอร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) ที่เตรียมได้จากข้อ 5 นำมาห่อเนื้อสุกรบด จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 และที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 เพื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และประสาทสัมผัส

8.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

นำตัวอย่างเนื้อสุกรบดที่สุ่มมาในระหว่างการเก็บรักษา วิเคราะห์

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด
- จำนวนยีสต์และรา
- จำนวน *Staphylococcus aureus*
- จำนวน *Escherichia coli*
- จำนวน *Pseudomonas* sp.
- จำนวน *Listeria monocytogenes*
- จำนวน *Salmonella* sp.

8.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

นำเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ และเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) นำมาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่าง (triangle test) เพื่อต้องการทดสอบว่าผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างของเนื้อสุกรบดซึ่งห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เป็นตัวควบคุม กับฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ได้หรือไม่ โดยใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 15 คน

9. การศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด

ศึกษาการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ เซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาครอลร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) และเติมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งใช้เป็นสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงที่เตรียมได้จากข้อ 5 นำมาห่อเนื้อสุกรบด จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 และที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 เพื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมี

9.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ

ศึกษาลักษณะปรากฏทางด้านสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ วัดค่าสีที่บริเวณต่าง ๆ ของเนื้อสุกรบด โดยการแผ่เนื้อสุกรบดให้มีขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จากนั้นวัดค่าสี ณ ตำแหน่งต่าง ๆ จำนวน 10 ตำแหน่งทั้ง 2 ด้านของเนื้อสุกรบดด้วยเครื่องวัดสีในระบบ Hunter Lab

9.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี

9.2.1 การวิเคราะห์ค่าพีเอช

ชั่งเนื้อสุกรบด 10 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter)

9.2.2 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value; POV)

วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ตามวิธีการของ AOAC International (1999)

9.2.3 การวิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทริก (thiobarbituric acid; TBA)

วิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทริกของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ตามวิธีการของ Shibata and Kinumaki (1979)

10. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 15.0 for Windows

11. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

12. ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุดเดือนธันวาคม 2551

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

จากการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและน้ำมันออริกานและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ ลินาลอล จีรานีออลและควาโครอล ณ ความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 6 ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น โดยทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวก 5 ชนิด คือ *B. cereus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *M. luteus* และ *S. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ 6 ชนิด คือ *A. hydrophila*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa*, *S. Enteritidis* และ *V. parahaemolyticus* และยีสต์ 3 ชนิด คือ *C. albicans*, *S. cerevisiae* และ *Z. rouxii* โดยแสดงบริเวณด้านขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 7.04 ถึง 18.10 มิลลิเมตร

น้ำมันกระดังงาไม่แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ทุกชนิดที่นำมาศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับ Maruzzella and Lichtenstein (1956) พบว่าเมื่อทดสอบการต้านจุลินทรีย์จำนวน 10 ชนิด ด้วยวิธีการแพร่ของสารทดสอบจากกระดาศับกลดลงสู่อาหารแข็ง น้ำมันกระดังงามีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์น้อยมาก โดยสามารถต้านการเจริญของ *Bacillus mesentericus* และ *B. subtilis* ได้เท่านั้น เช่นเดียวกับ Maudsley and Kerr (1999) พบว่าน้ำมันกระดังงามีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์น้อยมาก หรือไม่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้เลยและสามารถทำให้เชื้อ *P. aeruginosa* และ *C. albicans* สามารถรอดชีวิตได้แต่ไม่พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ นอกจากนั้นน้ำมันกระดังงายังไม่สามารถต้านการเจริญของเชื้อรา (Delespaul *et al.*, 2000) แต่พบว่าสารสกัดกระดังงาในเมทิลีนคลอไรด์ (methylene chloride) และเมทานอล (methanol) มีความสามารถในการทำลายเชื้ออะมีบาได้ (Chu *et al.*, 1998)

ตารางที่ 6 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	น้ำมันกระดังงา	น้ำมันกระชาย	น้ำมันออร์กานโน	ลินาลอล	จีรานีออล	คาวาครอล
แบคทีเรียแกรมบวก						
<i>B. cereus</i>	-	7.04±0.01 ^{aA}	11.52±0.02 ^{gC}	-	-	10.98±0.01 ^{dB}
<i>E. faecalis</i>	-	8.18±0.00 ^{cB}	7.73±0.01 ^{aA}	-	-	10.03±0.04 ^{cC}
<i>L. monocytogenes</i>	-	10.33±0.00 ^{cB}	-	-	-	8.53±0.01 ^{aA}
<i>M. luteus</i>	-	-	10.07±0.02 ^{cA}	-	-	11.87±0.01 ^{fB}
<i>S. aureus</i>	-	-	11.24±0.01 ^{fB}	-	-	11.04±0.01 ^{dA}
แบคทีเรียแกรมลบ						
<i>A. hydrophila</i>	-	7.11±0.01 ^{aA}	-	-	-	9.96±0.01 ^{bB}
<i>E. coli</i>	-	-	10.39±0.01 ^{dA}	-	-	13.05±0.04 ^{gB}
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	11.34±0.02 ^c
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	12.77±0.00 ^{gB}	-	-	11.08±0.01 ^{dA}
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	8.43±0.00 ^{dB}	15.08±0.08 ^{bC}	7.24±0.06 ^A	-	16.63±0.01 ^{iD}

ตารางที่ 6 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	น้ำมันกระดังงา	น้ำมันกระชาย	น้ำมันออร์กานโน	ลินาลอล	จีรานีออล	คาวาครอล
ยีสต์						
<i>C. albicans</i>	-	-	9.43±0.01 ^{ba}	-	11.12±0.07 ^B	15.34±0.01 ^{hC}
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Z. rouxii</i>	-	7.48±0.05 ^{ba}	10.51±0.04 ^{cb}	-	-	18.10±0.04 ^{ic}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{a-j} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{A-D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาในดินาลอดซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในน้ำมันกระดังงา พบว่ามีความสามารถในการต้านการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้เท่านั้น โดยแสดงบริเวณต้านขนาด 7.24 มิลลิเมตร ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยหลายแหล่งที่รวบรวมโดย Bickers *et al.* (2003) พบว่าดินาลอดต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้น้อยมากหรือไม่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้เลยเช่นเดียวกับน้ำมันกระดังงาและจากการทดสอบในเชื้อ *B. subtilis* พบว่าเมื่อใช้ดินาลอดที่ความเข้มข้น 17 ไมโครกรัมไม่สามารถต้านการเจริญได้ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 10,000 ไมโครกรัมแสดงผลในการต้าน แสดงว่าการเพิ่มความเข้มข้นมีผลทำให้การต้านการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ขณะที่จากการศึกษาของ Wan *et al.* (1998) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ 35 ชนิด ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และเชื้อรา โดยใช้ น้ำมันโหระพาซึ่งมีดินาลอดและเมทิลชาวิคอล (methyl chavicol) เป็นสารสำคัญหลัก ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น ณ ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตร พบว่าดินาลอดและเมทิลชาวิคอลมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบ ยกเว้น *Clostridium sporogenes*, *Flavimonas oryzae* และ *Pseudomonas* 3 สายพันธุ์

น้ำมันกระชายแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. cereus*, *E. faecalis* และ *L. monocytogenes* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 7.04-10.33 มิลลิเมตร แบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือ *A. hydrophilia* และ *V. parahaemolyticus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.11 และ 8.43 มิลลิเมตรตามลำดับ และยีสต์เพียงชนิดเดียว คือ *Z. rouxii* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 7.48 มิลลิเมตร โดยแสดงบริเวณต้าน *L. monocytogenes* มากที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.33 มิลลิเมตร ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับเอกรินทร์ และคณะ (2549) ทดสอบความสามารถของสารสกัดจากขิง (*Z. officinale* Rosc) ข่า (*A. galanga* Stuntz) ขมิ้น (*C. longa* Linn.) และกระชาย (*B. pandurata* Schltr) ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียก่อโรค แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและเชื้อราด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง พบว่าสารสกัดกระชายมีความสามารถในการต้าน *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดขิง ขมิ้น และข่า ค่า MICs อยู่ระหว่างร้อยละ 0.2-0.4 (โดยปริมาตร) ซึ่งสารสกัดกระชายมีความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรคชนิดแกรมบวกมากที่สุด ในส่วนของเชื้อราซึ่งประกอบด้วย *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus* และ *Fusarium oxysporum* พบว่าสารสกัดกระชายและขมิ้นมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราได้ดี โดยมีค่า MICs อยู่ในช่วงร้อยละ 8-10 และมากกว่า หรือเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ นอกจากนั้นสารสกัดจากข่า ขมิ้น และกระชายแสดงความสามารถในการทำลายแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 ในอาหารเหลว TSB ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8, 9 และ 10 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากกระชายที่ความ

เข้มข้นร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ไม่ปรากฏเซลล์ของแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 ภายในเวลา 9 ชั่วโมงหลังจากการทดสอบ

สำหรับจิรานีโอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันกระชายแสดงการต้านจุลินทรีย์ได้เฉพาะ *C. albicans* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.48 มิลลิเมตร ดังรายงานของ Pattnaik *et al.* (1997) กล่าวว่าจิรานีโอลมีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อราและยีสต์ประเภท *Candida* sp., *Cryptococcus* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. และ *Helminthosporium* sp. ได้ดีและฤทธิ์บางส่วนมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกชนิดกลมและชนิดท่อนได้ดีเช่นกัน นอกจากนี้จิรานีโอลยังมีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในน้ำผลไม้ได้อีกด้วย (Friedman *et al.*, 2004)

การทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ในน้ำมันออริกาโน พบว่าแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด คือ *B. cereus*, *E. faecalis*, *M. luteus* และ *S. aureus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 7.73-11.52 มิลลิเมตร แบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิด คือ *E. coli*, *S. Enteritidis* และ *V. parahaemolyticus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 10.39-15.08 มิลลิเมตรและยีสต์ 2 ชนิด คือ *C. albicans* และ *Z. rouxii* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.43 และ 10.51 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยน้ำมันออริกาโนแสดงบริเวณต้าน *V. parahaemolyticus* มากที่สุดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.08 มิลลิเมตร ขณะที่ควาครอลสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ทุกชนิด แต่ไม่สามารถต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* และยีสต์ *S. cerevisiae* ผลที่ได้สอดคล้องกับ Sivropoulou *et al.* (1996) ซึ่งทดสอบความสามารถของน้ำมันออริกาโน 3 สายพันธุ์ คือ *O. vulgare* ssp. *hirtum*, *Origanum dictamnus* และน้ำมันออริกาโนที่จำหน่ายทางการค้า พบว่าสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ 8 ชนิด คือ *E. coli* (NCIMB 8879 NCIMB 12210), *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* (NCIMB 9518 NCIMB 8625), *Rhizobium leguminosarum* และ *B. subtilis* โดยสารสำคัญที่พบในน้ำมันออริกาโน คือ ควาครอลและไทมอล ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียสูงที่สุด เช่นเดียวกับ Alianni *et al.* (2001) ศึกษาความสามารถของน้ำมันออริกาโน 2 สายพันธุ์ คือ *Origanum scabrum* และ *Origanum microphyllum* พบว่าสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ 6 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *Salmonella* *Epidermidis*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* และเชื้อราและยีสต์ 3 ชนิด ได้แก่ *C. albicans*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis glabrata* โดยสารสำคัญที่พบในน้ำมันออริกาโน คือ ควาครอลเช่นกัน

จากผลการทดสอบการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยสรุปได้ว่า น้ำมันออริกานแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวกเกือบทุกชนิดที่นำมาศึกษา ยกเว้น *L. monocytogenes* ขณะที่ควาครอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันออริกานแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ทุกชนิด สำหรับน้ำมันกระดังงา ลิ้นจี่และจี่รานีโอลไม่แสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากนั้นควาครอลยังแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมลบเกือบทุกชนิด ยกเว้น *P. aeruginosa* สำหรับลิ้นจี่แสดงการต้าน *V. parahaemolyticus* ได้เพียงชนิดเดียวและน้ำมันกระดังงาและจี่รานีโอลไม่แสดงการต้านแบคทีเรียแกรมลบ การต้านการเจริญของยีสต์พบว่าน้ำมันออริกานและควาครอลแสดงการต้านยีสต์ได้ 2 ชนิดจาก 3 ชนิดแต่ควาครอลแสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้านมากกว่า ขณะที่น้ำมันกระดังงาและลิ้นจี่ซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันกระดังงาไม่แสดงการต้านยีสต์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าควาครอลสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้มากกว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาน ลิ้นจี่และจี่รานีโอล

ดังที่ควาครอลสามารถแสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ได้มากกว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ นั้น เนื่องจากควาครอลเป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญที่มักพบในองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยหลาย ๆ ชนิดและมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ เชื้อรา ปรสิตร ไวรัส ใช้เป็นยาฆ่าแมลงและมีคุณสมบัติในการต้านสารพิษบางชนิดได้อีกด้วย (Ahn *et al.*, 1998; Ultee and Smid, 2001; Friedman *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2003; Chami *et al.*, 2005; Panella *et al.*, 2005; Tempieri *et al.*, 2005) สารประกอบฟีนอลิกจะมีกลไก คือ เข้าทำลายที่เซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ โดยทำให้โครงสร้าง หน้าที่ของเซลล์ กิจกรรมของเอนไซม์ หรือยีนส์ซึ่งจะทำให้ระบบพันธุศาสตร์ของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป เกิดการไหลออกของโพแทสเซียมไอออน (K^+) หรือองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ สูญเสียความสามารถในการซึมผ่านของสารต่าง ๆ จึงทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Holley and Patel, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Veldhuizen *et al.* (2006) ศึกษาการเข้าทำลายของควาครอล พบว่าควาครอลจะเข้าทำลายที่เยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียซึ่งมีผลต่อการซึมผ่านของสารต่าง ๆ ผ่านเซลล์ เกิดการเคลื่อนที่เข้าออกของโปรตอนและไอออนซึ่งมีขนาดใหญ่ผิดปกติได้ ค่าพีเอชเกิดการเปลี่ยนแปลง ค่าพลังงาน ATP ลดลงและทำให้เซลล์แบคทีเรียตายในที่สุดเช่นกัน นอกจากนั้นการที่ควาครอลมีหมู่ไฮดรอกซิลบนวงฟีนอลิกส่งผลให้กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของควาครอลเพิ่มมากขึ้นด้วย

Ultee *et al.* (2002) ศึกษาการเข้าทำลายเซลล์จุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย โดยการส่องด้วยกล้องฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) พบว่าองค์ประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจะละลายที่เซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการบวมของเซลล์และหน้าที่ของเซลล์ในการป้องกันการเข้าออกของสารต่าง ๆ ลดลง เช่น เกิดการไหลออกของแร่ธาตุจำเป็น ธาตุสังกะสี หรือธาตุเหล็ก ซึ่งจุลินทรีย์ใช้ในการเจริญ ค่าพีเอชภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไปและทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด

จากการทดสอบ พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยให้ผลในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนมากกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก กล่าวคือ ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเพปติโดไกลแคนเพียงร้อยละ 5-20 องค์ประกอบที่เหลือคือ ลิโปโปรตีน ลิพอไลแซ็กคาไรด์และกรดไคอะมิโนพิมิไล โดยมีจำนวนเพปไทด์บริดจ์น้อยกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก ในขณะที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีองค์ประกอบของเพปติโดไกลแคนสูงถึงร้อยละ 90 แต่มีกรดอะมิโนน้อยชนิดกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ที่บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่แบคทีเรียแกรมลบมีเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ที่มีปริมาณไขมันสูงถึงร้อยละ 11-22 (โดยน้ำหนักแห้ง) ผนังเซลล์ล้อมรอบเพปติโดไกลแคนไว้ ทำหน้าที่เป็นชั้นกั้นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ไม่ให้เคลื่อนย้ายออกจากเซลล์และป้องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้ง่าย ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมากกว่าทำให้ส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียแกรมบวกจึงมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Jay *et al.*, 2005) และสนับสนุนผลการทดสอบในกรณีของ *P. aeruginosa* ซึ่งสามารถทนต่อสารต้านจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ทดสอบ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Pasqua *et al.* (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันที่เซลล์เมมเบรนจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์ เช่น ไทมอล คาวาคอรอล ลิโมนีน ซินนามาลดีไฮด์ และยูจีนอล พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันที่เซลล์เมมเบรนของ *P. aeruginosa* ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงทำให้ *P. aeruginosa* สามารถต้านทานสูงต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ อย่างไรก็ตามพบว่าสารที่สามารถต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* ได้ คือ พูลิโกน (pulegone) ไอโซพูลิโกน (isopulegone) และไพเพอริโทน (piperitone) รวมถึงน้ำมันสะระแหน่และน้ำมันนิพิเทลลา (nepitella) (Panizzi *et al.*, 1993; Sivropoulou *et al.*, 1995)

สารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาเป็นสารที่สามารถระเหยได้และมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ ทำให้การควบคุมอัตราการระเหยและการละลายของสารเป็นไปได้ยาก ซึ่งทำให้ผลการทดลองที่คลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้วิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้นในการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์เพื่อแก้ปัญหาการระเหยของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย โดยนำ DMSO มาใช้เป็นตัวทำละลายเพื่อเพิ่มการละลายของสารเหล่านี้ในการแพร่ผ่านวุ้น ตามวิธีการศึกษาของ Hili *et al.* (1997) ซึ่งความเข้มข้นของ DMSO ที่ใช้ในการทดลองกำหนดให้มีความเข้มข้นต่ำกว่า 30 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เนื่องจากความเข้มข้นดังกล่าวไม่ส่งผลกระทบต่อเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษา นอกจากนั้นได้มีรายงานอื่น ๆ ที่ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมและสามารถใช้ในการทดสอบน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการแพร่ของสารทดสอบจากกระดาษซับกลม หรือหลุมเจาะลงสู่อาหารแข็งได้ เช่น เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2.5-6 (Walsh *et al.*, 2003) ทวิน-20 หรือ ทวิน-80 ซอร์บิแทน โมโนลอเรต (sorbitan monolaurate) (Mann and Markham, 1998) เป็นต้น

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมากมาย อย่างไรก็ตามทำให้การเปรียบเทียบผลการศึกษายาก เนื่องจากความหลากหลายของปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความผันแปรขององค์ประกอบ หรือปริมาณของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ซึ่งอาจจะแตกต่างกันไปเนื่องจากภาวะในการสกัดสาร ภาวะในการเก็บเกี่ยวพืช เช่น ฤดูกาล หรือความแก่อ่อนของพืช ดังรายงานของ Packiyasothy and Kyle (2002) พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนให้ผลในการต้านจุลินทรีย์ได้มากกว่าการสกัดด้วยไอน้ำซึ่งเป็นวิธีที่นิยมในการสกัดน้ำมันหอมระเหยในอุตสาหกรรม นอกจากนั้นอาจเกี่ยวข้องกับลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของสารต้านจุลินทรีย์ที่ทดสอบ เช่น ความไม่ชอบน้ำ การระเหยและการเข้ากันได้ของสารต้านจุลินทรีย์กับระบบทดสอบ ปริมาณจุลินทรีย์ ชนิด หรือสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ทดสอบ เป็นต้น ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาวิธีทดสอบให้เป็นมาตรฐาน เพื่อสามารถระบุกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยและสามารถเปรียบเทียบข้อมูลที่เกิดจากการศึกษาด้วยวิธีทดสอบต่าง ๆ กันได้ (Gill *et al.*, 2002; Friedman *et al.*, 2003)

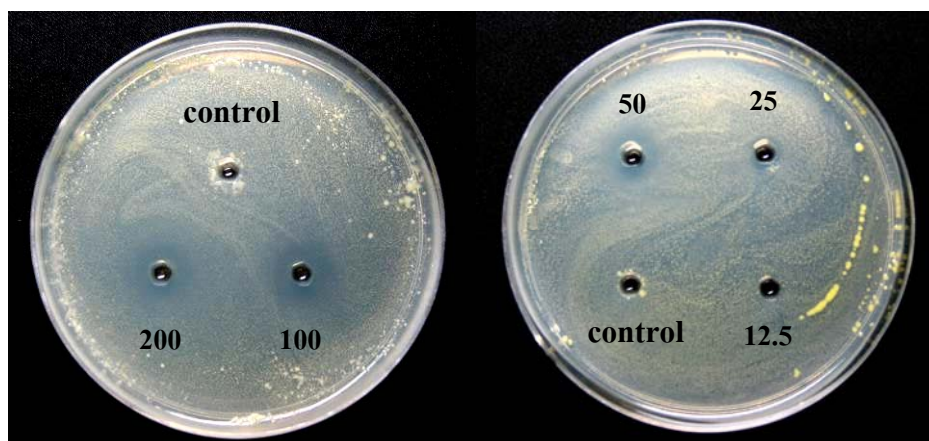
2. การศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ความเข้มข้นต่ำที่สุด หรือค่า MICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ วัดได้จากความเข้มข้นต่ำที่สุดของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถแสดงการต้านจุลินทรีย์ทดสอบ โดยแสดงบริเวณด้านขนาด 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (หลุมเจาะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ผลการทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานอลินาลอล จีรานีโอลและควาครอลแสดงดังตารางที่ 7 โดยน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด คือ น้ำมันออริกานอลินาลอล รองลงมา คือ น้ำมันกระชายและน้ำมันกระดังงาตามลำดับ โดยมีค่า MICs เท่ากับ 12.5, 25 และมากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด คือ ควาครอล โดยมีค่า MICs เท่ากับ 12.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับน้ำมันออริกานอลินาลอล สำหรับจีรานีโอลและลินาลอลมีค่า MICs เท่ากับ 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยขนาดของบริเวณด้านจะมีขนาดใหญ่มากขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มมากขึ้น

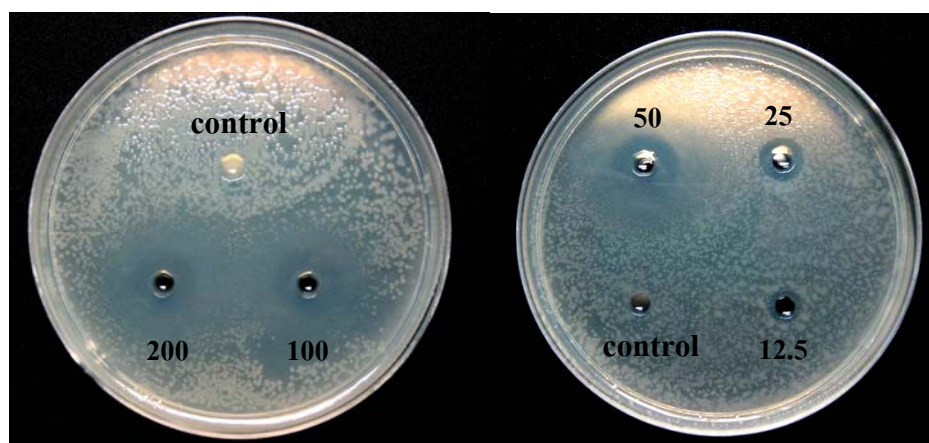
จากตารางที่ 7 พบว่าค่า MICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่นำมาทดสอบมีค่าอยู่ระหว่าง 12.5 ถึงมากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยควาครอลมีค่า MICs เท่ากับ 12.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรในการต้านการเจริญของ *V. parahaemolyticus* และ *E. coli* สำหรับน้ำมันออริกานอลินาลอลมีค่า MICs เท่ากับ 12.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรเช่นกัน โดยสามารถต้านการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ขณะที่น้ำมันกระดังงามีค่า MICs เท่ากับมากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองในขั้นต้นที่พบว่าควาครอลมีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุด โดยตัวอย่างภาพผลการทดสอบการหาค่า MICs ของควาครอลที่แสดงบริเวณด้าน ณ ช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบ เมื่อทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและยีสต์แสดงดังภาพที่ 10

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

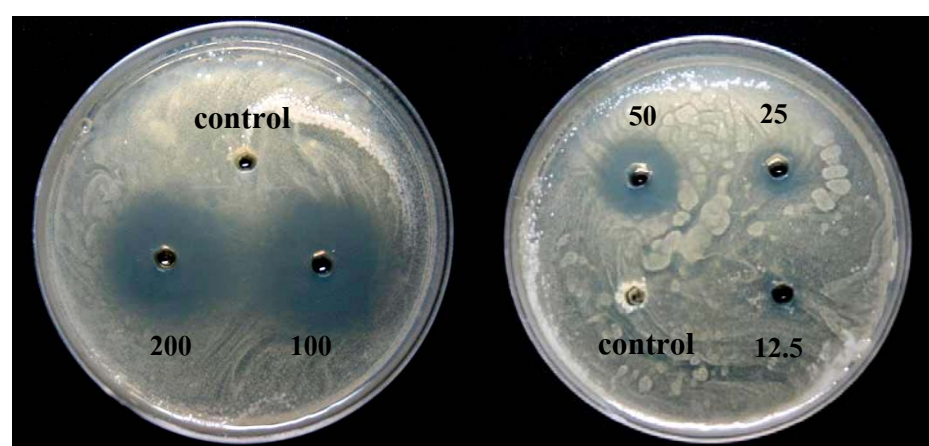
จุลินทรีย์	ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์					
	น้ำมันกระดังงา	น้ำมันกระชาย	น้ำมันออริกาโน	ลินาลอล	จีรานีออล	คาวาครอล
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>						
<i>B. cereus</i>	>200	50	25	200	>200	50
<i>E. faecalis</i>	>200	50	50	>200	>200	25
<i>L. monocytogenes</i>	>200	25	100	200	200	50
<i>M. luteus</i>	>200	100	25	>200	>200	50
<i>S. aureus</i>	>200	100	50	>200	>200	25
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>						
<i>A. hydrophila</i>	>200	50	100	>200	>200	50
<i>E. coli</i>	>200	>200	50	200	200	12.5
<i>E. coli</i> O157H7	>200	>200	100	>200	>200	50
<i>P. aeruginosa</i>	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<i>S. Enteritidis</i>	>200	>200	50	>200	>200	50
<i>V. parahaemolyticus</i>	>200	25	12.5	50	100	12.5
<u>ยีสต์</u>						
<i>C. albicans</i>	>200	100	50	100	50	25
<i>S. cerevisiae</i>	>200	>200	>200	>200	200	>200
<i>Z. rouxii</i>	>200	50	25	100	100	25



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 10 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของควาโครตต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) *Micrococcus luteus* (ข) *Escherichia coli* (ค) *Zygosaccharomyces rouxii*

รายงานการวิจัยอื่น ๆ ศึกษาค่า MICs ของน้ำมันออริกานอลและคาวาครอล ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ที่สูงและสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ เช่น Souza *et al.* (2006) ศึกษาความสามารถของน้ำมันออริกานอลและค่า MICs ต่อการต้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *A. hydrophila*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. choleraesuis*, *S. enterica*, *S. marcescens*, *S. flexneri*, *S. sonnei* และ *Y. enterocolitica* ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น พบว่ามีค่า MICs อยู่ระหว่าง 20-40 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดย *L. monocytogenes* และ *S. choleraesuis* มีค่า MICs สูงที่สุดเท่ากับ 80 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อการถูกต้านโดยน้ำมันออริกานอลได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบและมีค่า MICs ต่ำที่สุดเท่ากับ 20 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร สำหรับคาวาครอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันออริกานอล Arfa *et al.* (2006) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของคาวาครอล ยูจีนอล เมนทอล อนุพันธ์ของคาวาครอล 2 ชนิด ได้แก่ คาวาครอล เมทิล อีเทอร์ (carvacrol methyl ether) และคาวาคริล อะซิเตท (carvacryl acetate) ต่อการต้านแบคทีเรีย เช่น *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *S. aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *B. subtilis*, ยีสต์ *S. cerevisiae* และเชื้อรา *B. cinerea* ทดสอบด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว พบว่ามีค่า MICs อยู่ระหว่าง 0.25 ถึงมากกว่า 3 กรัมต่อลิตร โดยคาวาครอลมีค่า MICs ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตรต่อการต้านจุลินทรีย์ *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* และยีสต์ *S. cerevisiae*

น้ำมันกระชายแสดงประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยมีค่า MICs รองลงมาจากน้ำมันออริกานอล สอดคล้องกับการศึกษาของเอกรินทร์ และคณะ (2549) ทดสอบความสามารถของสารสกัดจากขิง (*Z. officinale* Rosc) ข่า (*A. galanga* Stuntz) ขมิ้น (*C. longa* Linn.) และกระชาย (*B. pandurata* Schltr) ต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียก่อโรค แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและเชื้อรา ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง พบว่าสารสกัดกระชายมีความสามารถในการต้าน *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดขิง ขมิ้นและข่า มีค่า MICs อยู่ระหว่างร้อยละ 0.2-0.4 (โดยปริมาตร) ซึ่งสารสกัดกระชายมีความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรคชนิดแกรมบวกมากที่สุด ในส่วนของเชื้อราซึ่งประกอบด้วย *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus* และ *Fusarium oxysporum* พบว่าสารสกัดกระชายมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราได้ดี โดยมีค่า MICs อยู่ในช่วงร้อยละ 8-10 เช่นเดียวกับ Thongson *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ ได้แก่ ขิง กระชายและขมิ้น โดยใช้วิธีการสกัดแบบคั่งเดิมและการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เช่น เฮกเซน ไอโซโพรพานอลร่วมกับอัลตราซาวด์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง

พบว่าการศึกษาด้วยเฮกเซนร่วมกับไอโซโพรพานอลและไมโซอัลตราซาวด์สามารถด้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MICs อยู่ระหว่างร้อยละ 0.04-0.05 (โดยปริมาตร) ขณะที่การศึกษานิคของจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย พบว่าจีรานีโอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันกระชายมีความสามารถในการด้านการเจริญของ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด 0.08, 0.5, 0.5 และ 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Burt, 2004; Bakkali *et al.*, 2007)

จากการศึกษาค่า MICs ในน้ำมันกระดังงา ในการทดสอบพบว่าน้ำมันกระดังงาและลินาลอลซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันกระดังงามีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์น้อยที่สุด ขณะที่จากการศึกษาของ Hammer *et al.* (1999) ศึกษาจุลินทรีย์ 10 ชนิดและความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ร้อยละปริมาตร โดยปริมาตร) ของน้ำมันกระดังงา พบว่าน้ำมันกระดังงามีความสามารถในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ *A. sobria*, *A. baumannii*, *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis* และ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.0, 1.0, 2.0 และ 2.0 (ปริมาตรโดยปริมาตร) ตามลำดับ ขณะที่ *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. Typhimurium* และ *S. marcescens* มีระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดมากกว่าร้อยละ 2.0 (ปริมาตรโดยปริมาตร) เช่นเดียวกับ Wan *et al.* (1998) ศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และค่า MICs ของลินาลอลและเมทิลซาวีคอด พบว่าลินาลอลมีความสามารถในการต้าน *A. hydrophila* และ *P. fluorescens* น้อยกว่าเมทิลซาวีคอด โดยมีค่า MICs มากกว่าร้อยละ 1 และมากกว่าร้อยละ 2 (ปริมาตรโดยปริมาตร) ตามลำดับ ซึ่งการที่ค่า MICs ในแต่ละงานวิจัยมีความแตกต่างกันแม้ทดสอบในจุลินทรีย์ หรือน้ำมันหอมระเหยชนิดเดียวกัน อาจเนื่องมาจากหลาย ๆ ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น วิธีการที่ใช้ในการทดสอบ ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ เวลาที่ใช้ในการบ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ แหล่งกำเนิด หรือวิธีที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้นของสารทดสอบ หรือปริมาณร้อยละของสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดสอบ เป็นต้น (Burt, 2004)

โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียแกรมบวกจะมีความไวต่อการถูกต้านโดยสารต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ อย่างไรก็ตามจากค่า MICs ที่ได้พบว่าน้ำมันออริกาโน คาวาครอล ลินาลอลและจีรานีโอลมีค่า MICs ในการด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบต่ำกว่าแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งขัดแย้งกับคำที่กล่าวไว้ข้างต้น ในกรณีนี้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวจัดอยู่ในประเภทสารประกอบไม่มีขั้ว ดังนั้นอาจทำให้สารดังกล่าว

สามารถละลายได้ดีในชั้นไขมันของผนังเซลล์จุลินทรีย์ จึงสามารถแพร่ผ่านและเข้าไปทำลายผนังเซลล์จุลินทรีย์ หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ทำให้สามารถด้านการเจริญ หรือทำลายจุลินทรีย์ได้

การหาค่า MICs มีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการพิจารณาและกำหนดความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในการผลิตฟิล์มต้านจุลินทรีย์ โดยทั่วไปสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในวัสดุทางการบรรจุจะมีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.1 ถึง 5 (โดยน้ำหนัก) นอกจากนี้สารต้านจุลินทรีย์ที่มีความเสถียรเชิงอุณหภูมิสามารถนำมาใช้ในการผลิตวัสดุทางการบรรจุต้านจุลินทรีย์ โดยกระบวนการผลิตต่าง ๆ เช่น การเป่าขึ้นรูป การอัดรีด หรือการฉีดขึ้นรูป เป็นต้น (Appendini and Hotchkiss, 2002)

จากการทดลองเมื่อพิจารณาค่า MICs ของน้ำมันออริกาโนและคาวาครอล พบว่าโดยส่วนใหญ่แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ได้ดี แสดงค่า MICs อยู่ระหว่าง 12.5-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรต่อการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นำมาศึกษา คิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 1.25-20 ดังนั้นในการผลิตฟิล์มต้านจุลินทรีย์จึงเติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวาครอลในช่วงความเข้มข้นที่ได้จากการหาค่า MICs หรือ ณ ความเข้มข้นที่มากกว่าค่า MICs ได้ แต่การกำหนดความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ควรคำนึงสมบัติของสารต้านจุลินทรีย์ด้วย เช่น หากผลิตฟิล์มเพื่อการบรรจุอาหาร ความเข้มข้นของสารที่ใช้จะต้องมีปริมาณที่ไม่ส่งผลต่อกลิ่นรส หรือรสชาติของอาหาร หรือไม่ส่งผลต่อสมบัติของฟิล์ม เป็นต้น นอกจากนั้นยังต้องคำนึงถึงกระบวนการที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม เช่น การใช้อุณหภูมิและความดันสูง รวมถึงการขนส่ง การจัดจำหน่ายและการเก็บรักษา เนื่องจากอาจส่งผลต่อปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการผลิตฟิล์มต้านจุลินทรีย์จึงจำเป็นต้องรักษาระดับความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ให้เพียงพอต่อการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้การหาค่า MICs ยังมีประโยชน์ต่อการคัดเลือกสารต้านจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการต้านจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสีย หรือก่อให้เกิดโรคในอาหารชนิดนั้น ๆ ได้ จากการศึกษาพบว่าน้ำมันออริกาโนและคาวาครอลมีค่า MICs ต่ำต่อการด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น *S. aureus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *C. albicans* ดังนั้นอาจนำน้ำมันออริกาโน หรือคาวาครอลไปใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการผลิตฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นต้น ดังเช่นการใช้น้ำมันไทม์และโนซินต่อการด้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อวัวบด (Solomagos *et al.*, 2008) การใช้สารสกัดผสมจากโรสแมรี่และชะเอมในการลดปริมาณของ *L. monocytogenes* ในเนื้อสุกร (Zhang *et al.*, 2009) เป็นต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้ต้องการที่จะนำ

สารต้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์กับผลิตภัณฑ์อาหารจริง จึงต้องมีการหาค่า MICs เพื่อที่จะสามารถกำหนดค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารต้านจุลินทรีย์สำหรับใช้ในการต้านจุลินทรีย์

เมื่อพิจารณากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และการหาค่า MICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ศึกษา ดังนั้นจึงได้คัดเลือกสารสำคัญ 2 ชนิด คือ น้ำมันออริกานอลและคาวาครอล เนื่องจากมีค่า MICs ต่ำและสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้กว้างทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ เพื่อนำมาศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ต่อการต้านจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป

3. การศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

3.1 วิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิวชัน

วิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิวชัน เป็นวิธีวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย โดยใช้หลักการการเกิดออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิก โดยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกเพื่่อออกไฮด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีน หากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ทดสอบมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีจะเข้าไปจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกทำให้ลดการสูญเสียสีส้มของเบต้าแคโรทีนลงได้

จากการทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิวชันของน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและน้ำมันออริกานอล และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ ลินาลอล จีรานีออล คาวาครอลและบีเอชเอเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิง ณ ความเข้มข้น 0.195-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและ DMSO แสดงดังตารางที่ 8

ผลการทดสอบในตารางที่ 8 พบว่าน้ำมันออริกาน โมน้ำมันกระดังงาและคาวาครอลมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยน้ำมันออริกาน โมน้ำมันกระดังงาและคาวาครอลมีปฏิกิริยาออกซิเดชันและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองขนาดเล็กกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชเอ ณ ความเข้มข้น 50-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ น้ำมันกระดังงาและคาวาครอล ขณะที่น้ำมันกระชาย ลิ้นจี่และจี่รานีโอลไม่แสดงการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสอดคล้องกับ Pigcaglia *et al.* (2007) ประเมินคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ชมพู (*Eugenia caryophyllata*) ออริกาน โมน้ำมัน (*O. vulgare*) ไทม์ 2 สายพันธุ์ (*T. vulgaris* และ *T. capitatus*) อบเชย (*C. iners*) โหระพา (*Ocimum basilicum*) เซเวอรี (*Satureja Montana*) ลาเวนเดอร์ (*Lavandula hybrida*) มะกรูดฝรั่ง (*Monarda didyma*) สน (*Juniperus communis*) เปปเปอร์มินท์ (*Mentha piperita*) เพลโกเนียม (*Pelargonium odoratissimum*) และไทม์บรา (*Thymbra sintenesii*) พบว่าชมพูแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ ออริกาน โมน้ำมันและไทม์ (*T. vulgaris*) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองเท่ากับ 24, 22 และ 22 มิลลิเมตรตามลำดับ

ตารางที่ 8 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการดیفฟิวชัน

สาร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลือง ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน											
		ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)											
		เข้มข้น	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.195
น้ำมันกระดังงา	DMSO	30.45±0.17 ^{cC}	22.72±0.12 ^{dB}	15.55±0.07 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำมันกระชาย	DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำมันออริกาน	DMSO	41.77±0.05 ^{fF}	37.18±0.07 ^{fE}	27.10±0.00 ^{cD}	17.30±0.04 ^{dC}	13.95±0.07 ^{aB}	9.99±0.02 ^{aA}	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	21.83±0.07 ^{cD}	21.34±0.05 ^{cC}	16.77±0.00 ^{bB}	16.02±0.02 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-	-
ลินาลอล	DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
จีรานีออล	DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ควาครอล	DMSO	8.28±0.06 ^{aA}	9.48±0.08 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	8.38±0.01 ^{aA}	9.57±0.19 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บีเอชเอ	DMSO	27.15±0.11 ^{dH}	23.10±0.04 ^{cG}	19.55±0.03 ^{dF}	17.14±0.05 ^{cE}	15.95±0.07 ^{cD}	15.05±0.03 ^{cC}	14.34±0.05 ^{bB}	14.05±0.07 ^{bA}	-	-	-	-
	เอทานอล	19.52±0.25 ^{bG}	20.13±0.35 ^{bG}	17.81±0.01 ^{cF}	16.94±0.06 ^{bE}	15.00±0.00 ^{bD}	13.15±0.03 ^{bC}	11.42±0.00 ^{aB}	9.09±0.02 ^{aA}	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร, - ไม่พบบริเวณสีเหลือง

^{a-c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง, ^{A-H} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดสอบโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าเมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายจะแสดงขนาดของบริเวณสีเหลืองรอบหลุมวุ้นมีขนาดกว้างกว่าและหากใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยลดลง กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันยังคงอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ดังเช่น การทดสอบโดยใช้น้ำมันออริกานอัมเข้มข้น หรือการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ณ ความเข้มข้น 12.5-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันออริกานอัมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 9.99-41.77 มิลลิเมตร ขณะที่การใช้น้ำมันออริกานอัมเข้มข้น หรือการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ณ ความเข้มข้น 50-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันออริกานอัมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 16.02-21.83 มิลลิเมตร โดยการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายพบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ 12.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรซึ่งมีค่าต่ำกว่าเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งมีความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าการใช้ DMSO แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งผลการทดสอบที่ได้สอดคล้องกับ Zaika (1988) กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีข้อจำกัด คือ การไม่รวมตัวกับน้ำเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ของสารทดสอบจากกระดาษซับกลม หรือหลุมเจาะลงสู่อาหารแข็งทำให้ไม่สามารถละลายรวมตัวกับน้ำ หรืออาหารแข็งในที่นี้คือวุ้นได้ การแพร่กระจายของสารทำได้ไม่ดี จึงควรเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ DMSO ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ เพื่อช่วยให้น้ำมันรวมตัวกับน้ำได้ดียิ่งขึ้น ผลการทดสอบที่ได้จึงแสดงบริเวณด้านสีเหลืองซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย เช่นเดียวกับน้ำมันกระดังงาเข้มข้น หรือการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ณ ความเข้มข้น 100-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 15.55-30.45 มิลลิเมตร และเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ขณะที่สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบิเอชเอเข้มข้น หรือการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ณ ความเข้มข้น 3.12-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 14.05-27.15 มิลลิเมตรและเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 9.09-19.52 มิลลิเมตรซึ่งสนับสนุนคำกล่าวข้างต้น

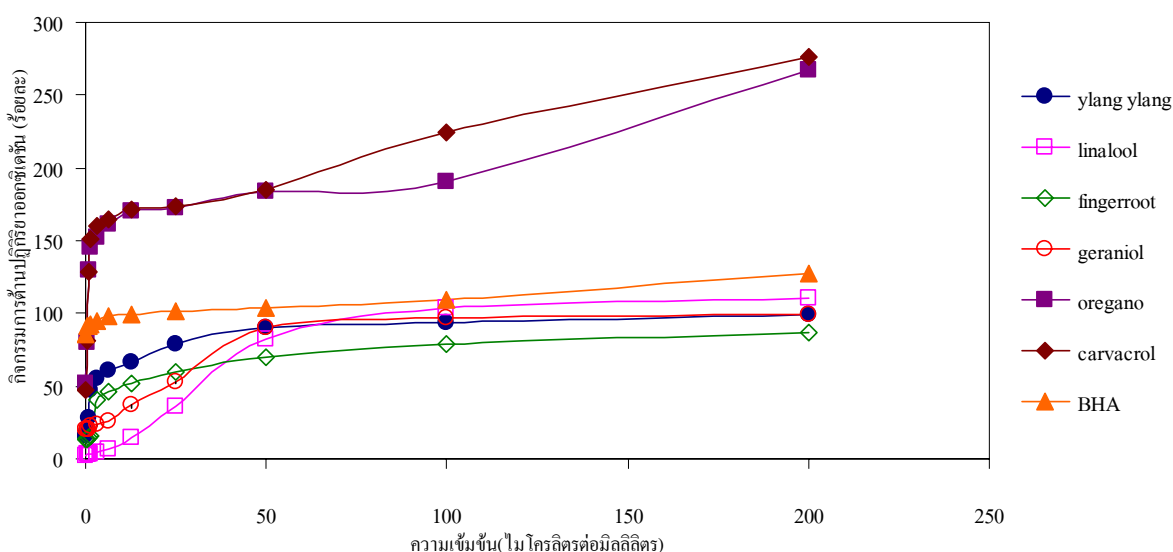
สำหรับผลการทดสอบในภาวะการกลั่นเข้มข้นและการใช้ DMSO หรือเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ณ ความเข้มข้น 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองอยู่ระหว่าง 8.28-9.48 และ 8.38-9.57 มิลลิเมตรตามลำดับ ขณะที่น้ำมันกระชาย ลิ้นจี่ และจี่รานีโอลไม่แสดงการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ภาวะการกลั่นและลิ้นจี่โอลซึ่งเป็นสารสำคัญหลักในน้ำมันออริกานอัมและน้ำมันกระดังงาแสดงกิจกรรมการต้าน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อยซึ่งไม่สัมพันธ์กับผลการทดสอบข้างต้น อาจเป็นไปได้เนื่องจากสภาวะที่ใช้ในการทดสอบที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ตัวทำละลาย หรือวิธีการที่ใช้ในการทดสอบไม่เหมาะสมทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารได้ไม่ดี ดังนั้นควรมีการคัดเลือกพีช น้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยก่อนที่จะใช้ในการทดสอบ เพื่อพิจารณาความเหมาะสมของวิธีทดสอบ นอกจากนั้นการใช้วิธีการทดสอบวิธีเดียวไม่สามารถสรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยชนิดนั้นไม่สามารถดำเนินการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Dorman *et al.*, 2000)

3.2 วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง

วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง เป็นวิธีการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย โดยใช้หลักการการเกิดออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรคลิโนเลอิกในอิมัลชันเฟส โดยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระของกรคลิโนเลอิกเพอร์ออกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีน เช่นเดียวกันกับวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์ดิฟฟวชันดังกล่าวข้างต้น

การทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิงของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ณ ความเข้มข้น 0.195-200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร แสดงผลเป็นร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตัวอย่างจากการฟอกสีของเบต้าแคโรทีน แสดงดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 กิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันของน้ำมันกระดังงา ลิ้นจี่ น้ำมันกระชาย จีรานีโอล น้ำมันออริกานโน คาวาครอลและบีวทีเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล

จากผลการทดสอบ พบว่าน้ำมันหอมระเหย สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยและสารต้านปฏิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบีเอชเอมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิริยาออกซิเดชัน ผลการทดสอบแสดงดังตารางผนวกที่ ๗ ๗ ความเข้มข้น 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิกรัม บีเอชเอแสดงกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันเท่ากับ 90.98 รองลงมา คือ น้ำมันออริกานโนและคาวาครอลซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันเท่ากับ 80.41 และ 80.82 จีรานีโอล น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและลิ้นจี่มีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันเท่ากับ 29.34, 19.16, 14.07 และ 3.40 ตามลำดับ โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยเพิ่มมากขึ้น พบว่ากิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น สอดคล้องกับ Kulisic *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานโนเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชเอ แอลฟา-โทโคฟีรอลและกรดแอสคอร์บิก พบว่าบีเอชเอที่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิริยาออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ แอลฟา-โทโคฟีรอล น้ำมันออริกานโนและกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ

จากการที่พิจารณา ณ ความเข้มข้น 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่มีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่เกินร้อยละ 100 ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยของน้ำมันออริกานอ คาวาครอล ลินาโลลและบีเอชเอเพิ่มมากขึ้นมีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จึงทำการทดสอบเปรียบเทียบกับค่าการทดสอบไว้ซึ่งทดลองซึ่งไม่เติมเบต้าแคโรทีน เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไปเบต้าแคโรทีนจะหายไปจากการถูกออกซิไดซ์ พบว่าค่าที่อ่านได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากหลังจากทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวข้างต้นทำให้สารละลายมีค่าความขุ่นเพิ่มมากขึ้น

น้ำมันออริกานอและคาวาครอลซึ่งเป็นสารสำคัญหลักในน้ำมันออริกานอแสดงร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในทุก ๆ ความเข้มข้น สอดคล้องกับ Yanishlieva and Marinova (1995) ศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดออริกานอในเฮกเซน พบว่ากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในออริกานอเป็นผลมาจากคาวาครอลและไทมอลซึ่งเป็นสารสำคัญหลัก เช่นเดียวกับ Kulisic *et al.* (2004) พบว่าองค์ประกอบในน้ำมันออริกานอที่มีผลต่อการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด คือ หมูอัลดีไฮด์ (CHO) ซึ่งมีความเป็นขั้วสูง โดยออกซิเจนทำให้ประสิทธิภาพของน้ำมันออริกานอต่อการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น รองลงมาคือ หมูฟีนอลิก น้ำมันออริกานอเข้มข้น ไทมอล คาวาครอลและหมู CH ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนวงเบนซีน ซึ่งการที่น้ำมันออริกานอเข้มข้นมีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าหมูอัลดีไฮด์ อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำมันออริกานอเข้มข้นมีน้อยกว่า นอกจากนั้นการที่หมู CH มีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยที่สุด เนื่องมาจากความเป็นหมูไฮโดรคาร์บอน

Milos *et al.* (2000) ทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานอโดยใช้การทดสอบ 3 วิธีแตกต่างกัน ภายหลังการทดสอบพบว่าน้ำมันออริกานอสามารถต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยหมูอัลดีไฮด์แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด นอกจากนั้นยังพบว่ากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานอเกิดจากการที่มีคาวาครอลและไทมอลซึ่งเป็นสารสำคัญหลักร่วมกับออกซิเจน จึงทำให้ประสิทธิภาพของน้ำมันออริกานอต่อการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น เช่นเดียวกับ Faleiro *et al.* (2005) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันออริกานอ (*O. vulgare* L.) และไทม์ (*Thymus capitata* L.) พบว่า

น้ำมันออริกานومیทมอลร้อยละ 33 รองลงมา คือ แกมมา-เทอร์พีนร้อยละ 26 ขณะที่น้ำมันไทม์พบคาวารอลในปริมาณสูงถึงร้อยละ 79 โดยกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานและไทม์เป็นผลเนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิก คือ คาวารอลและไทมอล

Deba *et al.* (2008) ศึกษากิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของปีนนกไต้ (*Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกแสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระเพื่อหยุดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (propagation) ในระหว่างการเกิดออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบและดอกให้ผลในการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยดอกมีกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่าใบ เนื่องจากความสามารถในการระเหยได้ ณ อุณหภูมิสูง นอกจากนี้กิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่แตกต่างกันของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ ขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ โครงสร้างขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย คุณสมบัติของระบบไขมันที่ทดสอบและการเข้าร่วมของน้ำมันหอมระเหยกับกรดไขมัน เป็นต้น เช่นเดียวกับ Oke *et al.* (2009) ศึกษากิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยจากเซเวอรี (*Satureja cuneifolia* Ten.) พบว่าน้ำมันหอมระเหยนี้แสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงโดยมีคาวารอลซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 44.99 ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันของไขมันในขั้นต้น (initiation)

จากผลการทดลองโดยส่วนใหญ่ พบว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ลินาลอล จีรานีออลและคาวารอลแสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและน้ำมันออริกานอ จึงกล่าวได้ว่าสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ น้ำมันหอมระเหยชนิดนั้น ๆ แสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มาก หรือน้อยและการที่คาวารอลสามารถแสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงกว่าลินาลอลและจีรานีออล เนื่องจากโครงสร้างของคาวารอลเป็นวงเบนซีนประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่ทำหน้าที่ ทำให้เกิดการหมุนของอิเล็กตรอนได้มาก จึงแสดงกิจกรรมการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น (Holley and Patel, 2005)

วิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงให้ผลในการทดสอบดีกว่าวิธีเบต้าแคโรทีนอาการ์ดิฟฟวชัน ซึ่งมีหลักการในการเกิดปฏิกิริยาเหมือนกัน เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีการที่มีความว่องไวสูงกว่าและให้ผลที่รวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสีย คือ การใช้ความร้อนเป็นตัวกระตุ้นเพื่อเร่งการเกิดปฏิกิริยามักทำให้ผลที่ได้มีความผันแปรสูง (Laguerre *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับ Frankel (1993) กล่าวว่า การใช้กรดไขมันอิสระซึ่งไม่ใช่รูปแบบของไขมันที่แท้จริง ทำให้การแปรผลที่ได้อาจคลาดเคลื่อน เนื่องจากเบต้าแคโรทีนเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ว่องไวต่อออกซิเจนเช่นกัน

อย่างไรก็ตามวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงเหมาะสมกับการทดสอบน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากเป็นสารที่ชอบไขมัน (lipophilic compounds) หรือสารที่ไม่มีขั้ว ในขณะที่ถ้าทดสอบกับสารที่มีขั้ว เช่น กรดแอสคอร์บิก กรดโรสมารินิก (rosmarinic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) เป็นต้น เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ แล้ว พบว่าสารที่มีขั้วจะให้ผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่น้อยกว่า หรือไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ขณะที่เมื่อทดสอบด้วยวิธีอื่น ๆ สารดังกล่าวมีความเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูง (Koleva *et al.*, 2002) ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าว เรียกว่า ปรากฏการณ์โพลาร์พาราดอกซ์ (polar paradox) โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีความเป็นขั้วจะอยู่ในส่วนที่เป็นน้ำในอิมัลชัน ดังนั้นในส่วนของไขมันจึงมีส่วนของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวเจือจางมาก ทำให้มีประสิทธิภาพน้อยในการที่จะเข้าจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกเพอร์ออกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีนและเกิดการสูญเสียสีส้มของเบต้าแคโรทีน (Frankel *et al.*, 1994; Koleva *et al.*, 2002)

3.3 วิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยสังเกตความสามารถในการจับ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง ถ้าสารตัวอย่างใดมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระหรือสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีจะทำให้สีม่วงแดงของ DPPH จางลงได้มากกว่า สารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้น้อย โดยมักใช้การเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิง เช่น BHA BHT หรือแอลฟา-โทโคฟีรอล เป็นต้น โดยแสดงผลเป็นร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ

ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระที่เสถียร หรือ DPPH ของ น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานอล ลิ้นจี่ จีรานีโอล คาวาครอลและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สังเคราะห์อ้างอิงปิเอชเอ ณ ความเข้มข้นระหว่าง 0.024-6.25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานอล ลิ้นจี่ คาวาครอลและปิเอชเอ สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH โดยทำให้สารละลาย DPPH มีสีจางลงและเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิดสามารถลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ ขณะที่จีรานีโอลไม่สามารถลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 9 ซึ่งแสดงถึงค่าร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณค่า EC_{50} แสดงผลดังตารางที่ 10

จากการศึกษา ณ ความเข้มข้น 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ค่าที่ได้แสดงผลอยู่ในช่วงกว้าง พบว่าปิเอชเอแสดงร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดเท่ากับ 93.90 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ คาวาครอลและน้ำมันออริกานอลมีร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 47.80 และ 47.00 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 น้ำมันกระดังงาและน้ำมันกระชายมีร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 17.40 และ 0.05 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่ลิ้นจี่และจีรานีโอลไม่สามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยการที่พิจารณา ณ ความเข้มข้น 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เนื่องจากการเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงปิเอชเอซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่เมื่อเติมปิเอชเอแล้วไม่เกิดปฏิกิริยาการทำลาย DPPH ทันที ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 9 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ความเข้มข้น (ไมโครลิตรต่อ มิลลิลิตร)	การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ¹ (ร้อยละ)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน						
	น้ำมันกระดังงา	น้ำมันกระชาย	น้ำมันออริกาน	ลินาลอล	จีรานีอล	คาวาครอล	บีเอชเอ
6.25	-	54.60±1.20 ^{dC}	-	3.50±0.14 ^{cB}	0.00±0.00 ^{aA}	91.90±1.48 ^{iD}	-
3.125	68.90±1.91 ^{fC}	6.30±0.14 ^{cB}	85.40±1.70 ^{hD}	1.00±0.14 ^{bA}	0.00±0.00 ^{aA}	87.70±1.06 ^{hD}	-
1.56	53.60±2.12 ^{eC}	3.35±0.07 ^{bB}	77.90±0.99 ^{gD}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	79.00±0.71 ^{gD}	-
0.78	35.90±2.12 ^{dB}	0.70±0.14 ^{aA}	63.50±0.78 ^{fC}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	64.30±0.92 ^{fC}	-
0.39	17.40±0.99 ^{cB}	0.05±0.07 ^{aA}	47.00±0.64 ^{eC}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	47.80±0.28 ^{eC}	93.90±0.14 ^{eD}
0.195	8.90±0.28 ^{bB}	0.00±0.00 ^{aA}	31.40±0.21 ^{dC}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	32.60±0.28 ^{dC}	90.50±0.07 ^{dD}
0.097	2.35±0.21 ^{aB}	0.00±0.00 ^{aA}	18.90±0.35 ^{cC}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	19.80±0.21 ^{cC}	89.50±0.14 ^{cD}
0.049	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	9.30±0.00 ^{bB}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	9.25±0.07 ^{bB}	82.30±0.85 ^{bC}
0.024	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	6.00±0.14 ^{aB}	0.00±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{aA}	6.00±0.14 ^{aB}	58.90±0.78 ^{aC}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

- เกิดสีเหลืองทันทีเมื่อเติม DPPH

^{a-i} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{A-E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 10 ค่า EC_{50} ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

สารตัวอย่าง	ค่า EC_{50} ¹ (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)
น้ำมันกระดังงา	1.5058 ^c
น้ำมันกระชาย	6.6110 ^d
น้ำมันออริกาน	0.4175 ^b
ลินาลอล	65.4683 ^e
จีรานีออล	941.0256 ^f
คาวาครอล	0.4174 ^b
บีเอชเอ	0.0112 ^a

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อพิจารณาค่า EC_{50} ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย พบว่า บีเอชเอแสดงความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีและมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด โดยมีค่า EC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.0112 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ คาวาครอลและน้ำมันออริกานมีค่าเท่ากับ 0.4174 และ 0.4175 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย ลินาลอลและจีรานีออล มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.5058, 6.6110, 65.4683 และ 941.0256 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

น้ำมันออริกานและคาวาครอลแสดงร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงที่สุดในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่นำมาศึกษา โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชเอ พบว่าบีเอชเอมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสอดคล้องกับ Kulisic *et al.* (2004) ประเมินกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกานเปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชที แอลฟา-โทโคฟีรอลและกรดแอสคอร์บิก โดยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ณ ความ

เข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่ากรดแอสคอร์บิก แอลฟา-โทโคฟีรอลและบีเอชทีแสดงร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด ขณะที่น้ำมันออริกาโนและองค์ประกอบสำคัญในน้ำมันออริกาโนมีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่า แสดงว่าวิธีทดสอบนี้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารทดสอบซึ่งแตกต่างกับวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง โดยความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะแตกต่างกันไปตามพฤติกรรมทางจลนศาสตร์ของสารทดสอบนั้น ๆ (Brand-Williams and Berset, 1997) ซึ่งการที่สารทดสอบแสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้น้อยกว่าอาจเกิดจากกลไกซึ่งซับซ้อนในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยการทำปฏิกิริยาของน้ำมันออริกาโนด้วยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต้องผ่านขั้นตอนในการทำปฏิกิริยามากกว่า 2 ขั้นตอน จึงทำให้มีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิง

Skmen *et al.* (2004) ศึกษาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันและสารสกัดออริกาโน (*Origanum acutidens*) ในเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ พบสารสำคัญหลักคือ คาวาครอลในปริมาณสูงถึงร้อยละ 72 โดยสารสกัดออริกาโนในเมทานอลมีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชที เช่นเดียวกันกับน้ำมันออริกาโนที่แสดงร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงเช่นกัน เนื่องจากมีคาวาครอลในปริมาณมาก สอดคล้องกับ Hazzit *et al.* (2006) พบว่าน้ำมันออริกาโนและน้ำมันไทม์ในตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้น 50-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้สารละลาย DPPH มีสีจางลงและลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 378.2-826.51 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยน้ำมันไทม์จาก *Thymus numidicus* และ *T. guyonii* มีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 597.7-826.5 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีค่า IC_{50} มากที่สุด เนื่องจากพบว่ามีคาวาครอลในปริมาณน้อย ขณะที่ *T. mumbyanus* และ *T. numidicus* มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า เนื่องจากพบปริมาณคาวาครอลร้อยละ 46.1 และ 21.8 ตามลำดับ ขณะที่น้ำมันออริกาโนจาก *O. glandulosum* Ighzer Amokrane, *O. glandulosum* Souhane, *O. floribundum* Chrea และ *O. floribundum* Hammam Melouane มีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 434.1-521.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ *O. glandulosum* Ouled Slama มีค่า IC_{50} เท่ากับ 378.2 ซึ่งมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดจึงพบคาวาครอลในปริมาณมากที่สุด ดังนั้นการที่คาวาครอลมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูง เนื่องจากเป็นสารประกอบฟีนอลิกประกอบกับมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่ทำหน้าที่ สอดคล้องกับ Ruberto and Baratta (2000) ศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย 98 ชนิดและองค์ประกอบทางเคมี พบว่าสารทดสอบที่มีโมโนเทอร์ปีนไฮโดรคาร์บอนจะแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี นอกจากนั้นยังเกี่ยวข้องกับหมู่ทำหน้าที่ของสารทดสอบชนิดนั้น ๆ ด้วยเช่นกัน

น้ำมันกระดังงาแสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH รองลงมาจากน้ำมันออริกาโนและคาวาครอล สอดคล้องกับ Wei and Shibamoto (2007) ศึกษาวิจัยการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหย 13 ชนิด ณ ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร พบว่าน้ำมันมะลิแสดงร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดเท่ากับ 90 รองลงมา คือ แอลฟา-โทโคฟีรอล น้ำมันกุหลาบและน้ำมันกระดังงา โดยมีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 86, 70 และร้อยละ 62 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ มีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ระหว่างร้อยละ 39-55 เช่นเดียวกับ Sacchetti *et al.* (2005) ศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหย 11 ชนิด ณ ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อมิลลิตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานจากน้ำมันไทม์ (*T. vulgaris*) พบว่าน้ำมันกระดังงา (*C. odorata*) *Cymbopogon citratus* โรสแมรี่ (*R. officinalis*) และขมิ้น (*C. longa*) มีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่าง 59.6-64.3 ขณะที่น้ำมันไทม์มีร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าเท่ากับ 75.6 ซึ่งจากการทดสอบพบว่าน้ำมันกระดังงาแสดงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระน้อยกว่า เนื่องจากในการทดสอบใช้ความเข้มข้นของน้ำมันกระดังงา 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยกว่างานวิจัยดังกล่าวข้างต้น

จากผลการทดสอบลินาลอลและจีรานีออลไม่สามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สอดคล้องกับ Chizzola *et al.* (2008) ศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยจากใบของ *T. vulgaris* และองค์ประกอบทางเคมี ณ ความเข้มข้น 50-400 ไมโครลิตรต่อมิลลิตรด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าไทมอลและสารประกอบฟีนอลิกมีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด ขณะที่กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยที่สุดพบได้ในองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันไทม์ ได้แก่ แอลฟา-เทอร์ปีนอล จีรานีออลและซาร์บีนิล ไฮเดรต (sabinene hydrate) เช่นเดียวกันกับ Choi *et al.* (2000) ทดสอบสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เช่น แกมมา-เทอร์พีนีน เทอร์พีนโนลีน (terpinolene) และจีรานีออล พบว่ามีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระ DPPH น้อย นอกจากนั้นจากการศึกษาของ Ruberto and Baratta (2000) พบว่าลินาลอลและลินาลิล อะซิเตท (linalyl acetate) ส่งเสริมให้เกิดการออกซิเดชัน (prooxidant) จึงมีกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันค่อนข้างน้อย ดังนั้นจึงสนับสนุนผลที่ได้จากการทดลองนี้

การทดลองนี้ใช้วิธีการทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เนื่องจากกระบวนการเกิดออกซิเดชันเป็นกระบวนการที่มีปฏิกิริยาหลายขั้นตอนและมีความซับซ้อน ดังนั้นการใช้วิธีการทดสอบเพียงวิธีเดียวไม่เพียงพอต่อการสรุปกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เพราะสารทดสอบแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกันไปตามปฏิกิริยาและสภาวะในการทดสอบที่แตกต่างกันของแต่ละวิธีที่ใช้ในการทดสอบ (Chizzola *et al.*, 2008) นอกจากนี้โครงสร้างของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีความซับซ้อนเนื่องจากประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่มีคุณสมบัติทางเคมี หมู่มากหน้าที่และความเป็นขั้วที่แตกต่างกัน (Sacchetti *et al.*, 2005) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบโดยใช้วิธีทดสอบทั้ง 3 วิธี คือ วิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟิวชัน โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและ DMSO วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เนื่องจากวิธีทั้ง 3 วิธีข้างต้นนิยมใช้ในการทดสอบน้ำมันหอมระเหย และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

จากการทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟิวชัน พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจะแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อย หรือไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากความไม่มีขั้วของน้ำมันหอมระเหย สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย หรือองค์ประกอบทางเคมีซึ่งไม่สามารถรวมตัวกับน้ำได้ ทำให้การแพร่กระจายของสารได้ไม่ดี จึงต้องมีการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมที่มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่สามารถทำให้ไขมันรวมตัวกับน้ำได้ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาโดยใช้วิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิงซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่เป็นสารที่มีคุณสมบัติชอบไขมัน หรือสารที่ไม่มีขั้ว แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงเป็นวิธีการที่มีความไวสูง ให้ผลที่รวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิงให้ผลที่มีความผันแปรสูงและมักไม่ค่อยใช้ในการทดสอบสารที่มีขั้ว เนื่องจากจะแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่น้อย หรือไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Koleva *et al.*, 2002) ขณะที่วิธีการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เป็นวิธีการที่มีความไว สะดวก ใช้สารในปริมาณน้อยและให้ผลในการทดสอบที่รวดเร็วกว่าวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง มักใช้ในการทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในเบื้องต้น (Blois, 1958) นอกจากนี้วิธีการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สามารถใช้ในการทดสอบได้ทั้งสารที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และสารที่ชอบไขมัน (Sacchetti *et al.*, 2005)

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่ากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในแต่ละวิธีทดสอบมีความจำเพาะและความว่องไวแตกต่างกัน นอกจากนั้นในแต่ละวิธีทดสอบมีการใช้ปริมาณของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบผลกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เนื่องจากการประเมินกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยให้ได้ผลที่ถูกต้องนั้น ขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสม คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ความแตกต่างทางธรรมชาติและทางกรรมพันธุ์ของพืช ส่วนประกอบของพืชที่ใช้ในการทดสอบและเวลาที่ใช้ในการทดสอบ เป็นต้น (Kulisic *et al.*, 2004)

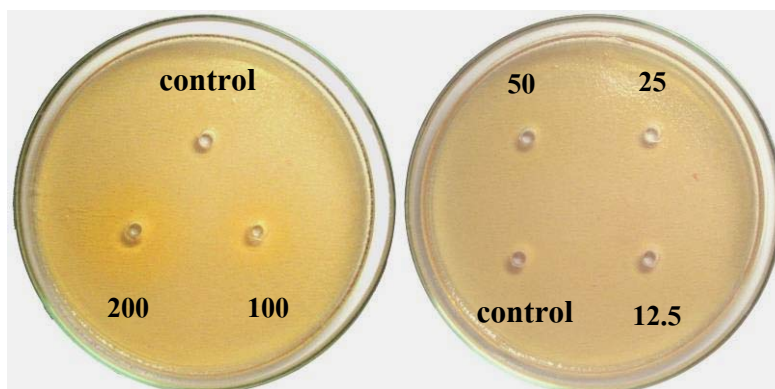
4. การศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ความเข้มข้นต่ำที่สุด หรือค่า MOBICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย วัดได้จากความเข้มข้นต่ำที่สุดของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟิวชัน ซึ่งเปรียบเทียบตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและ DMSO โดยแสดงบริเวณสีเหลืองรอบหลุมวุ้น (หลุมเจาะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร) และทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิตซ์ซิง ผลการทดสอบหาค่า MOBICs ของน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานอลินาลอล จีรานีออลและคาวาครอลแสดงดังตารางที่ 11

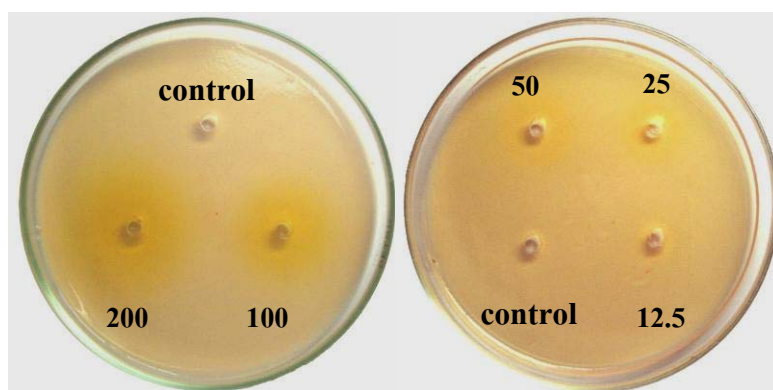
ตารางที่ 11 ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

สาร	ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถด้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน		
	วิธีการทดสอบ		เบต้าแคโรทีนบลิซซิง
	เบต้าแคโรทีนอาร์คิฟิฟวชัน	เบต้าแคโรทีนบลิซซิง	
	DMSO	เอทานอล	
น้ำมันกระดังงา	100	>200	0.195
น้ำมันกระชาย	>200	>200	0.195
น้ำมันออริกาน	12.5	50	0.195
ลินาลอล	>200	>200	0.195
จีรานีออล	>200	>200	0.195
ควาครอล	200	200	0.195
บีเอชเอ	3.125	3.125	0.195

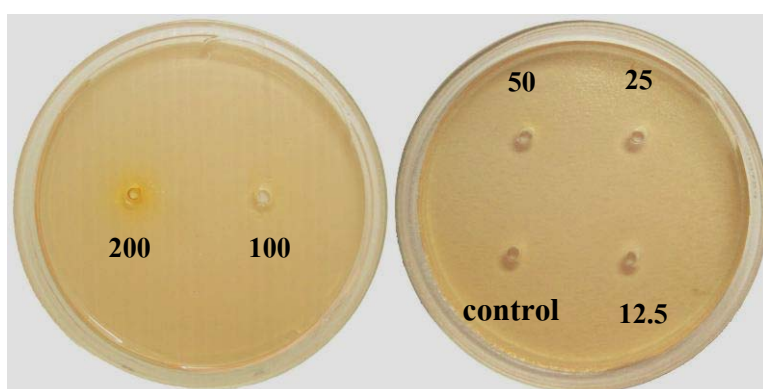
จากตารางที่ 11 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์คิฟิวชัน ซึ่งเปรียบเทียบตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและ DMSO พบว่าเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบีเอชเอแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด รองลงมา คือน้ำมันออริกาโนและคาวาครอล โดยมีค่า MOBICs เท่ากับ 3.125, 50 และ 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย ลิ้นจี่และจีรานีโอล มีค่า MOBICs มากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรและเมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย พบว่าบีเอชเอแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด รองลงมา คือน้ำมันออริกาโน น้ำมันกระดังงาและคาวาครอล โดยมีค่า MOBICs เท่ากับ 3.125, 12.5, 100 และ 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่น้ำมันกระชาย ลิ้นจี่และจีรานีโอล มีค่า MOBICs มากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยน้ำมันออริกาโนและน้ำมันกระดังงามีค่า MOBICs ลดลง ตัวอย่างภาพผลการทดสอบการหาค่า MOBICs ของน้ำมันออริกาโน น้ำมันกระดังงาและคาวาครอลที่แสดงบริเวณสีเหลือง ณ ช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทดสอบ แสดงดังภาพที่ 12 ขณะเดียวกันพบว่าเมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายมีบริเวณสีเหลืองรอบหลุมวุ้นมีขนาดกว้างกว่าและถ้าใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยลดลง ค่า MOBICs มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายทำให้ค่า MOBICs ลดลง โดย DMSO ช่วยให้น้ำมันหอมระเหยแพร่กระจายในส่วนที่เป็นน้ำได้ดียิ่งขึ้น โดยแสดงคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ช่วยในการรวมตัวของน้ำและไขมัน (Zaika, 1988)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 12 ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ (ก) น้ำมันกระดังงา (ข) น้ำมันออริกาโนและ (ค) คาวาครอล เมื่อใช้ตัวทำละลาย DMSO

จากการทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง โดยแสดงผลเป็นร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังตารางผนวกที่ ๑7 พบว่าน้ำมันหอมระเหย สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงบีเอชเอมีค่า MOBICs เท่ากับ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดย ณ ความเข้มข้น 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ศึกษาสามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน บีเอชเอแสดงร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ น้ำมันออริกาโน คาวาครอล จีรานีออล น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและลินาลอลตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองในขั้นต้นที่เปรียบเทียบ ณ ความเข้มข้น 0.39 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันออริกาโน และคาวาครอลแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันรองลงมาจากบีเอชเอ โดยการทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิงแสดงค่า MOBICs ต่ำกว่าวิธีเบต้าแคโรทีนอาร์ดิฟฟิซัน อาจเนื่องมาจากวิธีนี้เป็นวิธีการที่มีความไวสูงกว่าและเหมาะสำหรับใช้ในการทดสอบน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติชอบไขมัน หรือสารที่ไม่มีขั้ว (Koleva *et al.*, 2002) นอกจากนั้นการที่ค่า MOBICs ในแต่ละงานวิจัยมีความแตกต่างกันแม้ทดสอบในน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยชนิดเดียวกัน อาจเนื่องมาจากหลาย ๆ ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น วิธีการที่ใช้ในการทดสอบ แหล่งกำเนิด ชนิดและสายพันธุ์ของพืช วิธีการที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย เวลาที่ใช้ในการทดสอบ ความเข้มข้นของสารทดสอบ เป็นต้น (Kulisic *et al.*, 2004)

การหาค่า MOBICs มีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการพิจารณาและกำหนดความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในการผลิตฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทั่วไปสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมลงไปในวัสดุทางการบรรจุมักจะมีความเข้มข้นเช่นเดียวกับสารต้านจุลินทรีย์ คือ ประมาณร้อยละ 0.1-5 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งต้องคำนึงถึงปฏิกิริยาเคมีของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและโครงสร้างของฟิล์ม หรือตัวเร่งต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเร่งในการเกิดปฏิกิริยาและทำให้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นมีคุณภาพลดลง ดังนั้นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงต้องมีความเสถียรเชิงคุณภาพสามารถนำมาใช้ในการผลิตวัสดุทางการบรรจุต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยกระบวนการผลิตต่าง ๆ เช่น การเป่าขึ้นรูป การอัดรีด หรือการฉีดขึ้นรูป เป็นต้น

เมื่อพิจารณาจากการทดลองทั้ง 3 วิธีดังกล่าวข้างต้น ประกอบกับการหาค่า MOBICs ด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง พบว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาโนและคาเวอรอล แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี มีค่า MOBICs เท่ากับ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร คิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 0.0195 ดังนั้นในการผลิตฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงเติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในช่วงความเข้มข้นที่ได้จากการหาค่า MOBICs หรือ ณ ความเข้มข้นที่มากกว่าค่า MOBICs ได้ แต่การกำหนดความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันควรคำนึงสมบัติของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย เช่น หากผลิตฟิล์มเพื่อการบรรจุอาหาร ความเข้มข้นของสารที่ใช้จะต้องมีปริมาณที่ไม่ส่งผลต่อกลิ่นรส หรือรสชาติของอาหารและอยู่ในระดับที่ผู้บริโภคยอมรับได้ โดยต้องไม่ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและโครงสร้างของฟิล์ม เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงกระบวนการที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม เนื่องจากสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมักไวต่อปัจจัยต่าง ๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ก๊าซออกซิเจน โลหะ เป็นต้น ดังนั้นสถานะในการผลิต รวมถึงสถานะในการขนส่ง การจัดจำหน่ายและการเก็บรักษาควรมีความเหมาะสมและไม่มีปัจจัยดังกล่าวข้างต้นมาเกี่ยวข้องมากเกินไปจนอาจส่งผลต่อปริมาณสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ดังนั้นการผลิตฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงจำเป็นต้องรักษาระดับความเข้มข้นของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เพียงพอต่อการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ตลอดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ต่อการคัดเลือกสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีองค์ประกอบของไขมันและมักเสื่อมเสียได้เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น น้ำมัน ไขมันจากสัตว์ เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์อาหารทอด เป็นต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้ต้องการที่จะนำสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไปประยุกต์กับผลิตภัณฑ์อาหารจริง จึงต้องมีการหาค่า MOBICs เพื่อที่จะสามารถกำหนดค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสำหรับใช้ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการหาค่า MOBICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ศึกษา จึงได้คัดเลือกสารสำคัญ 4 ชนิด คือ น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาโนและคาเวอรอล เนื่องจากมีค่า MOBICs ต่ำและสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ทั้งวิธีเบต้าแคโรทีนอาการ์ดิฟฟิวชัน วิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง และวิธีการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ดังนั้นจึงนำมาศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในการทดลองต่อไป

5. การเตรียมฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

จากการศึกษาเบื้องต้นในการขึ้นรูปฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสเติมน้ำมันออริกานและคาเวอรอลเพื่อการต้านจุลินทรีย์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาน คาเวอรอลและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบีเอชเอ ด้วยวิธีการหล่อ ได้ลักษณะของแผ่นฟิล์มแสดงดังภาพที่ 13 ซึ่งฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ได้มีความหนาอยู่ในช่วง 0.0810-0.0857 มิลลิเมตร ลักษณะของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันมีลักษณะเรียบ สี เหนียวและยืดหยุ่น หากดัดทิ้งไว้ให้สัมผัสความชื้นจะทำให้เกิดฝ้าบนแผ่นฟิล์มและทำให้ฟิล์มเกาะติดกันได้ง่ายขึ้น โดยฟิล์มชนิดนี้มีความสามารถละลายได้ดีในน้ำ ขณะที่ฟิล์มที่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ หรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าฟิล์มจะมีกลิ่นเฉพาะตัวจากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่เติมลงไป สอดคล้องกับ Krumel and Lindsay (1976) พบว่าฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลสมีลักษณะโปร่งใส เหนียว ยืดตัวได้และละลายในน้ำ ไม่สามารถละลายได้ในน้ำมันและไขมัน เช่นเดียวกับ วิภาวีร์ (2551) พบว่าฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลสและฟิล์มจากไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส มีลักษณะพื้นผิวเรียบ สี เหนียวและยืดหยุ่น นอกจากนั้นการเติมพลาสติกไซเซอร์มีผลต่อหมู่ไฮดรอกซีพรอพิลที่ถูกแทนที่ในไฮดรอกซีพรอพิลเซลลูโลส ทำให้ฟิล์มมีความคงตัวสามารถปรับปรุงคุณภาพการละลายในน้ำได้ โดยการเติมเมลามีนฟอร์มัลดีไฮด์เรซินในการเชื่อมข้ามพันธะจะทำให้ฟิล์มไม่สามารถละลายในน้ำได้ (Nisperos-Carriedo, 1994)



ภาพที่ 13 ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์

6. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

6.1 วิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้น

จากการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานา หรือคาวาครอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ต่อการต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ 4 ชนิด คือ *A. hydrophila*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *V. parahaemolyticus* และยีสต์ 2 ชนิด คือ *C. albicans* และ *Z. rouxii* วัดประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ได้จากการแสดงบริเวณด้านขนาด 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (หลุมเจาะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ผลทดสอบพบว่าฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานา หรือคาวาครอลที่ผลิตฟิล์มด้วยวิธีการหล่อ ไม่แสดงบริเวณด้านจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทดสอบ โดยฟิล์มดังกล่าวจะเกิดการละลายและแพร่กระจายรอบ ๆ บริเวณเหนือวุ้น แสดงดังภาพที่ 14

การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้นไม่แสดงบริเวณด้านจุลินทรีย์ทดสอบทุกชนิด เนื่องจากการทดสอบด้วยวิธีนี้เหมาะสมสำหรับการแพร่ผ่านของสารที่มีความสามารถในการแพร่ผ่านวุ้น หรืออาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบไปด้วยน้ำ นอกจากนั้นการแพร่ของสารยังขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุล รูปร่างและสภาพความเป็นขั้วของสารทดสอบ โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมี รวมทั้งระดับการเชื่อมโยงข้ามของฟิล์มเป็นต้น (Cagri *et al.*, 2001) ซึ่งสารที่นำมาทดสอบในการทดลองนี้คือ น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารที่ไม่มีขั้ว ไม่สามารถละลายและแพร่ผ่านวุ้นซึ่งเป็นส่วนที่เป็นน้ำได้ แต่จากผลที่ได้ขัดแย้งกับการศึกษาในขั้นต้นที่พบว่าน้ำมันออริกานาและคาวาครอลมีกิจกรรมในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์สูงสุดและค่า MICs ต่ำที่สุด เนื่องจากในขั้นต้นมีการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย หรืออิมัลซิไฟเออร์จึงช่วยให้ส่วนที่เป็นน้ำเข้ากับน้ำมันได้ดียิ่งขึ้น โดยสารดังกล่าวไม่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ (Hili *et al.*, 1997)

งานวิจัยต่าง ๆ ที่รวบรวมโดย Burt (2004) พบว่ามีการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ เช่น เอทานอล เมทานอล ทวิน-20 ทวิน-80 อะซีโตนร่วมกับทวิน-80 พอลิเอทิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol) พรอพิลีน ไกลคอล วุ้น (agar) เป็นต้น สามารถช่วยในการแพร่ผ่านของสารทดสอบ เช่น น้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยให้มีความสามารถในการ

แพร่ผ่านวุ้น หรืออาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบไปด้วยน้ำ โดยสารเหล่านี้จะซึมผ่านไปยังผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้ แต่พบว่าตัวทำละลายบางชนิด เช่น เอทานอล ทวิน-80 ทำให้น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ลดลง หรือต่ำกว่าความเป็นจริง (Remmal *et al.*, 1993) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายดังกล่าวข้างต้น



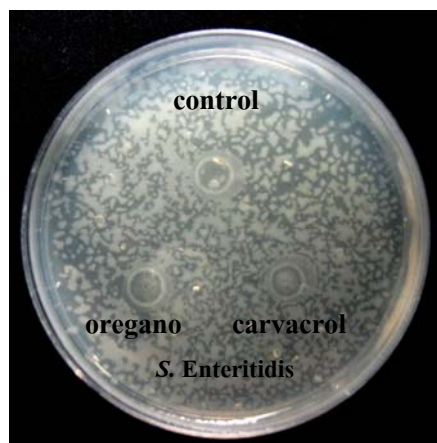
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 14 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือ คาวาครอล เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มวุ้น ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (ก) *Vibrio parahaemolyticus* (ข) *Candida albicans* และที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (ค) *Bacillus cereus* (ง) *Salmonella Enteritidis*

นอกจากนี้การที่ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวาครอลไม่แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ทดสอบอาจเนื่องมาจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงไปฟิล์มที่สามารถแพร่ลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้อได้อาจมีปริมาณต่ำกว่าค่า MICs ที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Han, 2003) ซึ่งปัญหาดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการเติมสารต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่น้อยเกินไป หรืออาจเกิดการสูญเสียสารดังกล่าวเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิที่ทำให้สารสามารถระเหยได้อย่างรวดเร็วในสภาวะบรรยากาศที่ไม่เหมาะสม สภาวะที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์ม การทำแห้งฟิล์ม เป็นต้น (Zivanovic *et al.*, 2005) หรืออัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ในอัตราที่ไม่เหมาะสมกับระยะเวลาในการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งเกิดจากการปลดปล่อยของสารรวดเร็วกว่าการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ทำให้สารถูกปลดปล่อยออกมาจนมีระดับต่ำกว่าค่า MICs เมื่อถึงระยะเวลาที่จุลินทรีย์เจริญขึ้นจึงไม่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยมีแนวทางแก้ไข คือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์ม การเพิ่มความหนา หรือความกว้างของแผ่นฟิล์ม ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเติมสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มมากเกินไป อาจส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคถึงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น กลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป หรือมีกลิ่นแรงเกินไปจากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่เติมลงไปได้

จากปัญหาที่พบในการทดสอบด้วยวิธีแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้นดังกล่าวข้างต้น ในการทดลองขั้นต่อไปจึงแก้ปัญหาโดยการค้นคว้าจากงานวิจัยต่าง ๆ รวมทั้งข้อสมมุติฐานของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่กล่าวว่ามีคุณสมบัติในการระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติและเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะยิ่งระเหยได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นจึงพบว่าการทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น โดยน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่เติมลงในฟิล์มสามารถแพร่ผ่านช่องว่างไปยังบริเวณผิวหน้าของวุ้นและต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ (Nielsen and Rios, 2000; Guynot *et al.*, 2003; Lopez-Malo *et al.*, 2005; Rakotonirainy and Lavedrine, 2005; Rupika *et al.*, 2005; Ben-Arfa *et al.*, 2006; Sanla-Ead *et al.*, 2006)

6.2 วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวัน

การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวารอลต่อการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวัน ประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์รายงานผลเป็นดัชนีการต้านจุลินทรีย์ แสดงผลดังตารางที่ 12 และ 13 โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบ เมื่อทดสอบด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม) และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวารอล ณ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ผลทดสอบพบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวารอลสามารถต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยฟิล์มด้านจุลินทรีย์ดังกล่าวทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบมีขนาดเล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม แสดงดังภาพที่ 15

จากการทดลอง พบว่าฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวารอลที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันจะมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ใกล้เคียงกัน ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก) เป็นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ทำให้มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) พบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโนสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรีย *B. cereus* และ *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด โดยมีดัชนีการต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 0.42 และ 0.43 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ขณะที่ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมคาวารอลสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรีย *A. hydrophila* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีดัชนีการต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 0.45 และ 0.49 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เช่นกัน สำหรับเชื้อยีสต์ พบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาวารอลสามารถต้านการเจริญของ *Z. rouxii* ได้ดีที่สุด โดยมีดัชนีการต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 0.30 และ 0.42 ตามลำดับ

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลร้อยละ 0.5 ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อการต้านจุลินทรีย์					ดัชนีการต้านจุลินทรีย์
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ¹ (มิลลิเมตร)		ดัชนีการต้านจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)		
	ตัวควบคุม ²	น้ำมันออริกาน		ตัวควบคุม	คาวาครอล	
แบคทีเรียแกรมบวก						
<i>B. cereus</i>	5.54±0.32	3.43±0.12	0.39 ^c	5.54±0.32	3.55±0.18	0.37 ^f
<i>L. monocytogenes</i>	1.95±0.18	1.43±0.17	0.25 ^{bc}	1.95±0.18	1.60±0.14	0.16 ^c
<i>S. aureus</i>	2.51±0.23	2.15±0.10	0.13 ^a	2.51±0.23	2.00±0.15	0.19 ^{cd}
แบคทีเรียแกรมลบ						
<i>A. hydrophila</i>	1.58±0.20	1.15±0.08	0.30 ^d	1.58±0.20	1.18±0.09	0.29 ^c
<i>E. coli</i>	4.16±0.13	3.00±0.33	0.28 ^{cd}	4.16±0.13	3.28±0.19	0.21 ^d
<i>S. Enteritidis</i>	2.68±0.18	2.38±0.18	0.12 ^a	2.68±0.18	2.55±0.18	0.06 ^a
<i>V. parahaemolyticus</i>	2.50±0.04	2.08±0.08	0.16 ^a	2.50±0.04	1.98±0.07	0.20 ^{cd}
ยีสต์						
<i>C. albicans</i>	2.49±0.15	2.20±0.04	0.12 ^a	2.49±0.15	2.25±0.15	0.10 ^b
<i>Z. rouxii</i>	1.75±0.13	1.35±0.16	0.23 ^b	1.75±0.13	1.13±0.11	0.36 ^f

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัด 20 โคโลนีในแต่ละซ้ำการทดลอง

²ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

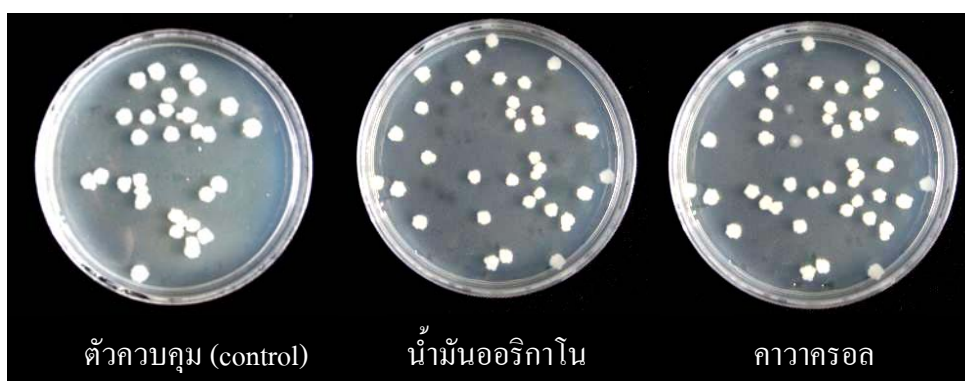
ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลร้อยละ 1.0 ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อการต้านจุลินทรีย์					
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ¹ (มิลลิเมตร)		ดัชนีการต้านจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)		ดัชนีการต้านจุลินทรีย์
	ตัวควบคุม ²	น้ำมันออริกาน		ตัวควบคุม	คาวาครอล	
แบคทีเรียแกรมบวก						
<i>B. cereus</i>	5.54±0.32	3.23±0.22	0.42 ^g	5.54±0.32	3.43±0.16	0.38 ^c
<i>L. monocytogenes</i>	1.95±0.18	1.36±0.15	0.33 ^c	1.95±0.18	1.54±0.18	0.26 ^b
<i>S. aureus</i>	2.51±0.23	1.63±0.23	0.37 ^f	2.51±0.23	1.58±0.22	0.39 ^c
แบคทีเรียแกรมลบ						
<i>A. hydrophila</i>	1.58±0.20	0.95±0.10	0.43 ^g	1.58±0.20	0.93±0.12	0.45 ^{dc}
<i>E. coli</i>	4.16±0.13	2.98±0.21	0.29 ^d	4.16±0.13	2.15±0.22	0.49 ^c
<i>S. Enteritidis</i>	2.68±0.18	2.13±0.27	0.20 ^b	2.68±0.18	2.23±0.17	0.16 ^a
<i>V. parahaemolyticus</i>	2.50±0.04	1.90±0.11	0.25 ^c	2.50±0.04	1.85±0.13	0.27 ^b
ยีสต์						
<i>C. albicans</i>	2.49±0.15	2.08±0.07	0.16 ^a	2.49±0.15	2.18±0.13	0.12 ^a
<i>Z. rouxii</i>	1.75±0.13	1.23±0.18	0.30 ^{dc}	1.75±0.13	1.03±0.23	0.42 ^{cd}

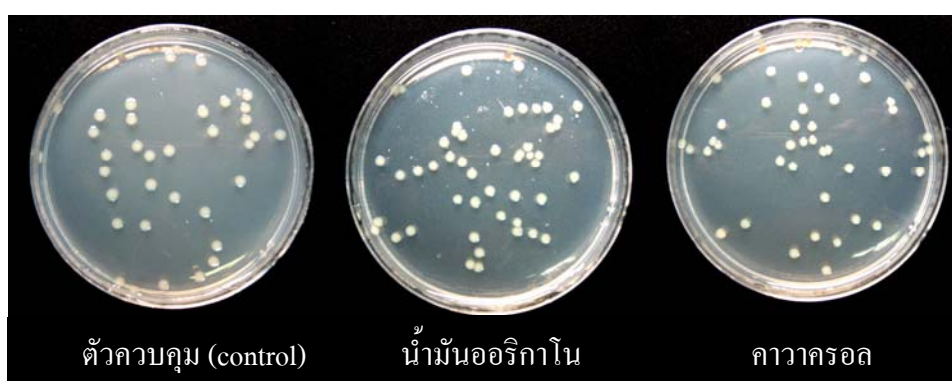
หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัด 20 โคโลนีในแต่ละซ้ำการทดลอง

²ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

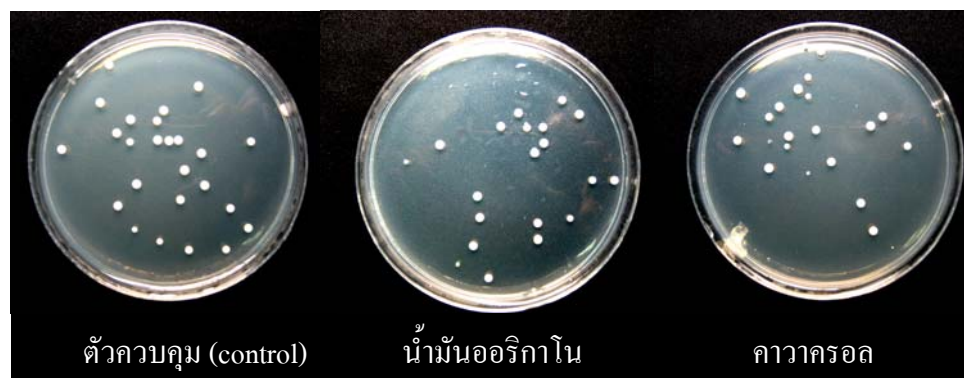
^{a-g} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานอลหรือคาวาครอลร้อยละ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือรู (ก) *Bacillus cereus* (ข) *Escherichia coli* และ (ค) *Zygosaccharomyces rouxii*

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันออริกาน หรือ คาวาครอล พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีแนวโน้มแสดงความว่องไวต่อการต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าแกรมลบ สอดคล้องกับ Sanla-Ead *et al.* (2006) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม เซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ ณ ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) ทดสอบด้วยวิธีการ แพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นต่อการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* และ *S. Enteritidis* ผลการทดสอบพบว่าฟิล์ม เซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์สามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้สูงที่สุด โดยมีดัชนีการต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 0.56 รองลงมา คือ *S. aureus*, *E. coli* และ *S. Enteritidis* โดยมีดัชนี การต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 0.45, 0.34 และ 0.19 ตามลำดับ ซึ่งฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาล ดีไฮด์มีความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เช่นเดียวกับ Harpaz *et al.* (2003) พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีความสามารถในการต้านแบคทีเรียที่ ก่อให้เกิดโรคและอาหารเสื่อมเสียชนิดแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรีย แกรมลบมีลิโปพอลิแซคคาไรด์ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย ทำให้ผนังเซลล์มีความ แข็งแรงและป้องกันการซึมผ่านของสารต่าง ๆ ได้ดี แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ได้พบว่า น้ำมันออริกานและคาวาครอลมีความสามารถในการต้าน *A. hydrophila* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรม ลบได้ดีที่สุด สอดคล้องกับ Wilkinson *et al.* (2003) กล่าวว่าแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด เช่น *A. hydrophila* มีความว่องไวสูงต่อสารต้านจุลินทรีย์จำพวกน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญใน น้ำมันหอมระเหย

วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นสามารถประเมินประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยได้ ช่วยขจัดปัญหาการไม่รวมตัวกับน้ำ หรือความไม่มีชีวิตของ สารทดสอบเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มวุ้น นอกจากนั้นยังหลีกเลี่ยงต่อการใช้ตัวทำ ละลายที่ไม่เหมาะสมเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลาย หรือการแพร่ผ่านของสารทดสอบเพื่อให้ มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์สูงขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามในการทดสอบด้วยวิธีนี้ควร คำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความหนาของแผ่นฟิล์ม เนื่องจากมีผลต่อปริมาตรช่องว่างเหนือวุ้นใน จานเพาะเชื้อและปริมาณของสารทดสอบ หากแผ่นฟิล์มมีความหนาจะทำให้ปริมาตรช่องว่างเหนือ วุ้นลดลง ปริมาณสารทดสอบมีความเข้มข้นมากขึ้น ทำให้สารทดสอบสามารถระเหยสู่บริเวณ ผิวหน้าวุ้นได้มากและทำให้ผลการต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับความหนาและความสม่ำเสมอ ของพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากมีผลต่อระยะเวลาการแพร่ผ่านของไอระเหยของสารทดสอบ โดย ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนาจะแพร่ผ่านสู่บริเวณผิวหน้าวุ้นได้มาก ขณะเดียวกันถ้าพื้นผิวของ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่สม่ำเสมอ บริเวณที่มีความหนามากกว่าระยะเวลาการแพร่ผ่านของไอระเหยจะน้อย

กว่า มีผลให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเล็กกว่า หรือสามารถดำนจลินทรีย์ได้มากขึ้น เช่นกัน นอกจากนั้นในการทดสอบควรพิจารณาถึงจำนวนโคโลนีในงานเพาะเชื้อ เพื่อให้ง่ายและสะดวกต่อการนับจำนวนโคโลนีและสามารถมองเห็นความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีได้อย่างชัดเจน ซึ่งจากการศึกษานี้กำหนดให้มีจำนวนโคโลนีประมาณ 50 โคโลนีต่องานเพาะเชื้อ แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ต่องานเพาะเชื้อในการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือควาครอลต่อการดำนจลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนโคโลนีต่องานเพาะเชื้อ ¹ (CFU/plate)
<i>Bacillus cereus</i>	32.78±2.64
<i>Listeria monocytogenes</i>	45.56±3.00
<i>Staphylococcus aureus</i>	39.44±4.13
<i>Aeromonas hydrophila</i>	46.89±4.04
<i>Escherichia coli</i>	40.67±3.87
<i>Salmonella Enteritidis</i>	33.11±3.52
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	30.11±3.26
<i>Candida albicans</i>	50.44±4.53
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	43.89±3.48

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

วิธีการทดสอบนี้มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้สำหรับประเมินประสิทธิภาพของฟิล์มดำนจลินทรีย์ที่เติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยต่อการดำนการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถแก้ไขปัญหาที่พบได้ในวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่รู้น โดยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นเหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบสารที่ไม่มีขั้วและมีคุณสมบัติในการระเหยได้ง่าย สอดคล้องกับ Caccioni *et al.* (1997) ศึกษากิจกรรมการดำนเชื้อราโดยใช้สารระเหยจากธรรมชาติ ทดสอบโดยการควบคุมความดันไอของสารทดสอบผ่านไปสู่ช่องว่างเหนือภาชนะบรรจุ พบว่าสารทดสอบสามารถดำนการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งการใช้ความดันไอของสารสามารถใช้เป็นวิธีในการประเมินประสิทธิภาพของสารที่ไม่มีขั้วและไม่ชอบน้ำได้ เนื่องจากแสดงถึงแนวโน้มของสารที่สามารถผ่านไปยังส่วนที่เป็นก๊าซ ซึ่งเกี่ยวข้องกับระดับของการเกิดปฏิกิริยา

สัมพันธ์กับน้ำและตัวถูกละลายต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นและอุณหภูมิคงที่ หากความดันไอของสารสูงขึ้น การสร้างพันธะกับน้ำจะลดลงและทำให้เกิดลักษณะของสารไม่ชอบน้ำมากขึ้น ดังนั้นการทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่วุ้นจึงเป็นการจำลองช่องว่างภายในภาชนะบรรจุและการระเหยกลายเป็นไอของสารทดสอบ หรือการแพร่สมดุลของสารจากวัสดุทางการบรรจุไปยังอาหารและช่องว่างภายในภาชนะบรรจุ ซึ่งการทดสอบดังกล่าวแสดงถึงกลไกและความสามารถในการนำไปใช้งานในสภาวะจริงได้

6.3 วิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาเวอรอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ต่อการต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ 4 ชนิด คือ *A. hydrophila*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *V. parahaemolyticus*, และยีสต์ 2 ชนิด คือ *C. albicans* และ *Z. rouxii* วัดประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์จากปริมาณจุลินทรีย์ที่บ่มเพาะจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ถ่ายจากจานเพาะเชื้อมา 5 โคโลนีหลังจากทดสอบด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ จากนั้นรายงานผลเป็นร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์ แสดงผลดังตารางที่ 15 และ 16 ผลทดสอบพบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือคาเวอรอลสามารถต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยฟิล์มด้านจุลินทรีย์ดังกล่าวทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลร้อยละ 0.5 ทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อการต้านจุลินทรีย์					
	ปริมาณจุลินทรีย์ ¹ (log CFU/ml)		การลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/ml)		การลดลง (ร้อยละ)
	ตัวควบคุม ²	น้ำมันออริกาน		ตัวควบคุม	กาวาครอล	
แบคทีเรียแกรมบวก						
<i>B. cereus</i>	6.57	5.69	13.44±0.07 ^g	6.57	5.71	13.10±0.40 ⁱ
<i>L. monocytogenes</i>	8.13	6.81	16.25±0.07 ^h	8.13	7.81	3.88±0.80 ^g
<i>S. aureus</i>	7.92	7.84	0.97±0.13 ^a	7.92	7.79	1.64±0.50 ^b
แบคทีเรียแกรมลบ						
<i>A. hydrophila</i>	7.81	7.68	1.67±0.43 ^c	7.81	7.66	1.91±1.11 ^c
<i>E. coli</i>	7.98	7.40	7.24±0.50 ^f	7.98	7.57	5.03±0.09 ^h
<i>S. Enteritidis</i>	8.56	8.41	1.70±0.96 ^d	8.56	8.48	0.89±0.80 ^a
<i>V. parahaemolyticus</i>	6.97	6.85	1.68±0.31 ^c	6.97	6.82	2.19±0.02 ^c
ยีสต์						
<i>C. albicans</i>	7.68	7.49	2.46±0.23 ^e	7.68	7.53	2.02±0.61 ^d
<i>Z. rouxii</i>	7.79	7.67	1.54±0.71 ^b	7.79	7.57	2.88±0.80 ^f

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

²ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารด้านจุลินทรีย์

^{a-i} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลร้อยละ 1.0 ทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อการต้านจุลินทรีย์					
	ปริมาณจุลินทรีย์ ¹ (log CFU/ml)		การลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/ml)		การลดลง (ร้อยละ)
	ตัวควบคุม ²	น้ำมันออริกาน		ตัวควบคุม	คาวาครอล	
แบคทีเรียแกรมบวก						
<i>B. cereus</i>	6.57	5.66	13.79±0.19 ^g	6.57	5.66	13.81±1.03 ^g
<i>L. monocytogenes</i>	8.13	6.42	20.97±0.32 ^h	8.13	6.75	16.93±0.66 ^h
<i>S. aureus</i>	7.92	7.62	3.80±0.46 ^d	7.92	7.55	4.66±0.51 ^d
แบคทีเรียแกรมลบ						
<i>A. hydrophila</i>	7.81	7.55	3.35±0.92 ^c	7.81	7.48	4.19±0.71 ^c
<i>E. coli</i>	7.98	7.38	7.43±0.30 ^f	7.98	6.90	13.51±0.08 ^f
<i>S. Enteritidis</i>	8.56	8.36	2.38±0.77 ^a	8.56	8.37	2.23±0.86 ^a
<i>V. parahaemolyticus</i>	6.97	6.70	3.81±0.62 ^d	6.97	6.57	5.76±0.89 ^c
ยีสต์						
<i>C. albicans</i>	7.68	7.34	4.41±0.84 ^e	7.68	7.51	2.28±0.24 ^a
<i>Z. rouxii</i>	7.79	7.57	2.89±1.01 ^b	7.79	7.49	3.86±0.62 ^b

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

²ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารด้านจุลินทรีย์

^{a-h} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดลองพบว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ใกล้เคียงกัน ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก) เป็นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ทำให้มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) พบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานและคาวาครอลสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรีย *B. cereus* และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน โดยมีร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์เท่ากับ 13.79, 20.97 และ 13.81, 16.93 ตามลำดับ สำหรับเชื้อยีสต์พบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานสามารถต้านการเจริญของ *C. albicans* ได้ดีที่สุด โดยมีร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์เท่ากับ 4.41 ขณะที่ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่เติมคาวาครอลสามารถต้านการเจริญของ *Z. rouxii* ได้ดีที่สุด โดยมีร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์เท่ากับ 3.86

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันออริกานและคาวาครอลพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีแนวโน้มแสดงความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าแกรมลบ สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น ซึ่งการทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถใช้ในการวัดประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ โดยแสดงให้เห็นความแตกต่างทางด้านจำนวนและความสมบูรณ์ของโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรากฏในจานเพาะเชื้อ ซึ่งเมื่อนำมาบ่มเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตได้แตกต่างกัน

7. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

7.1 วิธีเบต้าแคโรทีนอาการคิฟิวชัน

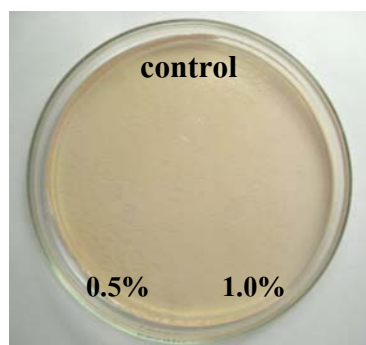
จากการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) โดยใช้บีเอชเอเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิง การทดสอบวัดกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้จากการแสดงบริเวณสีเหลืองรอบแผ่นฟิล์มทดสอบ (ฟิล์มมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ผลทดสอบพบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาน หรือคาวาครอลไม่แสดงบริเวณสีเหลือง หรือแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยฟิล์ม

ดังกล่าวจะเกิดการละลายและแพร่กระจายรอบ ๆ บริเวณเหนือวุ้น ขณะที่ปิเอชเอแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองเท่ากับ 28.92 และ 39.13 มิลลิเมตรตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 17 และภาพที่ 16

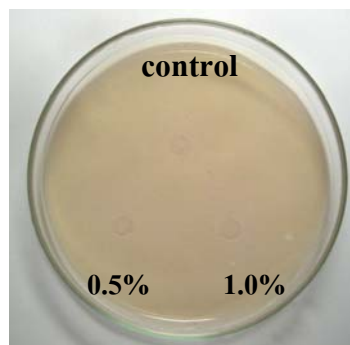
ตารางที่ 17 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดیفฟิวชัน

ฟิล์มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลือง ¹ (มิลลิเมตร)	
	ร้อยละ 0.5	ร้อยละ 1.0
เซลล์ูโลสอีเทอร์	-	-
น้ำมันกระดังงา-เซลล์ูโลสอีเทอร์	-	-
น้ำมันกระชาย-เซลล์ูโลสอีเทอร์	-	-
น้ำมันออริกาน-เซลล์ูโลสอีเทอร์	-	-
คาวาครอล-เซลล์ูโลสอีเทอร์	-	-
ปิเอชเอ-เซลล์ูโลสอีเทอร์	28.92±0.07	39.13±0.14

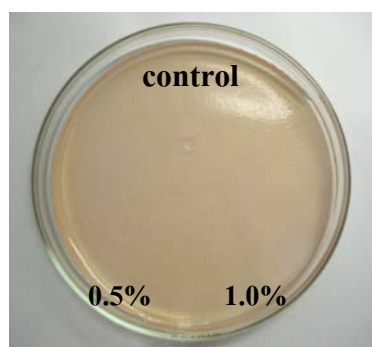
หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้งในแต่ละซ้ำการทดลอง
ฟิล์มมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
- ไม่พบบริเวณสีเหลือง



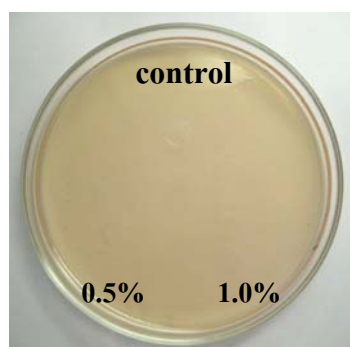
(ก)



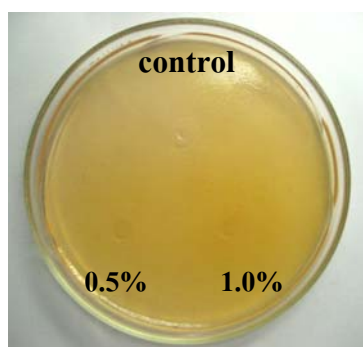
(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

ภาพที่ 16 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิชั่นของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย (ก) น้ำมันกระดังงา (ข) น้ำมันกระชาย (ค) น้ำมัน ออริกาโน (ง) ลาเวนเดอร์ และ (จ) บิวทิเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล เมื่อทดสอบด้วยวิธี เบต้าแคโรทีนอาการ์ดีฟฟิชั่น

การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการคิฟิวชันเป็นวิธีการทดสอบที่คล้ายคลึงกับการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสุญญากาศ โดยจากผลการทดสอบพบว่าฟิล์มทดสอบไม่แสดงบริเวณสีเหลืองของปฏิกิริยาออกซิเดชันและบริเวณด้านจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน เนื่องจากการทดสอบทั้ง 2 วิธีดังกล่าวเหมาะสมสำหรับการแพร่ผ่านของสารที่มีความสามารถในการแพร่ผ่านวุ้น หรืออาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบไปด้วยน้ำ นอกจากนั้นการแพร่ของสารยังขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุล รูปร่างและสภาพความเป็นขั้วของสารทดสอบ โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมี รวมทั้งระดับการเชื่อมโยงข้ามของฟิล์ม เป็นต้น (Cagri *et al.*, 2001) ซึ่งสารที่นำมาทดสอบในการทดลองนี้คือ น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารที่ไม่มีขั้ว ไม่สามารถละลายและแพร่ผ่านวุ้นซึ่งเป็นส่วนที่เป็นน้ำได้ แต่จากผลที่ได้ขัดแย้งกับการศึกษาในขั้นต้นที่พบว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันออริกานและคาเวอรอลมีกิจกรรมในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากการทดสอบในขั้นต้นมีการใช้ตัวทำละลายที่มีความสามารถในการเพิ่มการละลายของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย คือ DMSO และเอทานอล ซึ่งช่วยให้ส่วนที่เป็นน้ำเข้ากับน้ำมันได้ดียิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามการที่ฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่แสดงกิจกรรมด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีทดสอบนี้อาจเนื่องมาจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น ปฏิกิริยาทางเคมีของสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและโครงสร้างของฟิล์ม เนื่องจากการเติมสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลงในฟิล์มต้องคำนึงถึงขนาดโมเลกุลของสาร ความสามารถในการละลาย ซึ่งอาจจะส่งผลต่ออัตราการแพร่ของสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันออกจากฟิล์มได้ นอกจากนั้นปริมาณของสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมลงไปในฟิล์มที่สามารถแพร่ลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ในที่นี้คือ วุ้น อาจมีปริมาณต่ำกว่าค่า MOBICs ที่สามารถด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปัญหาดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการเติมสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในปริมาณที่น้อยเกินไป หรืออาจเกิดการสูญเสียสารดังกล่าวเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ช่วยเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากเมื่อตั้งทิ้งไว้อาจถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย สภาพที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์ม การทำแห้งฟิล์ม เป็นต้น (รัตนนา, 2547; Zivanovic *et al.*, 2005) โดยมีแนวทางแก้ไข คือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในแผ่นฟิล์ม การเพิ่มความหนา หรือความกว้างของแผ่นฟิล์ม ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณของสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในแผ่นฟิล์มเพิ่มมากขึ้น แต่ควรอยู่ในระดับที่ผู้บริโภคยอมรับได้ เพราะสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย หากใส่ในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้เกิดกลิ่นรสที่รุนแรงและกลิ่นผิดปกติได้

จากปัญหาที่พบเมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการ์ดิฟฟวชัน โดยมีการใช้ตัวกลางในการแพร่ของสารทดสอบ คือ อาหารแข็ง หรือวุ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยเกิดการแพร่กระจายของสารทดสอบได้ไม่ดี เนื่องจากไม่มีการใช้ตัวทำละลายที่มีความสามารถในการช่วยทำละลายจึงไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นจึงทดสอบโดยใช้วิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความเหมาะสมมากกว่า เนื่องจากตัวกลางที่ใช้ในการแพร่ของสารทดสอบเป็นของเหลวสามารถช่วยในการละลายของสารทดสอบออกจากฟิล์มได้ ประกอบกับฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เป็นพอลิเมอร์ที่ได้มาจากเซลลูโลส มีคุณสมบัติในการละลายน้ำ หรือสารละลายได้จึงอาจทำให้สารทดสอบละลายออกมาพร้อมกับฟิล์มและสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (นิธิยา, 2545) นอกจากนั้นทั้ง 2 วิธีดังกล่าวยังเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวกและให้ผลที่รวดเร็ว (Laguerre *et al.*, 2007) โดยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงมีความไวสูง ขณะที่วิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สามารถใช้ประเมินกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการทำลายอนุมูลอิสระของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะมีความเสถียร ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสาร หรือการเกิดปฏิกิริยาซึ่งจะแตกต่างกับวิธีการทดสอบการทำลายอนุมูลอิสระด้วยวิธีอื่น ๆ (Subhaj, 2006)

7.2 วิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

จากการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกาน หรือคาวาครอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) โดยใช้บีเอชเอเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ตั้งคราห์อ้างอิง การทดสอบแสดงผลเป็นร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและแสดงผลเป็นร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบด้วยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยตัดให้ฟิล์มมีสัดส่วนของพื้นที่ฟิล์มต่อสารละลายเป็น 1 ตารางเซนติเมตรต่อมิลลิลิตร

กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิง ผลการทดสอบ ณ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) พบว่าฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมบีเอชเอมีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ คาวาครอล

น้ำมันออริกาโน น้ำมันกระดังงาและน้ำมันกระชายซึ่งมีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำที่สุด ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 18 ขณะที่วิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าฟิล์มเซลล์โลสทีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมบีเอชเอ็มอีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดในทั้ง 2 ความเข้มข้นเช่นเดียวกับวิธีเบต้าแคโรทีนบลีชชิง โดย ณ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก) คาวาครอลและน้ำมันออริกาโนมีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระเท่ากับ 49.04 และ 48.86 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 รองลงมา คือ น้ำมันกระดังงาและน้ำมันกระชายตามลำดับ สำหรับ ณ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) พบว่าน้ำมันออริกาโนมีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระสูง รองลงมา คือ คาวาครอล น้ำมันกระชายและน้ำมันกระดังงาตามลำดับ โดยเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นพบว่าน้ำมันออริกาโนและน้ำมันกระชายมีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นมากกว่าน้ำมันกระดังงาและคาวาครอล ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 19

จากผลการทดสอบ พบว่าคาวาครอลมีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด เนื่องจากคาวาครอลเป็นสารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันของไขมันในช่วงต้น โดยหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างทำให้คาวาครอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง (Sawa *et al.*, 1999) สอดคล้องกับ Madsen *et al.* (1996) ศึกษาสารสกัดออริกาโน พบว่าออริกาโนมีร้อยละของการทำลายอนุมูลอิสระที่สูง เนื่องจากมีคาวาครอลเป็นสารสำคัญหลักประกอบกับหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างจึงทำให้มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 18 กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และ 1.0 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง

ฟิล์มตัวอย่าง	กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ร้อยละ)	
	ร้อยละ 0.5	ร้อยละ 1.0
เซลล์โลสอีเทอร์	23.75±0.25 ^a	24.53±0.48 ^a
น้ำมันกระดังงา-เซลล์โลสอีเทอร์	37.71±0.89 ^b	49.65±0.65 ^c
น้ำมันกระชาย-เซลล์โลสอีเทอร์	24.48±0.82 ^a	27.90±0.17 ^b
น้ำมันออริกาน-เซลล์โลสอีเทอร์	50.24±0.47 ^c	53.73±0.50 ^d
คาวาครอล-เซลล์โลสอีเทอร์	67.27±0.78 ^d	83.99±0.63 ^e
บีเอชเอ-เซลล์โลสอีเทอร์	98.09±0.51 ^e	107.27±1.08 ^f

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 19 ร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ซึ่งมีการเติมน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0

ฟิล์มตัวอย่าง	การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (ร้อยละ)	
	ร้อยละ 0.5	ร้อยละ 1.0
เซลล์โลสอีเทอร์	33.82±0.50 ^a	36.29±1.08 ^a
น้ำมันกระดังงา-เซลล์โลสอีเทอร์	38.96±0.63 ^c	55.33±0.86 ^b
น้ำมันกระชาย-เซลล์โลสอีเทอร์	35.28±1.08 ^b	56.60±0.92 ^c
น้ำมันออริกาน-เซลล์โลสอีเทอร์	48.86±0.77 ^d	71.89±0.79 ^c
คาวาครอล-เซลล์โลสอีเทอร์	49.04±1.11 ^d	70.43±0.56 ^d
บีเอชเอ-เซลล์โลสอีเทอร์	72.34±0.50 ^e	84.52±0.51 ^f

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย พบว่าน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชายและน้ำมันออริกานที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระสูงกว่าร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิง ขณะที่ควาครอลและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงปิเอชเอที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระต่ำกว่าร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิง สอดคล้องกับ Phoopuritham *et al.* (2006) ศึกษาร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลูและสารสกัดชาเขียว ณ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนัก) พบว่าวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระสูงกว่าร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงเช่นกัน

Obame *et al.* (2007) ศึกษาร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันมะกอกดำแอฟริกา (*Canarium schweinfurthii* Engl.) ณ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงปิเอชเอที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร พบว่าวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH มีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระสูงกว่ากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิง โดยปิเอชเอที่มีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าน้ำมันจาก *Canarium schweinfurthii* Engl. ในทุก ๆ ความเข้มข้นที่ทดสอบ เช่นเดียวกับ Skmen *et al.* (2004) ศึกษาร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงและร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันออริกาน *O. acutidens* พบว่ามีร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเท่ากับ 90 และมีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 133.70 ซึ่งมีค่ามากกว่าการทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลิซซิงเช่นกัน

วิธีศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระพบว่าการทดสอบหลายวิธี เช่น total equivalent antioxidant capacity (TEAC) total reducing antioxidant power (TRAP) ferric reducing antioxidant power (FRAP) oxygen radical absorbance capacity (ORAC) low-density lipoproteins (LDL) DPPH luminol-photochemiluminescence (PCL) และเบต้าแคโรทีนบลิชชิง เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยต่าง ๆ มักไม่ใช้การทดสอบเพียงวิธีเดียวเพื่อสรุปความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารทดสอบ เนื่องจากสารทดสอบแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันทั้งทางด้านความซับซ้อนของโครงสร้าง องค์ประกอบทางเคมี หมู่ที่ทำหน้าที่ความเป็นขั้วของสาร พฤติกรรมทางเคมีและปฏิกิริยาทางเคมีของสาร เป็นต้น จึงทำให้ค่าที่ได้ในแต่ละการทดสอบมีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามมีวิธีทดสอบที่นิยมใช้ในการทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระ เช่น วิธี TEAC DPPH และ PCL เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทดสอบกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ทั้งสารที่มีความเป็นขั้วและไม่มีขั้ว คือ มีคุณสมบัติชอบน้ำและไขมัน ซึ่งทำให้ผลการทดสอบที่ได้มีความน่าเชื่อถือและครอบคลุมมากกว่าวิธีทดสอบบางวิธีที่มักพบข้อเสีย เช่น วิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟวชันที่เมื่อใช้ในการทดสอบกับสารที่ไม่มีขั้ว เช่น น้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจะให้ผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่น้อย หรือไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากวิธีดังกล่าวเหมาะสมสำหรับการแพร่ผ่านของสารที่มีความเป็นขั้วสามารถแพร่ผ่านชั้น หรืออาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบไปด้วยน้ำได้ (Dorman *et al.*, 2000; Sacchetti *et al.*, 2005) แต่ในกรณีของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย พบว่าวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบ คือ วิธีเบต้าแคโรทีนบลิชชิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Kelen and Tepe, 2007)

จากการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เดิม น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยทดสอบ พบว่าควาโครอลแสดงความสามารถได้ทั้งการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำควาโครอลมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่สามารถเกิดการเสื่อมเสียได้จากจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้คัดเลือกผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาสั้น เน่าเสียได้ง่าย สามารถเสื่อมเสียได้ทั้งการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์และการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมี เช่น การเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว นอกจากนั้นอาจพบการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการขายและการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น ซึ่งส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้ผู้ผลิตบางรายลักลอบใช้สารเร่งเนื้อแดง เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งที่เป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และเป็นสาร

อันตรายต่อผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการประยุกต์ใช้ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมคาวาครอลซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บรักษาการจัดจำหน่ายและความปลอดภัยของผู้บริโภคจากการบริโภคเนื้อสุกร

8. การศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด

8.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

จากการทดลองนำฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมคาวาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) นำมาห่อเนื้อสุกรบดแสดงดังภาพที่ 17 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 และอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 โดยตรวจคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปด 7 ชนิด ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา จำนวน *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *L. monocytogenes* และ *Salmonella* sp.



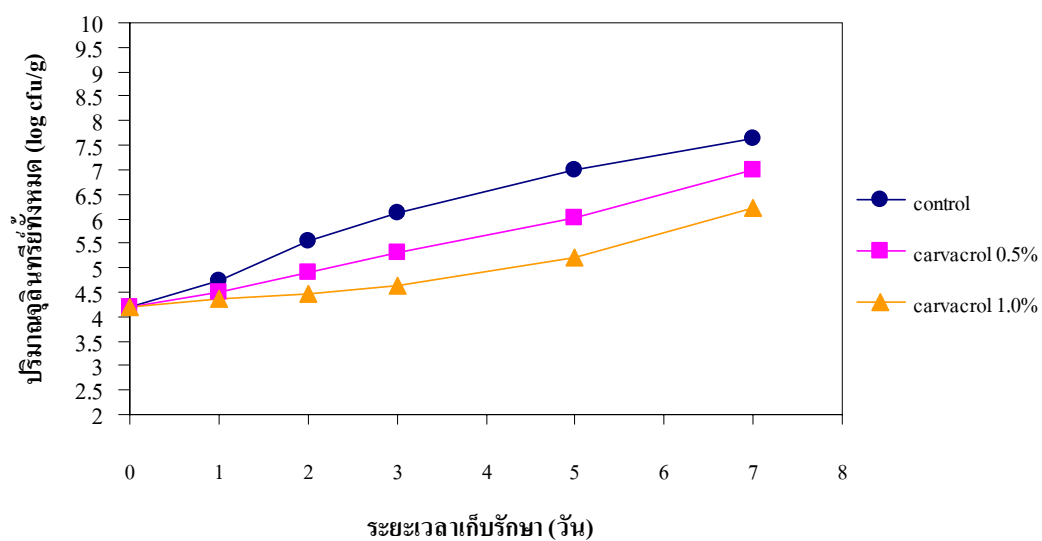
ภาพที่ 17 เนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมคาวาครอล

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิด เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียสมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมดเท่ากับ $4.20 \log \text{CFU/กรัม}$ สอดคล้องกับ สัญชัย (2543) กล่าวว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อบดจะมีปริมาณระหว่าง $1 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม ($4-5 \log \text{CFU/กรัม}$) โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในการทดลองเป็นไปตามมาตรฐานของสำนักงาน

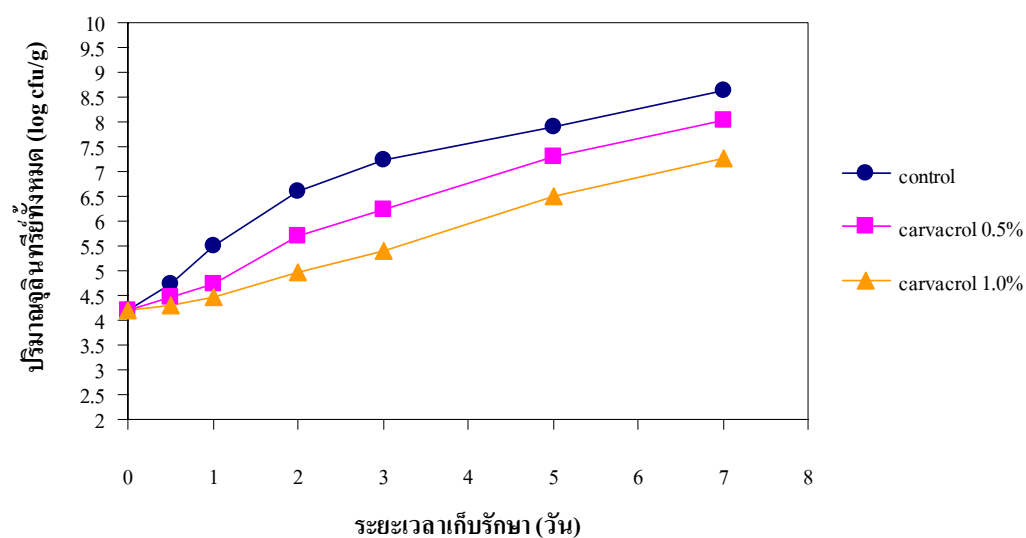
มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมดต้องไม่เกิน 5×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม ($5.70 \log \text{CFU/กรัม}$) โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น

เมื่อเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด กล่าวคือปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ $6.21 \log \text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม) ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $6.99 \log \text{CFU/กรัม}$ และ $7.63 \log \text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน เมื่อห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลร้อยละ 1.0 มีค่าเท่ากับ $7.27 \log \text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม) โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $8.02 \log \text{CFU/กรัม}$ และ $8.63 \log \text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 18

จากการเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 5×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม ($5.70 \log \text{CFU/กรัม}$) ดังตารางผนวกที่ จ8 พบว่าเมื่อเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ ร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสุกรบดจากการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ เป็นเวลา 1 และ 3 วันตามลำดับ ขณะที่เมื่อเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ดังตารางผนวกที่ จ9 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 1 และ 2 วันตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 18 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

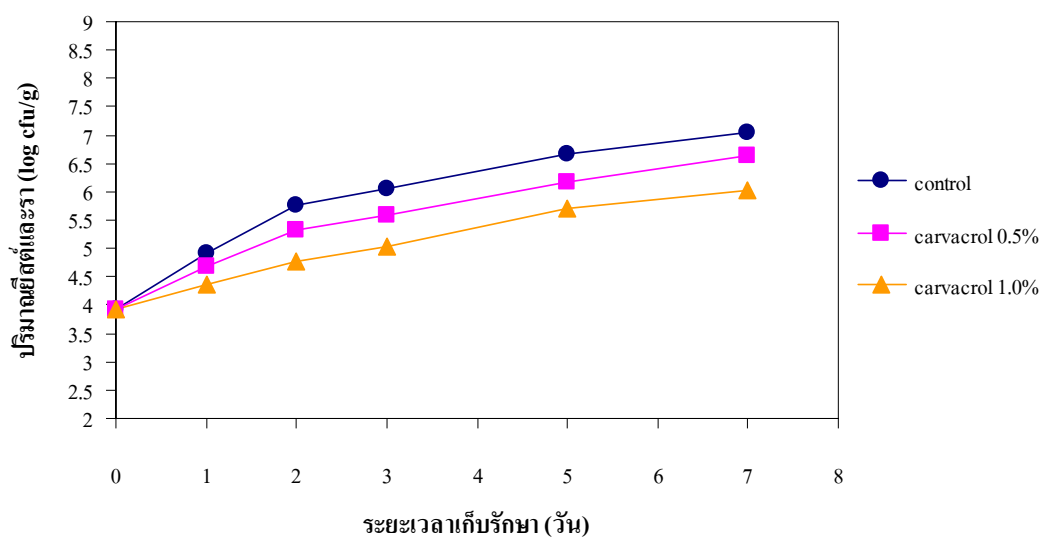
ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Nadarajah *et al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพของ แอลลิล ไอโซไทโอไซยานเนตต่อการต้านการเจริญของแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ ปานกลาง หรือแบคทีเรียชนิดมีโซไฟล์ในเนื้อวัวบด ซึ่งเก็บรักษาในสภาวะของก๊าซไนโตรเจนที่ อุณหภูมิแช่เย็นและแช่แข็ง โดยการผสม AIT 0.7 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นร้อยละ 94) และน้ำมัน ข้าวโพด 0.3 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายลงในกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ก่อนจะปิดลงบนก้อนเนื้อวัวบดน้ำหนัก 10 กรัมและขึ้นรูปเนื้อวัวให้มีลักษณะเป็น แผ่นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ความหนา 1 เซนติเมตร พบว่าเมื่อใช้ AIT ผสม น้ำมันข้าวโพดปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -18 องศาเซลเซียส ไม่สามารถ ลดปริมาณของแบคทีเรียชนิดมีโซไฟล์ในเนื้อวัวบดได้ ขณะที่เมื่อใช้ AIT ผสมน้ำมันข้าวโพด ปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1.0 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถยืดระยะเวลาแลคเฟสของ แบคทีเรียชนิดมีโซไฟล์ได้เป็นระยะเวลา 3 วันและที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส พบว่าเนื้อวัวบดไม่มีความแตกต่างจากตัวอย่าง ควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน จึงกล่าวได้ว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารต้าน จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น

Yin and Cheng (2003) ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของสารประกอบ ซัลเฟอร์ 4 ชนิด คือ ไดแอลลิล ซัลไฟด์ (diallyl sulfide; DAS) ไดแอลลิล ไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide; DADS) เอส-เอทิล ซีสเทอีน (s-ethyl cysteine; SEC) เอ็น-อะซีติล ซีสเทอีน (n-acetyl cysteine; NAC) โดยการผสมลงในเนื้อวัวซึ่งมีจำนวนเซลล์จุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใช้ในการทดสอบ เท่ากับ 1×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส วิเคราะห์หาปริมาณ จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค หลังการทดสอบพบว่าปริมาณของ สารประกอบซัลเฟอร์ที่ใช้มีผลในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย สารประกอบ DAS และ DADS มีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ทั้งหมดได้ดีที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วันและสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิด โรค 5 ชนิด คือ *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus* และ *C. jejuni* ได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 10 วัน

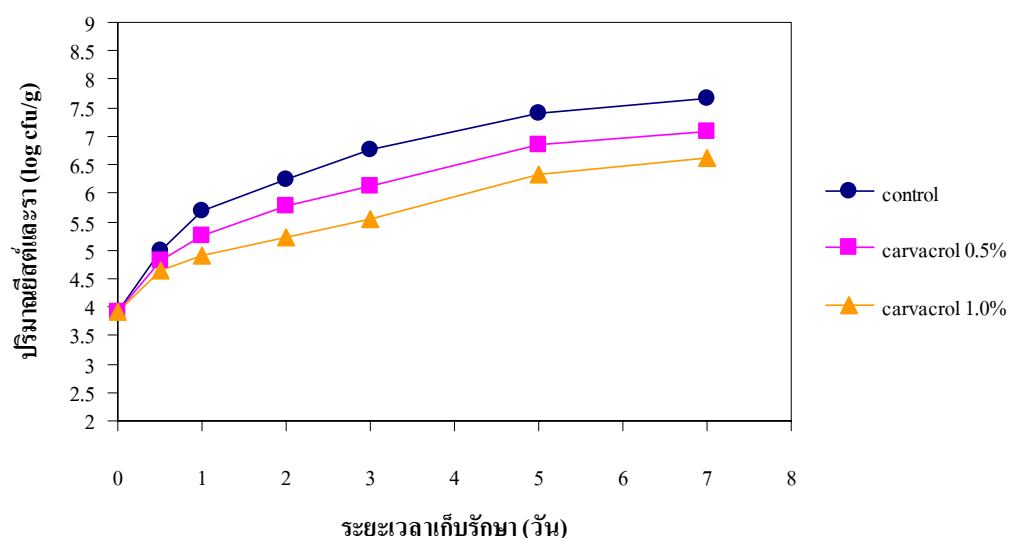
จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเคลือบโลสอีเทอร์เดิมคาครอลซึ่งเป็นสารต้านจุลินทรีย์จะช่วยต้านการเจริญของปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรบดได้ดีกว่าการห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเพียงอย่าง เดียว โดยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเคลือบโลสอีเทอร์เดิมคาครอลร้อยละ 1.0

(โดยน้ำหนัก) มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรบดได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก) โดยพบว่าการเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสมีการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่า สอดคล้องกับ สัตยชัย (2543) พบว่าการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิระดับเหนือจุดเยือกแข็งเล็กน้อย อุณหภูมิดังกล่าวจะทำให้การเจริญของรา ยีสต์และแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำสามารถเจริญได้อย่างช้า ๆ นอกจากนั้นจุลินทรีย์ที่ทำให้เนิ่น่าเสียจะพบได้น้อยมากที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ๆ เช่นเดียวกันกับ งามทิพย์ (2538) กล่าวว่า การควบคุมอุณหภูมิการเก็บรักษาให้ต่ำและคงที่มากที่สุดตลอดระยะเวลาตั้งแต่ผู้ผลิตไปจนถึงผู้บริโภค ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมไม่ควรเกิน 2-4 องศาเซลเซียส เนื่องจากจะช่วยด้านการเจริญของจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ได้ในระดับหนึ่งและช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาของเนื้อได้อีกด้วย

การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดมีปริมาณยีสต์และราเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณยีสต์และราเริ่มต้นเท่ากับ $3.93 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 1.0 สามารถด้านการเจริญของยีสต์และราได้มากที่สุด โดยปริมาณยีสต์และราของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $6.02 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งปริมาณยีสต์และราดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณยีสต์และราตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $6.64 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $7.06 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 1.0 มีปริมาณยีสต์และราตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันเท่ากับ $6.61 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณยีสต์และราต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ซึ่งมีปริมาณยีสต์และราตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $7.08 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $7.68 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 19



(ก)



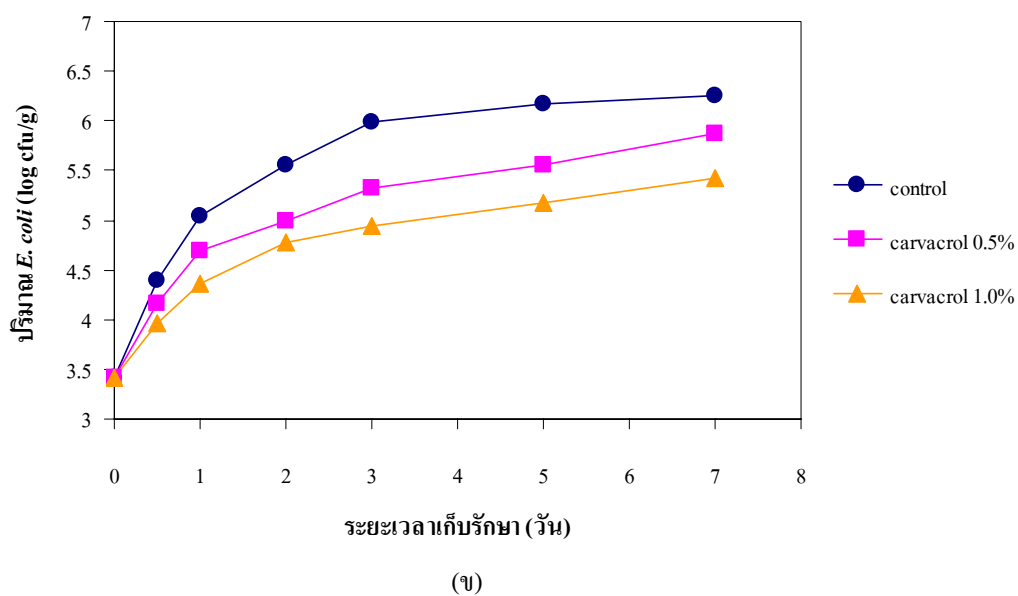
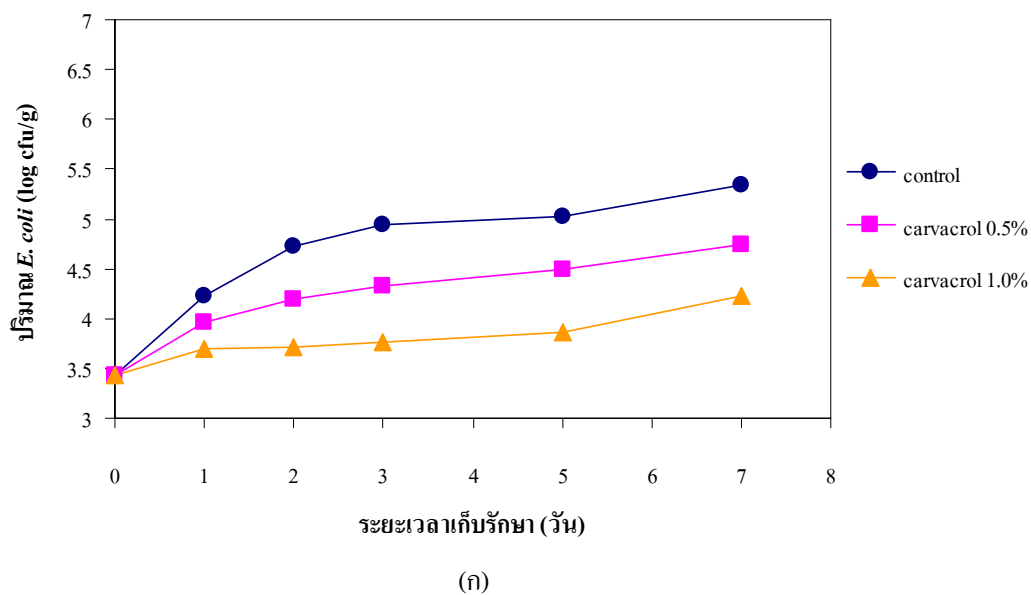
(ข)

ภาพที่ 19 ปริมาณยีสต์และราของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

การเสื่อมเสียของเนื้อสดแช่เย็น มักพบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด รองลงมาคือ ยีสต์และรา ซึ่งจะมีการแพร่กระจายช้ากว่า โดยเชื้อยีสต์และราที่มีรายงานการพบบ่อยคือ *Candida* sp., *Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Sporotrichum* sp. และ *Thamnidium* sp. เป็นต้น ลักษณะของการเสื่อมเสียคือ ทำให้เกิดเมือก การย่อยไขมัน ทำให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่ดีและทำให้สีของเนื้อเปลี่ยนเป็นสีขาว สีดำ หรือแผ่นสีเขียวบนเนื้อสัตว์ ในกรณีของเนื้อไก่มักไม่ค่อยพบเชื้อยีสต์ หรืออาจพบได้บ้างในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วจะพบยีสต์ในปริมาณมากขึ้นเมื่อมีการใส่สารปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ ซึ่งการกระทำดังกล่าวทำให้แบคทีเรียถูกทำลายจึงเป็นผลให้เชื้อยีสต์เจริญอย่างโดดเด่น ยีสต์ที่พบ ได้แก่ *Candida* sp., *Rhodotorula* sp. และ *Torula* sp. เป็นต้น (บุษกร, 2547)

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *E. coli* ของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ *E. coli* เริ่มต้นเท่ากับ $3.42 \log\text{CFU/กรัม}$ โดยปริมาณเชื้อ *E. coli* จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 1.0 สามารถด้านการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้มากที่สุด โดยปริมาณเชื้อ *E. coli* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $4.23 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณ *E. coli* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $4.74 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $5.35 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ สอดคล้องกับ Kanatt *et.al.* (2008) ทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่างไคโตซานและมินท์ โดยการเติมสารผสมความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ลงในเนื้อลูกแกะและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-3 องศาเซลเซียส พบว่าสารทดสอบสามารถด้านการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ $1 \log\text{CFU/กรัม}$ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา

สำหรับการเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 1.0 ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *E. coli* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $5.43 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งปริมาณเชื้อที่ได้มีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ซึ่งมีปริมาณ *E. coli* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $5.87 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $6.25 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ ดังภาพที่ 20



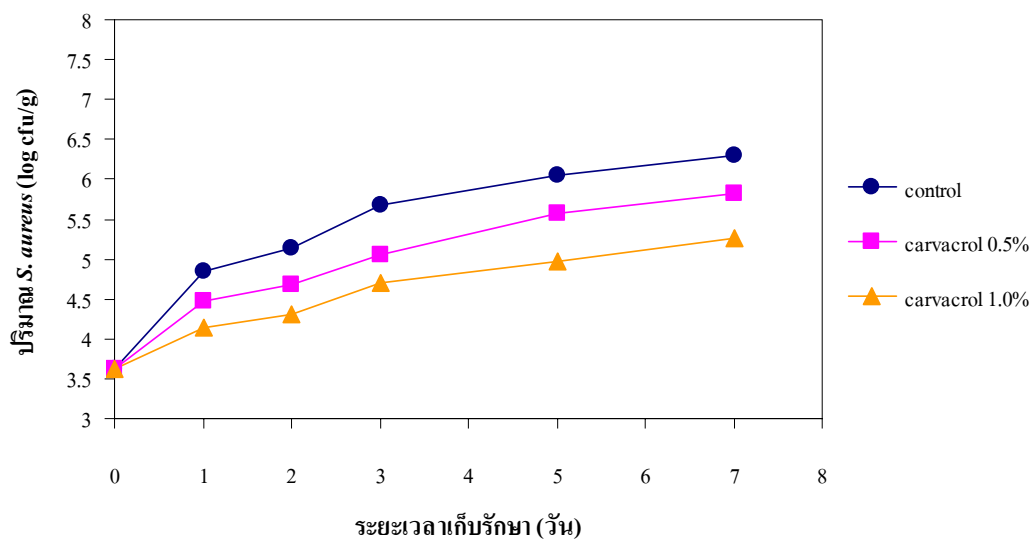
ภาพที่ 20 ปริมาณ *Escherichia coli* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

Nadarajah *et al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพของแอลกอฮอล์ ไอโซโทไอโซยานต์ต่อการต้าน *E. coli* O157:H7 ในเนื้อวัวบดที่เก็บรักษาในสภาวะของก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิแช่เย็น โดยการถ่ายเชื้อ *E. coli* O157:H7 ลงในเนื้อวัวบดแผ่นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ความหนา 1 เซนติเมตร ปริมาณ 3 logCFU/กรัม จากนั้นปิดด้วยกระดาษกรองที่ผสม AIT กับน้ำมันข้าวโพด 0.5 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้จาก 3.3 logCFU/กรัม จนไม่สามารถนับจำนวนเชื้อได้ในวันที่ 18 และเมื่อใช้ AIT ผสมน้ำมันข้าวโพด 1.0 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้จาก 3.6 logCFU/กรัม จนไม่สามารถนับจำนวนเชื้อได้ในวันที่ 12 และลดปริมาณเชื้อลงได้เล็กน้อยในช่วงวันที่ 3-8 ของการเก็บรักษาตามลำดับ ขณะที่เมื่อใช้ AIT ผสมน้ำมันข้าวโพด 1.0 มิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อจนไม่สามารถนับปริมาณได้ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา สำหรับการตรวจสอบปริมาณ *E. coli* O157:H7 หลังจากการถ่ายเชื้อลงไปปริมาณ 6 logCFU/กรัม พบว่าที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส AIT ผสมน้ำมันข้าวโพด 0.5 มิลลิลิตร ไม่สามารถลดปริมาณของ *E. coli* O157:H7 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่เมื่อใช้ AIT ผสมน้ำมันข้าวโพด 1.0 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณของ *E. coli* O157:H7 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากวันที่ 12 ขณะที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่สามารถลดปริมาณของ *E. coli* O157:H7 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน

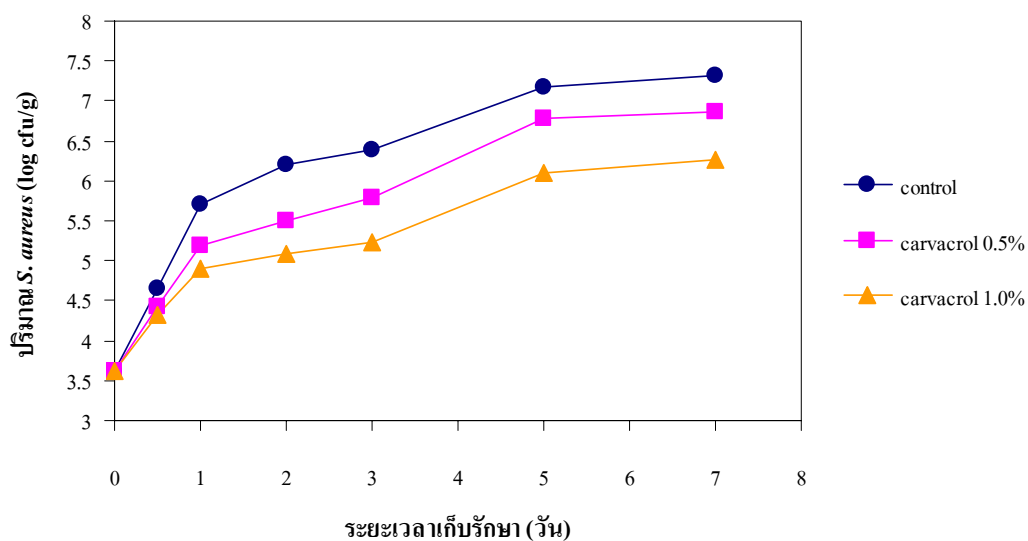
การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ *S. aureus* เริ่มต้นเท่ากับ 3.62 logCFU/กรัม โดยปริมาณเชื้อ *S. aureus* จะมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้มากที่สุด โดยปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ 5.27 logCFU/กรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณ *S. aureus* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 5.81 logCFU/กรัมและ 6.30 logCFU/กรัมตามลำดับ สอดคล้องกับ Kanatt *et al.* (2008) ทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่างไคโตซานและมินท์ โดยการเติมสารผสมความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ลงในเนื้อลูกแกะและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-3 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* ได้ 2-3 logCFU/กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา

การเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 1.0 ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $6.26 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งปริมาณเชื้อที่ได้มีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ซึ่งมีปริมาณ *S. aureus* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $6.86 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $7.33 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 21

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ *L. monocytogenes* เริ่มต้นเท่ากับ $3.40 \log\text{CFU/กรัม}$ โดยปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้มากที่สุด โดยปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ $3.65 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณ *L. monocytogenes* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $4.12 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $4.48 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ สอดคล้องกับ Burt (2004) พบว่ายูจีนอล น้ำมันผักชี น้ำมันกานพลู น้ำมันออริกาโนและน้ำมันไทม์เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 5-20 ไมโครลิตรต่อกรัมสามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes*, *A. hydrophila* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ โดยสามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้เพียงเล็กน้อย



(ก)



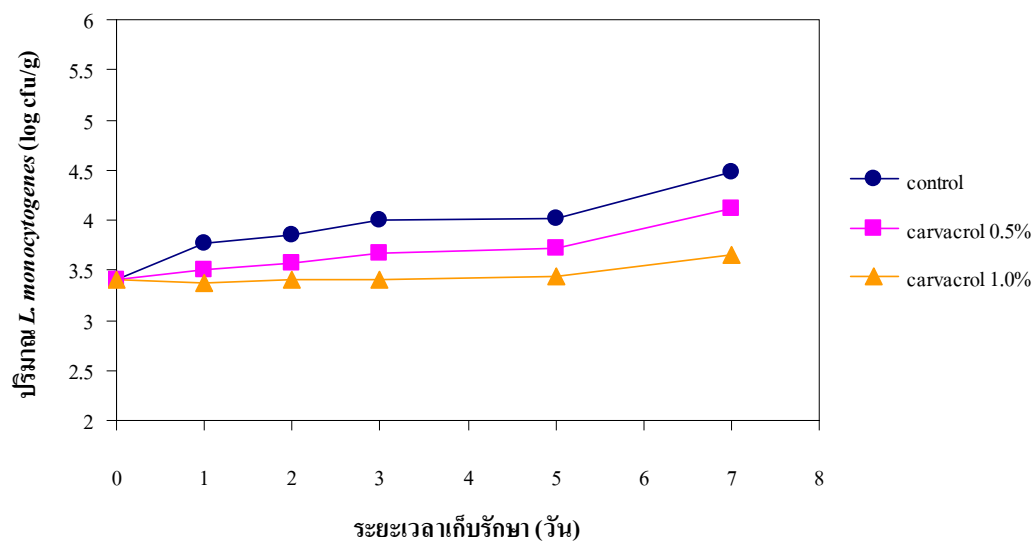
(ข)

ภาพที่ 21 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

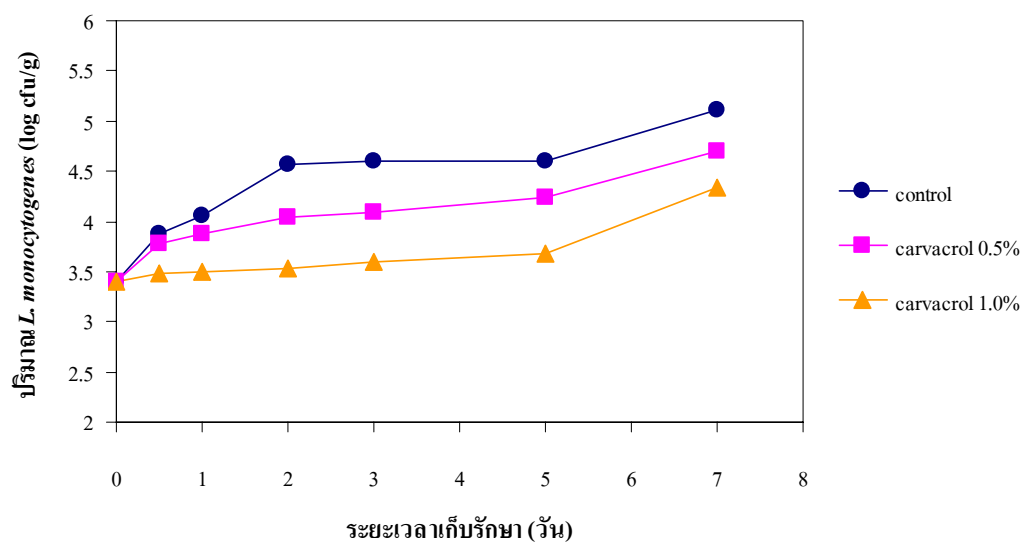
Lopez-Mendoza *et al.* (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของไนซินและกรดแลกติกสำหรับการต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ในเนื้อสุกร โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าการใช้ไนซิน หรือกรดแลกติกเพียงชนิดเดียวแสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้น้อยกว่า โดยการใช้ไนซินความเข้มข้น 500 ppm ร่วมกับกรดแลกติกความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้สูงที่สุด เช่นเดียวกับ Zhang *et al.* (2009) ศึกษาประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในเนื้อสุกร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลา 28 วัน พบว่าสารสกัดผสมจากโรสแมรี่และชะเอมความเข้มข้น 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณของ *L. monocytogenes* ได้ 2.9, 3.1 และ 3.6 logCFU/กรัมตามลำดับ จึงอาจกล่าวได้ว่าการใช้สารต้านจุลินทรีย์ร่วมกันสามารถเสริมความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้สารต้านจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว

สำหรับการเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสไฮดรอกซีโพรพิลคาวาครอลร้อยละ 1.0 ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ 4.34 logCFU/กรัม ซึ่งปริมาณเชื้อที่ได้มีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสไฮดรอกซีโพรพิลคาวาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสไฮดรอกซีโพรพิลคาวาครอล ซึ่งมียปริมาณ *L. monocytogenes* ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 4.70 logCFU/กรัม และ 5.11 logCFU/กรัม ตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 22

Solomakos *et al.* (2008) ศึกษาประสิทธิภาพสำหรับการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันไทม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3, 0.6 และ 0.9 และไนซินที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 หน่วยสากลต่อกรัม รวมทั้งการใช้สารผสมระหว่างน้ำมันไทม์กับไนซินในเนื้อวัวบด พบว่าไนซินที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 หน่วยสากลต่อกรัมแสดงความสามารถในการต้านการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้ โดยประสิทธิภาพในการต้านขึ้นอยู่กับปริมาณของไนซินและเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ ในการทดสอบมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยการใช้ น้ำมันไทม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 ร่วมกับไนซินที่ความเข้มข้น 1000 หน่วยสากลต่อกรัม สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ 2 logCFU/กรัม ในวันที่ 2 ถึงวันที่ 12 เมื่อเก็บรักษาเนื้อวัวบดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



(ก)



(ข)

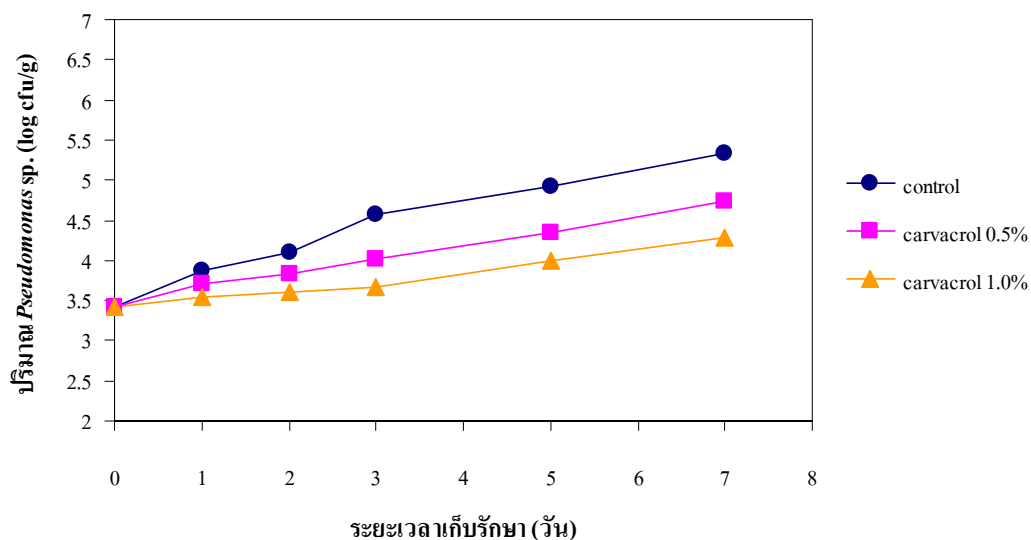
ภาพที่ 22 ปริมาณ *Listeria monocytogenes* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของเนื้อสุกดิบ พบว่าเนื้อสุกดิบที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ *Pseudomonas* sp. เริ่มต้นเท่ากับ $3.41 \log\text{CFU/กรัม}$ โดยปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* sp. จะเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอรร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ได้มากที่สุด โดยปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของเนื้อสุกดิบตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ $4.29 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอรร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณ *Pseudomonas* sp. ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $4.74 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $5.33 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ สอดคล้องกับ Kanatt *et al.* (2008) ทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่างไคโตซานและมินท์ โดยการเติมสารผสมความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ลงในเนื้อลูกแกะและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-3 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถต้านการเจริญของ *Pseudomonas* sp. ได้ $1 \log\text{CFU/กรัม}$ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา

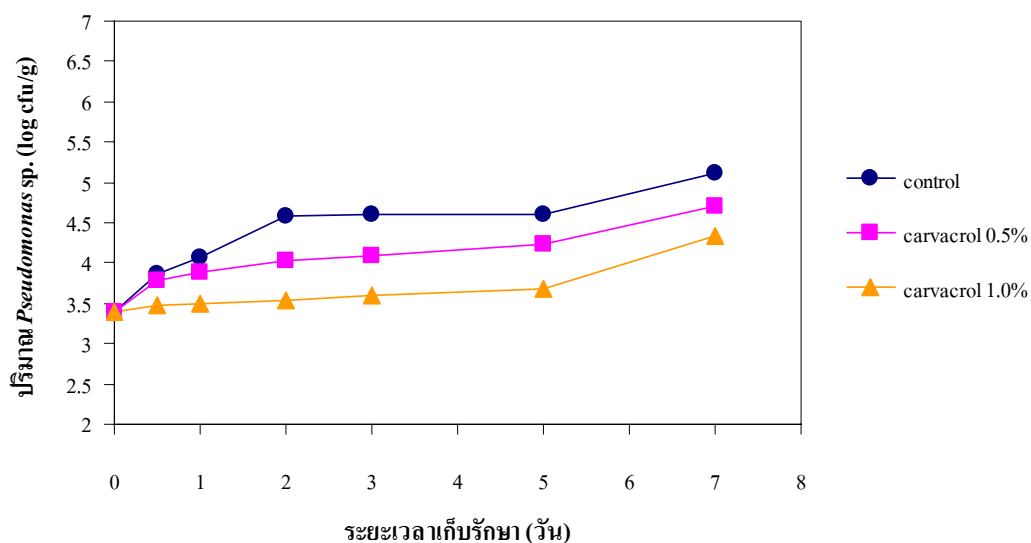
สำหรับการเก็บรักษาเนื้อสุกดิบที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอรร้อยละ 1.0 ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของเนื้อสุกดิบตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $4.85 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งปริมาณเชื้อที่ได้มีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมความครอรร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ซึ่งมีปริมาณ *Pseudomonas* sp. ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $5.45 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $6.26 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 23

Careaga *et al.* (2003) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพริก (*Capsicum annuum*) ซึ่งมีสารสำคัญหลัก คือ แคปไซซิน (capsaicin) ร้อยละ 40.8 และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) ร้อยละ 5 ต่อการต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* โดยการถ่ายเชื้อลงในเนื้อวัวบด $3 \log\text{CFU/กรัม}$ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อเนื้อบด 100 กรัมเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* โดยสามารถต้านการเจริญให้อยู่ในระดับ $3 \log\text{CFU/กรัม}$ ได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา สำหรับความเข้มข้นที่ 2.5 มิลลิกรัมต่อเนื้อบด 100 กรัมสามารถลดปริมาณของ

P. aeruginosa ได้ 1 logCFU/กรัม เป็นเวลา 1-5 วัน ขณะที่ความเข้มข้น 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ต่อเนื้อบด 100 กรัมสามารถทำลาย *P. aeruginosa* ได้หลังจากวันที่ 5, 3 และ 3 ตามลำดับ



(ก)



(ข)

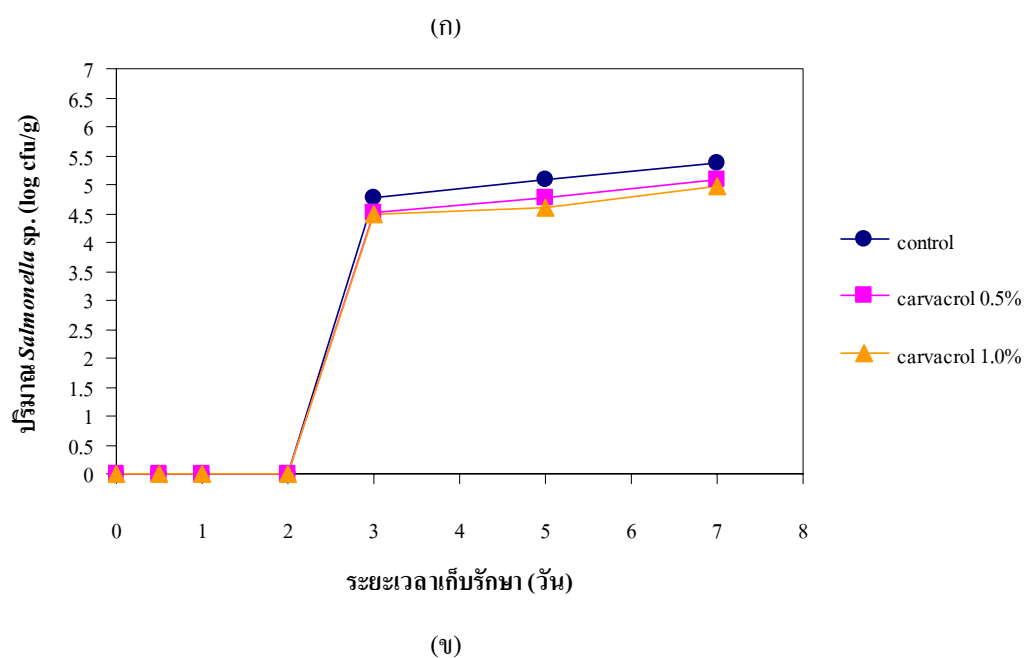
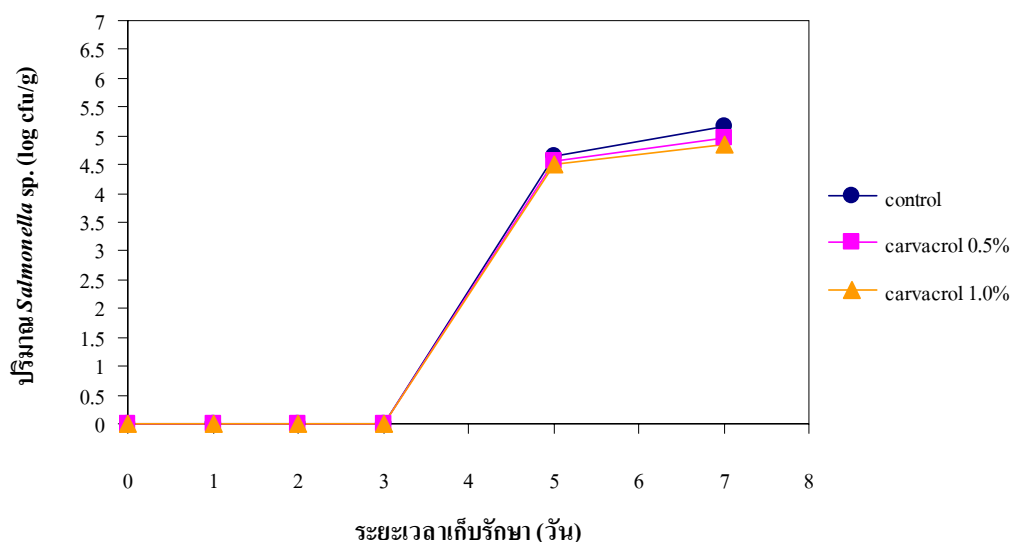
ภาพที่ 23 ปริมาณ *Pseudomonas* sp. ของเนื้อสุกอบห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ เคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เติม คาวาครอลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนักที่ (ก) อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ของเนื้อสุกรบด พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 ไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของ *Salmonella* sp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม โดยปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 1.0 สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp. ได้มากที่สุด โดยปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ $4.86 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณ *Salmonella* sp. ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $4.97 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $5.18 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ

จากการศึกษาของ Kanatt *et.al.* (2008) ทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่างไคโตซานและมินท์ โดยการเติมสารผสมความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ลงในเนื้อลูกแกะและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-3 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถต้านการเจริญของ *S. Typhimurium* ได้ $1 \log\text{CFU/กรัม}$ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา

การเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 1.0 ณ อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ของเนื้อสุกรบดตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วันมีค่าเท่ากับ $4.96 \log\text{CFU/กรัม}$ ซึ่งปริมาณเชื้อที่ได้มีค่าต่ำกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ซึ่งมีปริมาณ *Salmonella* sp. ตลอดอายุการเก็บรักษาเท่ากับ $5.08 \log\text{CFU/กรัม}$ และ $5.38 \log\text{CFU/กรัม}$ ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 24 โดยควาครอลสามารถต้านการเจริญของ *Salmonella* sp. ได้น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในเนื้อสุกรบดชนิดอื่น ๆ ที่ทำการทดสอบ

Careaga *et al.* (2003) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพริก (*C. annuum*) ต่อการต้านการเจริญของ *S. Typhimurium* โดยถ่ายเชื้อลงในเนื้อวุ้นคนมีปริมาณ 3 logCFU/กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านการเจริญของ *S. Typhimurium* คือ 1.5 มิลลิลิตรต่อเนื้อมด 100 กรัม



ภาพที่ 24 ปริมาณ *Salmonella* sp. ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครลร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด พบว่าบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอล สามารถช่วยยืดอายุในระหว่างการเก็บรักษา การจัดจำหน่ายและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด โดยการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้เช่นเดียวกับน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ เช่น ชินนามาลดีไฮด์ แอลลิล ไอโซไทโอไซยานเนต ยูจีนอล จีรานีอล น้ำมันกานพลู น้ำมันออริกาโน น้ำมันเซจ น้ำมันมินท์ น้ำมันโรสแมรี่ น้ำมันไทม์ น้ำมันมัสตาร์ด เป็นต้น ซึ่งน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารโดยปริมาณที่มักนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจะอยู่ระหว่างร้อยละ 1-3 เนื่องจากปริมาณสารดังกล่าวไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสและผู้บริโภคสามารถยอมรับได้ (Shelef, 1983; Burt, 2004)

8.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่าง เพื่อต้องการทดสอบว่าผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างของเนื้อสุกรบดซึ่งห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เป็นตัวควบคุมกับฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ โดยใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 15 คน ซึ่งแต่ละคนจะต้องทดสอบในแต่ละตัวอย่างเป็นจำนวน 2 ครั้ง ผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางที่ 18 และ 19

ผลการทดสอบจากตารางพบว่าจากจำนวนที่ทำการทดสอบทั้งหมด 30 ครั้ง ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับตารางวิเคราะห์ระดับนัยสำคัญ พบว่าตัวอย่างที่ทดสอบจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ก็ต่อเมื่อจะต้องมีจำนวนผู้ที่ตอบถูกต้องทั้งหมด 15 ครั้ง จากผลการทดลองที่ได้พบว่าผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่เติมควาครอลร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) ได้ทั้ง 2 อุณหภูมิที่เก็บรักษา คือ อุณหภูมิ 4 ± 2 และ 10 ± 2 องศาเซลเซียส แสดงว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาครอลมีความเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรบด

ตารางที่ 20 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่างของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบ
เซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์			
	ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก		ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก	
	ตอบถูก	ระดับนัยสำคัญ	ตอบถูก	ระดับนัยสำคัญ
0	6	NS ¹	9	NS
1	9	NS	12	NS
2	6	NS	13	NS
3	11	NS	10	NS
5	9	NS	14	NS
7	10	NS	10	NS

หมายเหตุ จำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด 15 คน ทดสอบ 2 ครั้ง

¹ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 21 การทดสอบทางด้านการประสาทสัมผัสโดยวิธีการเลือกตัวอย่างที่จากสามตัวอย่างของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์			
	ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก		ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก	
	ตอบถูก	ระดับนัยสำคัญ	ตอบถูก	ระดับนัยสำคัญ
0	9	NS ¹	12	NS
0.5	11	NS	10	NS
1	10	NS	9	NS
2	9	NS	13	NS
3	7	NS	9	NS
5	14	NS	9	NS
7	10	NS	11	NS

หมายเหตุ จำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด 15 คน ทดสอบ 2 ครั้ง

¹ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การนำน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารไม่ควรส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค จากงานวิจัยของ Tsigarida *et al.* (2000) พบว่าการเติมน้ำมันออริกาโนร้อยละ 0.8 (โดยปริมาตร) ในเนื้อวัวและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ผู้ทดสอบสามารถยอมรับกลิ่นของเนื้อวัวสดและเนื้อวัวที่นำไปปรุงสุกได้ เช่นเดียวกับ Skandamis and Nychas (2001) ศึกษาคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ กลิ่นรส กลิ่นและสีของเนื้อวัวบดที่เติมน้ำมันออริกาโน ความเข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตรโดยน้ำหนัก) ที่บรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศและสภาวะสุญญากาศ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าหลังจากการปรุงสุกผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อวัวบดที่เติมน้ำมันออริกาโนกับตัวอย่างควบคุมได้

Suppakul *et al.* (2008) พบว่าผู้ทดสอบชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างของเนยแข็งที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเดิมลินาลอลได้ตลอดอายุการเก็บรักษา 6 สัปดาห์ ในขณะที่สามารถแยกความแตกต่างของเนยแข็งที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเดิมเมทิลซาวีคอลได้บ้างในช่วงของอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าผู้ทดสอบจะใช้เวลาค่อนข้างมากในการตัดสินใจเพื่อแยกความแตกต่างในระหว่างการทดสอบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ลินาลอลและเมทิลซาวีคอลในระดับความเข้มข้นต่ำมากเป็นสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนยแข็งได้

การใช้สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในการยืดอายุการเก็บรักษาและป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร พบว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยบางชนิดสามารถช่วยเสริมกลิ่นรส หรือเติมแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดได้ เช่น ผลิตภัณฑ์ปลาการเติมควาครอลจะให้กลิ่นรสเผ็ดปานกลาง ผลิตภัณฑ์ขนมอบ หรือเครื่องดื่ม ชิตรอลจะให้กลิ่นมะนาวและจีรานีโอลให้กลิ่นกุหลาบ เป็นต้น (Kim *et al.*, 1995) ดังนั้นการเลือกใช้สารสกัดจากธรรมชาติโดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจะต้องพิจารณาเลือกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์และจะต้องพิจารณาถึงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารที่จะนำไปใช้ด้วย โดยควรคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยหรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นรสที่สามารถเข้ากันได้ดีกับผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาทางด้านกลิ่นที่จะส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์อาหารชนิดนั้น ๆ ได้

9. การศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร บด

9.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ

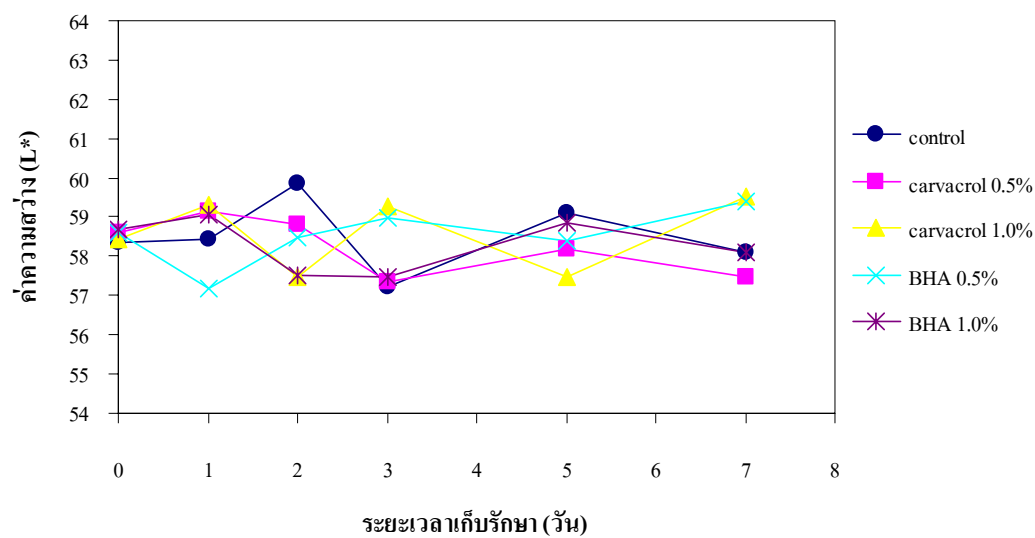
จากการศึกษาลักษณะปรากฏทางด้านสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์และฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เดิมควาครอลร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) เปรียบเทียบกับฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เดิมบีเอชเอซึ่งเป็นสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิงร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) ณ ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ โดยวัดค่าสีที่บริเวณต่าง ๆ ของเนื้อสุกรบด ณ ตำแหน่งต่าง ๆ จำนวน 10 ตำแหน่ง ด้วยเครื่องวัดสีในระบบ Hunter Lab เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าค่า L^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทั้ง 5 ชนิดมีค่าเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 57.20-59.87 ค่า a^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเดิมควาครอลและบีเอชเอ มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยมีค่าลดลงจาก 12.78-17.77, 14.07-17.86 และ 13.85-17.84 ตามลำดับ สำหรับค่า b^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเดิมควาครอลและบีเอชเอ มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเพิ่มขึ้นจาก 12.64-13.74, 12.56-13.24 และ 12.65-13.18 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของค่าสี (ΔE) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแตกต่างของค่าสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเริ่มต้น (วันที่ 0) เปรียบเทียบกับค่าสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเดิมควาครอลและบีเอชเอที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสุกรบดในวันเริ่มต้น โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์มีค่าความแตกต่างของสีมากที่สุดเท่ากับ 5.18 ขณะที่เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเดิมบีเอชเอร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่าความแตกต่างของสีน้อยที่สุดเท่ากับ 3.92

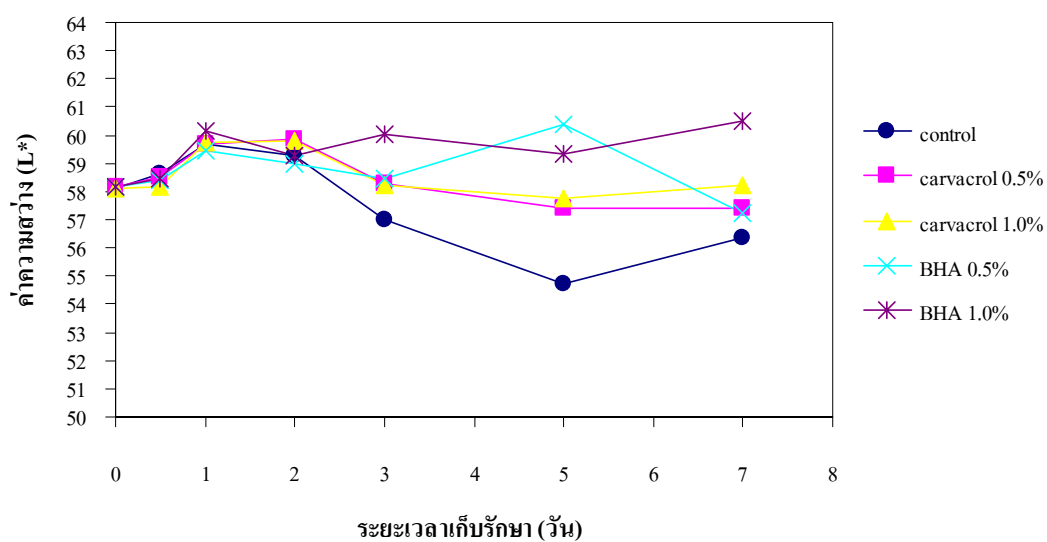
เนื้อสุกรบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าค่า L^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทั้ง 5 ชนิดมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 7 วัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 54.75-60.49 ค่า a^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชันเติมคาครอลและบีเอชเอ็มมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยมีค่าลดลงจาก 12.41-17.62, 13.65-17.68 และ 13.15-17.65 ตามลำดับ สำหรับค่า b^* ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชันเติมคาครอลและบีเอชเอ็มมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยลดลงจาก 11.17-14.06, 11.73-14.09 และ 13.25-14.11 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของค่าสี (ΔE) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแตกต่างของค่าสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเริ่มต้น (วันที่ 0) เปรียบเทียบกับค่าสีของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชันเติมคาครอลและบีเอชเอ็มที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสุกรบดในวันเริ่มต้น โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีค่าความแตกต่างของสีมากที่สุดเท่ากับ 6.29 ขณะที่เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชันเติมคาครอลร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่าความแตกต่างของสีน้อยที่สุดเท่ากับ 3.60 แสดงดังภาพที่ 25-27

โดยลักษณะปรากฏของเนื้อสุกรเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 และ 10 ± 2 องศาเซลเซียสมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน คือ เปลี่ยนจากสีแดงอมชมพูเป็นสีน้ำตาลคล้ำ ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับค่า a^* จากการทดสอบ เนื่องจากสีแดงแกมม่วงของไมโอโกลบิน (myoglobin) สามารถทำปฏิริยาออกซิเจนชัน (oxygenation) กับก๊าซออกซิเจนในอากาศได้ออกซิไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ทำให้เนื้อมีสีแดงสดซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคต้องการและออกซิไมโอโกลบินนี้มีความเสถียรต่ำ เมื่อเก็บไว้ในสภาวะที่มีอากาศจะถูกออกซิไคซ์เป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ทำให้เนื้อมีสีน้ำตาลคล้ำที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (งามทิพย์, 2538) โดยการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส จะมีการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 28 และ 29 ตามลำดับ

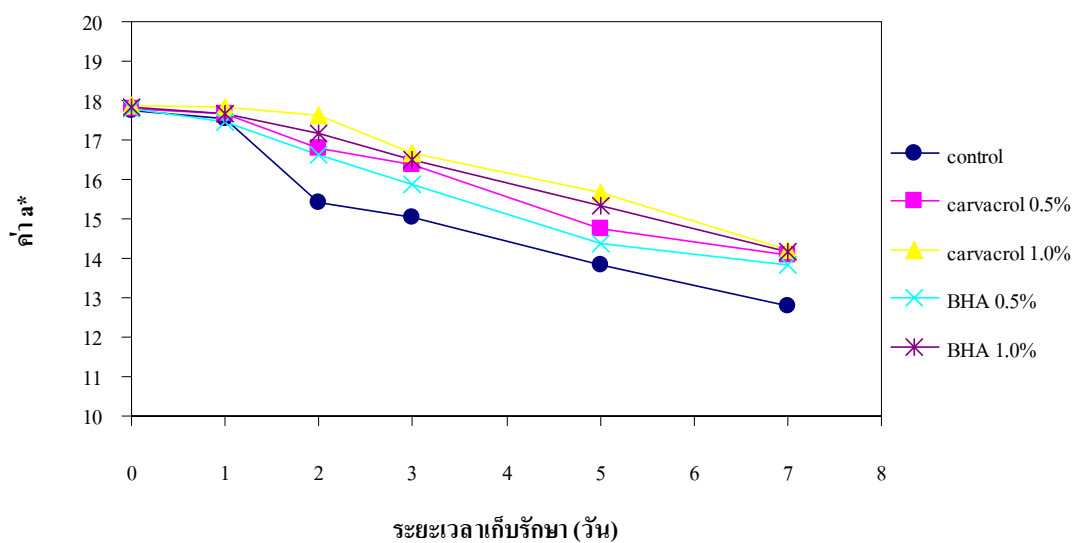


(ก)

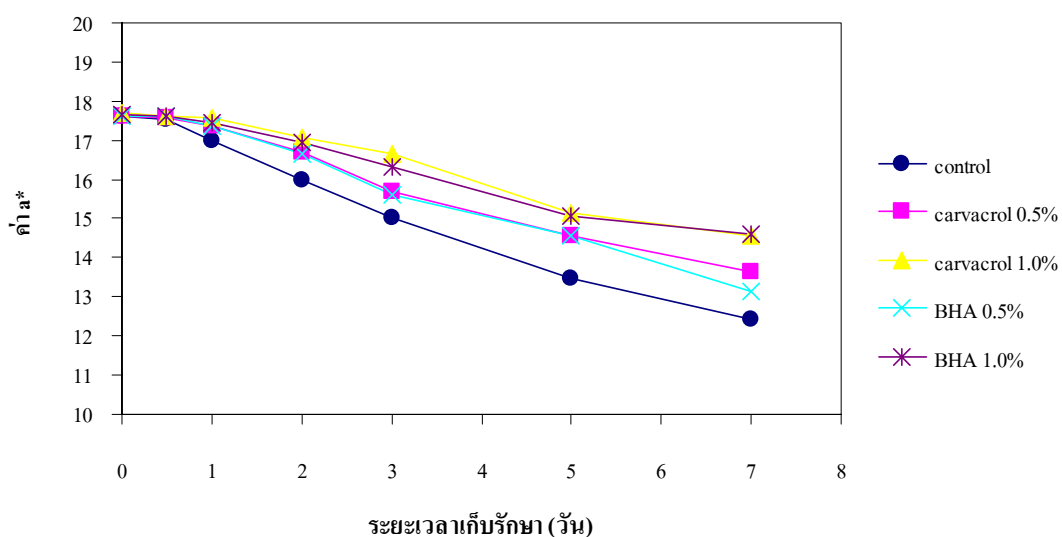


(ข)

ภาพที่ 25 ค่า L^* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

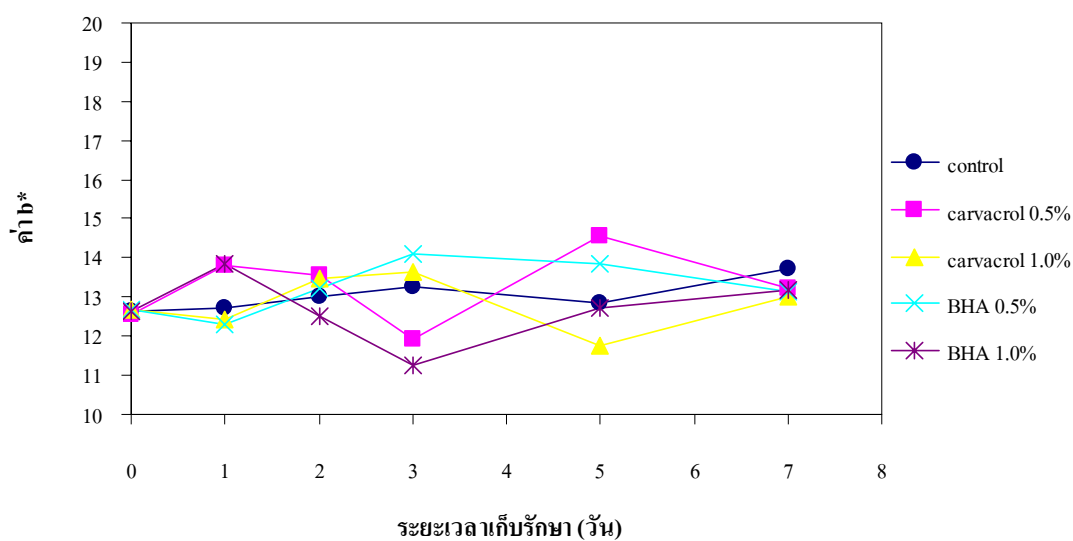


(ก)

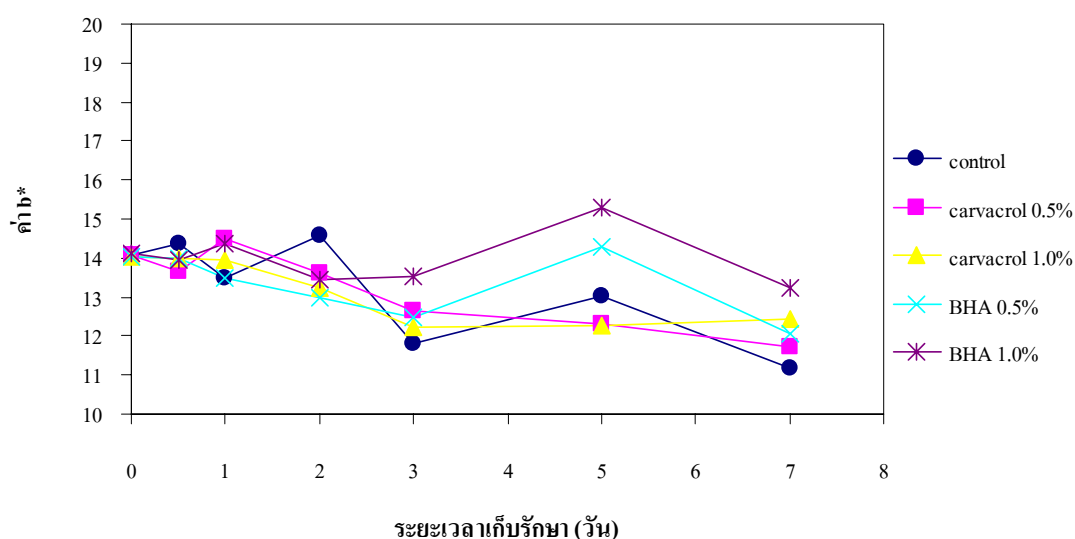


(ข)

ภาพที่ 26 ค่า a^* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอชเอ ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส



(ก)



(ข)

ภาพที่ 27 ค่า b^* ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวารอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอชเอ ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส



วันที่ 0

(ก)



วันที่ 1

(ข)



วันที่ 2

(ค)



วันที่ 3

(ง)



วันที่ 5

(จ)



วันที่ 7

(ฉ)

ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสุกรบด เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส
(ก) วันที่ 0 (ข) วันที่ 1 (ค) วันที่ 2 (ง) วันที่ 3 (จ) วันที่ 5 และ (ฉ) วันที่ 7



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อมะขวิด เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส
(ก) วันที่ 0 (ข) วันที่ 1 (ค) วันที่ 2 (ง) วันที่ 3 (จ) วันที่ 5 และ (ฉ) วันที่ 7

จากงานวิจัยของ McCarthy *et al.* (2001) ศึกษาลักษณะปรากฏทางด้านสีของเนื้อสุกรเมื่อเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากवानหางจระเข้ เฟนูกรีก โสม มัสตาร์ด โรสแมรี่ เซจ โปรตีนถั่วเหลือง ชาเขียวและโปรตีนเวย์เข้มข้น พบว่าเมื่อเติมเซจทำให้ค่า a^* ของเนื้อสุกรมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในวันที่ 3, 6 และ 9 ของการเก็บรักษา ขณะที่เมื่อเติมมัสตาร์ด โปรตีนถั่วเหลือง โรสแมรี่ โปรตีนเวย์เข้มข้น ชาเขียวและเฟนูกรีกจะทำให้ค่า a^* มีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา เช่นเดียวกับ Carpenter *et al.* (2007) พบว่าการเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและแบร์เบอร์รี่ความเข้มข้นมากกว่า 1,000 ไมโครกรัมต่อกรัมลงในเนื้อสุกรไม่ส่งผลต่อค่า L^* และ b^* ขณะที่ค่า a^* มีค่าลดลงตลอดระยะเวลาเก็บรักษา โดยเมื่อเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทำให้ค่า a^* ของเนื้อสุกรมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในวันที่ 6, 9 และ 12 ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา

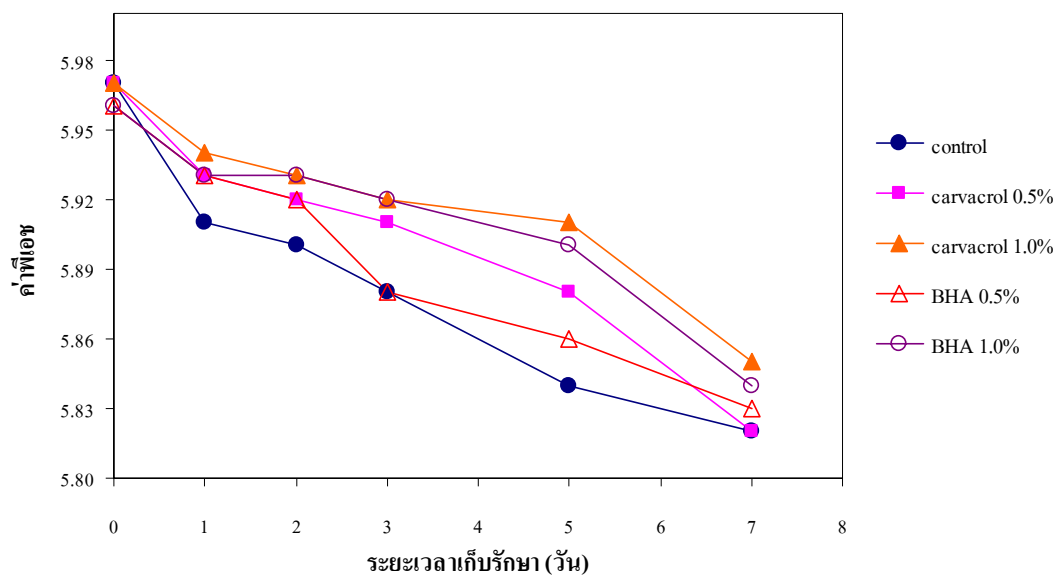
9.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี

9.2.1 การวิเคราะห์ค่าพีเอช

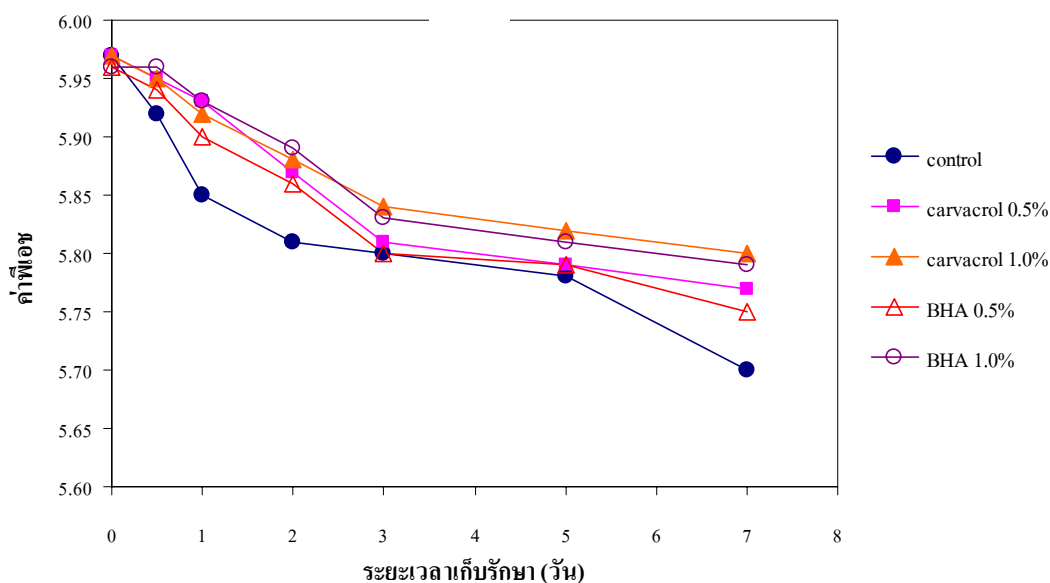
จากผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาเวอรอลและบีเอชเอที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 (โดยน้ำหนัก) พบว่าเนื้อสุกรบดจะมีค่าพีเอชลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาเวอรอลและบีเอชเอเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส มีค่าพีเอชลดลงอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน คือ 5.97-5.82 โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาเวอรอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักมีค่าพีเอชเหลือสูงที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน เท่ากับ 5.85

สำหรับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาเวอรอลและบีเอชเอ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีค่าพีเอชเหลือต่ำที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน เท่ากับ 5.70 และเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาเวอรอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าพีเอชเหลือสูงที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน

เท่ากับ 5.80 ขณะเดียวกันพบว่าค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียสมีค่าพีเอชต่ำกว่าเนื้อสุกรบดที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 30



(ก)



(ข)

ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวาครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

จากงานวิจัยของ McCarthy *et al.* (2001) ศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากว่านหางจระเข้ เฟนูกรีก โสม มัสตาร์ด โรสแมรี เชง โปรตีนถั่วเหลือง ชาเขียวและโปรตีนเวย์เข้มข้นในเนื้อสุกร พบว่าในวันแรกค่าพีเอชของเนื้อสุกรบดจะมีค่าเท่ากับ 5.9 โดยค่าพีเอชของเนื้อสุกรที่เติมว่านหางจระเข้และโปรตีนเวย์เข้มข้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 9 วัน ขณะที่ตัวอย่างควบคุม ชาเขียวและโปรตีนถั่วเหลืองจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชค่อนข้างมาก เช่นเดียวกับ Carpenter *et al.* (2007) เติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและแบร์เบอร์รี่ลงในเนื้อสุกร เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าพีเอชลดลงจาก 5.7-5.5 ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 12 วัน ขณะที่ Duffy *et al.* (2000) กล่าวว่า การเก็บรักษาเนื้อสุกรบดในสภาวะที่มีอากาศจะมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 5.85-8.85 ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 28 วัน โดยการลดลงของค่าพีเอชในอาหารเป็นผลเนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถสร้างกรดได้ ซึ่งจะใช้น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบในอาหารให้เป็นกรดแลกติกและคาร์บอนไดออกไซด์จึงส่งผลให้อาหารมีค่าพีเอชลดลง (Axelsson, 1998)

9.2.2 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

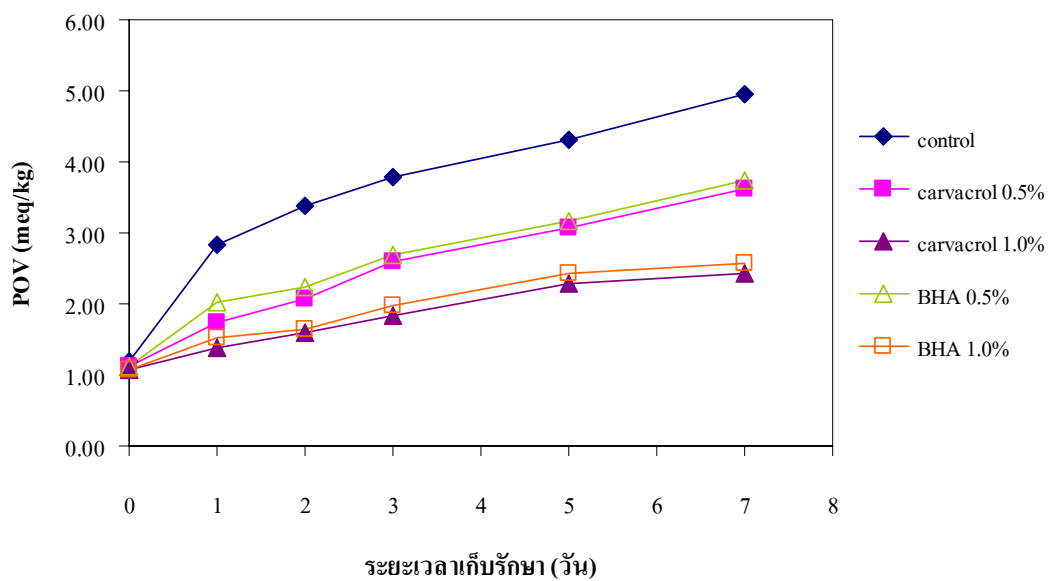
จากผลการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาวาครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 7 วัน พบว่าเนื้อสุกรบดจะมีค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่าเปอร์ออกไซด์สูงที่สุดเท่ากับ 4.95 มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัม ตัวอย่าง สำหรับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาวาครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 3.61, 2.42, 3.75 และ 2.58 มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัมตัวอย่างตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาวาครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียสตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 7 วัน พบว่าเนื้อสุกรบดจะมีค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่าเปอร์ออกไซด์สูงที่สุดเท่ากับ 5.97 มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัม

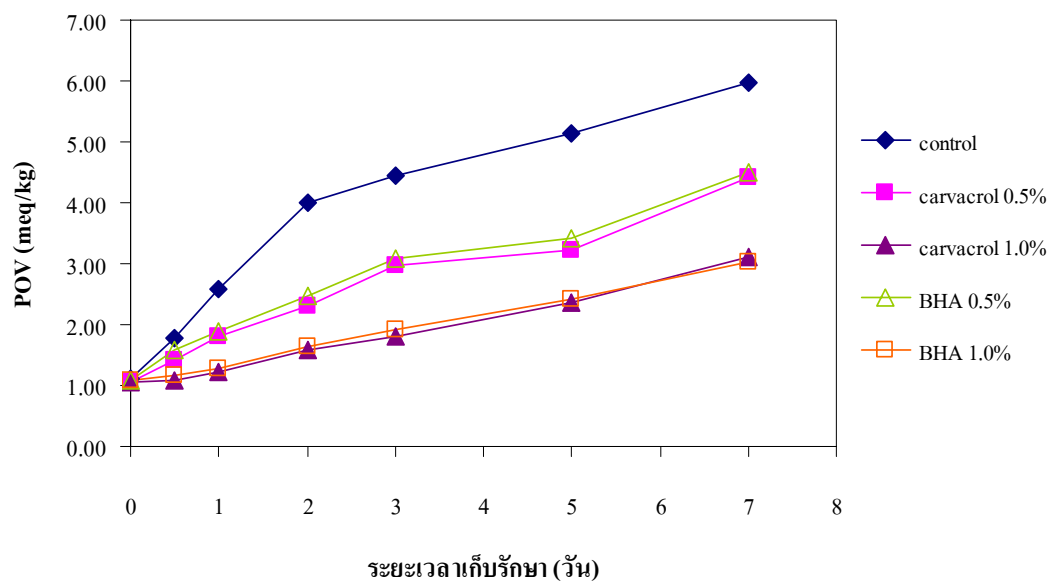
ตัวอย่าง สำหรับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ด้านปฏิริยาออกซิเดชันเติมควาโครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่าเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 4.42, 3.11, 4.50 และ 3.03 มิลลิกรัมสมมูลต่อ กิโลกรัมตัวอย่างตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 31

Juntachote *et al.* (2007a) ศึกษาประสิทธิภาพการต้านปฏิริยาออกซิเดชันของ ผงข้าวและสารสกัดข้าวด้วยเอทานอลในเนื้อสุกรบด พบว่าเมื่อเติมผงข้าวและสารสกัดข้าวจะมีค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วันและประสิทธิภาพในการต้านการเกิดปฏิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่ใช้ โดยค่าเปอร์ออกไซด์จะลดลงเมื่อใช้ผงข้าวและสารสกัดข้าวเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับ Juntachote *et al.* (2007b) ศึกษาประสิทธิภาพการต้านปฏิริยาออกซิเดชันของผงโหระพาและสารสกัดใบโหระพาด้วยเอทานอลในเนื้อสุกรบด พบว่าเมื่อเติมสารสกัดใบโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และผงโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.35 จะมีค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วันเช่นกัน

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 และ 10 ± 2 องศาเซลเซียส เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่าเปอร์ออกไซด์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิริยาออกซิเดชัน โดยค่าเปอร์ออกไซด์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น ขณะเดียวกันฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมสารต้านปฏิริยาออกซิเดชันในปริมาณมากขึ้นจะทำให้มีค่าเปอร์ออกไซด์ลดลง โดยการเติมควาโครอลร้อยละ 1.0 แสดงค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำที่สุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียสการเติมบีเอชเอร้อยละ 1.0 จะแสดงค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำที่สุด



(ก)



(ข)

ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อมูกรบคหัดด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมควาโครอลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

การทดสอบพบว่าควาครอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อทดสอบด้วยการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์จากการนำมาประยุกต์ใช้เป็นฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด ซึ่งจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าควาครอลมีความสามารถเทียบเท่า หรือดีกว่าสารมาตรฐานปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบีเอชเอ ซึ่งขัดแย้งกับการทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในเบื้องต้นเมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการดิฟฟิวชัน เบต้าแคโรทีนบลิชชิงและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อาจเนื่องมาจากควาครอลซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย มีลักษณะเป็นน้ำมันจึงสามารถรวมตัวกับองค์ประกอบของไขมันในเนื้อสุกรบด ทำให้กระจายตัวในอาหารได้ดีจึงสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าบีเอชเอซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็ง

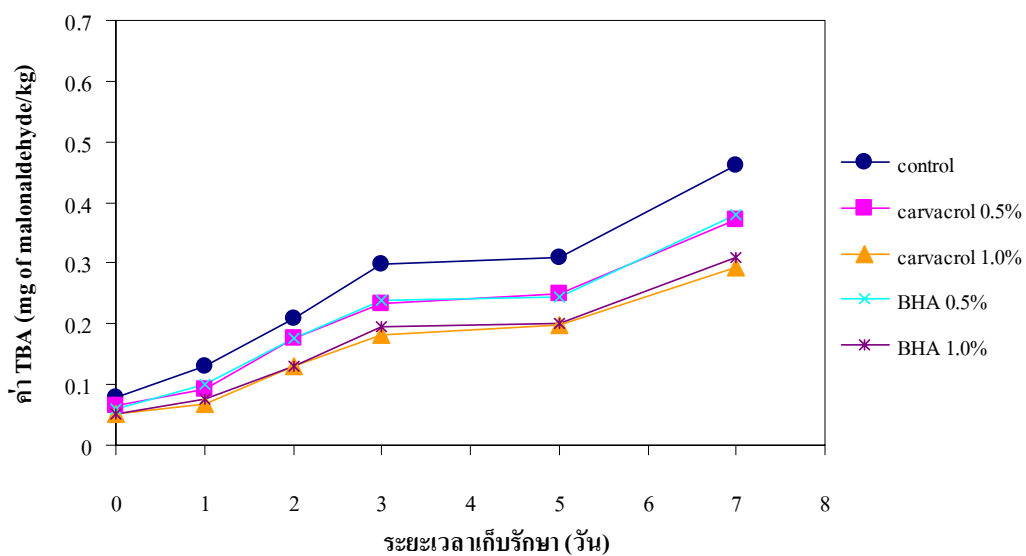
9.2.3 การวิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทริก

จากการวิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทริกของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า TBA ของเนื้อสุกรบดจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณกรดไทโอบาร์บิทริกเป็นค่าที่บ่งชี้ระดับความหืนที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างอนุมูลอิสระของกรดไขมันและก๊าซออกซิเจนในอากาศ โดยมีอุณหภูมิ แสงและเกลือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Kramlich *et al.*, 1982) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุดทำให้มีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษามากขึ้น การเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วันพบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่า TBA สูงที่สุดเท่ากับ 0.460 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม สำหรับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมควาครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่า TBA เท่ากับ 0.373, 0.292, 0.380 และ 0.311 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตามลำดับ สอดคล้องกับ Fasseas *et.al.* (2007) ทดสอบประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันออริกาโนและเซจความเข้มข้นร้อยละ 3.0 (โดยน้ำหนัก) ในเนื้อสุกรและเนื้อวัว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการเติมน้ำมันออริกาโนและเซจในเนื้อสุกรและเนื้อวัวทำให้มีค่า TBA ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม

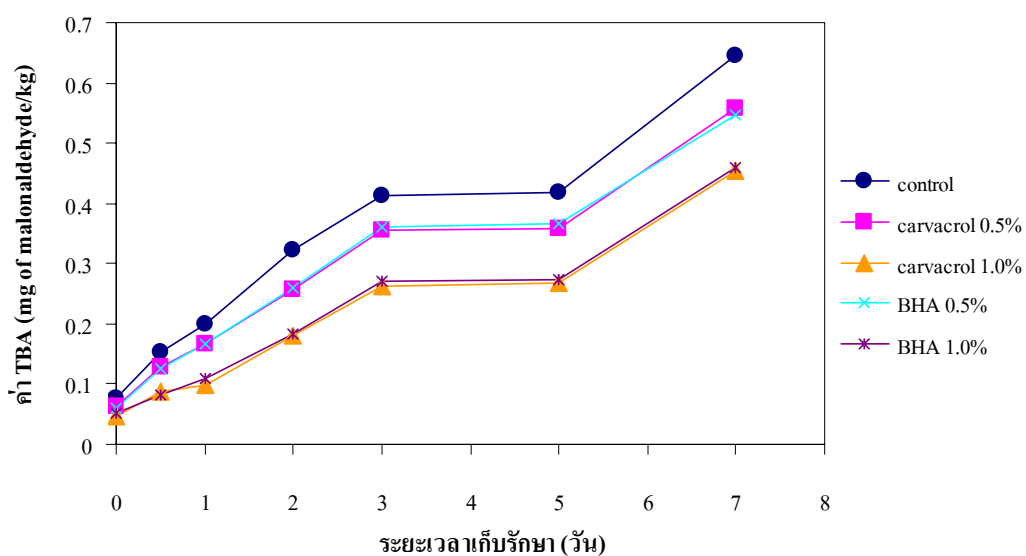
จากงานวิจัยของ Juntachote *et al.* (2007a) ศึกษาประสิทธิภาพการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผงข่าและสารสกัดข่าด้วยเอทานอลในเนื้อสุกรปรุงสุก ทดสอบด้วยวิธี TBARS เมื่อเติมผงข่าและสารสกัดข่า พบว่าในวันแรกของการทดสอบค่า TBARS ของเนื้อสุกรจะมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงว่าสารทดสอบสามารถด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ระหว่างการทำให้สุกหรือทันทีหลังจากทำให้สุกและมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน

การเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน พบว่าเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่า TBA สูงที่สุดเท่ากับ 0.644 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม สำหรับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเดิม คาวาครอลและบีเอชเอร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีค่า TBA เท่ากับ 0.557, 0.453, 0.547 และ 0.460 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตามลำดับ สอดคล้องกับ Yin and Cheng (2003) ศึกษาประสิทธิภาพการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบซัลเฟอร์ 4 ชนิด คือ DAS, DADS, SEC และ NAC โดยการผสมลงในเนื้อวัวและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ทดสอบด้วยวิธี TBA พบว่าปริมาณของสารประกอบซัลเฟอร์ทุกชนิดที่ใช้ผสมในเนื้อวัวมีผลต่อประสิทธิภาพในการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 และ 10 ± 2 องศาเซลเซียส เนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์จะมีค่า TBA สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยค่า TBA จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น ขณะเดียวกันฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมสารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในปริมาณมากขึ้นจะทำให้มีค่า TBA ลดลง โดยการเติมคาวาครอลร้อยละ 1.0 แสดงค่า TBA ต่ำที่สุด ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 32



(ก)



(ข)

ภาพที่ 32 การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวาโครลร้อยละ 0.5 ร้อยละ 1.0 และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมบีเอชเอร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

จากการทดสอบพบว่าควาครอลมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อทดสอบด้วยการวิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทริกเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ จากการนำมาประยุกต์ใช้เป็นฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด ซึ่งจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าควาครอลมีความสามารถเทียบเท่า หรือดีกว่าสารมาตรฐานปฏิกิริยาออกซิเดชันอ้างอิงบีเอชเอ ซึ่งขัดแย้งกับการทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในเบื้องต้นเมื่อทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนออการ์ดิฟฟวชัน เบต้าแคโรทีนบลีชชิง และวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อาจเนื่องมาจากควาครอลซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย มีลักษณะเป็นน้ำมันจึงสามารถรวมตัวกับองค์ประกอบของไขมันในเนื้อสุกรบด ทำให้กระจายตัวในอาหารได้ดีจึงสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าบีเอชเอซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็ง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ น้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ลินาโลล จีรานีโอลและคาวาครอลตามลำดับ ณ เข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเสื่อมเสีย 14 ชนิดด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญแสดงบริเวณต้านมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 7.04-18.10 มิลลิเมตร โดยน้ำมันกระดังงาไม่แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ทุกชนิดที่นำมาศึกษาและลินาโลลสามารถต้านการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบเท่านั้น น้ำมันกระชายแสดงการต้านแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. cereus*, *E. faecalis* และ *L. monocytogenes* แบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือ *A. hydrophilia* และ *V. parahaemolyticus* และยีสต์ *Z. rouxii* โดยแสดงบริเวณต้าน *L. monocytogenes* มากที่สุด ขณะที่จีรานีโอลสามารถต้านยีสต์ *C. albicans* เท่านั้น สำหรับน้ำมันออริกานสามารถต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ทุกชนิดยกเว้น *L. monocytogenes* แบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิด คือ *E. coli*, *S. Enteritidis* และ *V. parahaemolyticus* และยีสต์ทุกชนิดยกเว้น *S. cerevisiae* โดยแสดงบริเวณต้าน *V. parahaemolyticus* มากที่สุดและคาวาครอลสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ทุกชนิด แต่ไม่สามารถต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* และยีสต์ *S. cerevisiae* เช่นกัน

2. ความเข้มข้นต่ำที่สุดต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย วัดประสิทธิภาพด้วยวิธีการเจือจางในหลุมวุ้น น้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ที่ดีที่สุด คือ น้ำมันออริกาน รองลงมา คือ น้ำมันกระชายและน้ำมันกระดังงาตามลำดับ โดยมีค่า MICs เท่ากับ 12.5, 25 และมากกว่า 200 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ขณะที่สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ที่ดีที่สุด คือ คาวาครอล โดยมีค่า MICs เท่ากับ 12.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกับน้ำมันออริกาน สำหรับจีรานีโอลและลินาโลลมีค่า MICs เท่ากับ 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร โดยขนาดของบริเวณต้านจะมีขนาดใหญ่มากขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มมากขึ้น

3. การศึกษากิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีบีตาแคโรทีนอาร์คิฟฟิวชัน น้ำมันออริกานอลแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมา คือ น้ำมันกระดังงาและคาวาครอล ขณะที่น้ำมันกระชาย ลิ้นจี่และจี่รานีโอลไม่แสดงการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสำหรับการทดสอบด้วยวิธีบีตาแคโรทีนบลิซซิงแสดงผลเป็นร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าน้ำมันออริกานอลและคาวาครอลแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเช่นเดียวกันกับเมื่อทดสอบด้วยวิธีการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นจะแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงขึ้น

4. ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือค่า MOBICs ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เมื่อทดสอบด้วยวิธีบีตาแคโรทีนอาร์คิฟฟิวชัน โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด พบว่าเมื่อใช้ DMSO ค่า MOBICs จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและเมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายน้ำมันออริกานอลแสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงที่สุด รองลงมา คือ น้ำมันกระดังงาและคาวาครอลและเมื่อทดสอบด้วยวิธีบีตาแคโรทีนบลิซซิง พบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีค่า MOBICs ที่ศึกษาเท่ากับ 0.195 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร

5. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลล์ลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เติมน้ำมันออริกานอล หรือคาวาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ต่อการต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด 9 ชนิด เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านฟิล์มสู่รู พบว่าไม่แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ ขณะที่การทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือรู ประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์เป็นดัชนีการต้านจุลินทรีย์และวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ พบว่าฟิล์มด้านจุลินทรีย์สามารถต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด

6. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์ลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลล์ลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันกระดังงา น้ำมันกระชาย น้ำมันออริกานอล หรือคาวาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีบีตาแคโรทีนอาร์คิฟฟิวชัน พบว่าฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สำหรับการทดสอบด้วยวิธีบีตาแคโรทีนบลิซซิง พบว่าฟิล์มด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมนาวัครอลแสดงร้อยละของ

กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ น้ำมันออริกาโน น้ำมันกระดังงาและน้ำมันกระชายและวิธีทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เติมน้ำมันออริกาโนมีร้อยละในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมา คือ คาวาครอล น้ำมันกระชายและน้ำมันกระดังงาตามลำดับ

7. ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมคาวาครอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) นำมาห่อเนื้อสุกรบด พบว่าฟิล์มต้านจุลินทรีย์เติมคาวาครอลร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในเนื้อสุกรบดทุกชนิด โดยการเก็บรักษาเนื้อสุกรบดที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสมีการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียสและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสุกรบดเป็นเวลา 3 และ 2 วันตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม) สำหรับการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อสุกรบดที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่เติมคาวาครอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ได้ทั้ง 2 อุณหภูมิที่เก็บรักษา ฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาวาครอลและบีเอชเอเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์อ้างอิง พบว่าฟิล์มต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมคาวาครอลร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) แสดงกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด โดยแสดงลักษณะปรากฏทางด้านสีมีค่า L^* เปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ค่า a^* มีค่าลดลงและค่า b^* มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นและเมื่อพิจารณาความแตกต่างของค่าสี (ΔE) มีค่าความแตกต่างของสีน้อยที่สุด การวิเคราะห์ค่าพีเอชมีค่าพีเอชเหลือสูงที่สุด ค่าเปอร์ออกไซด์และค่า TBA ค่าที่ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการเตรียมฟิล์มในห้องปฏิบัติการเป็นการขึ้นรูปด้วยวิธีการหล่อ จึงควรมีการพัฒนาวิธีการผลิตฟิล์มด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การขึ้นรูปฟิล์มด้วยวิธีการอัดรีด (extrusion) อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่ใช้ภายในเครื่องเอ็กสตรูเดอร์ (extruder) อาจสูงมากจนสามารถทำให้เกิดการระเหยได้ง่ายของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยและประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลง ดังนั้นจึงอาจหลีกเลี่ยงการสูญเสียความสามารถของสารทดสอบได้โดยใช้การฉีดของเหลว (liquid injection) ร่วมกับวิธีการอัดรีด เพื่อสามารถนำไปใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม ทำให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีความหนาสม่ำเสมอ ผลิตได้ในปริมาณมาก ใช้เวลาใน

การผลิตน้อยและยังคงประสิทธิภาพความเป็นสารต้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

2. ศึกษาประยุกต์ใช้ฟิล์มด้านจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชันกับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยต้องเลือกประเภท ชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารและใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสม ทั้งนี้เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพ คุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สามารถยืดอายุการเก็บรักษาและมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

3. ศึกษาอัตราการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในฟิล์ม เนื่องจากอัตราการแพร่ของสารจากวัสดุทางการบรรจุไปยังอาหารต้องควบคุมให้สอดคล้องกับกลไกการเจริญของจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อให้เกิดการใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ขจรศักดิ์ ตระกูลพั้ว. 2539. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแปดชนิดต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคพืชและโรคผิวหนัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2538. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ลิ้นคอรัน โปรโมชั่น, กรุงเทพฯ.
- หัยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงศ์. 2545. คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 2 เครื่องยาพฤษภวัตถุ. สำนักพิมพ์อมรินทร์, กรุงเทพฯ.
- นฤมล มาแทน. 2550. น้ำมันหอมระเหยสารกันบูดทางธรรมชาติ. อาหาร 37: 127-132.
- นิจศิริ เรืองรังษี. 2534. เครื่องเทศ. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- นิธิยา รัตนปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.
- นิรนาม. 2551. สถิติการบริโภคเนื้อสุกรของโลก. สมาคมผู้ผลิตและแปรรูปสุกรเพื่อการส่งออก. แหล่งที่มา: <http://hypnos.cpportal.net>, 18 ธันวาคม 2551.
- บุญกร อุดรภิชาดิ. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- _____. 2550. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2547. ศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระและการตรวจประเมินกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารจากพืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 2: 18-35.
- มาลัย วรวิจิตร. 2545. แบคทีเรียก่อโรค. สยามศิลป์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

มาลิน จุลศิริ. 2542. **ยาด้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและประยุกต์**. สถาบันพัฒนาการสาธารณสุข
อาเซียน. นครปฐม.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่
1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครุส่ง. 2548. **จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์,
กรุงเทพฯ.

วิภาวีร์ ธาระเขตร์. 2551. **การพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ด้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืช
สมุนไพร**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. **จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร**. โอเอส พรินติ้ง เฮาส์,
กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2547. **มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหาร
แห่งชาติ: เนื้อสุกร**. มกอช. 6000-2547.

สัญญาชัย จตุรสีทธา. 2543. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์**. โรงพิมพ์ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่.

สุเชตร์ ศรีบุญเรือง. 2548. **องค์ประกอบทางเคมีและการออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอม
ระเหยและสารสกัดจากใบหนาดใหญ่และใบสาบแร้งสาบกา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

สุดสาย ตริวานิช. 2545. **จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุกเวท มานิช และพัชรีย์ พัฒนากุล. 2550. **ไส้กรอก**. โอเอส พรินติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุดมลักษณ์ มัจฉาชีพ. 2549. **น้ำมันหอมระเหยจากดอกกระดังงาไทย**. กลีกร 79: 55-57.

เอกรินทร์ ภัทรธนวดิ, จิตศิริ ทองสอน, วราภา มหากาญจนกุล และเพ็ญแข วันไชยชนวงศ์. 2549. ประสิทธิภาพสารต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดเครื่องเทศต่อจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย, น. 297-307. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ahn, Y.J., S.B. Lee, H.S. Lee and G.H. Kim. 1998. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and β - thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *Hondai* sawdust. **J. Chem. Ecol.** 24: 81-90.

Akkasit, J., S. Benjakul, W. Visessanguan and M. Tanaka. 2008. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. **Food Hydrocoll.** 22: 449-458.

Alejandra, G.P., S.I. Roura, C.E.D. Valle and M.R. Moreira. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. **Postharv. Biol. Technol.** 49: 294-300.

Aligiannis, N., E. Kalpoutzakis, S. Mitaku and I.B. Chinou. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **J. Agric. Food Chem.** 49: 4168-4170.

Allen, J.C. and R.J. Hamilton. 1994. **Rancidity in Food**. 3rd ed. Blackie academic and professional, London.

Anonymous. 2007a. **Carvacrol**. Wikipedia. Available Source: <http://en.wikipedia.org/wiki/Carvacrol>, December 12, 2007.

_____. 2007b. **Geraniol**. Wikipedia. Available Source: <http://en.wikipedia.org/wiki/Geraniol>, December 12, 2007.

- Araujo, J.M.A. and D.E. Pratt. 1985. **Ciencia Tecnologia Alimentos**. 5th. n.p.
- Arfa, A.B., S. Combes, L. Preziosi-Belloy, N. Gontard and P. Chalier. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Lett. Appl. Microbiol.** 43: 149-154
- Axelsson, H. 1998. Lactic acid bacteria, pp. 1-72. *In* S. Saminen and A.V. Wright eds. **Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functions aspect**. Marcel Dekker Inc., New York.
- Bagamboula, C.F., M. Uyttendaele and J. Debevere. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. **Food Microbiol.** 21: 33-42.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2007. Biological effects of essential oils - A review. **Food Chem. Toxicol.** 46: 446-475.
- Banon, S., P. Diaz, M. Rodriguez, M.D. Garrido and A. Price. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Sci.** 77: 626-633.
- Ben Arfa, A., S. Combes, L. Preziosi-Belloy, N. Gontard and P. Chalier. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Lett. Appl. Microbiol.** 43: 149-154.
- Betts, T.J. 2001. Chemical characterization of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. **J. Chromatogr** 936: 33-46.
- Bickers, D., P. Calow, H. Greim, J.M. Hanifin, A.E. Rogers, J.H. Saurat, I.G. Sipes, R.L. Smith and H. Tagami. 2003. A toxicologic and dermatologic assessment of linalool and related esters when used as fragrance ingredients. **Food Chem. Toxicol.** 41: 919-942.

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature** 181: 1199-1200.
- Bozan, B., M. Kosar, N. Ozturk and K.H.C. Baser. 2003. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Rhus coriaria* and *Cinnamomum cassia* extracts. **Acta Aliment.** 32: 53- 61.
- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT.** 28: 25-30.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods a review. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 223-253.
- Caccioni, D.R.L., F. Gardini, R. Lanciotti and M.E. Guerzoni. 1997. Antifungal activity of natural volatile compounds in relation to their vapour pressure. **Sci. Aliments** 17: 21-34.
- Cagri, A., Z. Ustunol and E.T. Ryser. 2001. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing *p*-Amminobenzoic or sorbic acid. **J. Food Sci.** 66: 865-870.
- Careaga, M., E. Fernandez, L. Dorantes, L. Mota, M.E. Jaramillo and H. Hernandez-Sanchez. 2003. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella* Typhimurium and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. **Int. J. Food Microbiol.** 83: 331-335.
- Carpenter, R., M.N. O'Grady, Y.C. O'Callaghan, N.M. O'Brien and J.P. Kerry. 2007. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. **Meat Sci.** 76: 604-610.
- Cha, D.S and M.S. Chinnan. 2004. Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 44: 223-227.

- Chami, N., S. Bennis, F. Chami, A. Aboussekhra and A. Remmal. 2005. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. **Oral Microbiol. Immunol.** 20: 106-111.
- Charanjit, K. and H.C. Kapoor. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **J. Food Sci. Tech.** 36: 703-725.
- Chiu, C.H. and C.C. Kuo. 2007. Antioxidative and antimicrobial properties of lactoferrin in hot-boned ground pork during storage. **J. Food Process. Preserv.** 31: 157-166.
- Chizzola, R., H. Michitsch and C. Franz. 2008. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. **J. Agric. Food Chem.** 56: 6897-6904.
- Choi, H.S., H.S. Song, H. Ukeda and M. Sawamura. 2000. Radical scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **J. Agric. Food Chem.** 48: 4156-4161.
- Chu, D.M., H. Miles, D. Toney, C. Ngyuen and F. Marciano-Cabral. 1998. Amebicidal activity of plant extracts from Southeast Asia on *Acanthamoeba* spp. **Parasitol. Res.** 84: 746-752.
- Chung, K.T., W.R. Thomasson and C.D. Wu-Yuan. 1990. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. **J. Applied Bacteriology.** 69: 498-503.
- Cutter, C.N. 2002a. Microbial control by packaging: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 42: 151-161.
- _____. 2002b. Incorporation of antimicrobials into packaging materials. *In Proceedings of the 55th annual reciprocal meat conference.* Missouri, Columbia.

- Deans, S.G., E. Simpson, R.C. Noble, A. MacPherson and L. Penzes. 1993. Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. **Acta Hort.** 332: 177-182.
- Deba, F., T.D. Xuan, M. Yasuda and S. Tawata. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. **Food Control** 19: 346-352.
- Debeaufort, F. and A. Voilley. 1997. Methylcellulose-based edible films and coatings: mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content. **J. Agric. Food Chem.** 45: 685-689.
- Delespaul, Q., V.G. De Billerbeck, C.G. Roques, G. Michel, C. Marquier-Vinuales and J.M. Bessiere. 2000. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **J. Essent. Oil Res.** 12: 256-266.
- Devlieghere, F., L. Vermeiren, A. Bockstal and J. Debevere. 2000. Study on antimicrobial activity of food packaging material containing potassium sorbate. **Acta Aliment.** 29: 137-146.
- Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **J. Appl. Microbiol.** 88: 308-316.
- _____, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso and S.G. Deans. 2000. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. **Flavour Fragr. J.** 15: 12-16.
- Duffy, G., D. Walsh, J.J. Sheridan, C.M. Logue, D. Harrington, I.S. Blair and D.A. McDowell. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* in the presence of *Listeria innocua* during storage of minced beef under vacuum or in air at 0°C and 10 °C. **Food Microbiol.** 17: 571-578.

- Elgayyar, M., F.A. Draughon, D.A. Golden and J.R. Mount. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **J. Food Prot.** 64: 1019-1024.
- Faleiro, L., G. Miguel, S. Gomes, L. Costa, F. Venancio, A. Teixeira, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso and L.G. Pedro. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. **J. Agric. Food Chem.** 53: 8162-8168.
- Fasseas, M.K., K.C. Mountzouris, P.A. Tarantilis, M. Polissiou and G. Zervas. 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chem.** 106: 1188-1194.
- Fennema, O.R. 1996. **Food Chemistry**. 3rd ed. Marcel Dekker Inc., New York.
- Frankel, E.N. 1993. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Trends Food Sci. Technol.** 4: 220-225.
- _____, S.W. Huang, J. Kanner and J.B. German. 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils versus emulsions. **J. Agric. Food Chem.** 42: 1054-1059.
- Franklin, N.B., K.D. Cooksey and K.J.K. Getty. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on the surface of individually packaged hot dogs with a packaging films coating containing nisin. **J. Food Prot.** 67: 480-485.
- Friedman, M., P.R. Henika, C.E. Levin and R.E. Mandrell. 2003. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. **J. Food Prot.** 65: 1545-1560.

- _____, _____, _____ and R.E. Mandrell. 2004. Antibacterial of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. **J. Agric. Food Chem.** 52: 6042-6048.
- Garcia, M.A., C. Ferrero, N. Bertola, M. Martino and N. Zaritzky. 2002. Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. **Innov. Food Sci. Emerg. Tech.** 3: 391-397.
- Garcia, C.C., L. Talarico, N. Almeida, S. Colombres, C. Duschatzky and E.B. Damonte. 2003. Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina. **Phytother. Res.** 17: 1073-1075.
- Gill, A.O., P.J. Delaquis, P. Russo and R.A. Holley. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **Int. J. Food Microbiol.** 73: 83-92.
- Grower, J.I., K. Cooksey and K. Getty. 2004. Release of nisin from methylcellulose hydroxypropyl methylcellulose films formed on low-density polyethylene film. **J. Food Sci.** 69: 107-111.
- Guynot, M.E., A.J. Ramos, L. Seto, P. Purroy, V. Sanchis and S. Martin. 2003. Antifungal activity of volatile compound generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. **J. Appl. Microbiol.** 94: 893-899.
- Ha, J.U., Y.M. Kim and D.S. Lee. 2001. Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. **Packag. Technol. Sci.** 15: 55-62.
- Hammer, K.A. 1999. Antimicrobial essential oils. **J. Appl. Microbiol.** 86: 985-990.
- Han, J.H. 2000. Antimicrobial food packaging. **Food Technol.** 54: 56-65.

- _____. 2003. Antimicrobial Food Packaging, pp. 50-70. In R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Technique**. Woodhead Publishing, UK.
- Harpaz, S., L. Glatman, V. Drabkin and A. Gelman. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). **J. Food Prot.** 66: 410-417.
- Hazzit, M., A. Baaliouamer, M.L. Faleiro and M.G. Miguel. 2006. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. **J. Agric. Food Chem.** 54: 6314-6321.
- Hili, P., C.S. Evans and R.G. Veness. 1997. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Lett. Appl. Microbiol.** 24: 269-275.
- Holley, R.A. and D. Patel. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiol.** 22: 273-292.
- Hotchkiss, J. 1997. Food packaging interactions influencing quality and safety. **Food Add. Contamin.** 14: 601-607.
- Inatsu, Y., M.L. Bari, S. Kawasaki and S. Kawamoto. 2005. Effectiveness of some natural antimicrobial compounds in controlling pathogen or spoilage bacteria in lightly fermented chinese cabbage. **J. Food Sci.** 70: 393-397.
- Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden. 2005. **Modern Food Microbiology**. 17th ed. Springer Publishers, Inc., Maryland, USA.
- Juntachote, T., E. Berghofer, S. Siebenhandl and F. Bauer. 2007a. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. **LWT** 40: 324-330.

- _____, _____, _____ and F. Bauer. 2007b. Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. **Food Chem.** 100: 129-135.
- Kanatt, S.R., R. Chander and A. Sharma. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. **Food Chem.** 107: 845-852.
- Kelen, M. and B. Tepe. 2007. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. **Bioresour. Technol.** 99: 4096-4104
- Kikuzaki, H., Z. Kawai, N. Nakatani. 2001. DPPH radical scavenging active compounds from greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb). **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** 4: 167-171.
- Kim, J.M., M.R. Marshall, J.A. Cornell, J.F. Preston and C.I. Wei. 1995. Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella* Typhimurium on culture medium and on fish cubes. **J. Food Sci.** 60: 1364-1374.
- Koleva, I.I., T.A. van Beek, J.P.H. Linssen, A. de Groot and L.N. Evstatieva. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochem. Anal.** 13: 8-17.
- Krumel, K.L. and T.A. Lindsay. 1976. Nonionic cellulose ether. **Food Technol.** 30: 36-43.
- Kulicic, T., A. Radonic, V. Katalinic and M. Milos. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chem.** 85: 633-640.
- Lacroix, M., B. Ouattara, L. Saucier, M. Giroux and W. Smoragiewicz. 2004. Effect of gamma irradiation in presence of ascorbic acid on microbial composition and TBARS concentration of ground beef coated with an edible active coating. **Radiat. Phys. Chem.** 71: 71-75.

- Lambert, R.J.W., P.N. Skandamis, P. Coote and G.J.E. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oils, thymol and carvacrol. **J. Appl. Microbiol.** 91: 453-462.
- Laguerre, M., J. Lecomte and P. Villeneuve. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Prog. Lipid Res.** 46: 244-282.
- Letizia, C.S., J. Cocchiara, J. Lalko and A.M. Api. 2003. Fragrance material review on linalool. **Food Chem. Toxicol.** 41: 943-964.
- Lopez-Malo, A., S.M. Alzamora and E. Palou. 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **Int. J. Food Microbiol.** 99: 119-128.
- Lopez-Mendoza, M.C., P. Ruiz and C.M. Mata. 2007. Combined effects of nisin, lactic acid and modified atmosphere packaging on the survival of *Listeria monocytogenes* in raw ground pork. **Int. J. Food Sci. Technol.** 42: 562-566.
- Madsen, H.L., B.R. Nielsen, G. Bertelsen and L.H. Skibsted. 1996. Screening of antioxidant activity of spices: A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. **Food Chem.** 57: 331-337.
- Mann, C.M. and J.L. Markham. 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **J. Appl. Microbiol.** 84: 538-544.
- Marco, G.L. 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. **J. Am Oil Chem Soc.** 45: 594-598.
- Marinova, E.M. and N.V. Yanishlieva. 1992. Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. **J. Sci. Food Agric.** 60: 313-318.

- Maruzzella, J.C. and M.B. Lichtenstein. 1956. The *in vitro* antibacterial activity of oils. **J. Am. Pharma. Assoc.** 45: 378.
- Mataragas M., P.N. Skandamis and E.H. Drosinos. 2008. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. **Int. J. Food Microbiol.** 126: 1-12.
- Maudsley, F., and K.G. Kerr. 1999. Microbiological safety of essential oils used in complementary therapies and the activity of these compounds against bacterial and fungal pathogens. **Supportive Care in Cancer** 7: 100-102.
- McCarthy, T.L., J.P. Kerry, J.F. Kerry, P.B. Lynch and D.J. Buckley. 2001. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. **Meat Sci.** 57: 45-52.
- Miller, H.E. 1971. A Simplified method for the evaluation of antioxidants. **J. Am Oil Chem Soc.** 48-91.
- Milos, M., J. Mastelic, I. Jerkovic and V. Katalinic. 2000. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.) grown wild in Croatia. **Rivista Italiana Eppos.** 617-624.
- Mourey, A. and N. Canillac. 2002. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. **Food Control** 13: 289-292.
- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Plaller and R.H. Tenen. 1995. **Manual of Clinical Microbiology.** 6th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Nadarajah, D., J.H. Han and R.A. Holley. 2005. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. **Int. J. Food Microbiol.** 99: 269-279.

- Nascimento, G.G.F., L. Juliana, P.C. Freitas and G.L. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz. J. Microbiol.** 31: 4.
- Nielsen P.V. and R. Rios. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **Int. J. Food Microbiol.** 60: 219-229.
- Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. pp. 305-335. *In* J.M. Krochata, E.A. Baldwin and M.N. Nisperos-Carriedo, eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality (chapter 11)**. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co.
- Norajit, K., N. Laohakunjit and O. Kerdchoechuen. 2007. Antibacterial effect of five zingiberaceae essential oils. **Molecules** 12: 2047-2060.
- Obame, L.C., J. Koudou, B.S. Kumulungui, I.H.N. Bassole, P. Edou, A.S. Ouattara and A.S. Traore. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Canarium schweinfurthii* Engl. essential oil from Centrafrican Republic. **Afr. J. Biotechnol.** 6: 2319-2323.
- Oke, F., B. Aslim, S. Ozturk and S. Altundag. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. **Food Chem.** 112: 874-879.
- Oliu, G.O., R.S. Fortuny and O.M. Belloso. 2008. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. **LWT.** 41: 1862-1870
- Olsen, S.J., L.C. MacKinon, J.S. Goulding, N.H. Bean and L. Slutsker. 2000. Surveillance of foodborne disease outbreaks-United States 1993-1997. **MMWR.** 49 : 1-51.
- Ontengco, D. and R. Torres. 2000. Antibacterial activity of Ylang-Ylang essential oil. *In* **Proceedings of the 29th Annual Convention of the Philippine Society for Microbiology**. Philippine.

- Ouattara, B., M. Giroux, R. Yefsah, W. Smoragiewicz, L. Saucier, J. Borsa and M. Lacroix. 2002. Microbiological and biochemical characteristics of ground beef as affected by gamma irradiation, food additives and edible coating film. **Radiat. Phys. Chem.** 63: 299-304.
- Packiyasothy, E.V. and S. Kyle. 2002. Antimicrobial properties of some herb essential oils. **Food Austr.** 54(9): 384-387.
- Panella, N.A., M.C. Dolan, J.J. Karchesy, Y. Xiong, J. Peralta-Cruz, M. Khasawneh, J.A. Montenieri and G.O. Maupin. 2005. Use of novel compounds for pest control insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. **J. Med. Entomol.** 42: 352-358.
- Panizzi L., G. Flamini, P.L. Cioni and I. Morelli. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. **J. Ethnopharmacol.** 39: 167-170.
- Papas, A.M. 1999. **Determinants of Antioxidant Status in Humans.** Antioxidant status, diet, nutrition and health, New York.
- Pasqua, R.D., N. Hoskins, G. Betts and G. Mauriello. 2006. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **J. Agric. Food Chem.** 2745-2749.
- Pattnaik, S., S. Subramanyam, V.R. Bapaji and M. Cole. 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. **Microbios.** 89: 358-362.
- Perry, N.B., R.E. Anderson, N.J. Brennan, M.H. Douglas, A.J. Heaney, J.A. McGimpsey and B.M. Smallfield. 1999. Essential oils from Dalmation Sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons and sites. **J. Agric. Food Chem.** 47: 2048-2054.

- Phoopuritham, P., M. Thongngam, R. Yoksan and P. Suppakul. 2006. Antioxidant and radical scavenging activities of selected plant extracts and possible application in active packaging. *In Proceedings of the 15th IAPRI World Conference on Packaging 2006*. Tokyo, Japan.
- Piccaglia, R., B. Biavati, I. Marotti and M. Marotti. 2007. Characterization and biological activity of several essential oils from different species. **Vale G. Fenin** 44.
- Pichersky, E., J.P. Noel and N. Dudareva. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Sci.** 311: 808-811.
- Pintore, G., M. Usai, P. Bradesi, C. Juliano, G. Boatto, F. Tomi, M. Chessa, R. Cerri and J. Casanova. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. **Flavour Fragr. J.** 17: 15-19.
- Pomeranz, Y. 1991. **Functional Properties of Food Components**. Academic Press, San Diego.
- Pranoto, Y., S.K. Rakshit and V.M. Salokhe. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT.** 38: 859-865.
- Rababah, A.A. and N.J. Ashbolt. 2000. Innovative production treatment hydroponic farm for primary municipal sewage utilization. **Water Res.** 34: 825-834.
- Rakotonirainy, M.S. and B. Lavedrine. 2005. Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. **Int. Biodeterioration Biodegradation** 55: 141-147.
- Remmal, A., T. Bouchikhi, K. Rhayour and M. Ettayebi. 1993. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. **J. Essent. Oil Res.** 5: 179-184.

- Ruberto, G. and M.T. Baratta. 2000. Antioxidant activity of selected essential oils components in two lipid model systems. **Food Chem.** 69: 167-174.
- Rupika, L.A.S., K. Sonneveld, J. Miltz and S.W. Bigger. 2005. Development and evaluation of low-density polyethylene-based antimicrobial food packaging polymers containing polymers containing thymol and carvacrol. pp. 1-8. *In* **22nd IAPRI Symposium** May 22-24.
- Sacchetti, G., S. Maietti, M. Muzzoli, M. Scaglianti, S. Manfredini, M. Radice and R. Bruni. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chem.** 91: 621-632.
- Salvador, A., T. Sanz and S.M. Fiszman. 2008. Performance of methyl cellulose in coating batters for fried products. **Food Hydrocoll.** 22: 1,062-1,067.
- Sanla-Ead, N., A. Jangchud, V. Chonhenchob and P. Suppakul. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon, clove and galangal essential oils and their principle constituents, and possible application in active packaging. *In* **Proceedings of the 15th IAPRI World Conference on Packaging 2006**. Tokyo, Japan.
- Sawa, T., M. Nakao, T. Akaike, K. Ono and H. Maeda. 1999. Alkylperoxyl radical scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: Implications for the antitumor promoter effect of vegetables. **J. Agric. Food Chem.** 47: 397-402.
- Schwarz, K., G. Bertelsen, L.R. Nissen and P.T. Gardner. 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. **European Food Res. Technol.** 212: 319-328.
- Seydim, A.C. and G. Sarikus. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Res. Int.** 39: 639-644.

- Shelef, L.A. 1983. Antimicrobial effects of spices. **J. Food Safety**. 6: 29-44.
- Shibata, N. and Y. Kinumaki. 1979. An improvement of TBA procedure as the measure of the oxidative deterioration occurring in fish oil II intact sample procedure. **Bull. Japanese Soc. Sci. Fisher**. 4: 505-509.
- Sivropoulou A., S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1995. Antimicrobial activity of mint essential oils. **J. Agric. Food Chem**. 43: 2384-2388.
- _____, E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. **J. Agric. Food Chem**. 44: 1202-1205.
- Skandamis, P.N. and G.J. Nychas. 2001. Effect of oregano essential on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmosphere. **J. Appl. Microbiol**. 91: 1011-1022.
- _____ and G.J. Nychas. 2002. Preservative of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. **Int. J. Food Microbiol**. 79: 35-45.
- Skmen, M., J. Serkedjieva, D. Daferera, M. Gulluce, M. Polissiou, B. Tepe, H.A. Akpulat, F. Sahin and A. Sokmen. 2004. *In vitro* antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. **J. Agric. Food Chem**. 52: 3309-3312.
- Solomakos, N., A. Govaris, P. Koidis and N. Botsoglou. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. **Food Microbiol**. 25: 120-127.

- Souza, E.L., T.L.M. Stamford and E.O. Lima. 2006. Sensitivity of spoiling and pathogen food - related bacteria to *origanum vulgare* L. (lamiaceae) essential oil. **Braz. J. Microbiol.** 37: 527-532.
- Stephen, A.M. 1995. **Food Polysaccharides and Their Application.** Marcel Inc., New York.
- Suhaj, M. 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. **J. Food Compos. Anal.** 19: 531-537.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S.W. Bigger. 2003. Active packaging technologies with and emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **J. Food Sci.** 68: 408-420.
- _____, K. Sonneveld, S.W. Bigger and J. Miltz. 2008. Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. **LWT.** 41: 779-788.
- Tampieri, M.P., R. Galuppi, F. Macchioni, M.S. Carelle, L. Falcioni, P.L. Cioni and I. Morelli. 2005. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Mycopathol.** 59: 339-345.
- Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and J. Weiss. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. **Lett. App. Microbiol.** 39: 401-406.
- Tsigarida, E., P. Skandamis and G.J. Nychas. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *autochthonous flora* on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. **J. Appl. Microbiol.** 89: 901-909.
- Ultee, A. and E.J. Smid. 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. **Int. J. Food Microbiol.** 64: 373-378.

- _____, M.H.J. Bennik and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 68: 1561-1568.
- Veldhuizen, E.J.A., J.L.M.T. Bokhoven, C. Zweijter, S.A. Burt and H.P. Haggman. 2006. Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. **J. Agric. Food Chem.** 54: 1874-1879.
- Walsh, S.E., J.Y. Maillard, A.D. Russell, C.E. Catrenich, D.L. Charbonneau and R.G. Bartolo. 2003. Activity and mechanism of action of selective biocidal agents on Gram-positive and negative bacteria. **J. Appl. Microbiol.** 94: 240-247.
- Wan, J., A. Wilcock and M.J. Coventry. 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. **J. Appl. Microbiol.** 84: 152-158.
- Wei, A. and T. Shibamoto. 2007. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. **J. Agric. Food Chem.** 55: 1737-1742.
- Wilkinson, J.M., M. Hipwell, T. Ryan and H.M.A. Cavanagh. 2003. Bioactivity of *Backhousia citriodora*: Antibacterial and antifungal activity. **J. Agric. Food Chem.** 51: 76-81.
- Yanishlieva, N.V. and E.M. Marinova. 1995. Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria. **Die Nahrung** 39: 458-463.
- Yin, M. and W. Cheng. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. **Meat Sci.** 63: 23-28.
- Yogesh, M. 2006. **Development of LDPE-based Antimicrobial Films for Food Packaging.** Master Thesis, Victoria University, Melbourne, Australia.

- Zaika, L.L. 1988. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. **J. Food Safety** 9: 97-118.
- Zhang, H., B. Kong, Y.L. Xiong and X. Sun. 2009. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. **Meat Sci.** In Press.
(DOI:10.1016/j.meatsci.2008.11.011)
- Zivanovic, S., S. Chi and A.F. Draughon. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **J. Food Sci.** 70: 45-51.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

ถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารแข็งผิวเอียง (agar slant) NA หรือ YMA โดยเชื้อจุลินทรีย์ลงบนผิวอาหารเอียงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ จากนั้นถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารเอียงเชื้อเหลว แล้วนำไปเพาะเชื้ออีกครั้ง ณ อุณหภูมิและเวลาที่กล่าวมาข้างต้น นำสารแขวนลอยจุลินทรีย์ที่ได้ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดเก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่มีกลีเซอรอลร้อยละ 40 ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -2 องศาเซลเซียสก่อนนำมาใช้งานต่อไป

การวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่เตรียมไว้มาถ่ายลงในอาหารแข็ง NA หรือ YMA นำจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ จากนั้นถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารเอียงเชื้อเหลว นำไปเพาะเชื้ออีกครั้ง ณ อุณหภูมิและเวลาที่กล่าวมาข้างต้น แล้วนำสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ปริมาณ 1 มิลลิลิตรหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 2 นาที ล้างตะกอนของเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ทั้งส่วนเหนือตะกอนแล้วล้างเซลล์อีกครั้ง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการล้างเซลล์ปริมาณ 1 มิลลิลิตรเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตรและเจือจางลง 10 เท่าจากแต่ละความเข้มข้นตั้งแต่ 10^1 ถึง 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากนั้นใช้ปิเปตถ่ายสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละความเข้มข้นปริมาณ 1 มิลลิลิตรลงในอาหารแข็ง NA หรือ YMA จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรียและอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงสำหรับการเจริญของยีสต์ จากนั้นนับปริมาณโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญ (การเจือจางจะทำจนถึงระดับที่สามารถนับปริมาณจุลินทรีย์ได้ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ) ดังตารางผนวกที่ ก1

ตารางผนวกที่ ก1 จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จุลินทรีย์	จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)
<i>Bacillus cereus</i>	4.20×10^6
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.98×10^8
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.29×10^8
<i>Micrococcus luteus</i>	3.37×10^6
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.34×10^8
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.23×10^8
<i>Escherichia coli</i>	7.10×10^8
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	6.30×10^8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.62×10^8
<i>Salmonella</i> Enteritidis	6.67×10^8
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.67×10^7
<i>Candida albicans</i>	6.83×10^7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8.93×10^8
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	3.80×10^7

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรบด

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์-รา และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในเนื้อสุกรบด โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA PDA และอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (selective difference agar) ตามลำดับ โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 นำตัวอย่างเนื้อสุกรบด 25 กรัมและสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร ผูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นได้ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า โดยผูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค spread plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA EMB และ BP และบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA วิเคราะห์ผลโดยการสังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์หา *L. monocytogenes* โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 โดยนำตัวอย่างเนื้อสุกรบด 25 กรัมและสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร ผูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นได้ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LEB 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นผูดสารละลายตัวอย่างอาหารที่บ่มแล้ว 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า โดยผูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค spread plate ลงบนอาหารแข็ง PALCAM บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลโดยการสังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์หา *Salmonella* sp. โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 โดยนำตัวอย่างเนื้อสุกรบด 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ผูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นและบ่มแล้ว 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว rappaport-vassiliadis soya peptone broth 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นผูดสารละลายตัวอย่างอาหารที่บ่มแล้ว 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า โดยผูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค spread plate ลงบนอาหารแข็ง SS บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลโดยการสังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

- หมายเหตุ** PCA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)
- EMB สำหรับวิเคราะห์ *E. coli* (โคโลนีสีม่วงแดง หรือม่วงดำ ไม่เยิ้ม อาจมีจุดตรงกลางโคโลนี หรืออาจมีเงาวาวโลหะ)
- BP สำหรับวิเคราะห์ *S. aureus* (โคโลนีเติบโตจนถึงดีมาก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.0-1.5 มิลลิเมตร ใน 18 ชั่วโมงหลังจากการบ่ม จนถึง 3.0-5.0 มิลลิเมตร ในเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีดำเป็นมันวาว ลักษณะโค้งมน ขอบเรียบ มีเส้นตะกอนสีขาวเล็ก ๆ ล้อมรอบและมีบริเวณใสขนาด 2.0-5.0 มิลลิเมตรล้อมรอบโคโลนีอีกทีหนึ่ง)
- CA สำหรับวิเคราะห์ *Pseudomonas* sp. (โคโลนีเรืองแสง สีเขียว)
- PALCAM สำหรับวิเคราะห์ *L. monocytogenes* (โคโลนีสีเทาเขียว มีตะกอนสีดำ และจะฟอกจางสีอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีแดงเข้มไปเป็นสีดำ)
- SS สำหรับวิเคราะห์ *Salmonella* sp. (โคโลนีไม่มีสี โปร่งแสง มีจุดสีดำกลางโคโลนี บริเวณสีเหลืองอมน้ำตาลรอบ ๆ โคโลนี)
- PDA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณยีสต์-รา (yeast-mold)

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิบัติการออกซิเดชัน

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการดีฟิวชัน

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนอาการดีฟิวชัน เป็นวิธีทดสอบตามรายงานของ Dorman *et al.*(2000)

หลักการ คือ ศึกษาการเกิดออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิก เพื่อใช้ในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลของกรดลิโนเลอิกเพอร์ออกไซด์ที่ไปทำปฏิกิริยาออกซิโดซ์เบต้าแคโรทีนในระบบอาหารแข็งได้ โดยการผสมสารละลายเบต้าแคโรทีนซึ่งมีสีส้มและกรดลิโนเลอิกลงในวุ้น จะได้วุ้นสีส้มเพื่อใช้ในการทดสอบ เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรดลิโนเลอิกจะออกซิโดซ์เบต้าแคโรทีนทำให้สีส้มหายไป โดยสีของวุ้นจะจางลง น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปจับกับอนุมูลของกรดลิโนเลอิกทำให้ลดการสูญเสียสีส้มลงได้ โดยวัดบริเวณสีเหลืองส้มรอบหลุมวุ้นที่บรรจุน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่แสดงถึงการมีฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กล่าวคือสารตัวอย่างที่แสดงบริเวณสีเหลืองส้มรอบหลุมวุ้นเป็นบริเวณกว้างจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ในขณะที่สารตัวอย่างที่แสดงบริเวณสีเหลืองส้มรอบหลุมวุ้นเป็นบริเวณแคบจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ

วิธีนี้สามารถนำไปใช้ในการประเมินค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยได้

1. สารเคมี

- 1.1 สารละลายเบต้าแคโรทีนในอะซีโตน (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 10 มิลลิลิตร
- 1.2 กรดลิโนเลอิกในเอทานอล หรือ DMSO (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 2 มิลลิลิตร
- 1.3 ผงวุ้น 2 กรัม
- 1.4 น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2. วิเคราะห์

2.1 ละลายผงวุ้น 2 กรัมในน้ำเดือด 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นจนมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลายเบต้าแคโรทีนในอะซิโตน (ข้อ 1.1) และกรดคลิโนเลอิกในเอทานอล หรือ DMSO (ข้อ 1.2) คนตลอดเวลา เทสารละลายที่ได้ลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

2.2 เจาะหลุมด้วยตัวเจาะหลุมวุ้นเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร หยดน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย 15 ไมโครลิตร (ถ้าตัวอย่างเป็นแผ่นฟิล์มทดสอบ โดยตัดฟิล์มให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรวางบนวุ้นโดยไม่ต้องเจาะหลุม) ทิ้งไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนสีพื้นหลังของวุ้นที่มีสีส้มในตอนแรกถูกฟอกจางลง

2.3 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณสีเหลืองล้อมรอบหลุมวุ้นที่บรรจุตัวอย่างด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier calipers) รายงานผลเป็นมิลลิเมตร การปรากฏสีเหลือง หรือสีส้มไว้รอบบริเวณหลุมวุ้นที่บรรจุสารตัวอย่างแสดงถึงควมมีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตัวอย่าง

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง เป็นวิธีทดสอบตามรายงานของ Phoopuritham *et al.* (2006)

วิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิงเป็นวิธีที่ใช้ศึกษาการเกิดออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดคลิโนเลอิกในอิมัลชันเฟสด้วยหลักการเดียวกันกับวิธีเบต้าแคโรทีนอาการ์ดิฟฟิวชันที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นและการเปลี่ยนแปลงสีของเบต้าแคโรทีนจากการถูกออกซิไดซ์สามารถวัดได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1. สารเคมี

- 1.1 สารละลายเบต้าแคโรทีน 0.2 มิลลิกรัม ในคลอโรฟอร์ม 0.2 มิลลิลิตร
- 1.2 กรดคลิโนเลอิก 20 มิลลิกรัม
- 1.3 ทวิน-40 200 มิลลิกรัม

1.4 น้ำกลั่นอิมัลชันด้วยแก๊สออกซิเจน เตรียมได้จากการฟลักซ์แก๊สออกซิเจนลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที

1.5 น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างสารละลายเบต้าแคโรทีนในคลอโรฟอร์ม กรดลิโนเลอิกและทีน-40 ละลายให้เข้ากัน จากนั้นระเหยคลอโรฟอร์มออกให้หมดด้วยการพ่นแก๊สไนโตรเจน

2.2 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรและน้ำกลั่นอิมัลชันด้วยแก๊สออกซิเจน 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.3 เตรียมการทดสอบไว้สิ่งตัวอย่างเหมือนข้อ 2.1 และ 2.2 เพียงแต่เติมสารเบต้าแคโรทีนลงไป

2.4 คูณสารละลายที่ได้จากข้อ 2.2 ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 4 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นต่าง ๆ 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ถ้าสิ่งทดลองเป็นฟิล์มให้ใช้ฟิล์มขนาด 1 ตารางเซนติเมตรต่อสารละลาย 1 มิลลิลิตร)

2.5 ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ณ เวลาเริ่มต้นและเวลา 180 นาที

2.6 กำหนดร้อยละของกิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant activity; AA) ของสารตัวอย่างจากการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนได้จากสูตร

$$\%AA = \frac{Ae_{(180)} - Ac_{(180)}}{Ac_{(0)} - Ac_{(180)}} \times 100$$

เมื่อ

$Ae_{(180)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบ (Extract) ที่เวลา 180 นาที

$Ac_{(0)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (Control) ที่เวลา 0 นาที

$Ac_{(180)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (Control) ที่เวลา 180 นาที

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เป็นวิธีวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธีการของ Phoopuritham *et al.*(2006)

หลักการ คือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH มีสีม่วงแดงและดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในกรณีสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย โดยรายงานความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ

1. สารเคมี

1.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.2 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 0.12 มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย หรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยและเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยให้ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 1.2 มิลลิลิตร นั่นคือ ปริมาตรรวมของสารตัวอย่างและเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40 จะต้องเท่ากับ 1.08 มิลลิลิตร

2.3 ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 40 เป็นการทดสอบไว้สิ่งทดลอง

2.5 คำนวณหาร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระได้จากสูตร

$$\%scavenging = 1 - \frac{Absorbance\ of\ sample}{Absorbance\ of\ control} \times 100$$

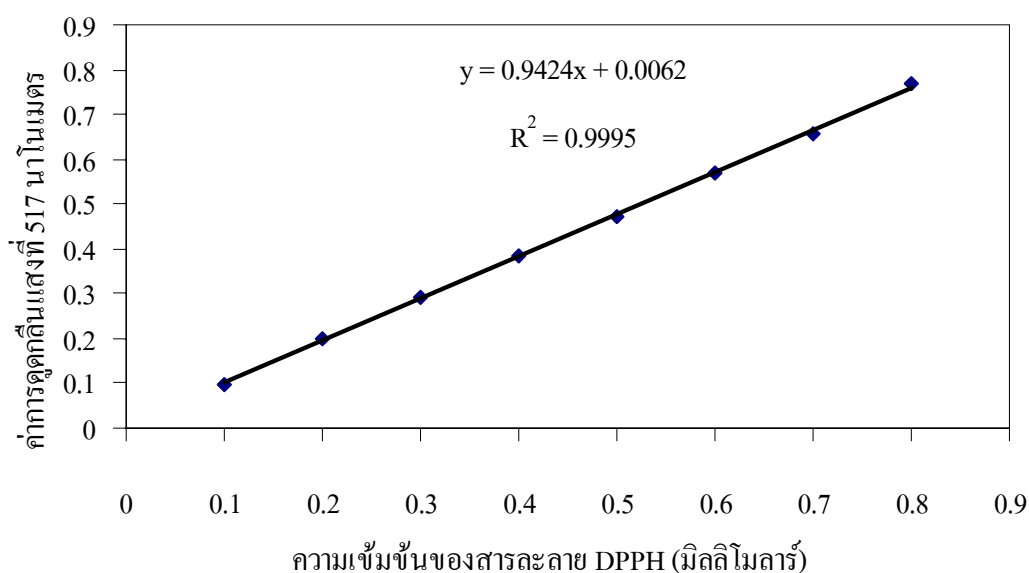
EC₅₀ ของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

ค่า EC₅₀ หมายถึง ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือทำลายอนุมูลอิสระลงได้ร้อยละ 50 ดังนั้นสารตัวอย่างใดที่มีค่า EC₅₀ ต่ำจะมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง

1. ตัวอย่างการคำนวณ

1.1 สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

สมการเส้นตรง คือ $y = 0.9424x + 0.0062$ และค่า $R^2 = 0.9995$ ดังแสดงในภาพผนวกที่ ข1



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

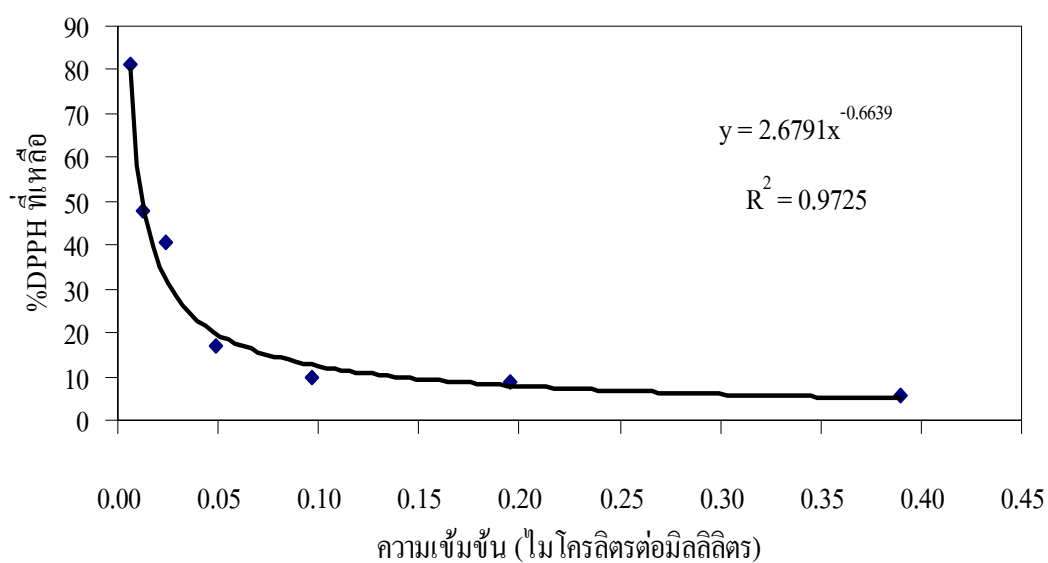
1.2 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง แทนค่าในสมการ $y = 0.9424x + 0.0062$ เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลาย DPPH หรือ $[DPPH]_T$

1.3 นำค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH หรือ $[DPPH]_T$ ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 1.2 แทนค่าในสมการ

$$\%DPPH \text{ ที่เหลือ} = [DPPH]_T / [DPPH]_{T=0} \times 100$$

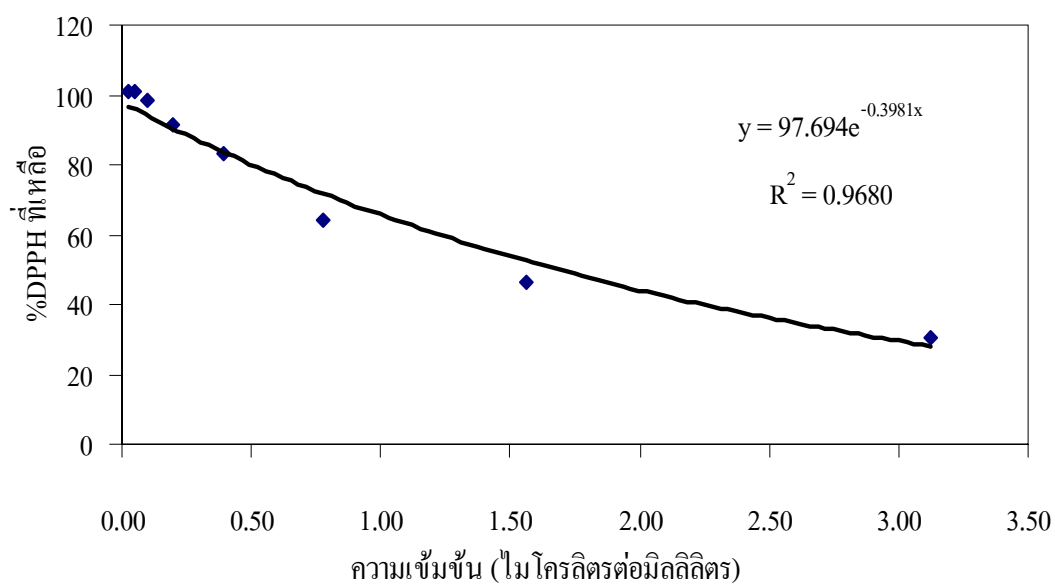
โดยที่ $[DPPH]_{T=0}$ คือ ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ของหลอดควบคุม

1.4 นำค่า % DPPH ที่เหลือ ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 1.3 มาสร้างกราฟดังภาพผนวกที่ ข2

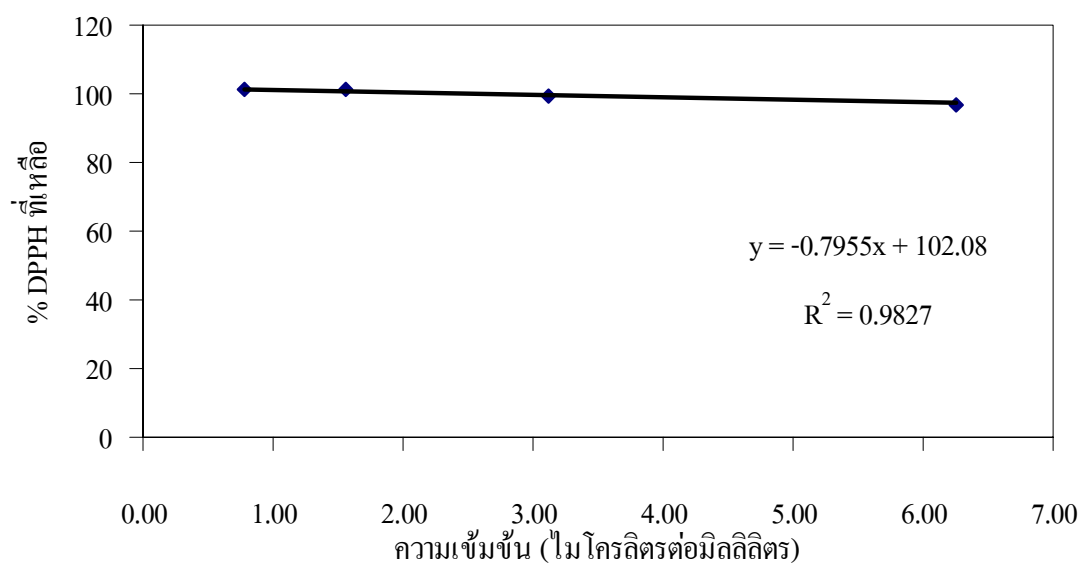


ภาพผนวกที่ ข2 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของปิเอชเอที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

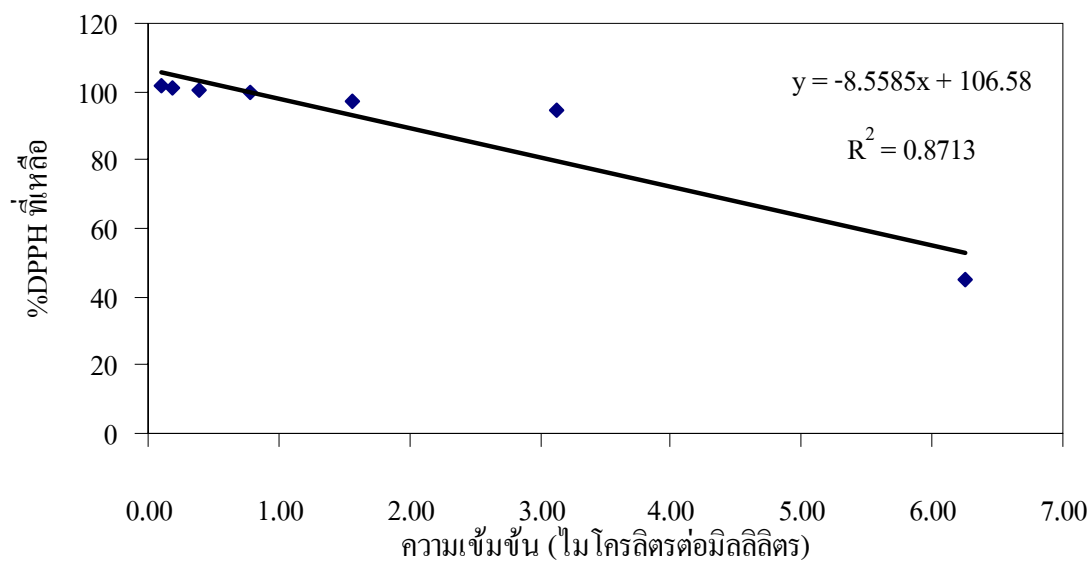
1.5 กำหนดค่า EC_{50} ของสารตัวอย่างอื่น ๆ โดยใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับตัวอย่างข้างต้น แสดงกราฟปริมาณ DPPH ที่เหลื่อดังต่อไปนี้



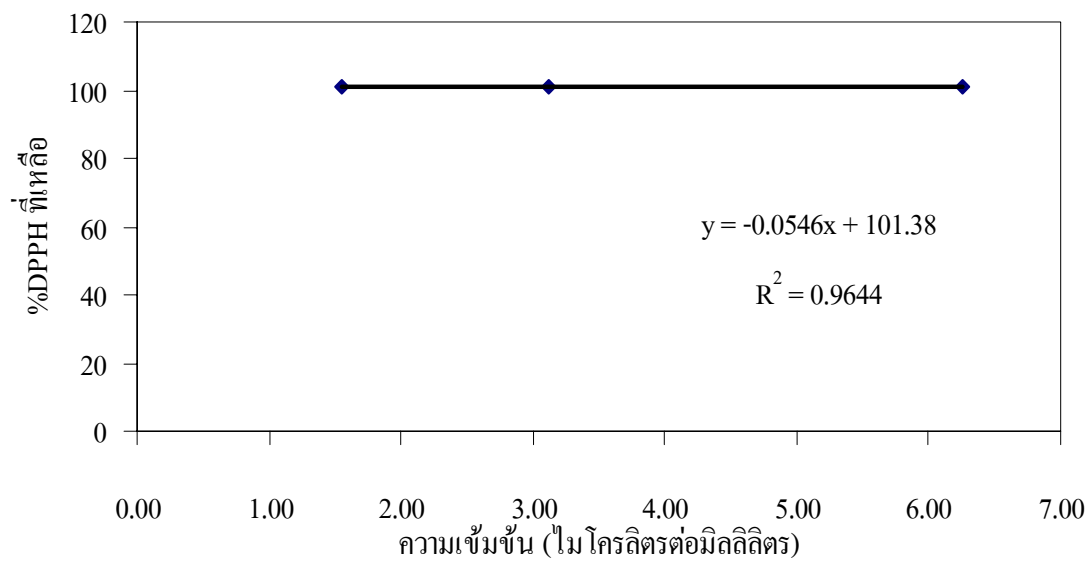
ภาพผนวกที่ ข3 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันกระดังงาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



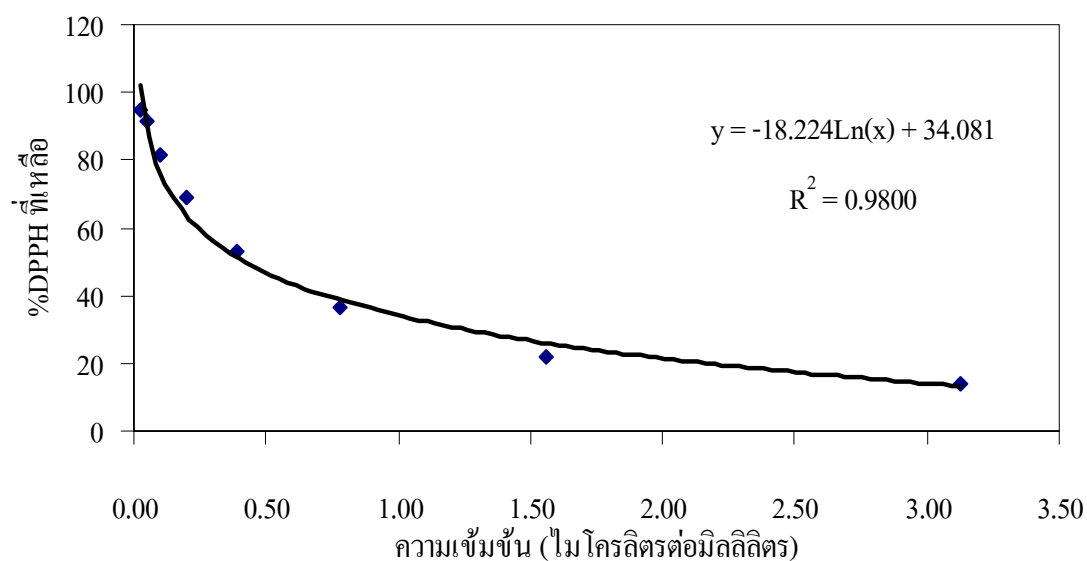
ภาพผนวกที่ ข4 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของลินลอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



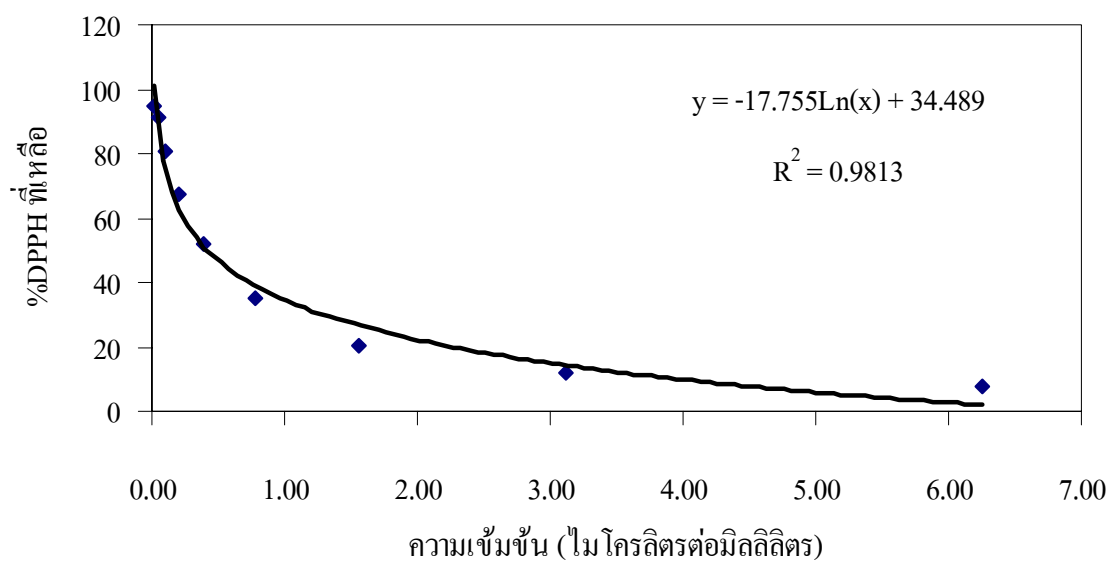
ภาพผนวกที่ ข5 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันกระชายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ ข6 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของจีรานีออ์ลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ ข7 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของน้ำมันออริกานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ ข8 กราฟปริมาณ DPPH ที่เหลือของควาครอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นวิธีทดสอบตาม AOAC (1990)

หลักการ คือ เป็นการวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในไขมัน หรือน้ำมัน เปอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นในไขมัน หรือน้ำมันอย่างช้า ๆ ขณะที่ไขมัน หรือน้ำมันถูกเก็บไว้ไม่ให้สัมผัสกับอากาศ โดยจะเกิดการหืน (oxidative rancidity) ขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ดังนั้นไขมัน หรือน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมาก หรือมีค่าไอโอดีนสูงจะเกิดการหืนได้ง่าย

1. สารเคมี

- 1.1 สารละลายผสมของกรดอะซีติกและคลอโรฟอร์มอัตราส่วน 3:2
- 1.2 สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว
- 1.3 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล
- 1.4 สารละลายเบี่ยงความเข้มข้นร้อยละ 1

2. วิธีวิเคราะห์

- 2.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อสุกรบด 3 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมของกรดอะซีติกและคลอโรฟอร์ม 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 2.2 ให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที
- 2.3 กรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ภายใต้สภาวะสุญญากาศ
- 2.4 เติมโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มัลอย่างช้า ๆ เขย่าอย่างแรงจนกระทั่งได้สีเหลืองอ่อน
- 2.5 เติมสารละลายเบี่ยง 0.5 มิลลิลิตร ไทเทรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป

2.6 คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์ได้จากสูตร

$$\frac{\text{ค่าเปอร์ออกไซด์}}{\text{(มิลลิกรัมวาลেন্টต่อกิโลกรัม)}} = \frac{S \times N \times 1000}{W}$$

เมื่อ

S = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กิโลกรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไทโอบาร์บิฐริก (Thiobarbituric Acid number; TBA)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไทโอบาร์บิฐริก เป็นวิธีทดสอบตามรายงานของ Shibata and Kinumaki (1979)

หลักการ คือ เป็นการวัดปริมาณสารประกอบคาร์บอนิล ได้แก่ สารมาลอนัลดีไฮด์ (malonaldehyde) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นหลัก โดยใช้กรดไทโอบาร์บิฐริก 2 โมเลกุล (2- thiobarbituric acid) ทำปฏิกิริยาควบนั่นกับสารมาลอนัลดีไฮด์เกิดเป็นสารสีแดง ซึ่งทราบปริมาณได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยปริมาณกรดไทโอบาร์บิฐริกเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างอนุมูลอิสระของกรดไขมันและก๊าซออกซิเจนในอากาศ ซึ่งมีอุณหภูมิ แสงและเกลือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด

1. สารเคมี

- 1.1 กรดไทโอบาร์บิฐริก
- 1.2 บีเอชเอ
- 1.3 บีเอชที
- 1.4 สารละลาย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 20
- 1.5 กรดไตรคลอโรอะซีติก (TCA)
- 1.6 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

1.7 พรอพิลีนไกลคอล

2. การเตรียมสารเคมี

2.1 สารละลายกรดไทโอบาร์บิฐริก

ชั่งกรดไทโอบาร์บิฐริก 1 กรัม ละลายใน 75 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2 สารละลายกันหืน

ชั่ง BHA 0.3 กรัม ละลายในโพรพิลีนไกลคอล 5.4 กรัม ผสมกับ BHT 0.4 กรัม ละลายใน Tween-20 0.4 กรัม

2.3 สารละลาย EDTA ร้อยละ 20 (น้ำหนักโดยปริมาตร)

ชั่ง EDTA 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2.4 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก-กรดเกลือ

2.4.1 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกร้อยละ 25 (น้ำหนักโดยปริมาตร) โดยชั่งกรดไตรคลอโรอะซิติก 25 กรัม ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2.4.2 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 นอร์มัล โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 37 (โดยน้ำหนัก) 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2.4.3 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกร้อยละ 25 (น้ำหนักโดยปริมาตร) 50 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 นอร์มัล ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 2 นาที

3.2 ปิเปตสารละลายที่ได้ในข้อ 3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติมสารละลายกันหืน 3 หยด สารละลาย EDTA ร้อยละ 20 จำนวน 1 มิลลิลิตร สารละลายกรดไทโอบาร์บิฐริก 3 มิลลิลิตรและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก-กรดเกลือ จำนวน 17 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.3 ผ่านแก๊สไนโตรเจนลงไปแทนที่อากาศในหลอดทดลอง ปิดฝาให้แน่น แล้วนำสารละลายที่ได้ไปเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที โดยทำการทดสอบไว้สิ่งตัวอย่างควบคู่ไปด้วย

3.4 ทำให้เย็นทันที จากนั้นเติมคลอโรฟอร์มจำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงโดยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

3.5 นำสารละลายส่วนใสตอนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า TBA ในรูปของมิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม ตัวอย่าง จากสูตร

$$\text{TBA value} = \frac{A \times MW \times 10^3}{\frac{AM(100)/X}{W}} = \frac{A \times 4.6 \times 10^{-2}}{W}$$

เมื่อ

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

MW = น้ำหนักโมเลกุลของมาลอนอัลดีไฮด์ มีค่าเท่ากับ 72

AM = Molar absorptivity index ของมาลอนอัลดีไฮด์ มีค่าเท่ากับ 1.56×10^5

X = Dilution factor มีค่าเท่ากับ 10

W = น้ำหนักตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกิโลกรัม

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรบด

ผู้ทดสอบ _____ วันที่ทำการทดสอบ _____

คำชี้แจง ท่านจะได้รับตัวอย่างเนื้อสุกรบดทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ซึ่งจะมี 2 ตัวอย่างที่เหมือนกันและอีก 1 ตัวอย่างที่แตกต่างกัน (odd sample) โปรดทดสอบความแตกต่างโดยรวมของตัวอย่างทั้งหมด แล้วทำเครื่องหมายกากบาทตรงช่องหมายเลขของตัวอย่างที่มีความแตกต่าง

- | | | |
|----|----------------------------|---|
| 1) | <u>ตัวอย่างหมายเลข</u> | <u>ทำเครื่องหมายเฉพาะตัวอย่างที่มีความแตกต่าง</u> |
| | 121 | _____ |
| | 309 | _____ |
| | 910 | _____ |
| 2) | <u>โปรดระบุความแตกต่าง</u> | |
| | แตกต่างเล็กน้อย | _____ |
| | แตกต่างปานกลาง | _____ |
| | แตกต่างมาก | _____ |
| | แตกต่างมากที่สุด | _____ |
| 3) | <u>ข้อเสนอแนะ</u> | |
| | _____ | |

ภาคผนวก จ
ตารางผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ๑1 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระดังงา (*Cananga odorata*)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ1 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

ตารางผนวกที่ ๑2 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของลินาลอล (linalool)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	10.26±0.01 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	9.98±0.00 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	10.53±0.01 ^c	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10.91±0.23 ^{dc}	10.03±0.00 ^{bb}	7.24± 0.06 ^A	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ2 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	13.29±0.05 ^{CB}	12.49±0.05 ^{CA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	14.08±0.06 ^{CB}	7.08±0.06 ^{AA}	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลอดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{A-C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ 3 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันกระชาย (*Boesenbergia pandurata*)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	8.67±0.00 ^{bC}	7.50±0.02 ^{bB}	7.04±0.01 ^{aA}	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	10.46±0.06 ^{dC}	9.05±0.00 ^{dB}	8.18±0.00 ^{dA}	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	11.93±0.02 ^{ID}	11.01±0.01 ^{hC}	10.33±0.00 ^{IB}	8.92±0.07 ^{bA}	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	7.04±0.01 ^{aA}	7.02±0.00 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.05±0.04 ^{aA}	7.01±0.01 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10.79±0.04 ^{cC}	10.42±0.00 ^{gB}	7.11±0.01 ^{bA}	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10.28±0.01 ^{eD}	10.03±0.00 ^{eC}	8.43±0.00 ^{eB}	7.15±0.03 ^{aA}	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ3 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	13.08±0.01 ^{gB}	10.24±0.01 ^{fA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	13.26±0.01 ^{hC}	8.90±0.04 ^{cB}	7.48±0.05 ^{cA}	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{A-D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{a-h} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑4 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของจีรานีโอล (geraniol)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	10.93±0.05 ^d	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	7.75±0.03 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10.47±0.02 ^{cB}	9.24±0.02 ^{aA}	-	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ4 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	18.35±0.04 ^{1C}	14.64±0.01 ^{1B}	11.12±0.07 ^{1A}	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9.86±0.04 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	13.75±0.04 ^{1B}	11.88±0.06 ^{1A}	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลอดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{A-C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๑5 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันออริกาน (Origanum vulgare)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	18.05±0.02 ^{iC}	13.67±0.09 ^{gB}	11.52±0.02 ^{gA}	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	10.49±0.04 ^{aC}	10.14±0.01 ^{aB}	7.73±0.01 ^{aA}	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.22±0.00 ^{bB}	10.96±0.06 ^{bA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	13.01±0.01 ^{cD}	12.06±0.04 ^{dC}	10.07±0.02 ^{cB}	9.34±0.02 ^{bA}	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.66±0.04 ^{fC}	13.03±0.00 ^{eB}	11.24±0.01 ^{fA}	-	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	14.10±0.02 ^{dB}	11.05±0.05 ^{cA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	21.06±0.01 ^{kC}	14.83±0.02 ^{hB}	10.39±0.01 ^{dA}	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	16.18±0.00 ^{eB}	13.33±0.01 ^{fA}	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	17.99±0.01 ^{hC}	13.68±0.04 ^{gB}	12.77±0.00 ^{hA}	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	17.58±0.01 ^{gE}	16.07±0.02 ^{jD}	15.08±0.08 ^{iC}	12.64±0.01 ^{cB}	10.09±0.09 ^A	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ5 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	18.25±0.05 ^{iC}	15.75±0.04 ^{iB}	9.43±0.01 ^{bA}	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	27.14±0.01 ^{iD}	25.09±0.06 ^{kC}	10.51±0.04 ^{eB}	7.03±0.01 ^{aA}	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{A-E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{a-i} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๖6 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของควาครอล (carvacrol)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>									
<i>Bacillus cereus</i>	22.05±0.02 ^{hC}	17.73±0.01 ^{hB}	10.98±0.01 ^{dA}	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	12.04±0.04 ^{aD}	11.07±0.02 ^{aC}	10.03±0.04 ^{cB}	7.37±0.02 ^{cA}	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.38±0.00 ^{bD}	11.46±0.01 ^{cC}	8.53±0.01 ^{aB}	6.39±0.04 ^{bA}	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	14.41±0.04 ^{dC}	12.00±0.03 ^{dB}	11.87±0.01 ^{gA}	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.12±0.00 ^{aD}	11.35±0.03 ^{bC}	11.04±0.01 ^{cB}	9.27±0.00 ^{eA}	-	-	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>									
<i>Aeromonas hydrophila</i>	14.34±0.02 ^{dD}	12.01±0.03 ^{dC}	9.96±0.01 ^{bB}	6.30±0.00 ^{aA}	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	21.24±0.01 ^{gE}	16.00±0.02 ^{fd}	13.05±0.04 ^{hC}	10.05±0.04 ^{fb}	7.03±0.00 ^{aA}	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	12.71±0.01 ^{cC}	11.49±0.04 ^{cB}	11.34±0.02 ^{fA}	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	17.98±0.05 ^{cC}	15.14±0.01 ^{eB}	11.08±0.01 ^{eA}	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19.13±0.15 ^{fE}	17.28±0.01 ^{gD}	16.63±0.01 ^{jC}	11.25±0.04 ^{gB}	9.10±0.04 ^{bA}	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ จ6 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)								
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78
<u>ยีสต์</u>									
<i>Candida albicans</i>	21.15±0.00 ^{gD}	18.15±0.04 ^{iC}	15.34±0.01 ^{iB}	13.60±0.03 ^{hA}	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	27.65±0.04 ^{iD}	24.35±0.03 ^{jC}	18.10±0.04 ^{kB}	9.06±0.01 ^{dA}	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลอดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้าน

^{A-E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{a-k} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๗ กิจกรรมการดำนปฏิบัติกรียาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยทดสอบด้วยวิธีเบต้าแคโรทีนบลีซิง

ความเข้มข้น (ไมโครลิตรต่อ มิลลิลิตร)	กิจกรรมการดำนปฏิบัติกรียาออกซิเดชัน ¹ (ร้อยละ)±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน						
	น้ำมันกระดังงา	น้ำมันกระชาย	น้ำมันออริกาน	ลินาลอล	จี้รานีอล	คาวาครอล	บีเอชเอ
200	99.37±0.67 ^{kB}	86.83±0.69 ^{hA}	266.80±1.47 ^{kE}	110.88±1.77 ^{hC}	98.80±0.52 ^{gB}	276.33±0.36 ^{kF}	127.39±0.91 ^{iD}
100	93.71±0.06 ^{jB}	79.34±0.78 ^{gA}	191.16±1.57 ^{jF}	103.27±0.36 ^{gD}	97.01±0.83 ^{gC}	224.90±0.36 ^{jG}	109.35±0.51 ^{hE}
50	89.82±0.28 ^{iC}	69.46±0.45 ^{fA}	183.54±0.68 ^{iF}	82.86±1.11 ^{fB}	96.06±0.48 ^{fD}	184.49±0.71 ^{iF}	104.23±0.73 ^{gE}
25	78.59±0.75 ^{hD}	59.73±1.50 ^{eB}	172.38±0.68 ^{hF}	36.19±0.76 ^{eA}	62.28±0.90 ^{eC}	174.15±0.59 ^{hG}	101.34±0.96 ^{fE}
12.5	66.32±0.40 ^{gD}	51.35±0.83 ^{dC}	169.93±0.76 ^{gF}	14.69±0.76 ^{dA}	46.26±1.80 ^{dB}	171.56±0.82 ^{gG}	99.44±0.22 ^{eE}
6.25	60.48±0.45 ^{fD}	45.96±1.52 ^{cC}	161.36±0.36 ^{fF}	6.80±0.83 ^{cA}	35.33±0.54 ^{cB}	164.76±0.68 ^{fG}	98.00±0.40 ^{dE}
3.125	55.09±0.30 ^{eD}	40.57±0.26 ^{bC}	152.24±0.85 ^{eF}	4.08±0.36 ^{bA}	32.34±1.17 ^{bB}	159.86±0.95 ^{eG}	95.21±0.95 ^{cE}
1.56	47.90±1.08 ^{dD}	15.27±0.54 ^{aB}	145.17±0.62 ^{dF}	3.95±0.62 ^{bA}	32.04±0.60 ^{bC}	150.75±0.72 ^{dG}	92.32±1.16 ^{bE}
0.78	27.69±1.05 ^{cC}	14.22±0.54 ^{aB}	130.07±0.36 ^{cF}	3.54±0.49 ^{abA}	29.79±0.78 ^{aD}	129.12±0.76 ^{cF}	91.76±0.29 ^{bE}
0.39	19.16±0.65 ^{bC}	14.07±0.26 ^{aB}	80.41±0.76 ^{bE}	3.40±1.03 ^{abA}	29.34±0.15 ^{aD}	80.82±0.68 ^{bE}	90.98±0.87 ^{bF}
0.195	15.87±0.65 ^{aC}	14.07±0.75 ^{aB}	52.11±0.72 ^{aF}	2.04±0.72 ^{aA}	20.36±0.15 ^{aD}	47.48±0.24 ^{aE}	85.63±1.28 ^{aG}

หมายเหตุ ¹ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

^{a-k} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ๖8 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม)						
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์และรา	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.
ตัวควบคุม ¹	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	1	4.75	4.92	4.86	4.23	3.87	3.78	0.00
	2	5.54	5.77	5.13	4.73	4.11	3.85	0.00
	3	6.13	6.04	5.67	4.94	4.57	4.00	0.00
	5	7.00	6.68	6.04	5.03	4.93	4.02	4.63
	7	7.63	7.06	6.30	5.35	5.33	4.48	5.18
ถาวาครอรร้อยละ 0.5	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	1	4.49	4.68	4.48	3.97	3.70	3.51	0.00
	2	4.91	5.33	4.69	4.20	3.83	3.57	0.00
	3	5.30	5.58	5.05	4.33	4.01	3.68	0.00
	5	6.00	6.18	5.58	4.49	4.35	3.71	4.56
	7	6.99	6.64	5.81	4.74	4.74	4.12	4.97

ตารางผนวกที่ จ8 (ต่อ)

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม)						
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์และรา	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.
คาวาครอรร้อยละ 1.0	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	1	4.35	4.38	4.13	3.69	3.55	3.37	0.00
	2	4.48	4.77	4.31	3.71	3.61	3.40	0.00
	3	4.65	5.03	4.69	3.77	3.66	3.41	0.00
	5	5.20	5.69	4.97	3.87	4.00	3.44	4.51
	7	6.21	6.02	5.27	4.23	4.29	3.65	4.86

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ
ฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ๑๑ ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม)						
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์และรา	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.
ตัวควบคุม ¹	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	0.5	4.75	5.00	4.66	4.40	4.40	3.87	0.00
	1	5.49	5.70	5.70	5.03	4.56	4.06	0.00
	2	6.60	6.24	6.20	5.55	4.74	4.58	0.00
	3	7.22	6.76	6.40	5.99	5.42	4.61	4.76
	5	7.90	7.40	7.18	6.17	5.90	4.61	5.10
	7	8.63	7.68	7.33	6.25	6.26	5.11	5.38
คาวาครอสร้อยละ 0.5	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	0.5	4.48	4.81	4.43	4.15	3.60	3.79	0.00
	1	4.74	5.26	5.20	4.69	3.86	3.88	0.00
	2	5.69	5.77	5.51	5.00	4.23	4.04	0.00
	3	6.23	6.11	5.79	5.32	4.70	4.08	4.51
	5	7.30	6.84	6.78	5.55	5.16	4.24	4.77
	7	8.02	7.08	6.86	5.87	5.45	4.70	5.08

ตารางผนวกที่ ๑๑ (ต่อ)

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม)						
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์และรา	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.
คาวาครอรร้อยละ 1.	0	4.20	3.93	3.62	3.42	3.41	3.40	0.00
	0.5	4.32	4.63	4.33	3.97	3.46	3.48	0.00
	1	4.47	4.91	4.90	4.36	3.70	3.50	0.00
	2	4.98	5.24	5.09	4.78	3.88	3.54	0.00
	3	5.40	5.56	5.23	4.95	4.29	3.60	4.48
	5	6.50	6.32	6.10	5.17	4.42	3.67	4.59
	7	7.27	6.61	6.26	5.43	4.85	4.34	4.96

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ
ฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ10 ค่าสีของเนื้อสุกบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ค่าสี	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		ตัวควบคุม ¹	คาวาครอลร้อยละ 0.5	คาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
L*	0	58.37±0.32	58.61±0.24	58.43±0.34	58.59±0.31	58.68±0.24
	1	58.45±0.34	59.15±0.52	59.30±0.30	57.20±0.33	59.05±0.12
	2	59.87±0.35	58.81±0.20	57.48±0.74	58.47±0.31	57.50±0.70
	3	57.22±0.77	57.36±0.55	59.27±0.33	58.96±0.33	57.48±0.47
	5	59.12±0.85	58.19±0.93	57.47±0.30	58.41±0.85	58.84±0.98
	7	58.11±0.84	57.47±0.30	59.52±0.41	59.38±0.04	58.12±0.70
a*	0	17.77±0.14	17.79±0.11	17.86±0.06	17.80±0.13	17.84±0.11
	1	17.54±0.12	17.67±0.27	17.82±0.12	17.44±0.11	17.68±0.04
	2	15.43±0.21	16.79±0.08	17.62±0.15	16.61±0.07	17.15±0.36
	3	15.06±0.37	16.38±0.11	16.68±0.10	15.86±0.32	16.48±0.12
	5	13.83±0.20	14.75±0.53	15.67±0.06	14.39±0.63	15.32±0.20
	7	12.78±0.36	14.07±0.15	14.20±0.29	13.85±0.10	14.15±0.32

ตารางผนวกที่ จ10 (ต่อ)

ค่าสี	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		ตัวควบคุม ¹	กาวาครอลร้อยละ 0.5	กาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
b*	0	12.64±0.18	12.56±0.14	12.66±0.10	12.69±0.18	12.65±0.14
	1	12.74±0.27	13.81±0.59	12.43±0.36	12.32±0.09	13.84±0.09
	2	13.01±0.75	13.54±0.18	13.49±0.12	13.22±0.34	12.50±1.06
	3	13.26±1.45	11.91±0.15	13.64±0.06	14.10±0.79	11.27±0.19
	5	12.85±0.16	14.56±0.11	11.76±0.18	13.85±0.21	12.71±0.64
	7	13.74±0.47	13.24±0.15	13.01±1.04	13.15±0.10	13.18±0.95
ΔE	0	0.00±0.00	0.39±0.25	0.42±0.00	0.25±0.00	0.38±0.26
(ค่าความแตกต่างของสี	1	0.56±0.29	1.46±0.62	1.00±0.42	1.52±0.43	1.29±0.19
เทียบกับตัวควบคุม	2	2.92±0.23	1.46±0.15	1.40±0.55	1.41±0.22	1.80±0.61
วันที่ 0)	3	3.37±0.27	2.08±0.26	1.82±0.31	2.58±0.30	2.31±0.25
	5	4.14±0.12	3.82±0.38	2.60±0.23	3.75±0.78	2.75±0.27
	7	5.18±0.46	3.97±0.20	3.98±0.33	4.07±0.16	3.92±0.39

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลล์โพลีเอทรีนที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ11 ค่าสีของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

ค่าสี	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		ตัวควบคุม ¹	กาวาครอลร้อยละ 0.5	กาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
L*	0	58.13±1.05	58.16±1.04	58.12±1.05	58.19±1.08	58.19±1.11
	0.5	58.63±0.32	58.53±0.33	58.17±0.30	58.42±0.28	58.48±0.41
	1	59.66±0.32	59.66±0.79	59.76±0.32	59.43±0.31	60.13±0.39
	2	59.30±0.90	59.83±0.90	59.78±0.53	59.00±0.36	59.28±0.83
	3	56.98±0.48	58.29±0.27	58.25±0.35	58.44±0.53	60.05±0.62
	5	54.75±0.12	57.41±0.54	57.76±0.22	60.36±0.64	59.31±0.91
	7	56.38±0.39	57.39±0.49	58.25±0.75	57.22±0.29	60.49±0.16
a*	0	17.62±0.25	17.63±0.27	17.68±0.16	17.60±0.22	17.65±0.18
	0.5	17.54±0.32	17.58±0.80	17.61±0.09	17.60±0.19	17.62±0.19
	1	16.97±0.29	17.38±0.73	17.59±0.86	17.38±0.73	17.45±0.58
	2	15.98±0.17	16.70±0.27	17.07±0.27	16.66±0.25	16.96±0.98
	3	15.02±0.09	15.67±0.10	16.67±0.16	15.62±0.13	16.30±0.91
	5	13.49±0.15	14.58±0.08	15.15±0.13	14.56±0.69	15.06±0.28
	7	12.41±0.17	13.65±0.17	14.57±0.32	13.15±0.45	14.59±0.26

ตารางผนวกที่ จ11 (ต่อ)

ค่าสี	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		ตัวควบคุม ¹	ภาวการอลร้อยละ 0.5	ภาวการอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
b*	0	14.06±0.88	14.09±0.87	14.05±0.86	14.02±0.76	14.11±0.80
	0.5	14.39±0.33	13.65±0.44	13.98±0.86	14.01±0.84	13.97±0.79
	1	13.49±0.60	14.50±0.37	13.96±0.41	13.47±0.43	14.37±0.73
	2	14.59±0.21	13.63±1.25	13.24±1.17	12.97±0.28	13.46±0.46
	3	11.79±0.12	12.65±0.27	12.21±0.23	12.50±0.37	13.55±0.51
	5	13.01±0.30	12.32±0.33	12.28±0.19	14.29±0.55	15.30±0.26
	7	11.17±0.25	11.73±0.40	12.44±0.41	12.06±0.22	13.25±0.32
ΔE	0	0.00±0.00	0.12±0.06	0.16±0.06	0.33±0.07	0.33±0.14
(ค่าความแตกต่างของสี	0.5	1.65±0.62	1.63±0.29	1.12±0.38	1.06±0.38	0.98±0.22
เทียบกับตัวควบคุม	1	2.08±0.63	1.95±1.41	1.97±1.12	1.94±0.57	2.06±1.32
วันที่ 0)	2	2.87±0.79	2.02±0.37	2.10±1.14	2.08±0.31	2.24±1.13
	3	3.74±1.02	2.63±0.46	2.55±0.59	2.75±0.35	2.55±1.57
	5	5.51±0.84	3.80±0.75	3.29±0.54	3.88±1.35	3.57±0.57
	7	6.29±0.68	4.82±0.52	3.60±0.66	5.07±0.96	4.06±0.73

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลล์โพลีเอทรีนที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางผนวกที่ จ12 ค่าพีเอชของเนื้อสุกบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูลอสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
	ตัวควบคุม ¹	คาวาครอลร้อยละ 0.5	คาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	5.97±0.01	5.97±0.01	5.97±0.01	5.96±0.00	5.96±0.01
1	5.91±0.02	5.93±0.01	5.94±0.01	5.93±0.00	5.93±0.03
2	5.90±0.00	5.92±0.00	5.93±0.02	5.92±0.01	5.93±0.01
3	5.88±0.02	5.91±0.01	5.92±0.00	5.88±0.00	5.92±0.00
5	5.84±0.01	5.88±0.02	5.91±0.02	5.86±0.03	5.90±0.02
7	5.82±0.02	5.82±0.01	5.85±0.01	5.83±0.01	5.84±0.00

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลลูลอสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ13 ค่าพีเอชของเนื้อสุกบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
	ตัวควบคุม ¹	คาวาครอลร้อยละ 0.5	คาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	5.97±0.01	5.97±0.01	5.97±0.01	5.96±0.01	5.96±0.00
0.5	5.92±0.00	5.95±0.01	5.95±0.00	5.94±0.00	5.96±0.03
1	5.85±0.01	5.93±0.02	5.92±0.02	5.90±0.00	5.93±0.01
2	5.81±0.00	5.87±0.03	5.88±0.00	5.86±0.03	5.89±0.02
3	5.80±0.02	5.81±0.00	5.84±0.01	5.80±0.00	5.83±0.00
5	5.78±0.02	5.79±0.01	5.82±0.01	5.79±0.02	5.81±0.00
7	5.70±0.01	5.77±0.00	5.80±0.02	5.75±0.01	5.79±0.02

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ
¹ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ14 ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัมตัวอย่าง)				
	ตัวควบคุม ¹	ควาครอลร้อยละ 0.5	ควาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	1.19±0.16	1.11±0.14	1.08±0.14	1.11±0.14	1.08±0.14
1	2.84±0.18	1.75±0.09	1.39±0.14	2.03±0.07	1.53±0.13
2	3.39±0.09	2.08±0.14	1.59±0.09	2.25±0.09	1.64±0.07
3	3.78±0.13	2.59±0.09	1.84±0.18	2.70±0.07	1.97±0.07
5	4.30±0.16	3.08±0.20	2.28±0.13	3.17±0.10	2.42±0.09
7	4.95±0.17	3.61±0.09	2.42±0.18	3.75±0.14	2.58±0.18

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ15 ค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูลต่อกิโลกรัมตัวอย่าง)				
	ตัวควบคุม ¹	ควาครอลร้อยละ 0.5	ควาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	1.11±0.17	1.06±0.13	1.06±0.13	1.08±0.14	1.08±0.14
0.5	1.78±0.08	1.42±0.09	1.09±0.09	1.59±0.09	1.17±0.10
1	2.58±0.18	1.81±0.16	1.22±0.13	1.89±0.14	1.28±0.13
2	4.00±0.15	2.31±0.19	1.59±0.09	2.47±0.07	1.64±0.07
3	4.44±0.14	2.97±0.07	1.81±0.16	3.09±0.09	1.92±0.09
5	5.14±0.12	3.22±0.08	2.36±0.07	3.42±0.14	2.42±0.14
7	5.97±0.13	4.42±0.09	3.11±0.14	4.50±0.21	3.03±0.07

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ
¹ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ จ16 ค่า TBA ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ค่า TBA (มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)				
	ตัวควบคุม ¹	คาวาครอลร้อยละ 0.5	คาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	0.078±0.003	0.064±0.008	0.051±0.003	0.060±0.005	0.053±0.006
1	0.131±0.005	0.092±0.004	0.069±0.004	0.101±0.005	0.076±0.003
2	0.209±0.004	0.177±0.003	0.131±0.005	0.177±0.005	0.131±0.003
3	0.299±0.006	0.232±0.002	0.182±0.007	0.239±0.003	0.196±0.007
5	0.308±0.004	0.248±0.008	0.198±0.005	0.244±0.003	0.200±0.005
7	0.460±0.006	0.373±0.005	0.292±0.007	0.380±0.003	0.311±0.005

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางผนวกที่ จ17 ค่า TBA ของเนื้อสุกรบดห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ด้านปฏิบัติการออกซิเดชัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ค่า TBA (มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)				
	ตัวควบคุม ¹	คาวาครอลร้อยละ 0.5	คาวาครอลร้อยละ 1.0	บีเอชเอร้อยละ 0.5	บีเอชเอร้อยละ 1.0
0	0.076±0.003	0.062±0.007	0.046±0.005	0.060±0.003	0.051±0.007
0.5	0.152±0.005	0.130±0.003	0.087±0.005	0.127±0.005	0.083±0.001
1	0.200±0.004	0.168±0.007	0.099±0.003	0.168±0.007	0.108±0.007
2	0.322±0.005	0.258±0.001	0.182±0.005	0.260±0.003	0.184±0.005
3	0.414±0.005	0.357±0.003	0.262±0.005	0.361±0.005	0.270±0.007
5	0.419±0.002	0.359±0.004	0.269±0.009	0.366±0.002	0.274±0.005
7	0.644±0.006	0.557±0.003	0.453±0.003	0.547±0.005	0.460±0.007

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

¹ฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวสุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	20 ธันวาคม 2526
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	Oral Presentations: Srinoovaratkul, S., S. Tannachasai and P. Suppakul. Bi-Functional Activities of Fingerroot, Oregano and Ylang Ylang Oils and Their Principal Constituents, and Possible Application in Active Packaging. The Proceedings of 10 th Agro-Industrial Conference (Food Innovation Asia 2008): June 12-13, 2008. Bangkok, Thailand.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-