



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

ปริญญา

เทคโนโลยีการบรรจุ

เทคโนโลยีการบรรจุ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และการประยุกต์
เป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุ

Release of Cinnamaldehyde and Eugenol from Cellulose Ether Films and Application as
Antimicrobial Packaging Film

นามผู้วิจัย นางสาวนิพร เดชสุข

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์วาณี ชนเห็นชอบ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D.)

รักษาราชการแทนหัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธัญญารัตน์ จิฎกานนท์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และการประยุกต์เป็นฟิล์มต้าน
จุลินทรีย์เพื่อการบรรจุ

Release of Cinnamaldehyde and Eugenol from Cellulose Ether Films and Application as
Antimicrobial Packaging Film

โดย

นางสาวนิพร เดชสุข

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

พ.ศ. 2551

นิพนธ์ เลขสุข 2551: การปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลจากฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์และการ
ประยุกต์เป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)
สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D. 135 หน้า

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาฟิล์มต้านจุลินทรีย์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอล ในด้านการปลดปล่อยสาร
ต้านจุลินทรีย์ การประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์หมูยอ และอายุการเก็บรักษาของฟิล์มต้านจุลินทรีย์ สำหรับการ
ศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จะทำโดยนำซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลเติมในสารละลายเซลล์โลส
อีเทอร์มาขึ้นรูปฟิล์มโดยเทลงในจานพลาสติก และวัดปริมาณการปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลไปยัง
สารละลายนอร์มัลเฮปแทน จากการทดลองพบว่าสารทั้งสองชนิดแสดงพฤติกรรมปลดปล่อยแบบ non-
Fickian ที่อุณหภูมิค่าและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก
4 องศาเซลเซียส เป็น 25 องศาเซลเซียส ซินนามาลดีไฮด์มีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้นจาก 2.22×10^{-14}
ตารางเมตรต่อวินาที เป็น 4.25×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ในขณะที่ยูจีนอลมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มจาก
 2.59×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที เป็น 6.36×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที อิทธิพลของอุณหภูมิต่อค่าสัมประสิทธิ์
การแพร่สามารถอธิบายได้ด้วยสมการอาร์เรเนียส จากการทดลองพบว่าค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของ
ซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลมีค่าเท่ากับ 20.88 จูลต่อโมล และ 30.91 จูลต่อโมล ตามลำดับ เมื่อนำฟิล์ม
พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลมาประยุกต์ใช้ห่อหมูยอ
และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์มีค่า TBA น้อยกว่าหมู
ยอห่อด้วยฟิล์มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังพบว่าหมูยอที่ห่อด้วย
ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีค่าพีเอชลดลงน้อยกว่าหมูยอห่อด้วยฟิล์มควบคุม สำหรับผลการวิเคราะห์สี
พบว่าสารต้านจุลินทรีย์และระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อค่าสีของหมูยออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ
เคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมยูจีนอลมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีน
ความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลมีอายุการเก็บมากกว่า 30 วัน ส่วนผล
การทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ทดสอบชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างหมูยอห่อด้วยฟิล์ม
พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์กับหมูยอห่อฟิล์มควบคุมซึ่งเก็บรักษา
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงระยะเวลา 5 วันได้ สำหรับผลการทดสอบฟิล์มที่เก็บอุณหภูมิห้องเป็น
เวลา 210 วัน พบว่าฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์สูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ
Listeria monocytogenes และ *Esherichia coli* O157: H7 ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้เน้นให้เห็นถึงความเป็นไปได้
ในการนำฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์มาใช้เป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุเพื่อทำให้อาหารที่
อยู่ในบรรจุภัณฑ์มีคุณภาพและความปลอดภัยที่ดียิ่งขึ้น

Niporn dejsuk 2008: Release of Cinnamaldehyde and Eugenol from Cellulose Ether Films and Application as Antimicrobial Packaging Film. Master of Science (Packaging Technology), Major Field: Packaging Technology, Department of Packaging Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Panuwat Suppakul, Ph.D. 135 pages.

The present study generally aimed at investigating AM packaging films containing either cinnamaldehyde or eugenol, regarding to release of AM, application in Vietnamese bologna and shelf-life of AM packaging film. For release experiment, either cinnamaldehyde or eugenol was incorporated into cellulose ether solution, and then followed by casting in the Petri-dish. Release of either cinnamaldehyde or eugenol into n-heptane was investigated. It showed a non-Fickian behavior at low temperature. An increase in temperature from 4 °C to 25 °C resulted in an increase in the diffusion coefficient from $2.22 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ to $4.25 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ for cinnamaldehyde and $2.59 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ to $6.36 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ for eugenol. An increase in temperature resulted in an increase in the diffusion coefficient. The temperature dependence of the diffusion coefficient is well described by an Arrhenius equation with activation energy of 20.88 J mol^{-1} and 30.91 J mol^{-1} for cinnamaldehyde and eugenol, respectively. Either cinnamaldehyde- or eugenol-incorporated cellulose ether-coated LDPE film was applied to wrap samples of Vietnamese bologna and stored at 4 °C. They showed significantly lower thiobarbituric acid (TBA) value ($P \leq 0.05$) whereas pH of decreased during storage period. Color values (L^* , a^* and b^*) were not considerably affected by both treatments or storage time ($P > 0.05$). However, ΔE of eugenol-incorporated cellulose ether-coated LDPE tended to increase as increasing storage time. Shelf-life of Vietnamese bologna wrapped with either cinnamaldehyde- or eugenol-incorporated cellulose ether-coated LDPE film was longer than 30 days. In addition, sensory panelists did not perceive a difference in flavour between Vietnamese bologna wrapped in cinnamaldehyde-incorporated cellulose ether-coated LDPE and in the control film throughout the storage period of 5 days at 4 °C. In film storage tests of 210 days at ambient conditions, the AM cellulose ether films showed a loss of AM activity against *Listeria monocytogenes* and *Esherichia coli* O157: H7. These studies highlight the encouraging potential use of cellulose ether film containing cinnamaldehyde as AM packaging film for enhancing quality and safety of packaged foods.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภานุวัฒน์ สรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ฉวีชนเห็นชอบ และรองศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์สายสนม ประดิษฐ์ดวง อาจารย์อำพร เสน่ห์ ที่เสียสละเวลามาเป็นผู้ทรงคุณวุฒิและประธานในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำแก้ไขในการทำเล่มวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ สถาบันพัฒนาและวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) ที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนสำหรับการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ประเวทย์ คัญเต็มวงศ์ หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่อนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์พรณจิรา วงษ์สวัสดิ์ ที่กรุณาให้อุปกรณ์เครื่องแก้วในการทำวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำและให้กำลังใจในการทำงาน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และอาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำงานตลอดมา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์และทดสอบ

ขอขอบพระคุณมารดา คุณย่า และคุณยาย ที่คอยเลี้ยงดูสั่งสอนจนข้าพเจ้าได้ประสบความสำเร็จในวันนี้ ขอขอบคุณญาติพี่น้อง หลานๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่เป็นขวัญและกำลังใจให้ข้าพเจ้ามีความมั่นใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน และหากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

นิพร เดชสุข

ตุลาคม 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	41
อุปกรณ์	41
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	51
สรุปและข้อเสนอแนะ	90
สรุป	90
ข้อเสนอแนะ	92
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	93
ภาคผนวก	105
ภาคผนวก ก การขึ้นรูปฟิล์มด้านจูลินทรีย์	106
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี	110
ภาคผนวก ค การวัดปริมาณการปลดปล่อยสารด้านจูลินทรีย์ออกจาก ฟิล์มด้านจูลินทรีย์ไปสู่สารละลายนอร์มัลเฮปเทน	117
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางจูลินทรีย์	121
ภาคผนวก จ แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	130
ภาคผนวก ฉ การทดสอบสมบัติของฟิล์ม	132
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	135

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างสารด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในวัสดุทางการบรรจุอาหาร	8
2	อาหารจำลองสำหรับการตรวจวัดค่าไมเกรชันของพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร	24
3	อาหารจำลองสำหรับการตรวจวัดค่าไมเกรชันของพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหารตามข้อกำหนดของประเทศไทย	25
4	ชนิดของสารพิษที่ <i>Clostridium perfringens</i> ผลิตขึ้น	35
5	ปริมาณสารด้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในฟิล์มหลังการขึ้นรูป	53
6	ผลของอุณหภูมิต่อการเคลื่อนย้ายมวลซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปเทน	57
7	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารด้านจุลินทรีย์ในฟิล์มชนิดต่างๆ	58
8	ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่เติมในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์	61
9	ค่าสีของหมวยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส	64
10	ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของหมวยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส	74
11	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ triangular test ของหมวยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์	77
12	ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจีนอล ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์	87
13	ค่าความโปร่งใสของฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาต่างๆ	88

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระบบการบรรจุอาหารและปรากฏการณ์เคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร	5
2	ลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารตามรูปแบบของการบรรจุแบบด้านจูลินทรีย์ที่แตกต่างกัน	6
3	โครงสร้างของฟิล์มด้านจูลินทรีย์แบบหลายชั้น	7
4	โครงสร้างซินนามาลดีไฮด์	9
5	โครงสร้างยูจินอล	11
6	การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มและสารเคลือบด้านจูลินทรีย์	13
7	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารด้านจูลินทรีย์ในระบบการบรรจุแบบด้านจูลินทรีย์	14
8	ลักษณะความเข้มข้นของสารด้านจูลินทรีย์บนพื้นผิวอาหาร (A) unconstrained free diffusion system และ (B) monolithic system	15
9	โครงสร้างเมทิลเซลลูโลส	18
10	โครงสร้างไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส	19
11	รูปแบบการปลดปล่อยมวลสารภายในบรรจุภัณฑ์ที่มีปริมาณสารยับยั้งเริ่มต้นเท่ากัน	23
12	รูปแบบการทดลองเพื่อหาการปลดปล่อยสาร ออกจากวัสดุบรรจุ	26
13	รูปแบบการทดลองเพื่อหาการปลดปล่อยสาร ออกจากกระดาษเคลือบสารด้านจูลินทรีย์	27
14	ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์	44
15	ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์	51
16	ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์	52
17	ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอล	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาเก็บอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลซินนามาลดีไฮด์ ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาสูงสุด (M_t/M_∞) ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปแทนที่อุณหภูมิต่างๆ	54
19	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาเก็บอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลยูจีนอล ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาสูงสุด (M_t/M_∞) ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปแทนที่อุณหภูมิต่างๆ	55
20	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของซินนามาลดีไฮด์ออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์	60
21	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์	60
22	หุยมอยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์	62
23	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของหุยมอยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส	67
24	การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของหุยมอยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส	69

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ก) และแบคทีเรียแลคติก (ข) ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิการเก็บ 4±2 องศาเซลเซียส	71
26	ปริมาณเชื้อ <i>Pseudomonas sp.</i> ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิการเก็บ 4±2 องศาเซลเซียส	73
27	หมูยอถ่ายเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> บรรจุในถุงฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์	78
28	การยับยั้งเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 4±2 องศาเซลเซียส	79
29	การยับยั้งเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 10±2 องศาเซลเซียส	80

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
30	การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> O157: H7 ในหมวยหอ่ด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 4±2 องศาเซลเซียส	81
31	การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> O157: H7 ในหมวยหอ่ด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 10±2 องศาเซลเซียส	82
32	ร้อยละการเหลืออยู่ของซินนามาลดีไฮด์ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ	84
33	ร้อยละการเหลืออยู่ของยูจินอลในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ	84
34	ความสัมพันธ์ของ $\ln(C-C_{\infty})$ ของซินนามาลดีไฮด์ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ	85
35	ความสัมพันธ์ของ $\ln(C-C_{\infty})$ ของยูจินอลในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ	86
36	ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 210 วัน	89
ภาพผนวกที่		
ก1	ขั้นตอนการขึ้นรูปฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์	109
ข1	กราฟมาตรฐานของซินนามาลดีไฮด์	115

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ข2	กราฟมาตรฐานของยูจีนอล	116
ค1	การปลดปล่อยมวลซินนามาลดีไฮด์ออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปเทนที่อุณหภูมิต่างๆ พร้อมเส้นแนวโน้ม	119
ค2	การปลดปล่อยมวลยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปเทนที่อุณหภูมิต่างๆ พร้อมเส้นแนวโน้ม	120

การปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลจากฟิล์มเซลลูโลสเอเทอร์และการประยุกต์ เป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุ

Release of Cinnamaldehyde and Eugenol from Cellulose Ether Films and Application as Antimicrobial Packaging Film

คำนำ

ในยุคที่เทคโนโลยีมีความเจริญก้าวหน้าและมีการพัฒนาอย่างไม่หยุดยั้งส่งผลให้บรรจุภัณฑ์อาหารจะต้องมีการพัฒนาและมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาเพื่อสนองความต้องการของผู้บริโภคให้มากที่สุด นอกเหนือจากการเป็นบรรจุภัณฑ์เพื่อห่อหุ้มอาหารเพื่อให้ง่ายต่อการขนส่งแล้วยังต้องเป็นบรรจุภัณฑ์ที่สามารถเก็บรักษาคุณภาพ ความสดใหม่ของอาหารจนกว่าจะถึงมือผู้บริโภค ปัจจุบันจึงได้มีการให้ความสนใจเกี่ยวกับการนำฟิล์มต้านจุลินทรีย์มาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บที่สั้นการพัฒนาการยืดอายุการเก็บที่ผ่านมาจะเป็นลักษณะการใช้สารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial agents) ลงไปสัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง โดยการจุ่ม หรือฉีดพ่นสารบนพื้นผิวของผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีข้อจำกัดคือประสิทธิภาพของสารยับยั้งจะเกิดในส่วนของพื้นผิวที่สัมผัสเท่านั้นเนื่องจากการแพร่ของสารจะเกิดขึ้นและหมดไปอย่างรวดเร็วและมีการควบคุมปริมาณการใช้ตามข้อกำหนดของกฎหมาย ในขณะที่ระบบการบรรจุแบบต้านจุลินทรีย์จะมีการควบคุมการปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ โดยอัตราการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารจะมีการควบคุมให้เข้ากับจลนพลศาสตร์การเจริญของจุลินทรีย์ (growth kinetics) กลุ่มเป้าหมาย ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น

การประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มีผู้วิจัยทำมาแล้วก็ได้แก่ Ming *et al.* (1997) ได้นำไนซิน (nisin) และพิดิโอซิน (pediocin) เคลือบบนฟิล์มเซลลูโลส เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อสัตว์และสัตว์ปีก และมีการศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene; LDPE) เติมนิซิน

โดยขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus helveticus* และ *Brochothrix thermospacta* ในเนื้อวุ้น (Siragusa *et al.*, 1999) Ouatara *et al.* (2000) ได้ศึกษาถึงผลของการแพร่ของสารยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งได้แก่กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดอะซิติก (acetic acid) โดยจะมีการเติมและไม่เติมกรดลอริก (lauric acid) หรือทรานส์ซินนามาลดีไฮด์ (trans-cinnamaldehyde) ในฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่ผลิตจากโคโคซานเพื่อยับยั้งแบคทีเรียที่ผิวหนังของผลิตภัณฑ์ โบโลญา (bologna) แฮม (ham) และพาสตามิ (pastami) นอกจากนี้ Franklin *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยใช้ในชั้นเติมในเซลลูโลสอีเทอร์เคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ ห่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอก พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นทำให้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และจากงานวิจัยของณัชชา (2550) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มทางการบรรจุด้านจุลินทรีย์ซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากพืชต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าซินนามาลดีไฮด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมาคือยูจินอล ซึ่งจากผลที่ได้จากงานวิจัยของณัชชาได้นำมาซึ่งการทำงานวิจัยในครั้งนี้

โดยในงานวิจัยนี้จะศึกษาการปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลที่เติมลงในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส และนำฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่ได้มาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์หมูขม เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ และศึกษาการเหลืออยู่ของสารด้านจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ไปสู่แบบจำลองอาหาร
2. เพื่อศึกษาการประยุกต์ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหาร
3. เพื่อศึกษาการเหลืออยู่ของสารต้านจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์

การตรวจเอกสาร

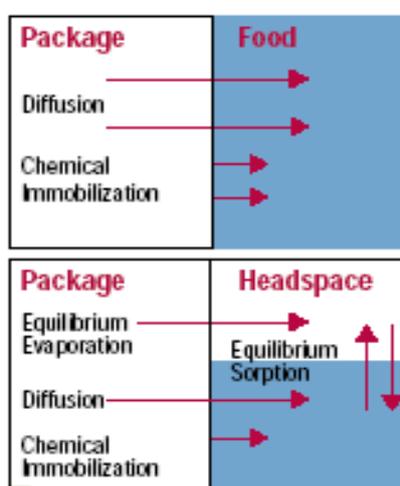
1. การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์ (Antimicrobial Packaging)

การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์ คือ ระบบการบรรจุที่สามารถฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ โดยการลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ หรือยั้งระยะแล็กเฟส (lag phase) ของการเจริญของจุลินทรีย์ (Han, 2000) เพื่อช่วยรักษาความปลอดภัยของอาหาร รวมทั้งถนอมรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของอาหารด้วย เป็นระบบการบรรจุที่นิยมใช้กับอาหารที่เสื่อมเสียง่ายจากจุลินทรีย์ หลักการของการบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์คือการใช้สารต้านจุลินทรีย์ ร่วมกับระบบการบรรจุ ซึ่งอาจใช้ในรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ การเติมสารต้านจุลินทรีย์ในวัสดุบรรจุ หรือการใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ การนำสารต้านจุลินทรีย์มาใช้ในการบรรจุอาหารจะเป็นรูปแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารต้านจุลินทรีย์ สมบัติและลักษณะเฉพาะของอาหาร และชนิดของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดปัญหา (Appendini and Hotchkiss, 2002; Suppakul, 2003a)

การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์เป็นเทคโนโลยีที่ทำท่ายและกำลังเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็วในทศวรรษหน้า เทคโนโลยีนี้ทำให้ภาชนะบรรจุอาหารสามารถแสดงประสิทธิภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยการเติม (incorporation) หรือการเกาะติด (immobilizing) สารต้านจุลินทรีย์ลงในภาชนะบรรจุ หรือโดยการเคลือบ (coating) สารต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวภาชนะบรรจุ ซึ่งการบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยและอุตสาหกรรมเนื่องจากมีศักยภาพในการรักษาคุณภาพและประโยชน์ด้านความปลอดภัยของอาหาร ปัจจุบันการพัฒนายังคงอยู่ในวงจำกัดในเรื่องของสารต้านจุลินทรีย์ วัสดุทางการบรรจุ ข้อกฎหมายและวิธีทดสอบที่เหมาะสม การบรรจุภัณฑ์จุลินทรีย์ สำหรับการวิจัยในอนาคตจะเน้นในเรื่องการใช้สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในแง่ของคุณภาพ อายุการเก็บรักษา ความปลอดภัยของอาหาร และการเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการส่งเสริมการใช้วัสดุทางการบรรจุย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เช่น พลาสติกชีวภาพได้นอกจากนี้มีการศึกษาสารต้านจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (broad spectrum) และมีความเป็นพิษต่ำ รวมถึงการศึกษากลไกและการควบคุมการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์ (Quintavalla and Vicini, 2002)

1.1 ระบบการบรรจุแบบด้านจูลินทรีย์

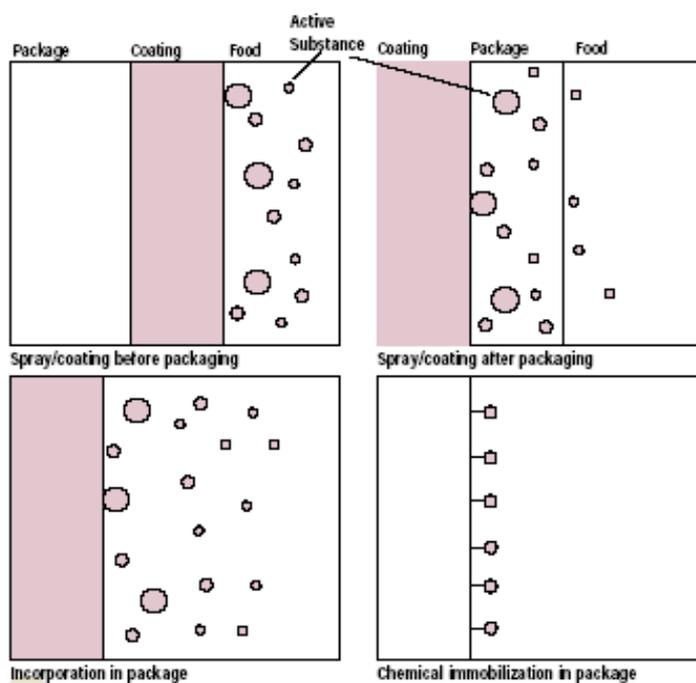
ระบบการบรรจุอาหารโดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยวัสดุบรรจุ อาหาร บรรยากาศ ภายในภาชนะบรรจุ ซึ่งมีทั้งระบบ ภาชนะบรรจุกับอาหาร หรือภาชนะบรรจุกับบรรยากาศภายใน ภาชนะบรรจุและอาหาร ดังภาพที่ 1 ซึ่งจะเกิดการแพร่ของสาร (diffusion) และการดูดซับสมดุล (equilibrium sorption) โดยระบบจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร เช่น ของแข็งหรือของเหลว (Han, 2000)



ภาพที่ 1 ระบบการบรรจุอาหารและปรากฏการณ์เคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร
ที่มา: Han (2000)

บรรจุภัณฑ์ด้านจูลินทรีย์เกิดจากการรวมกันของสารด้านจูลินทรีย์และวัสดุบรรจุ โดยสารด้านจูลินทรีย์จะถูกเติมลงในวัสดุบรรจุ เกาะติดหรือเคลือบบนพื้นผิวของวัสดุบรรจุ ซึ่งจะ เป็นวิธีการใดนั้นขึ้นอยู่กับระบบการบรรจุที่สร้างขึ้น สารด้านจูลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ สาร ด้านจูลินทรีย์ที่เติมในวัสดุบรรจุสามารถเคลื่อนย้ายสู่ผลิตภัณฑ์อาหารได้ ในขณะที่สารด้าน จูลินทรีย์แบบเกาะติดไม่สามารถเคลื่อนย้ายออกจากบริเวณพื้นผิวของวัสดุบรรจุได้บริเวณที่เกิดการ ยับยั้งจูลินทรีย์ในอาหารจะเกิดเฉพาะบริเวณที่สัมผัสกับวัสดุบรรจุเท่านั้น (ภาพที่ 2) ในส่วนของ สารด้านจูลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารระเหยจะมีการปลดปล่อยมวลสารสู่ช่องว่างภายในภาชนะ บรรจุโดยกระบวนการระเหย (evaporation) การควบคุมอัตราการแพร่ของสารด้านจูลินทรีย์จาก วัสดุบรรจุสู่ผลิตภัณฑ์อาหารหรือช่องว่างภายในภาชนะบรรจุสามารถทำได้โดยเพิ่มชั้นของฟิล์มที่

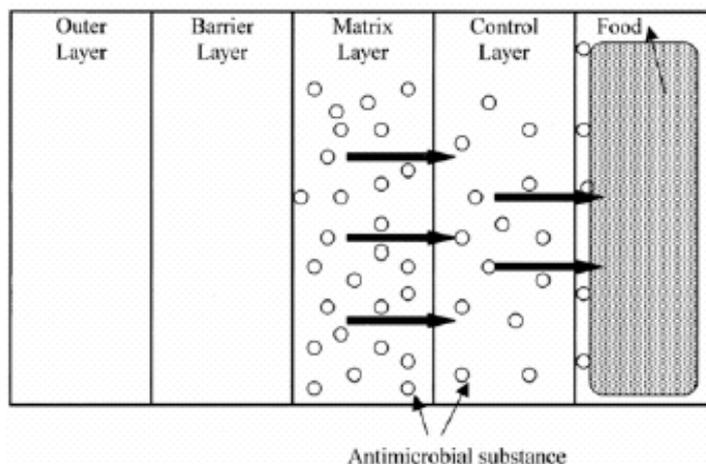
ทำหน้าที่ขัดขวางการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์แทรกอยู่ระหว่างชั้นของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์อาหาร (Han, 2000)



ภาพที่ 2 ลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารตามรูปแบบของการบรรจุแบบต้านจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

ที่มา: Han (2000)

ในกรณีที่สารต้านจุลินทรีย์ไม่สามารถระเหยได้ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นต่อเมื่อบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์นั้นสัมผัสกับพื้นผิวของอาหาร ดังนั้นลักษณะของพื้นผิวและจลนศาสตร์การแพร่จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง นอกจากนี้การใช้ฟิล์มหลายชั้นในการควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ไปสู่พื้นผิวอาหารได้อย่างเหมาะสมเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณา โดยฟิล์มชั้นในจะเป็นชั้นควบคุมอัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ ในขณะที่ฟิล์มเมทริก (matrix) จะมีสารออกฤทธิ์อยู่ในองค์ประกอบและฟิล์มชั้นนอกทำหน้าที่กั้นการซึมผ่านและป้องกันการย้ายที่ออกของสารออก ไปสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกขณะบรรจุดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 โครงสร้างของฟิล์มต้านจุลินทรีย์แบบหลายชั้น

ที่มา: Ozdemir and Floros (2004)

1.2 สารต้านจุลินทรีย์

มีการศึกษาวิจัยสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในวัสดุทางการบรรจุอาหารเพื่อหาสารที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงในการถนอมรักษาคุณภาพอาหารตลอดอายุการเก็บ สารที่ใช้มีทั้งวัตถุกันเสียที่ใช้กับอาหาร สารสกัดจากพืชโดยเฉพาะสมุนไพรรและพืชที่มีสรรพคุณเชิงยา เอนไซม์แบคทีริโอซิน (bacteriocins) สารฆ่ารา (fungicides) ไอออนของโลหะ พอลิเมอร์ และก๊าซบางชนิด กลไกการต้านจุลินทรีย์ของสารแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน การใช้สารต้านจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันมักให้ผลดีกว่าการใช้สารชนิดเดียว ทั้งนี้ต้องคัดเลือกสารให้ทำงานเสริมกันได้

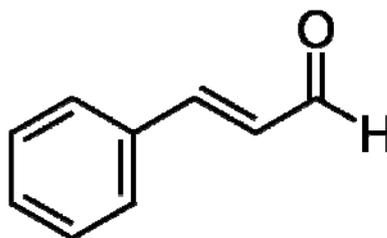
ตารางที่ 1 ตัวอย่างสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในวัสดุทางการบรรจุอาหาร

ประเภท	สารต้านจุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Acid anhydride	Benzoic anhydride	Weng and Hotchkiss (1993); Huang <i>et al.</i> (1997); Dobias <i>et al.</i> (2000)
	Sorbic anhydride	Weng and Chen (1997)
Bacteriocin	Nisin	Luck and Jager (1997); Scannell <i>et al.</i> (2000)
Enzyme	Lysozyme	Appendini and Hotchkiss (1997); Luck and Jager (1997)
Fungicide	Imazalil	Weng and Hotchkiss (1992)
Metal	Silver	Luck and Jager (1997); Chung <i>et al.</i> (1998)
Organic acid	Benzoic acid	Luck and Jager (1997); Chen <i>et al.</i> (1999)
	Sorbic acid	Luck and Jager (1997); Weng <i>et al.</i> (1997)
Plant-volatile	Allyl isothiocyanate	Isshiki <i>et al.</i> (1992); Luck and Jager (1997); Brody <i>et al.</i> (2001)
	Clove extract	Hong <i>et al.</i> (2000)
	Grapefruit seed extract	Ha <i>et al.</i> (2001); Cha <i>et al.</i> (2002)
	Carvacrol	Ouattara <i>et al.</i> (1997); Scora and Scora (1998)
	Cinnamaldehyde	Ouattara <i>et al.</i> (1997)
	Eugenol	Ouattara <i>et al.</i> (1997); Scora and Scora (1998)
	Geraniol	Scora and Scora (1998)
	Linalool	Lis-Balchin <i>et al.</i> (1998); Scora and Scora (1998)
	Thymol	Ouattara <i>et al.</i> (1997); Scora and Scora (1998)

ที่มา: Suppakul *et al.* (2003a)

1.2.1 ชินนามาลดีไฮด์

ชินนามาลดีไฮด์เป็นสารที่พบมากในน้ำมันอบเชย โครงสร้างของชินนามาลดีไฮด์แสดงดังภาพที่ 4 Chang *et al.* (2001) พบว่าชินนามาลดีไฮด์ในน้ำมันอบเชย (*Cinnamomum osmophloeum*) มีอยู่ประมาณร้อยละ 76 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ (minimum inhibitory concentration, MIC) ของน้ำมันอบเชยมีค่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้ง *Salmonella sp.* และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa* *Enterobacter faecalis* Hili *et al.* (1997) พบว่าในน้ำมันอบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) มีชินนามาลดีไฮด์อยู่ประมาณร้อยละ 50 ถึง 70



ภาพที่ 4 โครงสร้างชินนามาลดีไฮด์

ที่มา: Burt (2004)

Smith-Palmer *et al.* (1998) รายงานค่า MIC ของ *C. zeylanicum* ว่ามีค่าร้อยละ 0.05 และ 0.04 ต่อการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ตามลำดับ จากการทดลองจึงสรุปได้ว่า *C. osmophloeum* มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงกว่า *C. zeylanicum* เหตุผลเนื่องจาก *C. osmophloeum* มีปริมาณของชินนามาลดีไฮด์สูงกว่า *C. zeylanicum* นอกจากนี้ Chang *et al.* (2001) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของสารสำคัญในน้ำมันอบเชยที่สำคัญ 8 ชนิดต่อการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* *S. aureus* *E. faecalis* และ *P. aeruginosa* พบว่าชินนามาลดีไฮด์แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์สูงสุด รองลงมา คือ ชินนามิลแอลกอฮอล์ (cinnamyl alcohol) โดยมีค่า MIC ของชินนามาลดีไฮด์เท่ากับ 500 1000 250 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้ง *E. coli* *P. aeruginosa* *E. faecalis* *S. aureus* และ *Salmonella sp.* ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันอบเชยกับชินนามาลดีไฮด์ พบว่าชินนามาลดีไฮด์แสดงกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ต่ำกว่าน้ำมันอบเชยต่อการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด คือ *E. coli* *P. aeruginosa* และ *Salmonella sp.* ดังนั้น

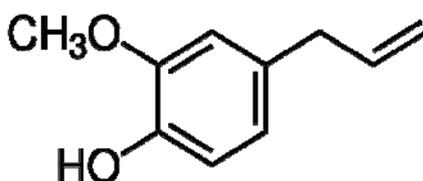
จากข้อมูลข้างต้น Chang *et al.* (2001) จึงได้สรุปว่ากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันอบเชย ไม่ได้ขึ้นกับซินนามาลดีไฮด์เพียงอย่างเดียว อาจเกิดจากผลของการเสริมฤทธิ์กันของสารสำคัญใน น้ำมันอบเชย ในขณะที่ผลการยับยั้ง *E. faecalis* และ *S. aureus* ใกล้เคียงกัน อาจเกี่ยวข้องกับการ มีซินนามาลดีไฮด์เป็นสารสำคัญ

Mahmoud (1994) ศึกษาสารสกัดซินนามาลดีไฮด์จากส่วนรากของอบเชย พบว่า แสดงผลการยับยั้ง *Escherichia coli* O157: H7 ใกล้เคียงกับการยับยั้งเชื้อรา โดยมีค่า MIC ของสาร ต้านจุลินทรีย์เท่ากับ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แม้ว่าส่วนใหญ่สารสกัดจากพืชสามารถยับยั้ง แบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Smith-Palmer *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตาม พบว่า ซินนามาลดีไฮด์จากส่วนรากของอบเชยสามารถยับยั้ง *E. coli* ได้หลายชนิด และมีค่า MIC อยู่ใน ช่วง 250 ถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Kim *et al.* (2004) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอลจาก ส่วนเปลือกไม้ และรากของอบเชย (*Cinnamomum cassia*) พบว่ายับยั้ง *E. coli* ได้หลายสายพันธุ์ รวมถึง *E. coli* O157:H7 โดยมีค่าบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 8 ถึง 13 มิลลิเมตร ซึ่งพบว่าสารสกัดจากส่วน รากให้ผลสูงสุดต่อการยับยั้ง *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ มากกว่าส่วนเปลือกไม้ และเมื่อใช้ซินนามาลดี ไฮด์ซึ่งเป็นสารสกัดจากส่วนรากของอบเชย ปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าปริมาณของ *E. coli* O157:H7 ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 4.9×10^6 เป็น 1.0×10^2 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และเมื่อใช้สาร ซินนามาลดีไฮด์ ปริมาณ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ภายหลังจากเพาะเชื้อ 2 ชั่วโมง พบว่า สามารถฆ่าจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ และมีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ Masuda *et al.* (1998) รายงานว่า ซินนามาลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมันอบเชยแสดงกิจกรรมการ ต้านจุลินทรีย์ต่อการยับยั้งยีสต์ แบคทีเรีย และรา รวมถึงสารพิษที่สร้างจากจุลินทรีย์ โดยสามารถ ยับยั้ง *Staphylococcus sp.* *Micrococcus sp.* *Bacillus sp.* และ *Enterobacter sp.* ที่ 500 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Moleyar and Narasimham (1992) โดยพบว่าซินนามาลดีไฮด์แสดง กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์สูงสุดต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร เช่น *Staphylococcus sp.* *Micrococcus sp.* *Bacillus sp.* และ *Enterobacter sp.* รองลงมา คือ ซิตรอล (citral) จีรานีอล (geraniol) ยูจีนอล และเมนทอล (menthol) ส่วนลินนาลอล (linalool) มีฤทธิ์ต่อ การยับยั้งแบคทีเรียเพียงเล็กน้อย

1.2.2 ยูจีนอล

ยูจีนอลหรือ 2-เมทอกซี-4-(2-โพรพินิล) ฟีนอล ((2-methoxy-4-(2-propynyl) phenol)) (ภาพที่ 5) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำมันกานพลู (*Syzygium aromaticum*) โดยพบประมาณร้อยละ 85 ถึง 90 หลักการทำงานของยูจีนอล ซึ่งจากโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิลสามารถไปเกาะกับโปรตีน ทำให้ลดการทำงานของโปรตีนลง เช่น เอนไซม์ในเชื้อ *Enterobacter aerogenes* นอกจากนี้ยังยับยั้งการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีนเอสของเชื้อ *Bacillus cereus* และยังมีผลต่อผนังเซลล์ ทำให้เกิดการแตกของเซลล์ (Thoroski *et al.* 1989)



ภาพที่ 5 โครงสร้างยูจีนอล

ที่มา: Burt (2004)

ได้มีการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของยูจีนอล โดย Karapinar and Aktug (1987) ได้ทดสอบฤทธิ์ของไทมอล (thymol) ยูจีนอล เมนทอล (menthol) และ อะนิโทล (anethole) ต่อการยับยั้ง *Samonella Typhimurium* *S. aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* พบว่ายูจีนอลมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้สูงที่สุด รองลงมาคือ ไทมอล อะนิโทล และเมนทอล ตามลำดับ และ Pauli and Kubeczka (1996) ได้รวบรวมข้อมูลการยับยั้งจุลินทรีย์ของยูจีนอลโดยการทดสอบด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านในวุ้นและวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 12 ถึง 26 มิลลิเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Dorman and Deans (2000) ที่รายงานว่ายูจีนอลมีค่าบริเวณยับยั้งที่ 13 มิลลิเมตร ต่อการยับยั้ง *E. coli* นอกจากนี้มีค่าบริเวณยับยั้ง 17.0 21.8 10.0 11.7 15.5 11.5 และ 12.9 มิลลิเมตร ต่อการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* *Bacillus subtilis* *E. faecalis* *Micrococcus luteus* *P. aeruginosa* *S. aureus* และ *Salmonella Pullorum* ตามลำดับ ในขณะที่ Nascimento *et al.* (2000) พบว่ายูจีนอลมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* *Salmonella Choleraesuis* *B. subtilis* และ *Candida albicans* โดยเกิดบริเวณยับยั้งต่ำกว่า มีค่าตั้งแต่ 7 มิลลิเมตร ขึ้นไป

สำหรับการทดลองด้วยวิธีการเจือจางในวุ้นและการเจือจางในบรอทของยูจีนอล นั้น Pauli and Kubeczka (1996) พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 10 ถึง 500 และ 63 ถึง 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ต่อการยับยั้ง *E. coli* ซึ่งมีค่าแตกต่างกันมากในแต่ละวิธี เนื่องจากความแตกต่างของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการทดสอบ เช่น สารทดสอบ ความเข้มข้นของสารทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ สภาพะในการเพาะเชื้อ เป็นต้น ในขณะที่ Nascimento (2000) พบว่ายูจีนอลมีค่า MIC อยู่ในช่วง 10 ถึง 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งสาเหตุที่ยูจีนอลมีค่า MIC ต่ำ อาจเนื่องจากความบริสุทธิ์ของยูจีนอล นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาของ Kim *et al.* (1995) ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารของยูจีนอล พบว่ามีค่า MIC 1.0 0.5 และมากกว่า 0.1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้ง *E. coli* *S. Typhimurium* และ *L. monocytogenes* ตามลำดับ

1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

ปัจจัยที่สำคัญที่ควรพิจารณาในการออกแบบบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและความปลอดภัยสำหรับสำหรับผู้บริโภค มีดังต่อไปนี้คือ

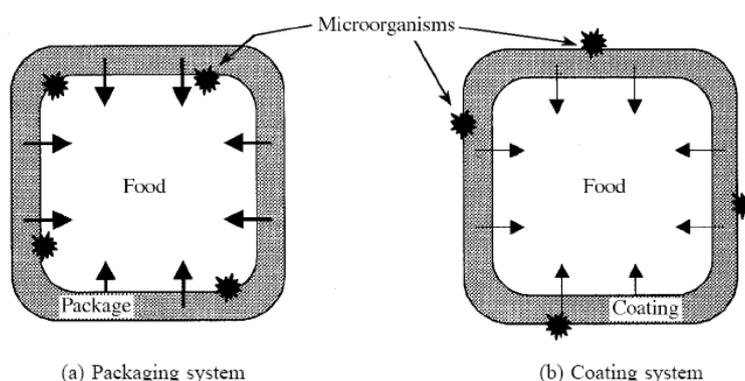
1.3.1 ลักษณะของสารต้านจุลินทรีย์และอาหาร

สารต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้อย่างจำเพาะ ดังนั้นการที่จะเลือกใช้สารต้านจุลินทรีย์ชนิดใดขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการยับยั้ง นอกจากนี้อาหารแต่ละชนิดมีคุณลักษณะแตกต่างกัน ได้แก่ ค่าพีเอช (pH) ค่าออกเตอรแอกติวิตี (water activity; a_w) ส่วนประกอบของอาหาร และอุณหภูมิในการเก็บรักษา สารต้านจุลินทรีย์ที่เลือกใช้ต้องมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ได้ดีภายใต้สภาวะของอาหารภายในบรรจุภัณฑ์

1.3.2 การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์

ในการออกแบบระบบการบรรจุแบบด้านจุลินทรีย์จำเป็นต้องควบคุมการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์และคำนึงถึงกลไกการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเมื่ออัตราการเคลื่อนที่ของสารต้านจุลินทรีย์จากภาชนะบรรจุไปยังอาหารเร็วกว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะทำให้สาร

ต้านจุลินทรีย์ถูกทำลายก่อนอายุการเก็บรักษาอาหาร และสารต้านจุลินทรีย์ก็จะสูญเสียคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ไปเนื่องจากอาหารที่บรรจุมีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณของวัสดุบรรจุ และปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จึงเริ่มเจริญเติบโตหลังจากการทำลายสารต้านจุลินทรีย์ ในทางตรงกันข้ามเมื่ออัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ช้ากว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ก็สามารถเจริญเติบโตก่อนที่สารต้านจุลินทรีย์จะปลดปล่อยออกมา ดังนั้นอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์จากวัสดุบรรจุไปยังอาหารจะต้องมีการควบคุมให้เข้ากับจลนพลศาสตร์การเจริญของจุลินทรีย์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย ภาพที่ 6 ซึ่งในกรณีการบรรจุโดยการใส่สารต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์ม (A) และการเคลือบบนฟิล์ม (B) โดยมีการเคลื่อนที่ของสารจากภาชนะบรรจุไปยังอาหารในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง โดยระบบ A มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหาร ขณะที่ระบบ B มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของบริเวณที่มีการเคลือบ



ภาพที่ 6 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มและสารเคลือบต้านจุลินทรีย์
ที่มา: Han (2003)

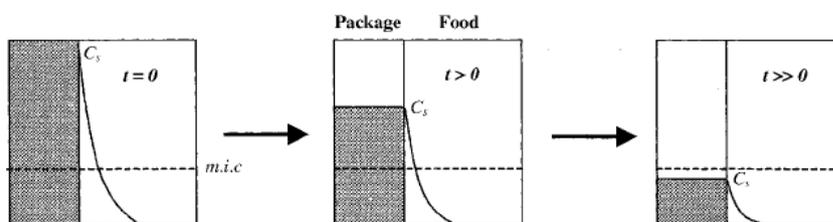
1.3.3 ปฏิกริยาทางเคมีของสารเติมแต่งกับชั้นเมทริกของฟิล์ม

สารต้านจุลินทรีย์ที่เติมแต่งลงไปในพอลิเมอร์ จะต้องคำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารนั้นๆด้วย เช่น ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำซึ่งไม่มีขั้วควรเลือกใช้สารเติมแต่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและมีความเป็นขั้วต่ำเพื่อให้เหมาะสมกับฟิล์มนี้ด้วย นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุล ประจุ และความสามารถในการละลายของสารเติมแต่งจะมีผลต่ออัตราการแพร่ของพอลิเมอร์ด้วย และยังพบว่าสารเติมแต่ง (additives) อื่นๆที่เติมลงในพอลิเมอร์ อาจส่งผลต่อการต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากสารเติมแต่งอาจจะเปลี่ยน โครงสร้างพอลิเมอร์หรือทำปฏิกริยากับสารต้านจุลินทรีย์ เช่น

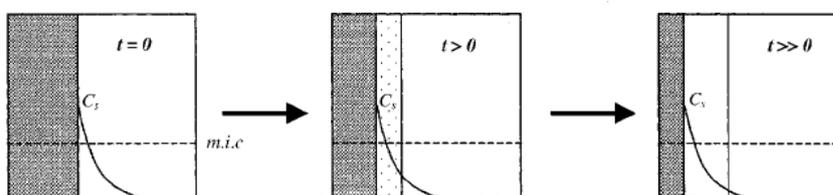
เติมพลาสติกไซเซอร์ ลงในเซลล์โกลด์โรอะซีเตทที่มีไรโซไซม์เป็นสารต้านจุลินทรีย์ พบว่าทำให้อัตราการเจริญของเอนไซม์ลดลง

1.3.4 ความสามารถในการละลายของสารต้านจุลินทรีย์สู่อาหาร

ความสามารถในการละลาย (solubility) ของสารต้านจุลินทรีย์ต่ออาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญมากซึ่งลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารดังภาพที่ 7 หากสารต้านจุลินทรีย์มีความสามารถในการละลายในอาหารได้สูงจะมีการแพร่อย่างอิสระดังแบบ A ขณะที่ความสามารถการละลายต่ำจะอยู่ในระบบที่เรียกว่า monolithic system ดังแบบ B โดยแบบจำลอง A แสดงสารต้านจุลินทรีย์ที่ละลายอยู่ในอาหารได้สูง ทำให้ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหารสูง (C_s) และความเข้มข้นบนพื้นผิวอาหารจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารภายในวัสดุบรรจุลดลงซึ่งลดลงต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย ส่วนแบบจำลอง B แสดงความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหาร ต่ำกว่าแบบ A แต่ความเข้มข้นบนพื้นผิวอาหารจะคงที่ซึ่งสามารถรักษาระดับความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ เมื่อปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ในภาชนะบรรจุลดลง



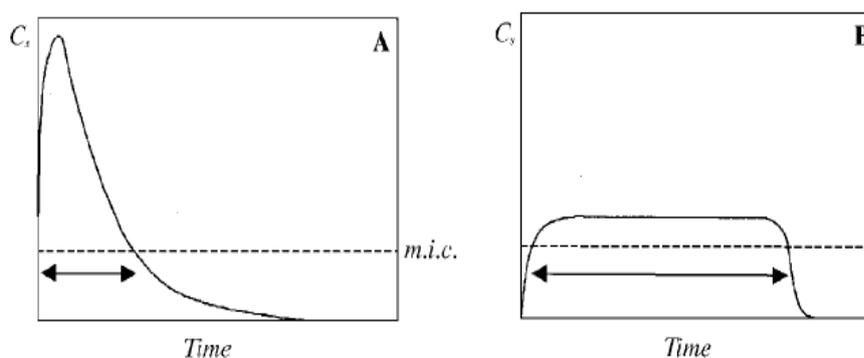
(A) Release of soluble antimicrobial agents through free diffusion



(B) Release of antimicrobial agents from monolithic system

ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในระบบการบรรจุแบบต้านจุลินทรีย์
ที่มา: Han (2003)

ลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากภาชนะบรรจุไปยังอาหารของสารต้านจุลินทรีย์ขึ้นกับการควบคุมระดับความเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษา ความสำคัญของการควบคุมการปล่อยสาร ดังภาพที่ 8 เมื่ออินทิเกรตพื้นที่ใต้เส้นความเข้มข้นทั้ง 2 ระบบ ซึ่งมีปริมาณสารต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นเท่ากัน ระบบ B จะมีช่วงระยะเวลาที่ยาวนานกว่าในการรักษาระดับความเข้มข้นที่เหนือกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับ ระบบ A



ภาพที่ 8 ลักษณะความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหาร

(A) unconstrained free diffusion system และ

(B) monolithic system

ที่มา: Han (2003)

1.3.5 สภาวะในการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์

การพิจารณาเลือกวิธีการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์จะต้องคำนึงถึงความสามารถในการทนต่อความร้อนและสภาวะที่รุนแรงของสารต้านจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น กระบวนการขึ้นรูปด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชันซึ่งต้องใช้อุณหภูมิและความดันค่อนข้างสูงอาจไม่เหมาะกับสารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นสารระเหยซึ่งอาจต้องใช้วิธีการขึ้นรูปโดยการหล่อ ตัวทำละลายที่เลือกใช้ต้องสามารถละลายได้ทั้งสารต้านจุลินทรีย์และพอลิเมอร์ เพื่อให้สารต้านจุลินทรีย์กระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับพอลิเมอร์ ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Han, 2003)

1.3.6 อุณหภูมิการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย

อุณหภูมิในการเก็บมีผลต่อการอัตราการเจริญของจุลินทรีย์และการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากวัสดุบรรจุ ซึ่งจากงานวิจัยของ Suppakul (2008) พบว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria innocua* และ *E. coli* ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเติมลินาโลลหรือเมทิลซาวีคอลลจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากวัสดุบรรจุก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้อัตราการแพร่และความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์จะต้องเพียงพอต่อการรักษาประสิทธิภาพตลอดจนอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

1.3.7 สมบัติทางกายภาพของวัสดุบรรจุกับสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์อาจส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพ ความสามารถในการผลิตหรือความสามารถของเครื่องจักรในการบรรจุ การปิดผนึก เป็นต้น ซึ่งมีรายงานวิจัยกล่าวว่า มีความแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญของคุณสมบัติการทนต่อแรงดึงก่อนและหลังการเติม โปแทสเซียมซอร์เบทในฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ แต่ความโปร่งใสของฟิล์มจะด้อยลงเนื่องจากความเข้มข้นของซอร์เบทมากขึ้น แต่บางกรณีศึกษาก็ไม่แสดงความแตกต่างด้านความใสและความแข็งแรงของฟิล์ม

1.3.8 คุณลักษณะในการยอมรับของผู้บริโภค

ควรพิจารณาถึงผลของการเติมสารต้านจุลินทรีย์จะยังคงทำให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภคหรือไม่ เพราะสารต้านจุลินทรีย์อาจทำให้กลิ่นรส รสชาติของอาหารเปลี่ยนไป หากใช้สารที่ไม่เหมาะสมหรือใช้ในปริมาณที่มากเกินไป ซึ่งจากงานวิจัยของวารุณี (2549) พบว่าผู้บริโภคไม่ชอบขนมชั้นสูตรที่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรซึ่งได้แก่ ตะไคร้ อบเชย และขิง เนื่องจากกลิ่นของสมุนไพรเป็นกลิ่นที่ไม่เข้ากับขนม

1.3.9 กฎหมายข้อบังคับ

การใช้สารต้านจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์อาหารต้องคำนึงถึงกฎหมายข้อบังคับ โดยจะต้องมีความปลอดภัยต่อการอุปโภคและบริโภค ในเรื่องของการอนุมัติสำหรับวัสดุสัมผัสอาหารพบว่ากรดอินทรีย์บางชนิด สารยับยั้งแบคทีเรีย และสารสกัดจากพืช ได้รับอนุมัติจาก องค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration; FDA) ของสหรัฐอเมริกาเป็นสารแต่งเติม สำหรับอาหารบางชนิด ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการใช้ซิลเวอร์ซีโอไลท์มานานกว่าหนึ่งทศวรรษ เมื่อไม่นานมานี้ ซิลเวอร์ซีโอไลท์ เช่น ซิลเวอร์ไอออนและซีโอไมค ได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและ ยาสำหรับการใช้ในวัสดุสัมผัสอาหาร ในขณะที่ไม่มีการอนุมัติที่ชัดเจนในยุโรป

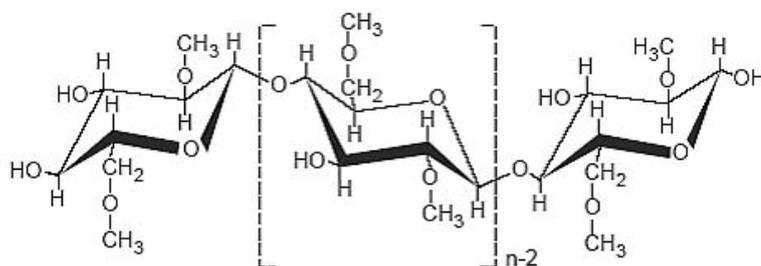
2. เซลลูโลสอีเทอร์ (cellulose ether)

เซลลูโลสอีเทอร์ คือพอลิเมอร์ที่ได้มาจากเซลลูโลส เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสโดยเกิดจาก ปฏิกิริยาการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมที่หมู่ไฮดรอกซิลด้วยเมทิล (methyl) คาร์บอกซีเมทิล (carboxy methyl) และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิล (hydroxypropylmethyl) ซึ่งในการผลิตฟิล์มบริโภคได้ที่อยู่ใน รูปของเซลลูโลสอีเทอร์ ได้แก่ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose; CMC) เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose; MC) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl cellulose; HPMC) เป็นต้น อนุพันธ์เหล่านี้ละลายได้ในน้ำ ความยาวของสายเซลลูโลสอีเธอร์ยังคง เท่ากับของเซลลูโลส แต่ชนิดของหมู่อีเทอร์และระดับของการแทนที่ (degree of substitution; DS) จำนวนหมู่ไฮดรอกซิลบน โมเลกุลของแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose) จะมีอิทธิพลต่อสมบัติ ในการดูดน้ำ การเกิดเจล และการเพิ่มความหนืดของอนุพันธ์เซลลูโลสที่ต่างชนิดกัน

2.1. เมทิลเซลลูโลส

เมทิลเซลลูโลส เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่เตรียมได้โดยใช้เซลลูโลสทำปฏิกิริยากับสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 ถึง 60 ซึ่งจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ สามหน่วยต่อแอนไฮโดรกลูโคสหนึ่งหน่วยในโมเลกุลของเซลลูโลส ได้เป็นสารละลายเซลลูโลส ในด่าง แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับเมทิลคลอไรด์ (methyl chloride) ได้เป็นเมทิลเซลลูโลสอีเทอร์ โครงสร้างของเมทิลเซลลูโลส แสดงดังภาพที่ 9 ถ้าเมทิลเซลลูโลสมี DS สูงมากจะกระจายตัวได้ใน

ตัวทำละลายอินทรีย์เท่านั้น เมทิลเซลลูโลสไม่กระจายตัวในน้ำร้อน แต่กระจายตัวได้ดีในน้ำเย็น และไม่มีประจุ โดยเมทิลเซลลูโลสที่ผลิตทางการค้าจะมีระดับของการพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization; DP) แตกต่างกัน ทำให้มีสมบัติในการกระจายตัวและการให้ความหนืดแตกต่างกัน ด้วย การเกิดปฏิกิริยาเมทิลเลชัน (methylation) ที่หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลเซลลูโลสจะทำให้สายของโมเลกุลเซลลูโลสแยกตัวออกจากกัน น้ำจึงสามารถแทรกตัวเข้าไปได้ง่าย การกระจายตัวจึงดีขึ้น เมทิลเซลลูโลสจะเกิดเป็นเจลได้เมื่อได้รับความร้อน และจะกลับเป็นของเหลวที่มีความข้นหนืดเมื่อปล่อยให้เย็นลง ซึ่งความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายได้รับความร้อน และจะเกิดเป็นเจลได้ ณ อุณหภูมิประมาณ 50 ถึง 55 องศาเซลเซียส ถ้ามีอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) น้ำตาลซูโครส (sucrose) กลีเซอรอล (glycerol) และซอร์บิทอล (sorbitol) ปนอยู่ด้วย จะทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลลดลง แต่เมื่อเติมเอทานอลหรือโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ลงไป อุณหภูมิในการเกิดเจลจะสูงขึ้น และถ้าให้หมู่ไฮดรอกซีโพรพิลแทนที่หมู่เมทิลในโมเลกุลของเมทิลเซลลูโลสบางส่วน จะทำให้เกิดเป็นเจลที่อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 85 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับสัดส่วนของหมู่เมทิลและไฮดรอกซีโพรพิลด้วย (นิธิยา, 2545)



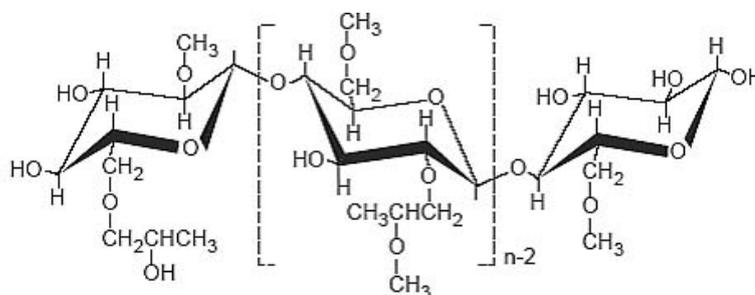
ภาพที่ 9 โครงสร้างเมทิลเซลลูโลส

ที่มา: Stephen (1995)

มีการอธิบายการเกิดฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลสว่า เมื่อละลายเมทิลเซลลูโลสในตัวทำละลายจะเกิดการพองตัวเนื่องจากมีโมเลกุลของตัวทำละลายเข้าไปแทรกอยู่ ขณะเดียวกันความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนพันธะระหว่างสายพอลิเมอร์จะถูกทำลาย ทำให้สายโซ่เริ่มกระจายตัว ความหนืดลดลง และคงที่เมื่อการกระจายของของโมเลกุลเกิดอย่างสมบูรณ์ ในระหว่างการระเหยของตัวทำละลาย สายโซ่จะเชื่อมต่อกันใหม่ได้แผ่นฟิล์มเมทิลเซลลูโลส ถ้ามีการเติมพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) ลงไปสารดังกล่าวจะไปแทรกอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์ ทำให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นขึ้น

2.2. ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส

ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี โดยเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมที่หมู่ไฮดรอกซิลด้วยไฮดรอกซีโพรพิลเมทิล โครงสร้างของไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส แสดงดังภาพที่ 10 ซึ่งไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสจะเกิดเป็นเจลได้เมื่อได้รับความร้อนและจะกลับเป็นของเหลวที่มีความเข้มข้นหนืดเมื่อปล่อยให้เย็นลง จึงนำไปใช้กับอาหารประเภททอด เมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสจะเป็นตัวช่วยป้องกันไม่ให้น้ำมันที่ใช้ทอดอาหารถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้อผลิตภัณฑ์อาหารมากเกินไป และจะช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหรือความชื้นออกจากผลิตภัณฑ์อาหารด้วย (นิธิยา, 2545)



ภาพที่ 10 โครงสร้างไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส

ที่มา: Stephen (1995)

ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสและเมทิลเซลลูโลสกระจายตัวได้ดีในน้ำที่อุณหภูมิต่ำ และจะกลายเป็นเจลที่อุณหภูมิสูง สมบัตินี้ช่วยทำให้อิมัลชัน (emulsion) ชนิดน้ำมันในน้ำมีความคงตัวดีที่อุณหภูมิต่ำ โดยนำไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสและเมทิลเซลลูโลสมากระจายตัวในน้ำร้อน ซึ่งจะช่วยชะลอการพองตัวและการดูดน้ำของสารเหล่านี้ เมื่อปล่อยให้เย็นลงจะทำให้ได้อิมัลชันที่มีความหนืดสูงและอนุภาคน้ำมันมีขนาดเล็ก (นิธิยา, 2545) สารทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถเกิดเป็นฟิล์มได้ดี (Nisperos-Carriedo, 1994; Debeaufort and Voilley, 1997) มีลักษณะโปร่งใสเหนียว และยึดตัวได้ดี ละลายได้ในน้ำ ไม่ละลายในไขมันและน้ำมัน การเติมพลาสติกไซเซอร์มีผลต่อหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลที่ถูกแทนที่ในไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส ทำให้ฟิล์มมีความคงตัวต่ำ สามารถปรับปรุงสมบัติด้านการละลายในน้ำโดยการใส่เมลามีน ฟอรั่มัลดีไฮด์เรซิน (melamine formaldehyde resins) และในการเกิดพอลิเมอร์แบบเชื่อมโยงข้ามจะทำให้ฟิล์มไม่ละลายน้ำ

นอกจากนี้อาจใช้ร่วมกับลิพิดเพื่อปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของความชื้นให้ดีขึ้น (Fennema, 1996)

Baldwin *et al.* (1996) ได้ศึกษาประสิทธิภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยศึกษาการเพิ่มอายุการเก็บรักษาของแอปเปิ้ลและมันฝรั่งด้วยการเคลือบคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เติมโซเดียมเบนโซเอทและโพแทสเซียมซอร์เบท พบว่าสามารถลดปริมาณของจุลินทรีย์ในระหว่างเก็บในตู้เย็นได้ และมีรายงานของ Cooksey (2000) ซึ่งได้ศึกษาการเติมไนซินลงในเมทิลเซลลูโลสอีเทอร์ แล้วนำไปเคลือบบนฟิล์ม LDPE พบว่าฟิล์มเคลือบนี้สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ Grower *et al.* (2004) ศึกษาการปลดปล่อยไนซินจากสารเคลือบของเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสแล้วนำไปเคลือบบนฟิล์ม LDPE พบว่าฟิล์มที่เติมไนซิน 5000 7500 และ 10,000 หน่วยสากล (international unit, IU) ต่อตารางเซนติเมตร สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ นอกจากนี้ Franklin *et al.* (2004) ศึกษาการยับยั้ง *L. monocytogenes* บนพื้นผิวของไส้กรอกโดยฟิล์มเคลือบเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสที่เติมไนซิน พบว่าฟิล์มเคลือบนี้สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ได้ตลอดอายุการเก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 15 วัน

มีรายงานวิจัยต่างๆ ที่ศึกษาสมบัติเชิงการป้องกันการซึมผ่านของอนุพันธ์ของเซลลูโลส (Donhowe and Fennema, 1993; Park and Chinnan, 1995; Coma *et al.*, 2003) รวมถึงสมบัติเชิงกล (Donhowe and Fennema, 1993; Park *et al.*, 1994; Sebt *et al.*, 2002) จากข้อจำกัดของฟิล์มที่เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส คือ ความไวต่อการละลายน้ำทำให้สูญเสียสมบัติการป้องกันการซึมผ่าน จึงมีการแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการเติมกรดไขมัน ซึ่งมีรายงานจาก Koelsch (1994) กล่าวว่าค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มเซลลูโลสมีค่าต่ำเมื่อมีการเติมกรดสเตียริก (stearic acid) โดยกรดสเตียริกจะสร้างโครงร่างตาข่ายขึ้น ทำให้สามารถลดการผ่านเข้าออกของความชื้นได้มากกว่ากรดไขมันชนิดอื่น และพบว่าความเข้มข้นของกรดสเตียริกที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตฟิล์มเซลลูโลส คือ ความเข้มข้นร้อยละ 3 นอกจากนี้ Vojdani and Torres (1990) ศึกษาสมบัติการซึมผ่านและการแพร่ของกรดซอร์บิก (sorbic acid) และโพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) ในฟิล์มเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส เนื่องจากผลของการเติมกรดไขมัน ซึ่งพบว่าการเติมกรดลอริก (lauric acid) กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) และกรดสเตียริก ทำให้ลดอัตราการซึมผ่านของโพแทสเซียมซอร์เบทเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่มีการเติมกรดไขมัน โดย

การซึมผ่านของโพแทสเซียมซอร์เบทเพิ่มขึ้น เนื่องจากค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ เพิ่มขึ้นจาก 0.68 เป็น 0.80 และฟิล์มจะไม่คงตัวเมื่อค่าวอเตอร์แอกติวิตี้มากกว่า 0.80 และเมื่อความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้น จาก 3 เป็น 7 จะทำให้การซึมผ่านของโพแทสเซียมซอร์เบทลดลง

สำหรับ Park *et al.* (1993) ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ต่อฟิล์มเมทิลเซลลูโลส และฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส โดยใช้พลาสติกไซเซออร์ 3 ชนิด ได้แก่ พอลิเอทิลีนไกลคอล โพรพิลีนไกลคอล และกลีเซอริน ณ ความเข้มข้น 4 ระดับ 0.17 0.33 0.50 และ 0.66 มิลลิเมตรของพลาสติกไซเซออร์ต่อกรัมเซลลูโลส พบว่าเมื่อความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์เพิ่มขึ้น ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มทั้ง 2 ชนิดลดลง แต่ค่าการยึดตัวเพิ่มขึ้น และการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเอทิลีนไกลคอลมีผลต่อการเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์มมากกว่าพลาสติกไซเซออร์อีก 2 ชนิด สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นพรอพิลีนไกลคอลทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจนของฟิล์มทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นของกลีเซอรินไม่มีผลต่อค่าการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มทั้ง 2 ชนิด และพบว่าเมื่อความหนาของฟิล์มเมทิลเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจาก 0.045 ถึง 0.106 มิลลิเมตร ค่าการต้านทานแรงดึงขาด การซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจนมีค่าคงที่ ส่วนค่าร้อยละการยึดตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสนั้น เมื่อความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้น ค่าการต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยึดตัวเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนค่าการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจนมีค่าคงที่ เมื่อความหนาเพิ่มขึ้นจาก 0.022 ถึง 0.139 มิลลิเมตร สำหรับ Turhan and Sahbaz (2004) ศึกษาสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำและสมบัติการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเมทิลเซลลูโลส รายงานว่าค่าการซึมผ่านของไอน้ำมีค่า 0.232×10^{-10} ถึง 1.160×10^{-10} กรัมต่อมิลลิวินาที.ปาสคาล ค่าการต้านทานแรงดึงขาดอยู่ในช่วง 17 ถึง 44 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร และค่าร้อยละการยึดตัวอยู่ในช่วง 14 ถึง 97 โดยค่าเหล่านี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเมทิลเซลลูโลสที่ใช้คือ ตั้งแต่ 1.5 ถึง 6 กรัมต่อสารละลายเอทานอล 100 มิลลิเมตร รวมถึงปริมาณของพอลิเอทิลีนไกลคอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซเซออร์ สำหรับ Ayranci *et al.* (1997) รายงานค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส มีค่าประมาณ 82 และ 192 กรัมต่อตารางเมตร.24 ชั่วโมง ที่ความหนา 0.012 และ 0.015 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ รัชณี (2545) รายงานว่าปริมาณวิตามินอีเพิ่มขึ้นในช่วงร้อยละ 0 ถึง 0.015 มีผลทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเซลลูโลสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดอยู่ในช่วง 35.17 ถึง 41.55 มิลลิปาสคาล ค่าร้อยละการยึดตัวของฟิล์มอยู่ในช่วง 12.20 ถึง

27.80 แต่การเติมวิตามินอีไม่มีผลต่อค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มเมทิลเซลลูโลส ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 75.34 ถึง 88.20 กรัมต่อตารางเมตร.24 ชั่วโมง ที่ความหนา 0.070 มิลลิเมตร

3. การปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ (Release of Antimicrobial from Packages)

3.1 การควบคุมการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์

การควบคุมการปลดปล่อยสารของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ได้อย่างเหมาะสมจะช่วยให้สามารถควบคุมปฏิกิริยาการเสื่อมเสียของอาหารซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ปฏิกิริยาการเกิดกลิ่นหืน เพราะการเสริมประสิทธิภาพอย่างต่อเนื่องของสารต้านจุลินทรีย์จะช่วยรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารเอาไว้ได้ การควบคุมการปลดปล่อยจะช่วยอธิบายและทำให้เห็นถึงกระบวนการของสารยับยั้งที่มีหนึ่งหรือมากกว่าสองชนิดที่จะเกิดประสิทธิภาพได้ ณ ตำแหน่งที่ต้องการและภายในระยะเวลาที่เหมาะสมด้วย การควบคุมการปลดปล่อยจะนำเสนอข้อได้เปรียบ คือ

- สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยของสารต้านจุลินทรีย์ทำให้ยืดระยะเวลาในการแสดงประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ได้นานขึ้น
- ทำให้ทราบถึงปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่อาจสูญเสียไประหว่างกระบวนการผลิต การเก็บรักษา และสามารถที่จะเติมเข้าไปทดแทนตั้งแต่แรกเพื่อให้ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งอย่างเพียงพอ
- สามารถแยกสารประกอบที่ต่อต้านกันหรือเข้ากันไม่ได้ออกมา

โดยส่วนใหญ่รูปแบบของการปลดปล่อยสารของระบบที่มีการควบคุมการปลดปล่อยจะมีอยู่ด้วยกัน 2 รูปแบบ (ภาพที่ 11) คือ

- การปลดปล่อยอันดับศูนย์ (zero-order release) อัตราการปลดปล่อยจะคงที่จนกระทั่งบรรจุภัณฑ์ไม่เหลือสารอยู่อีก
- การปลดปล่อยอันดับหนึ่ง (first-order release) อัตราการปลดปล่อยจะเป็นสัดส่วนกับมวลของสารที่มีอยู่ในบรรจุภัณฑ์ โดยอัตราการปลดปล่อยจะค่อยๆลดลงในรูปของกราฟเอ็กซ์โปเนนเชียล (exponential)



ภาพที่ 11 รูปแบบการปลดปล่อยมวลสารภายในบรรจุภัณฑ์ที่มีปริมาณสารยับยั้งเริ่มต้นเท่ากัน
ที่มา: Baker (1987)

สารต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมลงในวัสดุบรรจุสามารถเคลื่อนย้ายออกจากตัววัสดุได้ 2 รูปแบบคือ โดยการระเหยหรือการแตกตัว และโดยการแทนที่เข้าไปภายในช่องว่างของวัสดุบรรจุ Calvert and Billingham (1979) ได้ศึกษาอัตราการสูญเสียของสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำในพอลิเมอร์แผ่นหนา แผ่นฟิล์ม และไฟเบอร์ พบว่าอัตราการสูญเสียของสารในพอลิเมอร์แผ่นหนาสามารถอธิบายได้ด้วยการแทนที่เข้าไปในวัสดุบรรจุในขณะที่ของแผ่นฟิล์มลักษณะการเคลื่อนย้ายของสารออกจากแผ่นฟิล์มจะเป็นแบบการระเหยออกไป

3.2 การวัดอัตราการปลดปล่อยสาร

การวัดอัตราการปลดปล่อยสารหรือการเคลื่อนที่ของสารออกจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร วิธีที่ใช้ทดสอบกันอยู่ก็คือวิธีไมเกรชัน (migration test) ซึ่งเป็นการทดสอบโดยใช้รูปแบบจำลองอาหารเพื่อตรวจสอบการเคลื่อนที่ของสารจากภาชนะบรรจุไปยังอาหาร ซึ่งมี 2 ลักษณะคือ การให้วัสดุสัมผัสกับอาหารหรืออาหารจำลองในสภาวะที่เหมือนสภาวะที่เกิดขึ้นจริง และ การให้วัสดุสัมผัสกับอาหารจำลองที่เหมาะสมในสภาวะจำลองเพื่อให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างอาหาร

จำลองและพลาสติกมากกว่าสถานะจริง หลักการของการทดสอบวิธีนี้จะจำลองสถานะการเกิดไมเกรซันที่รุนแรงกว่าสถานะจริงโดยใช้ตัวทำละลายที่ระเหยง่ายเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดไมเกรซันจากพลาสติก เร่งอัตราการถ่ายเทมวลสารในการสกัด ซึ่งสัมพันธ์กับการแพร่ของสารจะมากกว่าในสถานะปกติมาก ซึ่งวัตถุประสงค์ของการทดสอบนี้เพื่อให้แน่ใจได้ว่าอาหารที่บรรจุมีความปลอดภัยจากการปนเปื้อนของสารจากภาชนะบรรจุในการประเมินความเหมาะสมของวัสดุบรรจุที่ใช้

เนื่องจากอาหารมีองค์ประกอบของสารหลากหลายชนิดรวมกัน ดังนั้นในการทดสอบการเคลื่อนย้ายของมวลสารจากวัสดุบรรจุมายังอาหารจึงต้องกำหนดเป็นรูปแบบของอาหารจำลอง ซึ่งรูปแบบของอาหารจำลองที่ใช้ในการทดสอบจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประเภทของอาหาร โดย FDA และ EU (European Union) ได้กำหนดรูปแบบของอาหารจำลองที่ใช้สำหรับอาหารแต่ละประเภทแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อาหารจำลองสำหรับการตรวจวัดค่าไมเกรซันของพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหาร

ประเภทอาหาร	FDA	EU
อาหารที่เป็นน้ำ (มีพีเอชเกิน 4.5)	เอทานอล ร้อยละ 10	น้ำกลั่น
อาหารที่เป็นกรด (มีพีเอชไม่เกิน 4.5)	เอทานอล ร้อยละ 10	กรดอะซิติก ร้อยละ 3
เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์	เอทานอล ร้อยละ 10 หรือ 50	เอทานอล ร้อยละ 10
อาหารประเภทมีไขมัน	อาหารไขมัน	น้ำมันมะกอกบริสุทธิ์

ที่มา: Risch (2000)

สำหรับประเทศในแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน ไทย จะใช้รูปแบบอาหารจำลอง 4 ประเภท แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อาหารจำลองสำหรับการตรวจวัดค่าไมเกรชันของพลาสติกที่ใช้สัมผัสอาหารตามข้อกำหนดของประเทศไทย

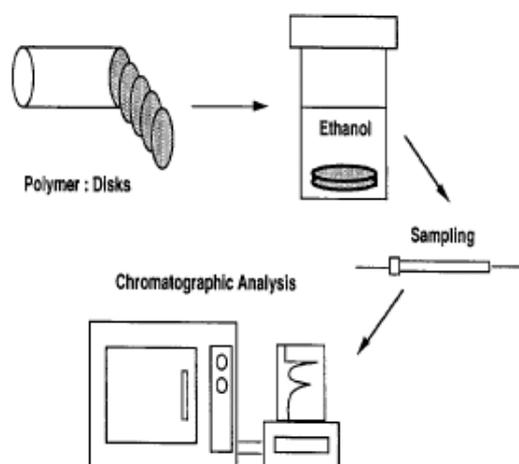
ประเภทอาหาร	อาหารจำลอง
อาหารที่มีพีเอชเกิน 5	น้ำ
อาหารที่มีพีเอชไม่เกิน 5	กรดอะซิติก ร้อยละ 4
อาหารที่มีแอลกอฮอล์	เอทานอล ร้อยละ 20
ไขมัน น้ำมัน และอาหารที่มีไขมัน	นอร์มัลเฮปเทน

ที่มา: คัดแปลงจาก กระทรวงสาธารณสุข (2548)

นอร์มัลเฮปเทน (*n*-heptane; C₇H₁₆) เป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว มีจุดหลอมเหลว -91 องศาเซลเซียส จุดเดือด 98 องศาเซลเซียส ใช้เป็นอาหารจำลองสำหรับอาหารที่มีไขมัน น้ำมัน โดยเฉพาะในกรณีที่มีการเคลื่อนย้ายมวลสารเกิดขึ้นได้ช้าและใช้กับพอลิเมอร์ที่มีการเชื่อมโยงพันธะสูง

Wessling *et al.* (2000) รายงานว่าการเคลื่อนย้ายมวลของแอลฟาโทโคฟีรอลออกจากฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำในอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion) ได้ดีกว่าในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) เนื่องจากแอลฟาโทโคฟีรอลมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ในขณะที่โพลีเมอร์ที่มีหมู่ชอบน้ำ (hydrophilic) จะเคลื่อนย้ายมวลสารได้ดีเมื่อชนิดอิมัลชันเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) แต่จะเคลื่อนย้ายมวลสารได้น้อยเมื่ออิมัลชันเป็นชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion) (Ray, 1992) การปลดปล่อยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจากวัสดุพอลิเมอร์ จะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอาหารที่สัมผัส เช่น ไขมัน แอลกอฮอล์ โลหะหนัก และกรดอินทรีย์ (Wessling *et al.*, 2000)

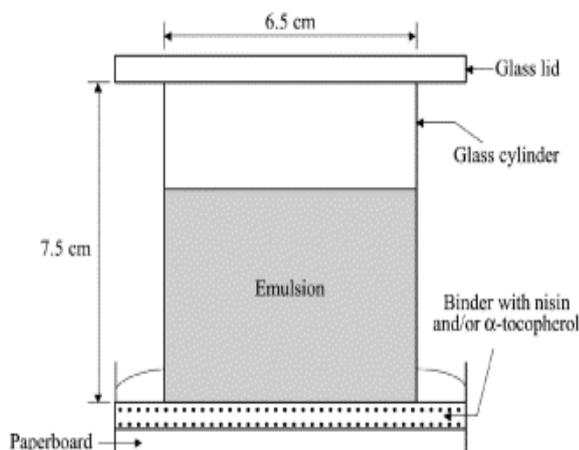
ตัวอย่างของการออกแบบการทดลองการหาอัตราการผลิตปล่องน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ออกจากวัสดุบรรจุแสดงดังภาพที่ 12 โดยในการทดลองจะตัดชิ้นวัสดุออกเป็นชิ้นเล็กๆจากนั้นก็นำไปใส่ในอาหารจำลองซึ่งใช้เอทานอล (ethanol) ทำการสุ่มตัวอย่างเอทานอลที่เวลาต่างๆไปฉีด โดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography, GC) เพื่อหาปริมาณสารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุบรรจุ ซึ่งค่าที่ได้จะใช้คำนวณหาอัตราการผลิตปล่องสารหรือการเคลื่อนย้ายมวลสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารต่อไป



ภาพที่ 12 รูปแบบการทดลองเพื่อหาการปลดปล่อยสาร ออกจากวัสดุบรรจุ

ที่มา: Peppas and Am Ende (1997)

Lee *et al.* (2003) ได้ประยุกต์วิธีในการทดสอบการเคลื่อนย้ายมวลสารของไนซิน และ แอลฟาโทโคฟีรอล (α -tocopherol) ออกจากกระดาษโดยใช้กระบอกแก้วกรวงไปวางบนกระดาษที่เคลือบสารเอาไว้มือและเคลือบด้วยรอยเชื่อมต่อด้วยพาราฟินเพื่อกันการรั่วซึม จากนั้นนำอาหารจำลองซึ่งในการทดลองนี้ใช้เป็นส่วนผสมระหว่างน้ำกลั่นกับน้ำมันพาราฟินเติมลงในกระบอกแก้วปิดฝา และสุ่มเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆเพื่อหาปริมาณสารที่เคลื่อนที่ออกมาจากผิววัสดุ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 รูปแบบการทดลองเพื่อหาการปลดปล่อยสาร ออกจากกระดวยเคลือบสารต้านจุลินทรีย์
ที่มา: Lee *et al.* (2003)

3.1 สมการการแพร่และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์

การถ่ายเทมวลจะเกี่ยวข้องกับการแพร่ของมวลซึ่งจะเกิดขึ้นในระดับโมเลกุล หรือการถ่ายเทมวลเชิงปริมาตร การปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากวัสดุบรรจุเป็นกระบวนการแพร่ของสารสามารถอธิบายการปลดปล่อยสาร โมเลกุลเล็กๆจากวัสดุบรรจุไปสู่อาหารด้วยกฎของฟิกส์ (Fick's Law) สมการการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์จากแผ่นฟิล์มด้านเดียวแสดงตามสมการ

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D(t) \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (1)$$

- เมื่อ
- C = ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์ม
 - D_i = สัมประสิทธิ์การแพร่ (ตารางเมตรต่อวินาที)
 - x = ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)
 - t = เวลา (วินาที)

สมการการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์ออกจากวัสดุบรรจุสามารถอธิบายได้ด้วยสมการของ Crank (1975)

$$C = \frac{4C_0}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{2n+1} \exp\left[\frac{-(2n+1)^2\pi^2Dt}{l^2}\right] \sin \frac{(2n+1)\pi x}{l} \quad (2)$$

เมื่อ C_0 = ความเข้มข้นของสารด้านจูลินทรีย์ในแผ่นฟิล์ม
 D_t = สัมประสิทธิ์การแพร่ (ตารางเมตรต่อวินาที)
 l = ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)
 t = เวลา (วินาที)

และเมื่ออินทิเกรตสมการที่ 2 โดยสร้างความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารที่เหลืออยู่กับเวลาจะได้สมการ (3)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2\pi^2} \exp\left[\frac{-(2n+1)^2\pi^2Dt}{l^2}\right] \quad (3)$$

การแพร่ของสารในช่วงระยะเวลาดั้งๆ เมื่อ $M_t / M_{t=\infty} < 2/3$ จะแสดงได้ด้วยสมการข้างล่างนี้ (Peppas, 1985; Redl *et al.* 1996)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left[\frac{\partial t}{\pi l^2} \right]^{1/2} \quad (4)$$

เมื่อ l = ความหนาของแผ่นฟิล์ม
 M_t = คือปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมา ณ เวลา t
 M_∞ = คือปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมา ณ เวลานั้นต์

จะได้
$$D = \frac{0.049 l^2}{t_{1/2}} \quad (5)$$

ในการวัดอัตราการปลดปล่อยสารด้านจูลินทรีย์ออกจากวัสดุบรรจุเมื่อเขียนกราฟระหว่าง $M_t / M_{t=\infty}$ กับเวลา จะสามารถหาค่า $t_{1/2}$ ได้ เมื่อนำไปแทนค่าในสมการ (5) จะสามารถหา

ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (D) ออกมาได้ และสามารถคำนวณหาค่าอัตราการปลดปล่อยมวลสารที่เวลาต่างๆได้

นอกจากนี้เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ สามารถอธิบายได้ด้วยสมการอาร์เรเนียส (Arrhenius's equation) (Crosby 1981; Naylor 1989; Chatwin 1996) สมการ (6)

$$D = D_0 \exp(-E_a/RT) \quad (6)$$

- เมื่อ D_0 = คือเลขชี้กำลังของค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ที่อุณหภูมิ 0 เคลวิน
 D = คือสัมประสิทธิ์การแพร่ (มีผลจากอุณหภูมิ)
 E_a = คือค่าพลังงานก่อกัมมันต์ (จุดต่อ โมล)
 R = คือค่าคงที่ของแก๊ส (จุดต่อ โมล เคลวิน)
 T = คืออุณหภูมิ (เคลวิน)

เมื่อทราบค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารจากวัสดุบรรจุที่อุณหภูมิต่างๆ ทำการพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ในเทอม $\ln D$ กับส่วนกลับของอุณหภูมิ $1/T$ ความชันของเส้นกราฟที่ได้จะเท่ากับ $-E_a/R$ และเมื่อทราบค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของที่อุณหภูมิหนึ่งก็สามารถหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารที่อีกอุณหภูมิหนึ่งได้ตามสมการ (7)

$$D_2 = D_1 e^{-\frac{E_D}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right)} = D_1 e^{\frac{E_D}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)} \quad (7)$$

- เมื่อ D_1 = คือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ที่อุณหภูมิที่หนึ่ง
 D_2 = คือสัมประสิทธิ์การแพร่ที่อุณหภูมิที่สอง
 E_D = คือค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่ (จุดต่อ โมล)
 R = คือค่าคงที่ของแก๊ส (จุดต่อ โมล เคลวิน)
 T = คืออุณหภูมิ (เคลวิน)

ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่มีประโยชน์ในการทำนายค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารที่อุณหภูมิต่างๆได้

ในปีที่ผ่านมาการศึกษาการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์จะให้ความสนใจในด้านเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้งานในผลิตภัณฑ์ยาเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ความสนใจในการประยุกต์ใช้งานในบรรจุภัณฑ์อาหารก็เริ่มเพิ่มมากขึ้น โดยศึกษาถึงระบบการควบคุมการปลดปล่อยสารหรือการเคลื่อนย้ายมวลสารออกจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารหรืออาหารจำลอง เพื่อที่จะได้ทราบถึงปริมาณความเข้มข้นของสารที่ถูกปลดปล่อยออกไปและปริมาณที่ยังคงเหลืออยู่ในวัสดุหลังจากผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น กระบวนการในการขึ้นรูป การเก็บรักษา ทำให้สามารถรักษาประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารที่เติมเข้าไปให้คงอยู่ได้ตลอดอายุการบรรจุผลิตภัณฑ์

Redl *et al.* (1996) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของกรดซอร์บิกออกจากฟิล์มโพรตีนจากข้าวสาลี มีค่าเท่ากับ 7.6×10^{-11} ตารางเมตรต่อวินาที และเมื่อมีการผสมสารจำพวกไขมันซึ่งได้แก่อะซิทิลเลท โมโนกลีเซอไรด์ (acetylate monoglyceride) ลงในฟิล์มโพรตีนจากข้าวสาลี พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จะลดลงครึ่งหนึ่ง ในขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของกรดซอร์บิกออกจากฟิล์มพวกไขมันพบว่ามีค่าเท่ากับ 2.7×10^{-16} ตารางเมตรต่อวินาที โดยค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่ของกรดซอร์บิก มีค่าอยู่ในช่วง 30.0 กิโลจูลต่อโมล ถึง 39.8 กิโลจูลต่อโมล

Lim and Tung (1997) รายงานว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารขึ้นกับอุณหภูมิโดยจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่จะมีค่าลดลงถ้าสารมีความสามารถในการละลายในวัสดุบรรจุได้ดี

Peppas and Am Ende (1997) ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยสาร ยูจินอล ลิโมนีน (limonene) คาโวน (carvone) และ น้ำมันเบอกามอท (bergamot oil) ออกจาก 2-ไฮดรอกซีเอทิลเมทาคริลเลท (2-hydroxy-ethyl-methacrylate; HEMA) ผลจากการวิจัยพบว่าการปลดปล่อยของสารขึ้นอยู่กับความสามารถละลายได้ของสารในวัสดุพอลิเมอร์ ซึ่งเกิดจากเทอร์โมไดนามิกส์ของตัวสารและโครงสร้างพันธะของสารนั้นๆ โดยพบว่าคาโวนจะมีอัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารสูงที่สุด รองลงมาคือยูจินอลและน้ำมันเบอกามอท ตามลำดับ และเมื่อดูความสัมพันธ์ของอัตราการเคลื่อนย้ายมวลสาร ณ จุดสูงสุดกับความสามารถในการละลายในวัสดุพอลิเมอร์ของสารแต่ละชนิด

พบว่าสารที่มีอัตราการเคลื่อนย้ายของมวลสารสูงจะมีความสามารถในการละลายในวัสดุพอลิเมอร์ต่ำ

รัชนี (2545) ได้ศึกษาการแพร่ของวิตามินอีจากฟิล์มเมทิลเซลลูโลสในน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าความเข้มข้นของวิตามินอีมีอิทธิพลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าสูงขึ้น โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0364×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 0.8989×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที

Suppakul (2004) ได้ศึกษาการปลดปล่อยสารลินาลอลและเมทิลซาวีคอลลที่เติมลงในฟิล์ม LDPE ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 อุณหภูมิได้แก่ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส จากการศึกษาพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของลินาลอล ออกจากฟิล์ม LDPE ที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่าอยู่ในช่วง 4.22×10^{-13} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 2.46×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที และของเมทิลซาวีคอลลมีค่าอยู่ในช่วง 3.49×10^{-13} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 1.09×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่ของลินาลอลและเมทิลซาวีคอลลมีค่าเท่ากับ 839.46 และ 552.93 จูลต่อโมล ตามลำดับ

Lee *et al.* (2003) ได้ศึกษาการเคลื่อนย้ายมวลสารของไนซินและแอลฟาโทโคฟีรอลผสมไวนิลอะซิเตอริตเอธิลีนโคพอลิเมอร์ (vinyl acetate-ethylene copolymer) เคลือบบนแผ่นกระดาษ โดยใช้รูปแบบจำลองอาหารเป็นน้ำมันในน้ำ ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของ ไนซินมีค่าเท่ากับ 1.13×10^{-11} ตารางเมตรต่อวินาที และของแอลฟาโทโคฟีรอลมีค่าเท่ากับ 2.91×10^{-11} ตารางเมตรต่อวินาที

Buonocore *et al.* (2004) ได้ศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol; PVOH) ที่มีการเชื่อมโยงของพันธะที่แตกต่างกัน โดยทำการศึกษาในสารต้านจุลินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ ไลโซไซม์ (lysozyme) ไนซิน และ โซเดียมเบนโซเอท (sodium benzoate) จากผลการทดลองที่ได้พบว่าในช่วงแรกอัตราการเคลื่อนที่ของมวลสารจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและจะค่อยๆลดลงจนกระทั่งคงที่และเมื่อศึกษาผลของจำนวนการเชื่อมโยงของพันธะในตัววัสดุบรรจุ พบว่าเมื่อระดับการเชื่อมโยงของพันธะในวัสดุบรรจุลดลงอัตราการ

เคลื่อนย้ายของมวลสารทั้ง 3 ชนิด จะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยดูได้จากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ซึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้น

Del Nobile *et al.* (2008) ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์การปลดปล่อยไทมอลออกจากฟิล์ม เซอิน (zein) ไปสู่อาหารจำลองซึ่งใช้น้ำ (พีเอช 7) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของไทมอลไม่ขึ้นกับความเข้มข้นไทมอลที่เติมเข้าไปในฟิล์ม โดยค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของไทมอลออกจากฟิล์มโปรตีนจากข้าวโพดที่ระดับความเข้มข้นของไทมอลร้อยละ 5 ถึง 35 มีค่าอยู่ในช่วง 1.4580×10^{-6} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 8.9435×10^{-6} ตารางเมตรต่อวินาที

จากรายงานวิจัยต่างๆที่ได้ศึกษาถึงอัตราการปลดปล่อยสารหรือเคลื่อนย้ายมวลสารออกจากวัสดุบรรจุ พบว่า อัตราการปลดปล่อยมวลสารหรือการเคลื่อนย้ายมวลสารออกจากวัสดุบรรจุ จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการทดสอบหรือการเก็บรักษา สัดส่วนการเชื่อมโยงพันธะภายในวัสดุ ความสามารถในการละลายของสารในวัสดุ โครงสร้างและปริมาณความเข้มข้นของสาร โครงสร้างและองค์ประกอบของอาหารหรืออาหารจำลอง

4. การประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

Ming *et al.* (1997) ได้นำไนซิน และพิดิโอซิน เคลือบบนฟิล์มเซลลูโลสเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อสัตว์และสัตว์ปีก Siragusa *et al.* (1999) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Brochothrix thermospacta* ในเนื้อวัวโดยพบว่าฟิล์มที่มีการเคลือบด้วยไนซินจะยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าฟิล์มที่ไม่เคลือบไนซิน

Natrajan and Sheldon (2000) ศึกษาการใช้ฟิล์มห่อชนิดพอลิไวนิลคลอไรด์ (polyvinylchloride; PVC) ซึ่งเคลือบด้วยสารละลายไนซินห่อเนื้อไก่สด พบว่าการใช้ฟิล์มที่มีไนซินทำให้อายุการเก็บเนื้อไก่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Kim *et al.* (2002) ได้ศึกษาการเติมไนซินในสารละลายพอลิเอไมด์ (polyamide; PA) เคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนแล้วนำฟิล์มที่ได้ห่อหอยนางรมสด และเนื้อวัวสด พบว่าการใช้ฟิล์มดังกล่าวสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์ม เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 3 และ 10 องศาเซลเซียส

Quattara *et al.* (2000a) ได้ทำการศึกษาถึงผลของการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งได้แก่ กรดโพรพิโอนิก และกรดอะซิติก โดยจะมีการเติมและไม่เติมกรดลูริกหรือซินนามาลดีไฮด์ ในฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตจากโคโคซาน โดยได้ทำการออกแบบให้มีการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ที่ผิวหนังของผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เลือกใช้ก็คือ โบโลญา แฮม และ พาสตามิ และวัดอัตราการแพร่ออกมาของกรดที่เวลาต่างๆ จากผลการทดลองพบว่ากรดโพรพิโอนิก จะแพร่ออกมาเกือบหมดหลังจาก 48 ชั่วโมง แต่กรดอะซิติก จะแพร่ออกจากฟิล์มน้อยกว่า คือประมาณร้อยละ 2 ถึง 22 ของกรดอะซิติกจะยังคงอยู่ในฟิล์มโคโคซานหลังจาก 168 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ยังขึ้นอยู่กับความแห้งของพื้นผิวหน้าของอาหาร โดยกรดอะซิติกยังคงเหลืออยู่ในฟิล์มโคโคซานที่ห่อโบโลญามากกว่า แฮม และ พาสตามิ ในระหว่างการเก็บรักษา โดยผลิตภัณฑ์เนื้อทั้งสองประเภทหลังมีพื้นผิวที่เปียกมากกว่า ดังนั้นจึงขัดขวางการเคลื่อนย้ายสารเข้าไปในชิ้นอาหาร และพบว่าการใช้สารต้านจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันจะให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ฟิล์มเคลือบต้านจุลินทรีย์ควบคู่กับการฉายรังสีเพื่อยืดอายุการเก็บกึ่งแข็งกึ่งอ่อนปรุงสุกจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เคลือบบนฟิล์มเป็นน้ำมันไทมอล และทรานส์ซินนามาลดีไฮด์ (Quattara *et al.*, 2001)

Franklin *et al.* (2004) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยใช้ไนซินแต่งเติมลงในเซลลูโลสแล้วเคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกก็จะเพิ่มขึ้นทำให้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยที่ความเข้มข้นของสารไนซิน 2500 IU ต่อมิลลิกรัม จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด

5. การเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์

สาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสียของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ การเก็บรักษาเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิต่ำช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้บางส่วน แต่การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ และสามารถเจริญเติบโตได้ในที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophiles) ยังคงเป็นปัญหา จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหารประเภทเนื้อ ไก่

และพลาสติกที่เก็บในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิต่ำ ได้แก่ *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.* และ *Moraxella sp.* (Jay, 2000)

ในการควบคุมคุณภาพอาหารทางด้านจุลชีววิทยา ต้องมีการตรวจสอบอาหารและมีมาตรฐานอาหาร ซึ่งต้องคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย (spoilage microorganism) จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ (pathogenic microorganism) จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เป็นตัวชี้ถึงสุขลักษณะของอาหาร ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารในทางที่ไม่ต้องการ สามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะไปจากเดิมในเรื่องสี กลิ่น และลักษณะปรากฏ เช่น เนื้อสัตว์ มีเมือก กลิ่นเหม็นเน่า เหม็นหืน ผักผลไม้มีลักษณะเน่านุ่ม มีกลิ่นเหม็น เป็นต้น การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารจากแหล่งต่างๆ เช่น น้ำ ดิน อากาศ น้ำเสีย พืชผักผลไม้ สัตว์ ในระหว่างการจำหน่ายและการผลิต โดยอาจมาจากเครื่องมือที่ใช้สัมผัสกับอาหาร ภาชนะบรรจุ การขนส่ง และอาจมาจากคนงานที่ทำการผลิต ส่งผลทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรครวมไปถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

5.1 *Salmonella sp.*

Salmonella sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยได้ (facultative anaerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 37 องศาเซลเซียส *Salmonella sp.* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญด้านอาหาร อาศัยอาหารที่ปนเปื้อนเป็นตัวกลางในการแพร่เชื้อ สัตว์ปีก เช่น เนื้อไก่ เป็นแหล่งของ *Salmonella sp.* ที่สำคัญ โรคที่เกิดจาก *Salmonella sp.* ที่สำคัญได้แก่ โรคกระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบ

อาหารที่มักจะพบ *Salmonella spp.* ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อ เช่น พายเนื้อ ไส้กรอก เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อปลา ไก่ ไข่ นม ผลิตภัณฑ์นม ปลาและอาหารทะเลที่ไม่ได้ผ่านความร้อนอย่างเพียงพอที่สามารถทำลาย *Salmonella spp.* การรับประทานอาหารที่สุกๆดิบๆ เช่น แหนม ถ้าหากมีการปนเปื้อนของ *Salmonella spp.* ก็ทำให้มีโอกาสติดเชื้อเช่นกัน โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *Salmonella spp.* เรียกว่า ซาลโมเนลโลซิส (salmonellosis) ซึ่งถ้าหากผู้ที่ป่วยเป็นโรคนี้นำงาน

เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตอาหารและมีสัญลักษณ์ส่วนตัวที่ไม่ดีพอ เช่น ไข่ดิบและไม่ได้ล้างมือทำความสะอาดหลังเข้าห้องน้ำ *Salmonella* spp. ก็มีโอกาสนับเป็นลงไปยังอาหารได้ ในปี พ.ศ. 2542 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขได้ทำการตรวจแยกเชื้อก่อโรคท้องร่วงจาก Rectal Swab จากตัวอย่าง 3,253 ตัวอย่าง พบว่า *Salmonella* spp. เป็นเชื้อที่พบมากที่สุดคิดเป็น 18.32% แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีการระบาดของ *Salmonella* spp. สูง และเป็นสาเหตุหลักของโรคท้องร่วง

5.2 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (anaerobic) ติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์ได้ พบทั่วไปในดิน ทางเดินอาหารของคน และสัตว์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 43 - 45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่สามารถเจริญได้ คือ 6.0-7.5 และค่าอัตราการแอกติวิตีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.93-0.97 (Novak and Juneja, 2002 ; Jay, 2000) *C. perfringens* สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ชนิด คือ A, B, C, D และ E โดยสามารถสร้างสารพิษได้ 4 ชนิด คือ alpha (α), beta (β), epsilon (ϵ) และ iota (ι) ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดของสารพิษที่ *Clostridium perfringens* ผลิตขึ้น

Type	α -toxin	β -toxin	ϵ -toxin	ι -toxin	Enterotoxin
A	+	-	-	-	+
B	+	+	+	-	+
C	+	+	-	-	+
E	+	-	+	-	+
D	+	-	-	+	+

ที่มา : Novak and Juneja (2002)

Clostridium perfringens ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้จากการสร้างสปอร์ที่ทนความร้อนและสปอร์จะสร้างเอนเทอโรท็อกซิน (enterotoxin) ขึ้นมาก่อให้เกิดปัญหาแก่อุตสาหกรรมอาหารที่มีการเตรียมอาหารคราวละมากๆ (large batch) ในการผลิต (Andersson et al., 1995)

Labble and Juneja (2001) รายงานว่าสปอร์ที่แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน *C. perfringens* เข้าไปจะอยู่ในช่วงประมาณ 10^3 ถึง 10^6 สปอร์ต่อกรัม อาการของโรคจะเกิดขึ้นภายใน 8 ถึง 24 ชั่วโมง หลังจากรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ ทำให้เกิดอาการปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องเสีย มีก๊าซ คลื่นไส้และอาเจียน ในระหว่างที่เซลล์กำลังสร้างสปอร์เชื้อนี้จะมีการปล่อยสารพิษ (enterotoxin) ออกมาในลำไส้ทำให้มีการสะสมน้ำในลำไส้ สารพิษชนิดนี้ไม่ทนความร้อน จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

อาหารที่มักจะพบการปนเปื้อน ได้แก่ เนื้อ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลา ไก่ และผลิตภัณฑ์ไก่ที่มีการปนเปื้อนของเซลล์ที่มีชีวิตและสปอร์ของเชื้อชนิดนี้ รวมทั้งผักชนิดต่างๆ เครื่องเทศ ที่มีการปนเปื้อนจากฝุ่น ดิน มูลสัตว์ เครื่องมืออุปกรณ์ที่ไม่สะอาด หรือจากพนักงานที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดี (Jay, 1992; Novak and Juneja, 2002)

5.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มักพบเป็นเดี่ยวๆ หรือคู่ เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือลักษณะพวงองุ่น ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ในที่ที่อากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobic) อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ คือ 46 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 7.0 ถึง 7.5 สามารถตรวจพบได้ในอาหารที่มีค่าออกเตอร์แอกติวิตี้ต่ำถึง 0.86 (Jay, 1992; Borgeois and Leveau, 1995) *S.aureus* สามารถสร้างสารพิษพวกเอนเทอโรท็อกซิน ซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี การทำลายสารพิษของ *S.aureus* จะต้องใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที (บุษกร, 2547) การบริโภคสารพิษชนิดนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า สเตรปฟีโรเอนเทอโรท็อกซิโคซิส (Staphyloenterotoxycosis) สเตรปฟีโรเอนเทอโรท็อกซีเมีย (Staphyloenterotoxemia) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการอาเจียนรุนแรง วิงเวียน ปวดท้อง ถ่ายเป็นน้ำและท้องเสียอย่างรุนแรง

โดยส่วนมากจะพบจุลินทรีย์ชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทปิ้งย่าง และรมควัน ซึ่งผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ไม่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์ แต่ความร้อนนี้จะป็นสาเหตุให้แบคทีเรียที่เหลือรอดมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบบ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจาก *S. aureus* (Forsythe, 2000)

5.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน จัดเป็นฟีคัลโคลิฟอร์ม (fecal coliform) ที่สำคัญ เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ว่าอาหารมีการสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอหรือไม่ สามารถเจริญได้ในที่มีและไม่มีอากาศ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิค่าประมาณ 5 องศาเซลเซียส โดยมีแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญคือ ดิน อุจจาระ และสิ่งสกปรกต่างๆ (บุษกร, 2547) แบคทีเรียชนิดนี้มีประโยชน์ต่อระบบขับถ่ายของร่างกายคือ ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกาย มีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่เป็นโทษต่อมนุษย์ *E. coli* O157:H7 เป็นชนิดที่สร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือกในลำไส้ เนื่องจากสร้างสารพิษที่เรียกว่าไซกาไลท์ (shiga-like) หรือเวโรท็อกซิน (verotoxin; VT) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ชนิด I และ II อาการของโรคชนิดนี้คือ ท้องเสีย ปวดท้อง เป็นตะคริวในช่องท้อง อุจจาระมีลักษณะคล้ายน้ำซาวข้าว บางครั้งมีลิ่มเลือดออกมาด้วย มีการอาเจียนในบางครั้งและมีไข้ อาการป่วยจะหายไปเองโดยเฉลี่ยประมาณ 8 วัน แต่บางครั้งอาจมีการถ่ายเป็นน้ำมากผิดปกติ

5.5 *Escherichia coli* O157: H7

มีลักษณะทางชีวเคมีเหมือน *E. coli* ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ ยกเว้น *E. coli* O157: H7 ไม่สามารถใช้น้ำตาลซอร์บิทอล จึงใช้ลักษณะนี้เป็นตัวแยก *E. coli* O157: H7 ออกจาก *E. coli* ทั่วไป ซึ่ง *E. coli* O157: H7 เจริญได้ดี ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญหรือเจริญน้อยมาก ณ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส *E. coli* O157: H7 เป็นหนึ่งในสายพันธุ์ของ *E. coli* ที่เป็นโทษต่อมนุษย์ โดยมันจะสร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือกในลำไส้ อาหารที่ปรุงไม่สุกหรืออาหารดิบ โดยเฉพาะเนื้อดิบซึ่งเคยมีรายงานการแพร่ระบาดและยังเคยมีการแพร่ระบาดผ่านทางน้ำนมดิบ (ศิวาพร, 2542) พบมากในอาหารที่ปรุงไม่สุกหรืออาหารดิบ

5.6 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลิสเทอริโอซิส (listeriosis) แบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ขนาด 0.5 x 1 ถึง 2 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสถานที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ที่สำคัญคือเป็นแบคทีเรียที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำหรืออยู่ในกลุ่มไซโครโทรป เจริญได้ ณ อุณหภูมิตั้งแต่ 3 ถึง 42 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิเหมาะสมคือ 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เจริญได้คือ 5.0 ถึง 9.0 ค่าพีเอชและวอเตอร์แอกติวิตีต่ำสุดที่เจริญได้คือที่ 4.4 และ 0.92 ตามลำดับ และแบคทีเรียชนิดนี้ทนเกลือได้ดี พบว่าบางสายพันธุ์เจริญได้ที่เกลือสูงถึงร้อยละ 10 จุลินทรีย์ถูกทำลาย ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แหล่งของเชื้อโรคได้แก่ดิน น้ำ น้ำโสโครก และสิ่งปฏิกูล ผักเน่าเปื่อย มูลสัตว์ สัตว์และคน พบมากในน้ำนมดิบ เนยแข็ง (cheese) อาหารจากเนื้อสดและเนื้อแช่แข็ง ผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ (สุมนธา, 2545)

6. หมูยอ

หมูยอ จัดเป็นไส้กรอกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อที่เกิดจากการบดผสมกับเกลือและสับละเอียดด้วยเครื่องสับขนาด จนทำให้โครงสร้างระดับเส้นใยกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลงจนเป็นอิมัลชัน โดยหมูยอเป็นอิมัลชันประเภทไขมันในน้ำ เม็ดของไขมันจะกระจายตัวอยู่ในน้ำ โดยมีโปรตีนไมโอซิน (myosin) เป็นตัวช่วยในการรวมตัว (emulsifier) ซึ่งจะละลายในน้ำเกลือและอูมเม็ดไขมันเอาไว้ ทำให้เกิดการผสมที่คงตัว (colloidal suspension emulsion) (เขวาลักษณ์, 2536) โดยโปรตีนไมโอซินนี้ได้จากการที่เนื้อถูกตัดด้วยใบมีดในเครื่องสับขนาด ซึ่งจะทำให้เนื้อมีขนาดเล็กลงเมื่อเติมเกลือลงไป โปรตีนจะละลายออกมาและทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในหมูยอ ในปัจจุบันกลุ่มเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม ได้มีการสร้างเอกลักษณ์ให้กับผลิตภัณฑ์หมูยอ โดยการนำหมูยอมาบรรจุในกระบอกไม้ไผ่แล้วย่างให้สุก ทำให้เกิดความแปลกใหม่ของรูปแบบในขณะที่เดียวกันช่วยทำให้หมูยอที่ได้มีกลิ่นรสเฉพาะตัว เนื่องจากการเปลี่ยนวิธีการให้ความร้อนจากการต้มหรือนึ่งมาเป็นการย่าง (ศรีธญา และ อมรรัตน์, 2547)

เนื่องจากหมูยอเป็นผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายทั้งแบบแช่เย็นและแบบไม่แช่เย็น การลดหรือการชะลอการเสื่อมเสียคุณภาพพร้อมทั้งอายุผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพใกล้เคียงกับที่ออกจากกระบวนการผลิต สามารถทำได้หลายวิธี วิธีการเดิมวัตถุดิบเสียลง ไปเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยยืดอายุ

การเก็บรักษาของหมุยอให้นานขึ้น ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้อนุญาตให้มีการใช้เกลือของกรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสียในหมุยอได้ไม่เกิน 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มอก.1346-2539) ซึ่งจากการสำรวจหมุยอที่วางจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าสารวัตถุกันเสียที่นิยมใส่คือ กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก โดยปริมาณที่พบมีค่าอยู่ในช่วง 256.13-1969.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพบทุกตัวอย่างใส่สารไนไตรท์ (nitrite) ร่วมกับไนเตรท (nitrate) โดยปริมาณที่พบมีค่าอยู่ในช่วง 0.059-0.213 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 0.112-31.370 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ปิยะฉัตร, 2545) นอกจากนี้การปรับสภาวะบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ โดยปรับอัตราส่วนของอากาศภายในบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสมกับชนิดของผลิตภัณฑ์จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้มากถึง 2-10 เท่าตัว (ปุ่น และ สมพร, 2541)

อนุชิตา (2534) ได้ศึกษาหมุยอบรรจุในถุงพลาสติกชนิดไนลอนลามิเนตด้วยพอลิโพรพิลีน (Nylon/PP) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 ± 1 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะปรับบรรยากาศที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 80 และ 100 พบว่าหมุยอมีอายุการเก็บรักษา 28 วันในทุกสภาวะ

ในขณะที่ ปิยะฉัตร (2545) พบว่าหมุยอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสที่ใส่สารโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บรรจุสภาวะอากาศปกติมีอายุการเก็บประมาณ 7-14 วัน ในขณะที่หมุยอใส่สารโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50:ไนโตรเจนความเข้มข้นร้อยละ 50) มีอายุการเก็บประมาณ 70 วัน เท่ากับหมุยอที่ใส่สารโซเดียมเบนโซเอท 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บรรจุแบบสุญญากาศ และสรุปว่าการบรรจุหมุยอแบบปรับสภาพบรรยากาศสามารถลดปริมาณการใช้สารวัตถุกันเสียลงได้

ศรัญญา และ อมรรัตน์ (2547) พบว่าหมุยอต้มห่อใบตองและถุงพลาสติกที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีอายุการเก็บ 6 วัน และ 3 วัน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 ± 2 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากการจำหน่ายหมุยอตามท้องตลาดจะวางขายที่อุณหภูมิห้อง มีผลให้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของหมุยอมีปริมาณสูงและทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสียอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังพบว่าหมุยอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษา 2 วัน เมื่อเก็บภายใต้สภาพบรรยากาศปกติ

และภายใต้สภาพบรรยากาศที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 ในขณะที่การเก็บหมูอย่างภายใต้สภาพบรรยากาศที่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80 และ 100 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาหมูอย่างได้นานถึง 16 วัน และที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 25 ± 2 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษาน้อยกว่า 2 วันในทุกสภาพบรรยากาศ

สาริตาและสุชาดา (2548) พบว่าหมูขบบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์ (retort pouch) ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถยืดอายุการเก็บรักษาหมูขบได้นาน 75 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 30 ± 2 องศาเซลเซียส โดยผู้บริโภคยังยอมรับในผลิตภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ
 - 1.1 เมทิลเซลลูโลส (Methocel A15 Premium) (Dow Chemical company, USA)
 - 1.2 ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (Methocel E50 Premium) (Dow Chemical company, USA)
2. จุลินทรีย์
 - 2.1 *Escherichia coli* O157: H7 DMST 12743 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
 - 2.2 *Listeria monocytogenes* DMST 17303 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อและชุดทดสอบ
 - 3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรีย (Hi-media, India)
 - 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ (Hi-media, India)
 - 3.3 วุ้นผง (agar powder, Chili)
 - 3.4 แผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (3M Petrifilm™, USA)
 - 3.5 พาราฟิล์ม (Parafilm™, USA)
4. สารเคมี
 - 4.1 ซินนามาลดีไฮด์ (Sigma-Aldrich, Singapore)
 - 4.2 ยูจีนอล (Sigma-Aldrich, Singapore)
 - 4.3 กลิเซอรอล (J.T. Baker, USA)
 - 4.4 กรดอะซิติก (FDH laboratory supplies, England)
 - 4.5 พอลิเอทิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 400 (PEG-400) (Unilab, England)

- 4.6 ไดมethylซัลโฟกไซด์ (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Germany)
- 4.7 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka Chemie, Switzerland)
- 4.8 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka Chemie, Switzerland)
- 4.9 แอลกอฮอล์ร้อยละ 95
- 4.10 นอร์มัลเฮปเทน(Fluka Chemie, Switzerland)
- 4.11 โพรพิลีนไกลคอล (Fluka Chemie, Switzerland)
- 4.12 คลอโรฟอร์ม (Sigma-Aldrich Chemie, Germany)
- 4.13 กรดไซโอบาบิรูริก (Sigma-Aldrich Chemie, Germany)
- 4.14 บิวทิเรตไฮดรอกซิลอะนิโซล (butylated hydroxyl anisole; BHA) (Sigma chemical, USA)
- 4.15 บิวทิเรตไฮดรอกซิลโทลูอีน (butylated hydroxyl toluene; BHT) (Sigma chemical, USA)

5. เครื่องมือ

- 5.1 งานเพาะเชื้อ (Greiner, Germany)
- 5.2 ไมโครปีเปต (Biohit, USA)
- 5.3 ถาดสำหรับเทฟิล์ม
- 5.4 หม้อนึ่งความดัน (Astell, model AMA 204S, UK)
- 5.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Germany)
- 5.6 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Binder model KBF 240, Germany)
- 5.7 ตู้ปรับสภาพ (Contherm model CAT 180, New Zealand)
- 5.8 ตู้ปลอดเชื้อ (ISSCO laminar flow model VS-123, USA)
- 5.9 ตู้บ่มเชื้อ (Mettmert, model 600, Germany)
- 5.10 เครื่องวัดค่าพีเอช (Metrohm, model 713, Switzerland)
- 5.11 เครื่องให้ความร้อน (Thermolyne model SD 46920, England)
- 5.12 เครื่องเหวี่ยงแยก (Hettich, model Rotanta 46R, Germany)
- 5.13 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Pharmacia, model Novaspec II, England)
- 5.14 เครื่องผสม (Vortex mixer model CTL 107, Canada)

- 5.15 เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (Homoginizer model AM-10, NIHONSEIKI KAISHA LTD., Japan)
- 5.16 เครื่องตัดใบ (Silent cutter model A-20, Canada)
- 5.17 เครื่อง Gas chromatography (PerkinElmer model Auto System XL, USA)
- 5.18 เครื่องวัดสี (Hunterlab model Ultrscan XE/IX7, USA)
- 5.19 เครื่องวัดความหนา (Mitutoyo model ID-C112BS, Japan)
- 5.20 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius model BP110S, Germany)
- 5.21 เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลอง

วิธีการ

1. การเตรียมฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

1.1 การเตรียมฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์

เตรียมฟิล์มโดยตัดแปลงวิธีของ Franklin *et al.* (2004) โดยละลายเมทิลเซลล์โอสและไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลล์โอส 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมเอทานอล 200 มิลลิลิตร พอลิเอททิลีนไกลคอล-400 ปริมาณ 6 มิลลิลิตร ลงไป จากนั้นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีเพื่อให้ฟองอากาศหายไป เทสารละลายฟิล์ม 27 มิลลิลิตรลงบนเพลทพลาสติกกลม (เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร) ตั้งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มออกจากเพลทพลาสติก เก็บในตู้ควบคุมสภาวะ ณ อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 ± 5

1.2 การเตรียมฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

เตรียมสารละลายฟิล์มเซลล์โอสอีเทอร์ตามวิธีในข้อ 1.1 เติมนิยามาเลดีไฮด์หรือยูจินอลความเข้มข้น 2 ระดับ คือร้อยละ 0.5 และ 1 โดยน้ำหนัก โดยเติมลงไปในพื้นที่ที่มีการเติมเอทานอลโดยผสมในเอทานอลก่อนแล้วจึงผสมลงในสารละลายฟิล์ม ขึ้นรูปตามวิธีในข้อ 1.1

1.3 การวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่หลังการขึ้นรูป

นำฟิล์มแต่ละชนิดที่เตรียมได้ในข้อ 1.2 สกัดสารต้านจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในฟิล์มด้วยวิธีซ็อกเลท (Soxhlet) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวสกัด วิเคราะห์ปริมาณสารแต่ละชนิดที่สกัดได้โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography, PERKIN ELMER) SPB-1 column ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร หน้า 0.25 ไมโครเมตร (ยี่ห้อ SUPELCO) ฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 160 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที อุณหภูมิ injector เท่ากับ 220 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ detector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส โดยใช้ detector เป็นแบบ flame ionization detector (FID)

2. การเตรียมฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

นำสารละลายฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่เติมสารต้านจุลินทรีย์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนักที่เตรียมได้ตามวิธีในข้อ 1.2 ปริมาตร 27 มิลลิลิตร เทเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ ซึ่งตัดเป็นแผ่นกลมโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 14 เซนติเมตรซึ่งวางรองอยู่ในเพลทพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร ตั้งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแกะฟิล์มออกจากเพลทพลาสติกและนำไปห่อผลิตภัณฑ์หมวย โดยให้ด้านที่เคลือบฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์สัมผัสกับพื้นผิวของผลิตภัณฑ์หมวย



ภาพที่ 14 ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

3. การศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ไปสู่อาหารจำลอง

3.1 การเตรียมฟิล์ม

เตรียมสารละลายฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลตามวิธีในข้อ 1.2 เทใส่เพลทพลาสติกกลมขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) ปริมาตร 11 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

วัดความหนาของฟิล์มโดยใช้เครื่องวัดความหนาตามวิธี ISO 4593 (ISO, 1993)

3.2 จดนพลศาสตร์การปลดปล่อยของสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ไปสู่อาหารจำลอง

นำเพลทพลาสติกที่มีฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ติดอยู่ที่ก้นเพลท เติมสารนอร์มัลเซปแทน 40 มิลลิลิตร ปิดฝาเพลทแล้วนำไปใส่ในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (incubator shaker) ที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส โดยให้ความเร็วรอบในการหมุนเท่ากับ 30 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างสารปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทุก 60 นาที ใส่ขวดสีชาซึ่งมีหลอดขนาดเล็กสอดอยู่ด้านใน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสเพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

จากกราฟความสัมพันธ์ของอัตราการเคลื่อนย้ายมวลสาร ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาอนันต์ (M_t/M_∞) กับเวลา (วินาที) เลือกช่วงข้อมูลที่ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ($M_t/M_\infty < 0.6$) เพื่อหาค่า $t^{1/2}$ จากสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น (KyPlot 2.0 for Windows, Kyence Inc, Japan) การเลือกกราฟช่วงที่ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเนื่องจากเป็นช่วงที่อัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารหรือการแพร่ของสารเป็นไปตามกฎของฟิกส์ (Ficks' law) จากนั้นหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (D) ของซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลโดยใช้วิธีครึ่งเวลา (Half-time) สมการ (5) (Lim and Tung 1997; Han and Floros 2000)

หา $t^{1/2}$ ได้จากการปรับเส้นโค้งข้อมูลด้วยสมการ 8 (Hill, 1909) โดยประมวลผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (KyPlot 2.0 for Windows, Kyence Inc, Japan) นำค่าที่ได้ไปแทนในสมการ (5) เพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่

$$M_t/M_\infty = 1/(1 + (k/t)^n) \quad (8)$$

เมื่อ M_t = คือปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมา ณ เวลา t
 M_∞ = คือปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมา ณ เวลานั้น
 k = ความชันของช่วงกราฟที่เป็นเส้นตรง (หนึ่งต่อวินาที)
 t = เวลา (วินาที)
 n = Hill coefficient

จากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ที่อุณหภูมิต่างๆสามารถนำไปหาค่าพลังงานก่อกัมมันต์ได้จากสมการของอาร์เรเนียส (Arrhenius equation) สมการ (6) โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมธรรมชาติ ($\ln D$) กับอุณหภูมิผกผัน (inverse temperature, T^{-1}) ความชันและจุดตัดแกนที่ได้จากความสัมพันธ์นี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ณ อุณหภูมิที่ต้องการที่อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

4. การประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหาร

4.1 การศึกษาคุณภาพของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ โดยนำฟิล์มที่เตรียมได้จากข้อ 2 ห่อหมูยอ นำหมูยอที่ห่อแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุก 4 วัน มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์

4.1.1 ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ

ศึกษาลักษณะปรากฏทางด้านสีของหมูยห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ โดยนำหมูยห่อวัดค่าสีที่ผิวของแท่งหมูย ณ ตำแหน่งต่างๆ 5 จุด ด้วยเครื่องวัดสี (colormeter) ในระบบ Hunter lab

4.1.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านเคมี

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมูยวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่าง วิเคราะห์ค่ากรดไซโอบาร์บิฐูริก (thiobarbituric acid, TBA) (Shibata and Kinumaki, 1979) โดยทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4.1.3 ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

นำตัวอย่างหมูยที่สุ่มมาในระหว่างการเก็บรักษา วิเคราะห์

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด
- จำนวน *Staphylococcus aureus*
- จำนวน *Samonella sp.*
- จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *Escherichia coli*
- จำนวน *Clostridium perfringens*
- จำนวนเชื้อ *Listeria monocytogenes*
- จำนวนเชื้อ *Pseudomonas sp.*
- จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria)

4.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านการสัมผัส

นำหมูยที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชื่อนามาเลติไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยนำหนัก ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน มาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี triangle test เพื่อต้องการทดสอบว่าผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างของหมูยซึ่งห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์

เดิมสารต้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์หมูยอซึ่งห่อด้วยฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์ซึ่งเป็นชุดควบคุมได้หรือไม่ โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่มีความเข้าใจการทดสอบแบบ triangle test จำนวน 15 คน ผู้ทดสอบแต่ละท่านจะได้รับการเสนอตัวอย่าง ของแต่ละชุดทดสอบจำนวน 2 ชุด โดยแต่ละชุดจะสลับตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างที่แตกต่างระหว่างชุดควบคุมกับชุดที่ต้องการทดสอบ

4.3 การศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli* O157: H7 ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมูยอ

นำหมูยอหั่นตามขวางให้ได้น้ำหนักชิ้นละ 25 กรัม บรรจุในถุง ซ้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำหมูยอที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* หรือ *E. coli* O157: H7 ปริมาณ 4 log cfu/กรัม ลงบนพื้นผิวหมูยอเกลี่ยเชื้อให้ทั่วพื้นผิวหมูยอ จากนั้นบรรจุในถุงฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมชึนนามาลดีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (ขนาด 6x6 เซนติเมตร) ปิดผนึกปากถุงแล้วฆ่าเชื้อด้วยแสง UV เป็นเวลา 2 นาที (Cooksey, 2000) เก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างตรวจเชื้อทุกวันที่ 0 5 10 15 20 25 และ 30 และอุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างตรวจเชื้อทุกวันที่ 1 2 3 5 7 10 และ 15

5. การศึกษาอายุการเก็บของฟิล์มต้านจุลินทรีย์

นำฟิล์มเซลล์ูโลสอีเทอร์เดิมชึนนามาลดีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ที่เตรียมได้ตามวิธีในข้อ 1.2 เก็บที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างฟิล์มวันที่ 0 5 10 15 20 30 40 50 60 90 120 180 และ 210 มาวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆดังนี้

5.1 การหาปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในฟิล์ม

นำตัวอย่างฟิล์มที่สุ่มมาในระหว่างการเก็บรักษาวิเคราะห์หาปริมาณของชึนนามาลดีไฮด์และยูจินอลที่เหลืออยู่ในฟิล์มตามวิธีในข้อ 1.3

5.2 ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ของฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 210 วัน

นำฟิล์มมาทดสอบการด้านจุลินทรีย์โดยคัดแปลงวิธีของ Guynot *et al.* (2003) โดยเทวุ้นปริมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อ รอวุ้นแข็งตัว แล้วนำจุลินทรีย์ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร โดยมีจำนวน 50 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ใส่ลงงานเพาะเชื้อ กระจายเชื้อให้ทั่วงานเพาะเชื้อ จากนั้นนำฟิล์มด้านจุลินทรีย์ซึ่งติดอยู่ใต้ฝางานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงยูวีเป็นเวลา 2 นาที (Cooksey, 2000) มาวางประกบบนตัวงานเพาะเชื้อ จากนั้นปิดผนึกด้วยพาราฟิล์มให้สนิท นำงานเพาะเชื้อไว้ในตู้เพาะเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญเปรียบเทียบกับตัวควบคุม คำนวณดัชนีการด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial index) โดยเปรียบเทียบระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของจุลินทรีย์เมื่อทดสอบกับฟิล์มควบคุมและฟิล์มด้านจุลินทรีย์ โดยคำนวณเป็น (เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของฟิล์มควบคุม - เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของฟิล์มด้านจุลินทรีย์)/เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของฟิล์มควบคุม

5.3 ศึกษาคุณสมบัติเชิงแสง

ทดสอบความโปร่งใส (transparency) โดยการวัดการส่องผ่านของแสง (light transmittance) ด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธี ASTM D1746-03 (ASTM, 2006)

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 12.0 for Windows

6. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอม
เกล้าธนบุรี

7. ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 สิ้นสุดเดือนธันวาคม 2550

ผลและวิจารณ์

1. ลักษณะปรากฏของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์

1.1 ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์

จากการขึ้นรูปฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือ อยูจีนอล ด้วยวิธีการหล่อ ได้ลักษณะของแผ่นฟิล์ม แสดงดังภาพที่ 15 16 และ 17 ตามลำดับ ซึ่งฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ที่ได้มีความหนาอยู่ในช่วง 0.0803 ถึง 0.0871 มิลลิเมตร ลักษณะของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์มีลักษณะเรียบ สี เหนียว และยืดหยุ่น ละลายน้ำ โดยฟิล์มที่เติมสารด้านจูลินทรีย์จะมีกลิ่นเฉพาะของสารที่เติมเข้าไป คือ กลิ่นซินนามาลดีไฮด์และกลิ่นยูจีนอล จากรายงานของ Krumel and Lindsay (1976) ฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลส มีลักษณะโปร่งใส เหนียว และยืดตัวได้ ละลายได้ในน้ำ ไม่ละลายในไขมันและน้ำมัน การเติมพลาสติกไซเซออร์มีผลต่อหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลที่ถูกแทนที่ในไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส ทำให้ฟิล์มมีความคงตัวต่ำ สามารถปรับปรุงคุณภาพการละลายในน้ำโดยการใช้เมลามีนฟอร์มัลดีไฮด์เรซิน (melamine formaldehyde resins) ในการเชื่อมข้ามพันธะ จะทำให้ฟิล์มไม่ละลายน้ำ (Nisperos-Carriedo, 1994)



ภาพที่ 15 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์



ภาพที่ 16 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอร์เติมซินนามาลดีไฮด์



ภาพที่ 17 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอร์เติมยูจีนอล

1.2 ปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในฟิล์มหลังการขึ้นรูป

จากการวิเคราะห์หาปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่หลงเหลืออยู่ในฟิล์มต้านจุลินทรีย์หลังการขึ้นรูป พบว่าที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่เท่ากันของสารต้านจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีปริมาณสารหลงเหลืออยู่หลังการขึ้นรูปแตกต่างกันน้อยมาก โดยฟิล์มต้านจุลินทรีย์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก มีปริมาณสารหลงเหลืออยู่ร้อยละ 0.43 และ 0.89 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และฟิล์มต้านจุลินทรีย์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก มีปริมาณสารหลงเหลืออยู่ร้อยละ 0.42 และ 0.84 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาค่าปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่จะพบว่าสูญเสียไประหว่างการขึ้นรูปฟิล์มน้อยมากทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มใช้เพียงตัวทำละลายคือเอทานอลไม่ได้ผ่านความร้อน ในขณะที่ Suppakul (2004) ได้ศึกษาการเหลืออยู่ของสารต้านจุลินทรีย์ ลินาลออล (linalool) และเมทิลซาวีคอลล

(methylchavicol) ในฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ พบว่าปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงในฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำซึ่งขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีดมีปริมาณสารเหลืออยู่ในฟิล์มเพียงร้อยละ 0.34 โดยน้ำหนักจากปริมาณที่เติมลงไป ในขั้นตอนการขึ้นรูปร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก แสดงว่ามีการสูญเสียไปในระหว่างการขึ้นรูปประมาณร้อยละ 60 ซึ่งเป็นผลมาจากความร้อนที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์มด้วยกระบวนการอัดรีด ปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในฟิล์มจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการเป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย สารต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน เช่น เอนไซม์และสารระเหย การใช้ตัวทำละลายอาจเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเติมสารดังกล่าวลงในพอลิเมอร์ซึ่งต่างจากกระบวนการผลิตพอลิเมอร์เชิงความร้อน เช่น การอัดรีด (extrusion) การฉีดขึ้นรูป (injection) จะใช้กับสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความเสถียรเชิงความร้อน เช่น ซิลเวอร์ซีโอไลต์ (silver zeolite) (ภาณุวัฒน์, 2547)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในฟิล์มหลังการขึ้นรูป

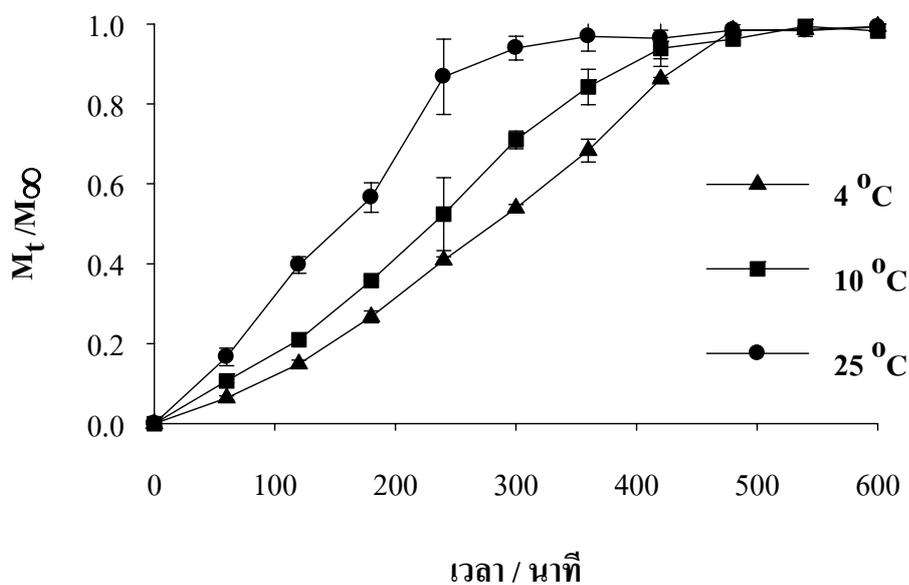
สารต้านจุลินทรีย์	ความเข้มข้นเริ่มต้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ความเข้มข้นที่เหลือหลังการขึ้นรูป (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ซินนามาลดีไฮด์	0.5	0.43±0.03
	1.0	0.89±0.01
	0.5	0.42±0.01
ยูจีนอล	1.0	0.84±0.03

2. การศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลลูโลสไฮดรอกซีโพรพิลไปสู่วิถีบริโภคอาหาร

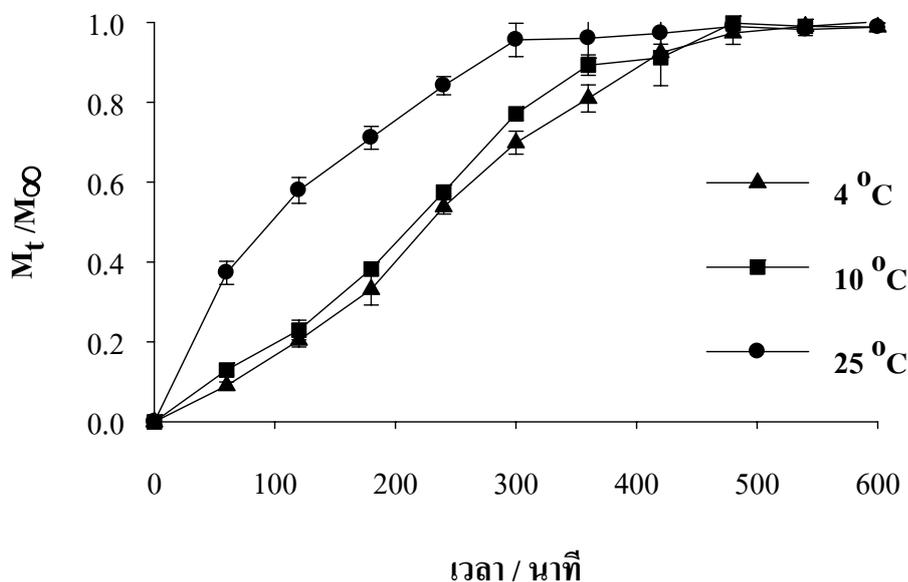
2.1 จลนพลศาสตร์การปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลลูโลสไฮดรอกซีโพรพิล

จากการศึกษาอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลสาร ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาสูงสุด (M/M_∞) ของซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลไปสู่สารทำละลายนอร์มัลเฮปเทน ซึ่งเป็นอาหารจำลองในการตรวจวัดไมเกรชันในอาหารไขมันตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 295 (2548) ที่อุณหภูมิต่างๆกัน 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส ผลที่ได้จากการทดลองแสดงดังภาพที่ 18 และ 19 โดยพบว่าอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอล

จะเกิดขึ้นรวดเร็วในระยะแรก (lag time) จนกระทั่งเข้าสู่สมดุล ลักษณะกราฟที่ได้มีแนวโน้มเหมือนกัน โดยเวลาที่ใช้ในการเข้าสู่สมดุลคือประมาณ 480 นาที หรือ 8 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกันในสารทั้งสองชนิด และพบว่าสารทั้งสองชนิดแสดงพฤติกรรมการปลดปล่อยมวลสารไปยังสารละลายนอร์มัลเฮปแทนเป็นแบบ non-Fickian



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลซินนามาลดีไฮด์ ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาสูงสุด (M_t/M_{∞}) ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปแทนที่อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลยูจินอล ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง เทียบกับเวลาสูงสุด (M_t/M_∞) ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปเทนที่อุณหภูมิต่างๆ

เมื่อนำข้อมูลอัตราส่วนการปลดปล่อยมวลสาร ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเทียบกับเวลาสูงสุด (M_t/M_∞) ของสารซินนามาลดีไฮด์และยูจินอล ไปสู่สารทำละลายนอร์มัลเฮปเทนมาปรับเส้นโค้ง (curve fitting) (โดยใช้รูปแบบสมการ 8) ประมวลผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (KyPlot 2.0 for Windows, Kyence Inc, Japan) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (r^2) ของสารทั้งสองชนิดของทุกสภาวะอุณหภูมิที่ทำการทดสอบมีค่าอยู่ในช่วง 0.9271-0.9862 แสดงว่ารูปแบบสมการที่นำมาใช้ปรับเส้นโค้งของข้อมูลได้ดี (ภาพภาคผนวกที่ ค1 และ ค2) โดยกลไกการปลดปล่อยมวลสารของซินนามาลดีไฮด์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปรับเส้นโค้งได้ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดสูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 0.9862 ในขณะที่กลไกการปลดปล่อยมวลสารของยูจินอลที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปรับเส้นโค้งได้ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดสูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 0.9792 ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลจริงที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการประมาณค่าด้วยสมการทางคณิตศาสตร์ ถ้าค่าที่ได้มีค่าสูงคือใกล้เคียงกับ 1 แสดงว่าสมการที่เลือกมาใช้ในการปรับเส้นโค้งของข้อมูลมีความเหมาะสม

2.2 ผลของอุณหภูมิต่อการเกิดไมเกรซัน

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารซินนามาลดีไฮด์และยูจินอล โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารเพิ่มขึ้นซึ่งเกิดขึ้นในลักษณะเดียวกันทั้งซินนามาลดีไฮด์และยูจินอล สารทำลายนอร์มัลเฮปเทนเป็นอาหารจำลองที่ใช้ในการตรวจวัดค่าไมเกรซันในอาหารไขมันที่ไมเกรซันมีค่าต่ำมากๆ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของซินนามาลดีไฮด์ซึ่งได้จากการคำนวณด้วยวิธี half time (สมการ 5) แสดงดังตารางที่ 6 เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.22×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 4.25×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของยูจินอลมีค่าอยู่ในช่วง 2.59×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที เป็น 6.36×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที จากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ที่ได้ของสารทั้งสองชนิดแสดงให้เห็นว่าพฤติกรรมของการเคลื่อนย้ายมวลสารของสารทั้งสองชนิดเหมือนกันกล่าวคือแปรผันตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น โดยยูจินอลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่สูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 6.58×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Suppakul (2004) ซึ่งได้ศึกษาอัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารลินนาลอล และเมทิลซาวีคอลลออกจากฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำไปยังตัวทำละลายไอโซออกเทน (isooctane) ที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารทั้งสองชนิดแปรผันตามอุณหภูมิโดยค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของลินนาลอลและเมทิลซาวีคอลล มีค่าอยู่ในช่วง 4.22×10^{-13} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 2.46×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที และ 3.5×10^{-13} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 1.10×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลของอุณหภูมิต่อการเคลื่อนย้ายมวลซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลออกจากฟิล์ม
เซลลูโลสเอเทอร์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮกเซน

สารต้านจุลินทรีย์	อุณหภูมิ	$L \times 10^{-6}$ ^[1] (เมตร)	$D \times 10^{-14}$ ^[2] (ตารางเมตรต่อวินาที)
ซินนามาลดีไฮด์	4	86.3	2.22±0.10
	10	85.1	2.70±0.12
	25	85.9	4.25±0.04
ยูจีนอล	4	85.9	2.59±0.13
	10	84.3	3.10±0.17
	25	85.4	6.36±0.11

^[1] ความหนาของฟิล์ม

^[2] ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่

Redl *et al.* (1996) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของกรดซอร์บิกออกจากฟิล์มโปรตีนจากข้าวสาลี มีค่าเท่ากับ 7.6×10^{-11} ตารางเมตรต่อวินาที และเมื่อมีการผสมสารจำพวกไขมันซึ่งได้แก่อะซิทิลเลท โมโนกลีเซอไรด์ (acetylate monoglyceride) ลงฟิล์มโปรตีนจากข้าวสาลี พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จะลดลงครึ่งหนึ่ง ในขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของกรดซอร์บิกออกจากฟิล์มพวกไขมันพบว่ามีค่าเท่ากับ 2.7×10^{-16} ตารางเมตรต่อวินาที และ รัชณี (2545) ได้ศึกษาการแพร่ของวิตามินอีจากฟิล์มเมทิลเซลลูโลสในน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าความเข้มข้นของวิตามินอีมีอิทธิพลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นค่าสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าสูงขึ้น โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.04×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที ถึง 0.90×10^{-12} ตารางเมตรต่อวินาที

จากรายงานวิจัยต่างๆที่ได้ศึกษาถึงอัตราการปลดปล่อยสารหรือเคลื่อนย้ายมวลสารออกจากวัสดุบรรจุ (ตารางที่ 7) สรุปได้ว่า อัตราการปลดปล่อยมวลสารหรือการเคลื่อนย้ายมวลสารออกจากวัสดุบรรจุจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการทดสอบหรือการเก็บรักษา สัดส่วนการเชื่อมโยงพันธะภายใน ความเข้มข้นของสารที่เติมลงในฟิล์ม

ตารางที่ 7 ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มชนิดต่างๆ

ชนิดของฟิล์ม / สารต้านจุลินทรีย์	อาหารจำลอง	ความหนา $\times 10^{-6}$ (ม.)	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ค่าสัมประ สิทธิ์การแพร่ $D \times 10^{-12}$ (ม. ² /วินาที)	
wheat gluten/sorbic acid ^[1]	Distilled water	104	4	3.1	
			10	4.1	
			20	7.5	
chitosan/acetic acid ^[2]	0.2 M sodium- phosphate (pH 6.4)	43.2	4	1.19	
			10	1.49	
			24	2.59	
LDPE/linalool ^[3]	isooctane	47.0	4	0.42	
			10	0.68	
			25	2.46	
methylcellulose/vitamin E (4mg /25cm ²) ^[4]	Soy bean oil	68	-	0.04	
			/vitamin E (51mg /25cm ²)	72	0.33
			/vitamin E (77mg /25cm ²)	74	0.90

ที่มา: ^[1] Redl *et al.* (1996)

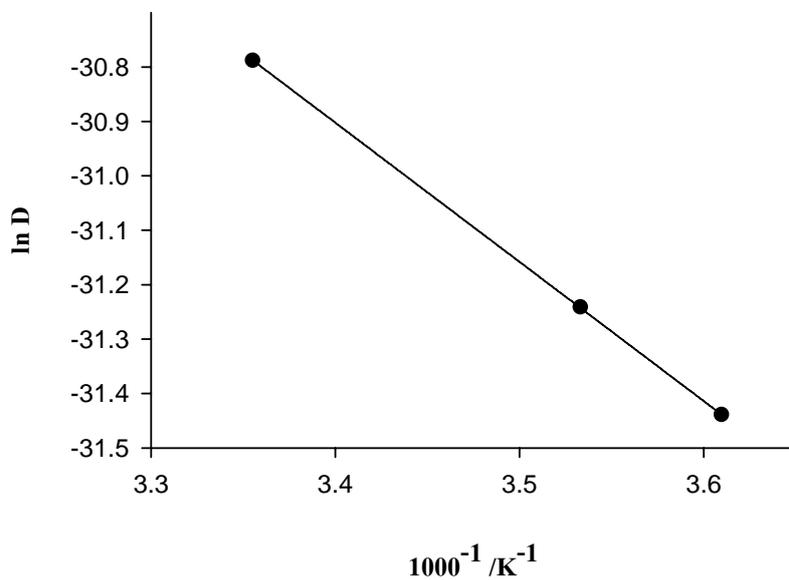
^[2] Ouattara *et al.* (2000b)

^[3] Suppakul (2004)

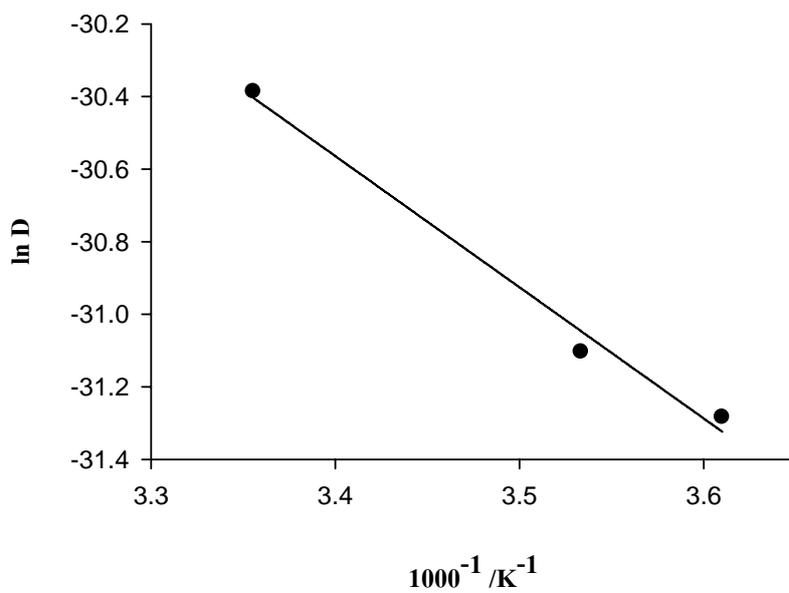
^[4] รัชณี (2545)

จากภาพที่ 20 และ 21 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมธรรมชาติ ($\ln D$) กับ อุณหภูมิผกผัน (T^{-1}) ซึ่งแสดงถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของซินนามาลดีไฮด์ และยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ พบว่าค่าความชันที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 2.511 และ 3.717 ตามลำดับ ซึ่งนำไปคำนวณหาค่าพลังงานก่อกัมมันต์ได้โดยแทนค่าในสมการที่ (6)

ค่าพลังงานก่อกัมมันต์สำหรับการแพร่ของซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์แสดงดังตารางที่ 8 ซึ่งพบว่าค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของยูจีนอลมีค่าสูงกว่าซินนามาลดีไฮด์ คือมีค่าเท่ากับ 30.91 จูลต่อ โมล ในขณะที่ของซินนามาลดีไฮด์มีค่าเท่ากับ 20.88 จูลต่อ โมล แสดงว่าจลนพลศาสตร์การปลดปล่อยของยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมากกว่าของซินนามาลดีไฮด์ เมื่อแทนค่าความชันที่ได้กับค่าพลังงานก่อกัมมันต์สำหรับการแพร่ตามสมการของอาร์เรเนียส จะทำให้สามารถทำนายค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ณ อุณหภูมิต่างๆ ได้ Redl *et al.* (1996) พบว่าค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่ของกรดซอร์บิกออกจากฟิล์มโปรตีนจากข้าวสาลี และฟิล์มพวกไขมัน มีค่าอยู่ในช่วง 30.0 ถึง 39.8 กิโลจูลต่อโมล ในขณะที่ Suppakul (2003) ได้รายงานค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการแพร่ของลินาลอลและเมทิลซาวีคอลลออกจากฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ มีค่าเท่ากับ 839.46 และ 552.93 จูลต่อโมล ตามลำดับ



ภาพที่ 20 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของซิงกานาออกไซด์ออกจากฟิล์ม เซลลูโลสอีเทอร์



ภาพที่ 21 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์

ตารางที่ 8 ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์

สารต้านจุลินทรีย์	พลังงานก่อกัมมันต์ (จุดต่อ โมล)
	Half-time
ซินนามาลดีไฮด์	20.88
ยูจีนอล	30.90

การศึกษาค่าพลังงานก่อกัมมันต์สำหรับปฏิกิริยาต่างๆที่เกี่ยวข้องกับอนุมูล มี การศึกษากันในหลายสาขาวิชา เช่นในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อใช้ในการอธิบายการเปลี่ยนแปลง คุณภาพของอาหารระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา ถ้าค่าพลังงานก่อกัมมันต์มีค่ามากแสดงถึง ปฏิกิริยานั้นมีความไวต่ออนุมูลมาก กล่าวคือปฏิกิริยาจะเกิดช้ามากที่อนุมูลต่ำ แต่เกิดเร็วมากที่ อนุมูลสูง เมื่อกล่าวถึงในส่วนของแพรงของสารออกจากวัสดุบรรจุ ถ้าสารมีค่าพลังงานก่อกัม มันต์มากแสดงว่าสารสามารถแพร่ผ่านออกจากฟิล์มที่อนุมูลสูงได้ดีกว่าที่อนุมูลต่ำ ค่าพลังงาน ก่อกัมมันต์ของการแพร่ของสารออกจากวัสดุบรรจุช่วยให้เราสามารถเลือกใช้งานและเก็บรักษา วัสดุบรรจุที่อนุมูลที่เหมาะสม

3. การประยุกต์ใช้ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์กับ ผลิตภัณฑ์อาหาร

3.1 การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลส อีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมูยอ

จากการนำฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดี ไฮด์หรือยูจีนอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก ห่อหมูยอ (ภาพที่ 22) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างหมูยอตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆ



ภาพที่ 22 หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

3.1.1 คุณภาพทางด้านกายภาพ

จากการวิเคราะห์ค่าสีของผลิตภัณฑ์หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ พบว่าค่า L^* ของหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก หรือยูจินอลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก มีค่าเปลี่ยนแปลงขึ้นลงในช่วงแคบตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (35 วัน) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 51.54 ± 0.57 ถึง 54.61 ± 0.99 ในขณะที่หมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 1.0 มีค่า L^* ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 51.47 ± 1.29 ถึง 54.75 ± 0.21 ซึ่งจากการผลการทดลองของ ศรีธัญญาและอมรรัตน์ (2547) พบว่าค่า L^* ของหมูยออย่างเก็บรักษาที่สภาวะบรรยากาศปกติ และภายใต้สภาวะปรับบรรยากาศมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า a^* ของหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.29 ± 0.02 ถึง 1.99 ± 0.20 และ 1.24 ± 0.11 ถึง 2.62 ± 0.42 ตามลำดับ และพบว่าหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า a^* มากที่สุด โดยมีค่า a^* ตลอดอายุการเก็บ 35 วันเท่ากับ 2.62 ± 0.42 ค่า b^* ของหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์มีค่าอยู่ในช่วง 10.50 ± 0.27 ถึง 12.07 ± 0.72 และ 10.78 ± 0.20 ถึง 12.85 ± 0.60 ตามลำดับ หมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์

เติมยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า b^* สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 12.85 ± 0.60 เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าสี (ΔE) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแตกต่างของค่าสีของตัวอย่างหมุยที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเริ่มต้น (วันที่ 0) เทียบกับค่าสีของตัวอย่างหมุยที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นหมุยที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดมีค่าความแตกต่างของสีเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับหมุย ณ วันเริ่มต้น และพบว่าหมุยที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าความแตกต่างของสีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน มากที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 3.78 ± 0.68 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ค่าสีของหมุยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์ลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ค่าสี	ระยะเวลาการเก็บ (days)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		control ^[1]	cin 0.5% ^[2]	cin 1.0% ^[3]	eug 0.5% ^[4]	eug 1.0% ^[5]
<i>L*</i>	0	53.89±1.23	54.36±1.36	54.42±0.52	55.54±0.33	54.75±0.21
	5	53.44±1.18	53.04±0.89	52.80±0.55	53.10±0.97	53.17±0.97
	10	53.12±0.75	53.08±0.30	52.77±0.22	52.78±2.10	53.45±1.17
	15	53.46±0.22	52.99±0.87	52.71±0.82	52.71±0.82	52.46±1.03
	20	54.61±0.99	52.97±0.82	52.63±1.89	54.65±0.92	52.25±2.29
	25	54.54±0.192	52.35±0.71	53.18±1.88	54.09±1.96	52.55±2.20
	30	52.71±1.60	53.32±3.09	51.54±0.57	52.51±1.32	51.47±1.29
	35	52.71±1.03	53.32±3.20	51.54±0.50	53.18±1.78	51.47±1.18
<i>a*</i>	0	1.29±0.02	1.24±0.08	1.76±0.20	1.24±0.11	1.61±0.29
	5	1.73±0.25	1.59±0.52	1.85±0.49	1.52±0.52	1.51±0.38
	10	1.62±0.18	1.43±0.25	1.87±0.11	1.43±0.25	1.74±0.26
	15	1.82±0.08	1.51±0.25	1.76±0.62	1.45±0.28	1.80±0.61
	20	1.84±0.25	1.65±0.27	1.65±0.52	1.65±0.27	1.65±0.52
	25	1.61±0.51	1.71±0.22	1.97±0.21	1.85±0.38	1.97±0.21
	30	1.81±0.41	1.48±0.30	1.84±0.17	1.72±0.16	1.92±0.03
	35	1.99±0.20	1.52±0.29	2.11±0.30	1.52±0.26	2.62±0.42

ตารางที่ 9 (ต่อ)

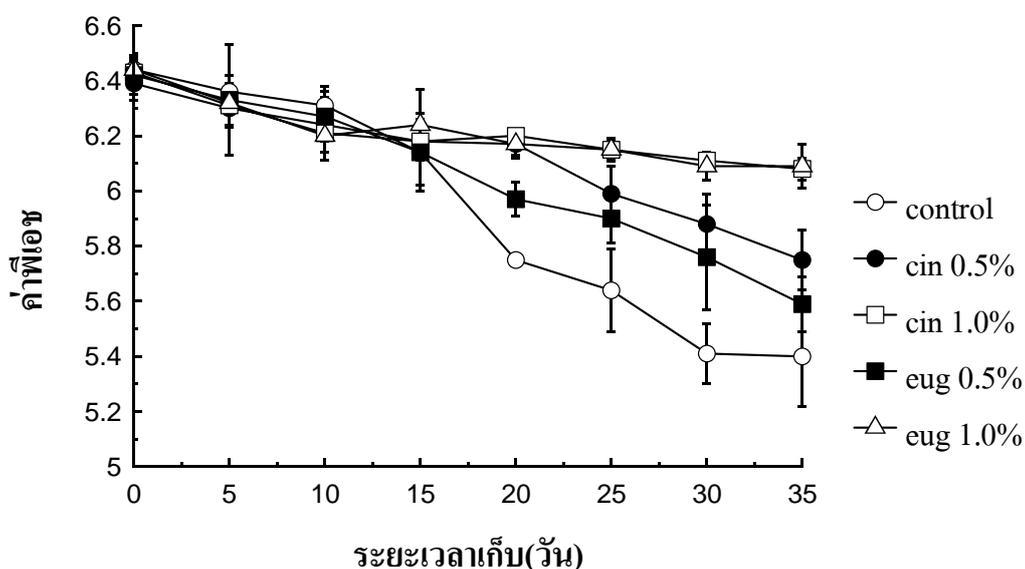
ค่าสี	ระยะเวลาการเก็บ (days)	ชนิดบรรจุภัณฑ์				
		control ^[1]	cin 0.5% ^[2]	cin 1.0% ^[3]	eug 0.5% ^[4]	eug 1.0% ^[5]
<i>b</i> *	0	10.50±0.27	11.45±0.38	11.08±0.59	10.78±0.20	11.08±0.59
	5	11.52±0.20	11.58±0.91	11.51±0.87	11.58±0.91	11.51±0.14
	10	11.60±0.28	11.41±0.09	11.16±1.24	11.74±1.59	12.16±0.84
	15	11.92±0.31	11.84±0.46	11.52±0.20	11.84±0.46	11.85±0.60
	20	12.07±0.72	11.16±1.24	10.90±0.41	11.83±0.97	10.92±0.41
	25	11.43±0.48	11.52±0.20	11.50±0.95	11.85±0.60	11.50±1.20
	30	11.59±1.26	10.92±0.41	11.85±0.60	11.92±0.83	12.18±1.16
	35	11.92±0.83	10.92±0.33	11.52±0.20	12.25±1.18	12.85±0.60
ΔE (ค่าความแตกต่างของสีเทียบกับ control วันที่ 0)	0	0.00	1.53±0.43	1.13±0.10	1.69±0.36	1.22±0.19
	5	1.58±0.48	1.71±0.67	1.80±0.45	1.75±0.53	1.49±0.42
	10	1.51±0.34	1.26±0.14	1.69±0.59	2.51±1.32	2.19±0.46
	15	1.59±0.29	1.75±0.67	1.83±0.22	1.96±0.19	2.27±0.50
	20	2.09±0.47	1.70±0.44	2.01±0.85	1.92±0.31	2.40±1.25
	25	1.99±0.60	1.95±0.50	2.05±1.05	2.08±1.06	2.65±0.80
	30	2.23±1.06	2.64±0.89	2.82±0.44	2.37±0.45	3.26±0.83
	35	2.24±0.33	2.65±0.88	2.71±0.40	2.58±0.36	3.78±0.68

[1] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ [2] [3] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก [4] [5] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก

3.1.2 คุณภาพทางด้านเคมี

ก. ค่าพีเอช

จากผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชของหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ พบว่าหมุยห่อมีค่าพีเอชลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีการลดลงของค่าพีเอชในระหว่างการเก็บรักษามากกว่าหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ กล่าวคือค่าพีเอชเริ่มต้นของหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์มีค่าอยู่ในช่วง 6.39-6.44 และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 35 วัน พบว่าค่าพีเอชของหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ลดลงเหลือ 5.40 ในขณะที่หมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชึ้นนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าพีเอชลดลงเหลือ 5.75 และ 6.08 ตามลำดับ และหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชึ้นอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าพีเอชลดลงเหลือ 5.59 และ 6.09 ตามลำดับ (ภาพที่ 23) สอดคล้องกับผลจากการทดลองของศรัณยาและอมรรัตน์ (2547) ซึ่งพบว่าหมุยห่อที่ห่อด้วยใบตองและห่อด้วยพลาสติกซึ่งสุ่มเก็บตัวอย่างมาจากที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บ (อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส) นานขึ้นค่าพีเอชมีค่าลดลง โดยค่าพีเอชเริ่มต้นของหมุยห่อด้วยใบตองและห่อด้วยพลาสติกมีค่าเท่ากับ 6.68 และ 6.51 และลดลงเหลือ 5.73 และ 5.78 ตามลำดับในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา การลดลงของค่าพีเอชในอาหารเป็นผลเนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดได้ ซึ่งจะใช้น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบในอาหารให้เป็นกรดแลคติกและคาร์บอนไดออกไซด์จึงส่งผลให้อาหารมีค่าพีเอช ลดลง (Axelsson, 1998)



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของหมูยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส

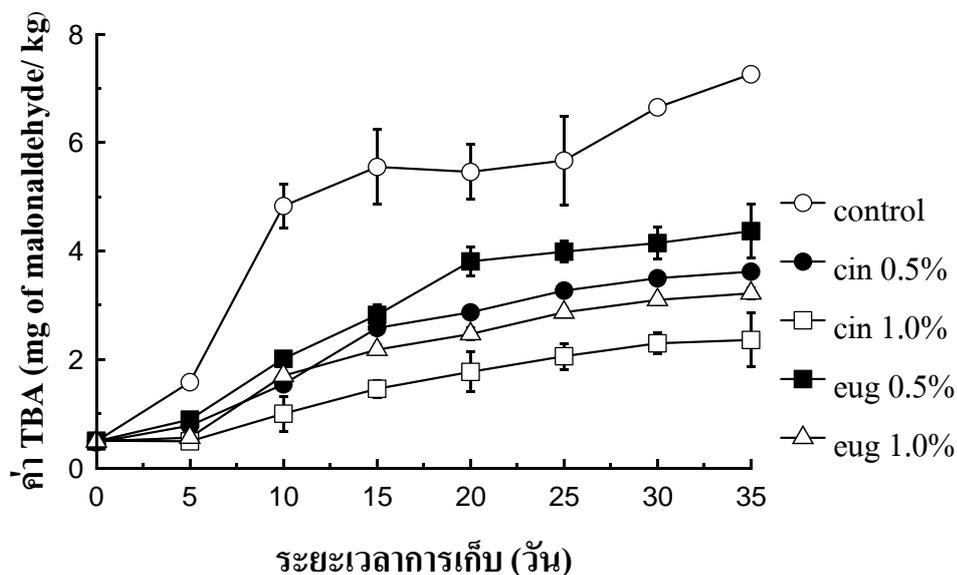
ข. ปริมาณกรดไธโอบาร์บิทรูริก (Thiobarbituric Acid number, TBA)

ปริมาณกรดไธโอบาร์บิทรูริก เป็นค่าที่บ่งชี้ระดับความหืนที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างอนุมูลอิสระของกรดไขมันและก๊าซออกซิเจนในอากาศ โดยมีอุณหภูมิ แสง และเกลือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Kramlich *et al.*, 1982) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด

จากการวิเคราะห์ค่า TBA ของหมูยห่อที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อค่า TBA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นค่า TBA ของหมูยห่อจะมีค่าเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของอนุชิตา

(2534) ซึ่งทดลองเก็บหมุยอในถุง Nylon/PP ในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 2 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่าค่า TBA มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 1.35 เป็น 4.10 มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม ในระยะเวลาการเก็บ 28 วัน และจากงานวิจัยของศรีธนาและอมรรัตน์ (2547) ซึ่งพบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อค่า TBA ของหมุยอย่างที่บรรจุภายใต้สภาพปรับบรรยากาศโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.83 ถึง 3.21 มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม กล่าวคือเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นค่า TBA ของหมุยอย่างจะเพิ่มขึ้นเป็นผลให้เกิดกลิ่นหืนเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ทำให้เกิดกลิ่นหืนนั้นเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด ดังนั้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นจึงส่งผลให้ค่า TBA มีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย

จากผลการทดลองพบว่าหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า TBA สูงที่สุดคือมีค่าอยู่ในช่วง 0.49 ± 0.03 ถึง 7.26 ± 0.04 มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม ในขณะที่หมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า TBA ลดลง โดยหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่า TBA เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.50 ± 0.04 ถึง 2.36 ± 0.49 รองลงมาคือ หมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าอยู่ในช่วง 0.49 ± 0.02 ถึง 3.22 ± 0.10 หมุยห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีค่าอยู่ในช่วง 0.47 ± 0.04 ถึง 3.62 ± 0.10 และหมุยห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีค่าอยู่ในช่วง 0.49 ± 0.02 ถึง 4.37 ± 0.049 มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังภาพที่ 24



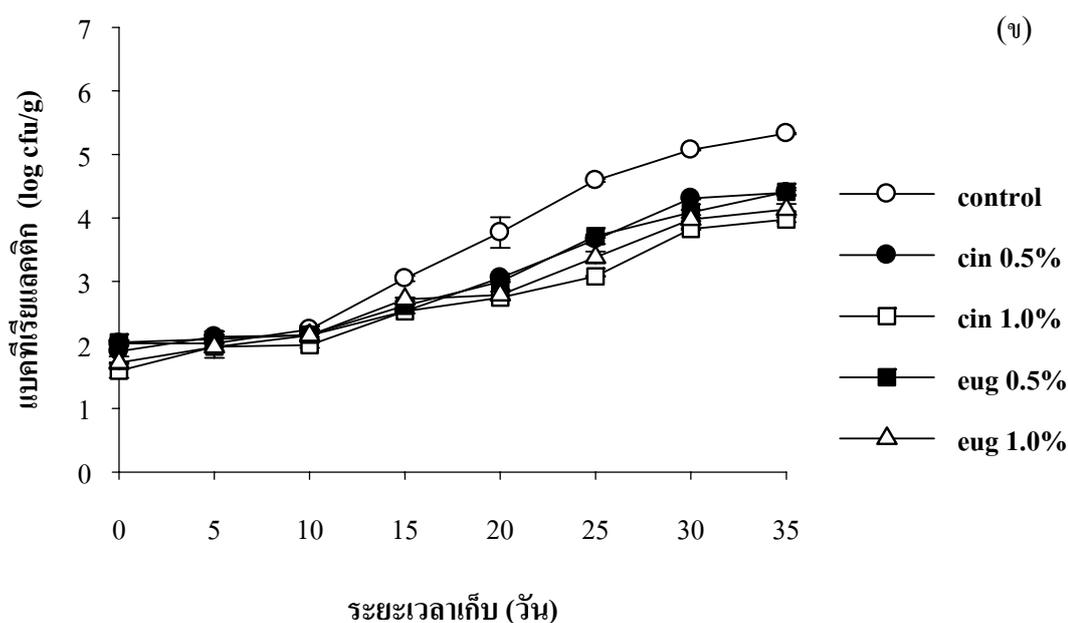
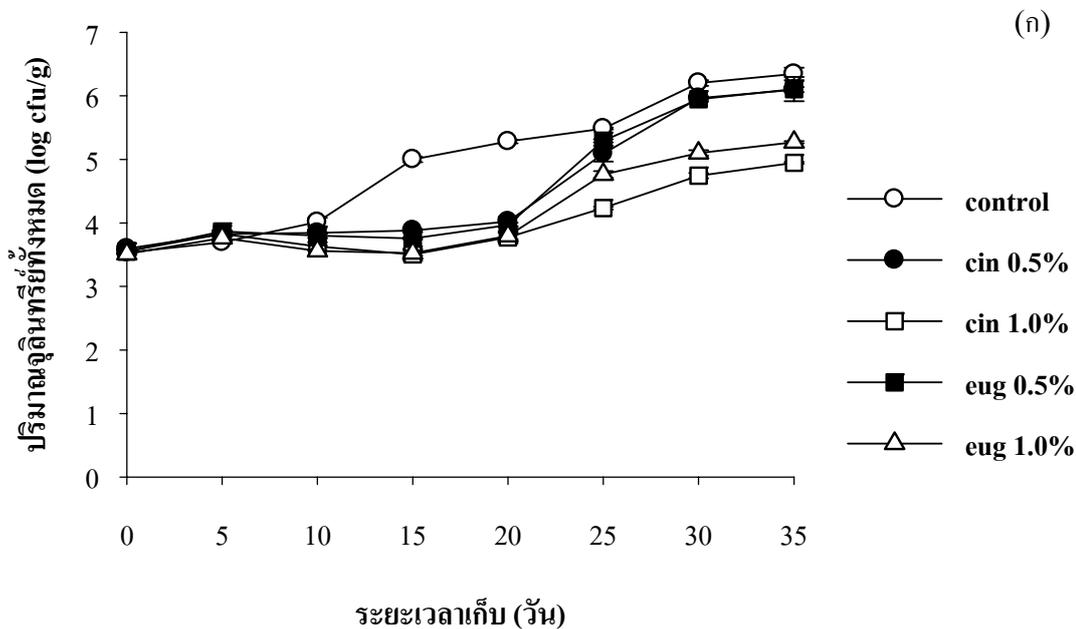
ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของหมู่อหู่ด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส

3.1.3 สมบัติทางด้านจุลินทรีย์

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมู่อหู่ พบว่าหมู่อหู่ที่ห่อด้วยฟิล์มทุกชนิดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.51 ± 0.01 ถึง 3.59 ± 0.01 log cfu/กรัม หมู่อหู่ที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด กล่าวคือปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมู่อหู่ตลอดอายุการเก็บรักษา 35 วัน มีค่าเท่ากับ 4.95 log cfu/ กรัม และ 5.27 log cfu/ กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่า 6 log cfu/กรัม ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานในการบ่งชี้การเน่าเสียของอาหารที่ถูกกำหนดโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ในขณะที่หมู่อหู่ที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

เท่ากับ 6.35 6.10 และ 6.11 log cfu/ กรัม ตามลำดับ ที่ระยะเวลาเก็บรักษา 35 วัน (ภาพที่ 25 ก) ซึ่งจากผลการทดลองของศรีธนาและอมรรัตน์ (2547) พบว่าหมูยห่อด้วยใบตองที่สุ่มเก็บตัวอย่างมาจากท้องตลาดมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้น 4.32 log cfu/กรัมและเพิ่มขึ้นเป็น 7.62 log cfu/กรัม ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา หมูยห่อด้วยถุงพลาสติกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้น 5.32 log cfu/กรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 7.05 log cfu/กรัม ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นจะพบว่าหมูยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหมูยได้ดีกว่าการห่อด้วยใบตองและพลาสติกทั่วไปที่มีขายในท้องตลาด โดยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหมูยได้ดีที่สุดรองลงมาคือฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ฉัชชา (2550) ที่พบว่าซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่เติมในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยซินนามาลดีไฮด์แสดงกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์สูงสุด รองลงมาคือ ยูจีนอล และ จีรานีอออล

จากการทดลองหมูยห่อที่ห่อด้วยฟิล์มแต่ละชนิดมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นอยู่ในช่วง 1.59 ± 0.11 ถึง 2.04 ± 0.04 log cfu/กรัม และพบว่ามีเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยหมูยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงที่สุดตลอดอายุการเก็บรักษา 35 วัน คือมีค่าเท่ากับ 5.33 ± 0.02 log cfu/กรัม ในขณะที่หมูยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง 3.97 ± 0.04 ถึง 4.41 ± 0.06 log cfu/กรัม (ภาพที่ 25 ข) จากผลการทดลองจะพบว่าหมูยห่อมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์เป็นอาหารและสร้างกรดแลคติกและคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา (บุษกร, 2545) ดังนั้นจึงเป็นสภาวะที่เอื้อต่อการทำงานของแบคทีเรียแลคติกซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของหมูยที่ลดลง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในเนื้อสดโดยทั่วไปจะมีปริมาณน้อยแต่จะพบมากในเนื้อสดที่เก็บในสภาวะสุญญากาศและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก โบโลญา และเป็นดัชนีบ่งชี้ความเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยจะทำให้เกิดกลิ่นเปรี้ยว และสีเปลี่ยนแปลง เช่น *Lactobacillus viridescens* ทำให้เนื้อมีสีเขียว *Streptococcus faecium* ต้นเหตุของการเกิดกลิ่นเปรี้ยว ซึ่งจะพบมากในผลิตภัณฑ์เนื้อที่บรรจุภายใต้สภาพไร้อากาศ (งามทิพย์, 2550)

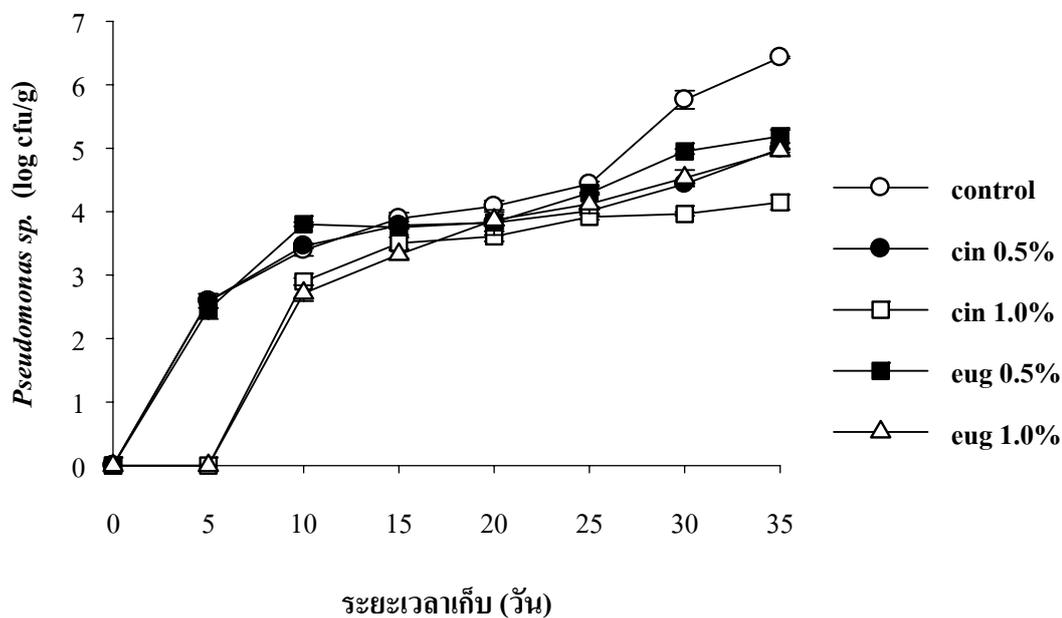


ภาพที่ 25 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ก) และแบคทีเรียแลคติก (ข) ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 2 องศาเซลเซียส

จากการตรวจหาปริมาณเชื้อ *Pseudomonas sp.* ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ พบว่าหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชื่อนามาคีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก จะเริ่มตรวจพบปริมาณเชื้อ *Pseudomonas sp.* ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา และมีปริมาณเชื้อที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน เท่ากับ 4.15 และ 4.96 log cfu/กรัม ตามลำดับ ในขณะที่หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชื่อนามาคีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก จะเริ่มตรวจพบปริมาณเชื้อ *Pseudomonas sp.* ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา และมีปริมาณเชื้อที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน เท่ากับ 6.43 4.99 และ 5.19 log cfu/กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 26)

จากการวิเคราะห์หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* *C. Perfringens* *Samonella sp.* และ *L. monocytogynes* ในขณะที่ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* พบว่ามีปริมาณน้อยกว่า 3 MPN/กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาอายุการเก็บรักษา 35 วัน (ตารางที่ 10) สอดคล้องตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของหมูยอตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (2539) ซึ่งกำหนดว่าต้องไม่พบ *Samonella sp.* ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ไม่พบ *S. aureus* และ *C. Perfringens* ในตัวอย่าง 0.1 กรัม และ *E. coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

จากผลการทดลองแสดงถึงประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมชื่อนามาคีไฮด์หรือยูจินอล ที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและความปลอดภัยของอาหาร โดยการลดและยึดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ (Han, 2003)



ภาพที่ 26 ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas sp.* ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาติไฮดร็อกซีร้อยละ 0.5 (cin 0.5%) 1.0 (cin 1.0%) โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 (eug 0.5%) 1.0 (eug 1.0%) โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 2 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 10 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์				
		Coliform (MPN/g)	C. perfringens (log cfu/g)	E.coli (MPN/g)	L. monocytogynes (log cfu/g)	S. aureus (log cfu/g)
control ^[1]	0	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	5	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	10	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	15	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	20	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	25	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	30	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
cin 0.5% ^[2]	0	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	5	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	10	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	15	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	20	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	25	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	30	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
cin 1.0% ^[3]	0	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	5	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	10	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	15	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ

ตารางที่ 10 ต่อ

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์				
		Coliform (MPN/g)	C. perfringens (log cfu/g)	E.coli (MPN/g)	L. monocytogynes (log cfu/g)	S. aureus (log cfu/g)
cin 1.0% ^[3]	20	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	25	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	30	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
eug 0.5% ^[4]	0	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	5	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	10	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	15	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	20	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	25	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	30	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
eug 1.0% ^[5]	0	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	5	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	10	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	15	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	20	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	25	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	30	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	< 3	ไม่พบ	< 3	ไม่พบ	ไม่พบ

[1] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ [2] [3] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก [4] [5] ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก

3.2 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ triangular test เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางด้านกลิ่นของตัวอย่างหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ด้านจุลินทรีย์ กับหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ที่เป็นชุดควบคุม โดยใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 15 คน โดยแต่ละคนจะต้องทดสอบในแต่ละตัวอย่างเป็นจำนวน 2 ครั้ง ซึ่งผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางที่ 11

ผลการทดสอบจากตารางพบว่าจากจำนวนที่ทำการทดสอบทั้งหมด 30 ครั้ง ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับตารางวิเคราะห์ระดับนัยสำคัญพบว่าตัวอย่างที่ทดสอบจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ก็ต่อเมื่อจะต้องมีจำนวนที่ตอบถูกต้องทั้งหมด 15 ครั้ง จากผลการทดลองที่ได้พบว่าผู้ทดสอบชิมสามารถแยกความแตกต่างของหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก กับตัวอย่างหมุยห่อชุดควบคุมซึ่งห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ ในขณะที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของหมุยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก ได้ ทั้งนี้เนื่องจากยูจินอลจะมีกลิ่นแรงกว่าซินนามาลดีไฮด์เมื่อเติมลงในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์แล้วนำไปห่อหมุยห่อผู้ทดสอบจึงสามารถแยกความแตกต่างได้ แสดงว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์มีความเหมาะสมกับการเป็นบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ในหมุยมากกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอล จากงานวิจัยของ Suppakul (2008) พบว่าผู้ทดสอบชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างของเนยแข็งที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเติมลินาลอลได้ตลอดอายุการเก็บ 6 สัปดาห์ ในขณะที่สามารถแยกความแตกต่างของเนยแข็งที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเติมเมทิลซาวิคอลได้บ้างในช่วงของอายุการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าผู้ทดสอบจะใช้เวลาก่อนข้างในการตัดสินใจเพื่อแยกความแตกต่างในระหว่างการทดสอบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ลินาลอลและเมทิลซาวิคอลในระดับความเข้มข้นต่ำๆ เป็นสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มด้านจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บเนยแข็งได้ แต่จากรายงานของ Ouattara *et al.* (2001) พบว่าผลคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของกุ้ง (*Penaeus* sp.) บรรจุห่อซึ่งเคลือบด้วยสารเคลือบโปรตีนที่เติมน้ำมันไทม์ (thyme oil) ผสมทรานซ์ซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.9 หรือ 1.8 มิลลิลิตรต่อ 100 กรัม มีผลคะแนนการยอมรับเรื่องกลิ่นน้อย นอกจากนี้

Mejlholm และ Dalgaard (2002) ได้รายงานไว้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันออริกานอล 0.05 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม สามารถยับยั้งการเก็บของชินปลาทอดได้โดยที่ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของกลิ่นได้ ในขณะที่วารุณี (2549) พบว่าผู้บริโภคไม่ชอบขนมชั้นสูตรที่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรซึ่งได้แก่ ตะไคร้ อบเชย และขิง เนื่องจากกลิ่นของสมุนไพรเป็นกลิ่นที่ไม่เข้ากับขนม

การเลือกใช้สารสกัดจากธรรมชาติโดยเฉพาะสารระเหยจะต้องพิจารณาเลือกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้และจะต้องพิจารณาถึงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารที่จะนำไปใช้ด้วย เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาเรื่องกลิ่นของตัวสารระเหยที่จะส่งผลต่อการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ triangular test ของหมูยห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

ชนิดบรรจุภัณฑ์	จำนวนผู้ทดสอบ (15 คน)	
	ตอบถูก	ตอบผิด
- ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก	5	25
- ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก	11	19
- ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก	19	11
- ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจีนอลร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก	23	7

2.2 การศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli* O157:H7 ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมูยอ

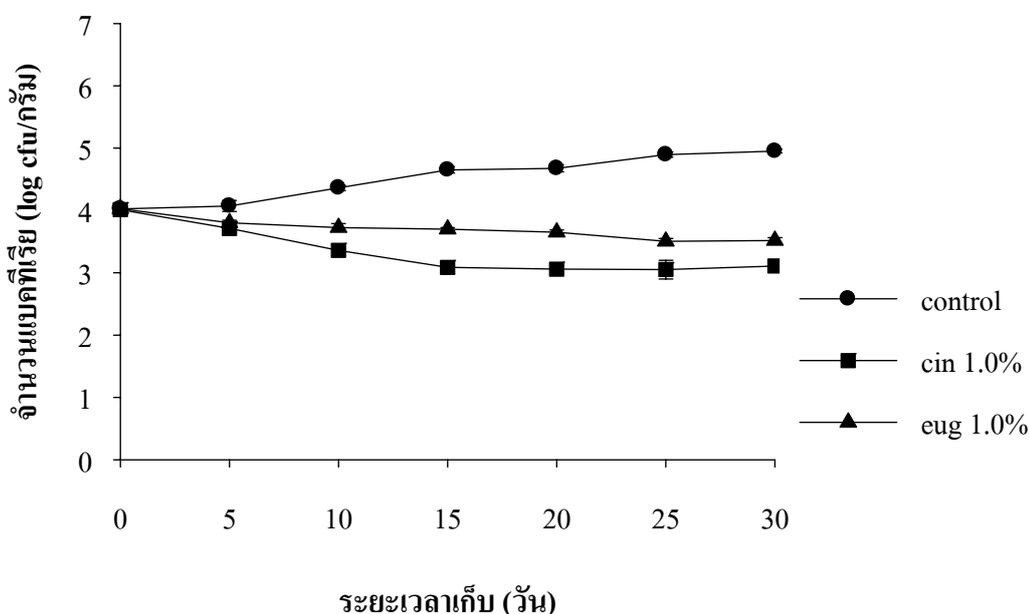
จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ โดยนำตัวอย่างหมูยอถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 ($4 \log \text{ cfu/กรัม}$) แล้วบรรจุในถุงฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ (ภาพที่ 27) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 ตรวจสอบเชื้อทุกวันที่ 0 5 10 15 20 25 และ 30 และเก็บที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างตรวจสอบเชื้อทุกวันที่ 1 2 3 5 7 10 และ 15



ภาพที่ 27 หมูยอถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* บรรจุในถุงฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์

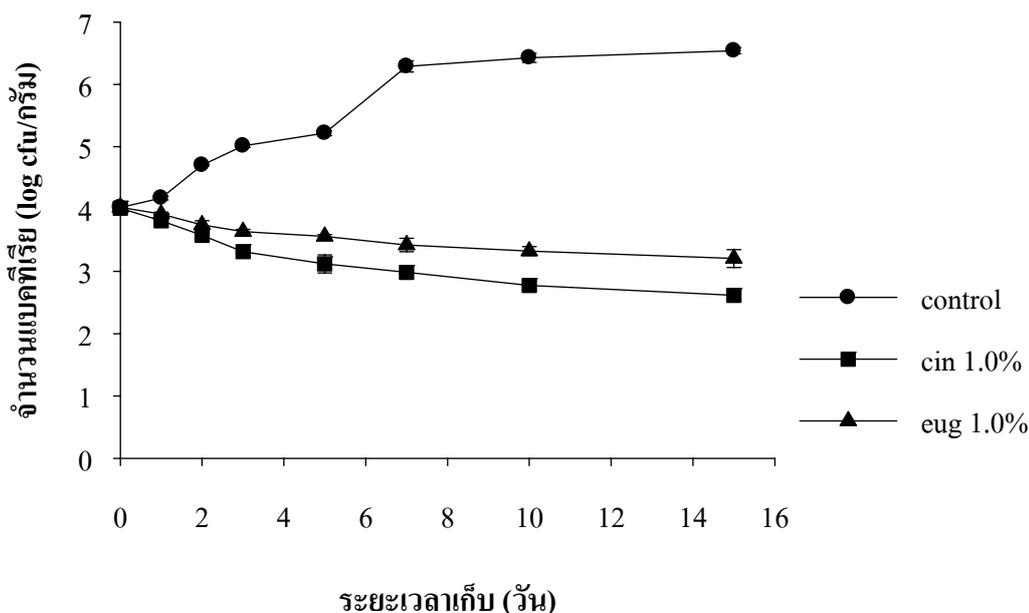
จากผลการทดลองที่ได้พบว่าหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์และถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* ลงไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ในขณะที่หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ซึ่งเป็นชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน มีปริมาณเชื้อเท่ากับ $4.95 \pm 0.03 \log \text{ cfu/กรัม}$ และหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ มีปริมาณเชื่อน้อยที่สุดคือมีค่าเท่ากับ $3.11 \pm 0.04 \log \text{ cfu/กรัม}$ รองลงมาคือหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมยูจินอล โดยมีจำนวนเชื้อเท่ากับ $3.52 \pm 0.05 \log \text{ cfu/กรัม}$ (ภาพที่ 28) หมูยอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มของ

การเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ลักษณะเดียวกันแต่อัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อของชุดควบคุมจะสูงกว่าเมื่อเทียบกับระยะเวลาการเก็บรักษาที่เท่ากัน ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นด้วย โดยปริมาณเชื้อของหมูยอชุดควบคุมที่ระยะเวลาการเก็บ 15 วัน มีค่าเท่ากับ 6.54 ± 0.05 log cfu/กรัม ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ของหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยที่ระยะเวลาการเก็บ 15 วัน มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 2.62 ± 0.08 และ 3.21 ± 0.14 log cfu/กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 29) จากรายงานการวิจัย Teresa *et al.* (2007) พบว่าแฮมที่ห่อด้วยฟิล์มที่เติมเอนเทอโรซิน (enterocin) บรรจุในสภาพวะบรรยากาศปกติมีจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* น้อยกว่าแฮมที่ห่อด้วยฟิล์มที่ไม่เติมเอนเทอโรซิน โดยพบว่าฟิล์มจากแอลจินเต (alginate) ซึ่งเติมเอนเทอโรซิน 2000 AU ต่อตารางเซนติเมตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดตลอดอายุการเก็บรักษา 8 วัน ในขณะที่การบรรจุภายใต้สภาวะสุญญากาศสามารถลดอัตราการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ตลอดอายุการเก็บรักษา 15 วัน และที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 29 วัน พบว่าฟิล์มซีน (zein) ที่เติมเอนเทอโรซิน 2000 AU ต่อตารางเซนติเมตร ควบคุมอัตราการเจริญของเชื้อ ได้ดีกว่าในฟิล์มแอลจินเต



ภาพที่ 28 การยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ

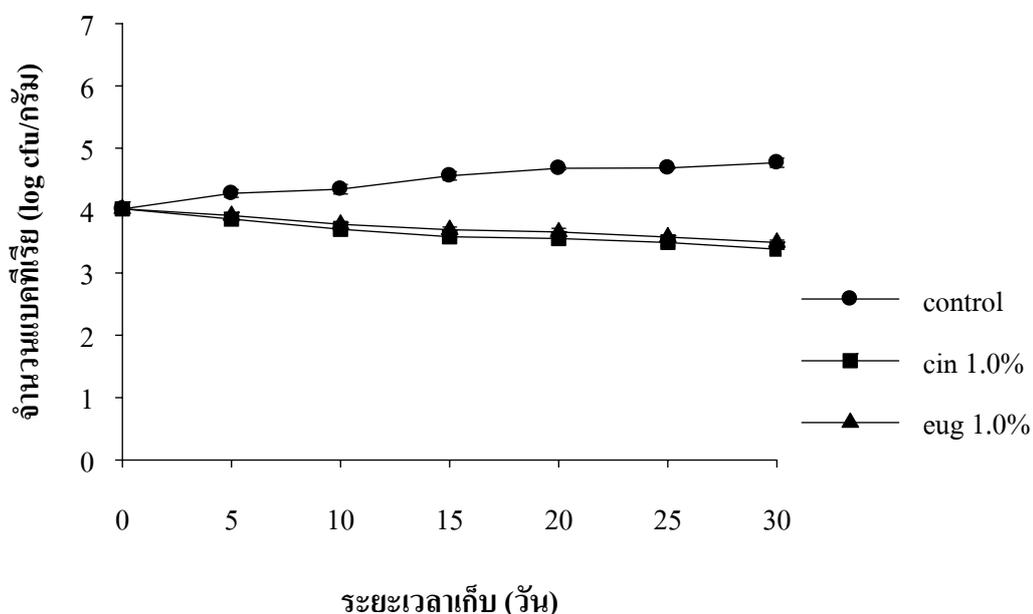
เคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 4±2 องศาเซลเซียส



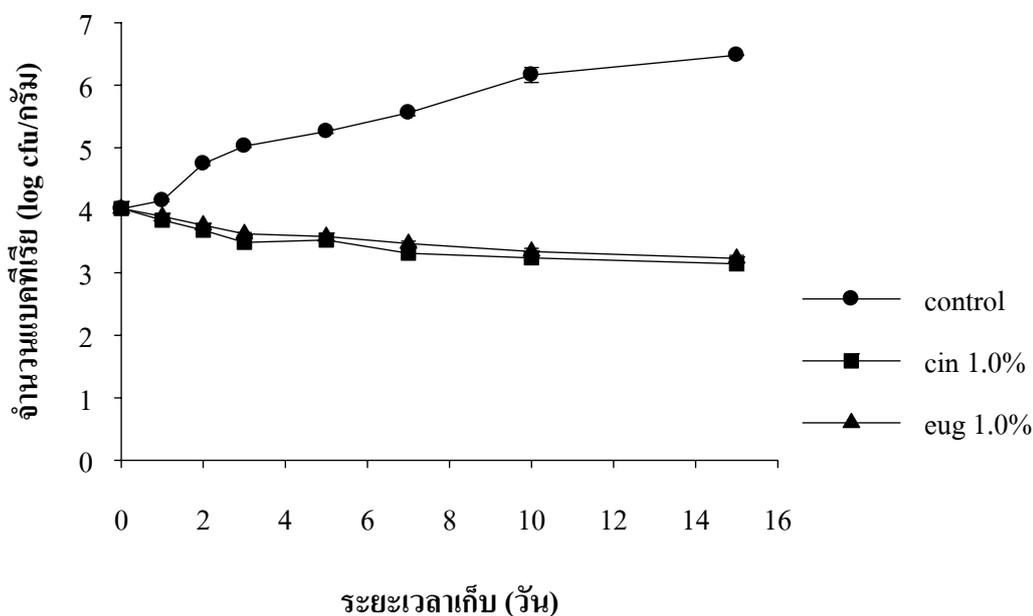
ภาพที่ 29 การยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 10±2 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาการยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 ของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ พบว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ดีกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์หุคควบคุม โดยที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4±2 องศาเซลเซียส พบว่าหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีจำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 ลดลงตลอดอายุการเก็บรักษาโดยที่ระยะเวลาการเก็บ 30 วันมีจำนวนเชื้อ เท่ากับ 3.38±0.08 และ 3.49±0.04 log cfu/กรัม ตามลำดับ ในขณะที่หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ที่

อายุการเก็บ 30 วันมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 4.77 ± 0.07 log cfu/ กรัม ซึ่งเพิ่มขึ้นจากจำนวนเชื้อที่ถ่ายลงไปในช่วงแรก (4 log cfu/กรัม) (ภาพที่ 30) และที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 มีปริมาณลดลง โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 3.14 ± 0.06 และ 3.23 ± 0.05 log cfu/ กรัม ตามลำดับ ในขณะที่หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์มีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยที่ระยะเวลาการเก็บ 15 วันมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 6.48 ± 0.01 log cfu/กรัม (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 30 การยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 2 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 31 การยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157: H7 ในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ (control) ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก (cin 1% และ eug 1.0%) ที่อุณหภูมิการเก็บ 10 ± 2 องศาเซลเซียส

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าเมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาพบว่าที่อุณหภูมิการเก็บรักษาสูงขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ของฟิล์มต้านจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากช่วงห่างของจำนวนเชื้อในหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิการเก็บที่ 10 ± 2 องศาเซลเซียส จะมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Suppakul (2008) ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* และ *E. coli* ในเนยแข็งของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเติมลินาโลลหรือเมทิลซาวิคอล ที่อุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีกว่าที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้อัตราการเคลื่อนย้ายมวลสารไปยังตัวอาหารสูงขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จึงมากขึ้น เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli*

O157: H7 ในหมูยอ ของฟิล์มด้านจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด พบว่าฟิล์มที่มีการเติมซินนามาลดีไฮด์จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าฟิล์มที่เติมยูจีนอล และพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ฉัชชา (2550) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมการด้านจุลินทรีย์ของซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอล โดยพบว่าซินนามาลดีไฮด์แสดงกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์สูงที่สุด โดยเฉพาะการต้านเชื้อ *L. monocytogenes* รองลงมาคือยูจีนอล

สิ่งสำคัญของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์คืออัตราการปลดปล่อยมวลสารของสารด้านจุลินทรีย์ไปสู่พื้นผิวอาหารจะต้องสัมพันธ์กับจลนพลศาสตร์ของอัตราการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย เพื่อที่จะควบคุมอัตราการเจริญของจุลินทรีย์นั้นๆ ในอาหารได้ (Han, 2003) ซึ่งจากผลการทดลองฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจีนอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลได้สัมพันธ์กับอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ได้ตลอดอายุการเก็บรักษา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และ 15 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 ± 2 องศาเซลเซียส

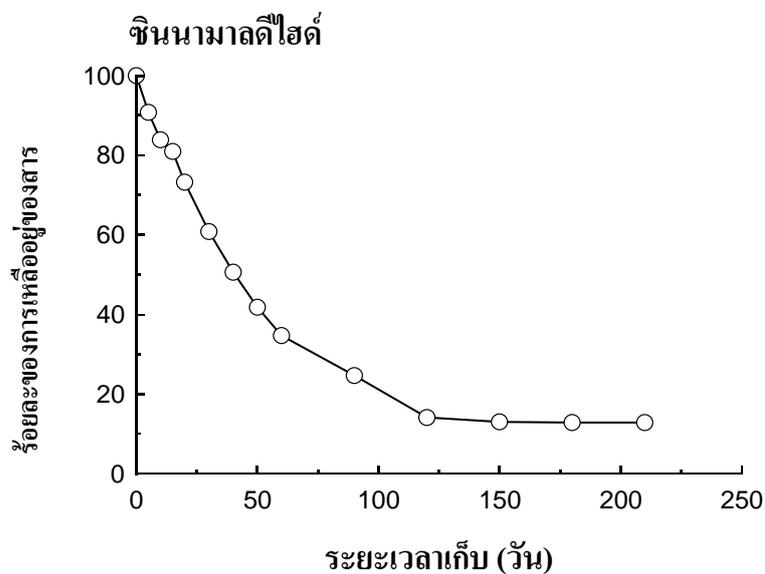
4. การศึกษาอายุการเก็บของฟิล์มด้านจุลินทรีย์

4.1 ปริมาณสารด้านจุลินทรีย์ที่เหลือในฟิล์ม

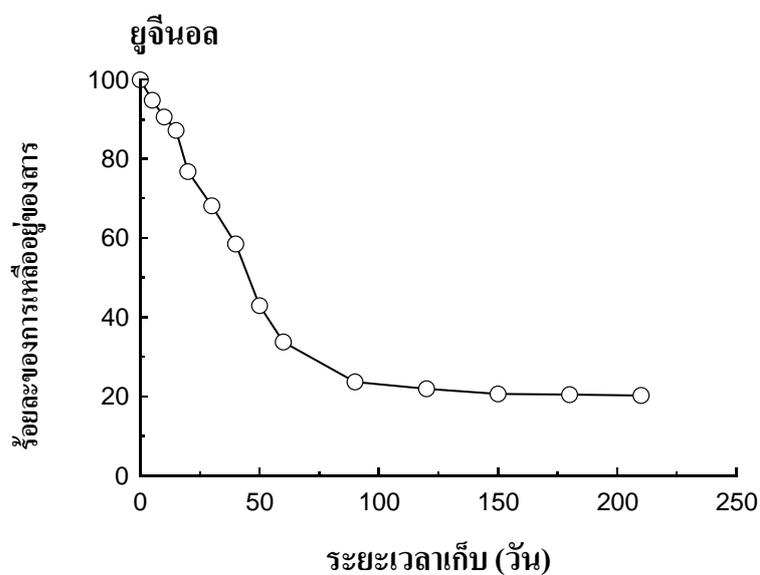
จากการศึกษาหาปริมาณของสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่เหลืออยู่ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส โดยสุ่มตัวอย่างมาตรวจทุกวันที่ 0 5 10 15 20 30 40 50 60 90 120 180 และ 210 ซึ่งปริมาณการเหลืออยู่ของสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลแสดงดังภาพที่ 32 และ 33

ผลการทดลองที่ได้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์จะลดลงโดยในช่วงแรกปริมาณสารจะลดลงอย่างรวดเร็วและเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ในที่สุด โดยปริมาณร้อยละการเหลืออยู่ของยูจีนอลที่สภาวะคงที่จะมากกว่าซิน

นามาคีไฮด์ โดยปริมาณยูจีนอลจะเหลืออยู่ร้อยละ 20.23 และซินนามาลดีไฮด์เหลืออยู่ร้อยละ 12.89 ซึ่งคิดเป็นปริมาณสารที่เหลืออยู่ในฟิล์มได้เท่ากับร้อยละ 0.17 และ 0.11 ตามลำดับ

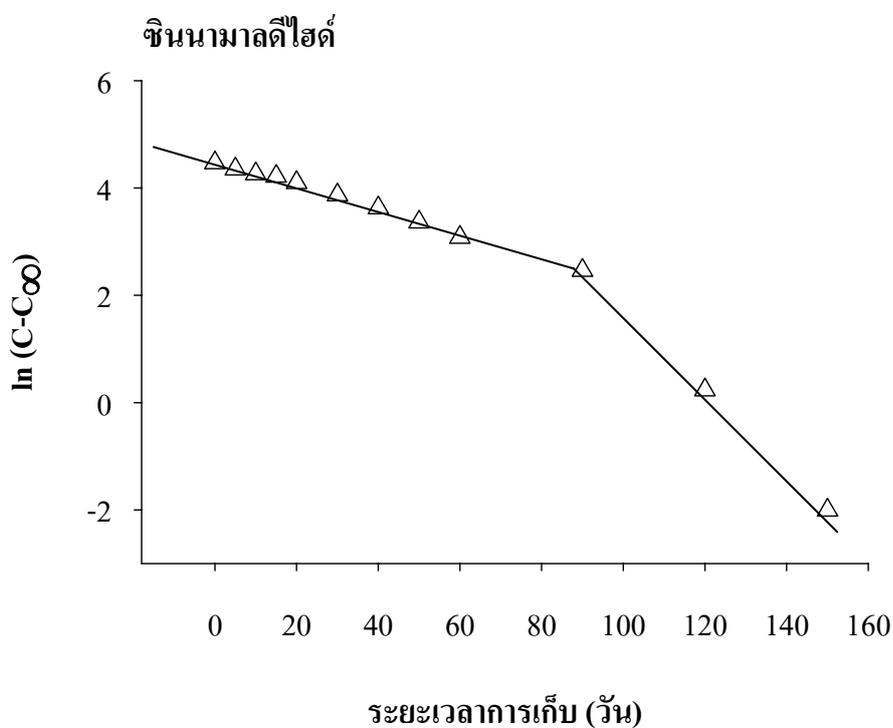


ภาพที่ 32 ร้อยละการเหลืออยู่ของซินนามาลดีไฮด์ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ

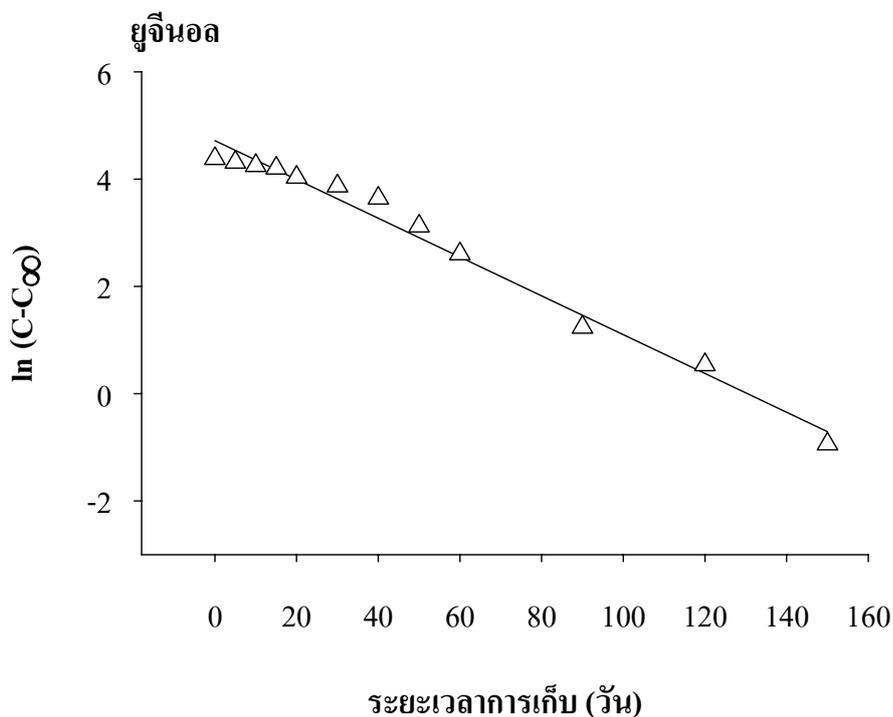


ภาพที่ 33 ร้อยละการเหลืออยู่ของยูจีนอลในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ

เมื่อนำข้อมูลปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลที่เหลืออยู่ในฟิล์ม ณ ช่วงเวลาต่างๆ มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณสารที่เหลืออยู่ ณ เวลาใดๆ ด้วยปริมาณสารที่เหลืออยู่ ณ สภาวะคงที่ (C_{∞}) ดังภาพที่ 34 และ 35 จากความชันที่ได้จากกราฟ (rate constant, k) สามารถคำนวณหาเวลาที่ปริมาณเริ่มต้นของซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลลดลงครึ่งหนึ่ง (half-life) ซึ่งจากการทดลองพบว่าปริมาณซินนามาลดีไฮด์จะลดลงครึ่งหนึ่งที่ประมาณ 54 วัน ในขณะที่ยูจินอลอยู่ที่ประมาณ 46 วัน



ภาพที่ 34 ความสัมพันธ์ของ $\ln(C - C_{\infty})$ ของซินนามาลดีไฮด์ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ



ภาพที่ 35 ความสัมพันธ์ของ $\ln(C-C_{\infty})$ ของยูจีนอลในฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ

4.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ของฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ด้านจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 210 วัน

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ด้านจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 210 วัน พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ของฟิล์มที่มีการเติมสารทั้งสองชนิดมีน้อยมาก ซึ่งดูได้จากค่าดัชนีการต้านเชื้อ (ตารางที่ 12) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากปริมาณซึนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่เหลืออยู่ในฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์มีปริมาณเพียงร้อยละ 0.11 และ 0.17 โดยน้ำหนักตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจากรายงานของ ฉัชชา (2550) ซึนามาลดีไฮด์มีค่า MIC สำหรับเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 เท่ากับ 6.25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ยูจีนอลมีค่าเท่ากับ 12.5 และ 25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากร้อยละการเหลืออยู่ของซึนามาลดีไฮด์และยูจีนอลในฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ของฟิล์ม

เซลล์โลสทีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ จะอยู่ที่ระยะเวลาการเก็บประมาณ 20 วัน (ปริมาณสารเหลืออยู่ในฟิล์มร้อยละ 0.66 โดยน้ำหนัก)

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของฟิล์มเซลล์โลสทีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจีนอล ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์					
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ¹ (มิลลิเมตร)		ดัชนีการ ต้าน จุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)		ดัชนีการ ต้าน จุลินทรีย์
	ตัวควบคุม	ซินนามาลดีไฮด์		ตัวควบคุม	ยูจีนอล	
<i>L. monocytogenes</i>	2.65±0.12	2.52±0.15	0.05	2.47±0.16	2.45±0.09	0.01
<i>E. coli</i> O157: H7	3.22±0.13	3.17±0.05	0.02	3.55±0.21	3.57±0.14	0.00

ในขณะที่ฟิล์มเซลล์โลสทีเทอร์เดิมยูจีนอลพบว่าปริมาณสารที่เติมในฟิล์มไม่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7 ได้ ดังนั้นจะต้องมีการเติมยูจีนอลในฟิล์มเซลล์โลสทีเทอร์ในขั้นของการขึ้นรูปให้มีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้มีปริมาณสารเพียงพอต่อค่า MIC ของเชื้อที่ต้องการยับยั้ง

4.3 สมบัติเชิงแสง

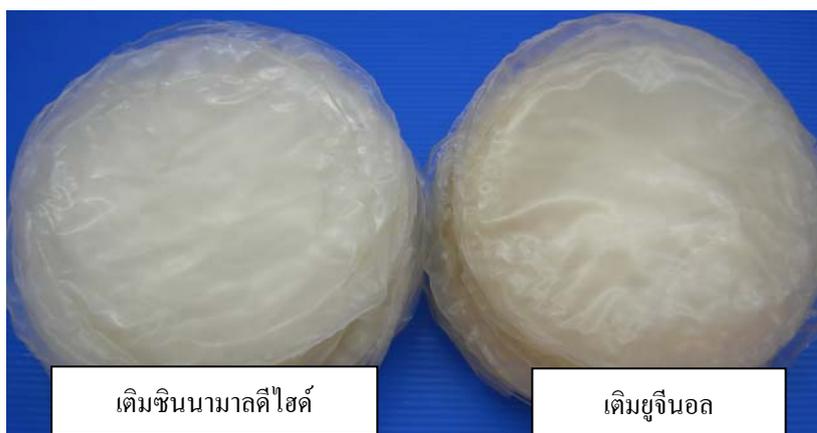
ผลการศึกษาสมบัติเชิงแสงของฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างกันได้ผลแสดงดังตารางที่ 13 จากผลที่ได้พบว่าความโปร่งใสของฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่เติมสารซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอล ตลอดระยะเวลาการเก็บมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 22.19±0.19 ถึง 23.04±0.27 ต่อมิลลิเมตร ซึ่ง Shaw *et al.* (2002) ศึกษาผลของน้ำมันถั่วเหลือง (soya oil) ต่อสมบัติเชิงแสงของฟิล์มโปรตีนจากหางนม พบว่าน้ำมันถั่วเหลืองทำให้ความทึบแสง (opacity) ของฟิล์มเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 13 ค่าความโปร่งใสของฟิล์มด้านจูลินทรีย์ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (วัน)	ค่าความโปร่งใสของฟิล์มด้านจูลินทรีย์	
	ซินนามาลดีไฮด์	ยูจินอล
0	23.10 ^c ±0.12	23.04 ^c ±0.27
5	23.08 ^c ±0.16	23.02 ^c ±0.12
10	22.98 ^c ±0.20	22.94 ^c ±0.21
15	22.75 ^b ±0.15	22.75 ^b ±0.17
20	22.68 ^b ±0.09	22.62 ^b ±0.05
30	22.65 ^b ±0.12	22.57 ^b ±0.07
40	22.62 ^b ±0.10	22.64 ^b ±0.08
50	22.20 ^a ±0.23	22.19 ^a ±0.19
60	22.24 ^a ±0.23	22.39 ^a ±0.15
90	22.30 ^a ±0.10	22.26 ^a ±0.10
120	22.20 ^a ±0.23	22.19 ^a ±0.14
150	22.26 ^a ±0.13	22.24 ^a ±0.27
210	22.28 ^a ±0.13	22.20 ^a ±0.12

หมายเหตุ ตัวอักษร (a b c.) ที่ต่างกัน ในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาลักษณะปรากฏของฟิล์มด้านจูลินทรีย์ที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 210 วัน (ภาพที่ 36) พบว่าฟิล์มด้านจูลินทรีย์จากสารทั้งสองชนิดจะมีสีเหลืองน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์มด้านจูลินทรีย์ที่ขึ้นรูปใหม่ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในบรรยากาศ และพบว่าฟิล์มด้านจูลินทรีย์ที่เติมยูจินอลจะมีสีน้ำตาลแดงมากกว่าฟิล์มด้านจูลินทรีย์ที่เติมซินนามาลดีไฮด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยูจินอลที่เติมในฟิล์มจะมีสีออกน้ำตาลแดงเล็กน้อยจึงทำให้มีผลต่อสีของฟิล์มที่ขึ้นรูปได้



ภาพที่ 36 फिल्मเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 210 วัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการศึกษากลไกการปลดปล่อยมวลสารด้านจูลินทรีย์ ได้แก่ ซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลออกจากฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์ไปสู่สารทำละลายนอร์มัลเฮกเซน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของซินนามาลดีไฮด์ที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.22×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที 2.70×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที และ 4.25×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของยูจินอลที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.59×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที 3.10×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที และ 6.36×10^{-14} ตารางเมตรต่อวินาที ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารด้านจูลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของยูจินอลจะมีค่ามากกว่าซินนามาลดีไฮด์ในทุกอุณหภูมิที่ทำการทดสอบ และเมื่อคำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์สำหรับการแพร่พบว่าค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของซินนามาลดีไฮด์มีค่าเท่ากับ 20.88 จูลต่อโมล และของยูจินอลมีค่าเท่ากับ 30.91 จูลต่อโมล

2. จากการประยุกต์ใช้ฟิล์มเซลล์โลสอีเทอร์ด้านจูลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์หมุยอ โดยใช้ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอล ร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก และฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์ (ฟิล์มควบคุม) ห่อหมุยอเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส และศึกษาคุณภาพของหมุยอในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.1 คุณภาพทางกายภาพด้านสีพบว่าหมุยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าความแตกต่างของสี (ΔE) เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น โดยค่าความแตกต่างของสีของหมุยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลล์โลสอีเทอร์เดิมยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีค่าความแตกต่างของสีมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 3.78 ± 0.68

2.2 คุณภาพทางเคมี พบว่าค่าพีเอชของหมูยอมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น โดยหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอล มีค่าพีเอชตลอดอายุการเก็บ 35 วัน น้อยกว่าหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มควบคุม โดยมีค่าอยู่ในช่วง 5.75 ± 0.11 ถึง 6.09 ± 0.08 และพบว่าหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลมีค่า TBA น้อยกว่าหมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ตลอดอายุการเก็บรักษา โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.36 ± 0.49 ถึง 4.37 ± 0.49 มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อกรัม ที่อายุการเก็บ 35 วัน

2.3 คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ พบว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์ด้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในหมูยอได้ โดยหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอลร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก สามารถเก็บรักษาได้นาน 35 วัน ในขณะที่หมูยอห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเคลือบเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ หรือยูจินอล ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก สามารถเก็บรักษาได้นาน 30 วัน

3. คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างของหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมยูจินอลร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก กับหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มควบคุมได้ ในขณะที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของหมูยอที่ห่อด้วยฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์ได้

4. การศึกษาอายุการเก็บของฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจินอล ร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บ 210 วัน ปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจินอลเหลืออยู่ในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ร้อยละ 0.11 และ 0.17 ตามลำดับ ซึ่งทำให้ฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เติมซินนามาลดีไฮด์หรือยูจินอล สูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157: H7

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหารต้องเลือกผลิตภัณฑ์อาหารและชนิดและความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกันทั้งนี้เพื่อให้มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น
2. การศึกษาการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ไปสู่อาหารจำลอง ควรเลือกทดสอบกับอาหารจำลองที่เหมาะสม เมื่อนำไปใช้ทดสอบกับตัวอาหารจริงๆจะได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำ ทั้งนี้เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีส่วนประกอบที่แตกต่างกันออกไป
3. จากการศึกษาเป็นการเตรียมฟิล์มในห้องปฏิบัติการซึ่งขึ้นรูปด้วยวิธีการหล่อ จึงควรมีการพัฒนาวิธีการผลิตฟิล์มเพื่อนำไปใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม เช่น การอัดรีด เพื่อให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีความหนาสม่ำเสมอ ผลิตได้ปริมาณมาก และใช้เวลาในการผลิตน้อย
4. ควรศึกษาการใช้สารต้านจุลินทรีย์ 2 ชนิด ร่วมกันในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์ เพื่อจะได้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่มีคุณภาพและประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2548. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ (295) พ.ศ. 2548 เรื่อง การกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของภาชนะบรรจุที่ทำจากพลาสติก.

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2550. การบรรจุอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท เอส.พี.เอ็ม. การพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ณัชชา แสนละเอียด. 2550. ประสิทธิภาพของฟิล์มทางการบรรจุด้านจุลินทรีย์ซึ่งมีสารสกัดจากพืชต่อการยับยั้งจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นฤมล นิติมงคลชัย. 2543. การใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยเป็นสารป้องกันเชื้อราในผลิตภัณฑ์ทุเรียนกวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิธิยารัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. พิมพ์ที่โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

บุษกร อุตระกษาคติ. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภารกิจเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปิยะฉัตร ใจเอื้อ. 2545. ผลการปรับสภาพบรรยากาศต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของหมุยอ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ปุ่น คงเจริญเกียรติ และสมพร คงเจริญเกียรติ. 2541. บรรจุภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ชัยเสงจำกัด, กรุงเทพฯ.

ภาณุวัฒน์ สรรพกุล. 2547. การบรรจุอาหารแบบต่อต้านจุลินทรีย์. วารสารบรรจุภัณฑ์ไทย
ตุลาคม-ธันวาคม: 33-39.

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์สห
มิตรออฟเซต, กรุงเทพฯ.

รัชณี เจริญ. 2545. การศึกษาการแพรวิตามินในฟิล์มบริโกลไคและการประยุกต์ใช้ในแบบจำลอง
ของอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. พิมพ์ที่ไอ
เอสพริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

สิริพร สชนเสาวภาคย์. 2538. เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร ตอนที่ 1 :
อุบัติการณ์ของเชื้อในอาหาร. วารสารอาหาร 1: 1-7.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2539. มาตรฐานผลิตภัณฑ์หมุยอ. มอก. 1346-2539.

ศรัณยา จงอรุณทัพรังมี และ อมรรัตน์ สิ้นธุ์เจริญ. 2547. การยืดอายุการเก็บรักษาหมุยอโดยวิธี
บรรจุภายใต้สภาพปรับบรรยากาศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระ
จอมเกล้าธนบุรี.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

สาริตา มหศักดิ์ และ สุชาดา มุกดา. 2548. การขยายอายุการเก็บหมุยอโดยการใช้รีทอร์ทเพาซ์.
วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ

สมอ. 2529. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมภาชนะพลาสติกและฟิล์มพลาสติกสำหรับบรรจุ
ไขมันและน้ำมันบริโภค. มอก. 654-2529. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

ศิวพร ศิวเวช. 2542. การศึกษาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนุชิตา ชาวเหนือ. 2534. การยืดอายุการเก็บหมุยอโดยวิธีการบรรจุภายใต้สภาพปรับบรรยากาศ.
วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Andersson, A., U. Ronner and P.E. Granum. 1995. What problems does the food industry have
with the spore forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*. **Int. J.
Food Microbiol.** 28: 145-156.

Appendini, P. and J.H. Hotchkiss. 2002. Review of antimicrobial food packaging. **Innov. Food
Sci. Emerg. Technol.** 3: 113-126.

ASTM International. 2003. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials
E 96-00. **Annual Book of ASTM Standards** 04.06: 842-849. American Society for
Testing and Materials International.

_____. 2006. Standard Test Methods for Transparency of Plastic Sheeting D 1746-03. **Annual
Book of ASTM Standards** 08.01: 425-428. American Society for Testing and
Materials International.

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.

Ayranci, E., B.S. Buyuktas and E.E.Cetin. 1997. The effect of molecular weight of constituents
on properties of cellulose-based edible films. **LWT.** 30: 101-104.

- Baker, R.W. 1987. **Controlled release of Biologically Active Agents**. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Baldwin, E.A., M.O. Nisperos, X. Chen and R.D. Hagenmaier. 1996. Improving storage life of apple and potato with edible coating. **Postharvest Biol. Technol.** 9: 151-163.
- Boureois, C.M. and J.Y. Leveau. 1995. **Microbiological Control for Food and Agricultural Product**. New York.
- Buonocore, G.G., M. Sinigaglia, M.R. Corbo, A. Bevilacqua, E.L. Notte, E.L. and M.A.D. Nobile. 2004. Controlled release of antimicrobial compounds from highly swellable polymer. **J. Food Prot.** 67: 1190-1194.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 223-253.
- Calvert, P.D. and N.C. Billingham. 1979. Loss of additive from polymer: a theoretical model. **J. Appl. Polym. Sci.** 24: 357-370.
- Chang, S.T., P.F. Chen and S.C. Chang. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. **J. Ethnopharmacol.** 77: 123-127.
- Chatwin, P. C. 1996. Mathematical modeling, pp. 26-50. In Katan, L. L., ed. **Migration from Food Contact Materials**. Blackie Academic & Professional: London.
- Cooksey, K. 2000. Utilization of antimicrobial packaging films for inhibition of selected microorganisms. pp. 17-25. In S. Risch, ed. **Food Packaging: Testing Methods and Applications**. Washington, D.C.

- Crank, J. 1975. **Mathematics of Diffusion**. 2nd ed. Oxford University Press, London.
- Crosby, N.T. 1981. Migration-Theoretical aspects, pp 106-122. In N.T. Crosby ed. **Food Packaging Material: aspects of analysis and migration of contaminants**. Applied Science publishers, London.
- 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.
- Del Nobile, M., A Conte, A.L. Incoronato and O. Panza. 2008. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. **J. Food Eng.** 89: 57-63.
- Donhowe, I. G. and O. Fennema. 1993. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. **J. Food Proc. Preserv.** 17: 247-257.
- 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
- Fennema, O.R. 1996. **Food Chemistry**. 3rd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Forsythe, S.J. 2000. **The Microbiology of Safe Food**. Blackwell Science, New York.
- Franklin N.B., K.B. Cooksey and J.K. Getty Kelly. 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.

- 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. Marin. 2003. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oil against fungi commonly causing deterioration of bakery products. **J. Appl. Microbiol.** 94: 893-899.
- Han, J.H. 2000. Antimicrobial food packaging. **Food Technol.** 54: 56-65.
- Han, J.H. 2003. Antimicrobial food packaging, pp. 50-70. *In* R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Techniques**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge.
- 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.
- Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology**. Chapman and Hall, New York.
- Jay, J.M. 2000. **Modern Food Microbiology**. 6th ed. Aspen Publishers, Inc., Maryland, USA.
- Karapinar, M. and S.E. Aktug. 1987. Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. **Int. J. Food Microbiol.** 4: 161-166.
- Kim, H.O., S.W. Park and H.D. Park. 2004. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. **Food Microbiol.** 21: 105-110.

- Kim, J., M.R. Marshall and C.I. Wei. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **J. Agric. Food Chem.** 43: 2839-2845.
- Kim, Y.M., H.D. Paik and D.S. Lee. 2002. Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. **J. Sci. Food Agric.** 82: 247-254.
- Koelsch, C. 1994. Edible water vapor barriers: properties and promise. **Trends Food Sci. Technol.** 5: 76-81.
- Krumel, K.L. and T.A. Lindsay. 1976. Nonionic cellulose ether. **Food Technol.** 30: 36-43.
- Labbe, R.G. and V.K. Juneja. 2001. *Clostridium perfringens*, pp. 55-60. In H. Riemann and F.L. Bryan, eds. **Food Borne Infection and Intoxications**. Academic Press, New York.
- Lee D.S., C.H. Lee, D.S. An, S.C. Lee and H.J. Park. 2003. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and α -tocopherol. **J. Food Eng.** 62: 323-329.
- Lim, L. T. and M.A. Tung. 1997. Vapor pressure of allyl isothiocyanate and its transport in PVDC/PVC copolymer packaging film. **J. Food Sci.** 62:1061-1066.
- Mahmoud, A.L.E. 1994. Antifungal action and antiaflatoxic properties of some essential oil constituents. **Lett. Appl. Microbiol.** 19: 110-113.
- Marcos, B., T. Aymerich, J.M. Monfort and M. Garriga. 2007. Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham. **Int. J. Food Microbiol.** 120: 152-158.

- Masuda, S., Y. Har-Kudo and S. Kumagai. 1998. Reduction of *E. coli* O157: H7 populations in soy sauce, afermented seasoning. **J. Food Prot.** 61: 657-661.
- Mejlholm, O. and P. Dalgaard. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. **Lett. Appl. Microbiol.** 34: 27-31.
- Ming, X., G.H. Weber, J.W. Ayres and W.E. Sandine. 1997. Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. **J. Food Sci.** 62: 413-415.
- Moleyar, V. and P. Narasimham. 1992. Antibacterial activity of essential oil components. **Int. J. Food Microbiol.** 16: 337-342.
- 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: 247-256
- Natrajan, N. and B.W. Sheldon. 2000. Efficacy of nisin-coated polymer films to inactivate *Samonella* Typhimurium on fresh broiler skin. **J. Food Prot.** 63: 1189-1196.
- Naylor, T.de V. 1989. Permeation properties, pp 643-668. In C. Booth and C. Price ed. **Comprehensive polymer science**, Vol. 2. Pergamon, Oxford.
- Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coating and films based on polysaccharides, pp. 305-335. In J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nispers-Carrido ed. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality.** Technomic, Pennsylvania.

Novak, J.S. And V.K. Juneja. 2002. Clostridium perfringens: Hazard in new generation food.

Innovative Food Sci Technol. 3: 127-132.

Ozdemir, M. and J.D. Floros. 2004. Active food packaging technologies. **CRC Crit. Rev. Food**

Sci. Nutr. 44: 185-193.

Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Begin and R.A. Holley. 2000a. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **Int. J. Food Microbiol.** 62: 139-148.

_____. 2000b. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. **J. Food Sci.** 65: 768-773.

Ouattara B., S.F. Sabato and M. Lacroix. 2001. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). **Int. J. Food Microbiol.** 68: 1-9.

Park, H.J., M.S. Chinnan and R.L. Shewfelt. 1994. Edible corn-zein film coatings to extend storage life of tomatoes. **J. Food Proc. Preserv.** 18: 317-331.

Pauli, A. and K.H. Kubeczka. 1996. Evaluation of inhibitory data of essential oil constituents obtained with different microbiological testing methods, pp. 33-36. *In* **Essential Oils: Basic and Applied Research.** Ch. Franz, A. Mathe, G. Buchbauer, eds. Proceedings of the 27th International Symposium on Essential Oils, Allured Publishing Corporation.

Peppas, N.A. 1985. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymer. **Pharm. Act. Helv.** 60: 110-111.

- Peppas, N.A. and D.J. Am Ende. 1997. Controlled release of perfumes from polymer. II. Incorporation and release of essential oils from glassy polymer. **J. Appl. Polym. Sci.** 66: 509-513.
- Pothakamury, U.R., G.V. Barbosa-Canovas. 1995. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends Food Sci. Technol.** 61: 397-406.
- Quintavalla, S. and L. Vicini. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Sci.** 62: 373-380.
- Ray, B. 1992. Nisin of *Lactococcus lactis* spp. *lactis* as a food biopreservative, pp. 207-264. In B. Ray, and M. daeschel eds. **Food Biopreservatives of Microbial Origin**. Boca Raton, Florida, USA.
- Redl, A., N. Gontard and S. guilbert. 1996. Determination of sorbic acid diffusivity in edible wheat gluten and lipid base films. **J. Food Sci.** 61: 116-120.
- Risch, S. J. 2000. **Food Packaging Testing Method and Application**. American Chemical society, Washington, DC
- Sebti, I., F. Ham-Pichavant and V. Coma. 2002. Edible bioactive fatty acid-cellulosic derivative composites used in food-packaging application. **J. Agric. Food Chem.** 50: 4290-4294.
- Shaw, N. B., F. J. Monahan, E.D. O'riordan and M. O'Sullivan. 2002. Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composites WPI films. **J. Food Eng.** 51: 299-304.
- 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. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.** 4: 505-509.

- Siragusa, G.R., C. N. Cutter and J.L. Willett. 1999. Incorporation of bacteriocin in plastic retains activity and inhibits surface growth of bacteria on meat. **Food Microbiol.** 16: 229-235.
- Smith-Palmer, A., J. Stewart and L. Fyfe. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Lett. Appl. Microbiol.** 26: 118-122.
- Stephen, A.M. 1995. **Food polysaccharides and their application.** Marcel, Inc., Newyork.
- Suppakul, P. 2004. **Study of antimicrobial packaging film containing basil extract.** PhD Thesis, Victoria University, Melbourne, Australia.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S.W. Bigger. 2003a. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **J. Food Sci.** 68: 408-420.
- _____. 2003b. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. **J. Agric. Food Chem.** 51: 3197-3207.
- _____. 2006. Characterization of antimicrobial films containing basil Extracts. **Packag. Technol. Sci.** 19: 259-268.
- _____. 2008. Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. **LWT.** 41: 779-788.
- Thoroski, J., G. Blank and C. Biliaderis. 1989. Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus cereus*. **J. Food Prot.** 52: 399-403.

Turhan, K.N. and F. Sahbaz. 2004. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. **J. Food Eng.** 61: 459-466.

Vojdani, F. and J.A. Torres. 1990. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coating: effect of fatty acids. **J. Food Sci.** 55: 841- 846.

Wessling, C., T. Nielsen and L. Andres. 2000. The influence of α -tocopherol concentration on the stability of linoleic acid and the properties of low-density polyethylene. **Packag. Technol. Sci.** 13: 19-28.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การขึ้นรูปฟิล์มด้านจุนทรีย์

การเตรียมฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ต้านจุลินทรีย์

1. การเตรียมฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์ (ดัดแปลงจากวิธีของ Franklin *et al.* (2004))

วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องโฮโมจิไนเซอร์
2. เครื่องชั่ง
3. เพลทพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร
4. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. กระจกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

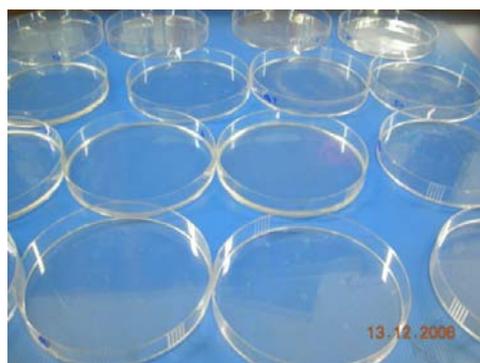
1. เมทิลเซลลูโลส
2. ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส
3. พอลิเอทิลีนไกลคอล-400
4. เอทานอล
5. ซินนามาลดีไฮด์
6. ยูจีนอล

วิธีการขึ้นรูปฟิล์ม

1. ละลายเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
2. เติมน้ำเอทานอล 200 มิลลิลิตร พอลิเอทิลีนไกลคอล-400 ปริมาณ 6 มิลลิลิตร และสารต้านจุลินทรีย์ (โดยน้ำหนัก) ลงไป จากนั้นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
3. ทิ้งไว้ให้ฟองอากาศหายไป เติมน้ำกลั่น 27 มิลลิลิตร ลงบนเพลทพลาสติกกลม

(เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร) ตั้งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. ลอกแผ่นฟิล์มออกจากถาดพลาสติก เก็บในตู้ควบคุมสถานะ ณ อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5



ภาพผนวกที่ ก1 ขั้นตอนการขึ้นรูปฟิล์มเซลล์โลสทีเทอร์ด้านจูลินทรีย์

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไธโอบาร์บิฐริก (Thiobarbituric Acid, TBA)

Shibata and Kinumaki (1979)

วัสดุและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองฝาเกลียว
2. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ปิเปต
4. หลอดเซนติฟิวส์
5. เครื่องเซนติฟิวส์
6. เครื่องชั่ง

สารเคมี

1. กรดไธโอบาร์บิฐริก (Thiobarbituric acid reagent; TBA reagent)
2. BHA
3. BHT
4. สารละลาย EDTA เข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
5. กรดไตรคลอโรอะซิติก
6. กรดไฮโดรคลอริก
7. โพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายกรดไธโอบาร์บิฐริก
 - ชั่งกรดกรดไธโอบาร์บิฐริก 1 กรัม ละลายใน 75 มิลลิลิตรของสารละลาย 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร
2. สารละลายกันหืน

- ชั่ง BHA 0.3 กรัม ละลายในโพรพิลีนไกลคอล 5.4 กรัม ผสมกับ BHT 0.4 กรัม ละลายใน Tween 20 4 กรัม

3. สารละลาย EDTA เข้มข้นร้อยละ 20

- ชั่ง EDTA 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเทใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก – กรดเกลือ

- เตรียมกรดไตรคลอโรอะซิติกร้อยละ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยชั่งกรดไตรคลอโรอะซิติก 25 กรัม ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

- เตรียมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 นอร์มัล โดยปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% w/w) 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

- นำสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกร้อยละ 25 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 นอร์มัล จำนวน 30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่เครื่องปั่น เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลา 2 นาที
2. ปีเปตสารละลายที่ได้ในข้อ 1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติมสารละลายกันหืน 3 หยด สารละลาย EDTA จำนวน 1 มิลลิลิตร สารละลายกรดไฮโอบาร์บิฐริก 3 มิลลิลิตร และ สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก – กรดเกลือ จำนวน 17 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. ใส่ก๊าซออกซิเจนบริเวณเนื้อสารละลายด้วยไนโตรเจน ปิดฝาเกลียวให้แน่น ต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที
4. ทำให้เย็นทันที จากนั้นเติมน้ำสารละลายคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องแยกเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
5. นำสารละลายส่วนที่ใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

การคำนวณ

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

- เมื่อ
- A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร
 - MW = น้ำหนักโมเลกุลของมาโลนอลดีไฮด์ มีค่าเท่ากับ 7.2
 - AM = Molar absorptivity index ของมาโลนอลดีไฮด์มีค่าเท่ากับ 1.56×10^5
 - X = dilution factor มีค่าเท่ากับ 10
 - W = น้ำหนักตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกิโลกรัม

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่าง

วัสดุและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. แท่งแก้วคน
3. เครื่องปั่น
4. พีเอชมิเตอร์

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 2 นาที
2. นำของเหลวที่ปั่นได้ในข้อ 1 ใส่บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ อ่านค่าที่ได้จากการวัด

การวิเคราะห์หาปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอล

วิเคราะห์หาปริมาณซินนามาลดีไฮด์และยูจีนอลที่เหลืออยู่ในฟิล์ม โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography, PERKIN ELMER) SPB-1 column ขนาดความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร หนา 0.25 ไมโครเมตร (ยี่ห้อ SUPEL CO)

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี
2. ชุดสกัดไขมัน
3. ทิมเบิล (thimble)
4. เตาหลุม
5. เครื่องชั่ง
6. ขวดสีชาสำหรับเก็บตัวอย่าง
7. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
8. กระจกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร
9. กระดาษกรอง เบอร์ 1

สารเคมี

1. ซินนามาลดีไฮด์
2. ยูจีนอล
3. ปีโตรเลียมอีเทอร์
4. แอลกอฮอล์

วิธีการทดลอง

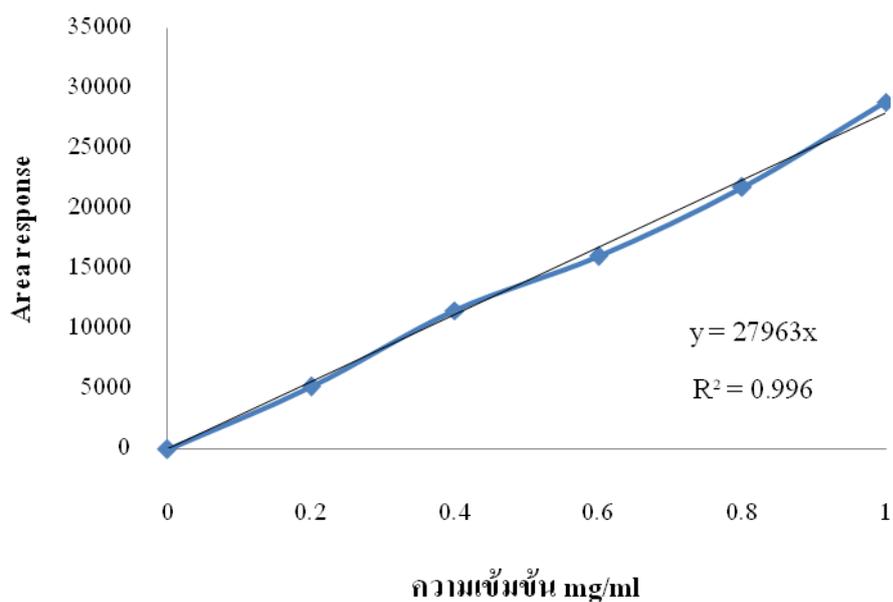
1. นำฟิล์มด้านจุลินทรีย์ที่เก็บไว้ที่ระยะเวลาต่างๆ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ในทิมเบิล จากนั้นต่อเข้ากับชุดสกัดไขมัน สกัดเป็นเวลา

18 ชั่วโมงโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวสกัด

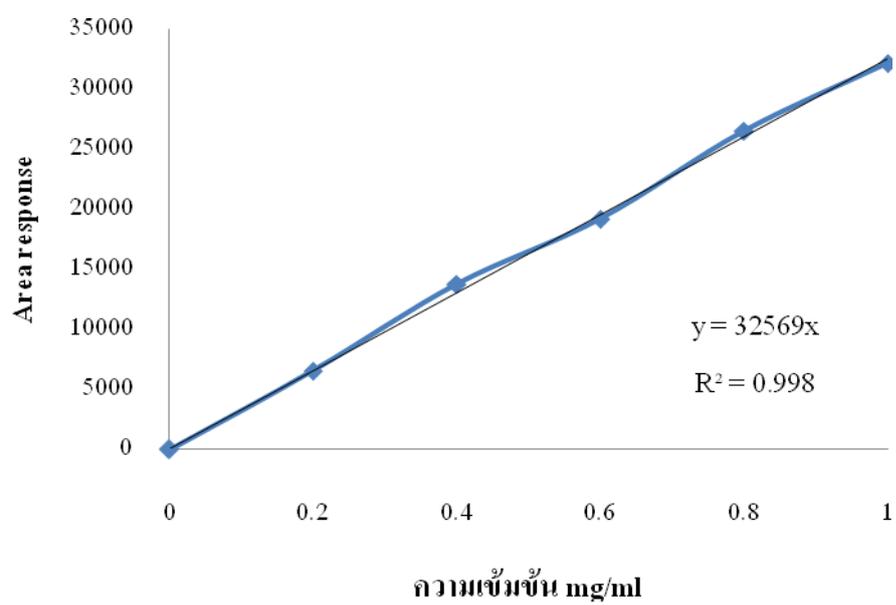
2. วัดปริมาณของปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เหลืออยู่ในขวดก้นกลม จดบันทึกปริมาณ และเก็บตัวอย่างสาร ไปค้นหาปริมาณซินนามาลดีไฮด์ และยูจินอล ที่สกัดได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ฉีดเท่ากับ 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 160 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที อุณหภูมิ injector เท่ากับ 220 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ detector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส โดยใช้ detector เป็นแบบ flame ionization detector (FID)



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของซินนามาลดีไฮด์



ภาพผนวกที่ ๒ กราฟมาตรฐานของยูจีนอล

ภาคผนวก ค

การวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่เคลื่อนย้ายออกจากฟิล์มต้านจุลินทรีย์สู่แบบจำลองอาหาร

การวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่เคลื่อนย้ายออกจากฟิล์มต้านจุลินทรีย์สู่แบบจำลองอาหาร

วัสดุและอุปกรณ์

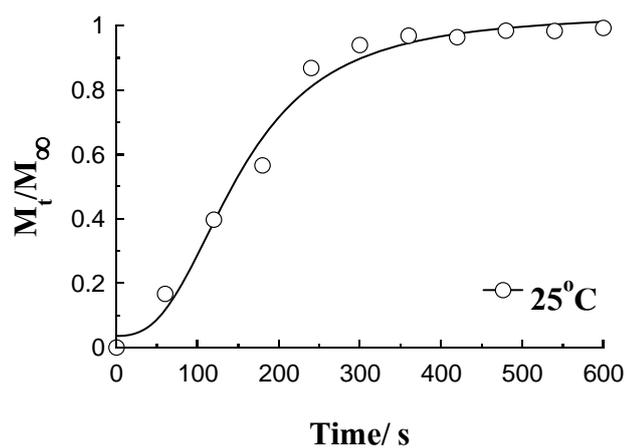
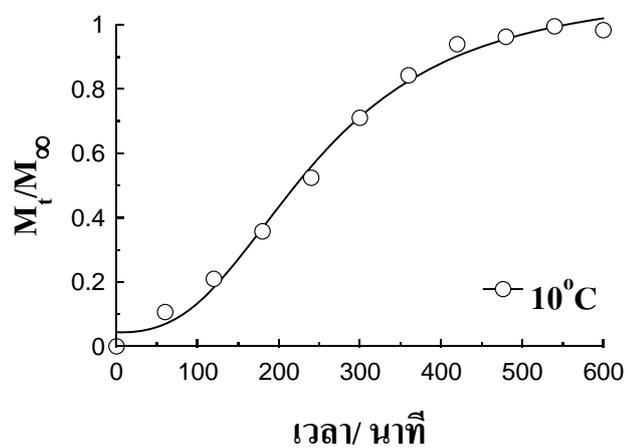
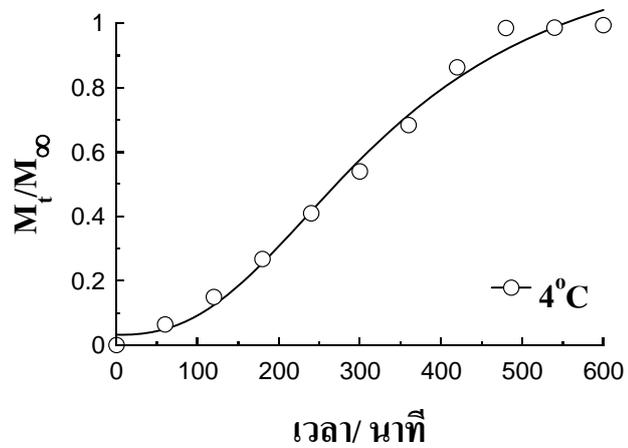
1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี
2. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้
3. ไมโครปิเปต
4. ขวดเก็บตัวอย่าง
5. กระจกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร
6. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

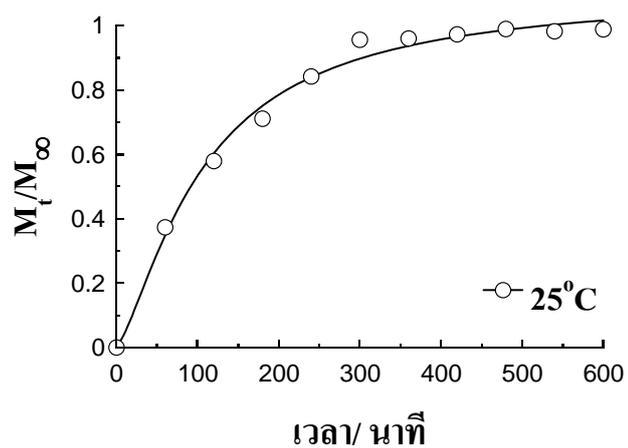
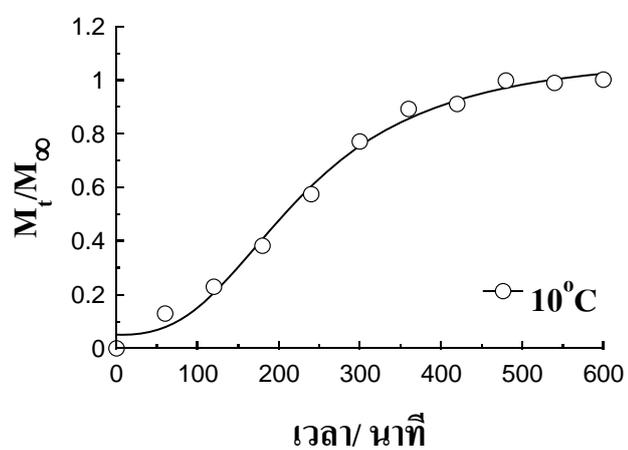
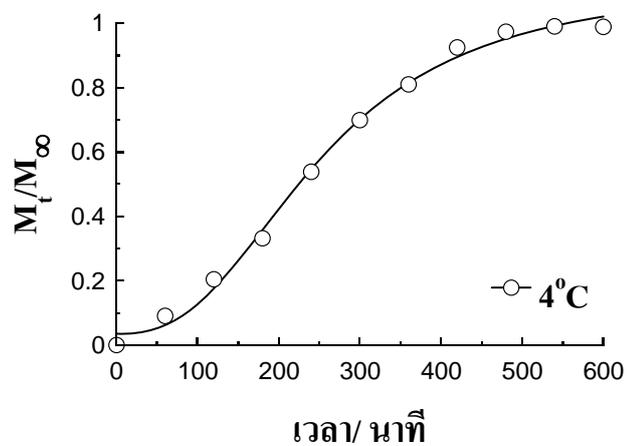
1. นอร์มัลเฮปเทน
2. ซินนามาลดีไฮด์
3. ยูจีนอล

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายฟิล์มต้านจุลินทรีย์ตามวิธีในภาคผนวก ก เทในเพลทพลาสติก (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) ปริมาตร 11 มิลลิเมตร ตั้งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำเพลทพลาสติกที่มีแผ่นฟิล์มติดอยู่ เติมสารละลายนอร์มัลเฮปเทน ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ปิดฝาเพลท แล้วนำไปวางในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ โดยใช้ความเร็วรอบ 30 รอบต่อนาที
3. สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 60 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารที่เคลื่อนย้ายออกมาจากฟิล์ม โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส



ภาพผนวกที่ ค1 การปลดปล่อยมวลของซินนามาลดีไฮด์ออกจากฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปแทนที่อุณหภูมิต่างๆ พร้อมเส้นแนวโน้ม



ภาพผนวกที่ ค2 การปลดปล่อยมวลของยูจีนอลออกจากฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตอ์ไปยังตัวทำละลายนอร์มัลเฮปแทนที่อุณหภูมิต่างๆ พร้อมเส้นแนวโน้ม

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1. การวัดปริมาณจุลินทรีย์

นำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่เตรียมไว้มาถ่ายลงในวุ้น นำจานเพาะเชื้อไว้ในตู้เพาะเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรีย และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ แล้วถ่ายจุลินทรีย์ลงในบรอก นำไปเพาะเชื้ออีกครั้ง ณ อุณหภูมิและเวลาที่กล่าวมาข้างต้น จากนั้นนำสารแขวนลอยจุลินทรีย์ที่ได้ปริมาณ 1 มิลลิลิตรหมუნเหยียงด้วยเครื่องหมუნเหยียงเป็นเวลา 2 นาที แล้วล้างตะกอนของเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ส่วนเหนือตะกอนแล้วล้างเซลล์อีกครั้ง จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่ผ่านการล้างเซลล์ปริมาณ 1 มิลลิลิตรเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร และเจือจางลง 10 เท่าจากแต่ละความเข้มข้น ตั้งแต่ 10^1 ถึง 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แล้วใช้ปิเปตถ่ายสารแขวนลอยจุลินทรีย์แต่ละความเข้มข้น ปริมาณ 1 มิลลิลิตรลงในแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป จากนั้นนำแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปไว้ในตู้เพาะเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของแบคทีเรีย และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการเจริญของยีสต์ แล้วนับปริมาณโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เจริญ (การเจือจางจะทำจนถึงระดับที่สามารถนับปริมาณจุลินทรีย์ได้ ระหว่าง 25-250 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

สูตรอาหาร Plate count agar

- Standard plate count agar		
- Yeast extract	2.5	กรัม
- Tryptone	5.0	กรัม
- Glucose	1.0	กรัม
- Agar	15.0	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 6.8 ± 0.2

วิธีการทดสอบ

ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปราคาจากเชื้อ เทสารละลายเปปโตน (peptone) เข้มข้นร้อยละ 0.1 225 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 นำไปตีปั่นด้วยเครื่องสโตมคเซอร์ (stomacher) เป็นเวลา 2 นาที ปิดตัวอย่างอาหารเจือจางที่ได้ในข้อ 1 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.1 จำนวน 9 มิลลิลิตร ทำจนกระทั่งได้ระดับของความเจือจางของเชื้อที่สามารถนับได้ ปิดตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหารที่เตรียมได้ลงในจานเพาะเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

3. การวิเคราะห์หาแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli*

สูตรอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Tryptose	20	กรัม
- Lactose	5	กรัม
- Sodium chloride	5	กรัม
- Lauryl sulfate sodium salt	0.1	กรัม
- Di-potassium hydrogen phosphate	2.75	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 6.8 ± 0.2

สูตรอาหาร EC broth (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Peptone	20.0	กรัม
- Lactose	5.0	กรัม
- Bile salt mixture	1.5	กรัม
- Sodium chloride	5.0	กรัม
- Di potassium hydrogen phosphate	1.5	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 6.8±0.2

สูตรอาหาร Eosin methylene blue agar (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Lactose	5.0	กรัม
- Peptone	10.0	กรัม
- Sucrose	5.0	กรัม
- Di Potassium phosphate	2.0	กรัม
- Eosin Y	0.14	กรัม
- Methylene blue	0.065	กรัม
- Agar	15.0	กรัม
- น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.0±0.2

วิธีการทดสอบ

เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปิเปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรลงในหลอดอาหารที่มีอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth 10 มิลลิลิตร พร้อมหลอดดักก๊าซ ทำระดับความเงื้องาละ 3 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบหลอดที่มีผลบวก โดยสังเกตหลอดที่ขุ่นและมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซอย่างน้อย 1 ใน 4 ของหลอดดักก๊าซ ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth ทุกหลอดที่ให้ผลบวกลงในอาหาร EC broth พร้อมหลอดดักก๊าซ โดยถ่ายหนึ่งหลอดที่ให้ผลบวกต่อหนึ่งหลอดของ EC broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบหลอดที่ให้ผลบวก โดยสังเกตหลอดที่ขุ่นและมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซอย่างน้อย 1 ใน 4 ของหลอดดักก๊าซ ใช้ลูปแต่ะเชื้อจากหลอด EC broth ทุกหลอดที่ให้ผลบวกแล้วเชื้อลงบนอาหาร Eosin methylene blue agar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีที่มีผิวหน้าเรียบ แห้ง สีน้ำตาลอมดำ อาจมีเงาโลหะปรากฏหรือไม่ก็ได้ นำมาหาค่า MPN โดยนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเงื้องาจากจำนวนที่ทดสอบทั้งหมด ตัวเลขที่ได้นำไปเปิดตารางเพื่อหาค่า MPN ของ *E. coli*

4. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Clostridium perfringens*

สูตรอาหาร Tryptose sulfite cycloserine agar (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Tryptose	1.5	กรัม
- Yeast extract	5.5	กรัม
- Soytone	5.5	กรัม
- Ferric ammonium citrate	1.1	กรัม
- Sodium metadisulfate	1.1	กรัม
- Agar	22.22	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.6 ± 0.2

สารละลาย D-cycloserine

ละลาย D-cycloserine 1 กรัม ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อ 200 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศา

เซลเซียส

50 % Egg yolk emulsion

แช่ไข่ไก่ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กระเทาะเปลือกไข่ออกแล้ว
ใช้หลอดดูดไข่ใส่ในสารละลายเกลือร้อยละ 0.85 ในอัตราส่วน 1:1 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศา
เซลเซียส

วิธีการทดสอบ

เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปิเปิดตัวอย่าง
อาหารเจือจางที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสม 0.1 มิลลิลิตร ในจานอาหาร Tryptose sulfite
cycloserine agar เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วพื้นผิวของอาหาร จนผิวหน้าแห้ง นำจานเพาะเชื้อใส่ใน
anaerobic jar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนจุลินทรีย์ใน
จานเพาะเชื้อที่มีสีดำ และมี opaque white zone รอบๆ โคลโลนี บนจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนระหว่าง
30-300 โคลโลนี

5. การวิเคราะห์หาแบคทีเรียแลคติก

สูตรอาหาร Man Rogosa Sharpe agar (MRS)

- peptone	10	กรัม
- meat/beef extract	10	กรัม
- yeast extract	5	กรัม
- glucose	20	กรัม
- tween 80	1	มิลลิลิตร
- K ₂ HPO ₄	2	กรัม
- sodium acetate	5	กรัม
- tri-ammonium citrate	2	กรัม
- MgSO ₄ ·H ₂ O	0.2	กรัม
- MnSO ₄ ·H ₂ O	0.15	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.0±0.2

วิธีการทดสอบ

เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปิเปิดตัวอย่างอาหารเจือจางที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสม 1 มิลลิลิตร ในจานอาหารเพาะเชื้อ เททับด้วยอาหาร Man Rogosa Sharpe agar (MRS) ขยับจานเพาะเชื้อหมุนวนไปมาเพื่อให้อาหารกระจายทั่ว นำจานเพาะเชื้อใส่ใน anaerobic jar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานเพาะเชื้อที่มี clear zone บนจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

6. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Samonella* sp.

สูตรอาหาร Lactose broth

- Beef extract	3.0	กรัม
----------------	-----	------

- Peptone	5.0	กรัม
- Lactose	5.0	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 6.9 ± 0.2

สูตรอาหาร Selenite cystein broth (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Tryptone	5.0	กรัม
- Peptone	4.0	กรัม
- Sodium acid selenite (NaHSeO_3)	4.0	กรัม
- Disodium hydrogen phosphate	10.0	กรัม
- L-Cystein	0.01	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ± 0.2 (ไม่ต้องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ)

สูตรอาหาร Tetrathionate broth (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Polypeptone	5.0	กรัม
- Bile salt	1.0	กรัม
- Calcium carbonate	10.0	กรัม
- Sodium thiosulfate	30.0	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 8.4 ± 0.2 (ไม่ต้องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ)

สูตรอาหาร XLD agar (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Yeast extract	3.0	กรัม
- L-lysine	5.0	กรัม
- Xylose	3.57	กรัม
- Lactose	7.5	กรัม
- Sucrose	7.5	กรัม
- Sodium desoxycholate	2.5	กรัม

- Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
- Sodium thiosulfate	6.8	กรัม
- Sodium chloride	5.0	กรัม
- Phenol red	0.08	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.4 ± 0.2 (ไม่ต้องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ)

สูตรอาหาร Bismuth sulfite agar (อาหารสำเร็จรูปของ MERCK)

- Peptone	10.0	กรัม
- Beef extract	5.0	กรัม
- Dextrose	5.0	กรัม
- Disodium hydrogen phosphate	4.0	กรัม
- Ferric sulfate	0.3	กรัม
- Bismuth sulfite	8.0	กรัม
- Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
- Brilliant green	6.8	กรัม
- Agar	20.0	กรัม
- น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 7.7 ± 0.2 (ไม่ต้องฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ)

วิธีการทดสอบ

ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปราคาจากเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose broth ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่องสโตนค็อกเซอร์เป็นเวลา 2 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับพีเอชเป็น 6.8 ± 0.2 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ปิเปต 1 มิลลิลิตรของตัวอย่างใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Selenite cystein broth และ Tetrathionate broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ใช้ลูปแตะเชื้อจากหลอดอาหาร Tetrathionate broth แล้วเขี่ย

เชื้อลงบนอาหาร XLD agar และ Bismuth sulfite agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีน้ำตาล เทา หรือดำ บนอาหาร Bismuth sulfite agar หรือสีชมพู บนอาหาร XLD agar

7. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Pseudomonas sp.*

สูตรอาหาร Pseudomonads selective agar

- Peptone	20	กรัม
- Potassium sulfate	10	กรัม
- Magnesium chloride	1.4	กรัม
- Glycerol	10	กรัม
- Agar	15	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีการทดสอบ

เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปิเปิดตัวอย่างอาหารเจือจางที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสม 0.1 มิลลิลิตร ในจานอาหาร Pseudomonads selective agar เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วพื้นผิวของอาหาร จนผิวหน้าแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน นับจำนวนจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

ภาคผนวก จ
แบบทดสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์หมุยอ

ผู้ทดสอบ _____ วันที่ทำการทดสอบ _____

คำชี้แจง ท่านจะได้รับตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมุยอทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ซึ่งจะมี 2 ตัวอย่างที่เหมือนกัน และอีก 1 ตัวอย่างที่แตกต่างกัน (old sample) โปรดทดสอบกลิ่นของตัวอย่างทั้งหมด แล้วทำเครื่องหมายกากบาทตรงช่องหมายเลขของตัวอย่างที่มีกลิ่นที่แตกต่าง (old sample)

- | 1) | <u>ตัวอย่างหมายเลข</u> | <u>ทำเครื่องหมายเฉพาะตัวอย่างที่แตกต่าง (old sample)</u> |
|----|----------------------------|--|
| | 121 | _____ |
| | 309 | _____ |
| | 910 | _____ |
| 2) | <u>โปรดระบุความแตกต่าง</u> | |
| | แตกต่างเล็กน้อย | _____ |
| | แตกต่างปานกลาง | _____ |
| | แตกต่างกันมาก | _____ |
| | แตกต่างกันมากที่สุด | _____ |
| 3) | <u>ข้อเสนอแนะ</u> _____ | |
| | _____ | |

ภาคผนวก จ
การทดสอบสมบัติของฟิล์ม

การวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม

ISO 4593

เครื่องมือ

เครื่องวัดความหนาของบริษัท Mitutoyo รุ่น ID-C112BS ความละเอียด 0.0001 นิ้ว

การเตรียมตัวอย่าง

ปรับสภาพตัวอย่างในสภาวะควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ณ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65

วิธีทดสอบ

แผ่นฟิล์ม 1 แผ่น วัดความหนา 5 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นตัวแทนของความหนาต่อหนึ่งแผ่น โดยแสดงหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ทดสอบความโปร่งใส (Transparency) ของฟิล์ม

ASTM D1746-03

เครื่องมือ

เครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ของบริษัท Genesy รุ่น 10UV

การเตรียมตัวอย่าง

ตัดกระดาษขนาด กว้าง 1.3 เซนติเมตร ยาว 3.5 เซนติเมตร เจาะกระดาษเป็นช่องเพื่อติดตัวอย่างฟิล์มซึ่งไม่มีรอยพับ ร้ว ขูด ขีด และให้แสงสามารถผ่านได้ วัดความหนาฟิล์มทดสอบ

วิธีทดสอบ

นำตัวอย่างฟิล์มใส่ในเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวัดการส่องผ่านของแสง โดยตั้งความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร บันทึกค่าที่อ่านได้เป็นร้อยละการส่องผ่านของแสง

การคำนวณ

$$T = \frac{\log 10 (T_{600})}{L}$$

โดย T คือ ความโปร่งใส

T_{600} คือ ร้อยละการส่องผ่านแสง (transmittance) ของฟิล์มที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร

L คือ ความหนาของฟิล์ม (มิลลิเมตร)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวนิพร เดชสุข
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 23 มีนาคม 2519
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิชาเอกวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ผลงานการตีพิมพ์	Oral Presentations: - Sanla-Ead N, Dejsuk N, Jangchud A, Chonhenchob V and Suppakul P. Properties of eugenol-incorporated cellulose ether film and coating. The Proceedings of 10th ASEAN Food Conference: August 21-23, 2007. Kuala Lumpur, Malaysia. - Dejsuk N, Sanla-Ead N, Jangchud A, Chonhenchob V and Suppakul P. Properties of cinnamaldehyde- incorporated cellulose ether film and coating. The Proceedings of 5th: International Packaging Congress: November 22-24, 2007. Izmir, Turkey.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	Short Communication: สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University Research and Development Institute, KURDI)