



วิทยานิพนธ์

การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการ
บรรจุอาหาร

**DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL FILM
CONTAINING NATURAL AGENTS FOR FOOD
PACKAGING**

นางสาวปณิธี ทิพยธรรม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

ปริญญา

เทคโนโลยีการบรรจุ

เทคโนโลยีการบรรจุ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร

Development of Antimicrobial Film Containing Natural Agents for Food Packaging

นามผู้วิจัย นางสาวปณิธิ ทิพยธรรม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราณี ชนเห็นชอบ, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์สุขเกษม สิริพิจน์, M.S.)

กรรมการ

(อาจารย์ยอสิรา เพ็องฟูชาติ, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราณี ชนเห็นชอบ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 5 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร

Development of Antimicrobial Film Containing Natural Agents for Food Packaging

โดย

นางสาวปณิธี ทิพยธรรม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

พ.ศ. 2550

ปณิธี ทิพย์ธรรม 2550: การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ) สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยี
การบรรจุ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วาทินี ชนเห็นชอบ, Ph.D. 164 หน้า

การศึกษาประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และโนซินในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Listeria monocytogenes, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* โดยวิธี agar well diffusion พบว่า
ไทมอลและยูจีนอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิดได้ ในขณะที่โนซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญ
ของแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ความเข้มข้นต่ำสุดของไทมอล ยูจีนอล และโนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
ที่ทดสอบอยู่ในช่วง 3-5, 8-11 และ 3-22 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การขึ้นรูปฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์/พอลิเอทิลีน (EVA/PE) ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล หรือ
โนซินด้วยวิธีการเคลือบเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์บนพอลิเอทิลีน โดยเปรียบเทียบผลการยับยั้งการเจริญของ
L. monocytogenes, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ พบว่าฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์ (ปริมาณ
ไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 33) มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบดีกว่าฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์ (ปริมาณ
ไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 41) โดยฟิล์มที่เติมไทมอล ยูจีนอล หรือโนซินความเข้มข้นร้อยละ 4 น้ำหนัก/ปริมาตร แสดงบริเวณ
ที่ยับยั้งรอบฟิล์มทดสอบขนาด 17.45 - 24.56 มิลลิเมตร ในขณะที่ฟิล์มเติมไทมอล ยูจีนอล หรือโนซินความเข้มข้น
ร้อยละ 2 น้ำหนัก/ปริมาตร สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ในบริเวณใต้แผ่นฟิล์มเท่านั้น การศึกษาการเสริมฤทธิ์
ระหว่างสารต่อต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิด พบว่าฟิล์มที่เติมไทมอลผสมยูจีนอลมีบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่
ทดสอบขนาด 18.66 - 29.58 มิลลิเมตร และแสดงการเสริมฤทธิ์ระหว่างไทมอลและยูจีนอล อย่างไรก็ตามไม่พบการเสริม
ฤทธิ์ของฟิล์มที่เติมไทมอลผสมโนซินหรือยูจีนอลผสมโนซิน

การทดสอบสมบัติทางกล สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางความร้อนของ
ฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์ (ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 33) เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอลเคลือบบน
พอลิเอทิลีน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ด้านความต้านทานแรงดึงขาด เปอร์เซ็นต์การยืดตัว เปอร์เซ็นต์
ความส่งผ่านแสง และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มจากฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ แต่มีผลในการ
เพิ่มอัตราการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน

ปณิธี ทิพย์ธรรม

ลายมือชื่อนิติกร

วาทินี ชนเห็นชอบ

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

๒๘ / ๐๕ / ๒๕๕๐

Panitee Tippayatum 2007: Development of Antimicrobial Film Containing Natural Agents for Food Packaging. Master of Science (Packaging Technology), Major Field: Packaging Technology, Department of Packaging Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Vanee Chonhenchob, Ph.D. 164 pages.

The antibacterial activities of thymol, eugenol and nisin against *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were investigated using agar well diffusion method. Thymol and eugenol were effective against all the four bacteria tested, while nisin exhibited no antibacterial effect on gram-negative (*E. coli*) bacteria. The minimum inhibitory concentrations (MICs) in vitro depending on bacteria strains were 3 - 4 mg/ml, 8 - 11 mg/ml, and 3 - 22 mg/ml for thymol, eugenol, and nisin, respectively.

Antimicrobial effect of ethylene vinyl acetate (EVA) films incorporated with thymol, eugenol, or nisin coated on polyethylene (PE) films were investigated for their antibacterial activity against *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* and *E. coli*. The antimicrobial films with 33% vinyl acetate (VA) had more antimicrobial effect than those with 41% VA in all treatments. The antimicrobial films incorporated with 4% w/v thymol, eugenol, or nisin exhibited a larger clear zone around the film samples (17.45 - 24.56 mm), while those with 2% w/v thymol, eugenol, or nisin showed the antibacterial effect only underneath the film sample. The synergistic effect of thymol and eugenol was observed in the antimicrobial films tested, showing larger inhibition zone (18.66 - 29.58 mm) as compared to those with thymol or eugenol alone. No synergism in the antimicrobial films incorporated thymol or eugenol with nisin.

The properties of ethylene vinyl acetate (33% VA) films containing thymol, eugenol, and the combination of both substances, coated on polyethylene films were determined. The antimicrobial films developed showed no significant ($p \geq 0.05$) in tensile strength, elongation, percent transmittance and thermal properties, as compared to the control films without antimicrobial substances. However, increases in water vapour and oxygen transmission rates were observed in the antimicrobial films developed, as compared to the control films.

Panitee Tippayatum

Student's signature

 28 / 05 / 2007

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วาณี ชนเห็นชอบ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
อ.สุขเกษม สิทธิพจน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก อ.อศิรา เฟื่องฟูชาติ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และ
รศ.ดร.กมลวรรณ แจ่มชัด กรรมการที่ปรึกษาวิชาการอง ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจน
การตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล
ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ และ
โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดท้าย กราบขอบพระคุณ คุณแม่ และดวงวิญญาณของคุณพ่อ ผู้เป็นความรักและกำลังใจที่ยิ่งใหญ่
ให้แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

ปณิธิ ทิพย์ธรรม

เมษายน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	52
อุปกรณ์	52
วิธีการ	55
ผลและวิจารณ์	61
สรุปและข้อเสนอแนะ	114
สรุป	114
ข้อเสนอแนะ	115
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	116
ภาคผนวก	126
ภาคผนวก ก	127
ภาคผนวก ข	130
ภาคผนวก ค	133
ภาคผนวก ง	141
ภาคผนวก จ	148
ภาคผนวก ฉ	155
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	164

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารต่อต้านจุลินทรีย์แบ่งแยกประเภทตามกลุ่มต่างๆ	11
2	การใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ	12
3	จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ	20
4	การจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบ	22
5	สมบัติทางกายภาพของไทมอล	23
6	สมบัติทางกายภาพของยูจินอล	24
7	การบรรจุแบบแอกทีฟรูปแบบต่างๆในระบบดูดซับ	27
8	การบรรจุแบบแอกทีฟรูปแบบต่างๆในระบบปลดปล่อย	29
9	ระบบบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์	31
10	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของไทมอล ยูจินอล และโนซินที่ระดับความเข้มข้น 0.3125 - 40 mg/ml	62
11	ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MICs) ของไทมอล ยูจินอล และโนซิน	66
12	บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย	66
13	บริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบต่อความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์	70
14	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตต่อความหนาของฟิล์มชั้นเอทิลีน ไวนิลเอซีเตต	74
15	บริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์ม EVA/LDPE ที่ระยะชั้นรูป 120 μm	78
16	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ที่ระยะชั้นรูป 600 μm	81
17	สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางกลของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมน้ำมัน ยูจินอล หรือไทมอลผสมยูจินอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	95
18	สมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุมและเม็ดพลาสติก EVAflex150	106

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค1 ค่าเปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสงของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	134

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระยะการเจริญของจุลินทรีย์	5
2	โครงสร้างของเพปติโดไกลแคนในแบคทีเรียแกรมบวก	14
3	โครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก (ก) และแบคทีเรียแกรมลบ (ข)	16
4	โครงสร้างไนซิน	19
5	โครงสร้างไทมอล	23
6	โครงสร้างยูจีนอล	24
7	ปริมาณการใช้บรรจุภัณฑ์แบบเอกทิฟในตลาดโลกปี ค.ศ. 2001-2010	25
8	การเปรียบเทียบการทำงานระหว่างบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์และบรรจุภัณฑ์ทั่วไป	30
9	ระบบการทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์	42
10	การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มและสารเคลือบต่อต้านจุลินทรีย์	43
11	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์	44
12	สัดส่วนของบรรจุภัณฑ์ประเภทต่างๆที่มีการใช้ในตลาดโลกปี ค.ศ. 2005	47
13	(ก) ปริมาณการใช้บรรจุภัณฑ์อ่อนตัวปี ค.ศ. 2001-2007 และ (ข) อัตราการเจริญเติบโตของบรรจุภัณฑ์อ่อนตัวปี ค.ศ. 2002-2007 ของทวีปยุโรป	47
14	โครงสร้างของเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์	48
15	หมู่ฟังก์ชันและตำแหน่งเลขคลื่นของเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์	49
16	โครงสร้างไคโตแซน	50
17	บริเวณที่ยับยั้งของไทมอลที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการยับยั้งการเจริญของ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> (ง) <i>E. coli</i> โดยวิธี agar diffusion	63
18	บริเวณที่ยับยั้งของยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการยับยั้งการเจริญของ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> (ง) <i>E. coli</i> โดยวิธี agar diffusion	64
19	บริเวณที่ยับยั้งของไนซินที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการยับยั้งการเจริญของ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> (ง) <i>E. coli</i> โดยวิธี agar diffusion	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
20	บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> (ง) <i>E. coli</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อของไทมอลที่ระดับ MICs	67
21	บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> (ง) <i>E. coli</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อของยูจินอลที่ระดับ MICs	68
22	บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) <i>L. monocytogenes</i> (ข) <i>B. cereus</i> (ค) <i>S. aureus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อของไนซินที่ระดับ MICs	69
23	ผลของความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร (ก) 100 ml (ข) 150 ml (ค) 200 ml ในพื้นที่ขนาด 37 x 16 cm ² ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่สภาวะการเก็บรักษาความชื้นสัมพัทธ์ 67.9 %RH	72
24	ผลของความชื้นสัมพัทธ์ (ก) 51.4 %RH (ข) 67.9 %RH (ค) 75 %RH (ง) 83.6 %RH (จ) 92.5 %RH ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่ความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร 150 ml ในพื้นที่ขนาด 37 x 16 cm ²	72
25	ผลของความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ (ก) ไทมอล 0.5 %w/v (ข) ไทมอล 1.0 %w/v (ค) ยูจินอล 0.5 %w/v (ง) ยูจินอล 1.0 %w/v ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่ความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร 150 ml ในพื้นที่ขนาด 37 x 16 cm ² และสภาวะการเก็บรักษาความชื้นสัมพัทธ์ 67.9 %RH	73
26	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความหนาของฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลซีเทต ปริมาณไวนิลแอลซีเทต 33%	76
27	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความหนาของฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลซีเทต ปริมาณไวนิลแอลซีเทต 41%	76
28	บริเวณยับยั้งการเจริญของ <i>L. monocytogenes</i> ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE (con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจินอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจินอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจินอลผสมไนซิน)	83
29	บริเวณยับยั้งการเจริญของ <i>B. cereus</i> ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE (con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจินอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจินอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจินอลผสมไนซิน)	84

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
30	<p>บริเวณยับยั้งการเจริญของ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE (con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)</p>	85
31	<p>บริเวณยับยั้งการเจริญของ <i>E. coli</i> ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE (con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)</p>	86
32	<p>ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ <i>L. monocytogenes</i> (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v</p>	89
33	<p>ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ <i>B. cereus</i> (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v</p>	90
34	<p>ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ <i>S. aureus</i> (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v</p>	91
35	<p>ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ <i>E. coli</i> (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v</p>	92

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
36	(ก) อัตราการซึมผ่านไอน้ำ และ (ข) อัตราการซึมผ่านแก๊สออกซิเจนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอล	96
37	(ก) ความต้านทานแรงดึงขาด และ (ข) เปอร์เซ็นต์การยืดตัว ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอล	97
38	อัตราไวโอเลตสเปกตรัมของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอล	98
39	อินฟราเรดสเปกตรัมของยูจีนอล	102
40	อินฟราเรดสเปกตรัมของไทมอล	103
41	อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE	104
42	อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของไทมอลและยูจีนอล	105
43	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE	107
44	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 2.0 %w/v	108
45	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 4.0 %w/v	109
46	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 2.0 %w/v	110
47	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 4.0 %w/v	111
48	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 %w/v	112
49	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v	113

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ง1 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลความเข้มข้น 2.0 %w/v	142
ง2 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลความเข้มข้น 4.0 %w/v	143
ง3 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจินอลความเข้มข้น 2.0 %w/v	144
ง4 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจินอลความเข้มข้น 4.0 %w/v	145
ง5 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจินอลความเข้มข้น 2.0 %w/v	146
ง6 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจินอลความเข้มข้น 4.0 %w/v	147
จ1 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิการเกิดผลึกของเม็ดพลาสติก EVAflex150	149
จ2 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์มพอลิเอทิลีน ความหนาแน่นต่ำ	150
จ3 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	151
จ4 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจินอล เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	152
จ5 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสม ยูจินอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	153
จ6 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจินอล หรือไทมอลผสมยูจินอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม	154
ฉ1 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิตั้งสถานะคล้ายแก้วของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ	156
ฉ2 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิตั้งสถานะคล้ายแก้วของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE	157
ฉ3 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิตั้งสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล 2.0 %w/v	158

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
น4	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 4.0 %w/v	159
น5	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 2.0 %w/v	160
น6	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 4.0 %w/v	161
น7	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลผสม ยูจีนอล 2.0 %w/v	162
น8	เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลผสม ยูจีนอล 4.0 %w/v	163

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Abu	=	α -aminobutyric acid
Dha	=	dehydroalanine
Dhb	=	dehydrobutyrine
EVA	=	เอทิลีน ไวนิลแอซีเตต (ethylene vinyl acetate)
EVAflex150	=	เอทิลีน ไวนิลแอซีเตต ปริมาณ ไวนิลแอซีเตตร้อยละ 33
EVAflex40w	=	เอทิลีน ไวนิลแอซีเตต ปริมาณ ไวนิลแอซีเตตร้อยละ 41
EVA/LDPE	=	เอทิลีน ไวนิลแอซีเตตเคลือบบนพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ
EVOH	=	เอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ (ethylene vinyl alcohol)
CFU/ml	=	จำนวนโคโลนี/มิลลิลิตร (colony forming unit/ml)
CMC	=	คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (carboxyl methyl cellulose)
HPMC	=	ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropyl methyl cellulose)
LDPE	=	พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene)
MC	=	เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose)
MICs	=	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (minimum inhibitory concentration)
PE	=	พอลิเอทิลีน (polyethylene)
PVA	=	พอลิไวนิลแอซีเตต (poly vinyl acetate)
PVOH	=	พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly vinyl alcohol)
Tc	=	อุณหภูมิการเกิดผลึก (crystallization temperature)
Tg	=	อุณหภูมิสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature)
Tm	=	อุณหภูมิหลอมเหลว (melting temperature)
SPI	=	สารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง (soy protein isolate)
VA	=	ไวนิลแอซีเตต (vinyl acetate)
WPI	=	สารสกัดโปรตีนจากเวย์ (whey protein isolate)

การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร

Development of Antimicrobial Film Containing Natural Agents for Food Packaging

คำนำ

อาหารชนิดต่างๆที่เรานำมาบริโภคเมื่อเก็บรักษาไว้ระยะหนึ่งจะเกิดการเสื่อมเสียได้จากปัจจัยหลายประการด้วยกัน เช่น การเสื่อมเสียทางกายภาพ การเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเคมี และการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีความสำคัญเนื่องจากทำให้อาหารเกิดการสูญเสียคุณภาพทางประสาทสัมผัสและอาจก่อให้เกิดอันตรายจากสารพิษที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในอาหาร การใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์เติมลงในอาหารเป็นวิธีการหนึ่งนอกเหนือไปจากการถนอมอาหารด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น การใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ หรือการใช้ความเย็น ที่สามารถป้องกันหรือลดการเสื่อมเสียของอาหารจากจุลินทรีย์ได้ แต่เนื่องจากในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีบวกกับความต้องการของผู้บริโภคต่ออาหารที่มีคุณภาพและความปลอดภัยเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาระบบบรรจุภัณฑ์แบบแอททีฟซึ่งเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีสมบัติพิเศษด้านอื่นๆ ในการช่วยยืดอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานยิ่งขึ้นได้นอกเหนือไปจากหน้าที่ในการปกป้องอาหารชั้นพื้นฐานของบรรจุภัณฑ์โดยทั่วไปในการปกป้องผลิตภัณฑ์อาหารที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์จากสิ่งแวดล้อมภายนอก บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์เป็นบรรจุภัณฑ์แบบแอททีฟประเภทหนึ่งที่จะช่วยชะลอการเสื่อมเสียของอาหารจากจุลินทรีย์ได้โดยการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์เพื่อให้สารต่อต้านจุลินทรีย์เข้าไปทำปฏิกิริยากับเซลล์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในบริเวณพื้นผิวของอาหาร ทำให้การเจริญของเซลล์หยุดชะงักและจุลินทรีย์ถูกทำลายในที่สุด การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในภาชนะบรรจุแทนการเติมลงในอาหารนอกจากจะเป็นการช่วยลดปริมาณสารที่ต้องใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารแล้วยังเป็นการลดความเสี่ยงของผู้บริโภคต่ออันตรายจากการได้รับสารต่อต้านจุลินทรีย์ในอาหารได้อีกด้วย สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่พบว่ามีให้นำมาใช้ในบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์มีทั้งชนิดที่เป็นสารสังเคราะห์ เช่น กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ สารฆ่ารา และเอทานอล หรือสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ เช่น แบคทีริโอซิน เอนไซม์ และสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ ในทางการค้าพบว่ากรดอินทรีย์ เช่น กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก กรดซิตริก กรดแลกติก กรดมาร์ลิก และกรดแอสซิดิก เป็นต้น เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้มากที่สุดเนื่องจากเหตุผลทางด้านราคาและความมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ แต่เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคมีความตระหนักถึงอันตรายจากสารสังเคราะห์และหันมานิยมการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติ ทำให้แนวทางการพัฒนามุ่งเน้นไปที่ความพยายามในการนำสารต่อต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มของสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจีนซึ่งเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่พบว่ามีนำมาใช้และศึกษาสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก และพบว่าในปัจจุบันทั้งผู้ผลิตและนักวิจัยเริ่มให้

ความสนใจน้ำมันหอมระเหยและสารองค์ประกอบซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีสมบัติเป็นได้ทั้งสารต่อต้านจุลินทรีย์และสารกันเหี่ยว โดยในการพิจารณาเลือกใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดใดก็ตามต้องคำนึงถึงความสามารถของสารชนิดนั้นในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายด้วยเนื่องจากไม่มีสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดใดที่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด การทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงไปจะมีรูปแบบการทำงานในลักษณะของระบบปลดปล่อยและระบบเกาะติด ในระบบแบบปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถระเหยได้จะเกิดการย้ายที่จากบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ลงสู่พื้นผิวของอาหาร หรือสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารระเหยจะเกิดการย้ายที่สู่บรรยากาศภายในระบบบรรจุ และเข้าไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ส่วนระบบเกาะติดสารต่อต้านจุลินทรีย์จะถูกทำให้เกาะติดบริเวณผิวของบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยไม่มีการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ออกจากบรรจุภัณฑ์ซึ่งจะใช้ระบบนี้ในกรณีที่สารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆไม่ได้รับอนุญาตทางกฎหมายให้มีการย้ายที่ลงสู่อาหาร วัสดุทางการบรรจุที่นำมาใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น พอลิเอทิลีน เอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ และพอลิเมอร์จากธรรมชาติ เช่น ไคโตแซน เป็นต้น เนื่องจากสามารถขึ้นรูปได้และมีสมบัติทางกลที่ดีสำหรับการใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วพบว่ามักเป็นบรรจุภัณฑ์อ่อนตัวที่ผลิตในรูปแบบของฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีด กระบวนการหล่อ และกระบวนการเคลือบ เนื่องจากสามารถทำได้ง่ายและมีกระบวนการที่ไม่ซับซ้อนจนเกินไป

อย่างไรก็ตามจากการสำรวจผลงานวิจัยในประเทศไทยพบว่ายังมีการศึกษาในด้านนี้อยู่จำนวนน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของต่างประเทศ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักในการพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยเน้นการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ให้มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ และศึกษาสมบัติทางกล สมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่ได้ เพื่อนำไปพิจารณาถึงแนวโน้มการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจริง เพื่อให้สามารถชะลอการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ทำให้อาหารมีอายุการเก็บที่ยาวนานขึ้นได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์ ไทมอล ยูจีนอล และไนซิน ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบ 4 ชนิด คือ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*
2. ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ ปริมาณสารละลายฟิล์มในการขึ้นรูปฟิล์ม และความชื้นสัมพัทธ์ต่อการบวมและการขึ้นรูปฟิล์มจากไคโตแซน และศึกษาผลของชนิดเอทิลีน ไวนิล แอซีเตตต่อการขึ้นรูปฟิล์มเอทิลีน ไวนิล แอซีเตตเคลือบบนพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ
3. พัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล ไนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมไนซิน และยูจีนอลผสมไนซิน
4. ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล ไนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมไนซิน และยูจีนอลผสมไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบ 4 ชนิด คือ *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
5. ศึกษาสมบัติทางกล สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอล

การตรวจเอกสาร

เนื่องจากอาหารชนิดต่างๆที่ผ่านกระบวนการผลิตแล้วนั้นสามารถเกิดการเสื่อมเสียได้ในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งจากผู้ผลิตไปยังผู้บริโภค ดังนั้นการใช้ภาชนะบรรจุอาหารจึงเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญในการปกป้องคุ้มครองผลิตภัณฑ์จากปัจจัยต่างๆหรือจากสิ่งแวดล้อมภายนอกที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร เพื่อให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์จนกระทั่งถึงมือผู้บริโภค แต่เนื่องจากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในปัจจุบันและความต้องการด้านคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารของผู้บริโภคที่เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นเพื่อเป็นการตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคทำให้ผู้ผลิตพัฒนาบรรจุภัณฑ์แบบเอกทิฟประเภทต่างๆที่มีสมบัติพิเศษด้านอื่น ๆ นอกเหนือไปจากสมบัติพื้นฐานของภาชนะบรรจุโดยมีวัตถุประสงค์หลักในการชะลอการเสื่อมเสียและยืดอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานยิ่งขึ้น เช่นบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้โดยยับยั้งไม่ให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในอาหารเกิดการเจริญเติบโต เป็นต้น

การเน่าเสียของอาหาร

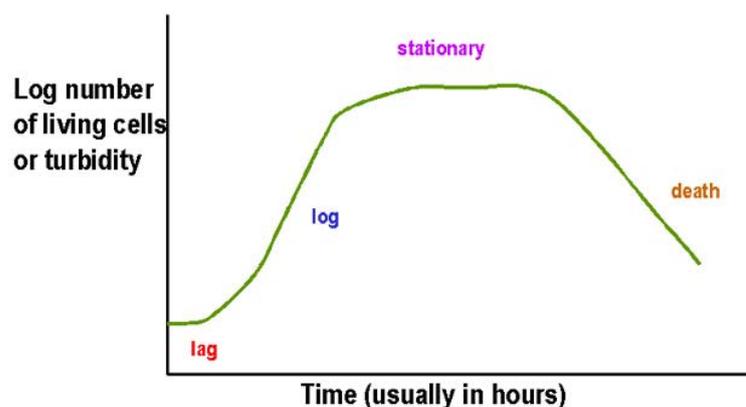
การเน่าเสียของอาหาร คือ การที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นทั้งทางเคมีและทางกายภาพ อาหารมีกลิ่น รสชาติ สี และลักษณะเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไป (ปรียา, 2540) การเน่าเสียหรือการเสื่อมสภาพของอาหารมีด้วยกัน 3 แบบ ได้แก่ การเน่าเสียทางกายภาพ เช่น การเหี่ยวเนื่องจากการสูญเสียน้ำ การช้ำของผลไม้ การเน่าเสียทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) การเกิดปฏิกิริยาบราว닝 (browning reaction) การย่อยสลายตัวเอง (autolysis) และการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ เป็นต้น

จุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับอาหารเมื่อมีการปนเปื้อนมาในอาหาร จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญได้ในอาหารหรือบางชนิดไม่สามารถเจริญได้แต่ไม่ตาย การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทำให้อาหารเน่าเสียและเกิดโรคอาหารเป็นพิษ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทดังกล่าวนี้ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ (บุษกร, 2547) อาหารประเภทต่างๆ เช่น อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ไข่ นม สามารถเกิดการเสื่อมเสียได้จากแบคทีเรียหลายชนิดด้วยกัน เช่น *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Micrococcus* และ *Streptococcus* ผักและผลไม้สามารถเกิดการเสื่อมเสียได้จากแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *Erwinia*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Botrytis* และ *Penicillium* อาหารกระป๋องส่วนใหญ่มักเกิดการเสื่อมเสียจาก *Clostridium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูงและสามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน ยีสต์เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่สามารถเจริญได้ดีในน้ำผลไม้ แยม ผลไม้แห้ง เช่น *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* และ *Hansenula* ทำให้เกิดกลิ่นหมักในอาหาร มีเมือกและฝ้าเกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าอาหาร เกิดฟองแก๊สหรือความขุ่นในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ในกรณีของเชื้อรา เช่น

Penicillium นอกจากเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารแห้ง ผลิตภัณฑ์ เบเกอรี่ และผักผลไม้เกิดการเน่าเสีย มีสี และกลิ่นผิดปกติแล้ว ยังสามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ได้อีกด้วย เชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความชื้นเพียงเล็กน้อยและในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกรด ทำให้เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดปัญหาทางอุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมาก (ปรียา, 2540)

1. การเจริญของจุลินทรีย์

การเจริญของจุลินทรีย์ในทางจุลชีววิทยา หมายถึง การทวีจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่งถือว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงในด้านปริมาณมากกว่าการเพิ่มขนาดของเซลล์ จุลินทรีย์เมื่อถูกนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสารอาหารและดูดซึมเข้าไปในเซลล์เพื่อนำไปสร้างพลังงานและส่วนประกอบของเซลล์เพื่อการทวีจำนวน การทวีจำนวนโดยวิธีการแบ่งเป็นสอง (binary fission) ทำให้จำนวนของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นแบบอนุกรมเรขาคณิต ซึ่งช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งเรียกว่า generation time จุลินทรีย์แต่ละชนิดเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะมี generation time ที่สั้นที่สุดและเวลาที่ใช้ในจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป เช่น *E. coli* ใช้เวลาในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งประมาณ 20 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น ค่าความเป็นกรดต่างชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิที่บ่มเชื้อ และอื่นๆยังมีผลต่อ generation time อีกด้วย เช่น *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (broth) แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะใช้เวลาในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งประมาณ 17 นาที ส่วน *E. coli* ที่เลี้ยงในน้ำนมแล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิเดียวกันจะใช้เวลาในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งประมาณ 12.5 นาที เป็นต้น การเจริญของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 4 ระยะเวลาคือ ระยะเวลาเริ่มต้น, ระยะเวลาที่สอง, ระยะเวลาที่สาม และระยะสุดท้าย รูปแบบการเจริญของจุลินทรีย์แสดงได้จากเส้นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log จำนวนจุลินทรีย์กับระยะเวลา (นาที) ของการเจริญ ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นโค้ง เรียกว่า เส้นโค้งการเติบโต (growth curve) ซึ่งแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ระยะเวลาการเจริญของจุลินทรีย์

ที่มา: Fox (2007)

1.1 ระยะเวลาเริ่มต้น (lag phase หรือ phase of cell enlargement)

เมื่อนำจุลินทรีย์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ที่ต่างไปจากเดิม จุลินทรีย์จะไม่แบ่งเซลล์อย่างทันทีทันใด แต่จะปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่จึงใช้ระยะเวลาในการแบ่งตัวนาน (สุมณฑา, 2545) เซลล์ในระยะนี้จะมีจำนวนเท่าเดิมแต่ขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น ส่วนใหญ่เป็นการเพิ่มความยาวเพราะแต่ละเซลล์จะมีการสังเคราะห์โพรโทพลาซึมและสารต่างๆ เช่น เอนไซม์ (enzyme) โคเอนไซม์ (coenzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) หรือ อาร์เอ็นเอ (RNA) เพิ่มขึ้นอย่างมาก เพื่อให้เพียงพอต่อกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ อาจเรียกระยะนี้ว่าเป็นระยะปรับตัวของจุลินทรีย์ให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อหรือสภาพแวดล้อมใหม่ก่อนที่จะมีการทวีจำนวนต่อไป (บัญญัติ, 2534; นงลักษณ์และปรีชา, 2547) ระยะนี้เซลล์จะมีความทนทานต่อการถูกทำลายได้สูง (บุษกร, 2547)

ช่วงระยะเวลาเริ่มต้นของจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ สภาพแวดล้อม และระยะของเชื้อที่นำมาเพาะเลี้ยง เช่น ถ้านำเชื้อที่พร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์มาเพาะเลี้ยง ระยะเริ่มต้นจะสั้น เซลล์จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว แต่ถ้านำเชื้อที่เก็บไว้นานๆ ในอาหารมาเพาะเลี้ยงจะทำให้ช่วงระยะที่ใช้ในระยะเริ่มต้นนานด้วย โดยทั่วไป *E. coli* ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะมีระยะเริ่มต้นนาน 0.5 - 3 ชั่วโมง (บัญญัติ, 2534; นงลักษณ์และปรีชา, 2547) การทำให้จุลินทรีย์เติบโตได้ช้าลงจะต้องยืดระยะเริ่มต้นให้ยาวที่สุดโดยวิธีการต่างๆ เช่น ลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร การทำให้สภาวะแวดล้อมที่เก็บอาหารไม่เหมาะสมต่อการเติบโต หรือการใช้สารกันเสีย

1.2 ระยะเวลาที่สอง (logarithmic phase หรือ exponential phase)

ระยะนี้จุลินทรีย์จะมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ตามช่วงเวลาใน generation time ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (บัญญัติ, 2534; สุมณฑา, 2545; นงลักษณ์และปรีชา, 2547) เซลล์จุลินทรีย์มีขนาดเล็กเนื่องจากมีการแบ่งตัวตลอดเวลา มีความว่องไวในการทำกิจกรรมต่างๆ อย่างมาก แต่มักถูกทำลายได้ง่ายเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ช่วงเวลาในระยะที่สองจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่สำคัญ คือ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และสารอาหารต่างๆ กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิที่ใช้เหมาะสมสำหรับการทวีจำนวน จุลินทรีย์จะเกิดการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วเป็นผลให้สารอาหารถูกใช้หมดไป ประกอบกับมีสารพิษที่ได้จากเมแทบอลิซึม สารพิษเหล่านี้จะควบคุมอัตราเมแทบอลิซึมให้ช้าลง ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง (บุษกร, 2547)

1.3 ระยะเวลาที่สาม (stationary phase)

ระยะนี้เป็นระยะที่จำนวนประชากรของจุลินทรีย์มีจำนวนสูงสุดและคงที่ เนื่องจากเกิดสมดุลระหว่างการทวีจำนวนและการตายจากสภาวะแวดล้อมที่เริ่มเปลี่ยนแปลง มีการสะสมของของเสียต่างๆเพิ่มมากขึ้น เช่น กรดอินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น (บัญญัติ, 2534) อาหารเริ่มลดน้อยลงแต่ยังคงมีเหลือให้จุลินทรีย์เติบโตได้ เชื่อในระยะนี้จะทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมดีกว่าเชื่อในระยะที่สอง (McLandsborough, 2004)

1.4 ระยะเวลาสุดท้าย (death phase หรือ decline phase)

ระยะนี้จุลินทรีย์จะตายอย่างรวดเร็วเนื่องจากการขาดแคลนสารอาหารและมีปริมาณสารพิษที่เป็นผลจากการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ ระยะเวลาที่ใช้สำหรับระยะนี้จะแตกต่างกันไป จุลินทรีย์บางชนิดอาจจะใช้เวลา 2-3 วัน แต่บางชนิดอาจจะนานเป็นสัปดาห์ (บัญญัติ, 2534; สุมณฑา, 2545)

2. แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์พวกโพรคาริโอต (prokaryote) จึงไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) แบคทีเรียมีขนาดเล็กมากจึงมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า โดยมีขนาดตั้งแต่ 0.5 - 5 μm หรือบางชนิดอาจใหญ่กว่านี้ สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติรวมทั้งในอาหาร และทำให้อาหารหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ แป้ง ไข่ นม เนื้อสัตว์ เกิดการเน่าเสีย แบคทีเรียบางชนิดก่อโรคโดยการสร้างสารพิษในอาหาร เช่น สารพิษของเชื้อ *S. aureus* เป็นต้น ตัวอย่างแบคทีเรียที่มีความสำคัญและพบได้ทั่วไปในอาหาร ได้แก่ *Bacillus*, *Escherichia*, *Listeria* และ *Staphylococcus* ซึ่งมีรายละเอียดของแบคทีเรียแต่ละชนิดดังนี้

2.1 *Bacillus*

มีเซลล์รูปร่างท่อน ติดสีแกรมบวกแต่เมื่อมีอายุมากขึ้นจะติดสีแกรมผันแปร (gram variable) เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เป็นเชื้อที่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนความร้อนสูงและความแห้งได้ดี เชื้อ *Bacillus* ส่วนใหญ่ชอบเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิ 35 - 75 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร มักพบเชื้อมันในอาหารหลายชนิด เช่น ธัญพืชและผลิตภัณฑ์ เชื้อบางชนิดสามารถสร้างสารพิษก่อโรคทางเดินอาหารได้ เช่น *B. cereus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในข้าว ผลิตภัณฑ์อาหารจำพวกแป้งที่มีความชื้นสูง และผลิตภัณฑ์เนื้อ การสร้างสารพิษของเชื้อ *B. cereus* จะเกิดขึ้นเมื่อ

ปริมาณเชื้อมากกว่า 10^5 เซลล์ต่ออาหาร 1 กรัม สารพิษถูกทำลายด้วยความร้อนอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีนเนสทำให้อาหารจำพวกโปรตีนเน่าเสียได้

2.2 *Escherichia*

Escherichia จัดเป็นแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีเรียซี (Enterobacteriaceae) (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ สามารถสร้างสารสี (pigments) เช่น สีเหลือง ส้ม แดง เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง เป็นเชื้อที่ชอบเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส พบทั่วไปตามธรรมชาติในอาหารประเภทผัก นม และเป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ *E. coli* ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ การเจริญต้องการอากาศแบบแฟกคัลเททีฟแอนแอโรบ มีถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของมนุษย์ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์ปีก *E. coli* จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform bacteria) ซึ่งใช้เป็นจุลินทรีย์ดัชนี (index microorganisms) บ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหารเนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลื้อยคลาน อาหารที่ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์ม แสดงว่าอาหารนั้นไม่สะอาด อาจมีสิ่งโสโครก เช่น อุจจาระลงไปปะปน และอาจมีเชื้อโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารอาหารเดบโตในอาหารนั้น ทำให้ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค

2.3 *Listeria*

Listeria เป็นแบคทีเรียรูปท่อนสั้น เมื่อมีอายุน้อยจะติดสีแกรมบวก แต่เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ แต่สร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ ต้องการออกซิเจนในการเจริญ พบได้ในนม เนื้อไก่ อาหารทะเล และน้ำ เป็นเชื้อก่อโรคในคนได้ เช่น เชื้อ *L. monocytogenes* ก่อโรคอาหารเป็นพิษ หรือโรคลิสเตอริโอซิส (Listeriosis) เกิดจากการรับประทานอาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์และพืชที่มีเชื้อชนิดนี้เข้าไปทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารและอาจรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต *L. monocytogenes* สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ในอาหารแช่เย็นแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ สิ่งโสโครก ซากพืช และจากลำไส้ของสัตว์เลี้ยงรวมทั้งสัตว์ปีกต่างๆ มีการตรวจพบในอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น นม ไข่ อาหารทะเลต่างๆ รวมทั้งปลา พืชผักชนิดหัว โดยเฉพาะมันฝรั่ง หัวผักกาดขาว อาจพบเชื้อนี้ในอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว เช่น นมและผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว รวมทั้งเนื้อปรุงสำเร็จ เป็นต้น

2.4 *Staphylococcus*

Staphylococcus จัดอยู่ในตระกูลไมโครค็อกคาซี (Micrococcaceae) (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ อาจใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดโดยเฉพาะในสภาพที่มีแก๊สออกซิเจนจะสร้างกรดแต่ไม่สร้างแก๊สภายใต้สภาพที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน มีการสร้างเอนไซม์และสารพิษที่จับออกนอกเซลล์ ต้องการอากาศแบบแฟลคคัลเททีฟแอนแอโรบ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 35 - 40 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 6.5 - 46 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 7.0 - 7.5 ค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญได้อยู่ระหว่าง 4.2 - 9.3 พบตามผิวหนัง รูขุมขน และตาม เชื้อของสัตว์เลือดอุ่น มีหลายสายพันธุ์ที่เป็นเชื้อโรค เช่น *S. aureus* จะก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร โดยสร้างสารพิษออกมา เมื่อมีผู้รับประทานอาหารที่มีสารพิษนั้นโดยไม่จำเป็นต้องได้รับเชื้อเข้าไปจะทำให้มีอาการป่วยได้

S. aureus เป็นแบคทีเรียรูปกลม ที่มีขนาดเล็กประมาณ 0.5 - 1 μm ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีมีลักษณะสีเหลือง เหลืองทอง ส้ม และขาว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 10 - 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 7.0 - 7.5 ค่าความเป็นกรดค่าที่แบคทีเรียเจริญได้อยู่ระหว่าง 4.2 - 9.3 สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีกลูโคส เป็นเชื้อแฟลคคัลเททีฟแอนแอโรบที่เจริญในสภาวะที่มีแก๊สออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะไร้ออกซิเจน *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase) ได้

เนื่องจาก *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผล รื้อรัง ผิวหนัง รวมทั้งบนเสื้อผ้า อากาศ และฝุ่นละออง จึงมีโอกาสที่แบคทีเรียชนิดนี้จะแพร่จากมนุษย์และสัตว์ลงสู่อาหารได้ การปนเปื้อนในอาหารมาจากการไอ จาม หรือการได้รับเชื้อจากผิวหนัง หรือได้รับเชื้อจากอาหารภายหลังผ่านการพาสเจอร์ไรส์ อาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้มหรืออาหารสุกๆดิบๆ สารพิษที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้สามารถทนความร้อนได้ 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และ 143.3 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9 วินาที สารพิษที่ผลิตจากเชื้อชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อลำไส้ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาหารที่พบเชื้อนี้ คือ อาหารที่ทำด้วยแป้ง ขนปังที่มีครีมหรือคัสตาร์ด ขนมหวานต่างๆ แสม เนื้อสัตว์ และสัตว์ปีก เป็นต้น

สารต่อต้านจุลินทรีย์

ผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่เกิดการเสื่อมคุณภาพภายหลังกระบวนการเก็บเกี่ยว และก่อนการเก็บรักษาเนื่องจากอาหารนั้นมีได้มีการนำมาแปรรูปเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมา หรือทำลายปฏิกิริยาทางเคมีที่มีอยู่ในอาหารนั้นๆ ด้วยกรรมวิธีที่ต้องเสียก่อน หรือมิได้ใช้ภาชนะบรรจุและวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับอาหารชนิดนั้นๆ เมื่อมีการเก็บอาหารนั้นไว้เป็นเวลานานจึงทำให้อาหารนั้นเสื่อมคุณภาพหรือเน่าเสียได้ ซึ่งลักษณะการเสื่อมคุณภาพหรือเน่าเสียของอาหารแสดงให้เห็นจากการที่อาหารมีกลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส หรือลักษณะปรากฏของอาหารผิดปกติไป เนื่องจากการเน่าเสียของอาหารส่วนใหญ่มักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในอาหาร การใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดการเน่าเสียของอาหารจากจุลินทรีย์ได้ สารต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial agents) เป็นสารประกอบเคมีหรือของผสมของสารประกอบเคมีที่ใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อชะลอการเน่าเสียหรือช่วยยืดอายุการเก็บของอาหาร หรือเพื่อยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดที่ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร (ศิวาพร, 2546) สารต่อต้านจุลินทรีย์จัดเป็นสารกันเสีย (preservatives) ชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามหากกล่าวถึงสารกันเสีย นอกจากจะหมายถึงสารต่อต้านจุลินทรีย์แล้วยังหมายถึงสารต้านการเกิดสีน้ำตาล (antibrowning agents) และสารกันหืน (antioxidants) ได้อีกด้วย

สารต่อต้านจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถนำมาเติมลงในวัสดุทางการบรรจุหรือบรรจุภัณฑ์อาหารเพื่อสร้างระบบบรรจุต่อต้านจุลินทรีย์ขึ้น ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างสารต่อต้านจุลินทรีย์โดยแบ่งแยกประเภทตามกลุ่มต่างๆ สารต่อต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มสารสังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมนำมาใช้มากที่สุดได้แก่ กรดอินทรีย์ และสารฆ่ารา เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับราคาต่อหน่วย แต่เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคนิยมบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบจากวัตถุดิบจากธรรมชาติ ทำให้การนำสารต่อต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์มาใช้ในอาหารมีการเปลี่ยนแปลงในอัตราที่ลดลง และเริ่มหันมานิยมใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติมากขึ้น (Davidson, 1997) เช่น สารต่อต้านจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ แบคทีเรียโอซิน หรือเอนไซม์ การนำสารต่อต้านจุลินทรีย์มาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา เครื่องสำอาง และบรรจุภัณฑ์ ต้องได้รับการอนุญาตและเป็นไปตามข้อกำหนดตามกฎหมายของแต่ละประเทศในการจำกัดปริมาณการใช้เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศไทยกำหนดปริมาณการใช้ในซินเป็นวัตถุกันเสียในอาหารไม่เกิน 100 mg/kg (นิรนาม, 2547) หรือไม่เกิน 255 ppm ในผลิตภัณฑ์เนยแข็งซึ่งกำหนดโดย U.S. FDA (U.S. food and drug administration) สำหรับโทมอลและยูจีนอลได้รับการยอมรับจาก GRAS (generally recognized as safe) ให้สามารถใช้ในอาหารได้ แต่ยังไม่มีการกำหนดปริมาณการใช้โดย U.S. FDA (Burt, 2004) สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่พบว่ามีมีการนำมาใช้ในทางการค้ากับอาหารประเภทต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 สารต่อต้านจุลินทรีย์แบ่งแยกประเภทตามกลุ่มต่างๆ

Classes	Antimicrobial agents
Organic acids	acetic acid, benzoic acids, lactic acid, citric acid, malic acid, propionic acid, sorbic acid, succinic acid, tartaric acid, mixture of organic acids
Acid salts	potassium sorbate, sodium benzoate
Acid anhydrides	sorbic anhydride, benzoic anhydride
Para benzoic acids	propyl paraben, methyl paraben, ethyl paraben
Alcohol	ethanol
Bacteriocins	nisin, pediocin, subtilin, lacticin
Fatty acids	lauric acid, palmitoleic acid
Fatty acid esters	glycerol mono-laurate
Chelating agents	EDTA, citrate, lactoferrin
Enzymes	lysozyme, glucose oxidase, lactoperoxidase
Metals	silver, copper, zirconium
Antioxidants	BHA, BHT, TBHQ, iron salts
Antibiotic	natamycin
Fungicides	benomyl, imazalil, sulfur dioxide
Sanitizing gas	ozone, chlorine dioxide, carbon monoxide, carbon dioxide
Sanitizers	cetyl pyridinium chloride, acidified NaCl, triclosan
Polysaccharide	chitosan
Phenolics	catechin, cresol, hydroquinone
Plant volatiles	allyl isothiocyanate, cinnamaldehyde, eugenol, linalool, terpineol, thymol, carvacrol, pinene
Plant/ spice extracts	grape seed extract, grapefruit seed extract, hop beta acid, brassica erucic acid oil, rosemary oil, oregano oil, basil oil, other herb/spice extracts and their oils
Probiotics	lactic acid bacteria

ที่มา: Han (2005)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Antimicrobials	Meat/poultry	Dairy	Seafood	Produce	Bakery	Beverage	Minimally processed
Spices	Fresh and processed meats	Cheese	Fish Shellfish Dried fish			Fruit juice	Noodles Pasta Steamed rice Sandwiches Sauce/dressing
Probiotics	Fresh and processed meats Cured meat	Cheese Yogurt		Fermented vegetables			Deli mix
Oxygen scavengers	Fresh and processed meats Ground beef Dried meats Chicken	Shredded cheese	Dried fish	Nuts Jam/jelly	Bread Cakes Cookies	Fruit juice Wine	Noodles Pasta Steamed rice Sandwiches Sauce/dressing Hamburgers

ที่มา: Han (2005)

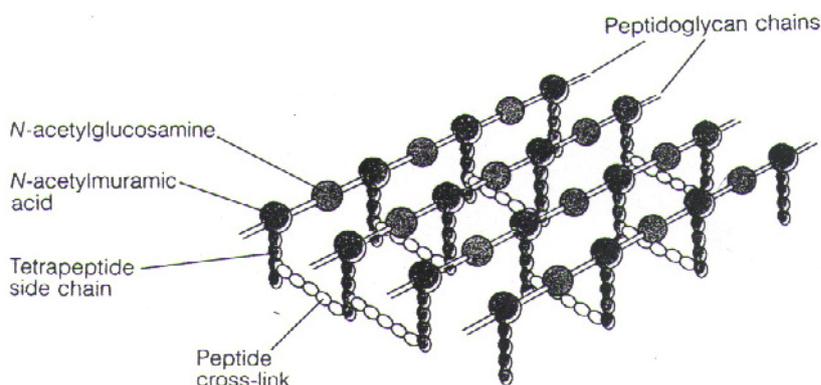
สารต่อต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต่างกันขึ้นอยู่กับกลไกการทำงานของสารและสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ สารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดแสดงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ในขณะที่บางชนิดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพที่ต่างกันอย่างสิ้นเชิง การใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งชนิดร่วมกันอาจแสดงลักษณะการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันได้ ดังนั้นการเลือกชนิดและปริมาณของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมอาจเพิ่มความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้สูงขึ้นได้ (Han, 2003)

1. กลไกการออกฤทธิ์ของสารต่อต้านจุลินทรีย์

สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เรียกว่า แบคเทอริโอสแตติกเอเจนท์ (bacteriostatic agent) สำหรับสารทำลายแบคทีเรีย เรียกว่า แบคเทอริซิโดลเอเจนท์ (bactericidal agent) หรือแบคเทอริไซด์ (bactericide) สารยับยั้งการเจริญ คือ สารที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้แต่ไม่ทำลายจุลินทรีย์ ส่วนสารทำลายจุลินทรีย์เป็นสารที่ทำให้จุลินทรีย์ตาย ไม่สามารถมีกิจกรรมเมแทบอลิซึมใดๆ ได้อีกต่อไป (บุญกร, 2547) การที่สารต่อต้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ได้นั้นเนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใส่เข้าไปมีผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ การทำงานของเอนไซม์ และกลไกทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ (ศิวพร, 2546) ซึ่งมีกลไกการทำงานในแต่ละส่วนดังต่อไปนี้

1.1 ผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์

ผนังเซลล์ (cell wall) ของจุลินทรีย์โดยทั่วไปมีความหนา 10-25 nm มีปริมาณ 10-40 % ของน้ำหนักแห้ง เป็นโครงสร้างที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียคงรูปร่างอยู่ได้ ผนังเซลล์ประกอบด้วยกรดไคอะมิโนพิมิลิก (diaminopimelic acid, DAP) เอ็นอะซีติลกลูโคซามีน (N-acetyl glucosamine, NAG) และกรดเอ็นอะซีติลมิวรามิก (N-acetylmuramic acid, NAM) นอกจากนี้ผนังเซลล์ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด เช่น อะลานีน (alanine) ไกลซีน (glycine) กรดกลูตามิก (glutamic acid) และไลซีน (lysine) ซึ่งปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์นี้ยังมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรียด้วย เอ็นอะซีติลกลูโคซามีนและกรดเอ็นอะซีติลมิวรามิกมีการเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวสลับกันไป มีพันธะเพปไทด์เชื่อมระหว่างกรดอะมิโนที่เกาะกับกรดเอ็นอะซีติลมิวรามิกของสองโมเลกุล เรียกว่า เพปไทด์บริดจ์ (peptide bridge) ทำให้เกิดเป็นชั้นของมิวโคเพปไทด์ (mucopolysaccharide) หรือเพปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ขึ้น (นงลักษณ์และปรีชา, 2547)

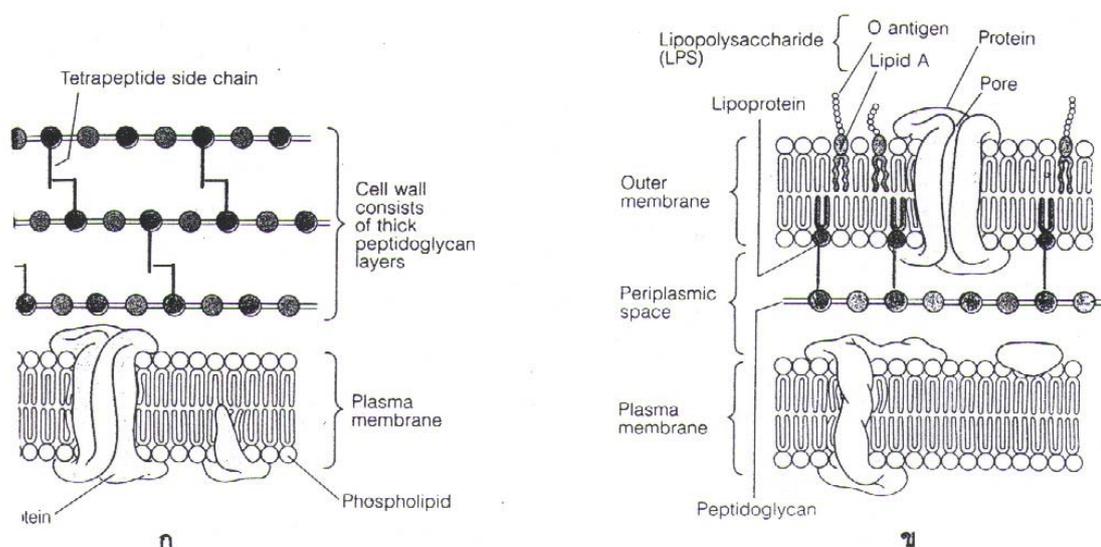


ภาพที่ 2 โครงสร้างของเพปติโดไกลแคนในแบคทีเรียแกรมบวก

ที่มา: นงลักษณ์ และ ปรีชา (2547)

ปฏิกิริยาของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นที่ผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ความสามารถในการยอมให้สารต่างๆแทรกซึมผ่านผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เส้นทางของอาหารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้อง การเจริญของจุลินทรีย์จึงหยุดชะงักและตายในที่สุด การทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้จุลินทรีย์ตายได้ เมื่อสารต่อต้านจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในเซลล์จะทำให้ไซโทพลาซึม (cytoplasm) เกิดการตกตะกอน (coagulate) หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกเนื่องจากสารดังกล่าวทำลายไขมันที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาดและส่วนประกอบต่างๆ เช่น โขเดียมหรือโปแตสเซียมรั่วไหลออกจากเซลล์ทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (Holley and Patel, 2005; Gallo *et al.*, 2007)

สารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดมีผลต่อกระบวนการสร้างหรือสังเคราะห์ส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้จุลินทรีย์มีผนังเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ตายได้เช่นกัน โดยปกติแล้วองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบจะมีความซับซ้อนมากกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก กล่าวคือ ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเพปติโดไกลแคนเพียง 5 - 20 % เท่านั้น ส่วนที่เหลือประกอบด้วยลิโปโปรตีน ลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ และกรดไขมันโมโนมิคิล และมีจำนวนเพปไทด์บริดจ์น้อยกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก ในขณะที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีองค์ประกอบของเพปติโดไกลแคนสูงถึง 90 % แต่มีกรดไขมันน้อยชนิดกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ที่บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่แบคทีเรียแกรมลบมีเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ที่มีปริมาณไขมันสูงถึง 11 - 22 % ของน้ำหนักแห้งผนังเซลล์ล้อมรอบเพปติโดไกลแคนไว้ทำหน้าที่เป็นชั้นกั้นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ไม่ให้ออกจากเซลล์ และป้องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้โดยง่าย จากการที่แบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมากกว่าทำให้โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียแกรมบวกจะมีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Jay *et al.*, 2005)



ภาพที่ 3 โครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก (ก) และแบคทีเรียแกรมลบ (ข)
ที่มา: นงลักษณ์ และ ปรีชา (2547)

1.2 ผลต่อการทำงานของเอนไซม์

การที่เอนไซม์จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ส่วนประกอบต่างๆของเอนไซม์ควรมีอยู่ครบถ้วนและอยู่ในสภาพที่พร้อมจะทำงานได้ หากองค์ประกอบหรือคุณสมบัติต่างๆดังกล่าวของเอนไซม์ถูกทำลายหรือถูกทำให้ผิดปกติไป ความสามารถในการทำงานหรือประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์จะเสียไปหรือลดลงด้วย ตัวอย่างเช่น สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดเมื่อใส่ในอาหาร อาจเป็นสาเหตุให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (denature) ได้หรือสารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดอาจไปจับกับหมู่ซัลไฟด์ไรล (sulfhydryl group) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์มาก ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้หรือมีประสิทธิผลลดลง การที่ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์หรือประสิทธิภาพของเอนไซม์เสียไปหรือลดลงนี้จะมีผลต่อเนื่องทำให้การดำรงชีวิตของจุลินทรีย์หยุดชะงักหรือตายได้

1.3 ผลต่อกลไกทางพันธุกรรม

การเจริญของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเป็นไปโดยวิธีการแบ่งเซลล์ ในกระบวนการแบ่งเซลล์นั้น จะมีโครโมโซม (chromosome) และยีน (gene) มาเกี่ยวข้องด้วย ในยีนจะมีดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอเป็นส่วนประกอบ ฉะนั้นหากมีสิ่งผิดปกติเกิดขึ้นกับส่วนนี้จะทำให้การแบ่งเซลล์หยุดชะงักลงได้ ตัวอย่างเช่น สารต่อต้านจุลินทรีย์ประเภทที่เป็นสารปฏิชีวนะบางชนิดจะไปมีผลกับไรโบโซม (ribosome) ทำให้เกิดการสะสมของอาร์เอ็นเอ มีผลทำให้การสังเคราะห์โปรตีนหยุดชะงักและมีผลต่อเนื่องให้กระบวนการแบ่งเซลล์

หยุดชะงักไปด้วย เมื่อจุลินทรีย์ไม่มีการแบ่งเซลล์จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ก็จะไม่เพิ่มขึ้น และเมื่อเซลล์นั้นตายจำนวนจุลินทรีย์ก็จะลดลงไปเรื่อยๆจนกระทั่งหมดไปในที่สุด

2. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์

ประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร อุณหภูมิ และคุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของอาหาร ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นหัวข้อหลักได้ดังนี้

2.1 ความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์

ประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ การเพิ่มความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ให้มากขึ้นทำให้ประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์มีมากขึ้นไปด้วย สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงจะทำลายจุลินทรีย์ แต่เมื่อความเข้มข้นต่ำลงจะมีผลเพียงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เท่านั้นหรืออาจไม่มีผลใดๆต่อจุลินทรีย์เลยก็ได้ ดังนั้นหากเชื่อว่ามีปริมาณมากขึ้นปริมาณสารที่ใช้ในการทำลายเซลล์จึงต้องมากขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน (Matan *et al.*, 2006; Seydim and Sarikus, 2006)

2.2 ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์

ความไวของจุลินทรีย์ต่อการถูกทำลายโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์บางชนิดต้องใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในปริมาณมากจึงจะยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ได้ ในขณะที่บางชนิดใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้แล้ว การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในปริมาณมากส่งผลต่อปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใช้จะต้องมากตามไปด้วย (Rojo-Bezares *et al.*, 2007) นอกจากนี้การเจริญในแต่ละช่วงอายุและการดื้อยาของจุลินทรีย์มีผลต่อปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เช่นกัน จุลินทรีย์ที่มีอายุอยู่ในระยะที่สองจะมีความแข็งแรงกว่าจุลินทรีย์ที่มีอายุอยู่ในระยะเริ่มต้นและระยะที่สาม ทำให้ปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกันด้วย (บุษกร, 2547; Bower and Daeschel, 1999)

2.3 อุณหภูมิ

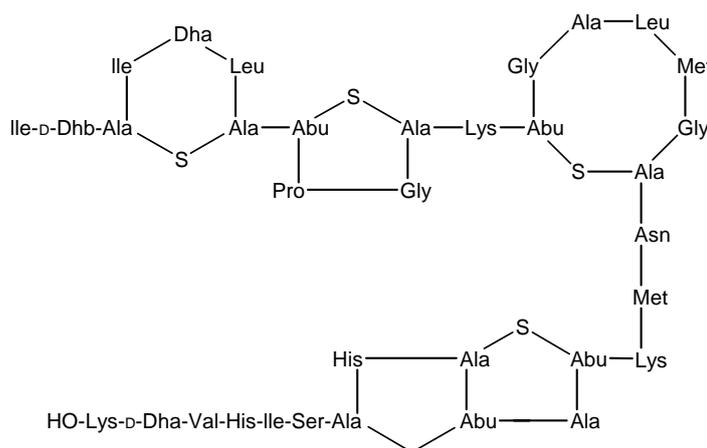
อุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิในขณะเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในอาหารหรืออุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างรอการจำหน่าย เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน เช่น น้ำมันหอมระเหย สามารถเกิดการสลายตัวได้เมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูง ดังนั้นการเลือกชนิดของสารต่อต้านจุลินทรีย์จึงต้องพิจารณาควบคู่ไปกับอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิตด้วย (Ha *et al.*, 2001; Suppakul *et al.*, 2003b)

2.4 สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของอาหาร

เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์อาจทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบภายในอาหารทำให้มีประสิทธิภาพลดลง เช่น ในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ การใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมักจะต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่ละลายในน้ำมันหรือไขมัน หรือละลายได้ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น หรือการทำปฏิกิริยากันระหว่างสารอินทรีย์กับสารต่อต้านจุลินทรีย์ทำให้ฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ลดลง ในขณะที่อาจมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้นในอาหารที่เป็นกรด นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจะถูกยับยั้งการเจริญได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งเนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์มีการแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในอัตราที่แตกต่างกัน (Burt, 2004)

3. ไนซิน

ไนซินเป็นสารประกอบพอลิเปปไทด์ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactococcus lactis sup sp. Lactis* บางสายพันธุ์ ปัจจุบันสามารถผลิตโดยวิธีสังเคราะห์ได้ มีคุณสมบัติเป็นกรด มีความคงตัวและละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรด ความสามารถในการละลายที่ความเป็นกรดต่าง 2.2 คือ 56 mg/ml ละลายได้ 3 mg/ml ที่ความเป็นกรดต่าง 5.0 และละลายได้เพียง 1 mg/ml ที่ความเป็นกรดต่าง 11.0 สำหรับความคงตัวต่อความร้อนของไนซินนั้นสารละลายไนซินที่มีความเป็นกรดต่ำจะทนความร้อนได้ดีกว่าสารละลายไนซินที่มีความเป็นกรดสูง สารละลายไนซินที่มีค่าความเป็นกรดต่าง 2 จะคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 115.6 องศาเซลเซียส ในขณะที่สารละลายที่มีความเป็นกรดต่าง 5 จะมีประสิทธิภาพลดลงถึง 40 % ที่อุณหภูมิเดียวกัน และจะลดลงมากกว่า 90 % ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ส่วนการใช้ไนซินในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทโปรตีนนั้นพบว่าสามารถช่วยป้องกันการเสื่อมประสิทธิภาพของไนซินได้ (สิวาพร, 2546) ในกลุ่มของสารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ไนซินได้รับความนิยมมากที่สุดในการนำมาใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์เติมแต่งในบรรจุภัณฑ์ประเภทฟิล์ม เนื่องจากมีความปลอดภัยและถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) ในร่างกายมนุษย์ (Lee, 2005)



ภาพที่ 4 โครงสร้างไนซิน

ที่มา: Budavari *et al.* (1996)

ไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียแกรมบวกชนิดที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ได้แก่ *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* และ *L. monocytogenes* เป็นต้น การใช้ไนซินเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์นมต่างๆ เช่น เนยแข็ง นมพาสเจอร์ไรซ์ นมสเตอริไรซ์ อาหารกระป๋อง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เป็นต้น

4. สารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจกับพืชสมุนไพรเป็นอย่างมาทั้งด้านอุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง เนื่องจากเริ่มประจักษ์ถึงอันตรายจากฤทธิ์ข้างเคียงและความเป็นพิษของสารสังเคราะห์หรือยาแผนปัจจุบันกันมากขึ้น พืชสมุนไพรที่ใช้รักษาโรคมียากมายหลายชนิด คุณภาพของพืชสมุนไพรจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สภาพแวดล้อมในการปลูก ฤดูกาล และช่วงเวลาที่เก็บสมุนไพร เป็นต้น (Holley and Patel, 2005) ในยาสมุนไพรประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological action) ซึ่งมักเรียกว่าเป็นสารออกฤทธิ์ (active constituents) ที่สามารถนำมาใช้เป็นยาได้ (รัตน, 2547) การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เป็นสิ่งใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในการศึกษาพัฒนา เนื่องจากสามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ง่ายและผู้บริโภคให้การยอมรับมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารต่อต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ (Han, 2003) เครื่องเทศหรือสมุนไพรหรือสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรนั้น นอกจากจะให้กลิ่นรสแล้วยังสามารถช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ด้วย ส่วนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์คือ น้ำมันหอมระเหย อย่างไรก็ตามการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ในรูปแบบสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหย มักจะพบปัญหาจากการที่สารดังกล่าวมีการระเหยเร็วมาก ทำให้ปริมาณที่เหลืออยู่น้อยไม่พอที่จะยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ได้

น้ำมันหอมระเหย (volatile oils หรือ essential oils หรือ ethereal oils) เป็นของผสมที่มีองค์ประกอบซับซ้อนของสารประกอบโมโนเทอร์พีน (สารประกอบที่โครงสร้างแกนมีคาร์บอน 10 อะตอม) และเซสควิเทอร์พีน (สารประกอบที่โครงสร้างแกนมีคาร์บอน 15 อะตอม) ประกอบขึ้นเป็นกลิ่นเฉพาะของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด น้ำมันหอมระเหยพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง ซึ่งมีสมบัติทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แบบไม่จำกัชนิด (สุมนฑา, 2545) ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศแสดงในตารางที่ 3 น้ำมันหอมระเหยมีกลิ่นหอมและระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน เมื่อถูกอากาศหรือเก็บไว้นานๆอาจถูกออกซิไดซ์ (oxidized) ทำให้สีเข้มขึ้นจึงต้องเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิท (ชยันต์ และ วิเชียร, 2545; รัตนา, 2547) อาจจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบได้หลายกลุ่มดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

Gram-positive bacteria	Gram-negative bacteria	Yeasts/fungi
<i>Arthobacter</i> sp.	<i>Acetobacter</i> spp.	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>A. Parasiticus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. Flavus</i>
<i>B. cereus</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>A. ochraceus</i>
<i>B. megaterium</i>	<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Candida albicans</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>A. faecalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>ammoniagenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Dekkera bruxellensis</i>
<i>B. Linens</i>	<i>Citrobacter</i> sp.	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Brochothrix</i>	<i>C. freundii</i>	<i>F. culmorum</i>
<i>Thermosphacta</i>	<i>Edwardsiella</i> sp.	<i>Mucor</i> sp.
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Pichia anomala</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>E. Aerogenes</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>C. sporogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>P. Chrysogenum</i>
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>E. coli</i> 0157:H7	<i>P. Patulum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>P. Roquefortii</i>
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Flavobacterium</i> sp.	<i>P. Citrinum</i>
<i>L. Plantarum</i>	<i>F. Suaveolens</i>	<i>Rhizopus</i> sp.
<i>L. Minor</i>	<i>Klebsiella</i> sp.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Trichophyton</i>
<i>L. Cremoris</i>	<i>Moraxella</i> sp.	<i>Mentagrophytes</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Neisseria</i> sp.	<i>Torulopsis holmii</i>
<i>L. innocua</i>	<i>N. sicca</i>	<i>Pityrosporum ovale</i>

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Gram-positive bacteria	Gram-negative bacteria	Yeasts/fungi
<i>Micrococcus</i> sp.	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	
<i>M. luteus</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	
<i>M. roseus</i>	<i>P. aeruginosa, fluorescens, fragi</i> <i>and clavigerum</i>	
<i>Pediococcus</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	
<i>Photobacterium</i>	<i>P. vulgaris</i>	
<i>Phosphoreum</i>	<i>Salmonella</i> spp.	
<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Salmonella Enteritidis,</i> <i>Senftenberg, Typhimurium,</i> <i>Flexneri, Pullorum</i>	
<i>Sarcina</i> spp.	<i>Serratia</i> sp.	
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>S. marcescens</i>	
<i>S. Aureus</i>	<i>Vibrio</i> sp.	
<i>S. Epidermidis</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	

ที่มา: Nychas and Skandamis (2003)

น้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบหลักเป็นสารประเภทฟีนอลโดยธรรมชาติมีความสามารถละลายในน้ำได้ต่ำ อย่างไรก็ตามตัวทำละลายหรือตัวกระทำอิมัลชัน (emulsifier) ที่ใช้ในการละลายหรือช่วยให้ น้ำมันหอมระเหยละลายในน้ำได้ดีขึ้น ได้แก่ เอทานอล (ethanol) เมทานอล (methanol) ทวิน 20 (tween 20) ทวิน 80 (tween 80) แอซีโตน (acetone) ร่วมกับทวิน 80 พอลิเอทิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol) โพรพิลีน ไกลคอล (propylene glycol) เฮกเซน (*n*-hexane) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) และ วุ้น (agar) โดยทั่วไปแล้วน้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลในปริมาณสูง เช่น คาวาคโรล (cravacrol) ไทมอล (thymol) และยูจีนอล (eugenol) จะแสดงประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (Burt, 2004)

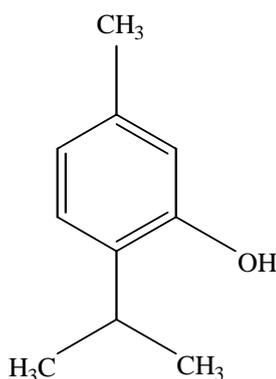
ตารางที่ 4 การจำแนกน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบ

องค์ประกอบหลัก	น้ำมันหอมระเหย	แหล่งที่พบ
ไฮโดรคาร์บอน	ลิโมนีน (limonene)	น้ำมันกระวาน (cardamom oil)
	ไพเนน (pinene)	น้ำมันสน (turpentine oil) น้ำมันไพล
แอลกอฮอล์	จีรานีโอล (geraniol)	น้ำมันดอกกุหลาบ (rose oil)
	เมนทอล (menthol)	น้ำมันสะระแหน่ (peppermint oil)
อัลดีไฮด์	ซิโตรเนลลาล (citronellal)	น้ำมันตะไคร้หอม (citronella oil)
	ซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde)	น้ำมันอบเชย (cinnamon)
คีโตน	คาร์ไวอน (carvone)	น้ำมันเทียนดาบ (caraway oil)
ฟีนอล	ยูจีนอล (eugenol)	น้ำมันกานพลู (clove oil)
	ไทมอล (thymol)	ไทม์ออยล์ (thyme oil)
ฟีนอลิกอีเทอร์	อะนิโทล (anethole)	น้ำมันโป๊ยกั๊กหรือน้ำมันจันทน์แปดกลีบ (anise oil) น้ำมันเทียนข้าวเปลือก (fennel oil)
	ออกไซด์	ยูคาลิปตอล (eucalyptol)
เอสเทอร์	เมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate)	น้ำมันระกำ (wintergreen oil)

ที่มา: รัตนา (2547)

4.1 ไทมอล

ไทมอล (5-methyl -2-(1-methylethyl)-phenol) เป็นสารประกอบประเภทฟีนอลชนิดหนึ่งและเป็นสารองค์ประกอบหลักพบได้ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโน (oregano) และไทม์ (thyme) (ธวิช, 2548; Davidson, 1997) มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวใส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของไทมอล และตารางที่ 5 แสดงสมบัติทางกายภาพของไทมอล ผลของสารประกอบฟีนอลในการทำลายจุลินทรีย์ คือ ทำให้เซลล์แตก โปรตีนในเซลล์เกิดการตกตะกอน ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำให้กรดอะมิโนรั่วไหลออกจากเซลล์ และทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การผ่านเข้าออกของสารในเซลล์ผิดปกติ



ภาพที่ 5 โครงสร้างไทมอล

ที่มา: Budavari *et al.* (1996)

ตารางที่ 5 สมบัติทางกายภาพของไทมอล

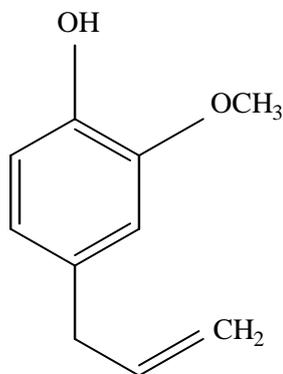
สมบัติ	ข้อมูลจำเพาะ
ชื่อทางเคมี	5-Methyl-2-(1-methylethyl)phenol, 5-Methyl-2-isopropyl-1-phenol
สูตรโมเลกุล	2-[(CH ₃) ₂ CH]C ₆ H ₃ -5-(CH ₃)OH
น้ำหนักโมเลกุล	150.22
ลักษณะปรากฏ	ของแข็ง สีขาว
จุดหลอมเหลว	51.5°C
จุดเดือด	ประมาณ 233°C
ความหนาแน่น	0.969 g/ml ณ อุณหภูมิ 25°C

ที่มา: ดัดแปลงจาก Budavari *et al.* (1996)

4.2 ยูจีนอล

ยูจีนอล (2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol) เป็นสารประกอบประเภทฟีนอล มีลักษณะเป็นของเหลวใสหรือสีเหลืองอ่อน ละลายในน้ำได้เล็กน้อยแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้หลายชนิด (Davidson, 1997) ชยันต์ และ วิเชียร (2545) และ ธวิช (2548) กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบสดของอบเชยเทศและดอกกานพลูมีองค์ประกอบหลักเป็นสารยูจีนอล เมื่อกลิ่นใบสดของต้นอบเชยเทศจะได้น้ำมันใบอบเชยเทศประมาณ 1 % น้ำมันหอมระเหยนี้มีกลิ่นเหมือนกานพลูและมีสารยูจีนอลอยู่ประมาณ 70 - 95 % นิจศิริ (2534) กล่าวว่าสามารถพบสารยูจีนอลในปริมาณต่าง ๆ กันได้ในน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยฉูด 4 - 8 % ใบกะเพรา 37.7 % และจากใบและผลของอออสไปซ์สูงถึง 60 - 90 % นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถพบสารยูจีนอลได้ปริมาณเล็กน้อยในน้ำมันจาก

ไบเบย์หรือไบกะวาน เทียนสัตตบุษย์ และเทียนตาตั๊กแตน ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของยูจีนอล และ ตารางที่ 6 แสดงสมบัติทางกายภาพของยูจีนอล



ภาพที่ 6 โครงสร้างยูจีนอล

ที่มา: Budavari *et al.* (1996)

ตารางที่ 6 สมบัติทางกายภาพของยูจีนอล

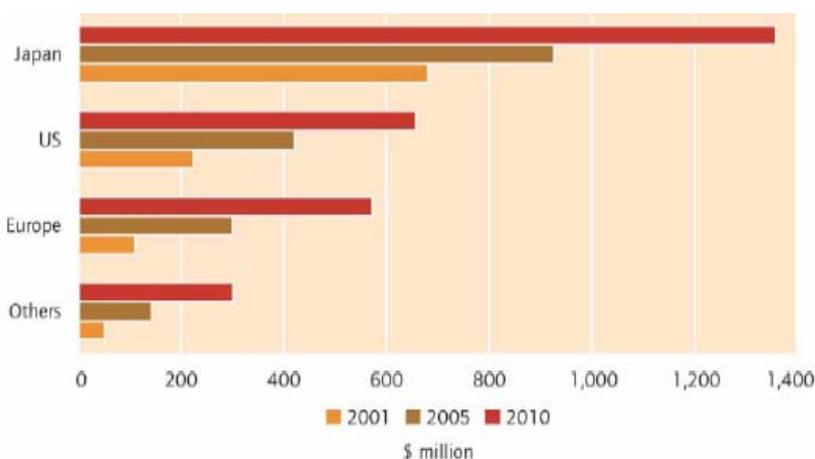
สมบัติ	ข้อมูลจำเพาะ
ชื่อทางเคมี	2-Methoxy-4-(2-propenyl)phenol, 4-Allyl-2-methoxyphenol, 4-Allylguaiaco
สูตรโมเลกุล	4-(H ₂ C=CHCH ₂)C ₆ H ₃ -2-(OCH ₃)OH
น้ำหนักโมเลกุล	164.20
ลักษณะปรากฏ	ของเหลว สี สีเหลือง
จุดหลอมเหลว	(-9.2) – (-9.1) °C
จุดเดือด	255 °C
ความถ่วงจำเพาะ	1.066 ณ อุณหภูมิ 20 °C

ที่มา: คัดแปลงจาก Budavari *et al.* (1996)

เนื่องจากยูจีนอลเป็นสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล สารประกอบประเภทนี้จะไปขัดขวางกระบวนการละลายของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลง และขัดขวางการทำงานของเอนไซม์โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่นๆ รวมตัวกันเซลล์จึงถูกทำลาย (นิจศิริ, 2534; บุญกร, 2547)

บรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟ

Rooney (2005) ให้คำจำกัดความของบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟว่าเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีลักษณะหรือคุณสมบัติพิเศษอื่นๆนอกเหนือจากการทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในจากสิ่งแวดล้อมภายนอก การบรรจุแบบแอคทีฟ (active packaging) เป็นระบบบรรจุที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยากันระหว่างภาชนะบรรจุ หรือองค์ประกอบภายในภาชนะบรรจุ กับผลิตภัณฑ์อาหารหรือบรรยากาศภายใน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อมในระบบบรรจุ โดยบรรจุสารเคมีที่มีคุณสมบัติบางประการลงในภาชนะบรรจุซึ่งส่วนใหญ่จะปลดปล่อยแก๊สที่ต้องการหรือดูดซับแก๊สที่ไม่ต้องการออกไปจากบรรยากาศที่ล้อมรอบผลิตภัณฑ์ที่ถูกบรรจุอยู่ภายใน ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษา เพิ่มความปลอดภัยและคุณภาพทางประสาทสัมผัส ในขณะที่คงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารนั้นไว้ได้ (Ahvenainen, 2003) โดยพบว่าประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศที่มีการนำบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟมาใช้อย่างแพร่หลายและเริ่มนำมาใช้มากขึ้นในยุโรปและอเมริกานับตั้งแต่ปี ค.ศ. 2001 จนถึงปัจจุบันและคาดว่าจะเพิ่มมากขึ้นในอนาคตดังแสดงในภาพที่ 7 (Markarian, 2006)



ภาพที่ 7 ปริมาณการใช้บรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟในตลาดโลกปี ค.ศ. 2001-2010

ที่มา: Markarian (2006)

ในวงการอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องเคมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แบบแอททีฟได้รับแรงผลักดันจากความต้องการอาหารพร้อมบริโภคที่มีคุณภาพ ความสดใหม่ และสะดวกต่อการนำมารับประทานของผู้บริโภค รวมถึงความต้องการของผู้ผลิตที่ต้องการยืดอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานขึ้น การบรรจุแบบแอททีฟมีการพัฒนาไปในหลากหลายรูปแบบ ที่สำคัญได้แก่ ตัวดูดซับแก๊สออกซิเจน (oxygen scavengers) ตัวดูดซับหรือปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide absorbers/emitters) ตัวดูดซับความชื้น (moisture absorbers) ตัวดูดซับแก๊สเอทิลีน (ethylene absorbers) ตัวปลดปล่อยแก๊สเอทานอล (ethanol emitters) ตัวดูดซับหรือปลดปล่อยกลิ่นรส (flavor absorbers/emitters และฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial films) เป็นต้น (Han, 2003; Ozdemir and Floros, 2004) ตัวอย่างของระบบบรรจุแบบแอททีฟที่เป็นที่รู้จักในปัจจุบันรวมถึงบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ทั้งระบบดูดซับและระบบปลดปล่อย แสดงในตารางที่ 7 - 8

การพิจารณาลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารว่ามีคุณภาพเป็นที่ยอมรับได้หรือไม่นั้นมีหลักเกณฑ์สำคัญในการพิจารณาร่วมกัน 3 ประการ คือ คุณภาพทางประสาทสัมผัส คุณภาพที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ และคุณภาพที่เกี่ยวข้องกับพิษวิทยา จุลินทรีย์ในอาหารมีความสัมพันธ์กับคุณภาพทั้งสามลักษณะ เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้อาหารมีความเปลี่ยนแปลงทางด้านสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส หรืออาจสร้างสารพิษให้เกิดขึ้นในอาหารได้ ทำให้อาหารนั้นมีลักษณะทางกายภาพและความปลอดภัยไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และอายุการเก็บรักษาลดลง (Han, 2005) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นแรงผลักดันให้เกิดการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์ในการช่วยชะลอการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ เพื่อให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารให้ยาวนานขึ้นได้ ในขณะที่ยังคงคุณภาพและความปลอดภัยให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ตารางที่ 7 การบรรจุแบบแอคทีฟรูปแบบต่างๆในระบบดูดซับ

Packaging type	Examples of working principle/mechanism/ reagents	Purpose	Examples of possible applications
Oxygen absorbers (sachets, labels, films, corks)	Ferro-compounds, ascorbic acid, metal salts, glucose oxidases, alcohol oxidase	Reduction/preventing of mould, yeast and aerobic bacteria growth Prevention of oxidation of fats, oils, vitamins, colours Prevention of damage by worms, insects and insect eggs	Cheese, meat products, ready-to-eat products, bakery products, coffee, tea, nuts, milk powder
Carbon dioxide absorbers (sachets)	Calcium hydroxide and sodium hydroxide or potassium hydroxide Calcium oxide and silica gel	Removeing of carbon dioxide formed during storage in order to prevent bursting of a package	Roasted coffee Beef jerkey Dehydrated poultry product
Ethylene absorbers (sachets, films)	Aluminium oxide and potassium permanganate (sachets) Activated carbon+metal catalyst (sachet) Zeolite (films) Clay (film) Japanese oya stone (films)	Prevention of too fast repening ang softening	Fruits like apples, apricots, banana, mango, cucumber, tomatoes, avocados and vegetables like carrots, potatos and Brussels sprouts
Humidity absorbers (drip absorbent sheets, films, sachets)	Polyacrylates (sheets) Propylene glycol (film) Silica gel (sachet) Clay (sachet)	Control of excess moisture in packed food Reduction of water activity on the surface of food in order to prevent the growth of moulds, yeast and spoilage bacteria	

ตารางที่ 7 (ต่อ)

Packaging type	Examples of working principle/mechanism/ reagents	Purpose	Examples of possible applications
Absorbers of off flavours, amines and aldehydes (films, sachets)	Cellulose acetate film containing naringinase enzyme Ferrous salt and citric or ascorbic acid (sachet) Specially treated polymers	Reduction of bitterness in grapefruit juice Improving the flavour of fish and oil-containing food	Fruit juices Fish Oil-containing foods such as potato chips, biscuits and cereal products Beer
UV-light absorbers	Polyolefins like polyethylene and polypropylene doped the material with a UV-absorbent agent Crystallinity modification of nylon 6 UV stabilizer in polyester bottles	Restricting light induced oxidation	Light-sensitive foods such as ham Drinks
Lactose remover	Immobilised lactase in the packaging material	Improving the healthiness of milk products	Milk and other dairy products

ที่มา: Ahvenainen (2003)

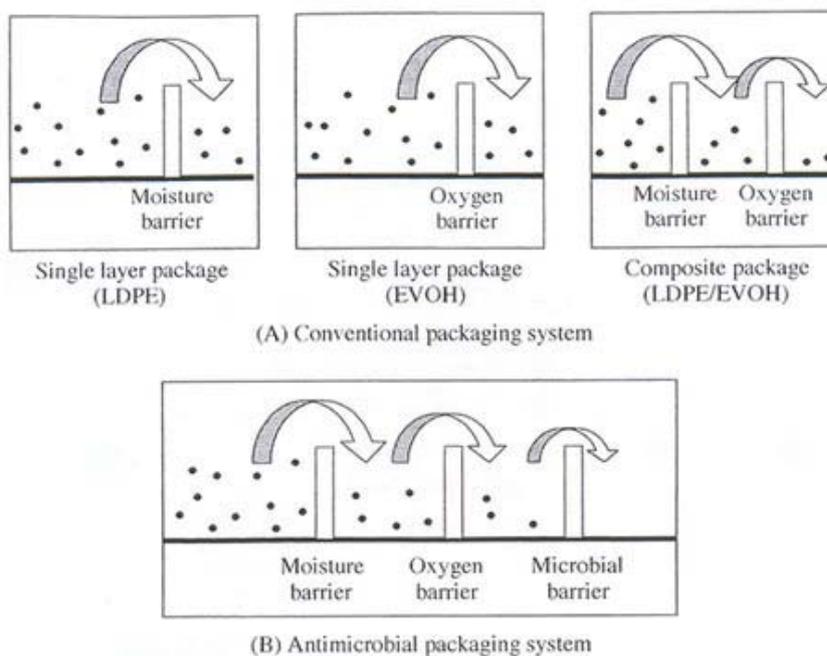
ตารางที่ 8 การบรรจุแบบแอคทีฟรูปแบบต่างๆในระบบปลดปล่อย

Packaging type	Examples of working principle/mechanism/ reagents	Purpose	Examples of possible applications
Carbon dioxide emitters (sachets)	Ascorbic acid Sodium hydrogen carbonate and ascorbate	Growth inhibition of gram-negative bacteria and moulds	Vegetables and fruits, fish, meat, poultry
Ethanol emitters (sachets)	Ethanol/water mixture absorbed onto silicon dioxide powder generating ethanol vapour	Growth inhibition of moulds and yeast	Bakery products (preferably heated before consumption) Dry fish
Antimicrobial preservative releasers (films)	Organic acids, e.g. sorbic acid Silver zeolite Spice and herb extracts Allylthiocyanate Enzymes, e.g. lysozyme	Growth inhibition of spoilage and pathogenic bacteria	Meat, poultry, fish, bread, cheese, fruit and vegetables
Sulphur dioxide emitters (sachets)	Sodium metabisulfite incorporated in microporous material	Inhibition of mould growth	Fruits
Antioxidant releasers (films)	BHA BHT Tocopherol Maillard reaction Volatiles	Inhibition of oxidation of fat and oil	Dried foodstuffs Fat-containing foodstuffs
Flavouring emitters (films)	Various flavours in polymers	Minimisation of flavour scalping Masking off-odours Improving the flavour of food	Miscellaneous
Pesticide emitters (the outer or inner layer of packaging material)	Imazalil Pyrethrins	Prevention of growth of spoilage bacteria Fungicidal or pest control	Dried, sacked foodstuffs, e.g., flour, rice, grains

ที่มา: Ahvenainen (2003)

บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

ความต้องการของผู้บริโภคสำหรับอาหารที่เติมสารกันเสียเพียงเล็กน้อย อาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำ อาหารสำเร็จรูปพร้อมรับประทานที่มีความสดใหม่ และความต้องการลดความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยจากพิษของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร เป็นแรงผลักดันให้เกิดเทคโนโลยีใหม่ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ในขณะที่อาหารนั้นยังมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ในอดีตการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ แต่เนื่องจากการได้รับอันตรายจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในอาหารและการสูญเสียประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์จากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างสารต่อต้านจุลินทรีย์และองค์ประกอบภายในอาหาร ทำให้ในปัจจุบันได้มีการนำโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์เติมลงในบรรจุภัณฑ์แทนการเติมลงในอาหาร (Li *et al.*, 2006; Conte *et al.*, 2007) เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว หน้าที่การทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ด้านการป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารจากจุลินทรีย์นอกเหนือจากการทำหน้าที่เป็นวัสดุป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจนแสดงดังภาพที่ 8 (ภาณุวัฒน์, 2547; Han, 2003)



ภาพที่ 8 การเปรียบเทียบการทำงานระหว่างบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์และบรรจุภัณฑ์ทั่วไป
ที่มา: ดัดแปลงจาก Han (2003)

บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ คือ บรรจุภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารหรือจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารได้โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรือการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์หรือระบบบรรจุ ซึ่งมีเป้าหมายหลักในการประกันความปลอดภัยของอาหาร รักษาคุณภาพของอาหาร และยืดอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานยิ่งขึ้น (Mauriello *et al.*, 2005) บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยยึดเวลาการเจริญเติบโตในระยะเริ่มต้น และลดจำนวนหรือลดอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการวิจัยในช่วงปี ค.ศ. 1978-2006 แสดงในตารางที่ 9 จากข้อมูลพบว่าการนำพอลิเมอร์ธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์มาเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ผลิตให้อยู่ในรูปฟิล์มชั้นเดียว ฟิล์มหลายชั้น หรือสารเคลือบ แล้วศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้ในอาหาร ซึ่งสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่นำมาใช้พบว่าเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ นับตั้งแต่ปี 1997 เป็นต้นมาจนถึงปัจจุบันเนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ตารางที่ 9 ระบบบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
Organic acids				
Benzoic acids	PE	Tilapia fillets	Total bacteria	1997
	Ionomer	Culture media	<i>Pen. spp.</i> , <i>Asp. niger</i>	1997
Para-benzoate	LDPE	Simulants	Migration test	2000
	PE coating	Simulants	Migration test	2001
	Styrene-acrylate	Culture media	<i>S. cerevisiae</i>	2001
Benzoic and sorbic acids	PE-co-Met-acrylate	Culture media	<i>Penn. spp.</i> , <i>Asp. niger</i>	1999
Sorbates	LDPE	Culture media	<i>S. cerevisiae</i>	1997
	OE, BOPP, PET	Water, cheese	Migration test	1998
	LDPE	Cheese	Yeast, mod	2000
	MC/palmitic acid	Water	Migration test	1997
	MC/HPMC/fatty acid	Water	Migration test	1990
	MC/chitosan	Culture media		1996
	Starch/glycerol	Chicken breast		1993
	WPI	Culture media	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Asp. niger</i> , <i>Penn. roqueforti</i>	1999
	CMC/paper	Cheese		1973
			1977	

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
	PE	Culture media	<i>S. cerevisiae</i> , molds	1993 1997
Sorbate and propionates	PE/foil	Apples	Firmness test	1999
Sorbic acid, p-aminobenzoic acid	WPI	Sliced bologna, summer sausage	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7, <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enterica</i>	2002 ²
Acetic, propionic acid Enzymes	Chitosan	Water	Migration test	2000
Lysozyme	PVOH	Water	Migration test	2003
Lysozyme, nisin, EDTA	SPI, zein	Culture media	<i>E. coli</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	1998
Lysozyme, nisin, propyl paraben, EDTA	WPI	Culture media	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7, <i>Bacillus thermosphacta</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	2000
Immobilized lysozyme	PVOH, nylon, cellulose acetate	Culture media	Lysozyme activity test	1996 1997
Glucose oxidase Bacteriocins		Fish		1986
Nisin	PE	Beef	<i>B. thermosphacta</i>	1999
	HPMC	Culture media	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	2001
	HPMC/stearic acid	Culture media	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	2002
	Corn zein	Shredded cheese	Total aerobes	2000
	Corn zein, wheat gluten	Water	Migration test	2002 ³
	Corn zein, wheat gluten	Culture media	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2003

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
	MC/LDPE, HPMC/LDPE	Peptone water	<i>L. monocytogenes</i>	2004 ⁵
Nisin, lacticins	Ethylene-co-acrylic LDPE/polyamide	Culture media Culture media	<i>Lactobacillus leichmannii</i> <i>M. flavus</i> , <i>L. monocytogenes</i>	2003 2000
Nisin, EDTA	LDPE/poly-amide PE, PE-PE oxide	Oyster, beef Beef	Total aerobes, coliform <i>B. thermosphacta</i>	2002 2001
Nisin, citrate, EDTA	PVC, nylon, LLDPE	Chicken	<i>S. typhimurium</i>	2000
Nisin, lauric acid	Corn zein	Culture media	<i>L. plantarum</i>	2000 ¹
Nisin, organic acids	Acrylics, PVA-co-PE	Water	Migration test	2001
Nisin, lauric acid	Zein	Simulants	Migration test	2001
Nisin, pediocin	Soy protein Cellulose casing	Turkey bologna Turkey breast, ham, beef	<i>L. monocytogenes</i> <i>L. monocytogenes</i>	2002 1997
Pediocin	WPI	Culture media	<i>Listeria innocua</i>	2003
Polymers				
Chitosan		Cheese	<i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i>	2002
	Chitosan/paper	Strawberry	<i>E. coli</i>	1998
	Chitosan/starch	Sliced carrot	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , total coliform, mesophilic aerobes, yeast, mold	2006 ⁹
	Chitosan/cellulose	Culture media	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	2004 ⁴
Chitosan, herb extracts	LDPE	Culture media	<i>L. plantarum</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	2000
Chitosan, nisin, garlic oil, Potassium sorbate	Chitosan	Culture media	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>B. cereus</i> <i>L. monocytogenes</i>	2005 ⁷
Chitosan, nisin, allyl isothiocyanate	Chitosan	Fermented Chinese cabbage	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>L. monocytogenes</i>	2005 ⁶

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
Chitosan acetate		Culture media	<i>E. coli</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Shigella sonnei</i>	2003
UV irradiation, excimer laser	Nylon	Culture media	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>S. aureus</i>	1995 1998
Natural extracts				
Grapefruit seed extract	LDPE, nylon	Ground beef	Total aerobic, coliform	2001
	LDPE	Lettuce, soy-sprouts	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	1998
Grapefruit seed extract, lysozyme, nisin	Na-alginate, K-carrageenan	Culture media		2002
Clove extract	LDPE	Culture media	<i>L. plantarum</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>F. oxysporum</i>	2000
Herb extract, Ag-zirconium	LDPE	Lettuce, cucumber	<i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Asp. niger</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>Asp. oryzae</i> , <i>Pen. chrysogenum</i>	1998
Cinnamaldehyde	LDPE Chitosan	Strawberry Bologna, ham	Firmness test Enterobacteria., Lactic acid bacteria, <i>Lb. sakei</i> , <i>Serratia spp.</i>	1998 2000
Horseradish oil	Paper in pouch	Ground beef	<i>E. coli</i> 0157:H7	2002 2003
Horseradish extract and <i>Lactobac. Reuteri</i> (probiotics)	PE/EVOH/PET pouch	Ground beef	<i>E. coli</i> 0157:H7	2003

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
Allyl isothiocyanate	PE film/pad	Chicken, meats, Smoked salmon	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. enteritidis</i>	2002
Green tea extract (catechins)	PVA/starch	Culture media	<i>E. coli</i>	2003
Basil extract	LDPE	Culture media	<i>E. coli</i>	2003
Anise oil, basil oil, coriander oil, oregano oil	Chitosan	Culture media, Processed meat	<i>E. coli</i> 0157:H7, <i>L. monocytogenes</i>	2005 ⁸
Oregano oil, rosemary oil, garlic oil	WPI	Culture media	<i>E. coli</i> 0157:H7, <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. plantarum</i>	2006 ¹⁰
Linalool, methylchavicol Others	LDPE			2006 ¹¹
Benomyl	Ionomer	Culture media		1989
Imazalil	LDPE	Bell pepper		1984
	LDPE	Cheese		1992
Ageless	Sachet	Bread	Molds	1989
BHT	HDPE	Breakfast cereal		1987
Ethanol	Silica gel sachet	Culture media		1978
	Silicon oxide sachet	Bakery		1987
Hinokithiol	Cyclodextrin sachet	Bakery		1997
Chlorine dioxide	Plastic films		Migration test	2001
Hexanal, hexyl acetate	Modified atmosphere packaging	Sliced apple	<i>E. coli</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>L. monocytogenes</i>	2003
Carbon monoxide	Modified atmosphere packaging	Pork chops	Total bacteria, lactic acid bacteria	2003
Triclosan	Stylene-co-acetate	Culture media	<i>Enterococcus faecalis</i>	2003
	LDPE	Chicken breast	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7	2002

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Antimicrobial agents	Packaging materials	Foods	Microorganisms	Years
Hexamethylenetetramine	LDPE	Orange juice	Yeast, lactic acid bacteria	2002
Silver zeolite, silver nitrate	LDPE	Culture media	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1995
Antibiotics	PE	Culture media	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2002

ที่มา: ¹Padgett *et al.* (2000), ²Cagri *et al.* (2002), ³Teerakarn *et al.* (2002), ⁴Wu *et al.* (2004),
⁵Grower *et al.* (2004), Han (2005), ⁶Inatsu *et al.* (2005), ⁷Pranoto *et al.* (2005), ⁸Zivanovic *et al.*
(2005), ⁹Durango *et al.* (2006), ¹⁰Seydim and Sarikus (2006), ¹¹Suppakul *et al.* (2006)

1. รูปแบบการทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

Han (2003) แบ่งการทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ออกเป็นรูปแบบหลักได้ 3 รูปแบบ คือ ระบบปลดปล่อย (releasing systems) ระบบดูดซับ (absorbing or scavenging systems) และระบบเกาะติด (immobilised systems) นอกเหนือจากรูปแบบดังกล่าวอาจแบ่งลักษณะของ บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ในรูปแบบอื่นๆ ได้แก่ สารเคลือบหรือฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด และฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ดัดแปรพื้นผิว

1.1 ระบบปลดปล่อย

ระบบปลดปล่อยเป็นระบบที่เกิดการย้ายที่ (migration) ของสารต่อต้านจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ลงสู่ผลิตภัณฑ์อาหารหรือบริเวณช่องว่างภายในบรรจุภัณฑ์ สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูปตัวถูกละลายจะไม่เกิดการย้ายที่ผ่านช่องว่างระหว่างภาชนะบรรจุและผลิตภัณฑ์อาหาร ในขณะที่สารในรูปแก๊สสามารถย้ายที่ผ่านช่องว่างดังกล่าวไปสู่บริเวณพื้นผิวของอาหารได้ บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ในระบบนี้อาจอยู่ในรูปแบบของฟิล์มเคลือบต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial coated films) ฟิล์มแต่งเติมต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial incorporated films) หรือฟิล์มดูดซับต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial adsorbed films) การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงไปในฟิล์มพลาสติกโดยตรงนั้น เป็นวิธีการที่สะดวกที่จะได้สมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม สารต่อต้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เติมลงไปในวัสดุบรรจุโดยเฉพาะฟิล์มจะ

มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 - 5.0 % w/w โดยอาจเติมลงในฟิล์มพอลิเมอร์ในช่วงของการหลอมของกระบวนการผลิตพอลิเมอร์เชิงความร้อน เช่น การอัดรีดและการฉีดขึ้นรูป ซึ่งเหมาะสมกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความเสถียรเชิงความร้อนเท่านั้น สำหรับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน เช่น เอนไซม์ และน้ำมันหอมระเหย การละลายพอลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายหรือการนำสารต่อต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวมาเคลือบบนแผ่นฟิล์มโดยใช้สารละลายพอลิเมอร์เป็นชั้นเคลือบ อาจเป็นวิธีการเตรียมพอลิเมอร์หลอมที่เหมาะสมเมื่อต้องการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีลักษณะดังกล่าวลงในพอลิเมอร์ (ภาณุวัฒน์, 2547) วิธีการนี้ออกจากสามารถป้องกันการสลายตัวของสารต่อต้านจุลินทรีย์จากความร้อนได้แล้ว ยังมีข้อดีในการช่วยลดปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ต้องเติมในฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ได้อีกด้วย (Ha *et al.*, 2001) การดูดซับสารต่อต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มพลาสติกเป็นอีกทางเลือกหนึ่งนอกเหนือจากเทคนิคการเคลือบเพื่อช่วยให้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อนสามารถเติมลงในพอลิเมอร์ได้ด้วยเทคนิคการปรับแต่งโดยใช้ตัวทำละลายหรือโครงสร้างของพอลิเมอร์และช่วยเพิ่มการดูดซับสารต่อต้านจุลินทรีย์ในพอลิเมอร์ได้

Siragusa *et al.* (1999) ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มพอลิเอทิลีนเติมไนซิน ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 %w/w ขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีด ในการยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus helveticus* และ *Brochothrix thermosphacta* ATCC 11509 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และบนผิวของเนื้อวัวห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนเติมไนซิน บรรจุแบบสุญญากาศในถุงไนลอนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าฟิล์มดังกล่าวซึ่งผ่านกระบวนการขึ้นรูปที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส สามารถรักษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ ในการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์กับอาหาร เมื่อนำขึ้นเนื้อที่ห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนเติมไนซินมาทดสอบหาปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าปริมาณการเจริญของเชื้อทดสอบลดลง 2 log₁₀ cycle ใน 2 วันแรกของการทดลอง และในวันที่ 20 ของการทดลอง ขึ้นเนื้อที่ได้รับห่อด้วยฟิล์มพอลิเอทิลีนเติมไนซินมีเชื้อทดสอบเจริญเติบโตจำนวน log₁₀5.8 cfu/cm² ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่างควบคุม (log₁₀7.2 cfu/cm²) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

Ha *et al.* (2001) ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (grapefruit seed extract) ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 % ที่ขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีดหรือการเคลือบ โดยใช้พอลิเอไมด์ที่ละลายด้วยตัวทำละลายเป็นชั้นเคลือบในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Micrococcus flavus*, *S. cerevisiae*, *A. niger* และ *Penicillium chrysogenum* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และทดสอบด้วยเทคนิค agar diffusion พบว่าการใช้อุณหภูมิสูงทำให้ฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบที่ต่ำกว่ากระบวนการเคลือบเนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์เกิดการสูญหายไปเนื่องจากความร้อน ฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีดเติมสารสกัดจากเมล็ด

อุณหภูมิความเข้มข้น 1.0 % แสดงผลต่อต้าน *M. flavus* เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ฟิล์มเคลือบเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ความเข้มข้น 1.0 % สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้หลายชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. mesenteroides*, *M. flavus* และ *S. cerevisiae* ที่ความเข้มข้น 0.5 % สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *M. flavus* ได้ การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ในการยับยั้งหรือลดการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อวัว เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าทั้งฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยการอัดรีดและการเคลือบเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่น ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 % สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดที่ต้องการอากาศ (total aerobic bacteria) และแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform bacteria) ได้ โดยฟิล์มเคลือบสามารถชะลออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ได้ระยะเวลานานกว่าฟิล์มที่ขึ้นรูปด้วยวิธีอัดรีด อย่างไรก็ตามฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (0.5 % และ 1.0 %) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในเนื้อวัว

Kim *et al.* (2002) ศึกษาการย้ายที่ของไนซินในสารละลายอะคริลิกและเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตที่เคลือบบนกระดาษในแบบจำลองอาหาร และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อนมพาสเจอร์ไรส์ และน้ำส้ม พบว่าไนซินในชั้นเคลือบเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตเกิดการย้ายที่ลงสู่แบบจำลองอาหารในอัตราที่เร็วกว่าไนซินในชั้นเคลือบอะคริลิก เนื่องจากอะคริลิกเป็นพอลิเมอร์ที่มีหมู่ที่มีสมบัติของความชอบน้ำ (hydrophilic) ในโมเลกุลสูงจึงดูดซับไนซินไว้บนพื้นผิวได้ดี ทำให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ *M. flavus* ATCC 10240 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวต่ำกว่าเอทิลีน ไวนิลเอซีเตต อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าการเจริญของ *M. flavus* เพียงเล็กน้อยในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีตัวอย่างควบคุมของกระดาษเคลือบเอทิลีน ไวนิลเอซีเตต สาเหตุดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่า การที่สารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตที่ใช้เคลือบบนกระดาษมีค่าความเป็นกรดต่างที่ระดับ 4.4 ทำให้อาจเกิดการย้ายที่ของกรดจากชั้นเคลือบลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวส่งผลต่อการถูกยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในนมพาสเจอร์ไรส์และน้ำส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดเติมไนซิน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศทั้งหมดและยีสต์ในตัวอย่างอาหารได้ โดยมีประสิทธิภาพแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.2 ระบบดูดซับ

ระบบดูดซับมีลักษณะการทำงานโดยเข้าไปกำจัดปัจจัยต่างๆที่มีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น ระบบดูดซับออกซิเจน (oxygen absorbing system) ซึ่งสามารถป้องกันการเจริญของราได้ (Han, 2003)

1.3 ระบบเกาะติด

ระบบเกาะติดเป็นการนำสารต่อต้านจุลินทรีย์เกาะติดบริเวณผิวของบรรจุภัณฑ์อาหาร ลักษณะการทำงานจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่บริเวณพื้นผิวสัมผัสของบรรจุภัณฑ์กับอาหาร โดยไม่มีการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ออกจากบรรจุภัณฑ์ ระบบนี้อาจมีประสิทธิภาพที่ลดลงหากนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นของแข็งเนื่องจากมีพื้นที่บริเวณผิวสัมผัสน้อยระหว่างอาหารกับบรรจุภัณฑ์

ฟิล์มเกาะติดต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial immobilized films) เป็นระบบการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งมีการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์เกาะติดกับผิวบรรจุภัณฑ์โดยอาศัยพันธะโควาเลนต์หรือพันธะไอออนิก ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Conte *et al.*, 2007) การเกาะติดจะต้องอาศัยหมู่ฟังก์ชันทั้งของสารต่อต้านจุลินทรีย์และพอลิเมอร์ ตัวอย่างของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันได้แก่ เปปไทด์ เอนไซม์ พอลิเอมีน และกรดอินทรีย์ ตัวอย่างของพอลิเมอร์ซึ่งใช้ในการบรรจุอาหารซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันได้แก่ เอทิลีน ไวนิลเอซีเตต พอลิเอทิลีน โคลิพอลิเมอร์ เป็นต้น ระบบนี้จะใช้ในกรณีที่สารต่อต้านจุลินทรีย์ไม่ได้รับอนุญาตทางกฎหมายให้มีการเคลื่อนย้ายลงสู่อาหาร (ภาควิวัฒน์, 2547)

1.4 สารเคลือบหรือฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด

พอลิเมอร์บางชนิดแสดงคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิดและนำมาประยุกต์ใช้ในสารเคลือบ ฟิล์มพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก เช่น โคลิโดแซน จะก่อให้เกิดการจับตัวของเซลล์ ซึ่งส่งผลให้เกิดการรั่วของสารสำคัญภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เนื่องจากประจุบวกของเอมีนในโคลิโดแซนเข้าทำปฏิกิริยาสัมพันธ์กับประจุลบของเยื่อหุ้มเซลล์ อย่างไรก็ตาม Ouattara *et al.* (2000), Cha *et al.* (2003) และ Pranoto *et al.* (2005) รายงานว่าฟิล์มโคลิโดแซนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบบางชนิดได้ เนื่องจากการยึดเกาะกันแน่นของโมเลกุลโคลิโดแซนในโครงสร้างของฟิล์มทำให้ไม่สามารถละลายออกมาและแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ หรือเกิดจากปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ทดสอบที่ใช้มากเกินไป อย่างไรก็ตามสามารถใช้โคลิโดแซนร่วมกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ เช่น สารสกัดจากพืช สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Zivanovic *et al.*, 2005)

Cha *et al.* (2003) ทดลองเติมไนซินในสารละลายฟิล์มโคลิโดแซนผสมเมทิลเซลลูโลส ขึ้นรูปฟิล์มด้วยกระบวนการหล่อ (casting) แล้วทดสอบความสามารถในการแพร่ของไนซินและประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ATCC 10240 ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค plate diffusion พบว่าเนื่องจากโครงสร้างของไนซินและโคลิโดแซนมีประจุบวก จึงไม่เกิดอันตรกิริยาระหว่างประจุของสารทั้งสองชนิด ทำให้ไนซินแพร่ออกจากฟิล์มและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ดี

Pranoto *et al.* (2005) ทดสอบสมบัติของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์จากไคโตแซนเติมสารสกัดจากกระเทียมหรือโนซินเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* และ *B. cereus* สมบัติทางกล สมบัติทางกายภาพ และการเกิดอันตรกิริยาของหมู่ฟังก์ชันระหว่างฟิล์มไคโตแซนกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ พบว่าการเติมสารสกัดจากกระเทียมความเข้มข้นอย่างน้อย 100 μg หรือโนซินความเข้มข้น 51,000 IU/g แสดงบริเวณยับยั้งแบคทีเรียทดสอบรอบแผ่นฟิล์มได้โดยเฉพาะ *L. monocytogenes* พบว่ามีความไวต่อโนซินมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 28.67 mm อย่างไรก็ตามฟิล์มดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. typhimurium* ได้เพียงบริเวณใต้ผิวสัมผัสกับแผ่นฟิล์มเท่านั้น การศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างฟิล์มไคโตแซนและสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมโดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) พบว่าการเติมสารสกัดจากกระเทียมความเข้มข้น 100 - 400 μg ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไคโตแซน ในขณะที่การเติมโนซินทำให้เกิดฟิสิกส์ตำแหน่งหมู่เอมีนของฟิล์มไคโตแซนเกิดการเปลี่ยนแปลง การเติมโนซินทำให้สมบัติทางกายภาพและสมบัติด้านการซึมผ่านของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีความต้านทานแรงดึงขาดลดลงและความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มควบคุม ในขณะที่การเติมสารสกัดจากกระเทียมไม่มีความแตกต่างของสมบัติดังกล่าวทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

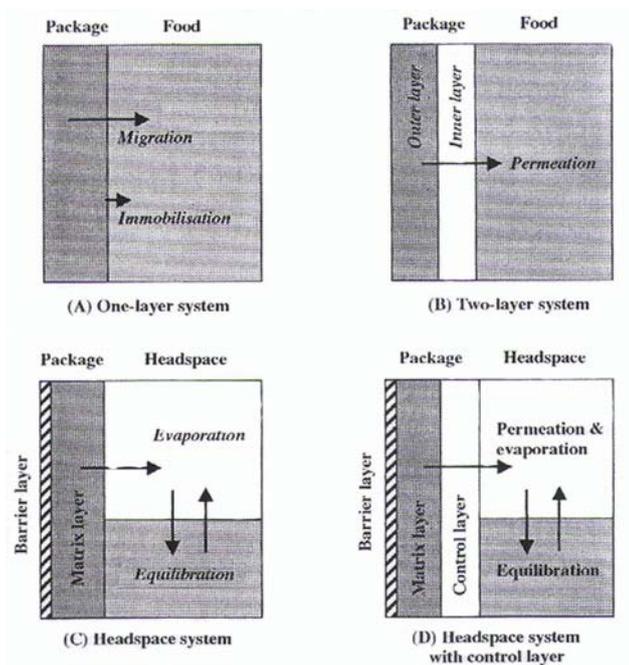
Zivanovic *et al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *E. coli* 0157:H7 ของฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนเติมน้ำมันหอมระเหยจากยี่ห่วยี่ (anise) กระเพรา ผักชี (coriander) และออริกานโนในอาหารเลี้ยงเชื้อและเนื้อสัตว์และศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม พบว่าฟิล์มไคโตแซนเติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกานโนความเข้มข้นอย่างน้อย 1 %w/w ของสารละลายฟิล์มไคโตแซน มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *E. coli* เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยจากยี่ห่วยี่ โหระพา และผักชี โดยสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli* เริ่มต้นที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เป็นจำนวน $3.6 \log_{10}$ - $4 \log_{10}$ cycle และ $3 \log_{10}$ cycle ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆในฟิล์มไคโตแซนแสดงผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิดน้อยกว่าการทดสอบด้วยเทคนิค agar disc diffusion ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการสูญเสียองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยไประหว่างกระบวนการขึ้นรูปฟิล์ม หรือเกิดจากอัตราการแพร่ของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่เท่ากันระหว่างฟิล์มไคโตแซนและกระดาษกรอง เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประเภทไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ดังนั้นการเติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกานโนลงในฟิล์มไคโตแซนจึงทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มลดลงและมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของความหนาและความยืดหยุ่น ในขณะที่ความต้านทานแรงดึงขาดและความต้านทานแรงทิ่มทะลุของฟิล์มลดลง

1.5 फिल्मต่อต้านจุลินทรีย์ตัดแปรพื้นผิว

การตัดแปรพื้นผิวของพอลิเมอร์เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถก่อให้เกิดคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มได้ การตัดแปรอิเล็กทรอนิกส์ของพอลิเมอร์ก่อให้เกิดหมู่เอมีนเกิดขึ้นที่ผิวฟิล์มซึ่งมีสมบัติทำลายจุลินทรีย์ได้ เช่น การใช้ยูวีเอ็กซ์ไซเมอร์เลเซอร์ (uv excimer laser) ตัดแปรพื้นผิวของฟิล์มในลอน 6,6 พบว่า 10 % ของหมู่เอไมด์ถูกเปลี่ยนกลายเป็นเอมีนซึ่งเกาะอยู่กับสายโซ่พอลิเมอร์ (ภาณุวัฒน์, 2547)

2. โครงสร้างของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์เกิดจากการรวมกันของสารต่อต้านจุลินทรีย์และวัสดุบรรจุ โดยสารต่อต้านจุลินทรีย์จะถูกเติมลงในวัสดุบรรจุ เกาะติดหรือเคลือบบนพื้นผิวของวัสดุบรรจุ ซึ่งจะเป็นวิธีการใดนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะของระบบบรรจุที่สร้างขึ้น สารต่อต้านจุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ที่บรรจุภายใน สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ถูกเติมในวัสดุบรรจุสามารถย้ายที่ลงสู่ผลิตภัณฑ์อาหาร ในขณะที่สารต่อต้านจุลินทรีย์ในระบบแบบเกาะติดไม่สามารถย้ายที่ออกจากบริเวณพื้นผิวของวัสดุบรรจุได้ ภาพที่ 9 อธิบายระบบของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์และลักษณะการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ในระบบบรรจุแบบต่างๆ จากภาพแสดงให้เห็นว่าสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมหรือเกาะติดในวัสดุบรรจุระบบ a และ b เกิดการย้ายที่ลงสู่ผลิตภัณฑ์อาหารโดยกระบวนการแพร่ (diffusion) ในขณะที่ระบบ c และ d สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารระเหยได้เกิดการปลดปล่อยสู่ช่องว่างภายในภาชนะบรรจุโดยกระบวนการระเหย (evaporation) การควบคุมอัตราการแพร่ของสารต่อต้านจุลินทรีย์จากวัสดุบรรจุลงสู่ผลิตภัณฑ์อาหารหรือช่องว่างภายในภาชนะบรรจุสามารถทำได้โดยมีชั้นฟิล์มที่ทำหน้าที่ขัดขวางการแพร่ของสารต่อต้านจุลินทรีย์แทรกอยู่ระหว่างชั้นของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์อาหารดังแสดงในระบบ b และ d



ภาพที่ 9 ระบบการทำงานของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

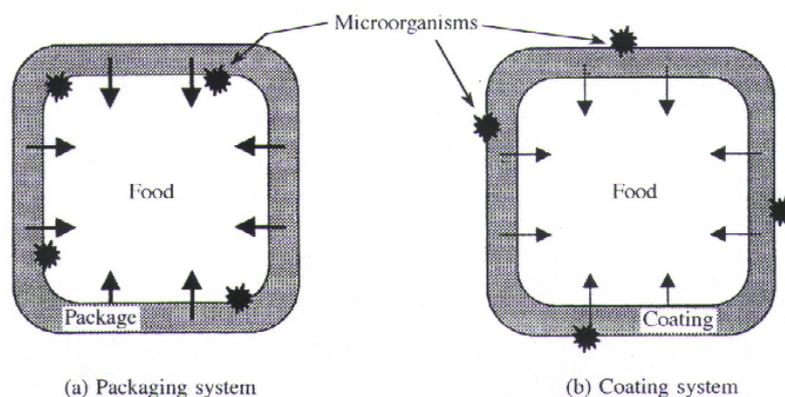
ที่มา: Han (2003)

ในกรณีที่สารต่อต้านจุลินทรีย์ไม่สามารถระเหยได้ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นต่อเมื่อบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์นั้นสัมผัสกับพื้นผิวของอาหาร ดังนั้นลักษณะของพื้นผิวและจลนศาสตร์การแพร่จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง นอกจากนี้การใช้ฟิล์มหลายชั้นในการควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ไปสู่พื้นผิวอาหารได้อย่างเหมาะสมเป็นสิ่งที่จะต้องพิจารณา โดยฟิล์มชั้นในจะเป็นชั้นควบคุมอัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ ในขณะที่ฟิล์มเมทริกจะมีสารออกฤทธิ์อยู่ในองค์ประกอบและฟิล์มชั้นนอกทำหน้าที่กั้นการซึมผ่านและป้องกันการย้ายที่ของสารออกไปสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกภาชนะบรรจุ (ภาณุวัฒน์, 2547)

3. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์

ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ ปัจจัยต่างๆที่ควรนำมาพิจารณา เช่น ลักษณะของสารต่อต้านจุลินทรีย์ กระบวนการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในวัสดุบรรจุ การซึมผ่านและการระเหยของสารต่อต้านจุลินทรีย์ กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต่อต้านจุลินทรีย์กับวัสดุบรรจุ ความต้านทานของจุลินทรีย์ กลไกและอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและสารต่อต้านจุลินทรีย์ สภาวะการเก็บรักษาและการขนส่ง สภาวะการขึ้นรูปฟิล์ม คุณสมบัติทางฟิสิกส์และสมบัติทางกลของวัสดุบรรจุที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ ความเป็นพิษและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค และข้อกฎหมายที่มีการบังคับใช้

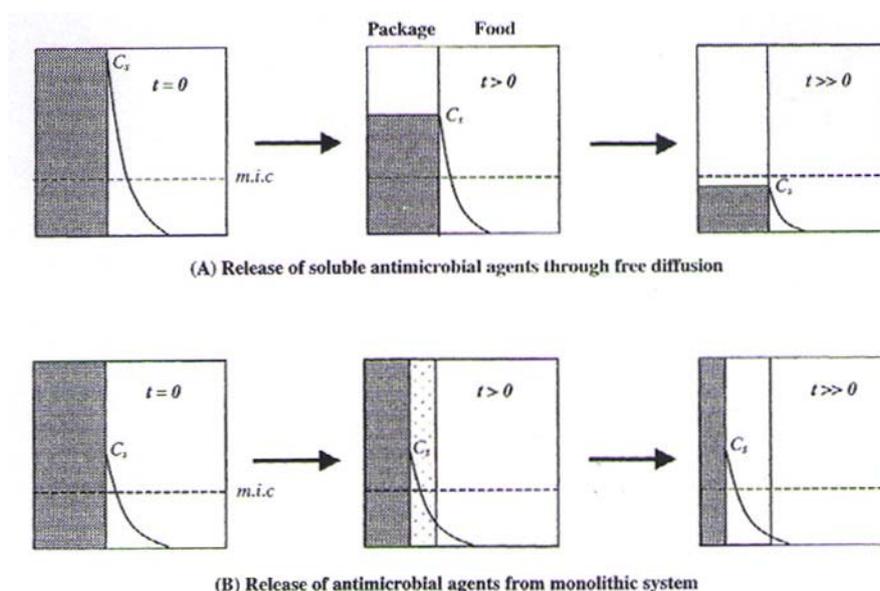
สารต่อต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติเฉพาะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงต้องเลือกสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการ และมีอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์สัมพันธ์กับอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุบรรจุในอัตราที่เร็วกว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะถูกทำลายหรือสูญเสียประสิทธิภาพไปก่อนเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์ของจุลินทรีย์ ในทางตรงกันข้ามหากอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ช้าเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตก่อนที่สารต่อต้านจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมา ภาพที่ 10 อธิบายการถ่ายเทมวลสารและการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ (a) และสารเคลือบต่อต้านจุลินทรีย์ (b) สารต่อต้านจุลินทรีย์ทั้งสองระบบจะย้ายที่ลงสู่อาหารและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของอาหารในภาชนะบรรจุระหว่างกระบวนการเก็บรักษาและการขนส่ง โดยส่วนใหญ่แล้วระบบ a จะเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของอาหารที่บรรจุในภาชนะบรรจุ ในขณะที่ระบบ b มักเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของชั้นเคลือบ อย่างไรก็ตามการย้ายที่ของสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงสู่อาหารทำให้ปริมาณความเข้มข้นของสารดังกล่าวลดลงและลดประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นการที่จะทำให้บรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพได้ดีนั้นจะต้องควบคุมระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวของอาหารให้มีค่ามากกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (minimum inhibitory concentration, MICs)



ภาพที่ 10 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มและสารเคลือบต่อต้านจุลินทรีย์
ที่มา: Han (2003)

สมบัติทางเคมีของสารต่อต้านจุลินทรีย์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ สารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดสามารถละลายได้ในน้ำ ในขณะที่บางชนิดไม่สามารถละลายในน้ำได้ และโดยส่วนใหญ่สารต่อต้านจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพที่เปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร ดังนั้นการเลือกใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์จึงควรพิจารณาในแง่ของความเข้ากันได้ระหว่างวัสดุบรรจุกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ ร่วมกับค่าความเป็นกรดต่างของอาหารที่จะทำการบรรจุด้วย

ความสามารถในการละลายของสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงสู่อาหารเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องพิจารณา ภาพที่ 11 แสดงการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์จากภาชนะบรรจุลงสู่อาหารในระบบต่างๆ จากภาพพื้นที่สีเทาหมายถึงบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ พื้นที่สีขาวหมายถึงอาหาร เส้นประในแนวนอนบริเวณด้านล่างหมายถึงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ได้ในระบบ (A) แสดงถึงการย้ายที่ของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายในอาหารได้ดีจากภาชนะบรรจุลงสู่บริเวณพื้นผิวอาหาร (Cs) เมื่อเวลาผ่านไปความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ทั้งในภาชนะบรรจุและบริเวณพื้นผิวอาหารจะมีปริมาณลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งมีค่าต่ำกว่าค่า MICs ทำให้สูญเสียประสิทธิภาพในการทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ ในขณะที่ระบบ (B) แสดงถึงการย้ายที่ของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายได้น้อยในอาหาร ซึ่งจะมีความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์บริเวณพื้นผิวอาหาร (Cs) ในปริมาณต่ำ และสามารถละลายได้ในอาหารในปริมาณคงที่แม้ว่าความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ภายในภาชนะบรรจุจะลดลง ดังนั้นระบบนี้จึงสามารถรักษาระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่บริเวณพื้นผิวอาหารให้สูงกว่าค่า MICs ได้นานกว่าระบบ (A) ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ยาวนานขึ้นด้วย



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์
ที่มา: Han (2003)

อุณหภูมิและระยะเวลาระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้หากอยู่ในสภาวะของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม ดังนั้นการป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนสามารถทำได้โดยการควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งให้อยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์

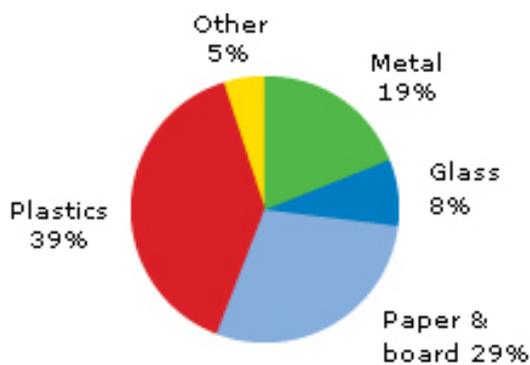
กระบวนการแปรรูปฟิล์มหรือวัสดุบรรจุภัณฑ์มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ วิธีการแปรรูปที่มีการใช้ความร้อน เช่น การอัดรีด อุณหภูมิสูงในระหว่างกระบวนการผลิตทำให้สารต่อต้านจุลินทรีย์เกิดการเสื่อมสลายทางความร้อน (Suppakul *et al.*, 2003a) ในขณะที่กระบวนการแปรรูปที่ใช้ตัวทำละลายในการละลายและขึ้นรูปพอลิเมอร์ควรพิจารณาในด้านความสามารถในการละลายและความไวปฏิกิริยาของสารต่อต้านจุลินทรีย์และพอลิเมอร์ต่อตัวทำละลาย เนื่องจากความสามารถในการละลายมีความสัมพันธ์กับความเป็นเนื้อเดียวกันของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในวัสดุพอลิเมอร์ และหากสารต่อต้านจุลินทรีย์มีความไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยากับตัวทำละลายอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารดังกล่าวถูกทำลายลง

ปริมาณของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงในวัสดุบรรจุภัณฑ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางกลของบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์ สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีอนุภาคขนาดเล็กสามารถแทรกอยู่ได้ในระหว่างบริเวณออสัญฐานของโครงสร้างของพอลิเมอร์ การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้สารดังกล่าวเข้าไปขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาของสายโซ่พอลิเมอร์บริเวณโครงสร้างผลึกและทำให้บริเวณออสัญฐานเกิดการอิมัลชัน ส่งผลให้สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางกลของพอลิเมอร์เกิดการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในพอลิเมอร์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติดังกล่าว เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ในระบบบรรจุภัณฑ์ต่อต้านจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่จะเกิดการสัมผัสบริเวณพื้นผิวอาหารและหรือย้ายที่ลงสู่อาหาร ดังนั้นการนำสารต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิดที่มีกลิ่นเฉพาะตัวมาใช้งาน จึงต้องคำนึงถึงการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคด้วย

พอลิเมอร์

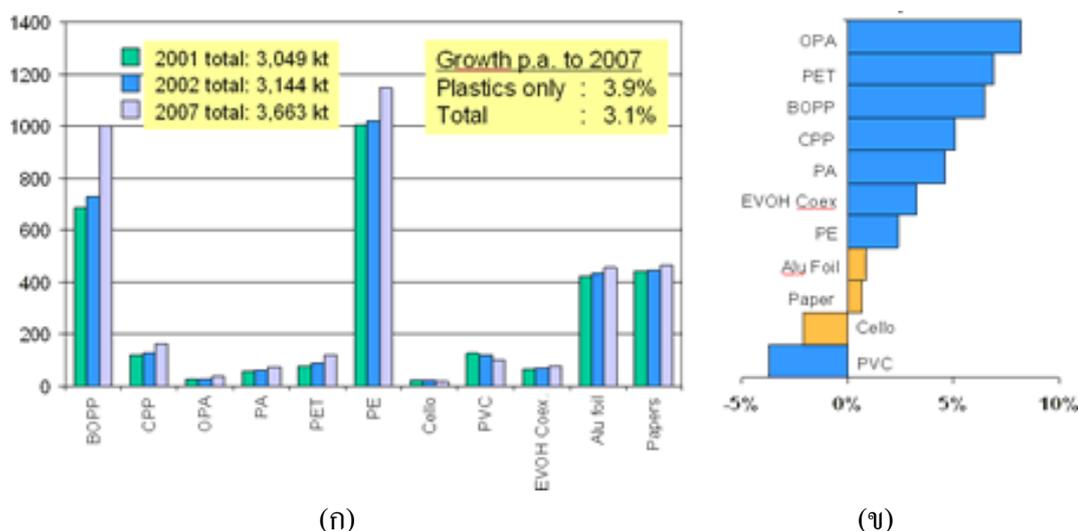
ในการออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารนั้น การเลือกใช้วัสดุบรรจุที่เหมาะสมกับอาหารแต่ละประเภทมีความสำคัญต่อการรักษาคุณภาพของอาหารในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งจากผู้ผลิตถึงผู้บริโภค วัสดุบรรจุที่ใช้ทั่วไปในทางการค้าสำหรับบรรจุอาหารมีหลายประเภท เช่น แก้ว โลหะ กระดาษ และพลาสติก ถึงแม้ว่าแก้วและโลหะจะมีสมบัติในการปกป้องอาหารจากสิ่งแวดล้อมภายนอกได้อย่างดีเยี่ยม แต่จากข้อเสียในด้านราคาและน้ำหนักของแก้วและโลหะ ทำให้ในทางการค้านิยมใช้พลาสติกเพิ่มมากขึ้น (Cutter, 2002) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพลาสติกกับวัสดุบรรจุชนิดอื่นที่ใช้บรรจุอาหารแล้ว พบว่ามีปริมาณการใช้พลาสติกคิดเป็นมูลค่าประมาณ 39 % ของมูลค่าบรรจุภัณฑ์ทั้งหมด 370 ล้านเหรียญสหรัฐ ดังแสดงในภาพที่ 12 และเป็นบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว (flexible packaging) ในรูปฟิล์มเป็นส่วนใหญ่ (Anonymous, 2001) ฟิล์มพลาสติกที่ผลิตขึ้นสำหรับการบรรจุอาหารนิยมผลิตในรูปแบบถุงและนิยมนำใช้พลาสติกประเภทเทอร์โมเซตเป็นวัตถุดิบในการผลิต เนื่องจากง่ายต่อการขึ้นรูปและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (Marsh and Buguru, 2007) จากการสำรวจพบว่าปริมาณการใช้พลาสติกมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์อาหารในอัตราที่สูงขึ้น โดยเฉพาะพลาสติกในกลุ่มของพอลิเอทิลีนและพอลิโพรพิลีนนับตั้งแต่ปี ค.ศ. 2001 - 2007 เป็นต้นมา ดังแสดงในภาพที่ 13

พอลิเมอร์ หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เกิดขึ้นในธรรมชาติหรือสังเคราะห์ขึ้นมา ประกอบด้วยหน่วยเคมีเล็กๆซึ่งเหมือนกันที่เรียกว่า มอนอเมอร์ (monomer) ชนิดเดียวกันหรือต่างกัน มาต่อกันด้วยพันธะเคมี สามารถแบ่งชนิดของพอลิเมอร์ตามแหล่งกำเนิดออกเป็น 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น โปรตีนและไบโอพอลิเมอร์ หรือพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ได้จากกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันของมอนอเมอร์ เช่น พอลิเอทิลีน เป็นต้น (เจริญ, 2547) ฟิล์มพลาสติกจัดเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีสมบัติเป็นตัวขัดขวางไอน้ำและแก๊สออกซิเจนซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสีย และมีสมบัติทางกลที่ดีในด้านความคงตัวและความยืดหยุ่นเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร (Soroka, 2002) อย่างไรก็ตามเนื่องจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ ทำให้ฟิล์มบริโภคได้ซึ่งอยู่ในกลุ่มพอลิเมอร์ธรรมชาติเริ่มได้รับความนิยมและมีการศึกษาวิจัยกันมากขึ้น เนื่องจากช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ (Cagri *et al.*, 2004)



ภาพที่ 12 สัดส่วนของบรรจุภัณฑ์ประเภทต่างๆที่มีการใช้ในตลาดโลกปี ค.ศ. 2005

ที่มา: Anonymous (2005)

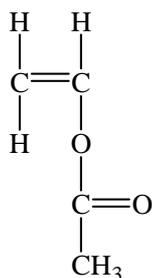


ภาพที่ 13 (ก) ปริมาณการใช้บรรจุภัณฑ์อ่อนตัวปี ค.ศ. 2001-2007 และ (ข) อัตราการเจริญเติบโตของบรรจุภัณฑ์อ่อนตัวปี ค.ศ. 2002-2007 ของทวีปยุโรป

ที่มา: Anonymous (n.d.)

1. เอทิลีนไวนิลแอซีเตต

เอทิลีนไวนิลแอซีเตต (ethylene vinyl acetate, EVA) เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ผลิตได้จากกระบวนการเกิดพอลิเมอร์ร่วม (copolymerization) ระหว่างมอนอเมอร์ของเอทิลีนและไวนิลแอซีเตต ไวนิลแอซีเตตที่อยู่ในโครงสร้างจะเป็นตัวขัดขวางการจัดเรียงตัวของโมเลกุล และเป็นสาเหตุทำให้เอทิลีนไวนิลแอซีเตตแสดงความมีขี้มามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene, LDPE) (Meszlényi and Körtvélyessy, 1999) เอทิลีนไวนิลแอซีเตตมีสมบัติเด่นในด้านความยืดหยุ่น ความเหนียว (toughness) และสามารถปิดผนึกได้ด้วยความร้อน โครงสร้างของเอทิลีนไวนิลแอซีเตตแสดงดังภาพที่ 14



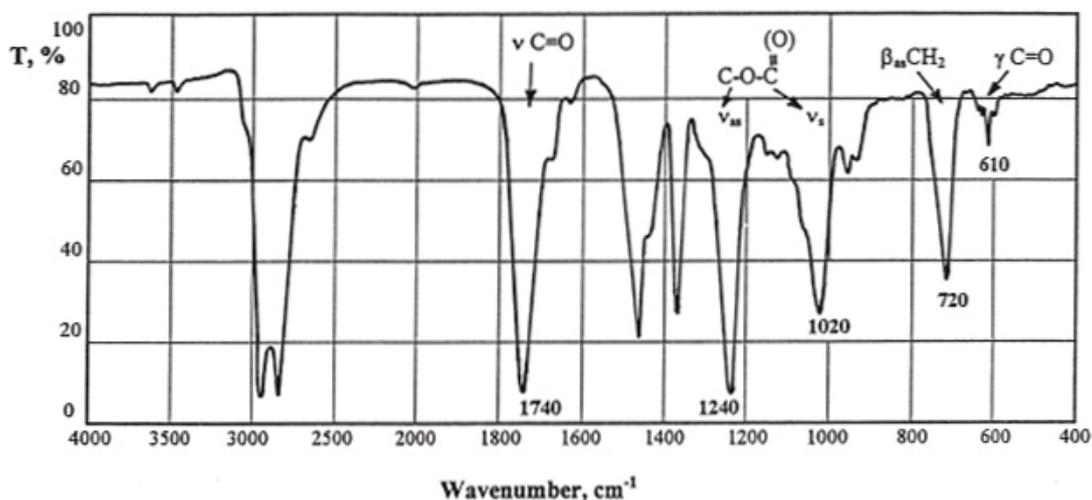
ภาพที่ 14 โครงสร้างของเอทิลีนไวนิลเอซีเตต

ที่มา: Hernandez *et al.* (2000)

เอทิลีนไวนิลเอซีเตตเป็น โคลิโพลิเมอร์ที่มีการจัดเรียงตัวแบบสุ่มซึ่งสมบัติด้านต่างๆขึ้นอยู่กับ น้ำหนักโมเลกุลและปริมาณไวนิลเอซีเตตที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง ปริมาณไวนิลเอซีเตตสามารถ มีได้ตั้งแต่ 5 - 50 % ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการผลิตเพื่อให้ได้โพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการ (Soroka, 2002) ปริมาณไวนิลเอซีเตตที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความเป็นผลึกของโพลิเมอร์ลดลงและมีความ เป็นอสัณฐานเพิ่มขึ้น ทำให้โพลิเมอร์ดังกล่าวมีความใส ความยืดหยุ่นที่อุณหภูมิต่ำ ความต้านทานต่อแรง ตกกระแทก และสมบัติในด้านการเป็นตัวยึดติดดีขึ้นด้วย เนื่องจากคุณสมบัติในด้านการเป็นตัวยึดติดที่ดีและ มีความง่ายต่อกระบวนการแปรรูปจึงมักนิยมนำเอทิลีนไวนิลเอซีเตตมาขึ้นรูปด้วยวิธีการเคลือบหรือการ อัดรีด อย่างไรก็ตามเอทิลีนไวนิลเอซีเตตมีข้อจำกัดในด้านความคงตัวต่อความร้อนและมีอุณหภูมิในการ หลอมเหลวต่ำ แต่เนื่องจากโพลิเมอร์ชนิดนี้มีความเหนียวที่อุณหภูมิต่ำจึงทำให้สามารถนำมาใช้เป็นภาชนะ บรรจุประเภทถุงน้ำแข็ง และฟิล์มยึดสำหรับห่อผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสดได้ (Hernandez *et al.*, 2000) เป็น ต้น

ใน โมเลกุลของสารอินทรีย์การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังก์ชันที่เกิดจากการสั่นและการงอ จะเกิดในช่วงความถี่ที่เสมอ ดังนั้นอินฟราเรดสเปกตรัมจึงเป็นประโยชน์ในการบ่งบอกชนิดของหมู่ ฟังก์ชันในสารตัวอย่างได้ การวิเคราะห์ชนิดของหมู่ฟังก์ชันใน โครงสร้างของเอทิลีนไวนิลเอซีเตตด้วย เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy , FTIR) พบว่าอินฟราเรดสเปกตรัมของไวนิลเอซีเตต ได้แก่ พันธะ C = O ยึด ที่ตำแหน่ง 1740 cm^{-1} พันธะ C - O ยึด ของหมู่เอสเตอร์ ที่ตำแหน่ง 1230 และ 1020 cm^{-1} พันธะ C - H งอ ของหมู่เมทิล ที่ตำแหน่ง 1375 cm^{-1} และพันธะ CH_2 งอแบบกรรไกร ของหมู่เมทิล ที่ตำแหน่ง 1440 cm^{-1} นอกจากนี้ไวนิลเอซีเตตแล้ว เอทิลีนไวนิลเอซีเตตเป็น โคลิโพลิเมอร์ที่มีเอทิลีนอยู่ใน โครงสร้างด้วย การมีหมู่ - CH_2 - เพิ่มขึ้นทำให้มี อินฟราเรดสเปกตรัมของเอทิลีนเกิดขึ้นด้วย ได้แก่ พันธะ C - H ยึด ที่ตำแหน่ง 2916 cm^{-1} (Nishikida and Coates, 2003)

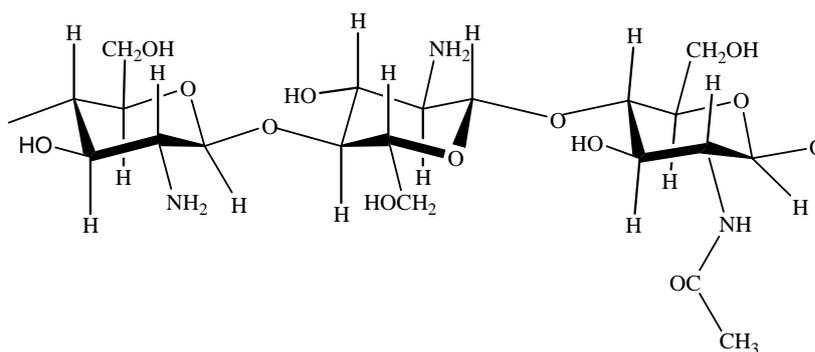
Meszlényi and Körtvélyessy (1999) ใช้เทคนิคฟูรีเยร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการทดสอบหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มเอทิลีนไวนิลเอซีเตตความหนา 20 μm ได้แถบดูดกลืนรังสีอินฟราเรดที่ตำแหน่งเลขคลื่น (wavenumber, cm^{-1}) ต่างๆที่บ่งบอกถึงไวนิลเอซีเตตกรุป ดังนี้คือ 1740 cm^{-1} , 1240 cm^{-1} , 1020 cm^{-1} และ 610 cm^{-1} และตำแหน่งเลขคลื่นที่บ่งบอกเอทิลีนกรุป คือ 2920 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} และ 720 cm^{-1} ตำแหน่งเลขคลื่นและหมู่ฟังก์ชันของเอทิลีนไวนิลเอซีเตตแสดงดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 หมู่ฟังก์ชันและตำแหน่งเลขคลื่นของเอทิลีนไวนิลเอซีเตต
ที่มา: Meszlényi and Körtvélyessy (1999)

2. ไคโตแซน

ไคโตแซนเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติมีชื่อทางเคมีว่า Poly (1,4- β -D-glucopyranosamine) เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่เอซิทิล (Deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น (Wu *et al.*, 2004) ทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไปโดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชันที่มีธาตุไนโตรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 โครงสร้างไคโตแซนแสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 โครงสร้างไคโตแซน

ที่มา: Stephen (1995)

ไคโตแซนจัดเป็นโคพอลิเมอร์ของแอสีทิลกลูโคซามีน (acetylglucosamine) และกลูโคซามีน (glucosamine) มีประจุบวกเนื่องจากมีหมู่อะมิโน ($-NH^+$) ในโครงสร้างโมเลกุล สามารถละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ เช่น กรดแอสिटิก กรดโพรพานิก กรดแลคติก เป็นต้น มีความสามารถในการจับกับไอออนของโลหะ (Guibal, 2005) และมีสมบัติในการขึ้นรูปฟิล์มที่ดี ฟิล์มที่ผลิตจากไคโตแซนมีลักษณะใส เหนียว และยืดหยุ่นได้ (Krochta and Mulder-Johnston, 1997) ไคโตแซนสามารถเกิดโครงสร้างที่เป็นร่างแห (matrix) มีลักษณะเป็นเจล (ionotropic gel) ซึ่งสามารถหุ้มสารที่จะพาไว้ข้างในได้ (พิสิญฐ์, 2544) ทำให้ไคโตซานมีความสามารถในการเป็นตัวพา (carrier) โดยการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มเพื่อให้เห็นสมบัติของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ได้ (Cagri *et al.*, 2004) นอกจากนี้โดยธรรมชาติไคโตแซนมีสมบัติที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิดทั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรีย เนื่องจากในโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยประจุบวกของหมู่อะมิโนซึ่งจะทำปฏิกิริยากับประจุลบของเซลล์จุลินทรีย์ทำให้เซลล์แตกและจุลินทรีย์ถูกทำลาย (Coma *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2004; Pranoto *et al.*, 2005)

3. การขึ้นรูปพอลิเมอร์

การขึ้นรูปพอลิเมอร์สามารถทำได้โดยการหลอมพอลิเมอร์ด้วยความร้อนหรือตัวทำละลายให้อยู่ในลักษณะของของเหลวหนืด แล้วใช้ความเย็นทำให้พอลิเมอร์แข็งตัว (Hatzikiriakos and Migler, 2005) การขึ้นรูปพอลิเมอร์ในรูปฟิล์มสามารถทำได้ด้วยกระบวนการอัดรีด กระบวนการเป่าฟิล์ม (blown film process) กระบวนการหล่อ และกระบวนการเคลือบ (Ha *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002; Grower *et al.*, 2004; Mariani *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2005; Pehlivan *et al.*, 2005; Pinotti *et al.* (2007) ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วพบว่า การขึ้นรูปในระดับการผลิตนิยมใช้วิธีการหล่อและวิธีการเคลือบมากที่สุดเนื่องจากสามารถทำได้ง่ายและอุปกรณ์ที่ใช้ขึ้นรูปมีราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น

กระบวนการหล่อเป็นกระบวนการที่ใช้ขึ้นรูปฟิล์มที่มีความดันต่ำและอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งตรงข้ามกับการขึ้นรูปด้วยวิธีอัดรีดและการเป่าซึ่งทำที่อุณหภูมิและความดันสูง เป็นการหล่อฟิล์มโดยใช้พอลิเมอร์ที่อยู่ในรูปสารละลายหรือพอลิเมอร์หลอมที่ละลายในตัวทำละลาย แล้วระเหยตัวทำละลายออกเกิดเป็นแผ่นฟิล์มขึ้น ส่วนกระบวนการเคลือบเป็นการทำให้เกิดชั้นของพอลิเมอร์บนแผ่นรองรับ เช่น ฟิล์ม ทำให้ได้ฟิล์มที่มีชั้นของพอลิเมอร์เคลือบอยู่เป็นชั้นบาง (Soroka, 2002) ส่วนใหญ่แล้วความหนาของการเคลือบอยู่จะในช่วง 0.05 - 0.1 mm เทคนิคการเคลือบสามารถทำได้หลายเทคนิค แต่ที่ใช้กันทั่วไป คือ การเคลือบโดยใช้ลูกกลิ้ง (roller techniques) เนื่องจากเป็นเทคนิคการเคลือบที่ง่ายที่สุดโดยใช้แท่งโลหะ (mayer rod coating) หรือใบมีด (doctor blade) ปาดสารละลายพอลิเมอร์หลอมลงบนแผ่นฟิล์ม พอลิเมอร์หลอมที่ป้อนเข้าสู่ช่องว่างของลูกกลิ้งเพื่อใช้เป็นวัสดุเคลือบอาจเตรียมโดยการใช้ความร้อนและความดันจากเครื่องอัดรีดหรือใช้ตัวทำละลายก็ได้ (เจริญ, 2547)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

- 1.1 ฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE)
- 1.2 เม็ดพลาสติกเอทิลีนไวนิลเอซีเตด ปริมาณไวนิลเอซีเตด 33% (Du Pont™ Elvaxเกรด EVAflex 150) ของ Du Pont ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 1.3 เม็ดพลาสติกเอทิลีนไวนิลเอซีเตด ปริมาณไวนิลเอซีเตด 41% (Du Pont™ Elvaxเกรด EVAflex 40w) ของ Du Pont ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 1.4 ไคโตแซน ของบริษัททีซียูเนี่ยน ฟู้ดส์ ประเทศไทย (degree of deacetylation 94.0%)

2. จุลินทรีย์ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย

- 2.1 *Escherichia coli* ATCC 25922 DMST 4212
- 2.2 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DMST 8840
- 2.3 *Bacillus cereus* ATCC 11778 DMST 5040
- 2.4 *Listeria monocytogenes* DMST 17303

3. สารเคมี

3.1 สารต่อต้านจุลินทรีย์

- 3.1.1 ไทมอล (thymol 99 % FCC) ของ Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.2 ยูจีนอล (eugenol 98 % natural) ของ Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.3 ไนซิน (nisin) ของ Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) ของ Merck KGaA ประเทศเยอรมนี
- 3.2.2 ำวน (agar)

- 3.3 โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (sodium dihydrogen orthophosphate) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.4 ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (disodium hydrogen orthophosphate) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.5 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ความเข้มข้น 37% ของ Scharlau Chemie S.A. ประเทศสเปน
- 3.6 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) ของ Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.7 กรดแอซีติก (acetic acid) ของ BDH Laboratory Supplies ประเทศอังกฤษ
- 3.8 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.9 แมกนีเซียมไนเตรต (magnesium nitrate) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.10 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.11 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.12 โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.13 โพแทสเซียมไนเตรต (potassium nitrate) ของ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.14 เอทานอล ความเข้มข้น 95% ของ ยูเออนด์วีโซลคิง ไทยแลนด์ จำกัด ประเทศไทย
- 3.15 ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ของ Merck KGaA ประเทศเยอรมนี
- 3.16 ซิลิกาเจล (silica gel)

4. อุปกรณ์

- 4.1 ลวดเขี่ยเชื้อ
- 4.2 จานเพาะเชื้อ
- 4.3 หลอดไวนิล ขนาดบรรจุ 20 ml
- 4.4 หลอดไวนิลสีชา ขนาดบรรจุ 20 ml
- 4.5 ไมโครปิเปต ขนาด 200-1000 μ l
- 4.6 ไมโครปิเปต ขนาด 20-100 μ l
- 4.7 ไมโครปิเปต ขนาด 1-10 μ l
- 4.8 หลอดเก็บเชื้อ ขนาดบรรจุ 1 ml
- 4.9 แท่งแก้ว
- 4.10 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 4.11 ชุดเครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับการทดลอง
- 4.12 ขวด duran ขนาด 100 ml

- 4.13 ขวด duran ขนาด 250 ml
- 4.14 ขวด duran ขนาด 1000 ml
- 4.15 ตัวเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อ (cork borers) เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm
- 4.16 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)
- 4.17 เดซิเตเตอร์
- 4.18 แผ่นกระจก
- 4.19 แท่นปรับระดับพร้อมอุปกรณ์สำหรับวัดระดับ
- 4.20 ถาดเมลามีนขนาด 37x16 cm²

5. เครื่องมือ

5.1 หม้อนึ่งความดัน (autoclave) รุ่น HL-340 ของ Hung Lin Medical Instrument Co., Ltd. ประเทศจีน

5.2 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ รุ่น ของ WTB binder ประเทศเยอรมนี

5.3 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) รุ่น 25 Manometer ของ Dwyer instrument, Inc.

ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.4 ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ของ Contherm ประเทศนิวซีแลนด์

5.5 เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น Sartorius BP 110S ประเทศเยอรมนี

5.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น Sartorius BP 110S ประเทศเยอรมนี

5.7 เตาไฟฟ้าพร้อมเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (hotplate stirrer) รุ่น HTS1003 ของ

Laboratory & Medical Supplies ประเทศญี่ปุ่น

5.8 เครื่องวัดความหนา (digimatic thickness gage) รุ่น ID-C112BS ของ Mitutoyo Corp.

ประเทศญี่ปุ่น

5.9 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ของ Memmert ประเทศเยอรมนี

5.10 เครื่องเคลือบฟิล์ม (film coater) รุ่น PI-1210 ของ Tester Sangyo Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น

5.11 เครื่องกวน (agitator) ของบริษัท Arrow Engineering ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.12 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) รุ่น HI8424 ของ Hanna Instruments

ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.13 เครื่องกำจัดฟองอากาศ ของ Ultrasonic Decon รุ่น FS400 ประเทศอังกฤษ

5.14 ชุดอุปกรณ์ทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำ ของ Tester Sangyo co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น

5.15 เครื่อง oxygen permeation analyzer รุ่น 8500 ของ Illinois Instrument ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.16 เครื่อง uv-vis spectrophotometer รุ่น Genesys 10 UV ของ ThermoSpectronic

ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.17 เครื่องวัดค่าความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัว ยี่ห้อ Testometric รุ่น Micro 350
ประเทศอังกฤษ

5.18 เครื่อง differential scanning calorimetry (DSC) รุ่น 883^c ของ Mettler Toledo
ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.19 เครื่อง fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) รุ่น 2000 ของ Perkin Elmer System
ประเทศสหรัฐอเมริกา

5.20 เครื่อง dynamic mechanical analysis (DMA) รุ่น SDTA 861^c ของ Mettler Toledo
ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการ

1. การศึกษาประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และไนซินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli*

1.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ในการทดลองแต่ละครั้งจะทำการถ่ายเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 DMST 4212, *S. aureus* ATCC 25923 DMST 8840, *B. cereus* ATCC 11778 DMST 5040 และ *L. monocytogenes* DMST 17303 จากหลอดเก็บเขื่อนำมาขีดในงานเพาะเชื้อ (streak plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (nutrient agar) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากงานเพาะเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีเดี่ยวๆนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ก่อนจะนำไปใช้ในการทดลอง

1.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MICs)

การทดสอบประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และไนซิน ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* โดยเทคนิค agar well diffusion ดัดแปลงจากวิธีของ Iroegbu and Nkere (2005) นำเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth มาเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2 M NaH₂PO₄ · 2H₂O และ 0.2 M Na₂HPO₄) ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในระดับ 10⁵ -10⁶ CFU/ml คุ้เชื้อปริมาณ 1 ml ลงในงานเพาะเชื้อ จากนั้นเทอาหาร nutrient agar เหลว อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสลงในงานเพาะเชื้อ ทำการผสมเชื้อให้กระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิคเทเพลท (pour plate) เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเย็นและแข็งตัวดีแล้วจึงเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นหลุมด้วย

ตัวเจาะ (cork borers) เบอร์ 2 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวเจาะ 5 mm จากนั้นเตรียมสารละลาย ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไนซิน โดยละลายไนซินในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 M ละลายยูจีนอลและ ไทมอลในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้น 75 %v/v ให้มีความเข้มข้นของสารละลายที่ระดับต่างๆ ดังนี้คือ 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ด้วยเทคนิค two-fold serial dilution หยด สารละลายไทมอล ยูจีนอล หรือ ไนซิน ปริมาณ 40 μ l ลงในหลุมที่เจาะไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ ยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับสารละลายควบคุม (สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความ เข้มข้น 0.02M และสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้น 75 %v/v) บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของ ไทมอล ยูจีนอล และ ไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้

การทดสอบประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ของไทมอล ยูจีนอล และ ไนซินที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ คือ 0, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 และ 40 mg/ml มีจำนวนสิ่งทดลอง 27 สิ่งทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

หมายเหตุ: เกณฑ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความไวของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทดสอบวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้ง อ้างอิงจากวิธีการของ Moreira *et al.* (2005) ดังนี้คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 7 mm หมายถึง ไม่มีการความไวต่อการถูก ยับยั้งโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 7 mm หมายถึง มีความไว ต่อการถูกยับยั้งโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์

2. การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

2.1 การขึ้นรูปฟิล์มไคโตแซนที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์

2.1.1 การขึ้นรูปฟิล์มไคโตแซน

การเตรียมฟิล์มไคโตแซนดัดแปลงจากวิธีของ รัชณี (2545) โดยมีความเข้มข้นของเนื้อ ฟิล์ม 0.8 %w/v ของกรดแอสซิดิก ละลายไคโตแซนในตัวทำละลายกรดแอสซิดิกความเข้มข้น 1.0 %v/v ผสม ให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน (agitator) จนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เติมสารละลายเอทานอลความ เข้มข้น 95 % (อัตราส่วนระหว่างกรดแอสซิดิกต่อเอทานอลความเข้มข้น 95 % คือ 2:1) ปรับค่าความเป็นกรด ค่าของสารละลายฟิล์มให้มีค่าประมาณ 6.0 ± 0.05 ด้วยสารละลายแอม โมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น

10 %v/v กำจัดฟองอากาศด้วยเครื่องกำจัดฟองอากาศ เทสารละลายฟิล์มลงบนถาดเมลามีนขนาด 37 x 16 cm² ทำแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อฟิล์มแห้งแล้วนำฟิล์มที่ได้มาลอกออกเก็บในถุงพลาสติกพอลิโพรพิลีน เก็บในเคซิเคเตอร์ควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิห้อง

2.1.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ ปริมาณสารละลายฟิล์มในการขึ้นรูปฟิล์มในถาดซึ่งจำกัดพื้นที่ และความชื้นสัมพัทธ์ที่มีผลต่อลักษณะการบวมของฟิล์ม โคลโตแซนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมฟิล์มตามวิธีการในข้อ 2.1.1 นำมาศึกษาลักษณะการบวมของฟิล์มโคลโตแซนเมื่อนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยมีปัจจัยที่ศึกษาอยู่ 3 ชนิด คือ ความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ ไทมอลและยูจินอล (0.5 และ 1.0 %w/v) ซึ่งจะทำให้การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์หลังจากปรับค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายฟิล์มให้มีค่าประมาณ 6.0 ± 0.05 ปริมาณสารละลายฟิล์มโดยการเทลงในถาดเมลามีนขนาด 37 x 16 cm² (100 ml, 150 ml และ 200 ml) และสภาวะความชื้นสัมพัทธ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาฟิล์มโคลโตแซน (51.4, 67.8, 75, 83.6 และ 92.5 %RH)

2.2 การขึ้นรูปฟิล์มเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตเคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (EVA/LDPE) ที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์

2.2.1 การขึ้นรูปฟิล์ม EVA/LDPE

ละลายเม็ดพลาสติกเอทิลีน ไวนิลเอซีเตต ด้วยสารละลายไดโครอโรมีเทนที่มีปริมาณ ไวนิลเอซีเตต 33 % (EVAflex150) และ 41 % (EVAflex40w) โดยทำการเปรียบเทียบเม็ดพลาสติก EVA 2 ชนิด ปิดผนึกปากบีกเกอร์ด้วยพาราฟิล์มป้องกันการระเหยของตัวทำละลาย กวนส่วนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าจนกระทั่งสารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันใช้เวลาประมาณ 2 - 5 ชั่วโมง นำสารละลายฟิล์มที่เตรียมได้เคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำด้วยเครื่องเคลือบฟิล์ม ควบคุมระยะห่างระหว่างชั้นฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำและแท่งเหล็กปาดฟิล์มเท่ากับ 120 μm ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บรักษาในเคซิเคเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 1 วันก่อนนำไปทดสอบ

2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตตในการขึ้นรูปฟิล์ม

เตรียมสารละลายฟิล์มตามวิธีในข้อ 2.2.1 โดยใช้ฟิล์มแต่ละเกรดศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ 8 ระดับ ได้แก่ 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 %w/v วัดค่าความหนาของชั้นเคลือบที่ได้ นำผลการทดลองที่ได้ไปหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียมฟิล์ม

2.2.3 การขึ้นรูปฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

เตรียมฟิล์มตามวิธีในข้อ 2.2.1 ให้มีความเข้มข้นของสารละลายฟิล์มที่เหมาะสมตามผลการทดลองที่ได้จากข้อ 2.2.2 เติมน้ำตาลต่อต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ไทมอล ยูจีนอล หรือ โนซิน และสารผสมของ ไทมอล ยูจีนอล หรือ โนซิน ในอัตราส่วน 1:1 ให้มีความเข้มข้นในสารละลายฟิล์ม 2.0 และ 4.0 %w/v คิดเป็นปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีในแผ่นฟิล์มทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 mm ความหนา 55 μm เท่ากับ 2.0 และ 4.0 mg ตามลำดับ (การคำนวณหาปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในสารละลายฟิล์ม และปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีในแผ่นฟิล์มทดสอบแสดงดังภาคผนวก ก) นำสารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เคลือบลงบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำด้วยเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม ควบคุมระยะห่างระหว่างฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำและแท่งเหล็กปาดฟิล์มเท่ากับ 120 และ 600 μm ทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาในเคซิเคเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปทดสอบ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์ม EVA/LDPE เติมน้ำตาล ยูจีนอล โนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมโนซิน และยูจีนอลผสมโนซิน ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli*

ทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.3 ในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ที่เพาะเลี้ยงได้จากข้อ 1.1 เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มควบคุม (ฟิล์มที่ไม่เติมน้ำตาลต่อต้านจุลินทรีย์) ที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.2 โดยใช้เทคนิค agar disc diffusion อ้างอิงจากวิธีการของ Pranoto *et al.* (2005) นำเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth ทำการเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในระดับ $10^5 - 10^6$ CFU/ml อดเชื้อปริมาณ 0.1 ml ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ กระจายให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งด้วยเทคนิคกระจายเชื้อ (spread plate) ตัดฟิล์มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 mm วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งที่เกิดขึ้น

การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ของฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล ไนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมไนซิน และยูจีนอลผสมไนซิน ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v มีจำนวนสิ่งทดลองทั้งสิ้น 26 สิ่งทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

4. การทดสอบสมบัติทางกล สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE

ทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มที่เตรียมได้ในข้อ 2.2.3 เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มควบคุมที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.2 โดยทดสอบค่าต่างๆดังนี้

4.1 ความหนา ใช้เครื่องวัดความหนา ตามมาตรฐาน ISO 4593: 1993 (E) (ISO standard, 1993) รายละเอียดวิธีตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

4.2 ความต้านทานแรงดึงขาดและเปอร์เซ็นต์การยืดตัว ตามมาตรฐาน ASTM D882-02 (ASTM, 2006b) รายละเอียดวิธีตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

4.3 อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ตามมาตรฐาน ASTM E96-00 (ASTM, 2003) รายละเอียดวิธีตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

4.4 อัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน ตามมาตรฐาน ASTM D3985-02 (ASTM, 2004b) รายละเอียดวิธีตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

4.5 เปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสง (% transmittance) ตามมาตรฐาน ASTM D1746-03 (ASTM, 2006d) และอ้างอิงจาก Larena and Villar (2001) ด้วยเครื่อง uv-vis spectrophotometer ช่วงความยาวคลื่นที่ตรวจวัด 200-800 nm

4.6 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มสเปกโทรสโกปี โหมด Attenuated Total Reflectance (ATR) ตามมาตรฐาน ASTM D5576-00 (ASTM, 2006a) เตรียมตัวอย่างโดยตัดให้มีขนาด 2 x 5 cm² ทดสอบในสถานะของแหล่งกำเนิดแสงอินฟราเรดช่วงคลื่น 400 - 4000 cm⁻¹ (middle range infrared) และมี TGS (tri-glycine sulfite) เป็นตัวตรวจวัด

4.7 การหาอุณหภูมิหลอมเหลว (melting temperature, T_m) และอุณหภูมิการเกิดผลึก (crystallization temperature, T_c) ด้วยเทคนิค differential scanning calorimetry (DSC) ตามมาตรฐาน ASTM D 3418-03 (ASTM, 2006c) สภาวะที่ใช้ทดสอบอ้างอิงจาก Tallury *et al.* (2007) ตัดตัวอย่างให้มีขนาดที่เหมาะสมกับภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุตัวอย่างทดสอบ ซึ่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ทดสอบที่อุณหภูมิ (-28) - 160 องศาเซลเซียส ทำการสแกนครั้งที่หนึ่งโดยเพิ่มอุณหภูมิจาก (-28) องศาเซลเซียส ถึง 160 องศาเซลเซียส และทำการลดอุณหภูมิจาก 160 องศาเซลเซียส ถึง (-28) องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสแกนครั้งที่สองโดยเพิ่มอุณหภูมิอีกครั้งจาก (-28) องศาเซลเซียส ถึง 160 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มและลดอุณหภูมิเท่ากับ 10 องศาเซลเซียส/นาที ทดสอบภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน

4.8 การหาอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ด้วยเทคนิค dynamic mechanical analysis (DMA) ตามมาตรฐาน ASTM E1640-04 (ASTM, 2004a) เตรียมตัวอย่างโดยตัดให้มีขนาดประมาณ $9 \times 3 \text{ mm}^2$ ทดสอบที่อุณหภูมิ (-80) - 30 องศาเซลเซียส (ยกเว้นตัวอย่าง LDPE ที่ใช้ช่วงอุณหภูมิ (-130) - 50 องศาเซลเซียส) โดยเพิ่มอุณหภูมิจาก (-80) องศาเซลเซียส ถึง 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 4 องศาเซลเซียส/นาที ความถี่ 1 Hz ภายใต้บรรยากาศแอร์ แรงสูงสุด (maximum force) 0.6 N แอมพลิจูด (maximum amplitude) $80 \mu\text{m}$ ควบคุมออฟเซต (offset control) 150 % วัดด้วยโหมดการดึงยืด (tension mode)

การทดสอบสมบัติทางกล สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ของฟิล์ม EVAflex150/LDPE ที่มีการเติมไทมอล ยูจีนอล และไทมอลผสมยูจีนอล ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v มีจำนวนสิ่งทดลองทั้งสิ้น 7 สิ่งทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (DMRT) ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS Version 11.0

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และไนซินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

L. monocytogenes, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli*

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* แสดงดังตารางที่ 10 และภาพที่ 17-19

จากผลการทดลองในตารางที่ 10 พบว่าไทมอล ยูจีนอล และไนซินแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ 2.5, 5, 10, 20 และ 40 mg/ml การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารต่อต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 40 mg/ml พบว่าขนาดของบริเวณที่ยับยั้งในแต่ละทริทเมนต์มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไทมอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด บริเวณยับยั้งที่ปรากฏมีขนาดอยู่ในช่วง 18.82 - 29.09 mm ตามด้วยยูจีนอล ขนาดของบริเวณที่ยับยั้ง 11.31 - 21.83 mm และไนซิน ขนาดบริเวณที่ยับยั้ง 0 - 14.25 mm ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าไทมอลและยูจีนอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ทั้ง 4 ชนิด ในขณะที่ไนซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้

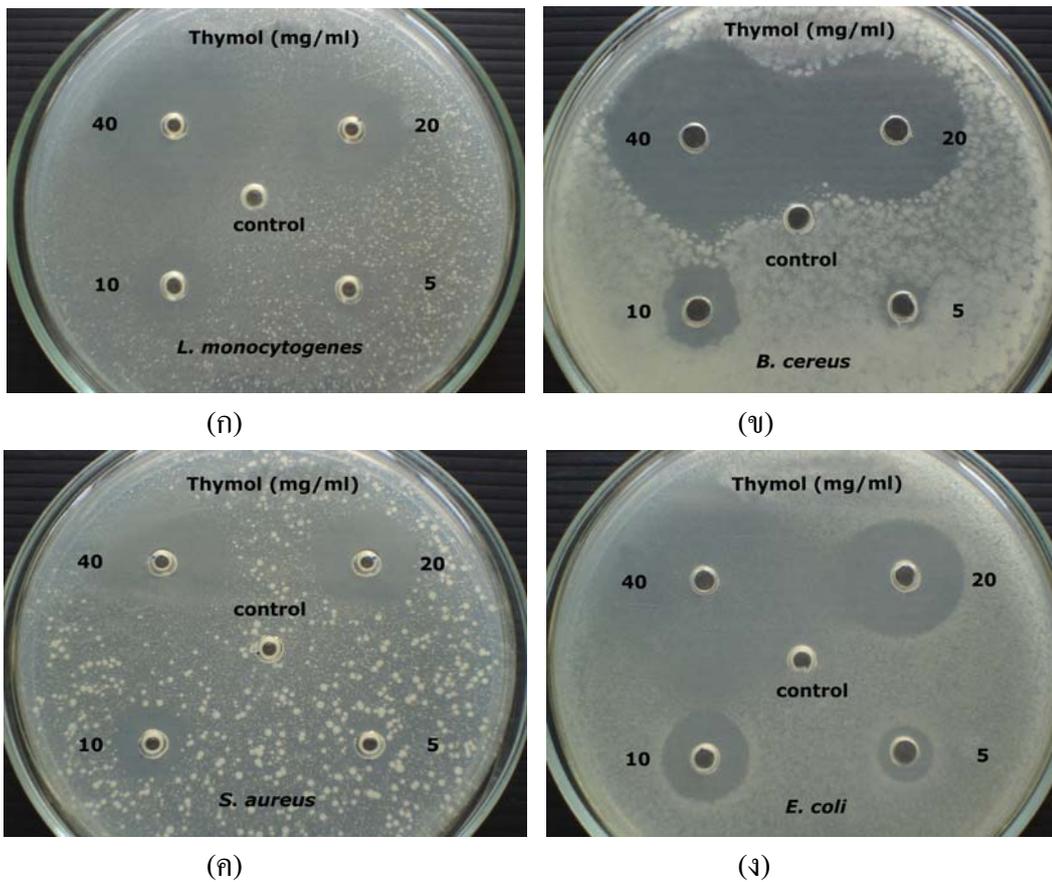
ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไทมอล ยูจีนอล และไนซิน ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบและบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นแสดงในตารางที่ 11 - 12 และภาพที่ 20 - 22 ผลการทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MICs) ของไทมอล ยูจีนอล และไนซิน ที่แสดงดังตารางที่ 11 สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ในตารางที่ 10 คือไทมอลแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด โดยค่า MICs ของไทมอลอยู่ในช่วง 3 - 4 mg/ml ค่า MICs ของยูจีนอลอยู่ในช่วง 8 - 11 mg/ml และค่า MICs ของไนซินอยู่ในช่วง 3 - 22 mg/ml

ตารางที่ 10 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของไทมอล ยูจีนอล และ นิสิน ที่ระดับความเข้มข้น 0.3125 - 40 mg/ml

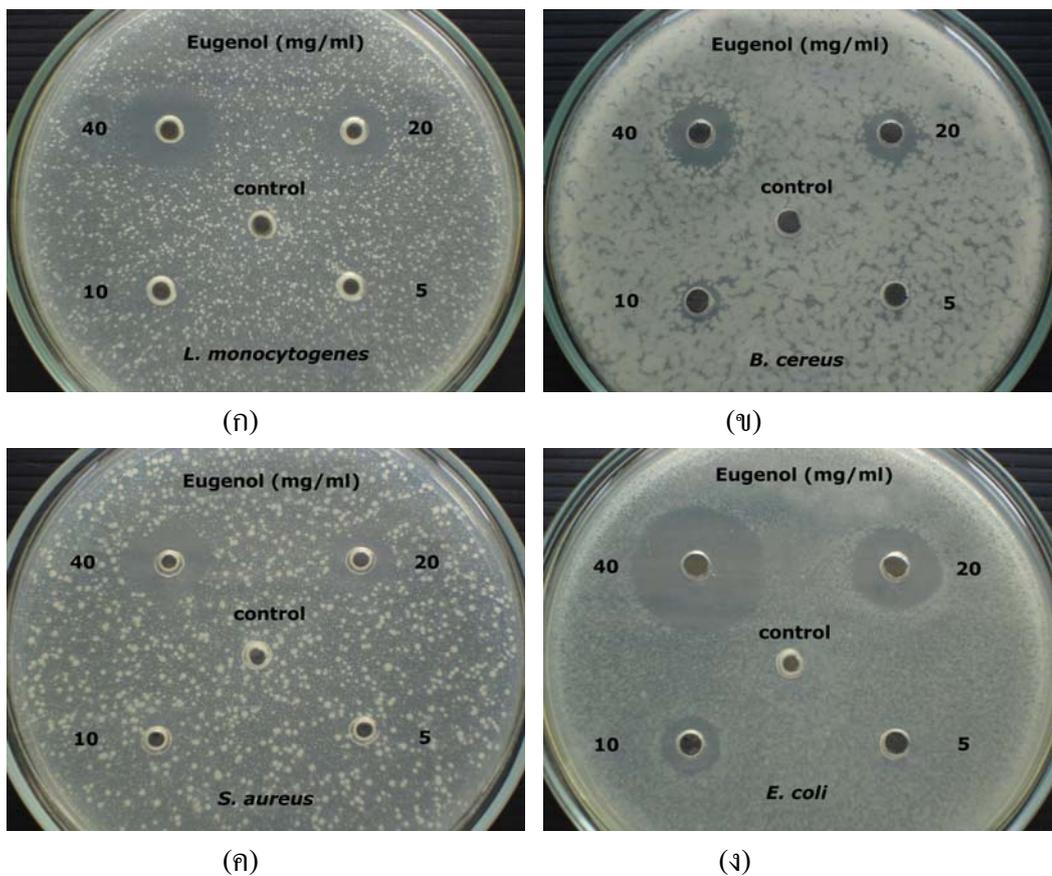
Agent	Bacteria	Inhibition zone ^{1,2} (mm)								
		40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125	0
Thymol	<i>L. monocytogenes</i>	23.94 ^c ± 0.33	18.64 ^{bc} ± 0.50	11.71 ^c ± 0.41	8.33 ^b ± 0.46	6.17 ^b ± 0.24	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>B. cereus</i>	27.17 ^b ± 0.16	19.52 ^b ± 0.31	12.85 ^b ± 0.91	7.65 ^{bc} ± 0.49	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>S. aureus</i>	18.82 ^c ± 0.32	17.91 ^c ± 0.12	12.09 ^{bc} ± 0.48	8.12 ^b ± 0.16	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>E. coli</i>	29.09 ^a ± 0.13	25.62 ^a ± 0.17	15.96 ^a ± 0.05	9.74 ^a ± 0.36	6.15 ^b ± 0.14	0.00 ^a ± 0.00			
Eugenol	<i>L. monocytogenes</i>	12.83 ^g ± 0.12	8.57 ^h ± 0.25	6.20 ^g ± 0.07	0.00 ^f ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>B. cereus</i>	11.31 ^h ± 0.04	9.44 ^{gh} ± 0.43	7.22 ^f ± 0.03	0.00 ^f ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>S. aureus</i>	13.42 ^{fg} ± 0.03	10.09 ^{fg} ± 0.48	7.27 ^f ± 0.38	6.39 ^{dc} ± 0.55	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>E. coli</i>	21.83 ^d ± 0.30	14.06 ^d ± 0.26	9.11 ^e ± 0.54	6.25 ^c ± 0.35	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
Nisin	<i>L. monocytogenes</i>	14.25 ^f ± 0.36	12.45 ^e ± 0.28	10.67 ^d ± 0.10	9.09 ^a ± 0.57	6.74 ^a ± 0.31	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>B. cereus</i>	7.79 ⁱ ± 0.27	0.00 ⁱ ± 0.00	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^f ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>S. aureus</i>	12.29 ^{gh} ± 1.82	10.98 ^f ± 1.73	9.62 ^c ± 0.53	7.12 ^{cd} ± 0.17	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			
	<i>E. coli</i>	0.00 ^j ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^f ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^a ± 0.00			

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

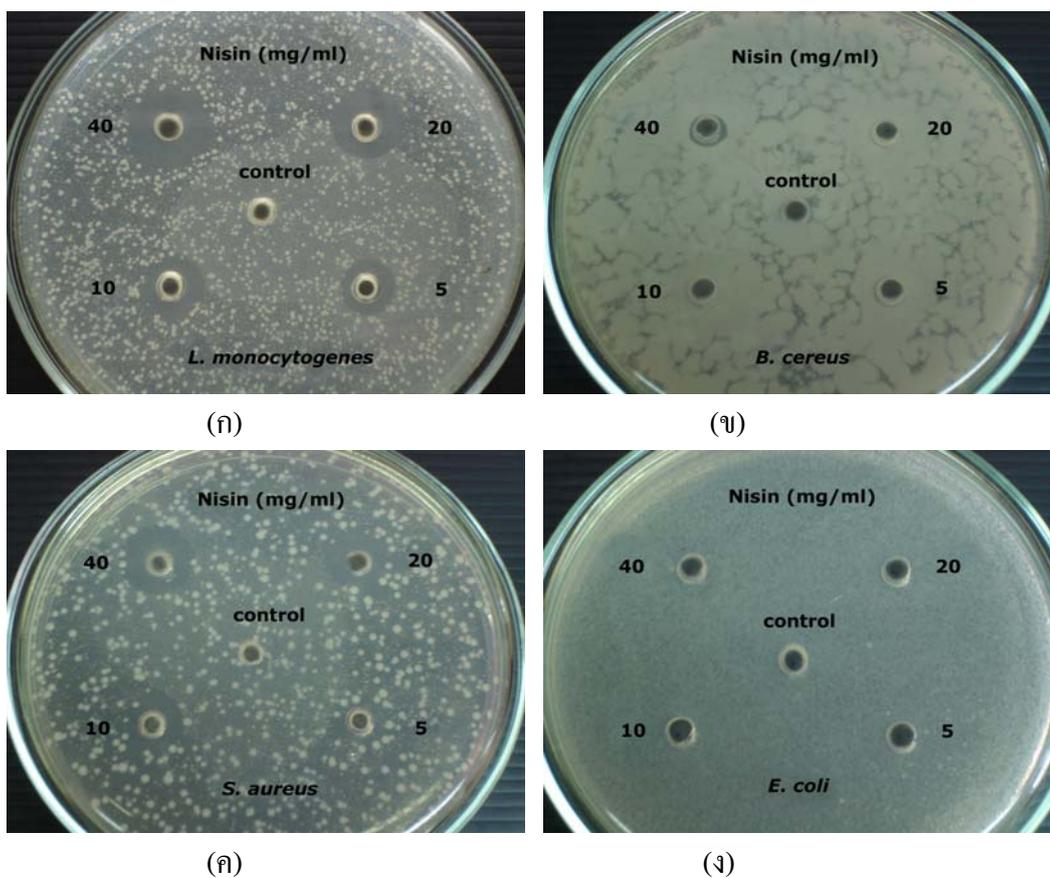
² ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 17 บริเวณที่ขยับยั้งของไทมอลที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการขยับยั้งการเจริญของ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus* (ง) *E. coli* โดยวิธี agar diffusion



ภาพที่ 18 บริเวณที่ขยับยั้งของยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการขยับยั้งการเจริญของ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus* (ง) *E. coli* โดยวิธี agar diffusion



ภาพที่ 19 บริเวณที่ขยับยั้งของไนซินที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 40 mg/ml ในการขยับยั้งการเจริญของ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus* (ง) *E. coli* โดยวิธี agar diffusion

ตารางที่ 11 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MICs) ของไทมอล ยูจีนอล และไนซิน

Bacteria	MICs ¹ (mg/ml)		
	thymol	eugenol	nisin
<i>L. monocytogenes</i>	4.00	11.00	3.00
<i>B. cereus</i>	4.00	9.00	22.00
<i>S. aureus</i>	4.00	8.00	5.00
<i>E. coli</i>	3.00	8.00	NA ²

¹ Minimum inhibitory concentration

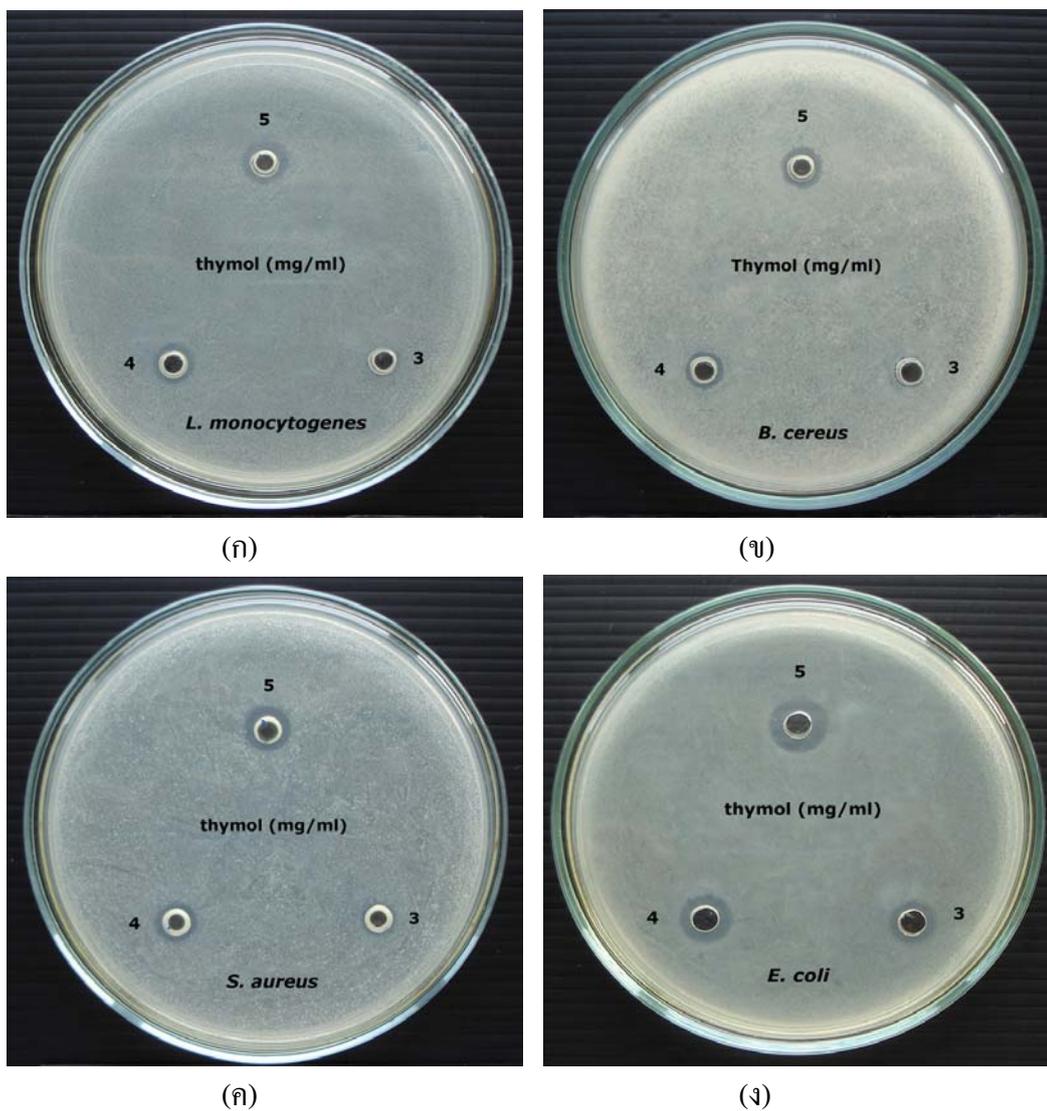
² ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

ตารางที่ 12 บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

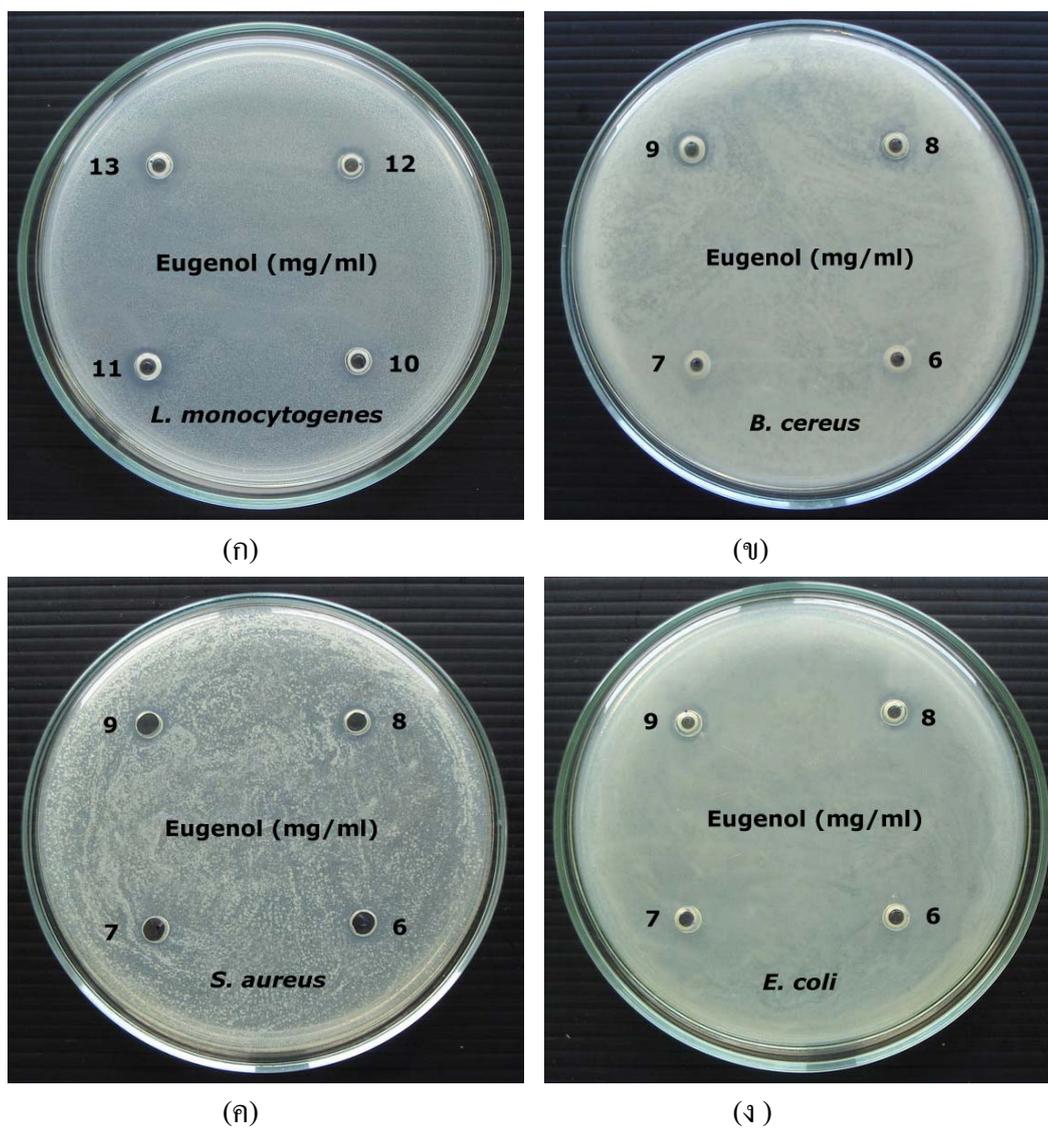
Bacteria	Inhibition zone ¹ (mm)		
	thymol	eugenol	nisin
<i>L. monocytogenes</i>	7.41 ± 0.11	7.25 ± 0.35	7.00 ± 0.00
<i>B. cereus</i>	7.00 ± 0.00	7.25 ± 0.00	7.00 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	7.50 ± 0.35	7.27 ± 0.03	7.00 ± 0.00
<i>E. coli</i>	8.12 ± 0.53	7.37 ± 0.17	NA ²

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

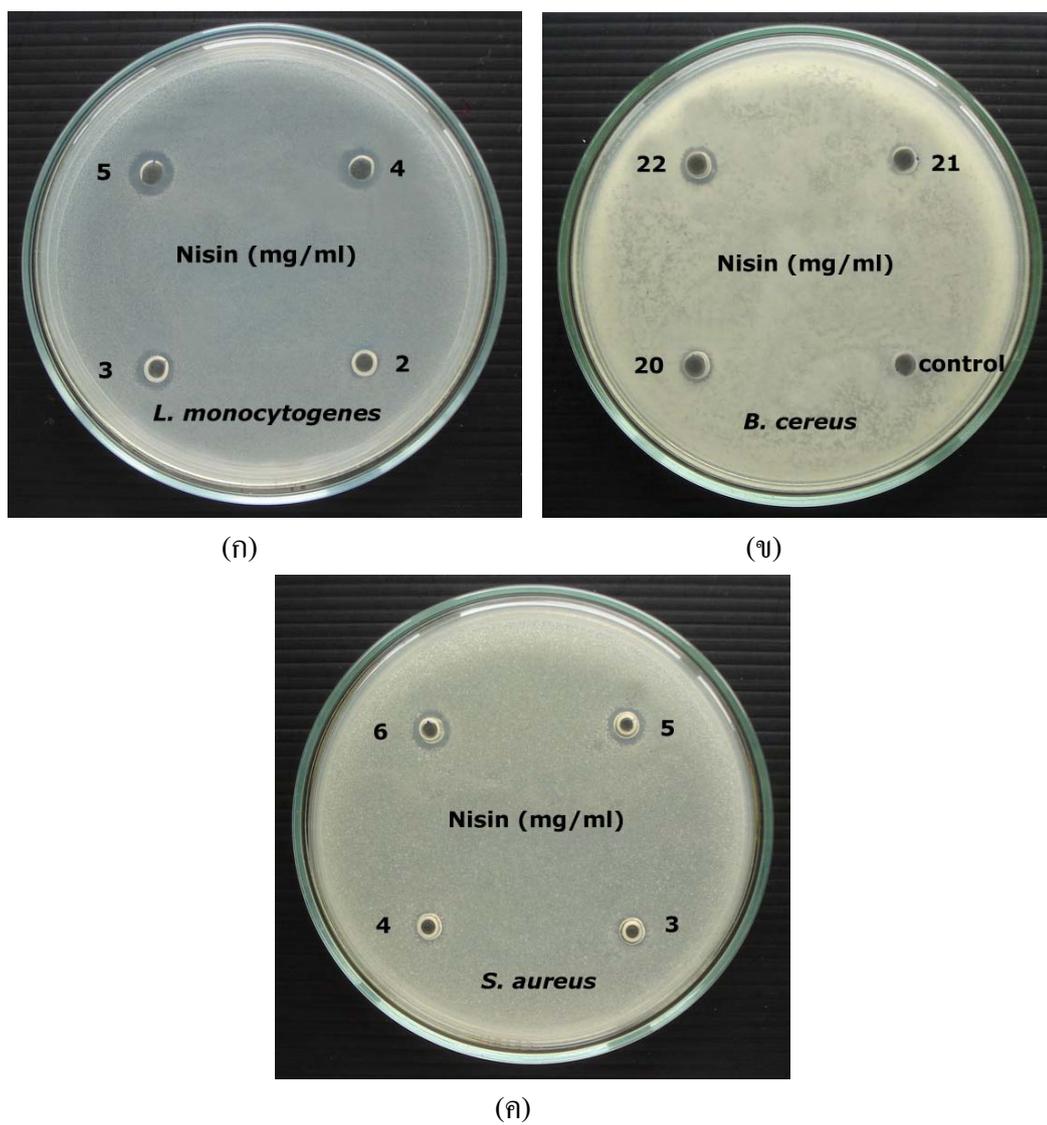
² ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ



ภาพที่ 20 บริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus* (ง) *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อของไทมอลที่ระดับ MICs



ภาพที่ 21 บริเวณที่ขยับชี้เชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus* (ง) *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อของยูจีนอลที่ระดับ MICs



ภาพที่ 22 บริเวณที่ขยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (ก) *L. monocytogenes* (ข) *B. cereus* (ค) *S. aureus*
ในอาหารเลี้ยงเชื้อของไนซินที่ระดับ MICs

ตารางที่ 13 แสดงประสิทธิภาพของไทมอล ยูจีนอล และไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* โดยเปรียบเทียบบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่อความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ พบว่าไทมอลและไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบดีกว่ายูจีนอล ยกเว้นในกรณีของ *B. cereus* และ *E. coli* พบว่าไนซินมีประสิทธิภาพต่ำในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* และไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้

ตารางที่ 13 บริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบต่อความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์

Bacteria	Inhibition zone/MICs		
	thymol	eugenol	nisin
<i>L. monocytogenes</i>	1.85	0.65	2.33
<i>B. cereus</i>	1.75	0.80	0.31
<i>S. aureus</i>	1.87	0.90	1.40
<i>E. coli</i>	2.70	0.92	NA ¹

¹ ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียแกรมบวกจะมีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารต่อต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยลิโปโพรตีน ลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ และกรด ไดอะมิโนพิมลิก และมีเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งมีปริมาณไขมันมากถึง 11 - 22 % ของน้ำหนักแห้งผนังเซลล์ ด้วยเหตุนี้ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และทำหน้าที่เป็นตัวกั้นสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้โดยง่าย (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547) อย่างไรก็ตามจากค่า MICs ที่ได้พบว่าไทมอลและยูจีนอล มีค่า MICs ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ต่ำกว่าค่า MICs ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* ซึ่งขัดแย้งกับที่กล่าวไว้ข้างต้น ในกรณีนี้เนื่องจากไทมอลและยูจีนอลเป็นสารเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารประกอบไม่มีขั้ว (รัตนา, 2547) ดังนั้นทำให้สารดังกล่าวสามารถละลายได้ดีในชั้นไขมันในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้สามารถแพร่ผ่านและเข้าไปทำลายผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ทำให้จุลินทรีย์ถูกยับยั้งการเจริญหรือถูกทำลาย

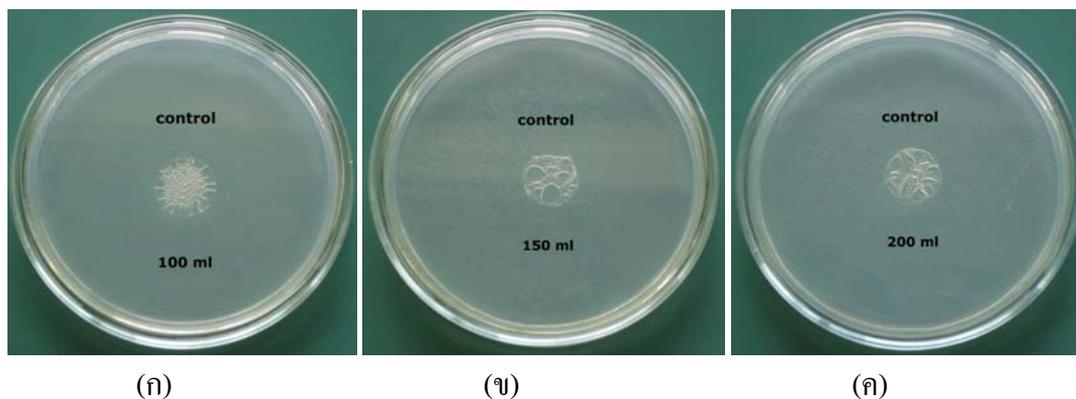
2. การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

2.1 การขึ้นรูปฟิล์มไคโตแซนที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์

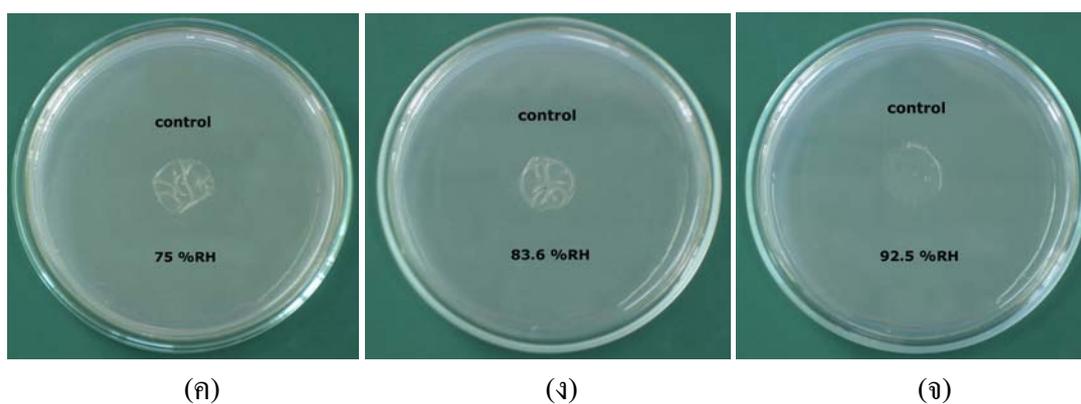
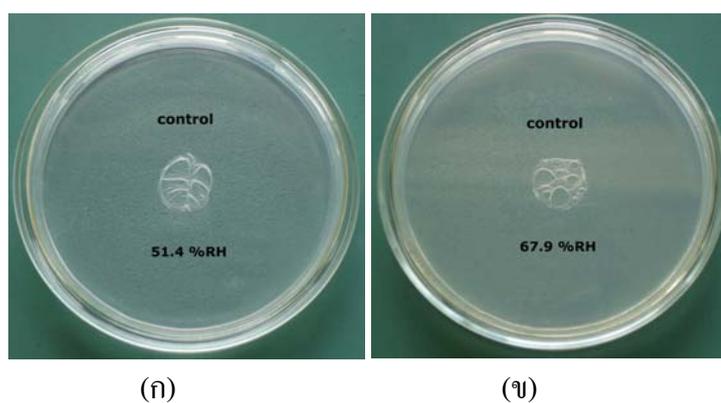
จากการศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มไคโตแซน เมื่อนำฟิล์มที่ได้วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเพื่อสังเกตความคงตัวของฟิล์มเมื่อสัมผัสกับความชื้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าแผ่นฟิล์มเกิดการม้วนงอและเกิดการบวมขึ้น ทำให้เป็นปัญหาในการนำฟิล์มนั้นไปศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จึงได้พยายามแก้ปัญหาดังกล่าวโดยทำการศึกษาปัจจัยด้านต่างๆในการเตรียมฟิล์มดังนี้ คือ ความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาฟิล์มที่ 51.4, 67.8, 75, 83.6 และ 92.5 %RH ณ อุณหภูมิห้อง ความหนาของฟิล์ม และการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 0.5 หรือ 1.0 %w/v โดยมีสมมติฐานว่าการเพิ่มความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาฟิล์มจะทำให้ฟิล์มดูดความชื้นไว้และช่วยลดความบวมเมื่อสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ความหนาที่ลดลงจะช่วยลดการม้วนงอของฟิล์มได้ และการเติมไทมอลหรือยูจินอลที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติความต้านทานการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มได้

Zivanovic *et al.* (2005) ศึกษาผลของการเติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนต่อความหนาและความโปร่งใสของฟิล์มไคโตแซน พบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนความเข้มข้น 2.0 %w/w ลงในฟิล์มไคโตแซนทำให้ฟิล์มมีความหนาเพิ่มขึ้น 3 เท่า และความโปร่งใสลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนลงในฟิล์มไคโตแซนทำให้ฟิล์มมีสมบัติความไม่มีขั้วเพิ่มขึ้นและช่วยลดการดูดซึมความชื้นของฟิล์มไคโตแซนได้

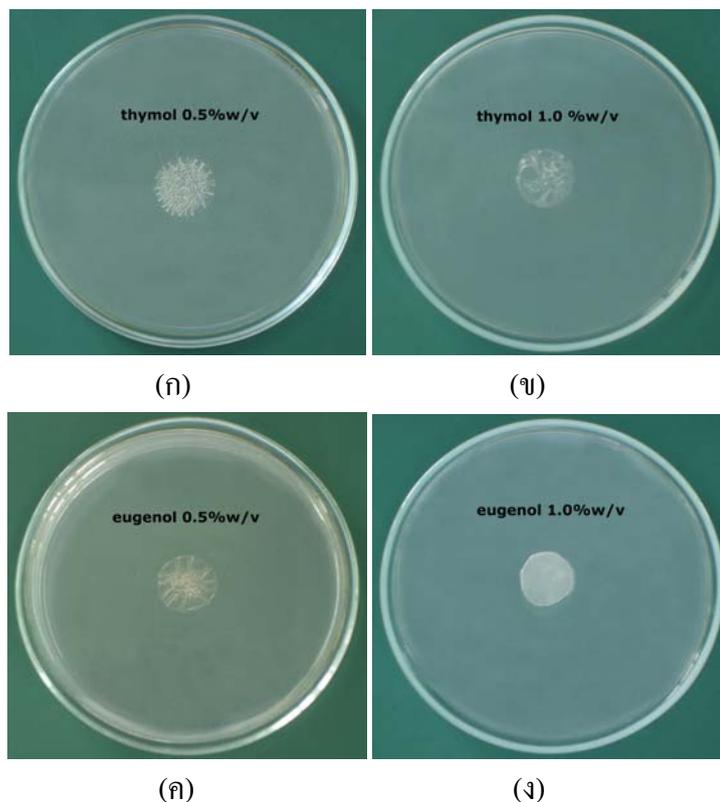
ผลการศึกษาการขึ้นรูปและปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปฟิล์มไคโตแซน พบว่าการเพิ่มความชื้นสัมพัทธ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาฟิล์ม การลดความหนาของฟิล์ม และการเติมไทมอลหรือยูจินอลลงในฟิล์มไคโตแซนช่วยลดปัญหาการม้วนงอและการบวมของแผ่นฟิล์มทดสอบได้เล็กน้อย ลักษณะการบวมและม้วนงอของฟิล์มไคโตแซนแสดงในภาพที่ 23-25 การเติมไทมอลและยูจินอลที่ความเข้มข้น 1.0 %w/v ทำให้ฟิล์มไคโตแซนมีความบวมเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zivanovic *et al.* (2005) แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่ายังมีการบวมของฟิล์มไคโตแซน จึงอาจสรุปได้ว่าการทดลองดังกล่าวยังไม่สามารถแก้ปัญหาการบวมของฟิล์มไคโตแซนได้ดีเท่าที่ควร



ภาพที่ 23 ผลของความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร (ก) 100 ml (ข) 150 ml (ค) 200 ml ในพื้นที่ขนาด $37 \times 16 \text{ cm}^2$ ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่สภาวะการเก็บรักษาความชื้นสัมพัทธ์ 67.9 %RH



ภาพที่ 24 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ (ก) 51.4 %RH (ข) 67.9 %RH (ค) 75 %RH (ง) 83.6 %RH (จ) 92.5 %RH ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่ความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร 150 ml ในพื้นที่ขนาด $37 \times 16 \text{ cm}^2$



ภาพที่ 25 ผลของความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ (ก) ไทมอล 0.5 %w/v (ข) ไทมอล 1.0 %w/v (ค) ยูจีนอล 0.5 %w/v (ง) ยูจีนอล 1.0 %w/v ต่อการบวมของฟิล์มไคโตแซนที่ความหนาของสารละลายฟิล์มไคโตแซนปริมาตร 150 ml ในพื้นที่ขนาด 37 x 16 cm² และสภาวะการเก็บรักษาความชื้นสัมพัทธ์ 67.9 %RH

จากการศึกษาของ Shu and Zhu (2002) และ Wang *et al.* (2007) พบว่าการใช้สารที่มีประจุลบ เช่น ไตรโพลีฟอสเฟต (tripolyphosphate) หรือ โซเดียมแอลจิเนต (sodium alginate) เข้าจับกับประจุบวกของไคโตแซนทำให้เกิดการเชื่อมโยงข้ามในแบบ 3 มิติระหว่างประจุที่แตกต่างกันในโครงสร้างของพอลิเมอร์ และช่วยลดการบวมของฟิล์มไคโตแซนได้ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ได้ การเติมไทมอลหรือยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้นเพียง 1.0 %w/v ของสารละลายฟิล์มไคโตแซนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีและความใสของฟิล์ม แสดงว่าฟิล์มไคโตแซนมีความสามารถในการเติมไทมอลหรือยูจีนอลได้ในปริมาณที่จำกัด ดังนั้นจึงทำการพิจารณาคัดเลือกพอลิเมอร์ชนิดอื่นในการพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

2.2 การขึ้นรูปฟิล์มเอทิลีน ไวนิลเอซีเตดเคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (EVA/LDPE) ที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์

จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตดแต่ละเกรดในการขึ้นรูปฟิล์ม ได้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตด ปริมาณไวนิลเอซีเตด 33% และ 41% ต่อความหนาของฟิล์มชั้นเอทิลีน ไวนิลเอซีเตดแสดงในตารางที่ 14 นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 14 มาหาความสัมพันธ์โดยวิธีวิเคราะห์สมการถดถอย (regression analysis) ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตดปริมาณ ไวนิลเอซีเตด 33% และ 41% และความหนาของฟิล์มชั้นเอทิลีน ไวนิลเอซีเตด ได้สมการความสัมพันธ์แสดงดังภาพที่ 26 และ 27

ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเอทิลีน ไวนิลเอซีเตดต่อความหนาของฟิล์มชั้นเอทิลีน ไวนิลเอซีเตด

Concentration (w/v)	EVA thickness ¹ (μm)	
	33%VA	41%VA
6	8.26 ± 0.92	NA ²
8	12.33 ± 0.22	NA ²
10	13.03 ± 1.75	NA ²
12	18.26 ± 1.7	7.46 ± 1.37
14	NA ³	13.53 ± 1.85
16	NA ³	13.9 ± 1.37
18	NA ³	19.46 ± 0.55
20	NA ³	23.7 ± 0.79

¹ ค่าเฉลี่ยความหนา ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

² ไม่สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้เนื่องจากสารละลายมีความหนืดน้อยเกินไป

³ ไม่สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้เนื่องจากสารละลายมีความหนืดสูงเกินไป

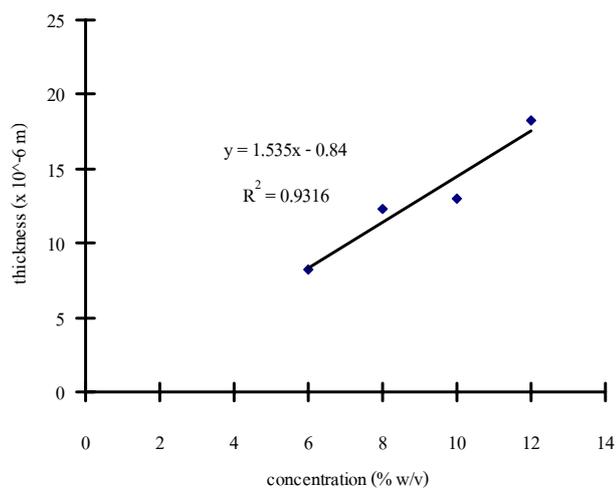
ผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 14 พบว่าเนื่องจากสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 33% มีความหนืดมากกว่าสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 41% เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน ทำให้ฟิล์มที่ขึ้นรูปได้มีความหนาไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงต้องเตรียมสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 41% ให้มีความเข้มข้นมากกว่าสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 33% เพื่อเป็นการควบคุมความหนาของฟิล์มที่ขึ้นรูปได้ให้มีความหนาเท่ากัน เช่น ถ้าต้องการควบคุมความหนาของฟิล์มประมาณ 13 μm ต้องเตรียมสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 33% และสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 41% ให้มีความเข้มข้น 10.0 และ 14.0 %w/v ตามลำดับ

ภาพที่ 26 และ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความหนาของฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 33% และ 41% ได้ความสัมพันธ์ดังสมการที่ (1) และสมการ ที่ (2) ตามลำดับ

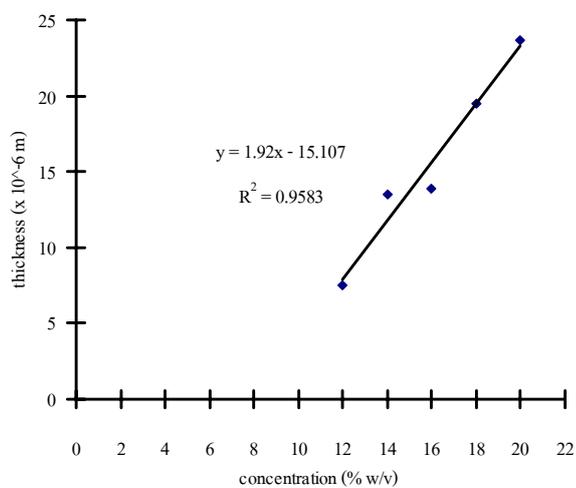
$$y = 1.535x - 0.84 \quad \text{สมการ (1)}$$

$$y = 1.92x - 15.107 \quad \text{สมการ (2)}$$

ดังนั้นเพื่อควบคุมความหนาของฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ที่ระดับ 15 μm จึงเลือกระดับความเข้มข้นของสารละลายฟิล์มเอทิลีน ไวนิลแอลกอฮอล์ ปริมาณไวนิลแอลกอฮอล์ 33% และ 41% ที่นำไปใช้ในการขึ้นรูปฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่ระดับ 10.32 และ 15.68 %w/v ตามลำดับ



ภาพที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความหนาของฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอซีเตดปริมาณไวนิลแอซีเตด 33%



ภาพที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความหนาของฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอซีเตดปริมาณไวนิลแอซีเตด 41%

3. การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์ม EVA/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล ไนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมไนซิน และยูจีนอลผสมไนซินในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli*

จากการทดลองเบื้องต้นในการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์ม EVA/LDPE ผสมไทมอลหรือ ยูจีนอล ความเข้มข้นรูปเท่ากับ 120 μm ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียทดสอบ ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 15

จากผลของบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียทดสอบที่ได้จากตารางที่ 15 พบว่าฟิล์ม EVAflex150/LDPE และ EVAflex40w/LDPE เติมไทมอลความเข้มข้น 4.0 %w/v และฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้ ในขณะที่ฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เติมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* เท่านั้น อย่างไรก็ตามทริทเมนต์ส่วนใหญ่แสดงการยับยั้งเพียงบริเวณใต้ผิวสัมผัสกับแผ่นฟิล์มหรือมีบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียรอบแผ่นฟิล์มเล็กน้อยเท่านั้น ฟิล์ม EVAflex150/LDPE และ EVAflex40w/LDPE เติมไทมอลหรือยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 %w/v ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียทดสอบ 4 ชนิดทั้งในบริเวณใต้ผิวสัมผัสและบริเวณที่ยับยั้งรอบแผ่นฟิล์ม จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มทดสอบที่แพร่ลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้ออาจมีปริมาณต่ำกว่าค่า MICs ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Han, 2003) ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่น้อยเกินไป หรืออาจเกิดจากการสูญเสียสารดังกล่าว ในระหว่างกระบวนการขึ้นรูปฟิล์ม (Zivanovic *et al.*, 2005) แนวทางการแก้ไขสามารถทำได้ 2 วิธีคือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มทดสอบหรือการเพิ่มความหนาของแผ่นฟิล์มทดสอบ ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มทดสอบมากขึ้น (Kim *et al.*, 2002) แต่เนื่องจากการเติมไทมอลหรือยูจีนอลในปริมาณสูงอาจทำให้ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่ได้มีกลิ่นแรงทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ดังนั้นจึงเลือกแนวทางการแก้ไขโดยเพิ่มระยะการขึ้นรูปฟิล์มจาก 120 μm เป็น 600 μm เพื่อให้ฟิล์มทดสอบมีความหนามากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารต่อต้านแบคทีเรียต่อแผ่นฟิล์มมากขึ้นด้วยในขณะที่ยังมีความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์เท่าเดิม

ตารางที่ 15 บริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์ม EVA/LDPE ที่ระยะขึ้นรูป 120 μm

EVA (%VA)	Antimicrobial agent	Concentration (%w/v)	Inhibition zone ^{1,2} (mm)			
			<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
33	thymol	0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		2	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		4	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	16.85 \pm 1.20	17.50 \pm 0.70
	eugenol	0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		2	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		4	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00
41	thymol	0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		2	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		4	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	16.61 \pm 1.28
	eugenol	0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		2	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
		4	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	15.00 \pm 0.00	16.25 \pm 0.35

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของฟิล์ม EVA/LDPE เดิม ไทมอล ยูจีนอล ไนซิน ไทมอลผสมยูจีนอล ไทมอลผสมไนซิน และยูจีนอลผสมไนซินเมื่อควบคุมระยะขึ้นรูปเท่ากับ 600 μm ได้ผลดังตารางที่ 16 และภาพที่ 28-31

ตารางที่ 16 แสดงผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าทริทเมนต์มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้งมีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) ฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลหรือยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้และมีบริเวณที่ยับยั้งรอบแผ่นฟิล์มชัดเจน ในขณะที่ฟิล์ม EVAflex150/LDPE เดิม ไทมอลหรือยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 % w/v สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้เฉพาะบริเวณใต้ผิวสัมผัสกับแผ่นฟิล์มทดสอบเท่านั้น ส่วนฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลหรือยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 %w/v ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ การเติมไนซินลงในฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ส่วนใหญ่ไม่ให้เกิดการยับยั้งที่ดีกว่าการเติมไทมอลหรือยูจีนอลเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์และฟิล์มชนิดเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากไนซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีเมื่ออยู่ในสถานะที่มีค่าความเป็นกรดต่ำ (Millette *et al.*, 2007) ดังนั้นการแพร่ของไนซินจากฟิล์มทดสอบลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปรับสถานะให้มีความเป็นกรดจึงเป็นสาเหตุให้การแสดงประสิทธิภาพของไนซินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลดลง

การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารต่อต้านจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 4.0 %w/v ฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลผสมยูจีนอลมีขนาดของบริเวณที่ยับยั้ง $(18.66 \pm 0.38) - (29.58 \pm 2.31)$ mm และ $(15.00 \pm 0.00) - (22.97 \pm 0.29)$ mm ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าขนาดบริเวณยับยั้งของฟิล์ม EVAflex150/LDPE และ EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลหรือยูจีนอลเพียงชนิดเดียว และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 %w/v และฟิล์ม EVAflex150/LDPE และฟิล์ม EVAflex40w/LDPE เดิม ไทมอลหรือยูจีนอลผสมไนซินที่ความเข้มข้นทั้งสองระดับไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไนซินเพียงชนิดเดียวที่ระดับความ

เข้มข้นเดียวกัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการใช้สาร ไทมอลและยูจีนอลผสมกันทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันและเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้

ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียระหว่างฟิล์ม EVAflex150/LDPE และ EVAflex40w/LDPE เมื่อเปรียบเทียบที่ชนิดของสารต่อต้านจุลินทรีย์และความเข้มข้นที่ระดับเดียวกัน พบว่าฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบดีกว่าฟิล์ม EVAflex40w/LDPE โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งผลดังกล่าวอาจมีสาเหตุมาจากอัตราการปลดปล่อยสารที่แตกต่างกันของฟิล์มทั้ง 2 ชนิด แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของโครงสร้างฟิล์มเอทิลีนไวนิลเอซีเทตมีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียเนื่องจากการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ในอัตราที่แตกต่างกัน (Tallury *et al.*, 2007)

ภาพที่ 28 แสดงบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับฟิล์ม EVAflex40w/LDPE พบว่าฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ให้ผลการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ดีกว่าฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex40w/LDPE ในทุกทริทเมนต์ที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดและความเข้มข้นระดับเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มชนิดเดียวกันพบว่า ทริทเมนต์ที่เติมไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* มากที่สุด ซึ่งแนวโน้มดังกล่าวให้ผลที่สอดคล้องกันกับผลการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ดังแสดงในภาพที่ 29-31

ตารางที่ 16 บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ที่ระยะจึ้นรูป 600 μm

EVA (%VA)	Antimicrobial agent	Concentration (%w/v)	Inhibition zone ^{1,2} (mm)			
			<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
33	control	0	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00
	thymol	2	16.06 ^e ± 1.50	15.00 ^d ± 0.00	15.42 ^d ± 0.59	15.00 ^h ± 0.00
		4	19.34 ^b ± 0.30	19.38 ^a ± 0.85	20.62 ^a ± 0.84	24.02 ^{bc} ± 0.01
	eugenol	2	15.00 ^g ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	16.70 ^g ± 0.89
		4	17.59 ^c ± 0.09	17.67 ^c ± 0.38	20.65 ^a ± 0.51	24.56 ^b ± 0.98
	nisin	2	15.00 ^g ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	15.32 ^d ± 0.45	0.00 ⁱ ± 0.00
		4	15.43 ^{fg} ± 0.11	15.10 ^d ± 0.14	17.45 ^{bc} ± 0.30	0.00 ⁱ ± 0.00
	thymol and eugenol	2	15.00 ^g ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.05 ^d ± 0.07	18.45 ^{ef} ± 0.08
		4	23.33 ^a ± 0.21	18.66 ^b ± 0.38	21.27 ^a ± 0.68	29.58 ^a ± 2.31
	thymol and nisin	2	15.07 ^g ± 0.09	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00
		4	15.07 ^g ± 0.09	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00
	eugenol and nisin	2	15.28 ^g ± 0.40	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00
		4	17.42 ^{cd} ± 0.69	15.64 ^d ± 0.91	16.22 ^d ± 1.23	19.07 ^c ± 0.91

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

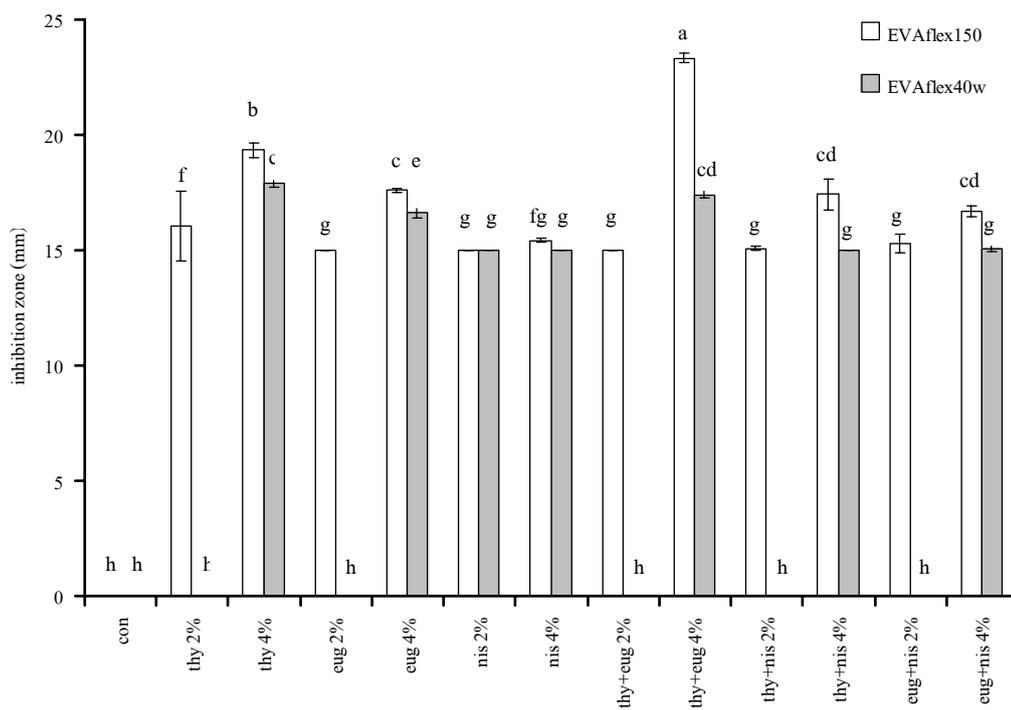
² ตัวอักษรที่แตกต่างกัน ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 16 (ต่อ)

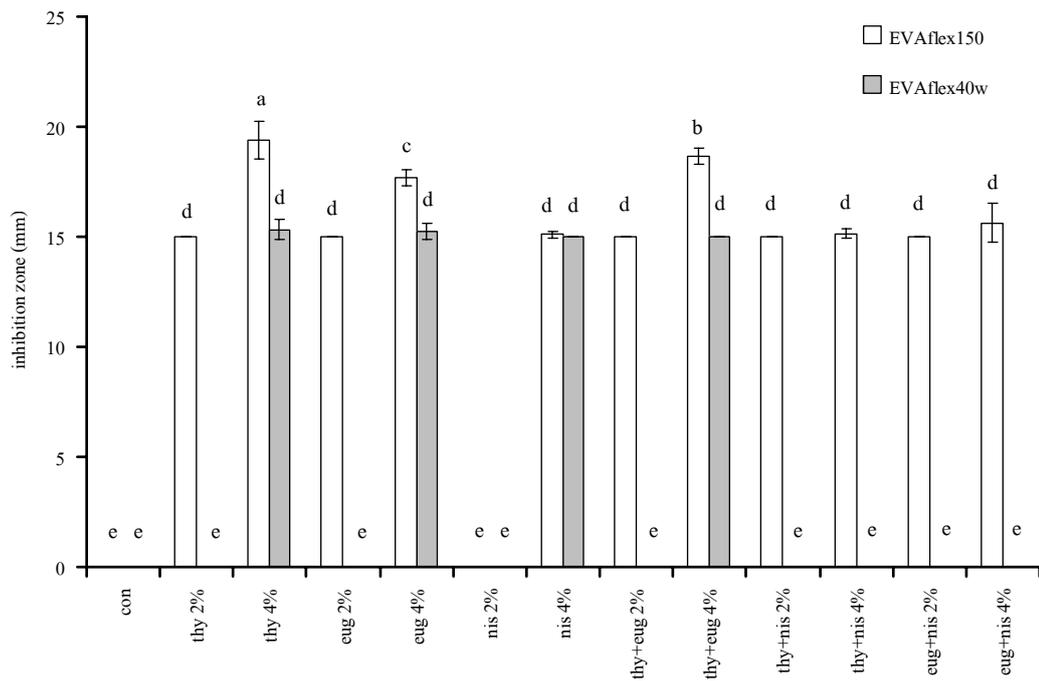
EVA (%VA)	Antimicrobial agent	Concentration (%w/v)	Inhibition zone ^{1,2} (mm)				
			<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	
44	control	0	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00	
		thymol	2	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00
	eugenol	4	17.89 ^c ± 0.15	15.32 ^d ± 0.45	16.35 ^{cd} ± 1.29	17.69 ^{fg} ± 0.45	
		2	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00	
	nisin	4	16.61 ^c ± 0.19	15.25 ^d ± 0.35	18.67 ^b ± 0.38	21.97 ^d ± 1.07	
		2	15.00 ^g ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00	
	thymol and eugenol	4	15.00 ^g ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.10 ^d ± 0.14	0.00 ⁱ ± 0.00	
		2	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ⁱ ± 0.00	
	thymol and nisin	4	17.41 ^{cd} ± 0.16	15.00 ^d ± 0.00	17.26 ^c ± 2.21	22.97 ^{cd} ± 0.29	
		2	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00	
	eugenol and nisin	4	15.00 ^g ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00	
		2	0.00 ^h ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00	
			4	15.00 ^g ± 0.00	0.00 ^c ± 0.00	15.00 ^d ± 0.00	15.00 ^h ± 0.00

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

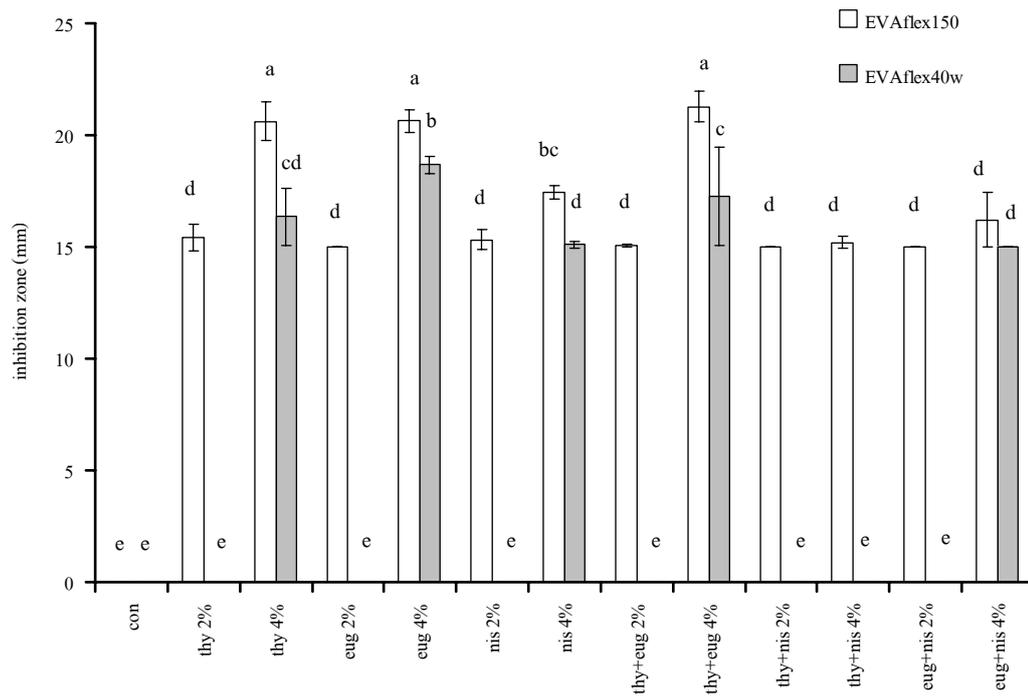


ภาพที่ 28 บริเวณยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE (con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)



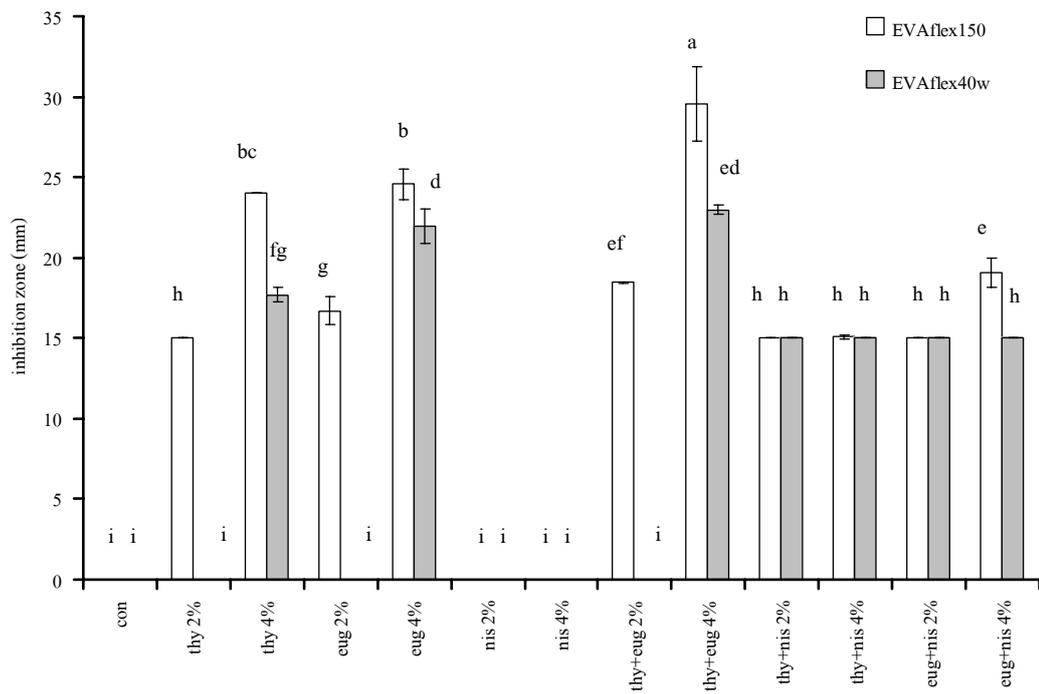
ภาพที่ 29 บริเวณยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE

(con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)



ภาพที่ 30 บริเวณยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE

(con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)



ภาพที่ 31 บริเวณยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE

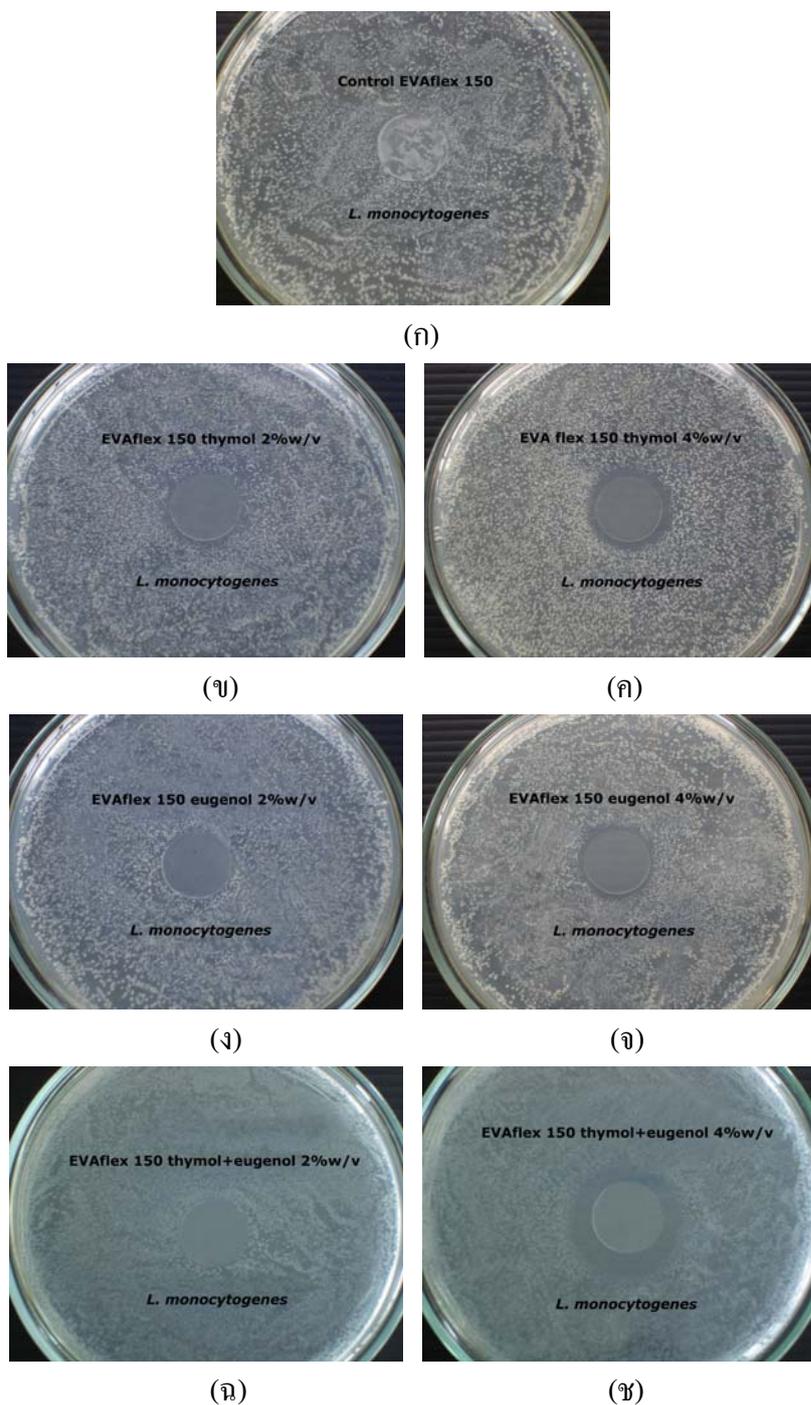
(con หมายถึง ตัวอย่างควบคุม; thy หมายถึง ไทมอล; eug หมายถึง ยูจีนอล; nis หมายถึง ไนซิน; thy+eug หมายถึง ไทมอลผสมยูจีนอล; thy+nis หมายถึง ไทมอลผสมไนซิน; eug+nis หมายถึง ยูจีนอลผสมไนซิน)

เอทิลีน ไวนิลเอซีเตตเป็น โคพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยพอลิเอทิลีนที่มีลักษณะกึ่งผลึกและไวนิลเอซีเตตที่มีลักษณะอสัณฐาน โดยมีไวนิลเอซีเตตอยู่ในโครงสร้างในปริมาณที่แตกต่างกันไปตามเกรดของพอลิเมอร์ ความแตกต่างของปริมาณไวนิลเอซีเตตทำให้คุณสมบัติด้านการซึมผ่านของโคพอลิเมอร์เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงนำคุณสมบัติข้อนี้มาใช้ในการควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารในโคพอลิเมอร์ได้เป็นที่ทราบกันดีว่าพอลิเมอร์ที่มีความเป็นผลึกสูงจะมีความสามารถในการยอมให้สารแพร่ผ่านได้ต่ำ ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของปริมาณไวนิลเอซีเตตในพอลิเอทิลีนทำให้ความเป็นผลึกของเอทิลีนไวนิลเอซีเตตลดลง ส่งผลให้โครงสร้างโมเลกุลมีความยืดหยุ่นและสารต่างๆสามารถซึมผ่านหรือเกิดการปลดปล่อยได้ดียิ่งขึ้น (Tallury *et al.*, 2007)

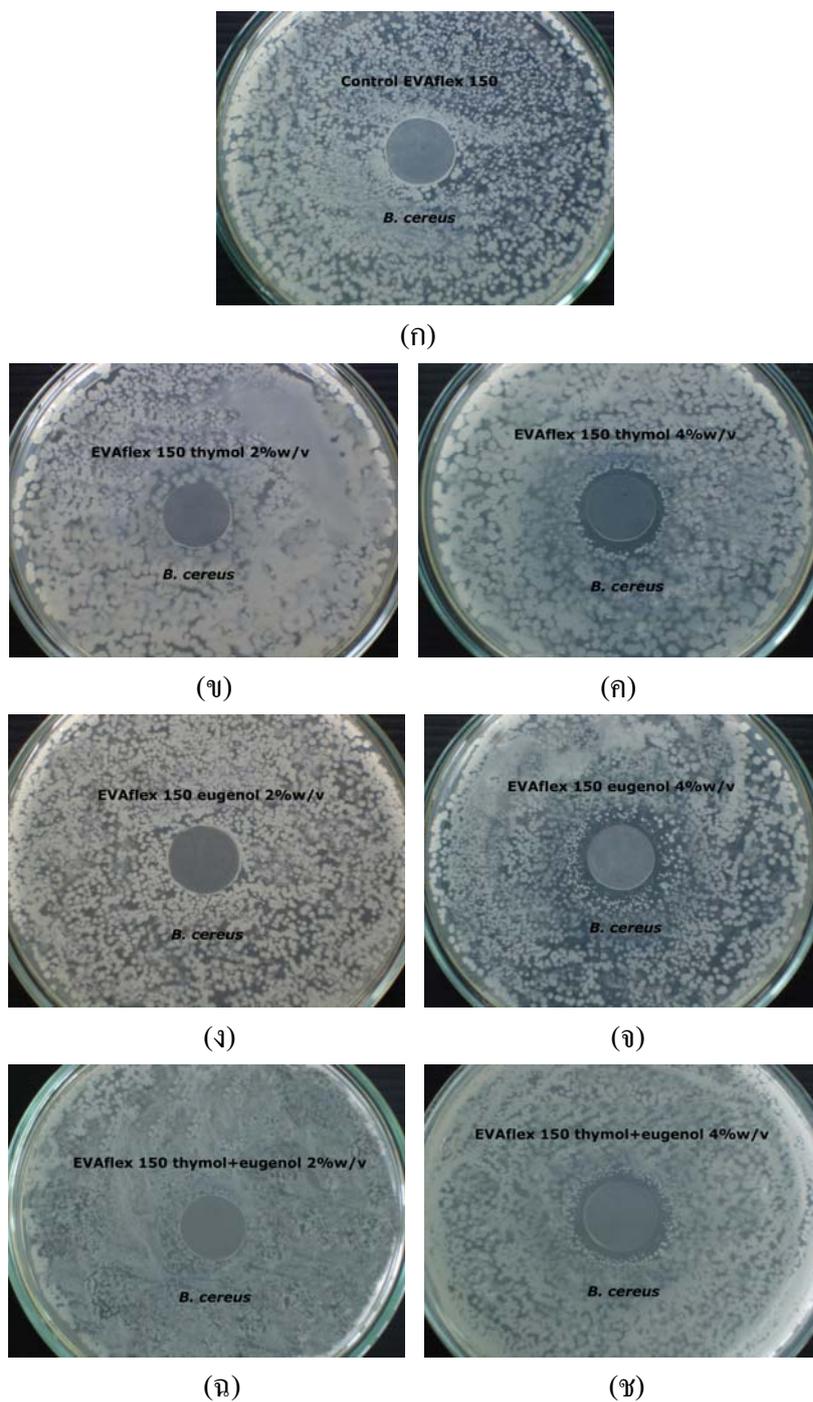
Tallury *et al.* (2007) ศึกษาความสามารถในการปลดปล่อยสารต้านรา acyclovir (ACY) และสารต่อต้านจุลินทรีย์คลอโรเฮกซิดีนไดอะซีเตต (chlorhexidine diacetate, CDA) ในฟิล์มเอทิลีนไวนิลเอซีเตตโคพอลิเมอร์ที่มีปริมาณไวนิลเอซีเตตในโครงสร้าง 28, 32 และ 40 % พบว่าผลจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณไวนิลเอซีเตตทำให้โครงสร้างของพอลิเมอร์มีความเป็นผลึกลดลง สายโซ่พอลิเมอร์มีความยืดหยุ่นและมีความสามารถให้สารซึมผ่านเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้อัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นด้วย

เนื่องจากอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่สูงกว่าของฟิล์ม EVAflex40w/LDPE ทำให้สารต่อต้านจุลินทรีย์เกิดการสูญหายไปในช่วงกระบวนการขึ้นรูปและการทำแห้งฟิล์มและมีสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่าฟิล์ม EVAflex150/LDPE ผลของการมีความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ทำให้เกิดการแพร่ของสารดังกล่าวออกจากฟิล์มลงสู่อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (Ha *et al.*, 2001) นอกจากนี้สาเหตุดังกล่าวแล้วประสิทธิภาพที่แตกต่างกันระหว่างฟิล์มทั้ง 2 ชนิดอาจเกิดจากฟิล์ม EVAflex40w/LDPE มีอัตราการปลดปล่อยสารต่อต้านจุลินทรีย์ในอัตราที่ไม่เหมาะสมกับระยะเวลาในการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ กล่าวคือเกิดการปลดปล่อยสารเร็วกว่าการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ทำให้สารถูกปลดปล่อยออกมาจนมีระดับต่ำกว่าค่า MICs เมื่อถึงระยะเวลาที่แบคทีเรียเจริญขึ้นจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

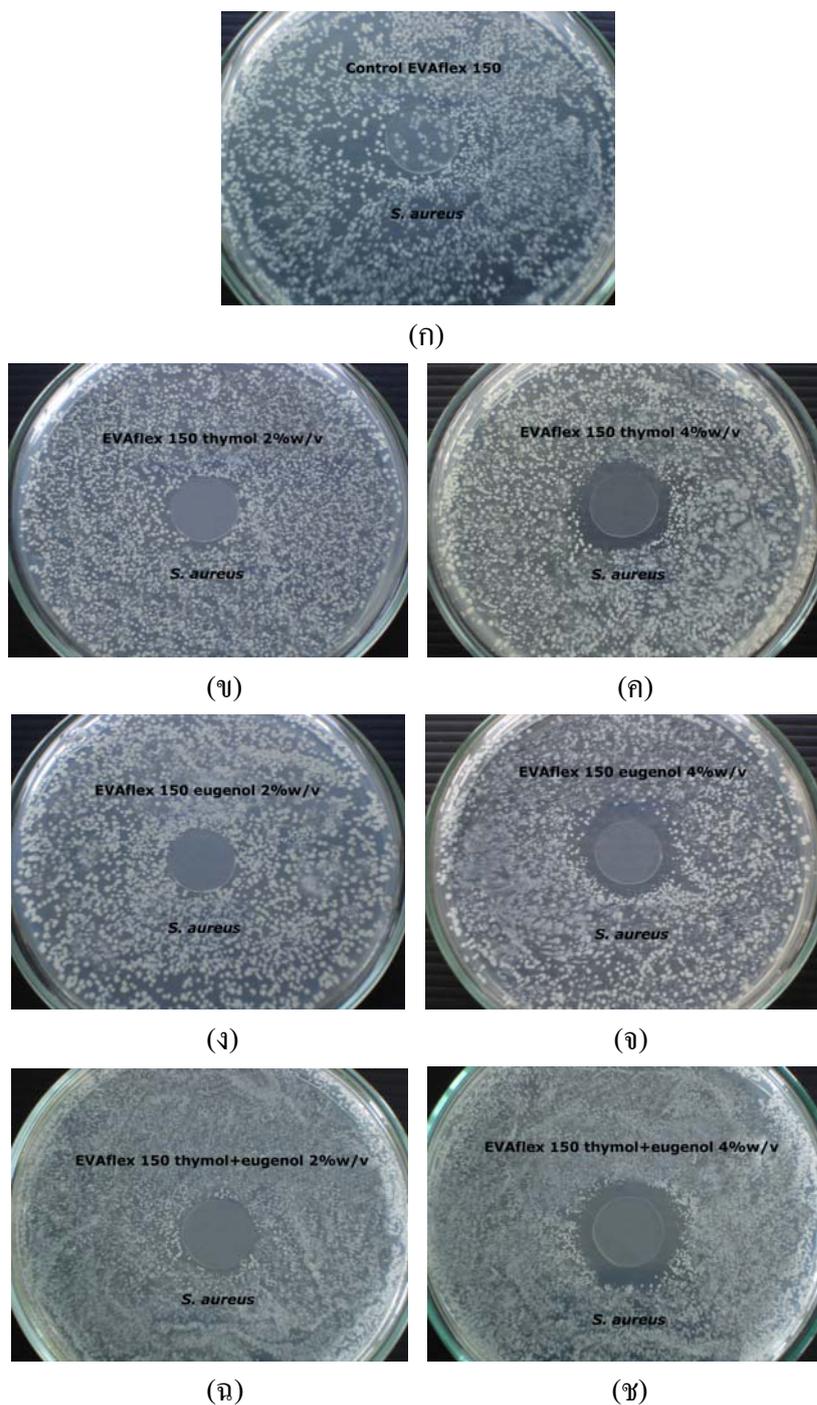
จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าฟิล์ม EVAflex150/LDPE มีความเหมาะสมในการนำมาใช้เตรียมฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เนื่องจากให้ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าฟิล์ม EVAflex40w/LDPE ในทุกทริทเมนต์ที่ระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีและมีผลของบริเวณยับยั้งที่ชัดเจนได้แก่ ฟิล์ม EVAflex150/LDPE ทริทเมนต์ที่เติม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอล ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มและสารต่อต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวไปศึกษาสมบัติทางกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊ส ออกซิเจนต่อไป ภาพที่ 32-35 แสดงผลของการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิดของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติม ไทมอล ยูจีนอล และ ไทมอลผสมยูจีนอล เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม



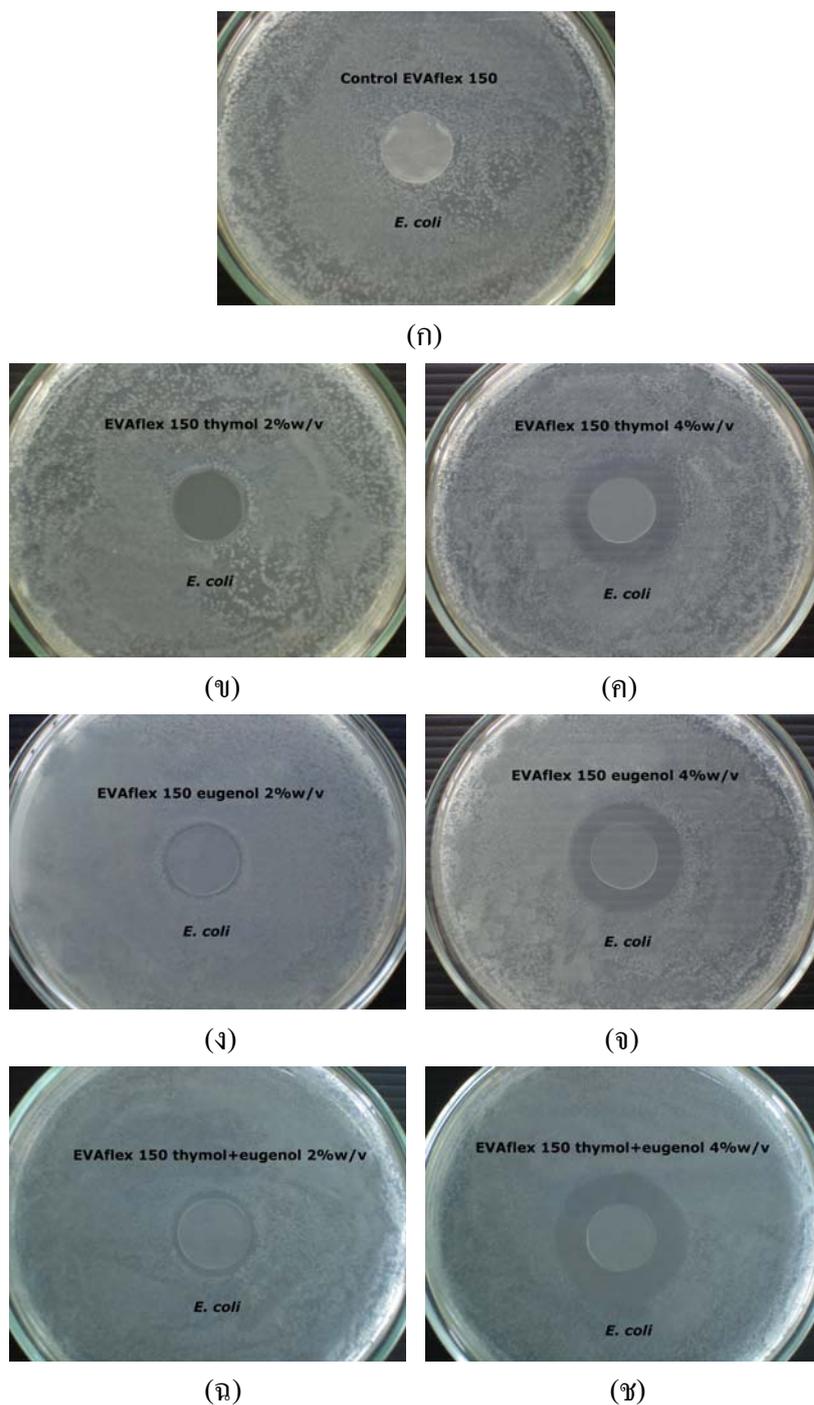
ภาพที่ 32 ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v



ภาพที่ 33 ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v



ภาพที่ 34 ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v



ภาพที่ 35 ประสิทธิภาพของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*
 (ก) ฟิล์มควบคุม (ข) ฟิล์มเติมไทมอล 2.0 % w/v (ค) ฟิล์มเติมไทมอล 4.0 % w/v (ง) ฟิล์มเติมยูจีนอล 2.0 % w/v (จ) ฟิล์มเติมยูจีนอล 4.0 % w/v (ฉ) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 % w/v (ช) ฟิล์มเติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 % w/v

4. การทดสอบสมบัติทางกล สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางความร้อนของฟิล์ม EVAflex150/LDPE

ตารางที่ 17 และ ภาพที่ 36-37 แสดงผลการทดสอบสมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางกลของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เดิม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม

จากการทดลองพบว่า การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ทำให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปแล้วการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มทำให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์เข้าไปขัดขวางการเกิดแรงกระทำกันระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ ทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลลดลงเกิดเป็นช่องว่างภายในโครงสร้างของฟิล์ม โมเลกุลของไอน้ำจึงสามารถแพร่ผ่านฟิล์มได้ในอัตราที่รวดเร็วยิ่งขึ้น (Cha *et al.*, 2003; Pranoto *et al.*, 2005) เหตุผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ โดยพบว่า การเติม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอลลงในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ส่งผลให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เพิ่มขึ้นและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จาก $2.51 \text{ g/m}^2 \cdot \text{day}$ ของตัวอย่างฟิล์มควบคุมเป็น $2.61 - 3.27 \text{ g/m}^2 \cdot \text{day}$ ของตัวอย่างฟิล์ม EVAflex150/LDPE เดิม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอล ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v

การเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในฟิล์ม EVAflex150/LDPE พบว่าการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 4.0 %w/v ทำให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มต่ำกว่าการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 2.0 %w/v ซึ่งอธิบายได้ว่าเกิดจากสมบัติความมีขั้วที่แตกต่างกันระหว่างโมเลกุลไอน้ำที่แสดงความมีขั้วกับไทมอลและยูจีนอลที่แสดงความไม่มีขั้ว การที่ไอน้ำมีความสามารถในการละลายได้น้อยในไทมอลหรือยูจีนอลทำให้โมเลกุลของไทมอลและยูจีนอลขัดขวางการแพร่ของโมเลกุลไอน้ำผ่านฟิล์ม ทำให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มลดลง

อัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนของฟิล์ม EVAflex150/LDPE มีแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกันกับอัตราการซึมผ่านไอน้ำ โดยมีอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนเพิ่มขึ้นจาก $5138.00 \text{ cc/m}^2 \cdot \text{day}$ ของตัวอย่างฟิล์มควบคุมเป็น $6411.50 - 7159.00 \text{ cc/m}^2 \cdot \text{day}$ ของตัวอย่างฟิล์ม EVAflex150/LDPE เดิม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอล ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v

ผลของการเติม ไทโมล ยูจีนอล หรือ ไทโมลผสมยูจีนอล ในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 หรือ 4.0 %w/v ต่อความหนาของชั้นฟิล์ม EVAflex150 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างความหนาของฟิล์มแต่ละทริทเมนต์ ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์มีความหนาเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยมีความหนา 57.20 - 63.60 μm โดยทริทเมนต์ที่มีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 4.0 %w/v มีความหนามากกว่าทริทเมนต์ที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 2.0 %w/v ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ทริทเมนต์ที่เติม ไทโมลมีความหนามากกว่าฟิล์มที่เติมยูจีนอล หรือ ไทโมลผสมยูจีนอล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ไทโมลมีลักษณะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของความหนามากกว่า ยูจีนอลซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลว

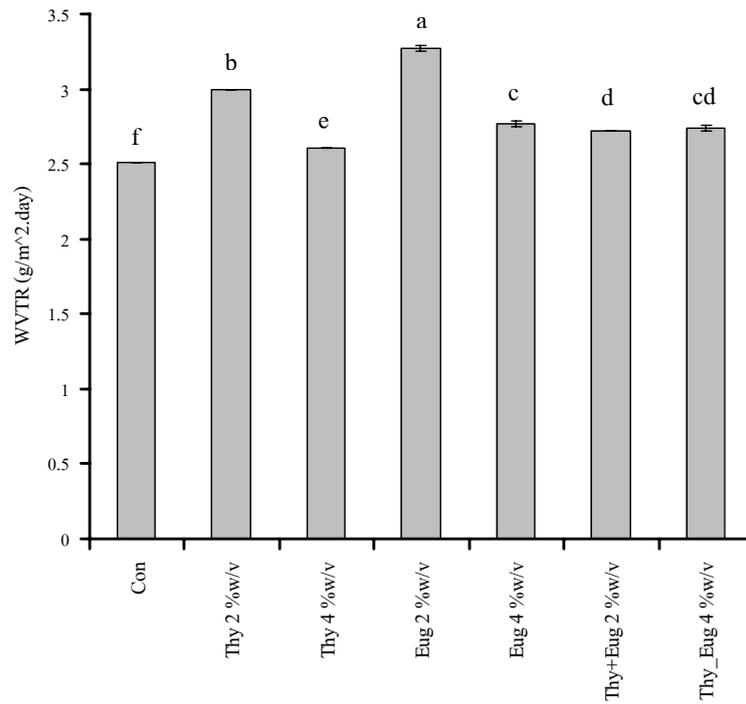
การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ของเปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm ระหว่างฟิล์มในทุกทริทเมนต์ (ข้อมูลตัวเลขของเปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสง ความยาวคลื่น 200-800 nm แสดงในตารางผนวกที่ ค1) อย่างไรก็ตามพบการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 250 nm โดยการเติม ไทโมล และ ยูจีนอล ทำให้เกิดการลดลงของความส่งผ่านแสงที่ตำแหน่งดังกล่าว เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของ ไทโมล และ ยูจีนอล ประกอบด้วยหมู่เบนซีนซึ่งมีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) ได้ที่ความยาวคลื่น 255 nm (เย็นหทัย, 2549) ด้วยเหตุนี้จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความส่งผ่านแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าวของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม ดังภาพที่ 38

ตารางที่ 17 สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน และสมบัติทางกลของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เต็ม ไทมอล ยูจีนอล หรือ ไทมอลผสมยูจีนอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม

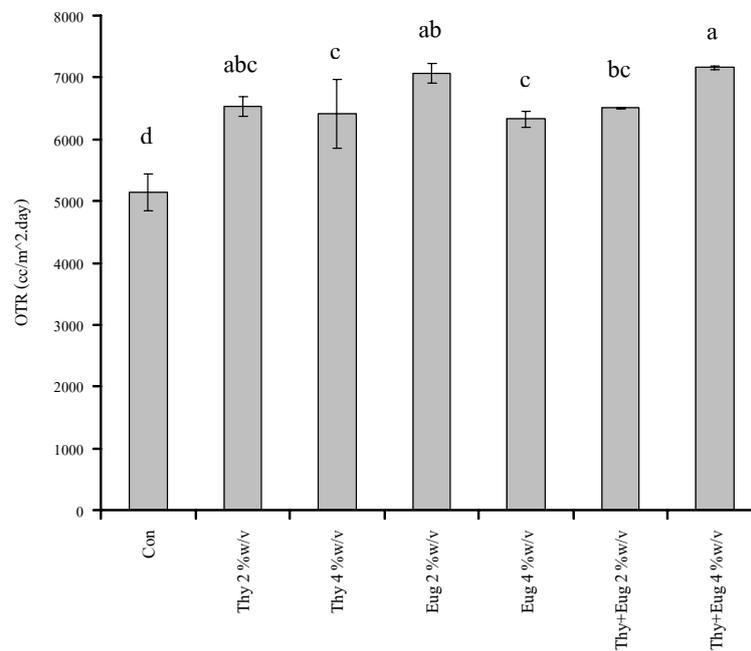
Film	Concentration (w/v)	WVTR ^{1,2} (g/m ² .day)	OTR ^{1,2} (cc/m ² .day)	thickness ^{1,2} (micron)		%Transmittance ^{1,2} (λ=600 nm)	Tensile strength ^{1,2} (N/mm ²)	Elongation ^{1,2} (%)
				EVA/LDPE	EVA			
control	0	2.51 ^f ± 0.00	5138.00 ^d ± 292.74	101.36 ^c ± 4.39	56.36 ^c ± 4.39	88.40 ^a ± 0.28	10.30 ^{ab} ± 0.50	1018.86 ^a ± 76.13
thymol	2	3.00 ^b ± 0.00	6534.50 ^{abc} ± 157.68	106.93 ^{ab} ± 4.18	61.93 ^{ab} ± 4.18	89.02 ^a ± 0.31	8.71 ^c ± 1.03	952.21 ^{ab} ± 11.56
	4	2.61 ^c ± 0.00	6411.50 ^c ± 557.90	108.60 ^a ± 3.96	63.60 ^a ± 3.96	88.37 ^a ± 0.17	8.25 ^c ± 0.86	964.64 ^{ab} ± 43.05
eugenol	2	3.27 ^a ± 0.02	7067.50 ^{ab} ± 159.09	103.46 ^c ± 4.78	58.46 ^c ± 4.78	88.55 ^a ± 0.28	8.98 ^{bc} ± 0.55	950.40 ^{ab} ± 11.90
	4	2.77 ^c ± 0.02	6323.50 ^c ± 135.05	105.66 ^b ± 4.41	60.66 ^b ± 4.41	89.10 ^a ± 0.00	8.55 ^c ± 0.19	938.20 ^{ab} ± 16.26
Thymol and eugenol	2	2.72 ^d ± 0.00	6504.00 ^{bc} ± 11.31	102.20 ^c ± 4.90	57.20 ^c ± 4.90	88.85 ^a ± 0.42	10.64 ^a ± 0.00	886.07 ^b ± 5.67
	4	2.74 ^{cd} ± 0.02	7159.00 ^a ± 36.76	106.15 ^b ± 5.43	61.15 ^b ± 5.43	88.95 ^a ± 0.63	9.44 ^{abc} ± 0.17	914.04 ^b ± 48.47

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

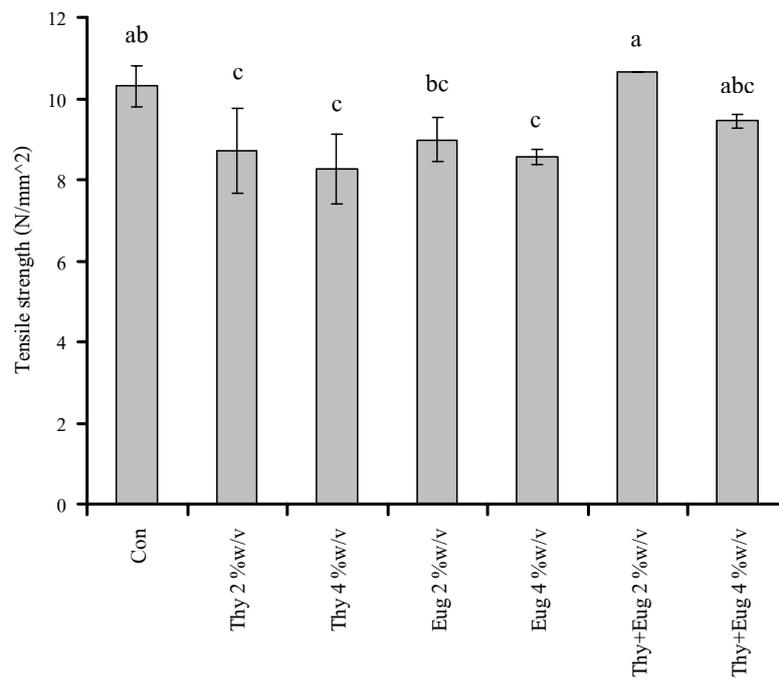


(ก)

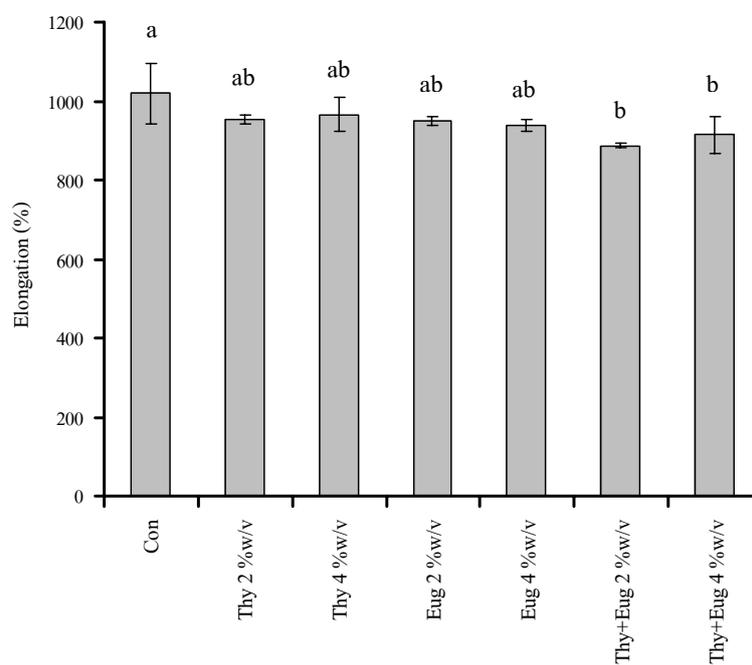


(ข)

ภาพที่ 36 (ก) อัตราการซึมผ่านไอน้ำ และ (ข) อัตราการซึมผ่านแก๊สออกซิเจน ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอล

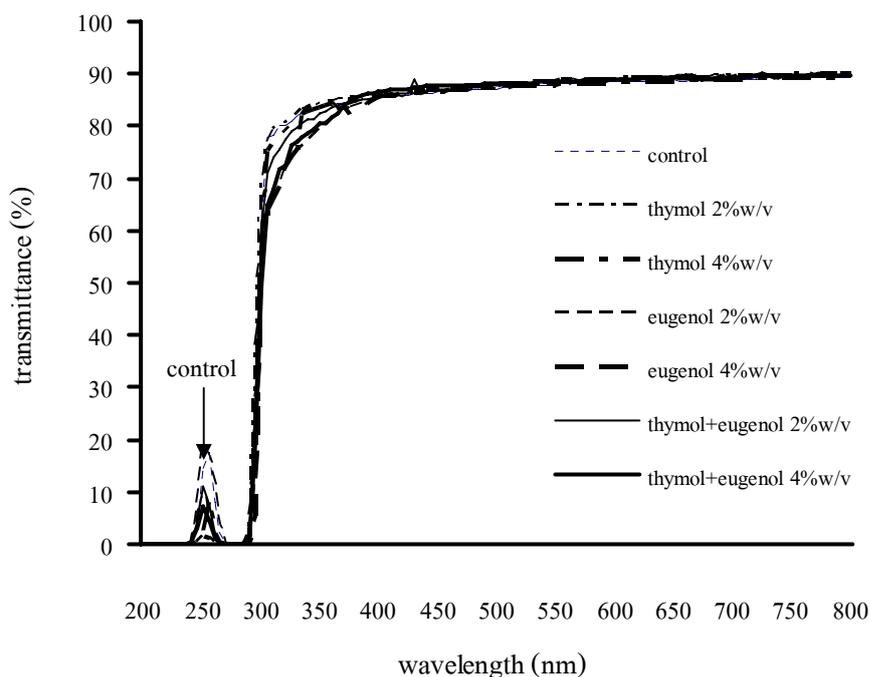


(ก)



(ข)

ภาพที่ 37 (ก) ความต้านทานแรงดึงขาด และ (ข) เปอร์เซ็นต์การยืดตัว ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติม ไทโมล ยูจีนอล หรือ ไทโมลผสมยูจีนอล



ภาพที่ 38 อัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอล

ความต้านทานแรงดึงขาดและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวเป็นวิธีการทดสอบสมบัติทางกลที่แสดงถึงความแข็งแรงและความสามารถในการยืดตัวของฟิล์มก่อนการแตกหัก ซึ่งเป็นสมบัติที่มีความสำคัญในการบ่งบอกลักษณะของวัสดุทางการบรรจุ (Pranoto *et al.*, 2005) จากผลการทดสอบค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสม ยูจีนอล ความเข้มข้น 2.0 % และ 4.0 %w/v พบว่าการเติมไทมอลความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ลดความต้านทานแรงดึงขาดจาก 10.30 N/mm² ของฟิล์มควบคุมเป็น 8.71 และ 8.25 N/mm² ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ ตามลำดับ ในขณะที่การเติมยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ลดความต้านทานแรงดึงขาดจาก 10.30 N/mm² ของฟิล์มควบคุม เป็น 8.98 และ 8.95 N/mm² ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในทางวัสดุศาสตร์ถือว่าความต้านทานแรงดึงขาดที่แตกต่างกันในช่วง 5 - 10 หน่วย หรือประมาณ 20 % ไม่มีความแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การยืดตัวที่ได้ โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE และฟิล์มควบคุม

Cha *et al.* (2002) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นความเข้มข้น 0.1 %w/w ลงในฟิล์มโซเดียมแอลจีเนต (Na-alginate) และโพแทสเซียมคาราจีแนน (K-carrageenan) พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดและเปอร์เซ็นต์การยึดตัวของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์จากโซเดียมแอลจีเนต และโพแทสเซียมคาราจีแนนมีค่าน้อยกว่าฟิล์มควบคุม การลดลงของความต้านทานแรงดึงขาดอาจเนื่องจากการแยกตัวของโครงสร้างข่ายของฟิล์มเมื่อมีการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มควบคุม เปอร์เซ็นต์การยึดตัวก่อนการแตกหักของฟิล์มควบคุมโซเดียมแอลจีเนตและโพแทสเซียมคาราจีแนนมีค่า 14 - 19 % และ 30 - 45 % ตามลำดับ และลดลงเหลือเพียง 4 - 5% เมื่อมีการเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

Pranoto *et al.* (2005) พบว่าการเติมน้ำมันจากกระเทียมในฟิล์มแอลจินตมีผลต่อการลดลงของความต้านทานแรงดึงขาด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเติมน้ำมันกระเทียมความเข้มข้นสูงกว่า 0.3 %v/v ในสารละลายฟิล์ม เนื่องจากน้ำมันกระเทียมเป็นตัวขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาของพันธะไอออนิกระหว่างแอลจินตและแคลเซียมไอออนที่ทำให้เกิดโครงสร้างข่ายในพอลิเมอร์ ในทางตรงกันข้ามการเติมน้ำมันกระเทียมความเข้มข้น 0.1 - 0.3 %v/v ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การยึดตัว อย่างไรก็ตาม พบการลดลงของเปอร์เซ็นต์การยึดตัวของฟิล์มแอลจินตเมื่อเติมน้ำมันกระเทียมที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 0.3 %v/v

โดยทั่วไปแล้วการเติมสารเติมแต่งชนิดอื่นนอกเหนือจากสารที่ทำให้เกิดการเชื่อมโยงข้าม (crosslinking agent) มีผลทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดลดลง (Pranoto *et al.*, 2005) ดังนั้นการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดน้อยลงจากการเข้าไปขัดขวางการเกิดแรงดึงคู่ระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Cha *et al.* (2002) และ Pranoto *et al.* (2005) ทั้งนี้เนื่องจากฟิล์มที่ได้จากการทดลองเป็นการเคลือบสารละลายฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลซีเทตที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงบนฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำซึ่งเป็นฟิล์มที่มีสมบัติเชิงกลที่ดี ทำให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความต้านทานแรงดึงขาดและเปอร์เซ็นต์การยึดตัวโดยรวมของฟิล์มถึงแม้ว่าความต้านทานแรงดึงขาดของชั้นฟิล์มเอทิลีนไวนิลแอลซีเตดจะลดลงก็ตาม

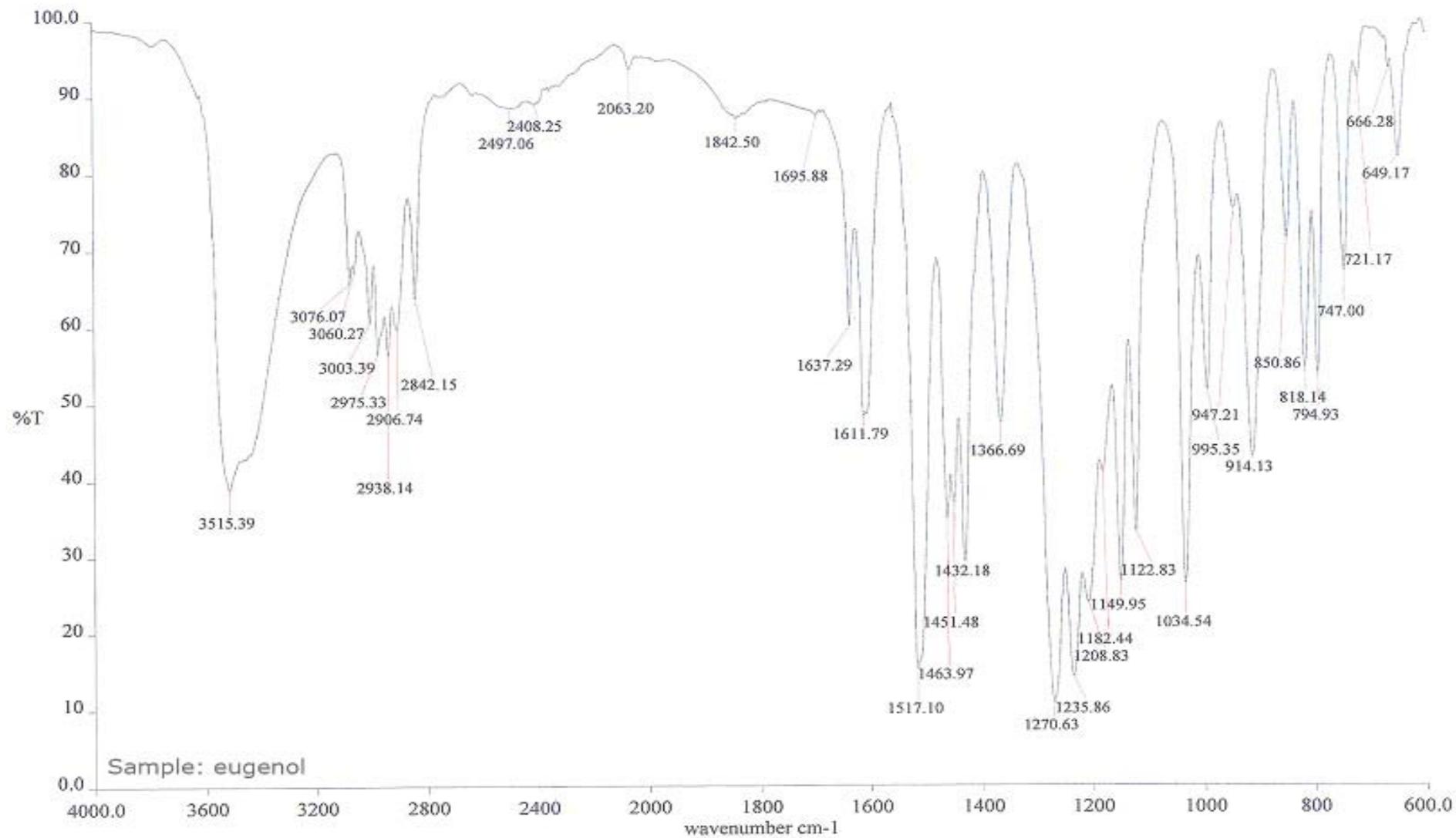
ภาพที่ 39-40 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของยูจินอลและไทมอล ตามลำดับ ไทมอลและยูจินอลจัดเป็นสารประกอบแอโรแมติก (aromatic) ที่มีหมู่เบนซีนเป็นองค์ประกอบ ทำให้เกิดสเปกตรัมที่มีการสั่นของพันธะ C=C และการงอของพันธะ C-H ทั้งชนิดในและนอกระนาบ แถบสเปกตรัมของที่สำคัญของไทมอลและยูจินอลมีดังนี้ คือ พันธะ C-H ยืด ปรากฏที่ $3000 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ มีความเข้มปานกลางถึงต่ำ ปรากฏแถบสเปกตรัมจำนวน 2-3 แถบ พันธะ C=C ยืด เกิดเป็นสเปกตรัมจำนวน 4 แถบ คือ แถบที่ 1 ที่ตำแหน่ง 1600 cm^{-1} มีลักษณะแหลมความเข้มสูง แถบที่ 2 ที่ตำแหน่ง 1587 cm^{-1} มีลักษณะแหลมแต่ความเข้มต่ำ แถบที่ 3 ที่ตำแหน่ง 1500 cm^{-1} มีลักษณะแหลมและมีความเข้มมากกว่าที่ 1600 cm^{-1} และ แถบที่ 4 ที่ตำแหน่ง 1450 cm^{-1} พันธะ C-H งอในระนาบ ปรากฏที่ $950 - 1250 \text{ cm}^{-1}$ มีความเข้มต่ำและมีลักษณะแหลม และพันธะ C-H งอนอกระนาบ ปรากฏที่ $670 - 900 \text{ cm}^{-1}$ มีความเข้มสูงเป็นสเปกตรัมที่แสดงให้เห็นลักษณะของหมู่แทนที่บนวงเบนซีน โดยพิจารณาพร้อมกับลักษณะแถบสเปกตรัมโอเวอร์โทนที่ $1670 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งจะมีความจำเพาะสำหรับหมู่แทนที่บนเบนซีนแต่ละแบบ (เย็นหทัย, 2549)

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันใน โมเลกุลของเอทิลีนไวนิลเอซีเตตโดยเทคนิค ATR-FTIR ดังภาพที่ 41 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE ตัวอย่างควบคุม พบว่าตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันต่างๆของไวนิลเอซีเตต ได้แก่ พันธะ C=O ยืด ที่ตำแหน่ง 1735.81 cm^{-1} พันธะ C-O ยืด ของหมู่เอสเตอร์ที่ตำแหน่ง 1236.64 และ 1019.64 cm^{-1} พันธะ C-H งอ ของหมู่เมทิล ที่ตำแหน่ง 1371.01 cm^{-1} และพันธะ CH_2 งอแบบกรไกร ของหมู่เมทิล ที่ตำแหน่ง 1463.97 cm^{-1} และแสดงตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันของเอทิลีน ได้แก่ พันธะ C-H ยืด ที่ตำแหน่ง 2917.59 cm^{-1} และ 2849.75 cm^{-1} และพันธะ CH_2 ที่ตำแหน่ง 719.90 cm^{-1} ตามลำดับ (Meszlényi and Körtvélyessy, 1999; Nishikida and Coates, 2003)

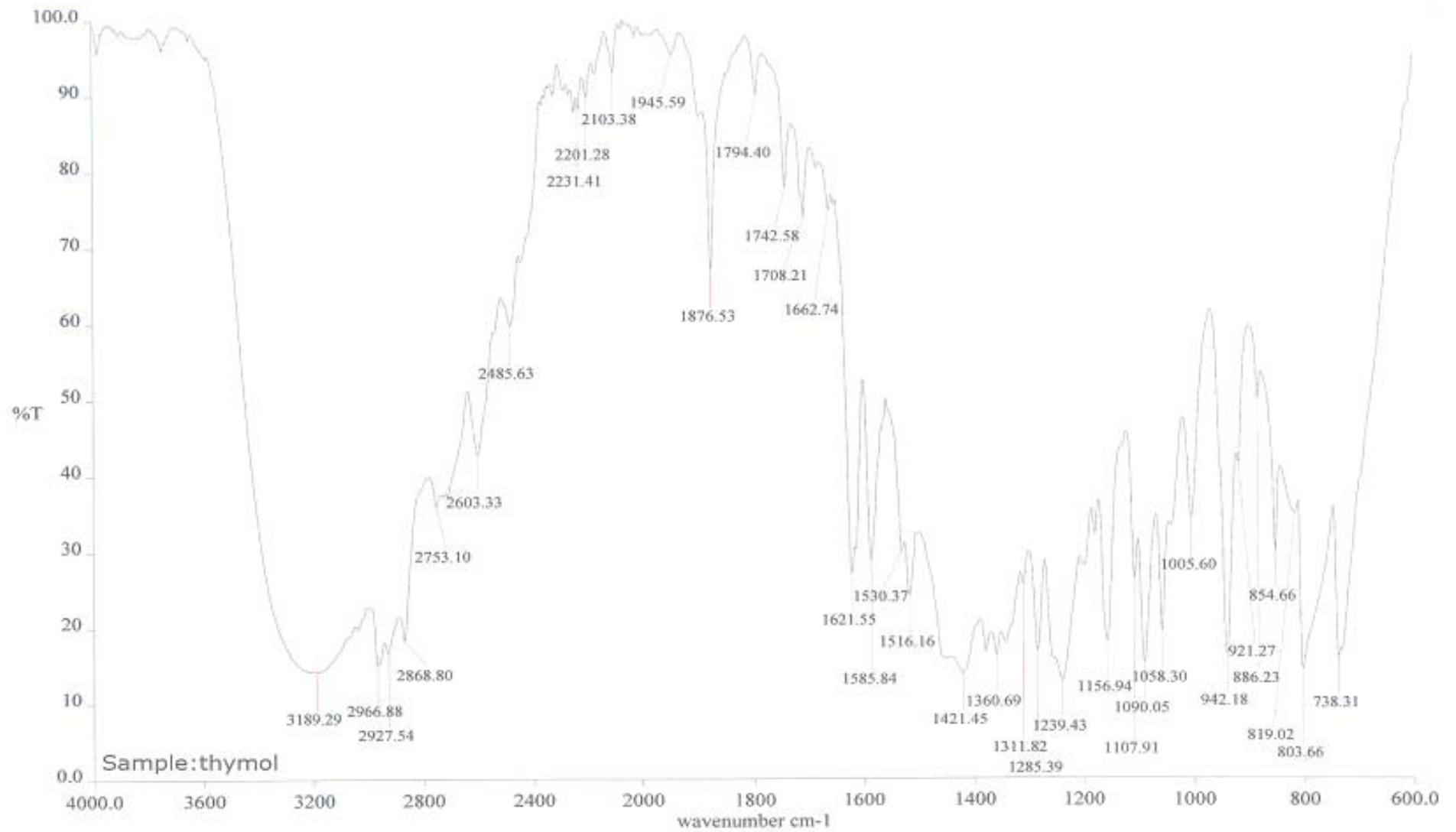
จากผลการทดลองที่ได้ในภาพที่ 42 ซึ่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างอินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE สารต่อต้านจุลินทรีย์ยูจินอลและไทมอล และฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจินอล หรือไทมอลผสมยูจินอล เพื่อศึกษาผลของการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างของฟิล์มควบคุม EVAflex150 พบว่าการเติมไทมอลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพันธะ C=O ในหมู่เอสเตอร์ ซึ่งอาจเป็นผลจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนในหมู่เอสเตอร์ของไวนิลเอซีเตตและหมู่ไฮดรอกซิลของไทมอล อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในฟิล์มที่เติมยูจินอล ทั้งที่โครงสร้างยูจินอลประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเช่นเดียวกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลจากการดึงประจุลบที่แตกต่างกันระหว่างหมู่ข้างเคียงรอบหมู่ไฮดรอกซิลระหว่างไทมอลและยูจินอลทำให้พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน

ผลการทดสอบสมบัติทางความร้อนแสดงดังตารางที่ 18 พบว่าการเติม ไทโมล ยูจีนอล หรือ ไทโมล ผสมยูจีนอลในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v มีค่าอุณหภูมิสถานะคล้าย แก้ว อุณหภูมิการหลอมเหลว อุณหภูมิการเกิดผลึก และเปอร์เซ็นต์การเกิดผลึก อยู่ในช่วง (-25.2) - (-31) องศาเซลเซียส 39.9 - 41.4 องศาเซลเซียส 43.8 - 47.8 องศาเซลเซียส และ 1.9 - 4.4 % ตามลำดับ ซึ่งในทาง วัสดุศาสตร์ความแตกต่างของสมบัติทางความร้อนในช่วงอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียสถือว่าไม่ความ แตกต่างกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์ม EVAflex150/LDPE ที่ระดับความ เข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

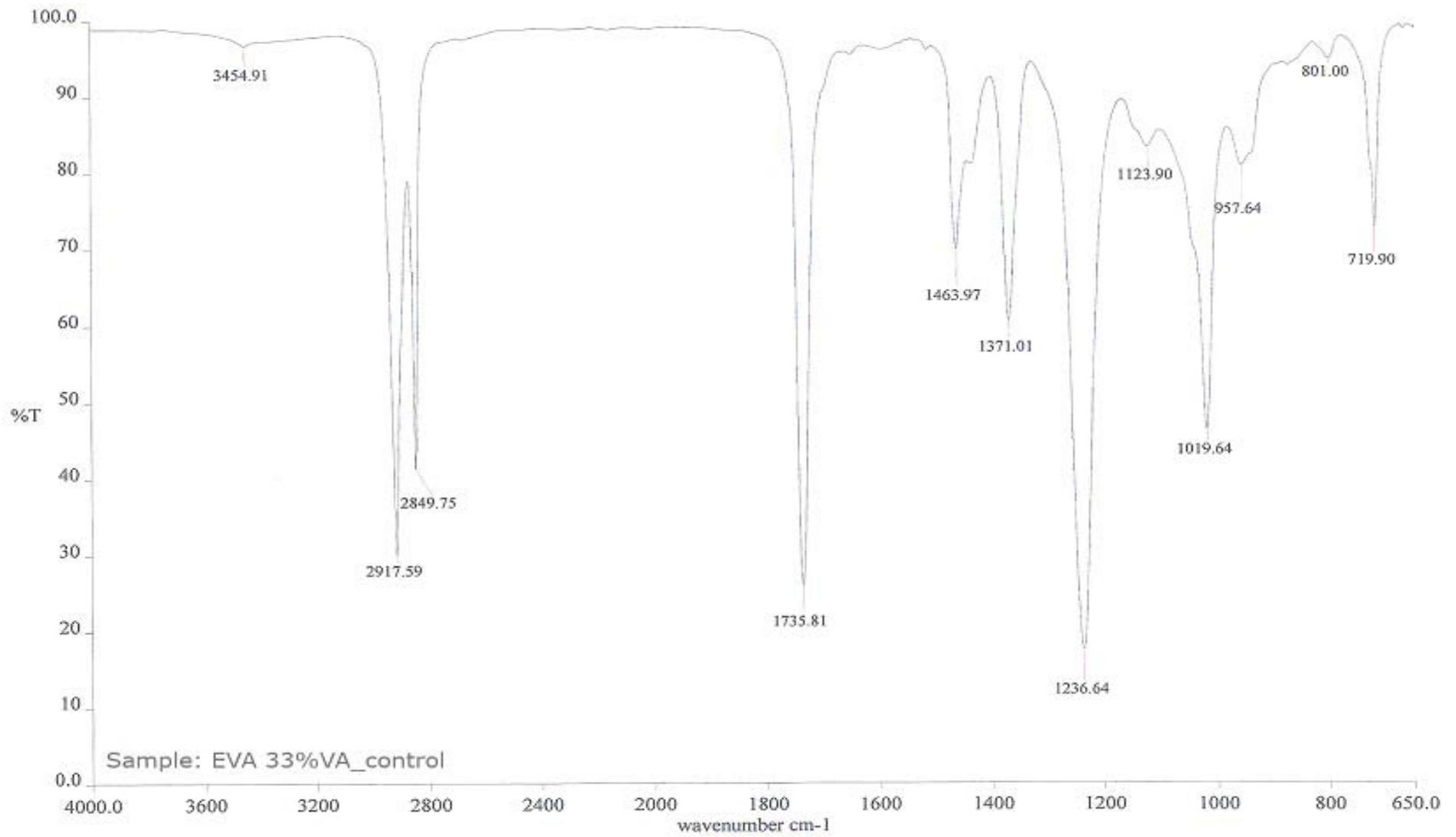
จากการปรากฏพิกที่ไม่สามารถระบุสาเหตุการเกิดได้อย่างแน่ชัดของเทอร์โมแกรมที่วิเคราะห์ด้วย เทคนิค DSC ในช่วงการลดอุณหภูมิ (cooling scan) ณ อุณหภูมิประมาณ 50 - 65 องศาเซลเซียส และ (-10) - (-20) องศาเซลเซียส ที่สังเกตได้จากภาพที่ 43-47 ตามลำดับซึ่งแสดงเทอร์โมแกรมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE ตัวอย่างควบคุม และฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมไทโมลหรือ ยูจีนอลทั้งที่ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v แต่ไม่พบการเกิดพิกที่มีลักษณะดังกล่าวในฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทโมลและยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v ดังแสดงในภาพที่ 48 และ 49 ตามลำดับ ทำให้ตั้งสมมติฐานว่าสารที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดพิก ณ อุณหภูมิ 50 - 65 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิ (-10) - (-20) องศาเซลเซียส อาจเป็นไดโครอโรมีเทนที่ใช้เป็นตัวทำละลายเม็ดพลาสติก EVAflex150 ที่อาจตกค้างอยู่ในฟิล์ม ซึ่งในกรณีนี้ต้องทำการศึกษาปริมาณสารตกค้างและวิธีการกำจัด ไดโครอโรมีเทนออกจากฟิล์มต่อไปในอนาคต



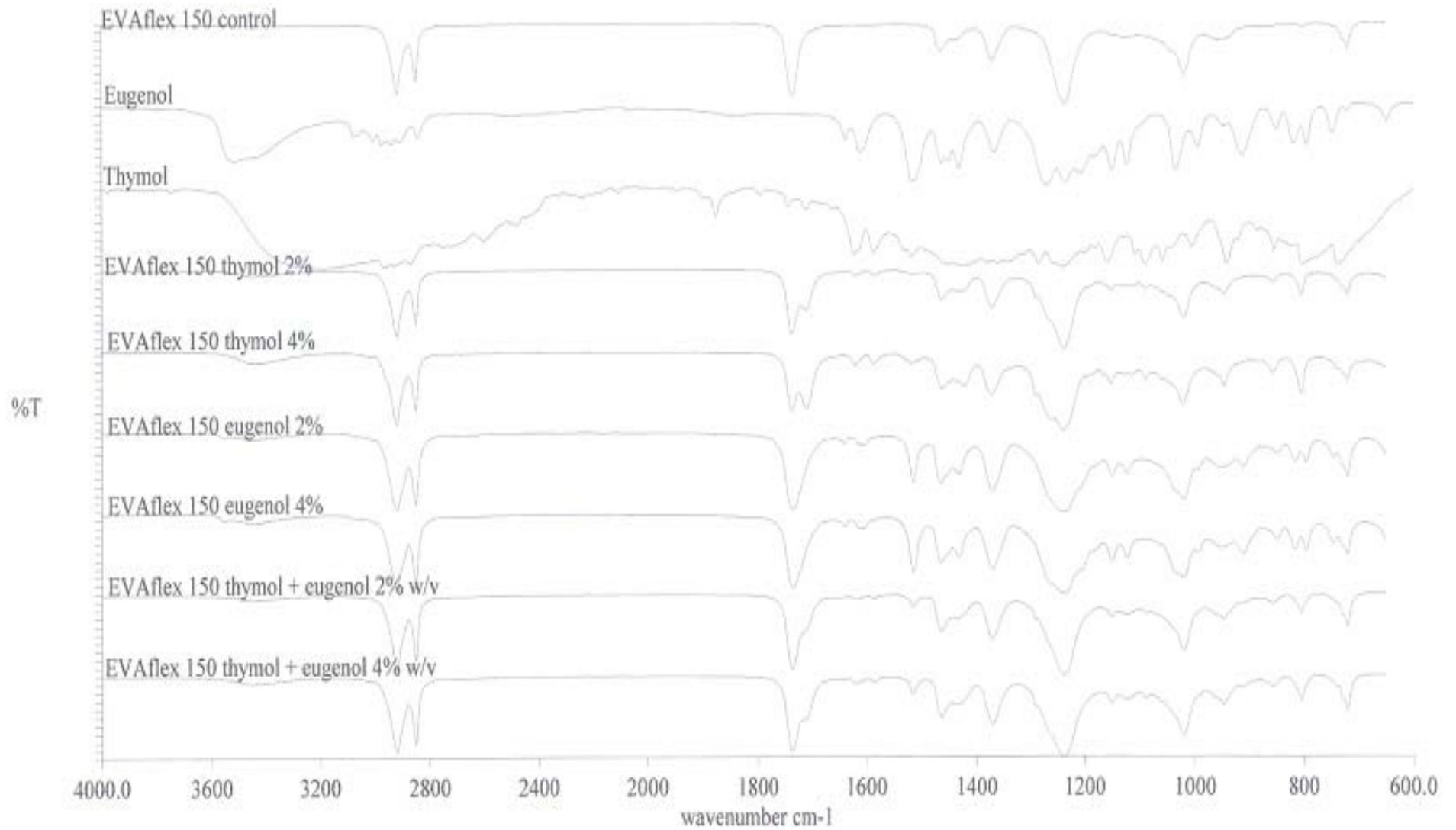
ภาพที่ 39 อินฟราเรดสเปกตรัมของยูจีนอล



ภาพที่ 40 อินฟราเรดสเปกตรัมของไทมอล



ภาพที่ 41 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE



ภาพที่ 42 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของไทมอลและยูจีนอล

ตารางที่ 18 สมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุมและเม็ดพลาสติก EVAflex150

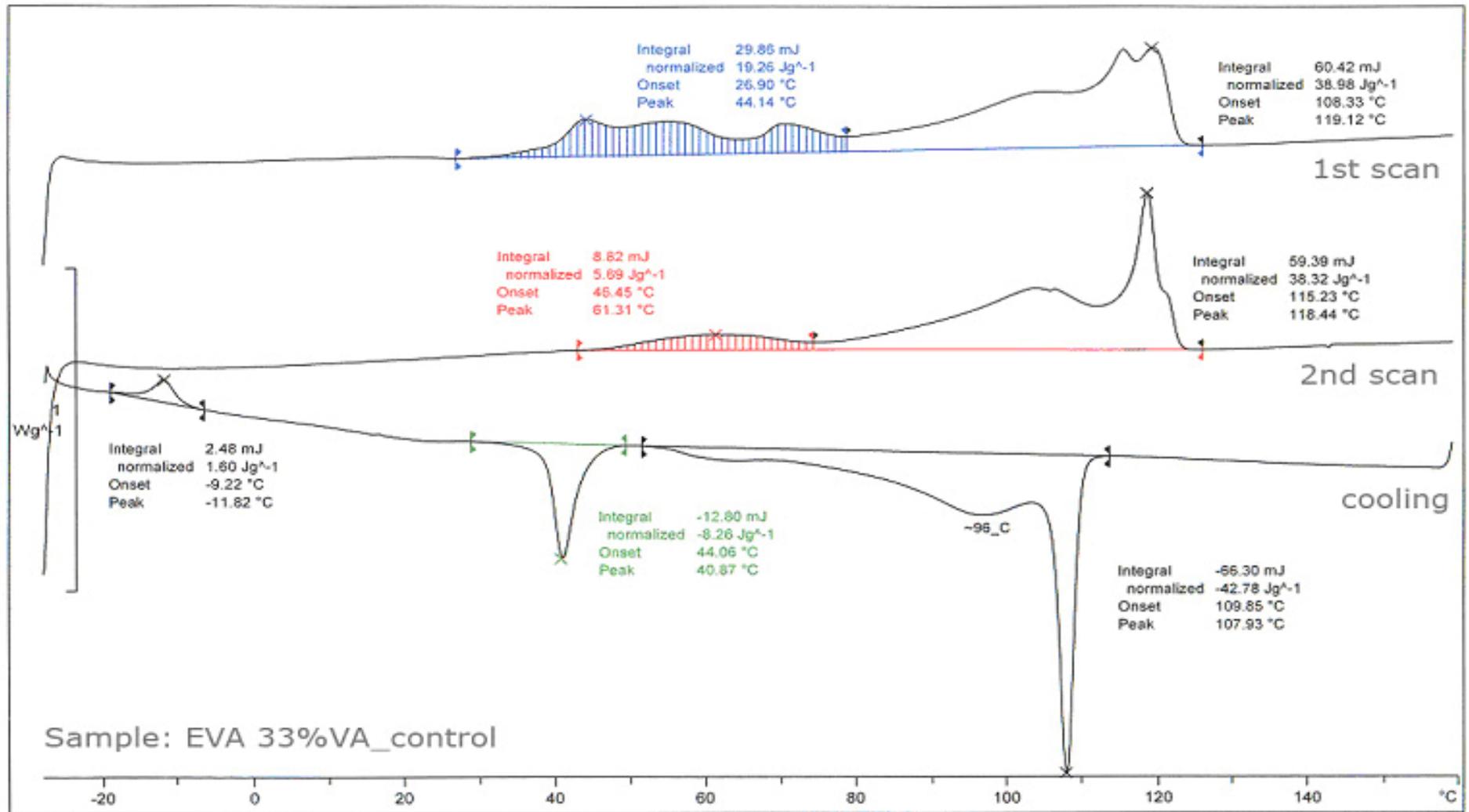
Film	Concentration (w/v)	Tg ¹ (°C)	Tc		Tm (°C)				χ_c^2 (%)
			Peak (°C)	ΔH_m (J/g)	Peak _{1st scan}	ΔH_m (J/g) _{1st scan}	Peak _{2st scan}	ΔH_m (J/g) _{2nd scan}	
Pure LDPE	-	-110.0	108.7	98.9	119.8	127.5	119.0	97.2	33.1
EVA pellet	-	-25.0 ³	42.4	47.6	51.2	36.8	61.5	9.8	3.3
control	-	-28.8	40.9	8.3	44.1	19.3	61.3	5.6	1.9
thymol	2	-28.5	39.9	7.6	43.8	19.1	59.1	11.6	4.0
	4	-25.2	40.0	8.7	47.8	22.6	58.8	6.1	2.1
eugenol	2	-26.3	47.7	8.5	45.8	29.0	62.0	12.9	4.4
	4	-30.2	41.0	7.8	45.6	26.3	63.6	8.1	2.8
Thymol and eugenol	2	-28.4	41.2	9.4	46.5	16.4	59.8	5.5	1.9
	4	-31.0	41.4	6.9	47.2	19.6	64.0	6.9	2.4

¹ อุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของ EVA ยกเว้น Pure LDPE

² เปอร์เซ็นต์การเกิดผลึก ($\chi_c = \Delta H_m \cdot 100 / \Delta H_f^\circ$, $\Delta H_f^\circ \text{ PE} = 293.6 \text{ J/g}$)

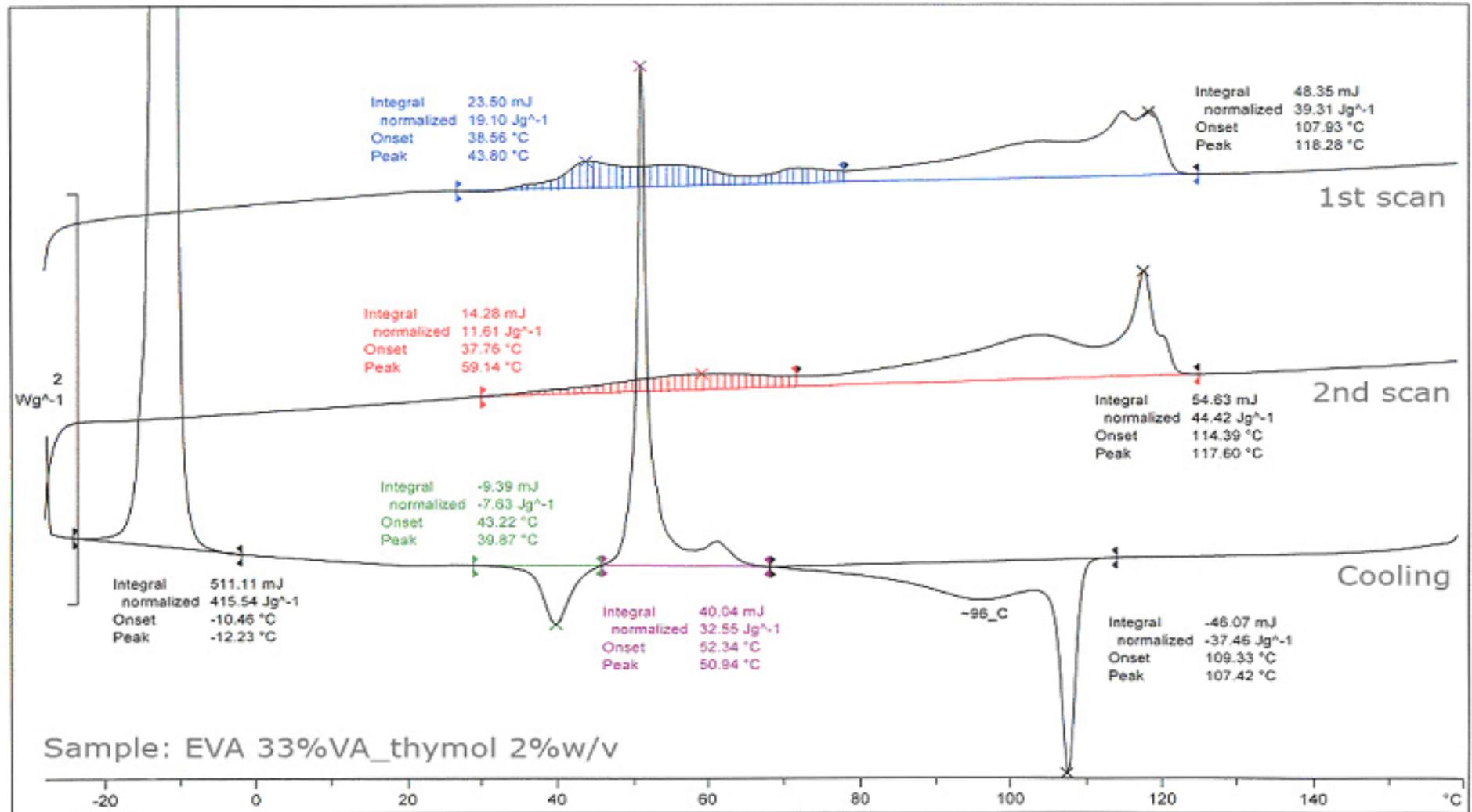
³ อ้างอิงจาก Arsac *et al.* (2000)

^endo



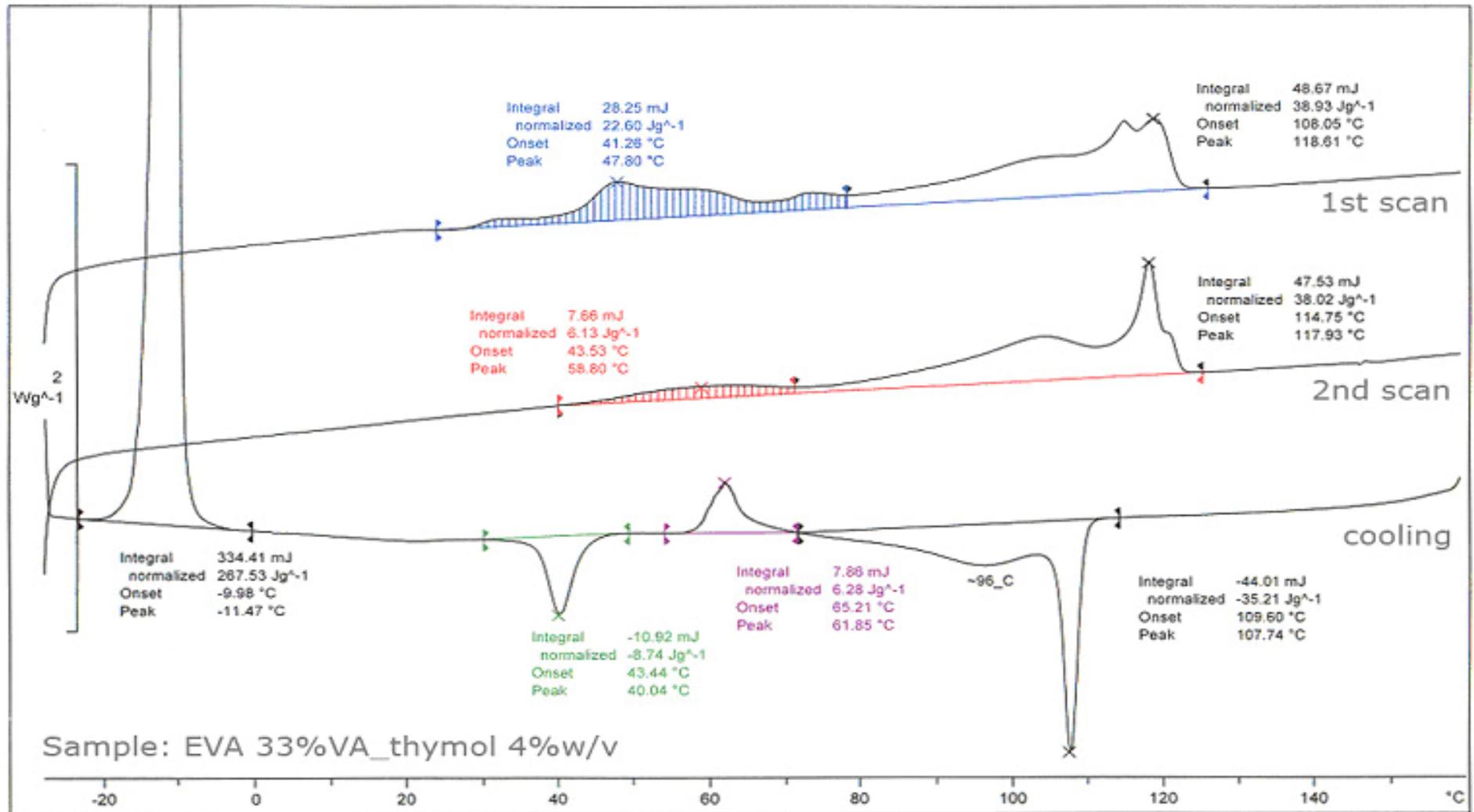
ภาพที่ 43 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE

^endo



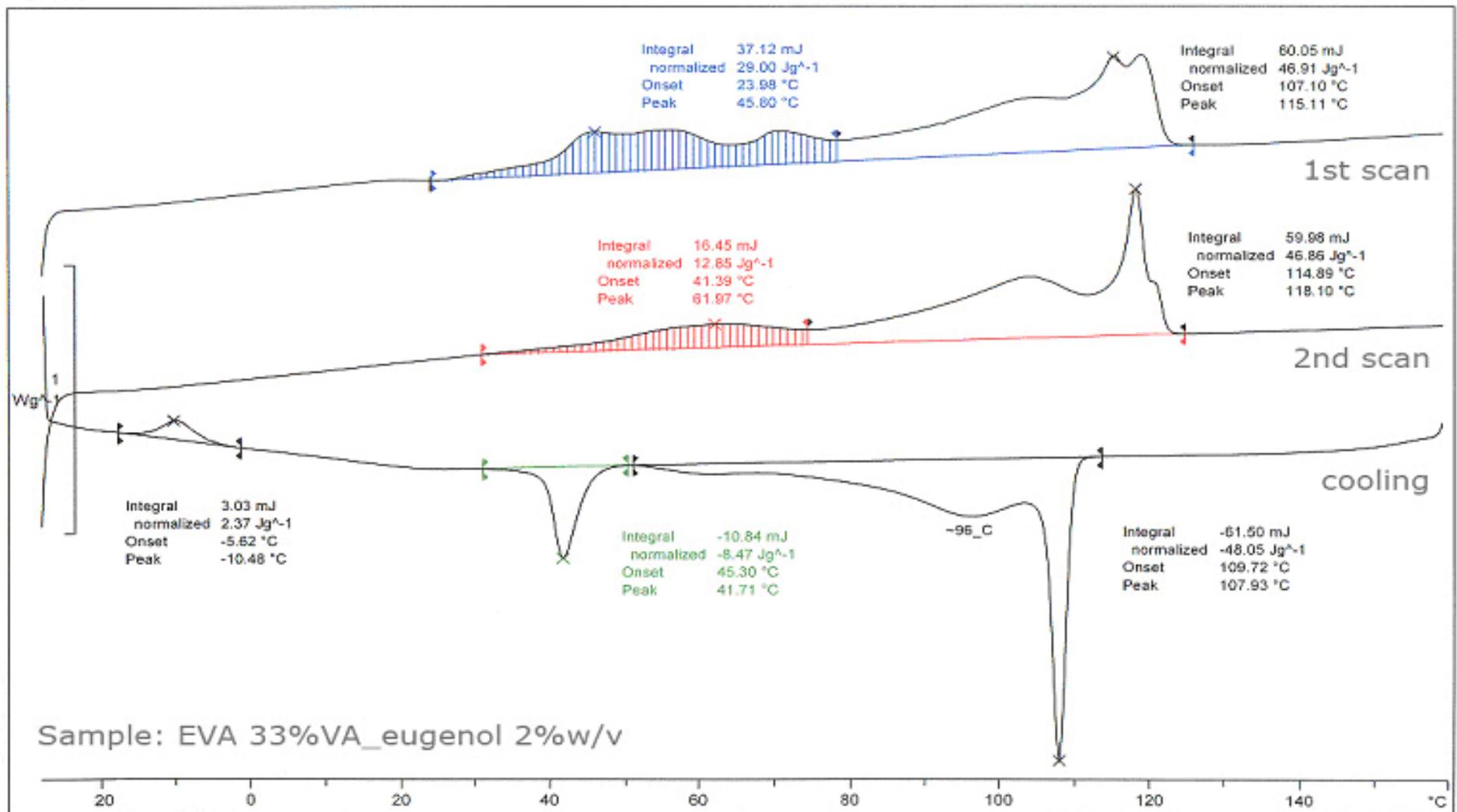
ภาพที่ 44 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล 2.0 %w/v

endo



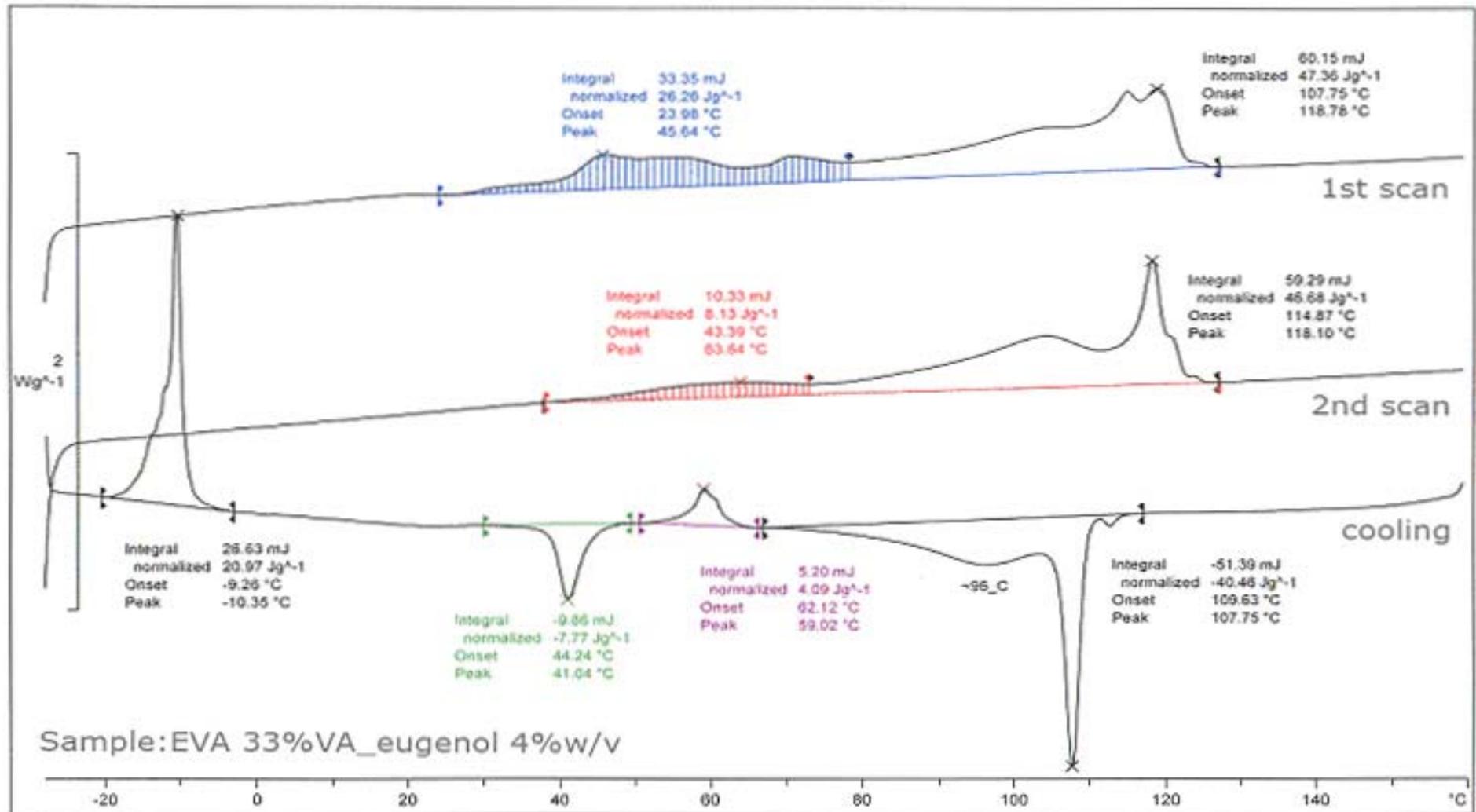
ภาพที่ 45 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 4.0 %w/v

^endo

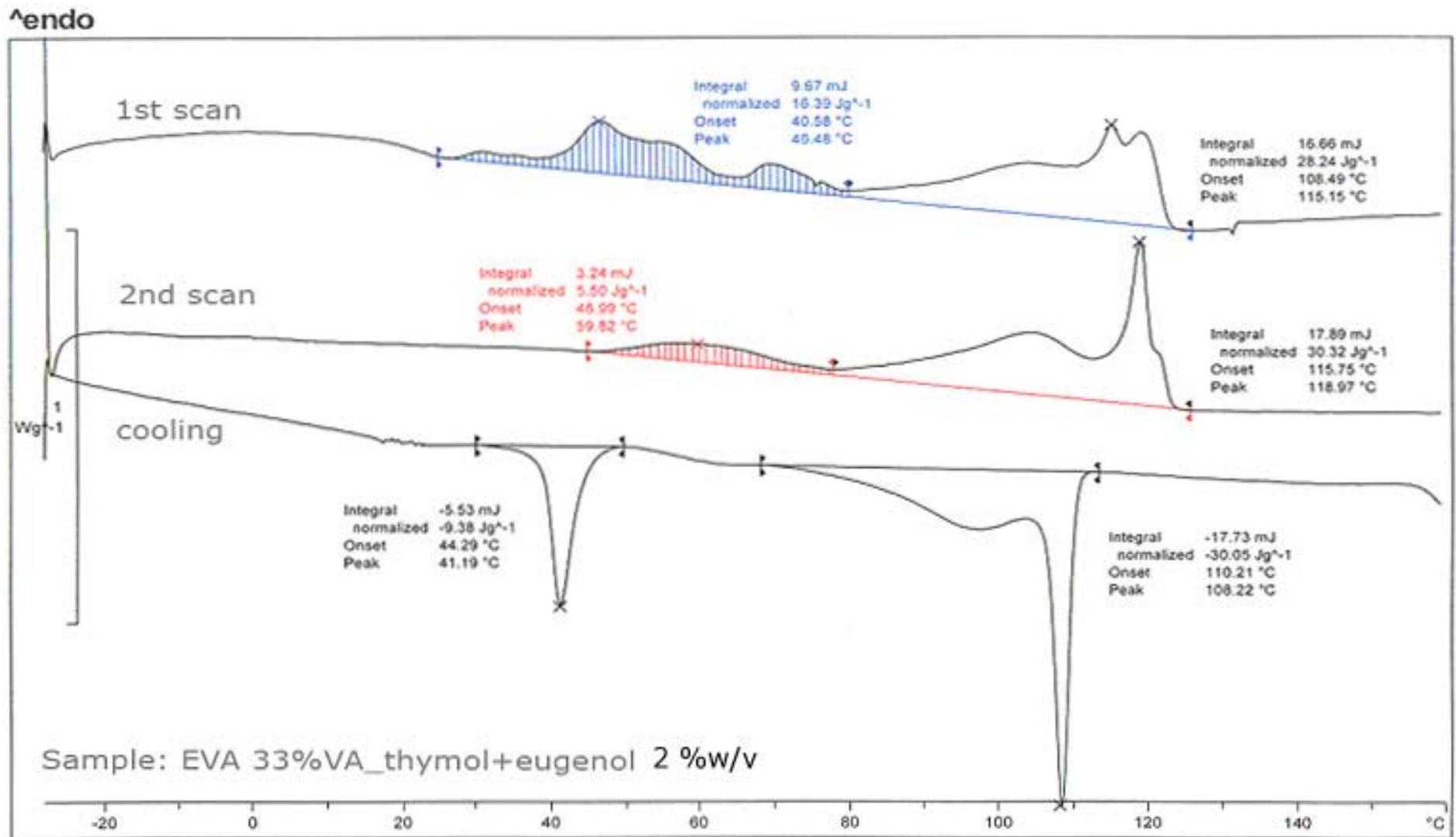


ภาพที่ 46 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 2.0 %w/v

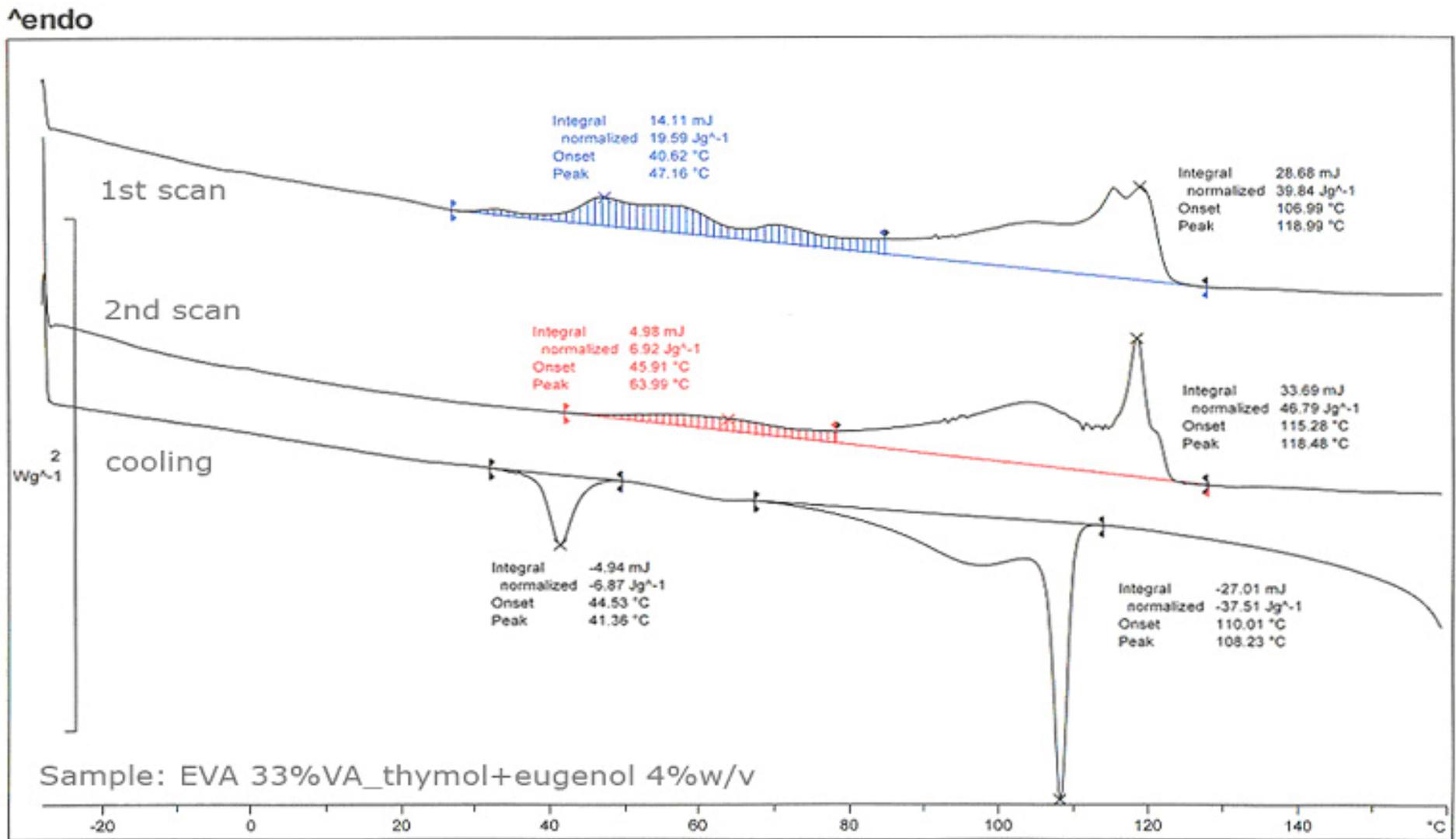
^endo



ภาพที่ 47 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 4.0 %w/v



ภาพที่ 48 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติม ไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 %w/v



ภาพที่ 49 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็ม ไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

- ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของไทมอล ยูจีนอล และ ไนซิน ที่สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียทดสอบ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* มีค่าในช่วง 3 - 4 mg/ml, 8 - 11 mg/ml และ 3 - 22 mg/ml ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบที่ดีที่สุดคือ ไทมอล ไนซิน และยูจีนอล ตามลำดับ
- ไทมอลและยูจีนอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้ทั้ง 4 ชนิด ในขณะที่ไนซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้
- ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ให้ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex40w/LDPE โดยฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ทริทเมนต์ที่เติมไทมอลและยูจีนอลแสดงบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน คือ 15.00 - 24.02 mm และ 15.00 - 24.56 mm ตามลำดับ ในขณะที่ทริทเมนต์ที่เติมไนซินส่วนใหญ่สามารถแสดงบริเวณยับยั้งได้เฉพาะบริเวณใต้ผิวสัมผัสกับแผ่นฟิล์มทดสอบเท่านั้น
- ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ทริทเมนต์ที่เติมไทมอลผสมยูจีนอลแสดงการเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* เมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์ที่เติมไทมอลหรือยูจีนอลเพียงชนิดเดียว ในขณะที่ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVA/LDPE ทริทเมนต์ที่เติมไทมอลผสมไนซิน หรือยูจีนอลผสมไนซินไม่แสดงผลการเสริมฤทธิ์ที่ชัดเจน
- ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล และไทมอลผสมยูจีนอล ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจนเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอินฟราเรดสเปกตรัมและความหนาของฟิล์มควบคุมเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความต้านทานแรงดึงขาด เปอร์เซ็นต์การยึดตัว เปอร์เซ็นต์ความส่องผ่านแสง และสมบัติทางความร้อนของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาอัตราการแพร่ของไทมอลและยูจินอลจากฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ในแบบจำลองอาหาร
2. การศึกษาปริมาณไคครอโรมีเทนตกค้างในฟิล์ม EVA/LDPE ซึ่งอาจมีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์และวิธีการกำจัดสารดังกล่าวออกจากฟิล์ม
3. ศึกษาการนำฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร
4. การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยใช้กระบวนการขึ้นรูปฟิล์มด้วยเทคนิคการอัดรีด

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เจริญ นาคะสรรค์. 2547. กระบวนการแปรรูปพลาสติก. ครั้งที่ 3. โพรเพซ, V.J. พรินต์ติ้ง.

ชัยนต์ พิเชียรสุนทร และ วิเชียร จีรวงส์. 2545. คู่มือเกณฑ์กรรมแผนไทย เล่ม 2 เครื่องยาพิษวัตถุ.
ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์อมรินทร์, กรุงเทพฯ.

ชวิช อินทรพันธุ์. 2548. จุลชีววิทยาทางอาหารเบื้องต้น. ครั้งที่ 1. ภาควิชาอาหารและโภชนาการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. จุลชีววิทยาทั่วไป. ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2534. เครื่องเทศ. ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2547. แบนท่ายประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง ข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปน
อาหาร. ตารางการใช้วัตถุเจือปนอาหาร. แหล่งที่มา: <http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/food/ntf/DirtyFood3Attach.html>, 25 พฤษภาคม 2550.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

บุญกร อุดรรักษาดี. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยทักษิณ, กรุงเทพฯ.

ปรีชา พหลเทพ. 2546. โพลีเมอร์. ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ.

ปรีชา วิบูลเศรษฐ์. 2540. การนำเสียบของอาหาร, น. 74-91. ใน คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, บรรณาธิการ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิสิษฐ์ ธรรมวิถิ. 2544. การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตแซนผสมโปแตสเซียมซอร์เบตและการ
ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ทุเรียนกวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- ภาณุวัฒน์ สรรพกุล. 2547. การบรรจุอาหารแบบต่อต้านจุลินทรีย์. วารสารบรรจุภัณฑ์ไทย ตุลาคม-ธันวาคม: 33-39.
- เย็นหทัย แน่นหนา. 2549. สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์. ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- รัชณี เจริญ. 2545. การศึกษาการแพร่ของวิตามินอีในฟิล์มบริโกลไคต์และการประยุกต์ใช้ในแบบจำลองอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, บริษัท แอททีฟ พรินท์ จำกัด.
- ศิวาพร ศิวเวชช. 2546. วัตถุเจือปนอาหาร เล่ม 1. ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Ahvenainen, R. 2003. Active and Intelligent Packaging: An Introduction, pp. 5-19. *In* R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Techniques**. Woodhead Publishing, UK.
- Anonymous. n.d. **Global Flexible Packaging Trends**. Flexible Packaging. Available Source: <http://www.amcor.com/index.aspx>, May 24, 2007.
- _____. 2005. **Global Overview**. Consumer Packaging Report. Available Source: <http://www.rexam.com>, May 24, 2007.
- _____. 2001. **News Perspective**. Packaging Digest. Available Source: <http://www.packagingdigest.com>, May 24, 2007.
- Arsac, A., C. Carrot and J. Guillet. 2000. Determination of Primary Relaxation Temperatures and Melting Points of Ethylene Vinyl Acetate Copolymers. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** 61: 681-685.

- ASTM. 2006a. Standard Practice for Determination of Structure Features in Polyolefins and Polyolefin Copolymers by Infrared Spectrophotometry (FT-IR) ASTM D 5576-00. **Annual Book of ASTM Standards** (08.03): 210-212.
- _____. 2004a. Standard Test Method for Assignment of the Glass Transition Temperature by Dynamic Mechanical Analysis ASTM E 1640-04. **Annual Book of ASTM Standards** (14.02): 172-178.
- _____. 2004b. Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor ASTM D 3985-02. **Annual Book of ASTM Standards** (15.09): 458-463.
- _____. 2006b. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting ASTM D 882-02. **Annual Book of ASTM Standards** (08.01): 164-173.
- _____. 2006c. Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry ASTM D 3418-03. **Annual Book of ASTM Standards** (08.02): 66-72.
- _____. 2006d. Standard Test Method for Transparency of Plastic Sheeting ASTM D 1746-03. **Annual Book of ASTM Standards** (08.01): 425-428.
- _____. 2003. Standard Test methods for Water Vapor Transmission of Materials ASTM E 96-00. **Annual Book of ASTM Standards** (04.06): 842-849.
- Bower, C.K. and M.A. Daeschel. 1999. Resistance Responses of Microorganism in Food Environments. **International Journal of Food Microbiology** 50: 33-44.
- Budavari, S., M.J. ÒNeil, A. Smith, P.E. Heckelman and J.F. Kinneary. 1996. **The Merck Index**. 12 ed. Merck & Co., Inc., USA.
- Burt, S. 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Application in Foods A Review. **International Journal of Food Microbiology** 94: 223-253.

- Cagri, A., Z. Ustunol and E.T. Ryser. 2002. Inhibition of Three Pathogens on Bologna and Summer Sausage Using Antimicrobial Edible Films. **Journal of Food Science** 67: 2317-2324.
- _____. 2004. Antimicrobial Edible Films and Coatings. **Journal of Food Protection** 67: 833-848.
- Cha, D.S., J.H. Choi, M.S. Chinnan and H.J. Park. 2002. Antimicrobial Films Based on Na-alginate and K-carrageenan. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 35: 715-719.
- Cha, D.S., K. Cooksey, M.S. Chinnan and H.J. Park. 2003. Release of Nisin from Various Heat-pressed and Cast Films. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 36: 209-213.
- Cho, C., J. Choi and S. Shin. 2005. Controlled Release of Furosemide from The Ethylene Vinyl Acetate Matrix. **International Journal of Pharmaceutics** 299: 127-133.
- Coma, V., A. Martial-Gros, S. Garreau, A. Copinet, F. Salin and A. Deschamps. 2002. Edible Antimicrobial Films Based on Chitosan Matrix. **Journal of Food Science** 67: 1162-1169.
- Conte, A., G.G. Buonocore, M. Sinigaglia and M.A.D. Nobile. 2007. Development of Immobilized Lysozyme Based Active Film. **Journal of Food Engineering** 78: 741-745.
- Cutter, C.N. 2002. Microbial Control by Packaging: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 42: 151-161.
- Davidson, P.M. 1997. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds, pp. 520-556. *In* M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville, eds. **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**. ASM Press, Washington, D.C.
- Durango, A.M., N.F.F. Soares and N.J. Andrade. 2006. Microbiological Evaluation of An Edible Antimicrobial Coating on Minimally Processed Carrots. **Food Control** 17: 336-341.
- Fox, A. 2007. **Nutrition, Growth and Energy Metabolism**. Microbiology and Immunology. Available Source: <http://pathmicro.med.scedu/fox/nutrition.htm>, May 22, 2007.

- Gallo, L.I., A.M.R. Pilosof and R.J. Jagus. 2007. Effective Control of *Listeria innocue* by Combination of Nisin, pH and Low Temperature in Liquid Cheese Whey. **Food Control** 18: 1086-1092.
- Grower, J.L., K. Cooksey and K. Getty. 2004. Release of Nisin from Methylcellulose-Hydroxypropyl Methylcellulose Film Formed on Low-density Polyethylene Film. **Journal of Food Science** 69: 107-111.
- Guibal, E. 2005. Heterogeneous Catalysis on Chitosan-based Materials: A Review. **Progress in Polymer Science** 30: 71-109.
- Ha, J.U., Y.M. Kim and D.S. Lee. 2001. Multilayered Antimicrobial Polyethylene Films Applied to The Packaging of Ground Beef. **Packaging Technology and Science** 15: 55-62.
- Han, J.H. 2003. Antimicrobial Food Packaging, pp. 50-70. In R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Technique**. Woodhead Publishing, UK.
- _____. 2005. Antimicrobial Packaging Systems, pp. 80-107. In J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier Academic Press, USA.
- Hatzikiriakos, S.G. and K.B. Migler. 2005. **Polymer Processing Instabilities: Control and Understanding**. Marcel Dekker, New York.
- Hernandez, R.J., S.E.M. Selke and J.D. Culter. 2000. **Plastics Packaging: Properties, Processing, Applications and Regulations**. Hanser Gardner Publications, Inc., USA.
- Hoffman, K.L., I.Y. Han and P.L. Dawson. 2002. Antimicrobial Effects of Corn Zein Films Impregnated with Nisin Lauric Acid and EDTA. **Journal of Food Protection** 64: 885-889.
- Hoffmann, A., U. Pag, I. Wiedemann and H. Sahl. 2001. Combination of Antibiotic Mechanisms in Lantibiotics. **IL Farmaco** 57: 685-691.
- Holley, R.A. and D. Patel. 2005. Improvement in Shelf-life and Safety of Perishable Foods by Plant Essential Oils and Smoke Antimicrobials. **Food Microbiology** 22: 273-292.

- Inatsu, Y., M.L. Bari, S. Kawasaki and S. Kawamoto. 2005. Effectiveness of Some Natural Antimicrobial Compounds in Controlling Pathogen or Spoilage Bacteria in Lightly Fermented Chinese Cabbage. **Journal of Food Science** 70: 393-397.
- Irissin-Mangata, J., G. Bauduin, B. Boutevin and N. Gontard. 2001. New Plasticizers for Wheat Gluten Films. **European Polymer Journal** 37: 1533-1541.
- Iroegbu, C.U. and C.K. Nkere. 2005. Evaluation of the Antibacterial Properties of *Picralima nitida* Stembark Extracts. **International Journal of Molecular Medicine and Advances Sciences** 1: 182-189.
- ISO Standard. 1993. **Plastics-Film and Sheeting Determination of Thickness by Mechanical Scanning**. ISO 4593:1993(E) International Standard: 1-2.
- Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden. 2005. **Modern Food Microbiology**. 17 ed. Springer, USA.
- Kim, Y., D. An, H. Park, J. Park and D.S. Lee. 2002. Properties of Nisin Incorporated Polymer Coatings as Antimicrobial Packaging Materials. **Packaging Technology and Science** 15: 247-254.
- Krochta, J.M. and C.D. Mulder-Johnston. 1997. Edible Films Solve Problems. **Food Technology** 52: 60-74.
- Larena, A. and M.A. Villar. 2001. Optical Properties of CaCO₃ Filled Poly (ethylene-co-vinyl acetate) Films. **Optical Materials** 17: 437-442.
- Lee, D.S. 2005. Packaging Containing Natural Antimicrobial or Antioxidative Agents, pp. 108-122. *In* J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier Academic Press, USA.
- Li, B., J.F. Kennedy, J.L. Peng, X. Yie and B.J. Xie. 2006. Preparation and Performance Evaluation of Glucomannan-Chitosan-Nisin Ternary Antimicrobial Blend Film. **Carbohydrate Polymers** 65: 488-494.

- Mariani, P., G. Carianni and F.P.L. Mantia. 2004. The Antioxidant Effect in Controlling Thermal Degradation of A Low Density Polyethylene Blown Film. **Polymer Degradation and Stability** 85: 1003-1007.
- Markarian, J. 2006. Consumer Demands Push Growth in Additives for Active Packaging. **Plastic Additives and Compounding** 8: 30-33.
- Marsh, K. and B. Bugusu. 2007. Food Packaging Roles, Material and Environmental Issues. **Journal of Food Science** 72: 39-55.
- Matan, N., H. Rimkeeree, A.J. Mawson, P. Chompreeda, V. Haruthaithanasan and M. Parker. 2006. Antimicrobial Activity of Cinnamon and Clove Oils Under Modified Atmosphere Conditions. **International Journal of Food Microbiology** 107: 180-185.
- Mauriello, G., E.D. Luca, A.L. Storia, F. Villani and D. Ercolini. 2005. Antimicrobial Activity of A Nisin Activated Plastic Film for Food Packaging. **Letters in Applied Microbiology** 41: 464-469.
- McLandsborough, L. 2004. **Microbial Growth Simulation Program Applications**. Food Safety. Available Source: <http://www.foodsafetyfirst.org>, May 22, 2007.
- Meszlényi, G. and G. Körtvélyessy. 1999. Direct Determination of Vinyl Acetate Content of Ethylene Vinyl Acetate Copolymers in Thick Films by Infrared Spectroscopy. **Polymer Testing** 18: 551-557.
- Millette, M., C.L. Tien, W. Smoragiewicz and M. Lacroix. 2007. Inhibition of *Staphylococcus aureus* on Beef by Nisin Containing Modified Alginate Films and Beads. **Food Control** 18: 878-884.
- Moreira, M.R., A.G. Ponce, C.E. del Valle and S.I. Roura. 2005. Inhibitory Parameters of Essential Oils to Reduce A Foodborne Pathogen. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 38: 565-570.
- Nishikida, K. and J. Coates. 2003. Infrared and Raman Analysis of Polymer, pp. 201-340. *In* H. Lobo and J.V. Bonilla, eds. **Handbook of Plastics Analysis**. Marcel Dekker, Inc., USA.

- Nychas, G.E. and P.N. Skandamis. 2003. Antimicrobials from Herbs and Spices, pp. 176-200. *In* S. Roller, ed. **Natural Antimicrobials for The Minimal Processing of Foods**. Woodhead Publishing Limited, England.
- Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Begin and R.A. Holley. 2000. Inhibition of Surface Spoilage Bacteria in Processed Meats by Application of Antimicrobial Films Prepared with Chitosan. **International Journal of Food Microbiology** 62: 139-148.
- Ozdemir, M., J.D. Floros. 2004. Active Food Packaging Technologies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 44: 185-193.
- Padgett, T., I.Y. Han and P.L. Dawson. 2000. Effect of Lauric Acid Addition on the Antimicrobial Efficacy and Water Permeability of Corn Zein Films Containing Nisin. **Journal of Food Processing and Preservation** 24: 423-432.
- Pehlivan, H., D. Balköse, S. Ülkü and F. Tihminlioglu. 2005. Characterization of Pure and Silver Exchanged Natural Zeolite Filled Polypropylene Composite Films. **Composites Science and Technology** 65: 2049-2058.
- Pinotti, A., M.A. Garcia, M.N. Martino, and N.E. Zaritzky. 2007. Study on Microstructure and Physical Properties of Composite Films Based on Chitosan and Methylcellulose. **Food Hydrocolloids** 21: 66-72.
- Pranoto, Y., S.K. Rakshit and V.M. Salokhe. 2005. Enhancing Antimicrobial Activity of Chitatan Films by Incorporating Garlic oil, Potassium sorbate and Nisin. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 38: 859-865.
- Pranoto, Y., V.M. Salokhe and K. Rakshit. 2005. Physical and Antibacterial Properties of Alginate based Edible Film Incorporated with Garlic Oil. **Food Research International** 38: 267-272.
- Quintavalla, S. and L. Vicini. 2002. Antimicrobial Food Packaging in Meat Industry. **Meat Science** 62: 373-380.

- Rojo-Bezares, B., Y. Za'enz, M. Zarazaga and F. Ruiz-Larrea. 2007. Antimicrobial Activity of Nisin Against *Oenococcus oeni* and Other Wine Bacteria. **International Journal of Food Microbiology** 116: 32-36.
- Rooney, M.L. 2005. Introduction to Active Food Packaging Technologies, pp. 63-79. In J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier Academic Press, USA.
- Seydim, A.C. and G. Sarikus. 2006. Antimicrobial Activity of Whey Protein Based Edible Films Incorporated with Oregano, Rosemary and Garlic Essential Oils. **Food Research International** 39: 639-644.
- Shu, X.Z. and K.J. Zhu. 2002. The Influence of Multivalent Phosphate Structure on the Properties of Ionically Cross-linked Chitosan Films for Controlled Drug Release. **European Journal of Phamaceutics and Biopharmaceutics** 54: 235-243.
- 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 Microbiology** 16: 229-235.
- Soroka, W. 2002. **Fundamentals of Packaging Technology**. 3 ed. Institute of Packaging Professionals, U.S.A.
- Stephen, A.M. 1995. **Food Polysaccharides and Their Applications**. Marcel Inc., New York.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S.W. Bigger. 2003a. Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications. **Journal of Food Science** 68: 408-419.
- _____. 2006. Characterization of Antimicrobial Film Containing Basil Extracts. **Packaging Technology and Science** 19: 259-268.
- _____. 2003b. **Microencapsulation of Linalool and Methylchavicol in Beta-cyclodextrin**. Kasetsart University Publication Index. Available Source: http://pindex.ku.ac.th/file_research/microencapsulation_2003.pdf, May 24, 2007.

- Tallury, P., N. Alimohammadi and S. Kalachandra. 2007. Poly(ethylene-co-vinyl acetate) Copolymer Matrix for Delivery of Chlorhexidine and Acyclovir Drugs for Use in the Oral Environment: Effect of Drug Combination, Copolymer Composition and Coating on the Drug Release Rate. **Dental Materials** 23: 404-409.
- Teerakarn, A., D.E. Hirt, J.C. Acton, J.R. Rieck and P.L. Dawson. 2002. Nisin Diffusion in Protein Films: Effects of Film Type and Temperature. **Journal of Food Science** 67: 3019-3025.
- Wang, Q., Z. Dong, Y. Du and J.F. Kennedy. 2007. Controlled Release of Ciprofloxacin Hydrochloride from Chitosan/polyethylene glycol Blend Films. **Carbohydrate Polymers**. *inpress*.
- Weng, Y., M. Chen and W. Chen. 1999. Antimicrobial Food Packaging Materials from Poly (ethylene-co-methacrylic acid). **Lebensm.-Wiss. U.technol.** 32: 191-195.
- Wu, Y., S. Yu, F. Mi, C. Wu, S. Shyu, C. Peng and A. Chao. 2004. Preparation and Characterization on Mechanical and Antibacterial Properties of Chitosan/cellulose Blends. **Carbohydrate Polymers** 57: 435-440.
- Xu, P. 1999. **Polymer Data Handbook**. Oxford University Press, Inc., UK.
- zivanovic, S., S. Chi and A.F. Draughon. 2005. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. **Journal of Food Science** 70: 45-51.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การคำนวณปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

การคำนวณหาปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์

จากผลของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบที่ได้จากตารางที่ 11 นำมาคำนวณหาปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมในฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เอทิลีน ไวนิล แอซีเตต โดยเลือกความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการคำนวณ ดังนี้คือ

$$\begin{aligned} \text{ระดับความเข้มข้นของสารต่อต้านจุลินทรีย์ } 11 \text{ mg/ml} &= 0.011 \text{ g/ml} \\ &= \frac{0.011 \times 100 \%}{1} \\ &= 1.1 \%w/v \end{aligned}$$

การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในสารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ปริมาณ 11 mg/ml คิดเป็นความเข้มข้นเท่ากับ 1.1 %w/v ดังนั้นจึงทำการเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงในสารละลายฟิล์มที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v เพื่อเป็นการเผื่อการสูญหายไปของสารต่อต้านจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและขึ้นรูปฟิล์ม

การคำนวณหาปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีในแผ่นฟิล์มทดสอบ

ฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 15 mm หรือ 1.5 cm และมีความหนาของสารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ขณะขึ้นรูปเท่ากับ 600 μm หรือ 0.06 cm นำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณหาปริมาตรของสารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ต่อฟิล์ม 1 แผ่นได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ปริมาตรของสารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์} &= \pi r^2 h \\ &= \frac{22 \times 0.75 \times 0.75 \times 0.06}{7} \\ &= 0.10 \text{ cm}^3 \\ &= 0.10 \text{ ml} \end{aligned}$$

ปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีในแผ่นฟิล์มทดสอบที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 2.0 %w/v สามารถคำนวณได้ดังนี้คือ

$$\begin{aligned} \text{สารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ 100 ml มีสารต่อต้านจุลินทรีย์} &= 2 \text{ g} \\ \text{สารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ 0.1 ml มีสารต่อต้านจุลินทรีย์} &= \frac{2 \times 0.1 \times 1000}{100} \text{ mg} \\ &= 2.0 \text{ mg} \end{aligned}$$

ปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีในแผ่นฟิล์มทดสอบที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 4.0 %w/v สามารถคำนวณได้ดังนี้คือ

$$\begin{aligned} \text{สารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ 100 ml มีสารต่อต้านจุลินทรีย์} &= 4 \text{ g} \\ \text{สารละลายฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ 0.1 ml มีสารต่อต้านจุลินทรีย์} &= \frac{4 \times 0.1 \times 1000}{100} \text{ mg} \\ &= 4.0 \text{ mg} \end{aligned}$$

ดังนั้นปริมาณสารต่อต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มทดสอบที่เติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 %w/v มีค่าเท่ากับ 2.0 และ 4.0 mg ต่อฟิล์มทดสอบ 1 แผ่น

ภาคผนวก ข
การทดสอบสมบัติของฟิล์ม

การทดสอบสมบัติของฟิล์ม

ทดสอบสมบัติฟิล์ม โดยนำฟิล์มตัวอย่างควบคุมและฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์มาเก็บรักษาไว้ที่ห้องทดสอบ ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 27 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 65 ± 5 %RH เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อปรับสถานะในการทดลองให้อยู่ในรูปแบบเดียวกัน จากนั้นทำการทดสอบสมบัติของฟิล์มในด้านต่างๆดังนี้

1. สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางกล

1.1 วัดความหนา

ทำการทดลองตามมาตรฐาน ISO 4593:1993(E) โดยใช้เครื่องวัดความหนา (Digimatic thickness gage Model ID-C112BS, Japan) ทำการวัด 10 จุด โดยจุดแรกจะวัดที่จุดกึ่งกลางของฟิล์ม และอีก 9 จุด วัดบริเวณรอบๆของฟิล์ม อ่านได้ในหน่วย μm และหาค่าเฉลี่ย

1.2 วัดความต้านทานแรงดึงขาดและเปอร์เซ็นต์การยืดตัว

ทำการทดลองตามมาตรฐาน ASTM D882-02 ด้วยเครื่อง Testometric (Model Micro 350, ประเทศอังกฤษ โดยตัดตัวอย่างขนาด $2.5 \times 10 \text{ cm}^2$ เปลี่ยนชนิดของหัวทดสอบให้อยู่ในโหมดการดึงขาด ตั้งระยะห่าง (grip) ห่างกัน 5.0 cm กำหนดอัตราการเคลื่อนที่ของหัวทดสอบเท่ากับ 500 mm/min ดึงตัวอย่างฟิล์มที่หัวหนีบ เดินเครื่องเพื่อดึงตัวอย่างจนขาด หากรอยขาดเกิดขึ้นที่หัวยึดต้องทดลองกับตัวอย่างชิ้นใหม่ บันทึกแรงดึงมากที่สุดที่ทำให้ชิ้นตัวอย่างขาด (stress at peak) จากเครื่อง หน่วย MPa หรือ N/mm^2 และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยืดตัว ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยืดตัว} = \frac{\text{ระยะยืดตัวของฟิล์ม} \times 100}{\text{ระยะห่างระหว่าง grip ก่อนการยืดตัว}}$$

1.3 วัดเปอร์เซ็นต์ความส่องผ่านแสง

ตามมาตรฐาน ASTM D 1746-03 ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer (Model Genesys 10UV) โดยตัดตัวอย่างให้มีขนาดพอเหมาะ ทดสอบในช่วงความยาวคลื่น 200 – 800 nm ค่าจากเครื่องรายงานผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ความส่องผ่านแสง (% transmittance)

2. สมบัติด้านการซึมผ่านของไอน้ำและแก๊สออกซิเจน

2.1 วัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate, WVTR)

ทำการทดลองตามมาตรฐาน ASTM E96-00 โดยตัดฟิล์มทดสอบเป็นรูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 cm นำซิลิกาเจลมาใส่ในถ้วยทดสอบ จากนั้นนำฟิล์มมาวางด้านบน ซิลิกาเจลให้ติดกับถ้วยทดสอบด้วยพาราฟินเหลว เก็บในตู้ควบคุมสภาพบรรยากาศ สภาวะทดสอบที่อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ± 2 %RH ชั่งน้ำหนักถ้วยทดสอบทุกวันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นสร้างกราฟระหว่างเวลาและน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง ค่าความชันที่ได้จากการสร้างกราฟนำมาคำนวณค่า WVTR จากสูตร $WVTR = \text{Slope (g/day)} / \text{Surface area (m}^2\text{)}$ หน่วย $\text{g/m}^2 \cdot \text{day}$ โดยพื้นที่ของตัวอย่างที่วัดการซึมผ่านเท่ากับ 0.002827 m^2

2.2 วัดอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน (oxygen transmission rate, OTR)

วัดอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน ด้วยเครื่อง oxygen permeation analyzer (Illinois instrument Model 8500, USA) โดยตัดฟิล์มพลาสติกตามแบบ (template) ระวังไม่ให้ฟิล์มมีรอยยับเพราะจะทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อน เปิดฝาครอบ chamber ออก ทาสีเคลือบบางๆบริเวณซีลวงแหวน จากนั้นวางฟิล์มให้ตั้งไม่มีฟองอากาศบนส่วนล่างของ chamber ปิดฝา chamber แล้วทำการทดสอบ เครื่องจะปล่อยก๊าซออกซิเจนและก๊าซไนโตรเจนเข้าไป โดยก๊าซไนโตรเจนจะเป็นตัวนำก๊าซออกซิเจนที่สามารถผ่านแผ่นฟิล์มไปยังด้านที่มีก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าไปยังเครื่องบันทึกค่า ค่าที่อ่านได้จะเป็นปริมาตรของก๊าซที่วัดได้จากการซึมผ่านซึ่งจะคงที่ ณ อุณหภูมิและพื้นที่ผิวที่กำหนด มีหน่วยเป็น $\text{cc/m}^2 \cdot \text{day}$

ภาคผนวก ค

ผลการทดสอบค่าเปอร์เซ็นต์ความส่องผ่านแสงของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์เอทิลีน ไวนิลเอซีเตต

ตารางผนวกที่ ค1 ค่าเปอร์เซ็นต์ความส่องผ่านแสง¹ ของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม

Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
200	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
205	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
210	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
215	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
220	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
225	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
230	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
235	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
240	0.15 ± 0.00	0.27 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.45 ± 0.07	0.10 ± 0.00	0.30 ± 0.14	0.22 ± 0.17
245	3.80 ± 0.84	4.02 ± 0.10	0.45 ± 0.00	6.30 ± 2.47	0.55 ± 0.00	4.15 ± 1.48	2.87 ± 2.22
250	14.62 ± 7.03	9.97 ± 0.03	1.60 ± 0.00	19.27 ± 0.31	1.45 ± 0.35	11.17 ± 3.92	7.42 ± 4.98
255	17.62 ± 12.90	5.50 ± 0.14	8.95 ± 0.00	16.65 ± 0.56	1.20 ± 0.00	7.75 ± 4.45	4.72 ± 3.71
260	7.97 ± 8.59	0.72 ± 0.03	2.05 ± 0.00	10.95 ± 0.28	0.12 ± 0.03	1.90 ± 1.62	1.02 ± 1.09
265	2.45 ± 3.04	0.10 ± 0.00	0.42 ± 0.03	3.85 ± 0.14	0.10 ± 0.00	0.35 ± 0.35	0.22 ± 0.17
270	0.25 ± 0.21	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
275	0.17 ± 0.10	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
280	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
285	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
290	0.57 ± 0.17	2.65 ± 2.40	0.35 ± 0.21	1.60 ± 0.95	0.12 ± 0.03	1.45 ± 0.70	0.82 ± 0.67
295	22.67 ± 0.45	34.90 ± 14.91	18.00 ± 1.62	24.87 ± 7.03	5.25 ± 1.90	27.27 ± 4.27	19.97 ± 5.83
300	62.65 ± 1.20	68.22 ± 7.95	59.20 ± 2.75	57.45 ± 6.92	56.82 ± 6.61	60.85 ± 3.67	49.47 ± 0.10
305	77.77 ± 1.37	76.95 ± 1.76	75.12 ± 3.78	64.32 ± 0.95	63.82 ± 1.59	70.85 ± 2.26	64.72 ± 0.60
310	78.30 ± 1.90	79.42 ± 0.24	76.92 ± 3.78	66.05 ± 1.62	66.12 ± 0.31	74.10 ± 1.41	68.02 ± 0.81
315	80.07 ± 0.17	80.22 ± 0.24	78.20 ± 1.20	68.10 ± 1.48	68.62 ± 2.15	75.62 ± 0.95	71.87 ± 1.66
320	80.10 ± 0.91	80.52 ± 1.80	79.10 ± 1.06	72.17 ± 0.53	72.05 ± 0.49	77.50 ± 1.06	72.70 ± 1.34
325	80.92 ± 0.60	81.40 ± 1.55	80.17 ± 0.88	74.15 ± 0.35	74.03 ± 0.08	79.07 ± 0.95	76.27 ± 0.67
330	82.17 ± 0.31	82.30 ± 1.20	81.30 ± 0.70	72.27 ± 0.24	75.40 ± 0.10	79.92 ± 0.88	77.22 ± 0.53
335	82.35 ± 0.07	83.07 ± 1.02	82.22 ± 0.45	76.12 ± 0.17	81.88 ± 0.22	80.60 ± 0.91	77.92 ± 0.45
340	82.87 ± 0.10	83.55 ± 0.91	82.82 ± 0.31	77.02 ± 0.10	83.62 ± 0.88	81.12 ± 0.74	78.67 ± 0.31
345	82.22 ± 0.17	83.97 ± 0.88	83.32 ± 0.24	78.07 ± 0.10	83.91 ± 0.65	81.40 ± 1.13	79.47 ± 0.10
350	83.82 ± 0.60	84.25 ± 0.84	83.70 ± 0.14	79.27 ± 0.03	84.45 ± 0.56	82.30 ± 0.63	80.42 ± 0.03
355	83.80 ± 0.21	84.80 ± 0.49	84.02 ± 0.10	80.62 ± 0.03	84.56 ± 0.51	82.95 ± 0.56	80.60 ± 1.48
360	84.05 ± 0.21	84.80 ± 0.84	84.30 ± 0.07	81.15 ± 0.84	84.50 ± 0.35	83.45 ± 0.49	81.72 ± 1.44
365	84.20 ± 0.21	85.00 ± 0.77	84.45 ± 1.90	82.05 ± 0.70	83.20 ± 1.55	83.90 ± 0.42	82.52 ± 1.30
370	84.40 ± 0.14	85.17 ± 0.81	84.67 ± 0.03	82.82 ± 0.67	83.71 ± 1.25	84.22 ± 0.38	84.02 ± 0.24

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
375	84.87 ± 0.67	85.35 ± 0.77	84.92 ± 0.03	83.40 ± 0.63	81.87 ± 0.31	84.45 ± 0.49	84.67 ± 0.10
380	85.05 ± 0.63	85.45 ± 0.07	85.05 ± 0.07	83.82 ± 0.60	82.90 ± 0.21	84.72 ± 0.53	85.50 ± 0.56
385	84.92 ± 0.24	85.72 ± 0.74	85.25 ± 0.07	84.17 ± 0.60	83.77 ± 0.10	84.95 ± 0.42	85.90 ± 0.42
390	85.07 ± 0.17	85.85 ± 0.77	85.42 ± 0.03	84.50 ± 0.56	84.35 ± 0.07	85.15 ± 0.42	86.22 ± 0.38
395	85.20 ± 0.21	86.00 ± 0.70	85.55 ± 0.07	84.72 ± 0.60	85.15 ± 0.56	85.42 ± 0.31	86.42 ± 0.31
400	85.35 ± 0.21	86.15 ± 0.70	85.70 ± 1.90	84.92 ± 0.60	85.57 ± 0.38	85.60 ± 0.28	86.65 ± 0.28
405	85.57 ± 0.24	86.47 ± 0.45	86.25 ± 0.56	85.90 ± 0.84	85.87 ± 0.53	85.92 ± 0.67	86.77 ± 0.24
410	85.95 ± 0.63	86.57 ± 0.45	85.95 ± 0.07	85.60 ± 0.28	86.02 ± 0.45	86.07 ± 0.74	86.87 ± 0.31
415	86.02 ± 0.60	86.67 ± 0.45	86.05 ± 0.07	85.70 ± 0.84	86.17 ± 0.45	86.22 ± 0.67	86.95 ± 0.21
420	85.87 ± 0.24	86.77 ± 0.45	86.15 ± 0.07	85.67 ± 0.60	86.20 ± 0.21	86.35 ± 0.70	87.02 ± 0.24
425	85.97 ± 0.24	86.87 ± 0.45	86.25 ± 0.07	85.72 ± 0.60	86.42 ± 0.38	86.45 ± 0.70	87.12 ± 0.24
430	86.10 ± 0.21	86.87 ± 0.60	86.35 ± 0.07	85.92 ± 0.60	86.62 ± 0.38	89.05 ± 4.24	87.27 ± 0.24
435	86.22 ± 0.24	87.10 ± 0.42	86.47 ± 0.10	86.02 ± 0.60	86.72 ± 0.38	86.67 ± 0.60	87.42 ± 0.24
440	86.32 ± 0.24	87.12 ± 0.60	86.60 ± 0.07	86.17 ± 0.60	86.90 ± 0.35	86.77 ± 0.60	87.60 ± 0.21
445	86.42 ± 0.24	87.22 ± 0.60	86.70 ± 0.07	86.52 ± 0.24	87.00 ± 0.35	86.87 ± 0.60	87.67 ± 0.24
450	86.52 ± 0.24	87.27 ± 0.60	86.72 ± 0.10	86.62 ± 0.24	87.10 ± 0.35	86.95 ± 0.56	87.72 ± 0.17
455	86.57 ± 0.17	87.45 ± 0.42	86.82 ± 0.10	86.70 ± 0.21	87.40 ± 0.07	87.05 ± 0.63	87.72 ± 0.24
460	86.65 ± 0.21	87.52 ± 0.38	86.90 ± 0.07	86.57 ± 0.53	87.30 ± 0.28	87.15 ± 0.63	87.72 ± 0.24

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
465	86.65 ± 0.21	87.55 ± 0.35	86.97 ± 0.03	86.62 ± 0.53	87.35 ± 0.28	87.27 ± 0.67	87.75 ± 0.21
470	86.77 ± 0.17	87.65 ± 0.35	87.02 ± 0.03	86.67 ± 0.45	87.45 ± 0.21	87.32 ± 0.74	87.75 ± 0.28
475	86.82 ± 0.17	87.72 ± 0.31	87.12 ± 0.03	86.75 ± 0.49	87.55 ± 0.21	87.47 ± 0.74	87.82 ± 0.24
480	86.92 ± 0.24	87.77 ± 0.38	87.37 ± 0.17	86.85 ± 0.49	87.65 ± 0.21	87.50 ± 0.70	87.87 ± 0.24
485	86.95 ± 0.21	87.85 ± 0.35	87.22 ± 0.03	86.87 ± 0.53	87.67 ± 0.24	87.57 ± 0.67	87.92 ± 0.24
490	87.02 ± 0.10	87.92 ± 0.38	87.30 ± 0.07	86.97 ± 0.45	87.75 ± 0.21	87.60 ± 0.63	88.00 ± 0.21
495	87.12 ± 0.10	88.00 ± 0.35	87.40 ± 0.07	87.05 ± 0.49	87.87 ± 0.24	87.70 ± 0.63	88.12 ± 0.24
500	87.17 ± 0.17	88.05 ± 0.35	87.45 ± 0.07	87.12 ± 0.53	87.97 ± 0.24	87.75 ± 0.63	88.17 ± 0.24
505	87.35 ± 0.14	88.05 ± 0.42	87.45 ± 0.21	87.47 ± 0.88	88.02 ± 0.17	87.97 ± 0.45	88.00 ± 0.70
510	87.42 ± 0.17	88.12 ± 0.45	87.52 ± 0.24	87.57 ± 0.88	88.25 ± 0.07	88.05 ± 0.42	88.10 ± 0.70
515	87.45 ± 0.14	88.17 ± 0.45	87.60 ± 0.21	87.57 ± 0.81	88.15 ± 0.14	88.07 ± 0.45	88.15 ± 0.63
520	87.55 ± 0.14	88.32 ± 0.38	87.67 ± 0.17	87.67 ± 0.81	88.22 ± 0.17	88.15 ± 0.42	88.22 ± 0.67
525	87.60 ± 0.14	88.30 ± 0.42	87.72 ± 0.17	87.75 ± 0.84	88.30 ± 0.14	88.22 ± 0.45	88.30 ± 0.70
530	87.65 ± 0.14	88.42 ± 0.38	87.72 ± 0.17	87.65 ± 0.63	88.32 ± 0.17	88.25 ± 0.42	88.32 ± 0.67
535	87.72 ± 0.10	88.40 ± 0.42	87.80 ± 0.21	87.72 ± 0.67	88.42 ± 0.17	88.27 ± 0.38	88.37 ± 0.67
540	87.75 ± 0.14	88.52 ± 0.38	87.85 ± 0.21	87.77 ± 0.67	88.45 ± 0.14	88.40 ± 0.42	88.47 ± 0.67
545	87.92 ± 0.31	88.57 ± 0.31	87.90 ± 0.21	87.85 ± 0.63	88.65 ± 0.00	88.37 ± 0.38	88.50 ± 0.63
550	87.97 ± 0.24	88.60 ± 0.35	87.92 ± 0.24	87.85 ± 0.63	88.52 ± 0.17	88.45 ± 0.42	88.52 ± 0.67

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
555	88.02 ± 0.31	88.67 ± 0.31	88.00 ± 0.14	87.95 ± 0.63	88.75 ± 0.00	88.47 ± 0.38	88.57 ± 0.67
560	88.07 ± 0.31	88.72 ± 0.31	88.07 ± 0.17	87.97 ± 0.67	88.85 ± 0.00	88.52 ± 0.45	88.62 ± 0.67
565	88.10 ± 0.28	88.75 ± 0.35	88.10 ± 0.14	88.00 ± 0.63	88.85 ± 0.00	88.62 ± 0.45	88.70 ± 0.63
570	88.17 ± 0.24	88.70 ± 0.42	88.10 ± 0.21	88.05 ± 0.63	88.87 ± 0.03	88.57 ± 0.38	88.70 ± 0.63
575	88.22 ± 0.31	88.77 ± 0.38	88.20 ± 0.21	88.10 ± 0.63	88.95 ± 1.34	88.65 ± 0.42	88.75 ± 0.63
580	88.25 ± 0.28	88.82 ± 0.38	88.20 ± 0.14	88.20 ± 0.63	88.97 ± 0.03	88.67 ± 0.45	88.77 ± 0.67
585	88.27 ± 0.24	88.87 ± 0.38	88.22 ± 0.17	88.20 ± 0.63	89.02 ± 0.03	88.72 ± 0.45	88.80 ± 0.63
590	88.35 ± 0.28	88.92 ± 0.38	88.32 ± 0.10	88.27 ± 0.67	89.07 ± 0.03	88.75 ± 0.42	88.82 ± 0.67
595	88.37 ± 0.24	88.95 ± 0.42	88.35 ± 0.21	88.52 ± 0.31	89.10 ± 0.00	88.80 ± 0.35	88.90 ± 0.63
600	88.40 ± 0.28	89.02 ± 0.31	88.37 ± 0.17	88.55 ± 0.28	89.10 ± 0.00	88.85 ± 0.42	88.95 ± 0.63
605	88.40 ± 0.21	89.12 ± 0.31	88.45 ± 0.00	88.75 ± 0.28	89.25 ± 0.00	88.77 ± 0.38	88.87 ± 0.67
610	88.45 ± 0.28	89.20 ± 0.28	88.45 ± 0.00	88.75 ± 0.35	89.22 ± 0.03	88.77 ± 0.53	88.97 ± 0.67
615	88.47 ± 0.24	89.20 ± 0.28	88.50 ± 0.07	88.80 ± 0.28	89.27 ± 0.10	88.95 ± 0.35	89.10 ± 0.70
620	88.47 ± 0.31	89.20 ± 0.35	88.50 ± 0.00	88.57 ± 0.67	89.25 ± 0.00	88.85 ± 0.56	89.05 ± 0.70
625	88.57 ± 0.31	89.30 ± 0.28	88.62 ± 0.03	89.05 ± 0.42	89.20 ± 0.14	89.05 ± 0.35	89.15 ± 0.70
630	88.60 ± 0.28	89.30 ± 0.28	88.65 ± 0.00	88.80 ± 0.84	89.12 ± 0.03	89.05 ± 0.56	89.20 ± 0.77
635	88.62 ± 0.24	89.32 ± 0.31	88.62 ± 0.03	88.67 ± 0.60	89.15 ± 0.07	89.02 ± 0.53	89.20 ± 0.70
640	88.60 ± 0.28	89.35 ± 0.28	88.67 ± 0.03	88.77 ± 0.81	89.17 ± 0.03	89.05 ± 0.56	89.17 ± 0.67

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

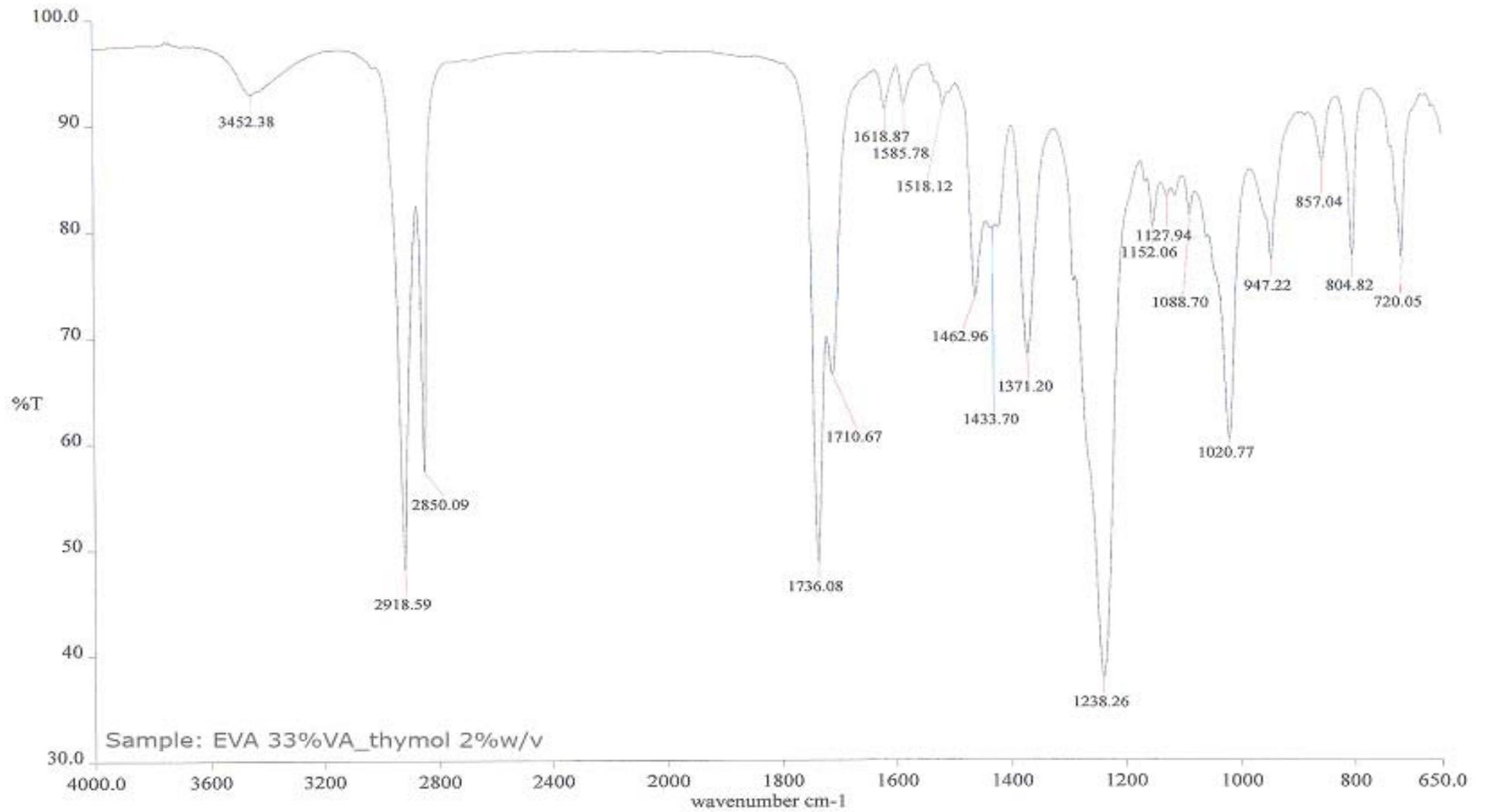
Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
645	88.67 ± 0.31	89.37 ± 0.24	88.67 ± 0.03	88.72 ± 0.67	89.32 ± 0.17	89.15 ± 0.42	89.22 ± 0.67
650	88.75 ± 0.21	89.42 ± 0.31	88.70 ± 1.34	88.77 ± 0.60	89.22 ± 0.03	89.15 ± 0.49	89.35 ± 0.70
655	88.55 ± 0.28	89.52 ± 0.24	88.77 ± 0.03	88.82 ± 0.60	89.55 ± 0.00	89.10 ± 0.49	89.27 ± 0.74
660	88.60 ± 0.14	89.50 ± 0.21	88.82 ± 0.10	88.95 ± 0.91	89.40 ± 0.21	89.10 ± 0.49	89.62 ± 0.24
665	88.77 ± 0.17	89.47 ± 0.31	88.85 ± 0.00	88.90 ± 0.77	89.37 ± 0.10	89.17 ± 0.53	89.67 ± 0.31
670	88.77 ± 0.38	89.52 ± 0.24	88.75 ± 0.07	88.85 ± 0.63	89.35 ± 0.00	89.22 ± 0.53	89.12 ± 0.81
675	88.62 ± 0.10	89.47 ± 0.24	88.67 ± 0.17	88.90 ± 0.56	89.45 ± 0.07	89.37 ± 0.38	89.00 ± 0.91
680	88.80 ± 0.35	89.47 ± 0.10	88.67 ± 0.10	88.87 ± 0.60	89.32 ± 0.10	89.50 ± 0.35	89.10 ± 0.91
685	88.85 ± 0.28	89.57 ± 0.24	88.75 ± 0.14	89.05 ± 0.70	89.37 ± 0.03	89.47 ± 0.38	89.10 ± 0.98
690	88.92 ± 0.38	89.62 ± 0.17	89.10 ± 0.21	89.10 ± 0.77	89.47 ± 0.03	89.52 ± 0.38	89.17 ± 0.88
695	88.90 ± 0.21	89.62 ± 0.24	89.02 ± 0.17	88.97 ± 0.53	89.55 ± 0.14	89.45 ± 0.42	89.17 ± 0.88
700	88.95 ± 0.21	89.60 ± 0.21	89.05 ± 0.14	89.02 ± 0.53	89.47 ± 0.10	89.45 ± 0.42	89.25 ± 0.84
705	89.05 ± 0.21	89.67 ± 0.31	89.07 ± 0.17	89.10 ± 0.49	89.67 ± 0.03	89.47 ± 0.31	89.30 ± 0.77
710	89.00 ± 0.14	89.65 ± 0.42	89.02 ± 0.10	89.05 ± 0.42	89.77 ± 0.03	89.40 ± 0.28	89.22 ± 0.81
715	89.00 ± 0.21	89.70 ± 0.28	89.07 ± 0.24	89.10 ± 0.42	89.77 ± 0.17	89.55 ± 0.21	89.80 ± 0.21
720	89.05 ± 0.21	89.67 ± 0.24	89.12 ± 0.24	89.12 ± 0.38	89.75 ± 0.00	89.50 ± 0.21	89.75 ± 0.21
725	89.07 ± 0.24	89.70 ± 0.21	89.15 ± 0.07	89.25 ± 0.35	89.67 ± 0.03	89.57 ± 0.17	89.90 ± 0.21
730	89.15 ± 0.21	89.75 ± 0.35	89.27 ± 0.17	89.17 ± 0.45	89.75 ± 0.07	89.57 ± 0.24	89.87 ± 0.24

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

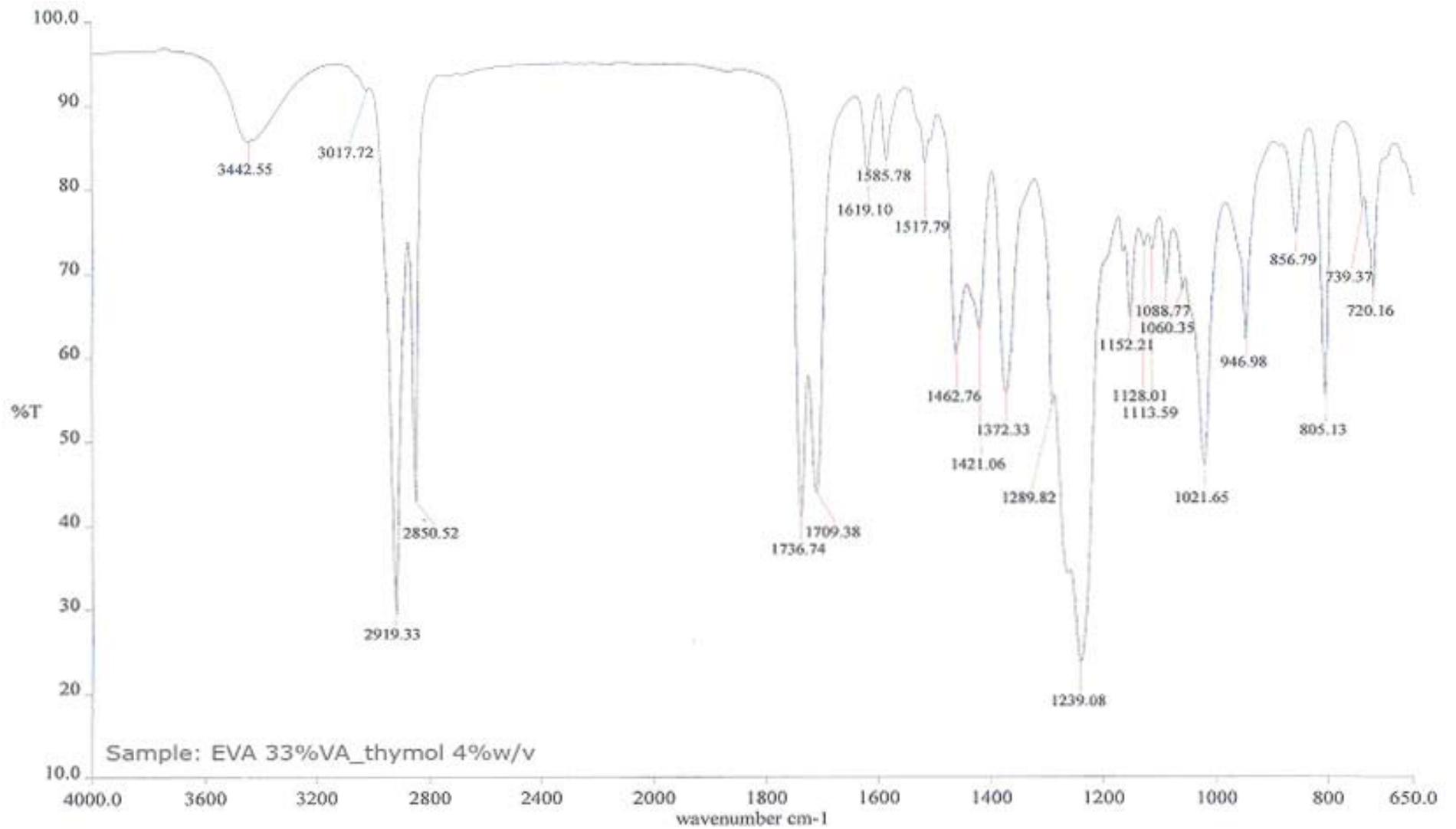
Wavelength (nm)	Control	Thymol		Eugenol		Thymol and Eugenol	
		2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v	2% w/v	4% w/v
735	89.12 ± 0.17	89.77 ± 0.24	89.17 ± 0.10	89.22 ± 0.45	89.85 ± 0.00	89.52 ± 0.24	89.37 ± 0.74
740	89.15 ± 0.21	89.82 ± 0.38	89.17 ± 0.03	89.22 ± 0.31	89.75 ± 0.07	89.55 ± 0.21	89.47 ± 0.67
745	89.20 ± 0.28	89.80 ± 0.28	89.25 ± 0.21	89.27 ± 0.53	89.80 ± 0.14	89.57 ± 0.24	89.52 ± 0.67
750	89.27 ± 0.17	89.77 ± 0.31	89.22 ± 0.10	89.30 ± 0.42	89.75 ± 0.07	89.72 ± 0.24	89.70 ± 0.77
755	89.22 ± 0.10	89.90 ± 0.21	89.25 ± 0.14	89.35 ± 0.49	89.92 ± 0.03	89.60 ± 0.21	89.52 ± 0.67
760	89.35 ± 0.14	89.87 ± 0.24	89.27 ± 0.10	89.35 ± 0.49	90.02 ± 0.03	89.57 ± 0.24	89.55 ± 0.70
765	89.25 ± 0.07	89.87 ± 0.31	89.30 ± 0.14	89.35 ± 0.42	89.95 ± 1.34	89.70 ± 0.21	89.65 ± 0.70
770	89.25 ± 0.21	89.82 ± 0.24	89.30 ± 0.14	89.37 ± 0.45	89.80 ± 0.14	89.85 ± 0.28	89.82 ± 0.74
775	89.27 ± 0.17	89.92 ± 0.31	89.27 ± 0.10	89.37 ± 0.45	90.05 ± 0.07	89.80 ± 0.28	89.67 ± 0.67
780	89.42 ± 0.10	89.97 ± 0.31	89.40 ± 0.07	89.42 ± 0.31	90.00 ± 0.07	89.80 ± 0.21	89.75 ± 0.84
785	89.35 ± 0.00	90.07 ± 0.38	89.42 ± 0.10	89.50 ± 0.42	90.12 ± 0.03	89.80 ± 0.28	89.75 ± 0.70
790	89.35 ± 0.21	89.97 ± 0.31	89.35 ± 0.14	89.42 ± 0.38	90.02 ± 0.10	89.67 ± 0.38	89.72 ± 0.67
795	89.42 ± 0.24	90.07 ± 0.03	89.50 ± 0.28	89.55 ± 0.56	90.05 ± 0.00	89.75 ± 0.21	89.77 ± 0.67
800	89.45 ± 0.14	90.07 ± 0.31	89.50 ± 0.14	89.52 ± 0.53	90.02 ± 0.03	89.70 ± 0.35	89.82 ± 0.67

ภาพผนวก ง

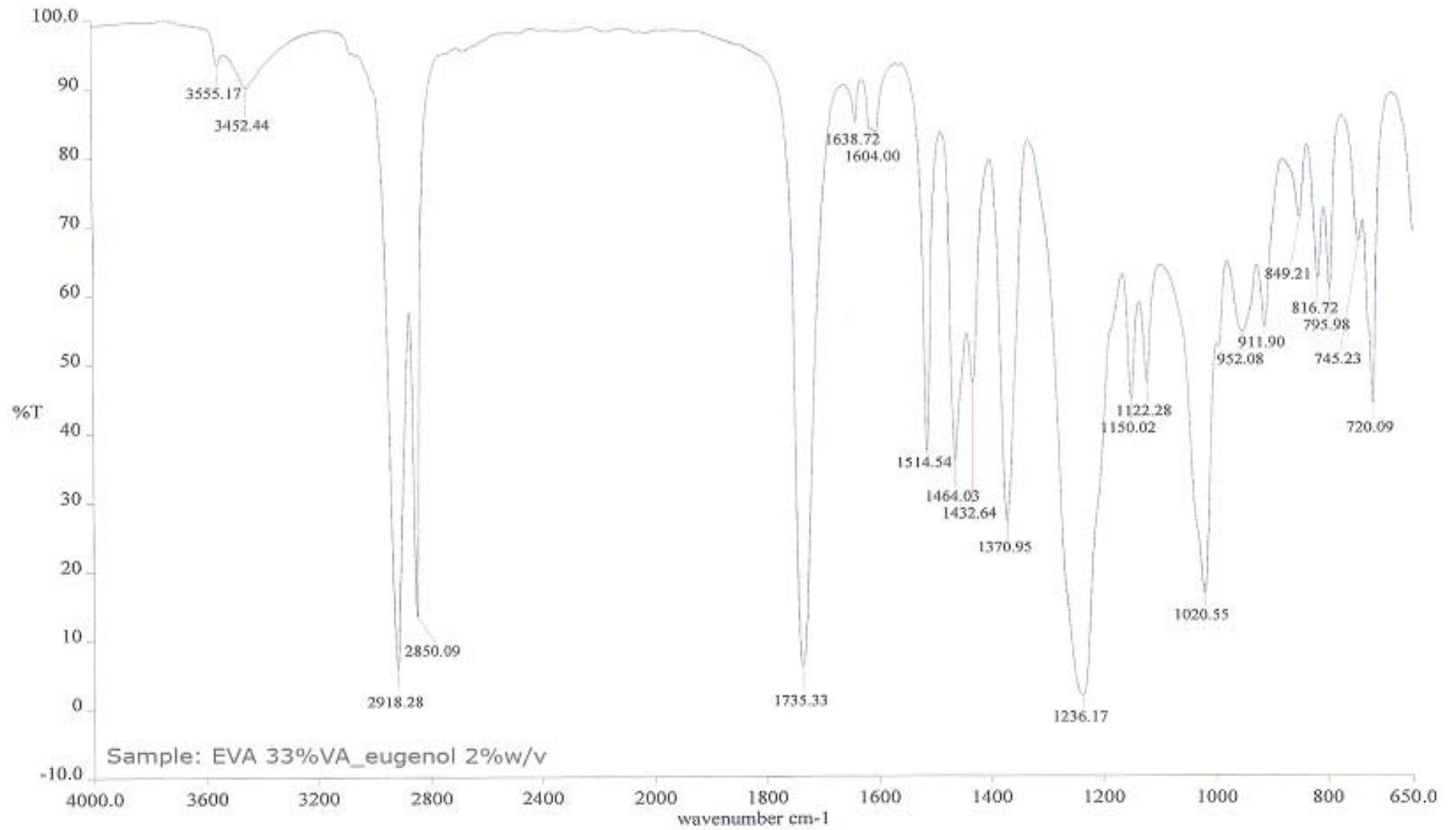
อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ EVAflex150/LDPE



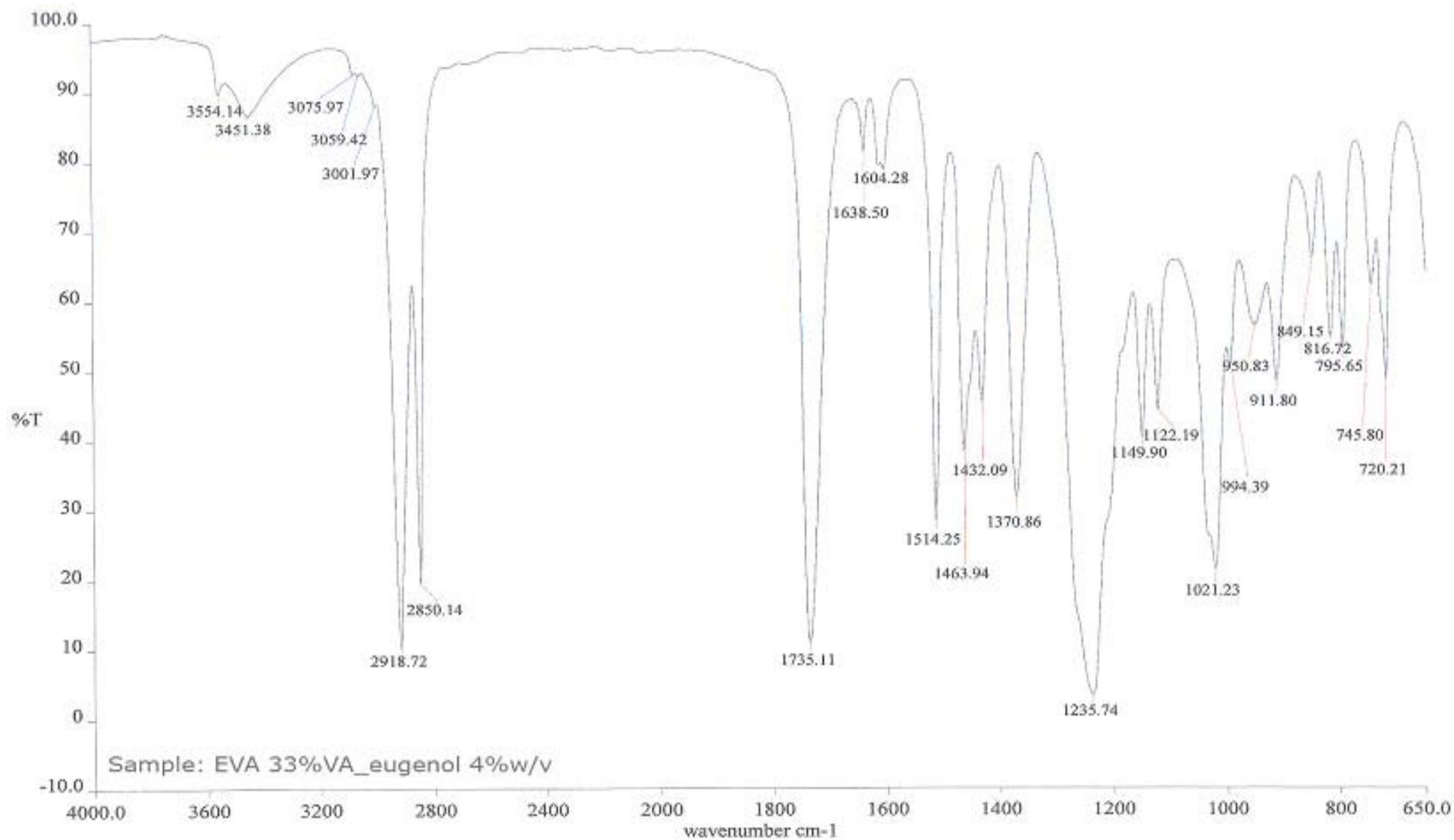
ภาพผนวกที่ ๑1 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลความเข้มข้น 2.0 %w/v



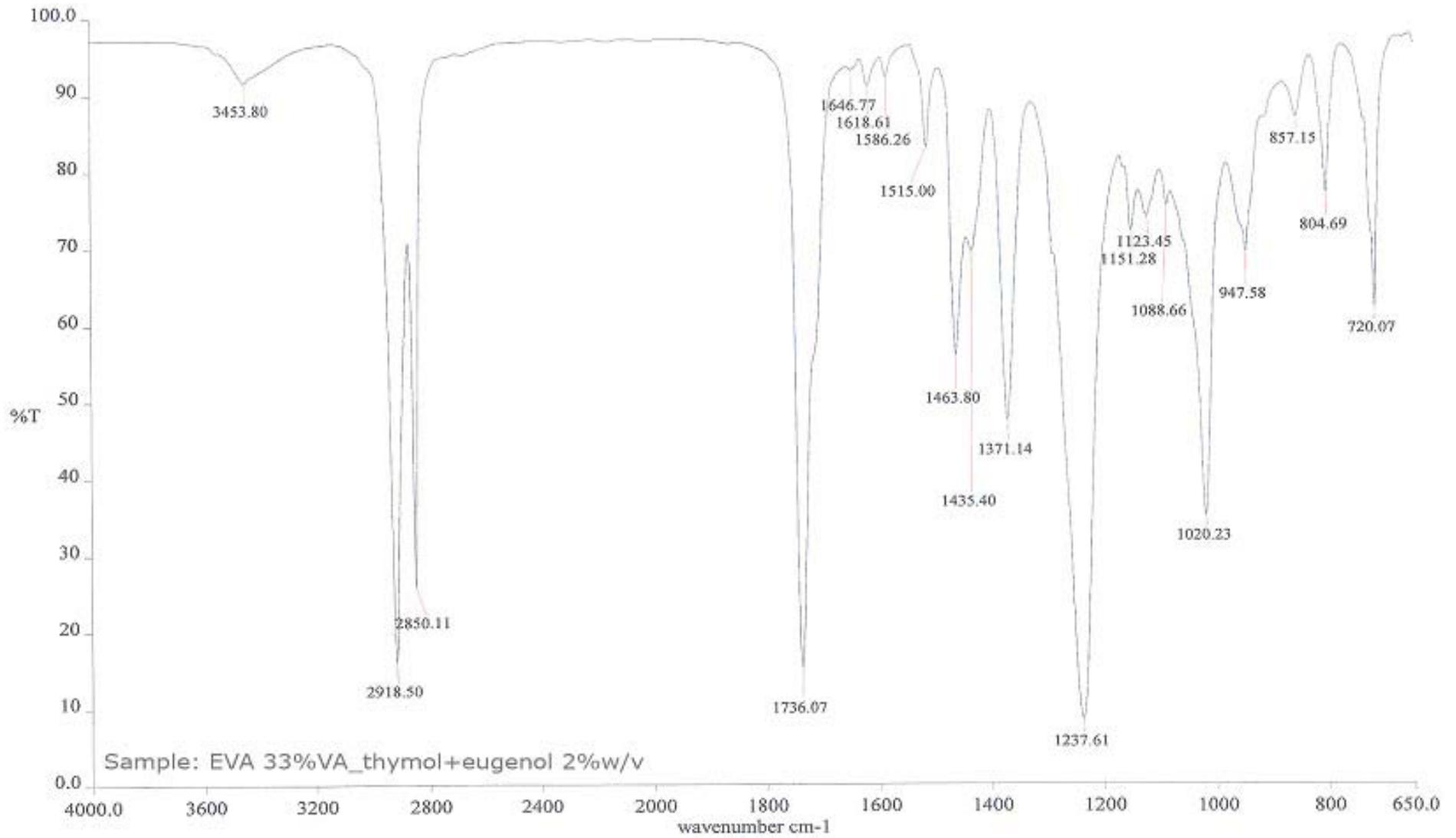
ภาพผนวกที่ ๖2 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอลความเข้มข้น 4.0 %w/v



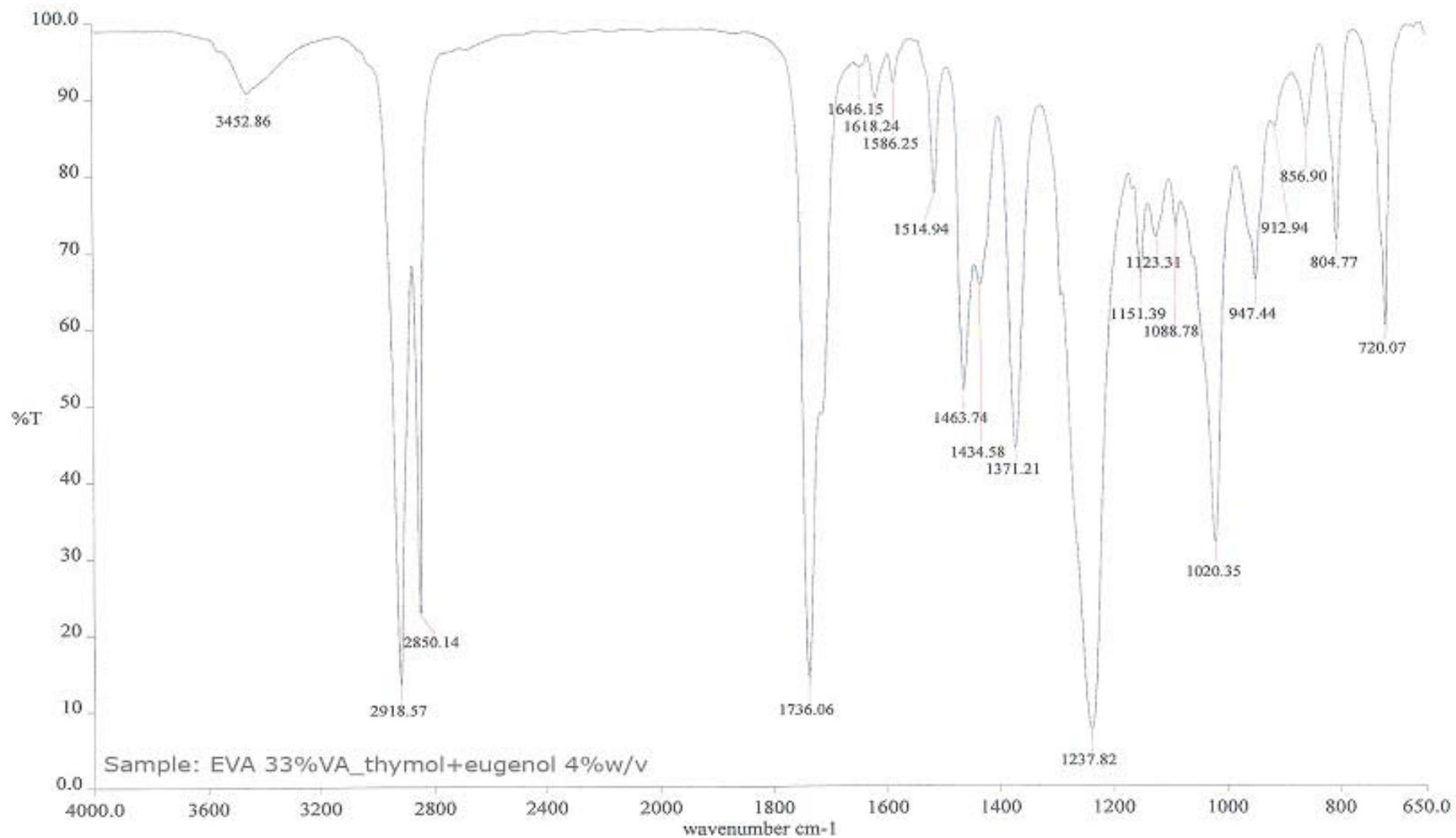
ภาพผนวกที่ 3 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจีนีนอลความเข้มข้น 2.0 %w/v



ภาพผนวกที่ 4 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v



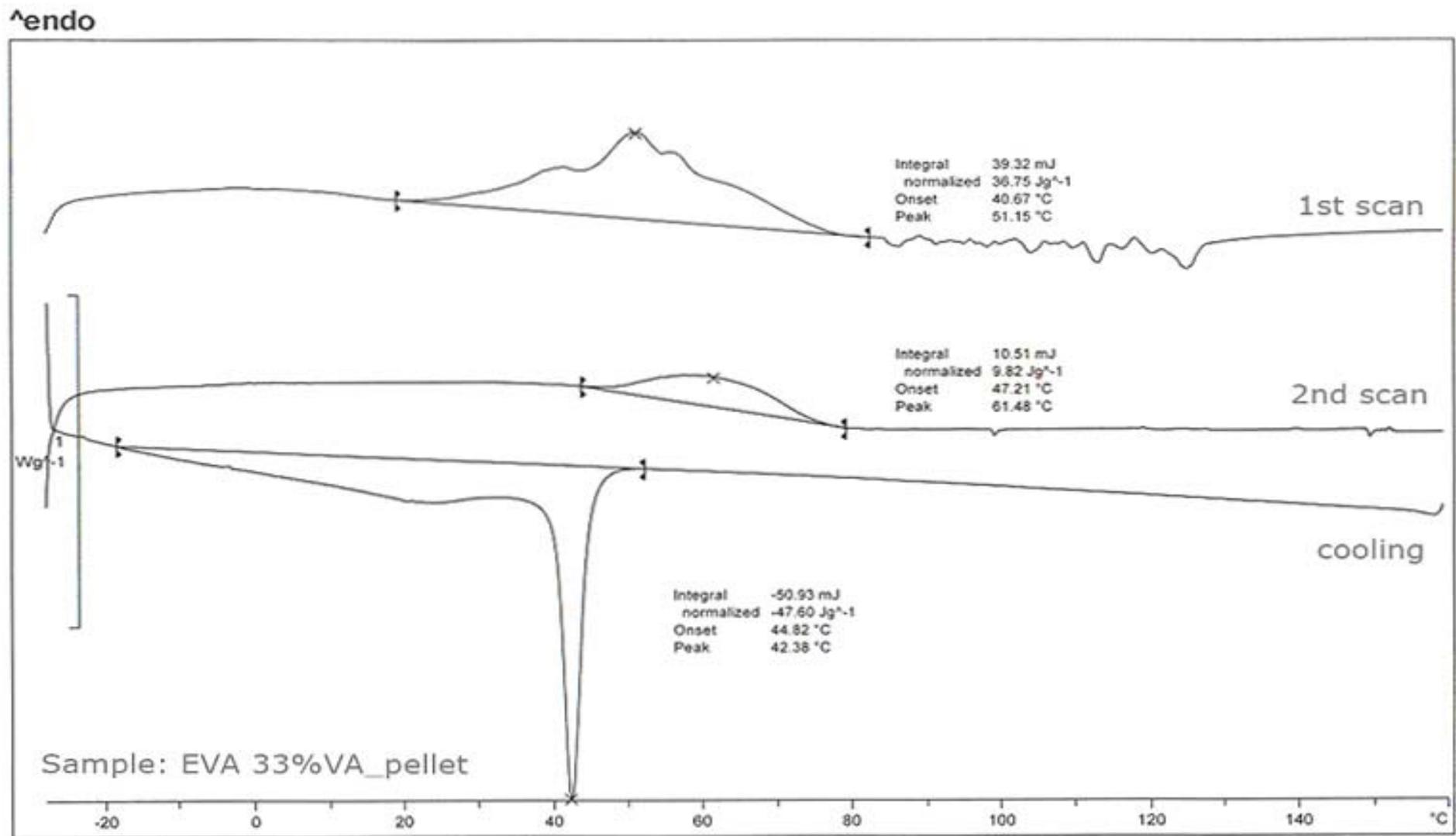
ภาพผนวกที่ 5 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 2.0 %w/v



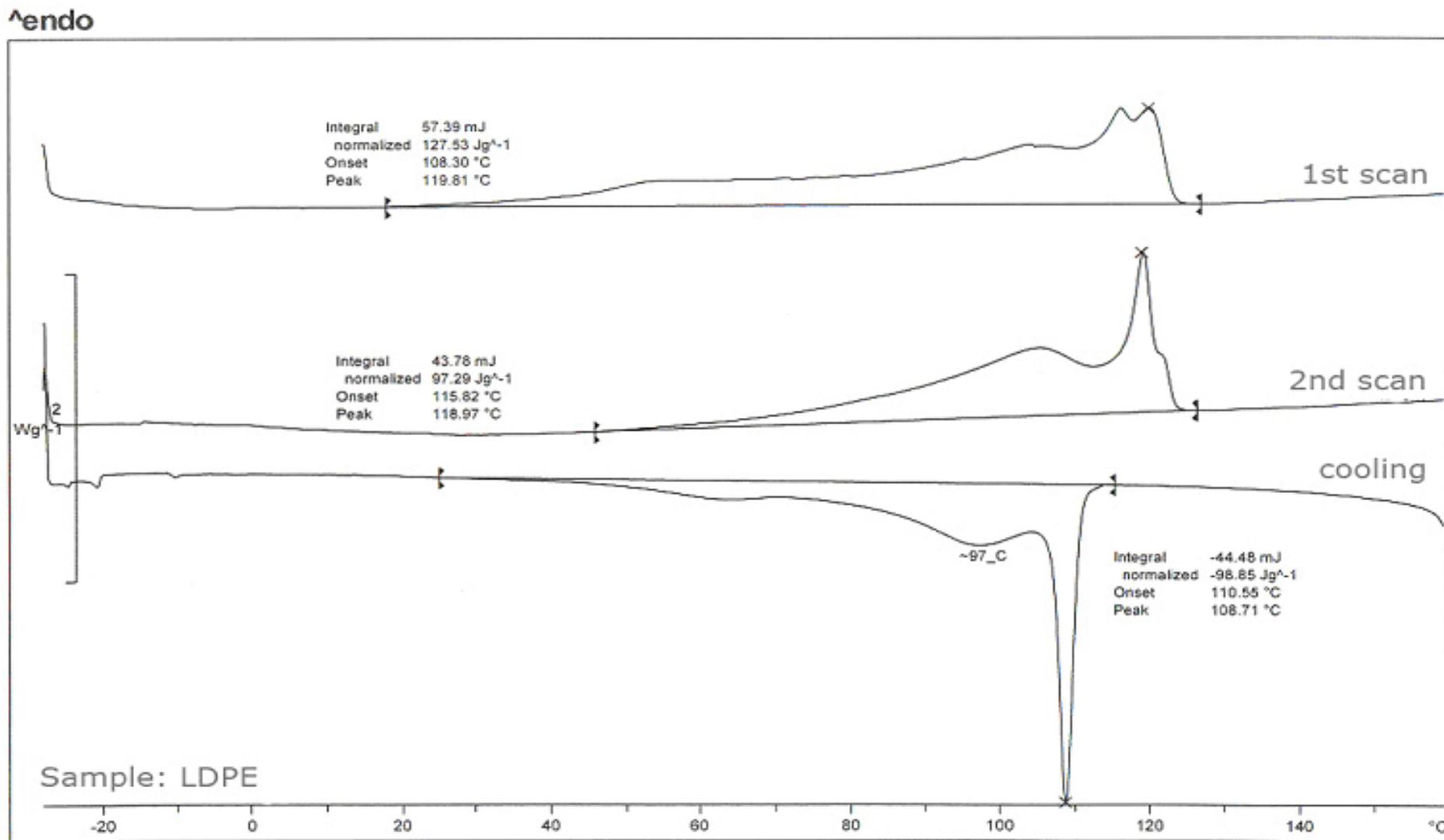
ภาพผนวกที่ 6 อินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจีนอลความเข้มข้น 4.0 %w/v

ภาคผนวก จ

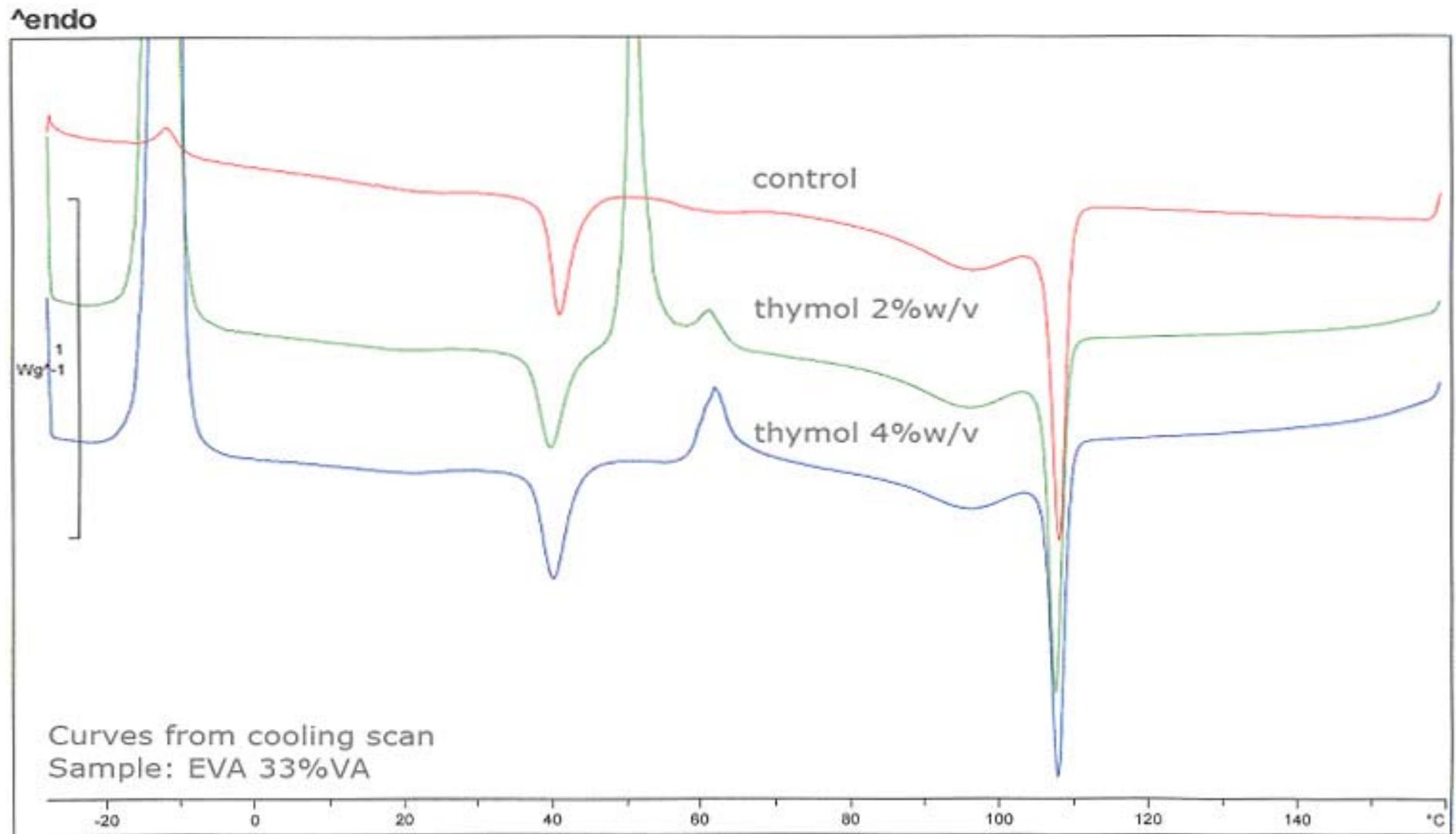
เทอร์โมแกรมแสดงอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิเกิดผลึกทดสอบด้วยเทคนิค DSC



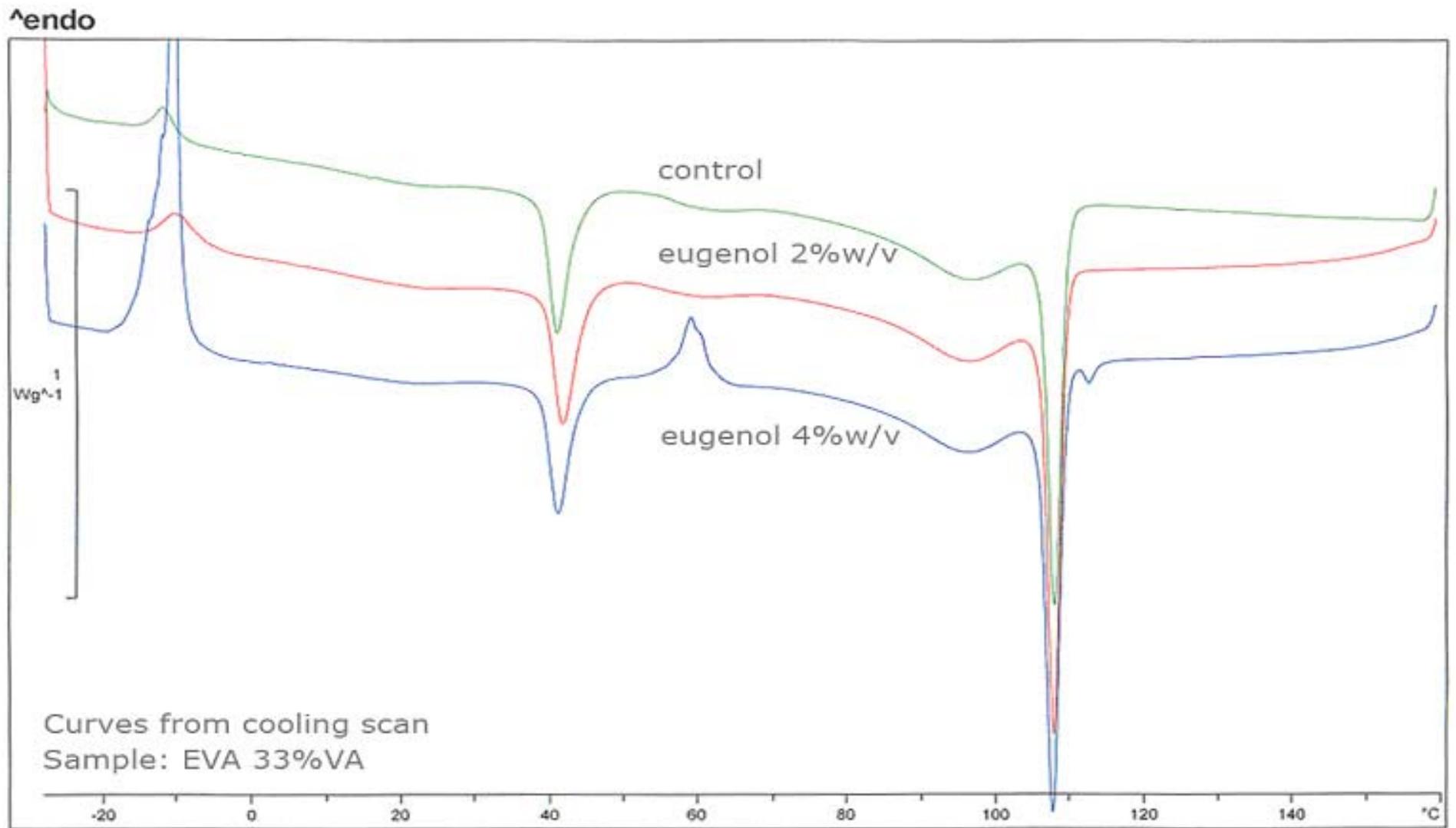
ภาพผนวกที่ ๑1 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิลอมเหลวและอุณหภูมิการเกิดผลึกของเม็ดพลาสติก EVAflex150



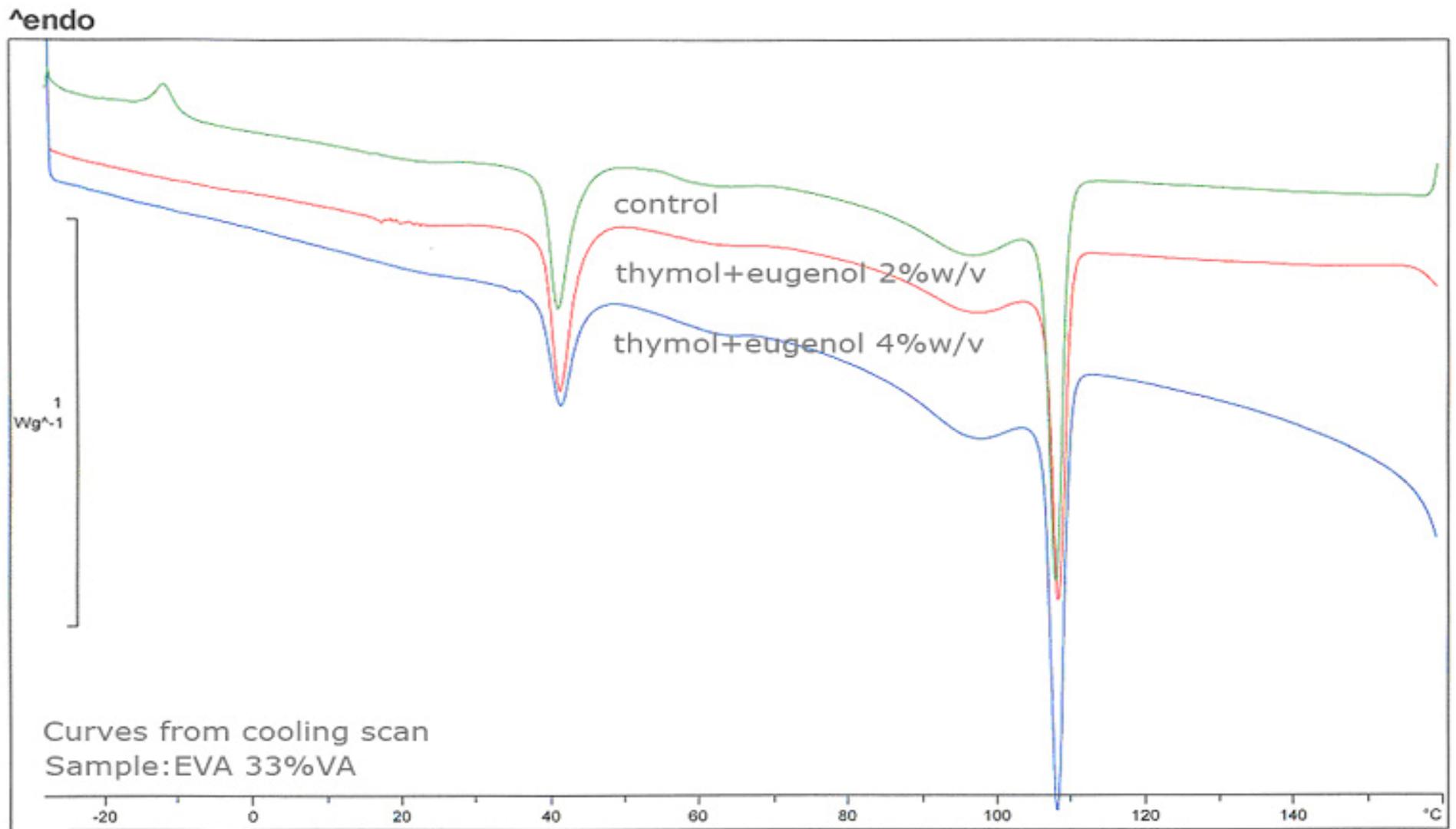
ภาพผนวกที่ จ2 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ



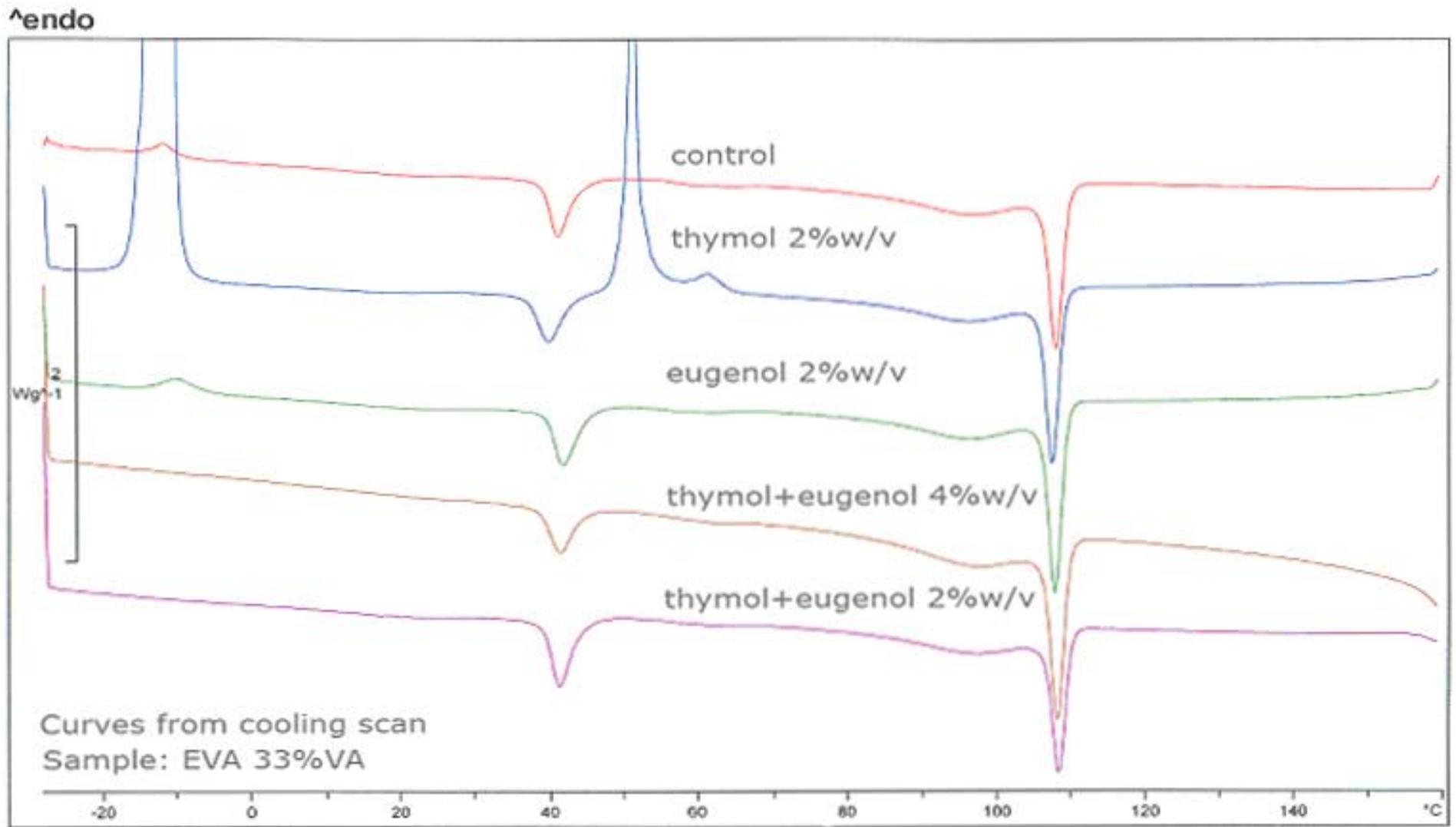
ภาพผนวกที่ ๓3 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิก่อผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม



ภาพผนวกที่ ๑4 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิก่อผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจีนอล เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม



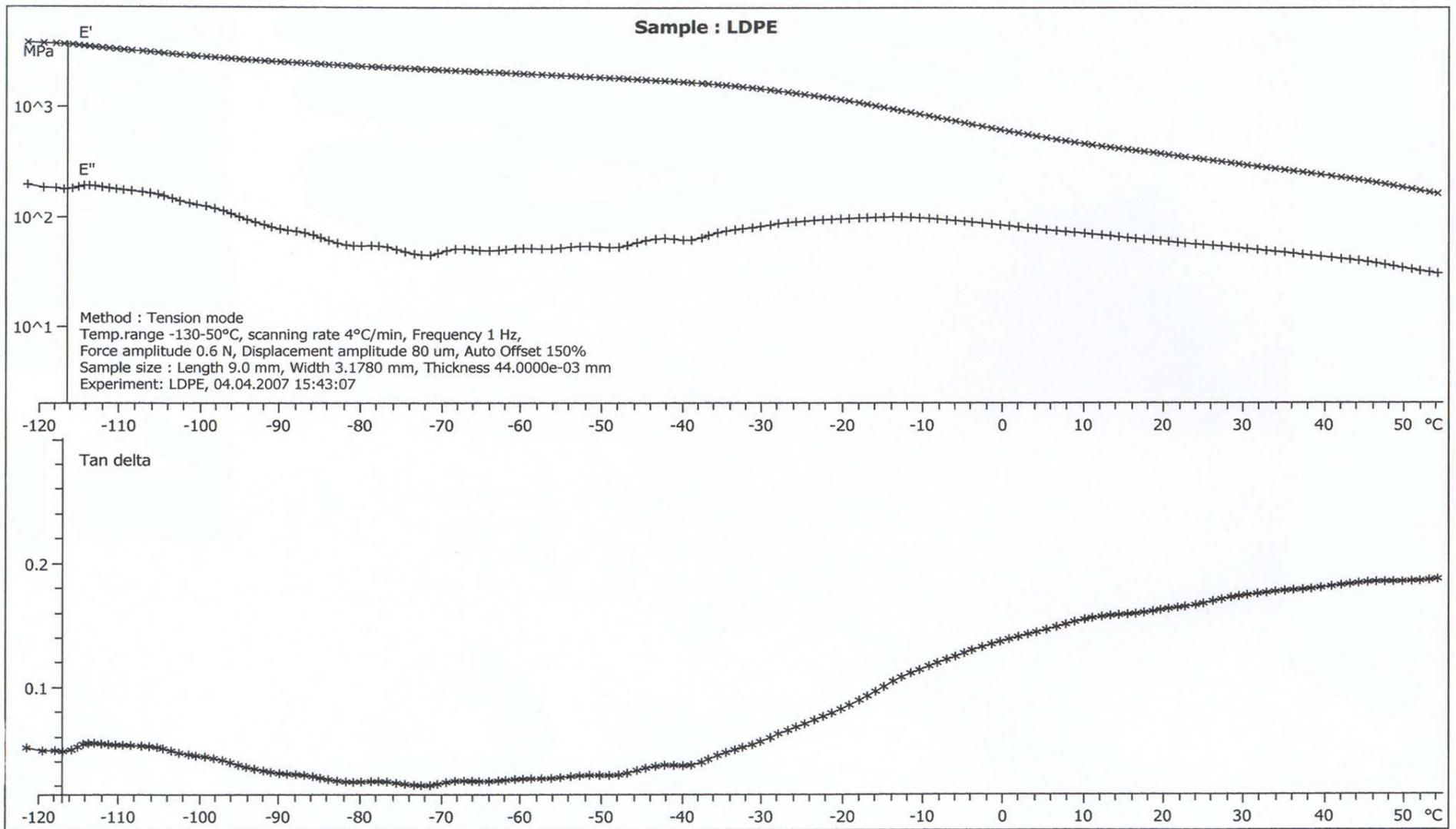
ภาพผนวกที่ ๑5 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจีนอล เปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม



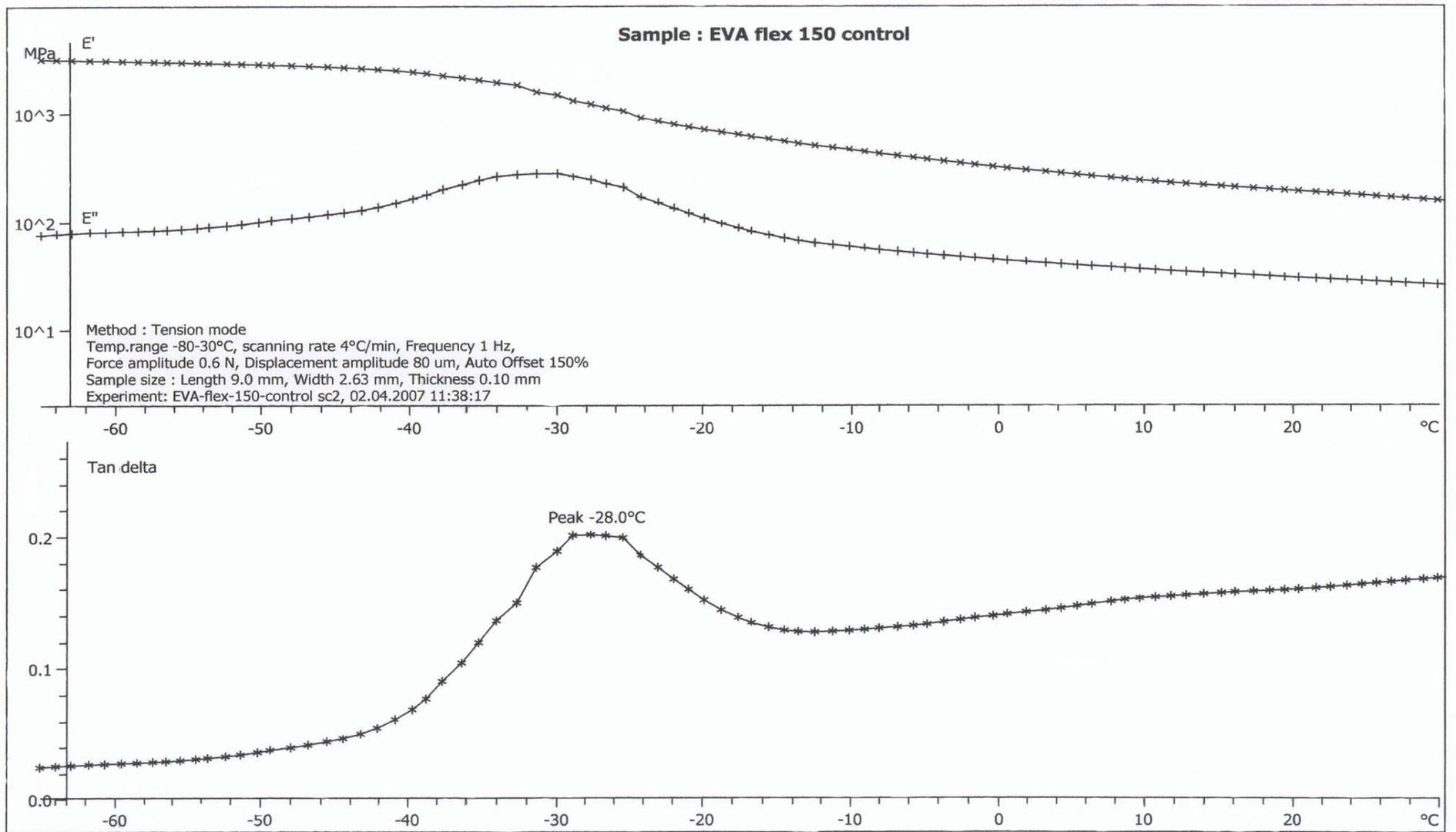
ภาพผนวกที่ ๖6 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิการเกิดผลึกของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอล ยูจีนอล หรือไทมอลผสมยูจีนอลเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม

ภาคผนวก จ

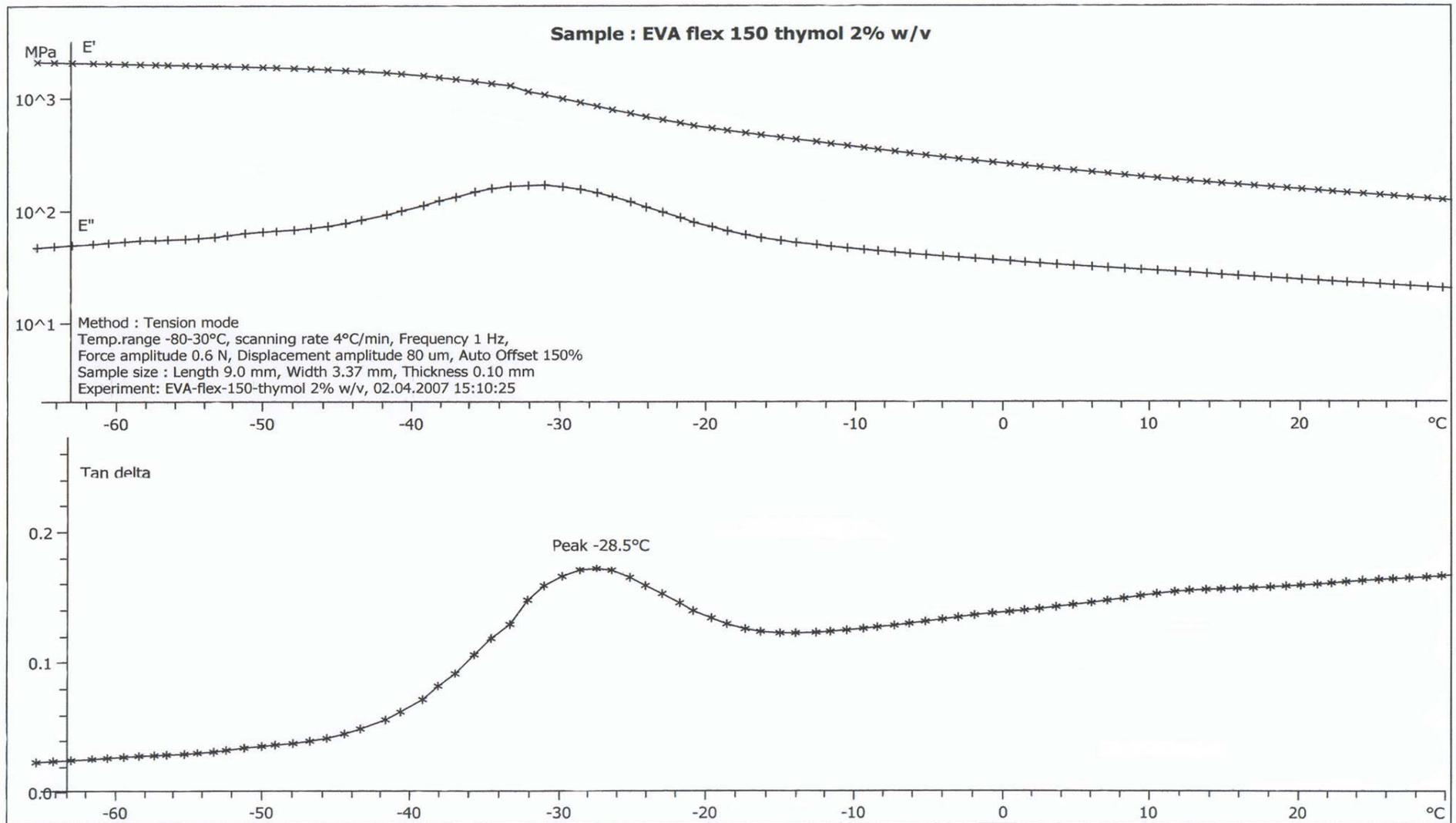
เทอร์โมแกรมแสดงอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วทดสอบด้วยเทคนิค DMA



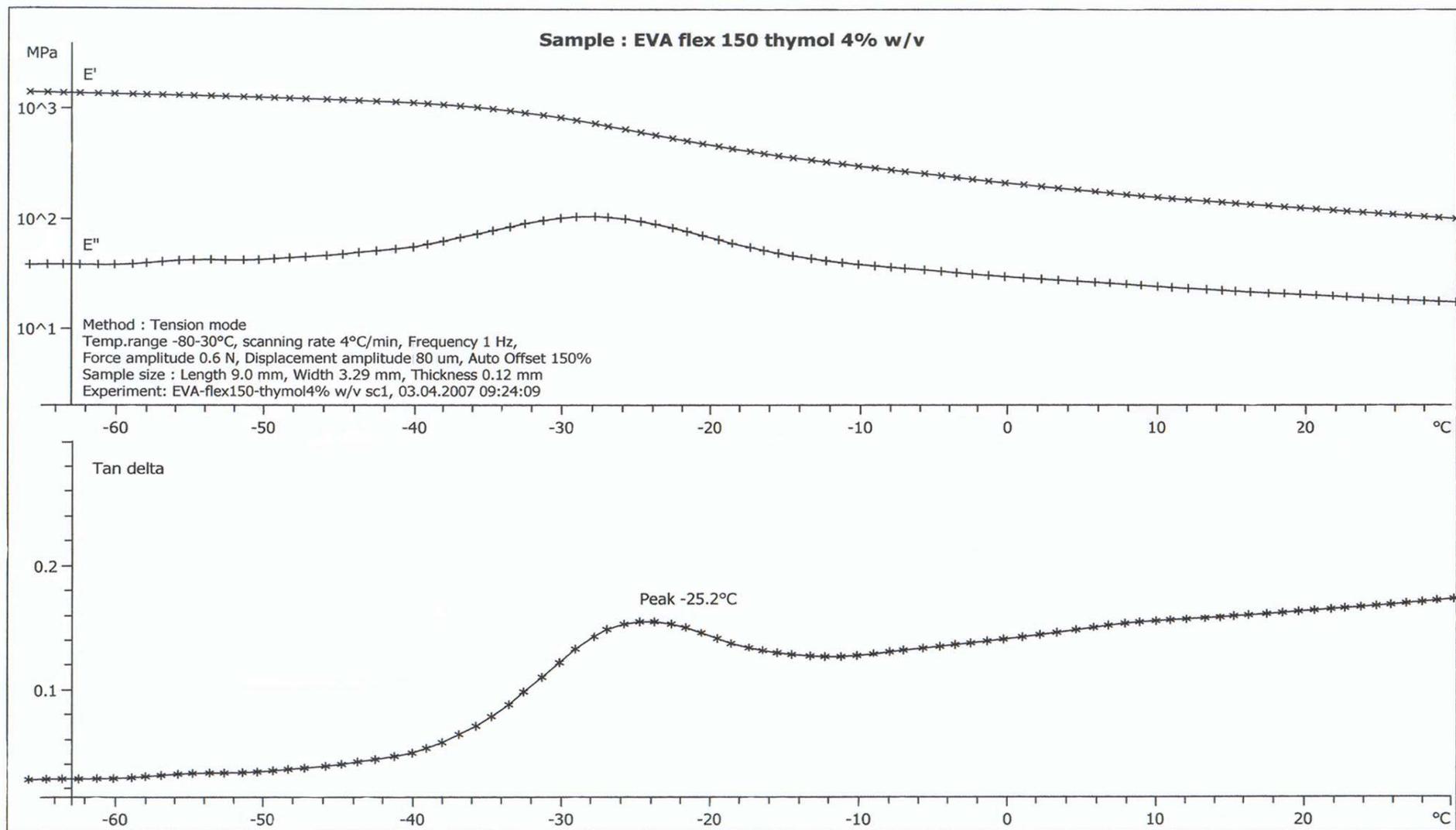
ภาพผนวกที่ ๑1 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิตกของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ



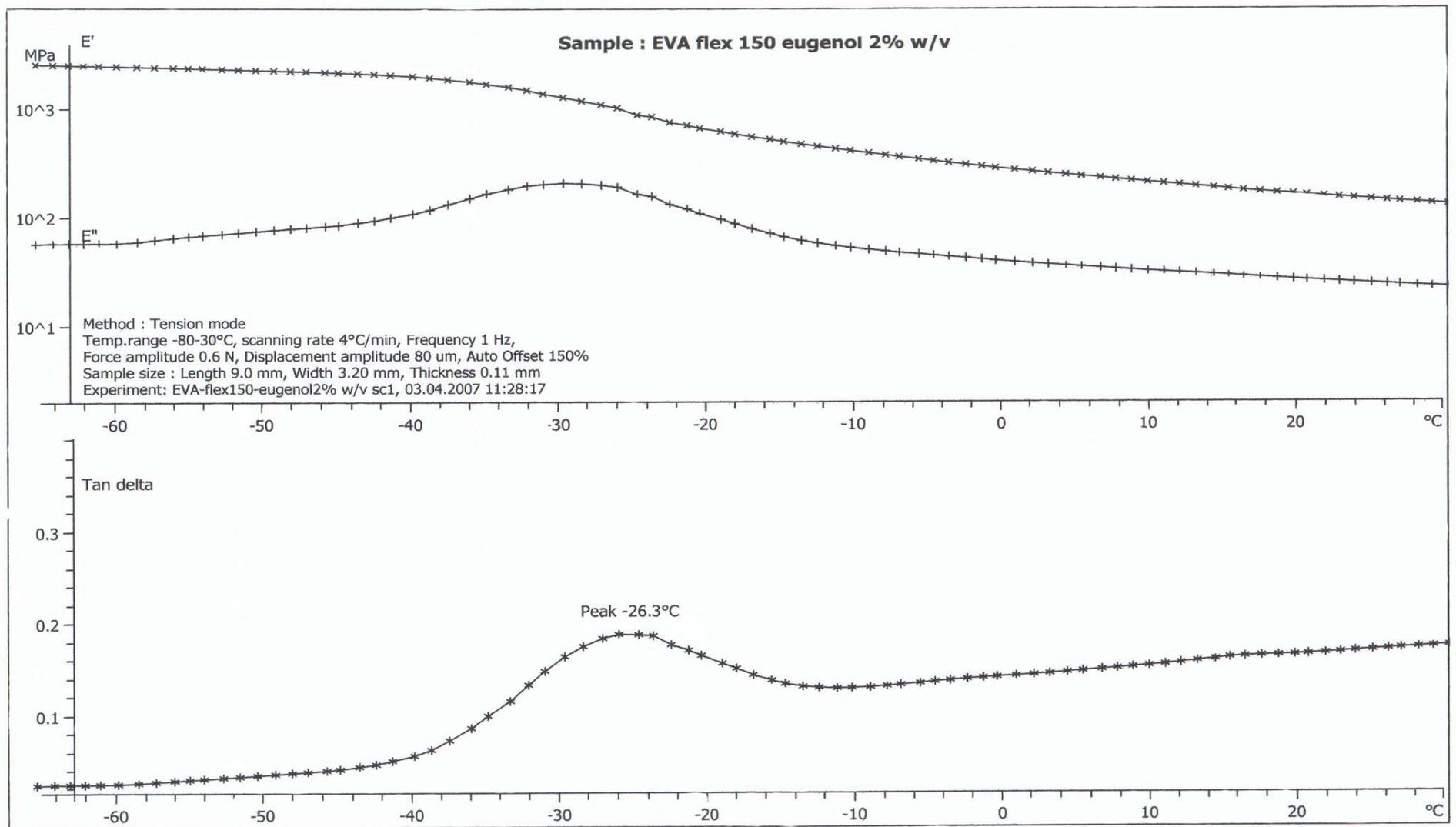
ภาพผนวกที่ ๑2 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์มควบคุม EVAflex150/LDPE



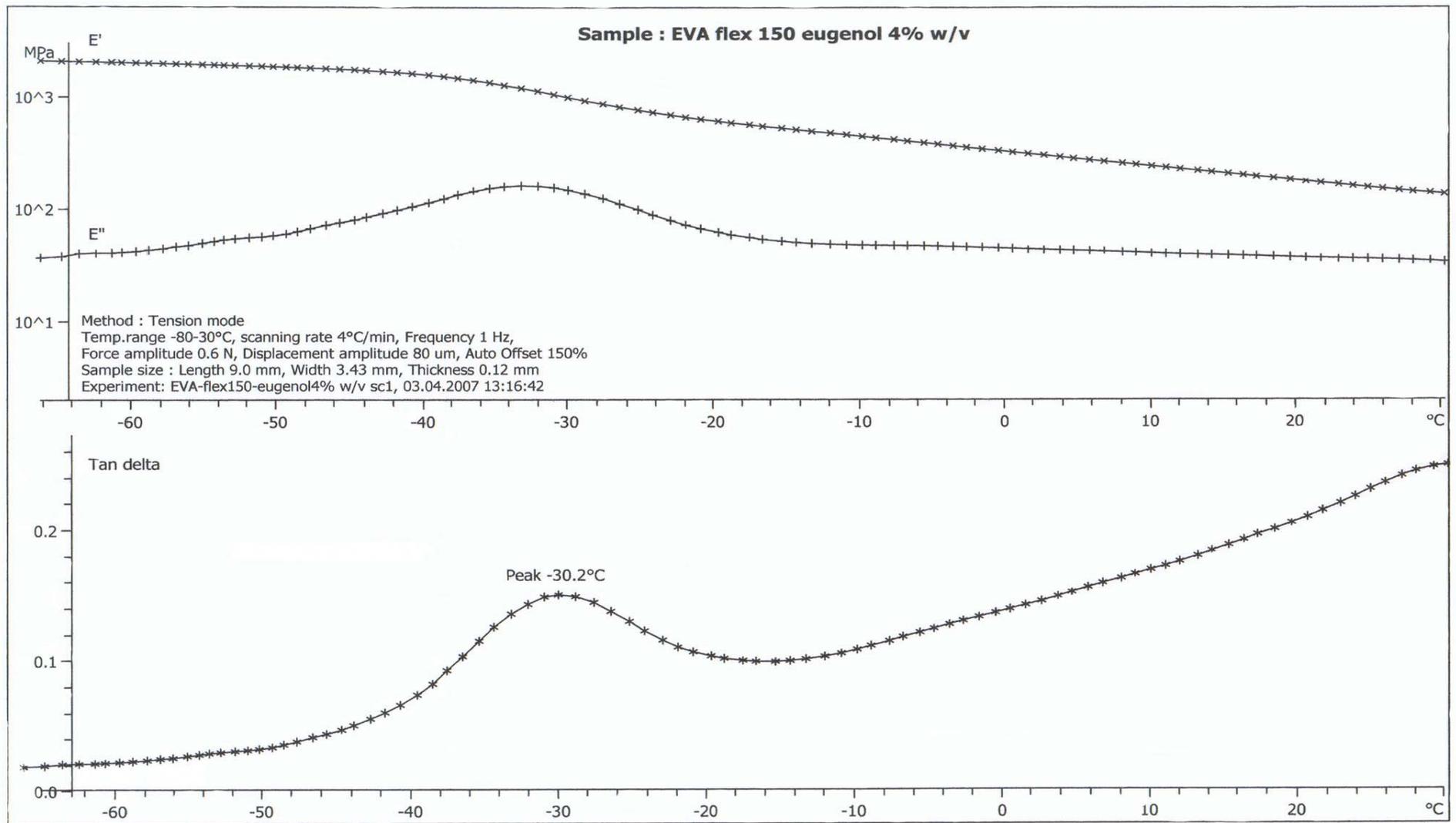
ภาพผนวกที่ ๓3 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 2.0 %w/v



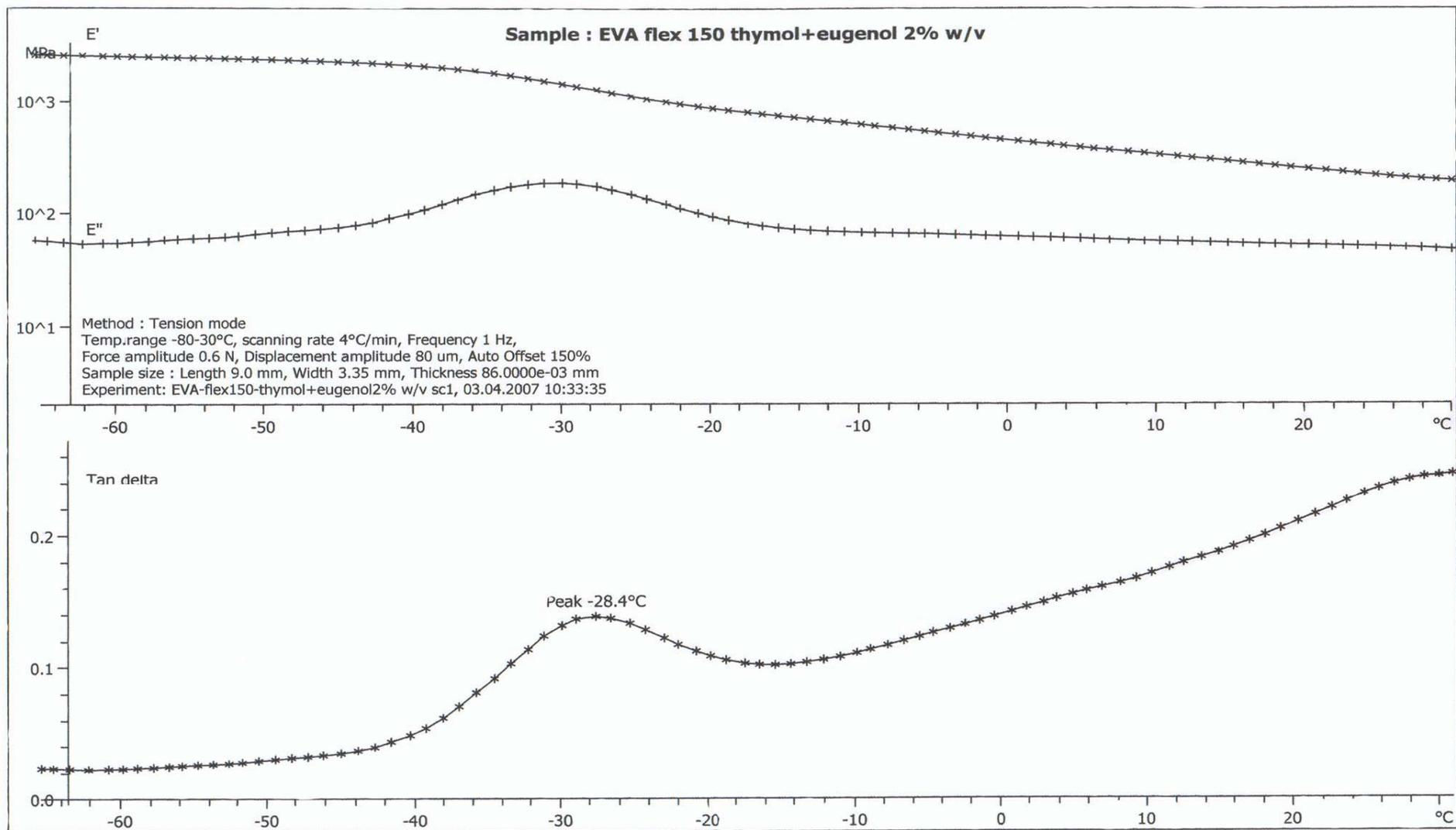
ภาพผนวกที่ ๓4 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มไทมอล 4.0 %w/v



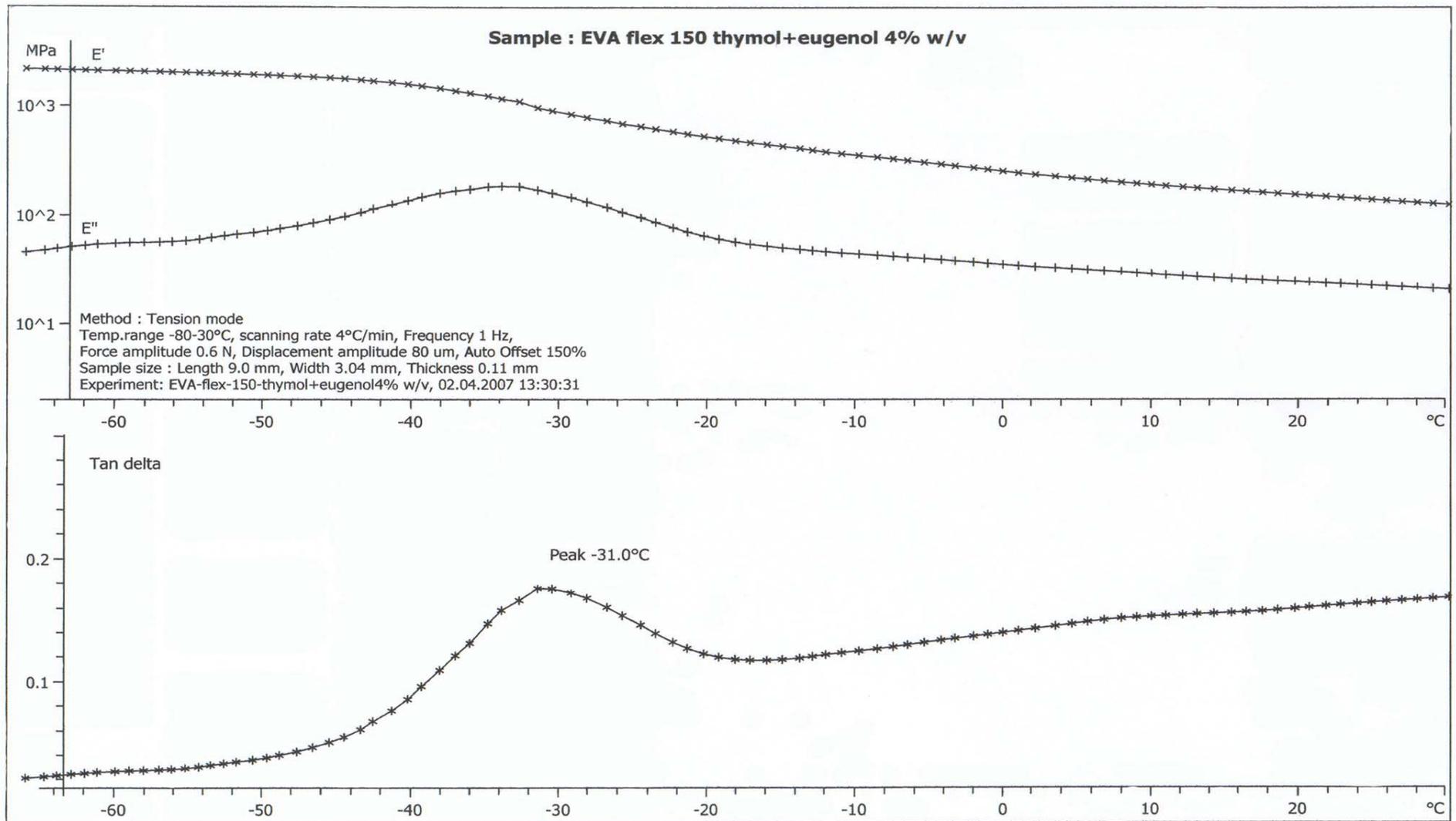
ภาพผนวกที่ ๑5 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิตถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เต็มยูจีนอล 2.0 %w/v



ภาพผนวกที่ ๑๖ เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมยูจีนอล 4.0 %w/v



ภาพผนวกที่ ๗7 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจีนอล 2.0 %w/v



ภาพผนวกที่ ๘8 เทอร์โมแกรมอุณหภูมิสถานะคล้ายแก้วของฟิล์ม EVAflex150/LDPE เติมไทมอลผสมยูจีนอล 4.0 %w/v

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวปณิธิ ทิพย์ธรรม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	19 กุมภาพันธ์ 2522
สถานที่เกิด	จังหวัดอุดรธานี
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	1. ทุนโครงการวิจัยจากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ 2. ทุนโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์