



วิทยานิพนธ์

การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา
ผลิตภัณฑ์อาหาร

**DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL COATING AND FILM
FOR EXTENDING SHELF LIFE OF FOOD PRODUCTS**

นางสาวปาริชาติ ธรรมนราทิพย์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

ปริญญา

พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร	พัฒนาผลิตภัณฑ์
สาขา	ภาควิชา

เรื่อง การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

Development of Antimicrobial Coating and Film for Extending Shelf Life of Food Products

นามผู้วิจัย นางสาวปาริชาติ ธรรมนราทิพย์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ, D.Sc.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจจงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

Development of Antimicrobial Coating and Film for Extending Shelf Life of Food Products

โดย

นางสาวปาริชาติ ธรรมนราทิพย์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2550

ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์ 2550: การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา
ผลิตภัณฑ์อาหาร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร) สาขา
พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ ประชานกรรมการที่ปรึกษา:
รองศาสตราจารย์กมลวรรณ แจ่มชัด, Ph.D. 233 หน้า

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งของการเสื่อมเสียของอาหาร ดังนั้นสารเคลือบและฟิล์มยับยั้ง
จุลินทรีย์จึงมีความสำคัญในการนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผล
ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมกับสารเคลือบหรือฟิล์มที่รับประทานได้ต่ออายุการเก็บรักษามะเขือเทศ ขนมปิ้ง
และขนมทองหยอด จากการศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อของสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้แก่ ในซัน 10,000 IU/
มิลลิลิตร สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119) ยูจีนอล 1,000 ppm และไทมอล 1,000 ppm โดยวิธี disc
agar diffusion พบว่า ในซันที่ความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร ยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
PCA (Plate Count Agar) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (DeMan, Rogosa, Sharpe Agar) ได้
ดีที่สุด ขณะที่ยูจีนอล 1,000 ppm และไทมอล 1,000 ppm ยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA
ยีสต์และราบางชนิด ส่วน KJ119 มีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยกว่าสารอื่น การศึกษากิจกรรมการยับยั้ง
จุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสม โดยจัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล 2x2 ในการวางแผนการทดลองแบบ
สุ่มสมบูรณ์ ศึกษาในซันที่ความเข้มข้นสองระดับคือ 1,000 และ 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจีนอลหรือไทมอลที่
ความเข้มข้นสองระดับ คือ 500 และ 1,000 ppm โดยใช้วิธี disc agar diffusion พบว่าในซัน 10,000 IU/มิลลิลิตร
ผสมยูจีนอล 1,000 ppm มีกิจกรรมในการยับยั้งจุลินทรีย์จากมะเขือเทศและขนมปิ้งได้ดีที่สุด ขณะที่ในซัน
10,000 IU/มิลลิลิตร ผสมไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อจากขนม
ทองหยอด เมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศที่เตรียมโดยเคลือบด้วยสารละลายไคโตแซน 1.5%
(น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ เก็บที่อุณหภูมิ 25±2°C และความชื้นสัมพัทธ์ 65±5% พบว่าสาร
ยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับสารเคลือบผิวมะเขือเทศคือ ไคโตแซนผสมในซัน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม
และยูจีนอล 15,000 ppm ซึ่งช่วยให้มะเขือเทศมีอายุการเก็บรักษา 21 วัน ขณะที่มะเขือเทศไม่เคลือบผิวมีอายุการ
เก็บรักษา 14 วัน การศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนมปิ้งที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน 1.5% ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์
ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C และความชื้นสัมพัทธ์ 55±5% พบว่าฟิล์มไคโตแซนผสมในซัน 10,000 IU/กรัม
ของฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 ppm ช่วยให้ขนมปิ้งมีอายุการเก็บรักษานาน 6 วัน ขณะที่ขนมปิ้งที่ไม่ห่อฟิล์มมี
อายุการเก็บรักษา 3 วัน สำหรับขนมทองหยอดที่ใช้ฟิล์มไคโตแซน 1.5% ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์วางระหว่างชั้น
ของขนม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C และความชื้นสัมพัทธ์ 65±5% พบว่าฟิล์มไคโตแซนผสมในซัน 10,000
IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm ช่วยให้ขนมทองหยอดมีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น
จาก 2 วัน เป็น 3 วัน

Parichart Thumnaratip 2007: Development of Antimicrobial Coating and Film for Extending Shelf Life of Food Products. Master Degree of Science (Agro-Industrial Product Development, Major Field: Agro-Industrial Product Development, Department of Product Development. Thesis Advisor: Associate Professor Kamolwan Jangchud, Ph.D. 233 pages.

Microorganisms are one of the most important factors causing food deterioration. Therefore, antimicrobial coating is significant for shelf life extension of food. The objective of this study was to study the effect of natural antimicrobial agents incorporated with edible coating or film on shelf life of tomatoes, bread and Kha-nom Thong Yod (a traditional Thai dessert). The inhibition activities of antimicrobial agents (10,000 IU/ml nisin, extract of lactic acid bacteria (PD119), 1,000 ppm eugenol and 1,000 ppm thymol) were determined using the disc agar diffusion method. The results showed that 10,000 IU/ml nisin had the highest inhibition efficiency to total plate counts and MRS plate counts, while 1,000 ppm eugenol and 1,000 ppm thymol inhibited some total plate counts, yeasts and molds. PD119 had the lowest inhibition efficiency when compared to the other antimicrobial agents. The efficiency of combined antimicrobial compounds was studied using the 2×2 factorial in a completely randomized design: two levels of nisin concentration (1,000 and 10,000 IU/ml), and two levels of eugenol or thymol concentration (500 and 1,000 ppm). The antimicrobial activity of combine compounds was determined using the disc agar diffusion method. The results revealed that 10,000 IU/ml nisin and 1,000 ppm eugenol had the highest capacity to inhibit microorganisms of tomato and bread, while 10,000 IU/ml nisin, 1,000 ppm thymol and 500 ppm eugenol had the highest activity to inhibit microorganisms of Kha-nom Thong Yod. For the study of tomato shelf life, tomatoes were prepared by coating with antimicrobial agents incorporated with 1.5% (w/v) chitosan solution stored at 25±2°C and 65±5%RH. The optimum antimicrobial agents used for tomato coating were 10,000 IU/g film nisin and 15,000 ppm eugenol. The shelf life of tomatoes with this antimicrobial coating was 21 days whereas non-coated tomatoes only had a shelf life of 14 days. Bread, wrapped with antimicrobial agents incorporated with 1.5% chitosan film, was stored at 25±2°C and 55±5%RH for the shelf life study. The optimum antimicrobial agents incorporated with edible film for bread were 10,000 IU/g film nisin and 10,000 ppm eugenol, which had a shelf life of 6 days, while that of non-coated bread was only 3 days. Finally, Kha-nom Thong Yod had antimicrobial agents incorporated with 1.5% chitosan film laid between its layers, stored at 30±2°C and 65±5%RH. The antimicrobial film that combined 10,000 IU/g film nisin, 1,000 ppm thymol and 500 ppm eugenol extended Kha-nom Thong Yod shelf life from 2 to 3 days.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. กมลวรรณ แจ่มชัด ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. อนุวัตร แจ่มชัด กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รศ.ดร. สุณีย์ นิธิสินประเสริฐ กรรมการที่ปรึกษา วิชาการ และ ดร. ประมุข กระจกสุขสถิตย์ กรรมการผู้แทนบัณฑิต ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์และลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ผศ.ดร. สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์ ที่ช่วยดูแลและให้คำแนะนำในขั้นต้นของวิทยานิพนธ์นี้ เจ้าหน้าที่ทุกๆ ท่านที่ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ตลอดจนการทำวิทยานิพนธ์นี้ ตลอดจนพี่ๆ น้องๆ และเพื่อน ใจ์ ปา บี และทุกๆ คนที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ พี่แก่ง และญาติๆ ทุกคนที่ให้การสนับสนุน เป็นกำลังใจ และช่วยเหลือมาโดยตลอด ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์

เมษายน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	39
อุปกรณ์	39
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	62
สรุป	138
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	141
ภาคผนวก	159
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร	160
ภาคผนวก ข ตารางผลการทดลอง	163
ภาคผนวก ค การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาความเข้มข้นของ สารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบ	205
ภาคผนวก ง แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	215
ภาคผนวก จ ภาพประกอบ	225

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เชื้อราที่พบในขนมปังและลักษณะการเจริญของเชื้อรา	15
2	ประเภทของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์	26
3	สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะเชื้อเทศระหว่างการเก็บรักษา	52
4	สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของขนมปังระหว่างการเก็บรักษา	56
5	สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษา	58
6	จำนวนไอโซเลท (ไอโซเลชัน) ในมะเชื้อเทศ ขนมปัง และขนมทองหยอด	65
7	การเจริญเติบโตของไอโซเลทกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA	71
8	การเจริญเติบโตของไอโซเลทกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS	73
9	การเจริญเติบโตของไอโซเลทยีสต์	75
10	กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากมะเชื้อเทศ	77
11	กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากขนมปัง	78
12	กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากทองหยอด	79
13	คะแนนความชอบต่อตัวอย่างมะเชื้อเทศ	98
14	การประเมินอายุการเก็บรักษาของมะเชื้อเทศจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส	104
15	คะแนนความชอบต่อตัวอย่างขนมปัง	112
16	การประเมินอายุการเก็บรักษาของขนมปังจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส	118
17	คะแนนความชอบต่อขนมทองหยอด	131
18	การประเมินอายุการเก็บรักษาของขนมทองหยอดจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส	136

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข1	ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในตัวอย่างอาหาร	164
ข2	ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากมะเขือเทศของไนซิน ไทมอล ยูจีนอล และสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก	165
ข3	ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากขนมปังของไนซิน ไทมอล ยูจีนอล และสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก	168
ข4	ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากขนมทองหยอดของไนซิน ไทมอล ยูจีนอล และสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก	172
ข5	ร้อยละของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งบางส่วนและถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วยสารยับยั้งจุลินทรีย์	178
ข6	การเสื่อมเสียของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา	179
ข7	การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	179
ข8	ค่าความสว่าง (L^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	180
ข9	ค่าสีแดง (a^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	180
ข10	ค่าสีเหลือง (b^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	181
ข11	ค่าอัตราส่วน a^*/b^* ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	181
ข12	ค่ามุมของสี (hue angle) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	182
ข13	ค่าความเข้มสี (chroma) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	182
ข14	ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	183
ข15	ค่า pH ของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	183
ข16	ปริมาณกรดจากการไทเทรตของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,	184
ข17	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	184
ข18	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	185

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข19	จำนวนยีสต์ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	185
ข20	จำนวนเชื้อราในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	186
ข21	คะแนนความเข้มสีแดงโดยรวมของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	186
ข22	คะแนนความเข้มความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	187
ข23	คะแนนความเข้มความเขียวของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	187
ข24	คะแนนการยอมรับของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	188
ข25	ค่าความแข็งของขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	189
ข26	ค่าการเกาะรวมตัวของขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	189
ข27	ค่าการคืนตัวของขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	190
ข28	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมปึงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	190
ข29	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมปึงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	191
ข30	จำนวนยีสต์ในขนมปึงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	191
ข31	จำนวนเชื้อราในขนมปึงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	192
ข32	คะแนนความเข้มความชุ่มชื้นเนื้อด้านในขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	192
ข33	คะแนนความเข้มความนุ่มของขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	193
ข34	คะแนนความเข้มกลิ่นหอมขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	193

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข35 คะแนนความเข้มข้นกลิ่นหมักของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C	194
ข36 คะแนนการยอมรับขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C	195
ข37 ค่าความสว่าง (L*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	196
ข38 ค่าสีแดง (a*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	196
ข39 ค่าสีเหลือง (b*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	197
ข40 ค่ามุมของสี (hue angle) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	197
ข41 ค่าความเข้มสี (chroma) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	198
ข42 ค่าความแข็งของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	198
ข43 ค่าการเกาะรวมตัวของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	199
ข44 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 30±2°C	199
ข45 ค่า pH ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	200
ข46 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมทองหยอด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	200
ข47 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมทองหยอด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	201
ข48 จำนวนยีสต์ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	201
ข49 คะแนนความเข้มสีเหลืองของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C	202

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข50 คะแนนความเข้มข้นกลิ่นหมักของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	202
ข51 คะแนนความเข้มความเงาของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	203
ข52 คะแนนการยอมรับของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	204
ค1 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศชั้นต้น	209
ค2 ร้อยละการเสื่อมเสียของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	210
ค3 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนมปังชั้นต้น	211
ค4 ร้อยละการเสื่อมเสียของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	212
ค5 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนมทองหยอดชั้นต้น	213
ค6 ลักษณะทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	214
ง1 ตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ	219
ง2 ตัวอย่างอ้างอิงของขนมปังที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ	220
ง3 ตัวอย่างอ้างอิงของขนมทองหยอดที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ	221

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไปกับบรรจุภัณฑ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	18
2	ระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์	20
3	การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในระบบบรรจุภัณฑ์	23
4	โครงสร้างโคโตเซน	28
5	การกลไกการทำงานของแบคทีเรียโอซินต่อเซลล์แบคทีเรียตรงตำแหน่งเชื่อมต่อหุ้มเซลล์	31
6	โครงสร้างของไนซิน Z	33
7	ผลของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์แบคทีเรีย	35
8	โครงสร้างไทมอล	36
9	โครงสร้างยูจินอล	38
10	วิธีการ disc agar diffusion	46
11	การเตรียมตัวอย่างขนมปัง	56
12	การเตรียมตัวอย่างขนมทองหยอด	59
13	ตัวอย่างอาหารภายในภาชนะบรรจุ	62
14	จำนวนจุลินทรีย์ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 10 วัน	63
15	จำนวนจุลินทรีย์ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	64
16	จำนวนจุลินทรีย์ในขนมทองหยอดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	64
17	จำนวนไอโซเลทจากมะเขือเทศที่ถูกยับยั้ง	67
18	จำนวนไอโซเลทจากขนมปังที่ถูกยับยั้ง	67
19	จำนวนไอโซเลทจากทองหยอดถูกยับยั้ง	68
20	การเสื่อมเสียของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	82
21	การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ค่าความสว่าง (L^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	86
23	ค่าสีแดง (a^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	87
24	ค่าสีเหลือง (b^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	87
25	ค่าอัตราส่วน a^*/b^* ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	88
26	ค่ามุมของสี (hue angle) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	88
27	ค่าความเข้มสี (chroma) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	89
28	ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	91
29	ค่า pH ของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	93
30	ปริมาณกรดจากการไทเทรตของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	94
31	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	95
32	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	96
33	จำนวนยีสต์ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	96
34	จำนวนเชื้อราในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	97
35	คะแนนความเข้มสีแดงโดยรวมของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	100
36	คะแนนความเข้มความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	101
37	คะแนนความเข้มความเหี่ยวของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	102
38	คะแนนการยอมรับของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	103
39	ค่าความแข็งของขนมปึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	106

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
40	ค่าการเกาะรวมตัวของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	107
41	ค่าการคืนตัวของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	107
42	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	109
43	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	110
44	จำนวนยีสต์ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	110
45	จำนวนเชื้อราในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	111
46	คะแนนความแข็งความชุ่มชื้นของเนื้อด้านในขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	113
47	คะแนนความแข็งความนุ่มของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	114
48	คะแนนความแข็งกลิ่นหอมขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	115
49	คะแนนความแข็งกลิ่นหมักของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	116
50	คะแนนการยอมรับขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	117
51	ค่า L^* ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	121
52	ค่า a^* ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	122
53	ค่า b^* ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	122
54	ค่า hue angle ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	123
55	ค่า chroma ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	123
56	ค่าความแข็งของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	125
57	ค่าการเกาะรวมตัวของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	125

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
58	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	127
59	ค่า pH ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	127
60	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	129
61	จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	130
62	จำนวนยีสต์ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	130
63	คะแนนความชื้นสีเหลืองของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	132
64	คะแนนความชื้นกลิ่นหมักของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	133
65	คะแนนความชื้นความแข็งของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	134
66	คะแนนการยอมรับของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	135
ภาพผนวกที่		
ค1	การเตรียมสารเคลือบและฟิล์ม	207
จ1	ระดับความสุกของมะเขือเทศตามมาตรฐาน USDA	226
จ2	ตัวอย่างอ้างอิงสำหรับทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณ	227
จ3	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์จากมะเขือเทศของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 1,000 ppm	228

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ผนวก		หน้า
จ4	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์จากขนมปังของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 1,000 ppm	229
จ5	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์จากขนมทอหอยคของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 1,000 ppm	230
จ6	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์จากมะเขือเทศของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจินอล 1,000 ppm	231
จ7	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ขนมปังของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจินอล 1,000 ppm	232
จ8	กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ขนมทอหอยคของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร และไทมอล 1,000 ppm หรือยูจินอล 500 ppm	233

การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

Development of Antimicrobial Coating and Film for Extending Shelf Life of Food Products

คำนำ

เมื่อการเน่าเสียของอาหารเกิดขึ้น อาหารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ความแข็ง ความแน่นเนื้อ สูญเสียน้ำหนักจากการถ่ายเทความชื้น และสี เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรด ปริมาณน้ำตาล ค่ากรดไขมันอิสระ วิตามิน และ สารอาหาร เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เกินมาตรฐานกำหนด และสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นที่เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ก่อให้เกิดโรค และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี ความแข็ง กลิ่น และกลิ่นรส เป็นต้น

การเน่าเสียของอาหารมีผลต่อความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร การเสียของอาหาร เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีผลมาจากองค์ประกอบและสมบัติทางเคมีของอาหารเป็นตัวคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญในอาหารนั้น เมื่อจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากับอาหาร อาหารจะเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์และมีการนำสารอาหารไปใช้ ทำให้อาหารมีกลิ่นรสและคุณลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจนไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังอาจเป็นเชื้อก่อโรคหรือสร้างสารพิษซึ่งจะนำไปสู่ปัญหาทางด้านสาธารณสุข เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค อาจเกิดโรคต่างๆ ได้ และยังส่งผลเสียต่อคุณค่าทางเศรษฐกิจอีกด้วย

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบบางชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เช่น ไนซิน และ สารประกอบฟีนอลิก โดยมีหลายงานวิจัยที่แนะนำไนซินเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น เนื้อสัตว์ ชีส อาหารกระป๋อง เครื่องดื่มประเภทนม น้ำผลไม้ และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เป็นต้น สำหรับสารประกอบฟีนอลิกพบเพียงงานวิจัยที่ทดสอบประสิทธิภาพของสารในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ยังไม่ค่อยมีการนำมาใช้ในอาหาร สำหรับการนำสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปใช้ร่วมกับสารเคลือบหรือฟิล์ม

ที่สามารถบริโภคได้ เช่น ไคโตแซน โซเดียม-อัลจินเต คาราจีแนน เป็นต้น มีข้อดีที่ฟิล์มและสารเคลือบช่วยควบคุมการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น ควบคุมการถ่ายเทความชื้น การแลกเปลี่ยนแก๊ส และกระบวนการสุกของผักและผลไม้ ในขณะที่สารยับยั้งจุลินทรีย์ช่วยในการควบคุมและยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร นอกจากนี้การใช้สารเคลือบหรือฟิล์มร่วมกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ยังสามารถเพิ่มอายุการเก็บของอาหารได้นานยิ่งขึ้นกว่าการใช้สารเคลือบหรือฟิล์ม หรือสารยับยั้งจุลินทรีย์อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียว เพราะสารเคลือบหรือฟิล์มช่วยควบคุมการแพร่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปสู่ผิวของอาหาร เพื่อให้คงความเข้มข้นอยู่ในระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้ได้นานขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่เป็นสาเหตุในการเสื่อมเสียของมะเขือเทศ ขนมนมปิ้ง และขนมทองหยอด
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้มะเขือเทศ ขนมนมปิ้ง และขนมทองหยอดเน่าเสีย
3. พัฒนาสารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติและศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของมะเขือเทศ ขนมนมปิ้ง และขนมทองหยอดเมื่อใช้สารเคลือบหรือฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การตรวจเอกสาร

1. คุณภาพของอาหารและการเสื่อมเสีย

ผลิตภัณฑ์อาหารประกอบด้วยวัตถุดิบที่เป็นสิ่งชีวภาพ จึงเสื่อมเสียได้ ซึ่งการเสียของอาหาร คือการที่อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะไม่เป็นที่ต้องการ (Singh and Anderson, 2004) มีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ แมลงและสัตว์กัดแทะ การทำงานของเอนไซม์ในพืชและสัตว์ ปฏิกิริยาเคมี และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (สุมาลี, 2541) การเสื่อมเสียของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ 3 ลักษณะ คือคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ดังนี้

1.1 คุณภาพทางกายภาพ เป็นสาเหตุแรกของการเสียของอาหาร โดยเฉพาะการถ่ายเทความชื้นจากอาหารสู่บรรยากาศ หรือจากบรรยากาศสู่อาหาร เช่น การสูญเสียน้ำของผลไม้ ทำให้เกิดผลไม้เหี่ยว การดูดซับความชื้นจากอากาศของคุกกี้ทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม การไหม้ด้านของอาหารจากการแช่แข็ง (freezer burn) ของอาหารแช่แข็ง การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพอื่น เช่น การแยกชั้นของมายองเนส มายองเนส และน้ำสลัด และการชำรุดของผลไม้ซึ่งนอกจากเป็นตำหนิทำให้ผลไม้มีคุณภาพต่ำลงแล้วยังทำให้จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนเข้ามาเจริญเติบโตได้ง่าย (Kilcast and Subramaniam, 2000; Singh and Anderson, 2004)

1.2 คุณภาพทางเคมี เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาหรือการสลายตัวของสารประกอบทางเคมีในอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น a_w อุณหภูมิ อุณหภูมิ glass transition (T_g) ค่า pH และการได้รับแสงและออกซิเจน แต่ละปฏิกิริยามีสถานะที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาแตกต่างกัน เช่น เอนไซม์จะทำงานได้ดีที่ a_w ประมาณ 0.40-0.80 โดยเฉพาะมีความชื้นที่ monolayer ต่ำ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมียังเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส กลิ่น เนื้อสัมผัสของอาหาร ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดสีน้ำตาล การเกิดเจลลิตินในเซชัน (gelatinization) และรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ของอาหารที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ ทำให้เกิดสีน้ำตาลในอาหารและยังทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง โดยเฉพาะการสูญเสียกรดอะมิโนไลซีน โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น a_w ที่ปฏิกิริยาเกิดได้ดีที่สุดคือ 0.6-0.8 และ pH ที่เกิดปฏิกิริยาได้ดีคือที่

pH สูง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นต้น (Singh and Anderson, 2004)

1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ จุลินทรีย์เป็นสาเหตุหลักในการเสียของอาหารประเภทที่เสื่อมเสียได้ง่าย (perishable food) เช่น ผักและผลไม้สด เนื้อสัตว์ต่างๆ ผลิตภัณฑ์นม นม และน้ำผลไม้ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ป้องกันได้โดยการควบคุมจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่จะปนเปื้อนในอาหาร อุณหภูมิการเก็บรักษาอาหาร การลด a_w ค่า pH การใช้สารถนอมอาหาร และการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม จึงต้องเข้าใจปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยภายในตัวของอาหาร เช่น a_w ความชื้น pH และความเป็นกรด สารอาหาร โครงสร้างทางชีววิทยา ค่ารีดอกซ์ โพเทนเชียล (redox potential) สารยับยั้งจุลินทรีย์ธรรมชาติในอาหารหรือที่เติมเข้าไปในอาหาร และการแข่งขันของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโต เป็นต้น และปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิที่เก็บอาหาร ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณแก๊สออกซิเจน เป็นต้น (Anonymous, 2003; Singh and Anderson, 2004)

จุลินทรีย์ทำให้อาหารเน่าเสียภายหลังการเติบโตในอาหาร โดยในระหว่างการเติบโตจุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายอาหาร ซึ่งอาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular enzymes) หรืออาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วเก็บภายในเซลล์ (intracellular enzymes) โดยจะปล่อยออกนอกเซลล์เมื่อเซลล์แตก (cell lysis) ผลจากการย่อยสลายอาหาร ทำให้จุลินทรีย์เติบโตเพิ่มจำนวนในอาหารพร้อมๆ กับการปลดปล่อยสารบางชนิดออกมา ซึ่งสารที่ขับออกมาบางชนิดก่อให้เกิดโทษ (บุญกร, 2547)

อาหารมีสารประกอบอินทรีย์หลายอย่างประกอบอยู่ และมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์เหล่านี้ได้ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหาร เช่น การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่มีไนโตรเจน เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ ไขมัน สารพวกเพกติน สารประกอบอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์ ในโตรเจนในอาหารมักจะอยู่ในรูปของโปรตีน ซึ่งจะถูเอนไซม์จากจุลินทรีย์หรือจากอาหารเองย่อยสลายเป็นโพลีเปปไทด์ เปปไทด์หน่วยย่อย และกรดอะมิโนเสียก่อน จุลินทรีย์จึงจะใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ การสลายตัวของโปรตีนนอกจากเป็นกรดอะมิโนเพียงอย่างเดียว ยังให้สารอื่นๆ ออกมาด้วย เช่น การสลายตัวของโปรตีนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จะให้เปปไทด์ กรดอะมิโนพร้อมสารที่มีกลิ่นเน่า (putrid) ด้วย เรียกว่า พิวทรีแฟกชัน (putrefaction) เป็นต้น จุลินทรีย์มักจะย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งพลังงาน โพลีแซคคาไรด์จะถูกย่อยให้เป็นน้ำตาล

ก่อน จึงจะสามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้ ในสภาพที่มีออกซิเจนพวกโมโนแซคคาไรด์ เช่น กลูโคสจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ และในสภาพไม่มีออกซิเจนการย่อยสลายกลูโคสจะได้เป็นแอลกอฮอล์ กรดแล็กติก กรดอะซิติก เป็นต้น ไขมันจะสลายตัวไปเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันเนื่องจากเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ หรือจุลินทรีย์ทำให้ไขมันเกิดการออกซิเดชัน (autooxidation) และการสลายตัวของสารพวกเพคติน โปรโตเพคติน (สุมาลี, 2541)

2. ผักและผลไม้และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย

ปัจจุบันผักและผลไม้สดเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค โดยเฉพาะผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยสุด (minimally processed fruit and vegetable; MPF) หรือผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการทำให้พร้อมต่อการบริโภค นอกจากสามารถรับประทานได้ทันทีหรือมีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยากแล้ว การรับประทานผักและผลไม้สดยังทำให้เราได้รับวิตามิน เกลือแร่และสารอาหารต่างๆ ที่สำคัญต่อสุขภาพอย่างครบถ้วน อย่างไรก็ตามพืชผักและผลไม้อาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ทุกขั้นตอน นับตั้งแต่เมล็ดพันธุ์ ต้นพืชที่อยู่ในแปลงเพาะ และในสวน หรือไร่นา ในขณะที่เก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยว จนถึงในขั้นแปรรูปหรือเตรียมเป็นอาหาร เนื่องจากสิ่งแวดล้อมของแหล่งเพาะปลูก สุขอนามัยของกระบวนการผลิต การขนส่งและเคลื่อนย้ายที่ไม่เหมาะสม ยิ่งเพิ่มความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อมากับอาหาร อาหารประเภทนี้จึงจำเป็นต้องมีการจัดการที่ดีในลักษณะที่ป้องกันมิให้เกิดอันตรายขึ้นในอาหาร (วิลาวัณย์, 2537; สุมณฑา, 2545) จุลินทรีย์ที่พบในผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยสุดสามารถแบ่งเป็นประเภทได้ ดังนี้

2.1 แบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นสาเหตุการเน่าเสียของผักมากกว่าจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น เพราะนอกจากผักจะมีน้ำและค่า pH ที่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียแล้ว แบคทีเรียยังสร้างเอนไซม์เพคตินเอสที่ย่อยเพคตินโดยการทำปฏิกิริยาไฮโดรเลส เมื่อผนังเซลล์ของพืชถูกทำลายลง แบคทีเรียจำพวกที่ไม่สร้างเอนไซม์เพคตินเนสก็สามารถเข้าทำลายภายในเซลล์ของพืชได้ และจะใช้สารคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กก่อน ทำให้เกิดการหมักขึ้น ในพืชยังมีสารประกอบไนโตรเจน เกลือแร่ และวิตามินต่างๆ เพียงพอที่จะเอื้อให้แบคทีเรียเจริญอย่างรวดเร็วและทำให้ผักเน่าเสีย (สุมณฑา, 2545) ภายในดินนอกจากเชื้อราแล้วยังมีแบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดโรค สามารถปนเปื้อนมากับพืช เช่น *C. botulinum* หรือจุลินทรีย์อาจปนเปื้อนไปกับปุ๋ยอินทรีย์ น้ำ และวัสดุธรรมชาติที่ใช้ใน

การเพาะปลูก หรือบำรุงรักษาดิน และบ่อยครั้งมีเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Salmonellae Shigellae*, *E. coli* O157 : H7, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* และ *Clostridium* spp. คิดมากับวัตถุดิบทางการเกษตร เนื่องจากน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูกมีการปนเปื้อนของสิ่งปนเปื้อน ทำให้เชื้อจุลินทรีย์แพร่กระจายในอาหาร โดยการปนเปื้อนข้าม จนเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษขึ้น จากรายงานของ Nguyen – the and Carlin (1994) กล่าวว่า *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนอยู่ในดินที่เก็บจากแปลงเพาะปลูกสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้หลายเดือน *Salmonella* อยู่รอดในดินได้มากกว่า 200 วัน และ *E. coli* อยู่รอดบนผักสลัดแก้ว (lettuce) ที่อยู่ในแปลงที่ให้น้ำสกปรกได้นานถึง 21 วัน แบคทีเรียที่พบในผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยสุด ได้แก่

2.1.1 แบคทีเรียมีโซฟิลิก (mesophilic bacteria) เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-45 องศาเซลเซียส (Hart, 1998) ประมาณร้อยละ 80-90 ของแบคทีเรียมีโซฟิลิกเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. และ *Enterobacter* spp. หรือ *Erwinia* spp. (Nguyen-the and Carlin, 1994) โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยเพคติน เช่น *Erwinia carotovora* คิดมากับพืชหลังการเก็บเกี่ยว อาศัยน้ำเลี้ยงในเซลล์ของพืชเป็นอาหาร เป็นตัวการทำให้เกิดโรคเน่าและ (soft-rot) มากที่สุด เพราะผักมีค่า pH ค่า a_w และความต่างศักย์เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียที่ให้เอนไซม์เพคตินส ผักจึงเน่าเสียจากโรคเน่าและที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียได้มากกว่าจากยีสต์และรา แบคทีเรียชนิดนี้จะย่อยสลายเพคติน ซึ่งเป็นสารเชื่อมระหว่างผนังเซลล์ของพืชโครงสร้างของผัก เมื่อถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพคตินส มีผลต่อการสูญเสียความแข็งแรงของโครงสร้างผนังเซลล์ทำให้ผักนิ่ม ซ้ำและเกิดอาการเน่าและขึ้น บางครั้งมีกลิ่นเหม็นและมีน้ำไหลเยิ้มด้วย เกิดกับผักหลายชนิด โดยเฉพาะผักกินใบและยอดอ่อน เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ต้นหอม ผักสลัด กะหล่ำปลี ถั่วงอก แตงกวา พริก เป็นต้น สำหรับพืชที่กินหัวมีสารป้องกันตามธรรมชาติ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และซูเปอร์ออกไซด์ แบคทีเรียจะสร้างเอนไซม์อะทาลเลส และซูเปอร์ออกไซด์ ไดมิวเทสจึงจะทำลายพืชพวกนี้ได้ แต่แบคทีเรียในกลุ่ม *P. syringae* และพวกเออร์วินีเยสามารถสร้างเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้เสีย (สุนทนา, 2545)

2.1.2 แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์และเอนไซม์อะทาลเลส (catalase enzyme) มีรูปร่างกลมหรือท่อน (Axelsson, 1993) ลักษณะที่สำคัญคือ ความสามารถในการสลายน้ำตาลไปเป็นกรดแลกติก โดยถ้าได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลกติกอย่างเดียวหรือร้อยละ 95 จะเป็นกระบวนการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเทชัน (homofermentation) แต่หากได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลกติกร้อยละ 50 และมีสารประกอบอื่นด้วย เช่น เอซิลแอลกอฮอล์

คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติกจะเป็นกระบวนการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเทชัน (heterofermentation) (Axelsson, 1998) ได้แก่ *Leuconostoc* spp. โดยเฉพาะ *L. mesenteroides* พบมากในการเน่าเสียของแครอท เนื่องจากกระบวนการหมัก (Nguyen-the and Carlin, 1994) ทำให้แครอทสูญเสียคุณภาพเนื้อสัมผัส นอกจากนี้เชื้อ *L. mesenteroides* ยังสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าร้อยละ 25 (Carlin et al., 1990)

2.1.3 โคลิฟอร์ม เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ และเป็นแบคทีเรียกลุ่ม facultative anaerobic สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้กรดและแก๊ส แบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* และ *Citrobacter* (อุษามาต, 2547; บุญกร, 2547) ปกติโคลิฟอร์มจะอาศัยในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นจึงตรวจพบมากในอุจจาระ แต่มีแบคทีเรียในกลุ่มนี้บางตัวอาศัยตามสิ่งแวดล้อม เช่น *Enterobacter* และ *Klebsiella* อาศัยตามพื้นดิน ดังนั้นการตรวจพบโคลิฟอร์มในอาหารจึงสรุปว่าอาหารนั้นปนเปื้อนอุจจาระไม่ได้ แต่ถือว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะความสะอาด (food sanitation index) โคลิฟอร์มมักพบในผักหลายชนิด อย่างไรก็ตามโคลิฟอร์มสามารถลดลงได้ถ้าล้างผักด้วยน้ำสะอาดก่อนนำมาบริโภค (Nguyen-the and Carlin, 1994)

2.2 ยีสต์และรา

2.2.1 ยีสต์เป็นสาเหตุในการเน่าเสียเนื่องจากการหมัก โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในผักและผลไม้เปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ เมื่อเกิดการหมักจะมีคาร์บอนไดออกไซด์ เอทานอล ซึ่งการเพิ่มขึ้นเป็นปริมาณมากของคาร์บอนไดออกไซด์เป็นเหตุผลของการเน่าเสีย การเน่าเสียเนื่องจากยีสต์พบไม่มากนัก โดยอาจทำให้เน่าที่ขั้ว ทำให้ขั้วหลุด (วิลาวัณย์, 2537) ยีสต์มักเจริญอยู่มากในอาหารประเภทสลัดเพราะกระบวนการเตรียมที่มีการสัมผัสกับผู้เตรียม อีกทั้งการตัดหรือหั่นทำให้เซลล์ถูกทำลาย ยีสต์จึงสามารถเข้าไปได้ง่ายขึ้น นอกจากผักประเภทสลัดแล้วผักทั้งผลก็มียีสต์ปนเปื้อน เช่น ผักสลัดแก้ว (lettuce) หัวผักกาดแดง (redish) และผักขม (spinach) เชื้อยีสต์ที่มักพบ ได้แก่ *Candida* spp. เช่น *C. lambica* และ *C. sake*, *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Pichia* spp. และ *Torulaspora* spp. เป็นต้น (Tournas, 2005)

2.2.2 เชื้อรา การเน่าเสียของผักเนื่องจากเชื้อราเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวได้แก่ *Sclerotinia*, *Mucor*, *Aspergillus* *Cladosporium* เช่น *Cladosporium herbarum*, *Alternaria*, *Penicillium* spp., *Geotrichum*, *Phoma* และ *Rhizopus* เชื้อราบางชนิดมีพิษเป็นอันตรายต่อมนุษย์ เช่น *Fusarium*, *Alternaria* และ *Phoma* (สุมนฑา, 2545; Tournas, 2005) เชื้อราที่ทำให้ผักเน่าเสียเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว สามารถแบ่งได้ดังนี้ (วิลาวัณย์, 2537; สุมนฑา, 2545)

- ก. การเน่าเสียจากราสีเทา (gray mold rot) เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* สร้างเส้นใยสีเทา สภาวะที่มีความชื้นและอุณหภูมิสูง เป็นสภาวะที่เชื้อราเจริญได้ดี
- ข. การเน่าเสียจากราสีน้ำเงิน (blue mold rot) เชื้อสาเหตุคือราพวก *Penicillium* เช่น *P. degitatum* ราพวกนี้สร้างสปอร์สีน้ำเงินแกมเขียว ผักผลไม้ที่เสียลักษณะนี้ได้แก่ องุ่น มะนาว ส้ม แอปเปิ้ล เป็นต้น
- ค. การเน่าเสียจากราสีดำ (black mold rot) เกิดจากรา *Aspergillus niger* ซึ่งสร้างสปอร์สีดำ
- ง. การเน่าเสียจากราสีเขียว (green mold rot) เกิดจากรา *Cladosporium* เช่น *C. herbarum* ซึ่งสร้างสปอร์สีเขียว หรืออาจเกิดจากเชื้อ *Trichoderma*
- จ. การเน่าเสียจากราสีชมพู (pink mold rot) เกิดจากรา *Trichothecium roseum* ซึ่งสร้างสปอร์สีชมพู
- ฉ. การเน่าและ (sour rot; oospora rot, watery soft rot) เกิดจากเชื้อรา *Geotrichum candidum* และจุลินทรีย์อื่นๆ เชื้อรานี้แพร่กระจายในดินและซากพืชที่เน่าเปื่อย
- ช. *Drosophila melanogaster* (แมลงวันผลไม้) เป็นตัวการนำสปอร์และส่วนเส้นใยของเชื้อราจากพืชที่เป็นโรคหรือซากพืชแพร่ไปยังผลไม้
- ซ. การเน่าเสียจาก *Rhizopus* (rhizopus soft rot) เกิดจากเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และสปิชีอื่นที่ทำให้ผักเน่าและ แมลงวันทองเป็นตัวการแพร่เชื้อรานี้ไปยังผลไม้อื่นๆ ราพวกนี้มักเข้าสู่พืชทางบาดแผลที่เกิดจากการเก็บเกี่ยว ระหว่างขนส่งหรือจากการบรรจุ ราชนิดนี้สามารถสร้างเอนไซม์เพคตินเอสซอยสลายเพคติน ทำให้เกิดการเน่าและ ต่อมาจุลินทรีย์อื่นเติบโตทำให้เกิดกลิ่นเหม็น ขณะเดียวกันราพวกนี้เติบโตสร้างสปอร์สีดำปกคลุมบริเวณนั้น ผักผลไม้ที่เกิดการเน่าเสียลักษณะนี้ได้แก่ กะหล่ำปลี ถั่ว แตงกวา แตงโม มะเขือเทศ องุ่น เป็นต้น

ฉ. การเน่าเสียจาก *Phytophthora* (phytophthora rot) ซึ่งสร้างเส้นใยสีขาว เติบโตเป็นปุยฟู ผลไม้ที่เน่าเสียแบบนี้ได้แก่ หอม กระเทียม มะเขือเทศ มะเขือยาว แตงโม ส้ม มะนาว แอปเปิ้ล เป็นต้น

ญ. การเน่าเสียแบบแอนแทรคโนส (anthraenose) เกิดจากรา *Colletotrichum* เช่น *C. lindemuthianum*, *C. coccodes* และชนิดอื่นๆ โดยจะเกิดเป็นจุดตามใบ และผล มีสีดำ เกิดอาการเน่าแห้ง

ฎ. การเน่าเสียจาก *Alternaria* (alternaria rot) เกิดจากเชื้อ *Alternaria tenuis* และชนิดอื่นๆ บริเวณที่เน่าเสียจะมีสีน้ำตาลเขียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ

3. มะเขือเทศและจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย

มะเขือเทศ มีชื่อสามัญว่า Tomato มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. อยู่ในตระกูลโซลานาซีอี (Solanaceae) พืชทั้งหมดในตระกูลนี้มีประมาณ 2,000 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่ม (Order) Polemoniales (เกียรติเกษตร, 2541) มะเขือเทศเป็นพืชชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก และเป็นผักที่นิยมบริโภคกันทั่วโลก เพราะมะเขือเทศประกอบด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเช่น ฟอเรท (forate) โฟเตสเซียม วิตามินอี วิตามินซี โปรวิตามินเอ เบต้า-แคโรทีน และฟลาโวนอยด์ (Gahler *et al.*, 2003) ประเทศไทยมีศักยภาพในการขยายการผลิตมะเขือเทศ ทั้งในรูปผลผลิตสดและผลิตภัณฑ์ ทั้งยังขยายตัวได้อีกมากเพื่อที่จะก้าวขึ้นเป็นประเทศส่งออกมะเขือเทศรายสำคัญประเทศหนึ่ง (บางเจน 1074, 2546)

การสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวของมะเขือเทศในประเทศเขตร้อนมีประมาณร้อยละ 5 – 50 ซึ่งมีมากกว่าการสูญเสียที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิต ปัจจัยที่ทำให้มะเขือเทศเสียหายหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากเกิดจากการปฏิบัติก่อนการเก็บเกี่ยว เช่น การเลือกใช้พันธุ์ไม่เหมาะสม ผลผลิตมีโรคและแมลง การให้น้ำและปุ๋ยไม่ถูกต้อง และผลผลิตมีคุณภาพต่ำ แล้วยังเกิดจากการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การเก็บผลอ่อนหรือแก่เกินไป การบรรจุในภาชนะที่ไม่เหมาะสม การกระทำด้วยความไม่ระมัดระวัง การขนส่งหรือการขนย้ายที่รุนแรง การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิและความชื้นสูงหรือต่ำเกินไป และระบบการตลาดที่ไม่มีประสิทธิภาพ (สมภพ, 2530) โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้ผลมะเขือเทศเกิดโรคที่นำไปสู่การเน่าเสียหรือเป็นพิษ (สิดิย์, 2531) มีดังนี้

3.1 การเน่าเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย

3.1.1 เชื้อ *Phytophthora infestans* เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ (late blight หรือ phytophthora blight) ซึ่งเมื่อเกิดขึ้นกับผลมะเขือเทศจะทำให้เกิดแผลสีเทาปนดำที่ผลและจะขยายไปทั่ว ต่อจากนั้นแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ผิวของแผลขรุขระ และเกิดการเน่าภายใน 1 อาทิตย์

3.1.2 เชื้อ *Xanthomonas viscatoria* เป็นสาเหตุของโรคแผลจุด (bacterial spot) อาการของผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะปรากฏจุดสีดำนูนหรือบางครั้งพบรอยช้ำอยู่รอบๆ แผล เมื่อแผลขยายใหญ่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ แผลมีความขรุขระเนื่องจากผิวของแผลเกิดการแตกและม้วนตัว เรียกว่า แผลสะเก็ด (scab) ขนาดของแผลประมาณเส้นผ่านศูนย์กลาง 1/8 นิ้ว

3.1.3 เชื้อ *Pseudomonas tomato* เป็นสาเหตุของโรคแผลจุดเล็ก (bacterial speck) ทำให้เกิดแผลที่มีลักษณะเป็นจุดเล็กๆ ในบางครั้งอาจนูนขึ้นเล็กน้อย และรอบๆ แผลจะมีสีซีดหรือสีขาว ทำให้เกิดแถบสีขาวบนผล

3.1.4 เชื้อ *Corynebacterium michiganense* เป็นสาเหตุของโรคแผลจุด (bacterial canker) แผลที่เกิดขึ้นมีลักษณะกลม นูนขึ้นเล็กน้อย รอบแผลมีวงแหวนสีขาวและมีจุดสีแดงตรงกลางแผล

3.1.5 เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เป็นสาเหตุให้อาหารเป็นพิษยังพบปนเปื้อนทั้งบนผิวและเนื้อในของผลมะเขือเทศจำนวน 4.6–5.63 CFU/cm² และ 5.9–7.00 CFU/g ตามลำดับ (Zhuang et al, 1996)

3.2 การเน่าเสียที่เกิดจากยีสต์และรา

เชื้อ *Sclerotium rolfsii* Sacc. เป็นสาเหตุของโรคโคนเน่าหรือโรคราเมล็ดฝักกด (sclerotium rot) นอกจากเกิดกับลำต้น ยังเข้าทำลายผลมะเขือเทศที่อยู่ติดกับดินได้อีกด้วย อาการของโรคต่อผลเมื่อเริ่มจากเกิดจุดสีเหลือง แล้วแบ่งขยายออก ผิวของผลเหี่ยวเล็กน้อย เมื่อเป็นโรคมามากขึ้นผลจะเน่าและอาจมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุม เชื้อ *Rhizopus tolonifer* เป็นสาเหตุของโรค rhizopus Soft rot เชื้อ *Colletotrichum phomoides* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่า (antrachnose หรือ ripe-

rot) เมื่อเกิดกับผลในระยะแรกจะเกิดแผลกลมเล็กและนุ่มลึกลงไปในผิว และจะเกิดจุดกลมดำเล็กๆ บนแผล เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้น ส่วนกลางของแผลจะกลายเป็นสีดำ เนื่องจากส่วนของเชื้อสาเหตุซึ่งมีสีดำเจริญอยู่ใต้ผิวของผล จากนั้นจะลุกลามไปทั่วทั้งผล และเน่าในที่สุด หากเกิดกับผลในระยะที่ยังมีสีเขียว อาการของโรคจะไม่แสดงแต่เมื่อผลเริ่มสุกแผลจะปรากฏให้เห็น เชื้อ *Alternaria solani* เป็นสาเหตุของโรคจุดวง (early blight) โดยปกติโรคนี้นี้ไม่เกิดขึ้นกับผล นอกจากพืชไม่สมบูรณ์ ขาดปุ๋ย ซึ่งเป็นแผลกลมสีน้ำตาลจนถึงดำกระจายกระจายทั่วไป ขนาดเท่าหัวเข็มหมุดจนถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว และเชื้อยีสต์ *Geotrichum candidum* เป็นสาเหตุของโรค sour rot เป็นต้น (สุมนหา, 2545; สติชัย, 2531) จากรายงานของ Tournas (2005) เกี่ยวกับเชื้อราและยีสต์ที่พบในผลมะเขือเทศได้แก่ *Alternaria*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Penicillium* และยีสต์ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ $<100-2.0 \times 10^3$, $<100-1.4 \times 10^4$, $<100-2.4 \times 10^5$, $<100-3.2 \times 10^4$ และ $<100-1.5 \times 10^6$ CFU/g ตามลำดับ และมีความถี่ในการตรวจพบร้อยละ 12.5, 50.0, 12.5, 25.0 และ 62.5 ตามลำดับ

4. ผลิตภัณฑ์นมอบ

ผลิตภัณฑ์นมอบเป็นผลิตภัณฑ์จากธัญพืช โดยคุณภาพที่สำคัญที่สุดของผลิตภัณฑ์นมอบ คือ ความสดใหม่ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษานำไปสู่การสูญเสียความสดใหม่ทั้งด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส การเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีอย่างช้าๆ ทำให้เนื้อสัมผัสแข็งขึ้น ซึ่งการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ (ปริศนา, 2547) โดยเฉพาะยีสต์และราเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหลักการเสื่อมเสียของธัญพืชและผลิตภัณฑ์นมอบ (Whitfield, 1998) โดยปกติขนมปังมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 3-4 วัน (Nielsen and Rios, 2000)

4.1 การเสื่อมเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย

การเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรียเป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของขนมปังในประเทศที่มีภูมิอากาศอบอุ่น และเรียกลักษณะการเสื่อมเสียจากแบคทีเรียว่า rope ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อพวก มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Bacillus subtilis* หรือ *Bacillus licheniformis* ซึ่งแหล่งของ *Bacillus subtilis* พบในดินตามธรรมชาติ ดังนั้น rope bacteria จึงพบที่ส่วนนอกของเมล็ดธัญพืช (ปริศนา, 2547) มักพบในผลิตภัณฑ์นมอบที่ผลิตแบบพื้นบ้าน มีลักษณะการเสีย คือ เกิดเมือก (ropiness) ขึ้น สาเหตุจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (*B. mesentericus*) และอาจรุนแรงถึงขนาดทำให้โคแยกออกเป็นสองส่วน แบคทีเรียมาจากแป้งและเจริญเติบโตขึ้นในขณะหมักโด ขนมปังที่ใช้ผงฟู (pH 7-9) เก็บไว้สอง

วันที่อุณหภูมิห้องแล้วเกิดเมือกขึ้น มีแบคทีเรีย 3 สปีชีส์ คือ *Bacillus subtilis*, *B. pumilus* และ *B. licheniformis* (สุมนหา, 2545) นอกจากนี้ยังพบในอากาศซึ่งอาจเป็น aerosol ในฝุ่นผงในบริเวณโรงงานทำขนมอบ แต่แหล่งเบื้องต้นของการปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบซึ่งอาจมีอยู่เองหรือบนอุปกรณ์ที่ใช้ rope เกิดขึ้นในอากาศร้อนขึ้น สปอร์สามารถรอดได้หลังอบ ซึ่งจะงอกและเจริญภายใน 36–48 ชั่วโมง มีผลทำให้ก้อนขนมปังมีลักษณะนุ่มขึ้น เนื้อมีสีน้ำตาล มีกลิ่นคล้ายสับปะรดสุกหรือเมลอน เนื่องจากการปล่อยสารที่ระเหยได้ซึ่งประกอบด้วยไดอะซีทิล (diacetyl) อะซีโตอิน (acetoin) อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และไอโซวาเลอรัลดีไฮด์ (isovaleraldehyde) ซึ่งจะเกิดกลิ่นหวานและเมือกขึ้น นอกจากนี้แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส และโปรตีเอส จะทำให้เนื้อในขนมปังเหนียวและสามารถยืดไปเป็นเส้นยาวซึ่งนำไปสู่ชื่อของ rope อย่างไรก็ดีตามปัจจุบันไม่ค่อยพบเพราะมีการเติมแคลเซียมโพรพิโอเนต (calcium propionate) การมีสุขลักษณะที่ดี และการปฏิบัติที่อยู่ภายใต้การควบคุมที่ดี และ red bread หรือ bloody bread เกิดจาก *Serratia marcescens* ซึ่งผลิตรงควัตถุสีแดงคล้ายสีเลือดที่เกิดจากการปนเปื้อนภายหลังการอบและสามารถเจริญได้ถ้ามีความชื้นสูงมาก อย่างไรก็ดีตามลักษณะเช่นนี้ไม่ค่อยเกิดขึ้นบ่อยนัก (บุญกร, 2547; ปริศนา, 2547)

4.2 การเสื่อมเสียที่เกิดจากยีสต์

การเสื่อมเสียของขนมปังเนื่องจากยีสต์เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียน้อยที่สุด ขนมปังที่มีการเสื่อมเสียจากยีสต์จะมีกลิ่นผิดปกติ (ปริศนา, 2547) ซึ่งกลิ่นผิดปกติที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของขนมปังได้ (Whitfield, 1998) การปนเปื้อนยีสต์ไม่ค่อยพบในขนมปังที่ทำจากกระบวนการผลิตที่ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้น แต่บางครั้งพบว่าเกิดขึ้นกับวิธีการผลิตแบบ sponges and dough ที่มีระยะเวลาการหมักนาน ยีสต์ที่คล้ายเชื้อราจะไม่สามารถรอดชีวิตได้ระหว่างกระบวนการอบแต่ขนมปังจะมีการปนเปื้อนด้วยยีสต์อีกครั้งหลังการอบ แหล่งสำคัญของการปนเปื้อนทางกายภาพ คือ อุปกรณ์ที่สกปรกหรือการปนเปื้อนของอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลสูง ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์สำหรับ osmophilic yeast โดยยีสต์ 2 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของขนมปัง มีดังนี้

4.2.1 เฟอร์เมนเททีฟ ยีสต์ (fermentative yeast) น้ำตาลในขนมปังจะถูกหมักโดยยีสต์ การเสื่อมเสียจะเห็นได้อย่างชัดเจนจากการเกิดกลิ่นผิดปกติจากแอลกอฮอล์หรือเอสเทอร์ขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ที่พบ ยีสต์หลายชนิดที่สามารถเจริญได้บนขนมปัง แต่ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็น bakers' yeast มีแนวโน้มพบบ่อยที่สุดในขนมปัง (ปริศนา, 2547)

4.2.2 ฟิลาเมนเทียส ยีสต์ (filamentous yeast) ถูกรู้จักในชื่อ Chalk moulds เพราะมีลักษณะสีขาวแผ่กระจายเจริญทั่วพื้นผิวขนมปังซึ่งปกคลุมไปด้วยการเจริญของเชื้อรา จุลินทรีย์ชนิดนี้ค่อนข้างเหมือนยีสต์มากกว่าเชื้อรา เริ่มตั้งแต่ผลิต single cells และสืบพันธุ์แบบ budding เชื้อหลายชนิดที่ทำให้เกิด chalk moulds แต่ที่พบบ่อยและเป็นปัญหาที่สุด คือ *Pichia burtonii* ซึ่งมีความสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วบนขนมปังและมีความทนทานต่อสารกันเสียมากกว่าราชนิดอื่น (ปริศนา, 2547) และนอกจากนี้ เช่น *Endomyces fibuliger* (Nielsen and Rios, 2000)

การเก็บรักษาขนมปังจึงควรเก็บภายใต้สภาวะที่มีความชื้นต่ำช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เพราะการเสียของขนมอบพบได้ในกรณีที่เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในสภาวะที่มีความชื้นสูงและบรรจุในขณะที่ผลิตภัณฑ์ยังมีความร้อนอยู่ (ปริศนา, 2547)

4.3 การเสื่อมเสียที่เกิดจากเชื้อรา (ปริศนา, 2547)

การเสื่อมเสียของขนมปังเนื่องจากเชื้อราพบมากกว่าแบคทีเรียและยีสต์ ซึ่งการเสื่อมเสียจากเชื้อราบางประเภทอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพ เพราะเชื้อราสามารถผลิตไมโคทอกซิน (mycotoxins) ได้ และไมโคทอกซิน ยังมีความทนทานสามารถหลงเหลืออยู่ภายหลังจากให้ความร้อน อีกทั้งยังสร้างสารพิษและสารภูมิแพ้ ซึ่งสารเหล่านี้อาจถูกสร้างขึ้นก่อนที่เชื้อราจะเจริญขึ้นให้เราเห็น การเสื่อมเสียของขนมปังจากเชื้อรามักเกิดการปนเปื้อนภายหลังจากการอบจากสปอร์ของเชื้อราที่อยู่ในบรรยากาศรอบๆ ก่อนขนมปังระหว่างการทำให้เย็น การตัดเป็นแผ่น การบรรจุ และระหว่างการเก็บรักษา ก่อนขนมปังจะปราศจากเชื้อราหรือ สปอร์ของเชื้อราเมื่อเอาออกจากเตาใหม่ๆ เนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการอบค่อนข้างสูง เปลือกขนมปังที่ค่อนข้างแห้งและถ้ามีความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศต่ำกว่าร้อยละ 90 เชื้อราจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามเชื้อราจะเติบโตช้าๆ บนผิวของขนมปังที่มีความแห้งพอเหมาะที่เชื้อราเจริญจนกระทั่งสามารถมองเห็นได้ในสภาวะที่มีความชื้นเชื้อราจะเจริญได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบรรจุขนมปังขณะร้อนอยู่จะทำให้มีหยดน้ำกลั่นตัวข้างในภาชนะบรรจุ

เชื้อราในขนมปังมีอัตราการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับประเภทขนมปัง เช่น ขนมปังโฮลวีต (whole wheat) จะขึ้นราได้ง่ายกว่าขนมปังปกติ (cultured bread) เช่น ขนมปังจากแป้งไรต์ (rye bread) เนื่องจากมีความเป็นกรดสูง (ปริศนา, 2547) วัตถุดิบที่ใช้ทำ เช่น ขนมปังจากแป้งสาลี มักพบ

เชื้อรา *Penicillium commune*, *P. solitu*, *P. corylophilum* และ *Aspergillus flavus* ในขณะที่ขนมปังจากแป้งไรย์พบเชื้อรา *P. roqueforti*, *P. corylophilum* และ *Eurotium* spp. (Nielsen and Rios, 2000) นอกจากนี้วิธีการแปรรูป เช่น ขนมปังที่ทำจากโดที่ไม่ต้องหมัก (no-time dough) มีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าขนมปังที่ทำจากโดที่ผ่านการหมัก เนื่องจากขนมปังที่ผ่านขั้นตอนการหมักจะมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงกว่า เชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังมากที่สุด คือ *Penicillium* spp. และ *Aspergillus* spp. ซึ่งมีความสำคัญมากกว่าในประเทศเขตร้อน นอกจากนี้ยังพบเชื้อราอีกมากมาย (ตารางที่ 1) เชื้อราที่เจริญในขนมปังนอกจากเราสามารถมองเห็นได้ ยังทำให้กลิ่นรสของขนมปังเปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 1 เชื้อราที่พบในขนมปังและลักษณะการเจริญของเชื้อรา

เชื้อรา	สีโคโลนี	ลักษณะปรากฏ
<i>Penicillium</i> spp.	น้ำเงิน/เขียว	แบน กระจายค่อนข้างช้า
<i>Aspergillus niger</i>	ดำ	เป็นปุยแพร่กระจายด้วยเม็ดสปอร์
<i>Aspergillus flavus</i>	เขียวมะกอก	พบเห็นได้ชัดเจนบ่อยๆ
<i>Aspergillus candidus</i>	ครีม	
<i>Aspergillus glaucus</i>	เขียวอ่อน	
<i>Cladosporium</i> spp.	เขียวมะกอกคล้ำ	แบน แพร่กระจายอย่างช้าๆ
<i>Neurospora sitophila</i>	ชมพูเหมือนปลาแซลมอน	ฟูมากและแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว
<i>Rhizopus nigricans</i>	เทา/ดำ	ฟูมากและแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว

ที่มา: ปริศนา (2547)

เชื้อราไม่มีซีเลียม (mycelium) ซึ่งประกอบด้วยส่วนของเส้นใยที่เป็นกิ่งก้านสาขาหรือ hyphae เชื้อ *Rhizopus (nigricans) stolonifer* พบได้บ่อยในขนมปัง หรือที่เราเรียกกันว่า ราขนมปัง (bread mold) คือ เชื้อราสีดำบนขนมปังที่พบได้ทั่วไป ลักษณะปรากฏจะฟูมาก ไม่มีซีเลียมมีสีขาว คล้ายใยฝ้าย และมี sporangia สีดำ เชื้อ *Neurospora sitophila* หรือราแดงพบได้บางครั้งแต่ไม่บ่อยนัก เป็นเชื้อราอีกชนิดที่มี conidia และไม่มีซีเลียมสีแดง และพบในขนมปังที่เก็บไว้ในบริเวณความชื้นสูงหรือขนมปังที่ห่อหุ้มยังอุ่นอยู่ เพราะอุณหภูมิการเก็บมีผลต่อชนิดของเชื้อราที่เจริญได้ในขนมปัง ดังนั้นการเก็บรักษาภายใต้ความชื้นต่ำจะช่วยชะลอการเจริญของเชื้อราได้ เชื้อราพวก

Monilia sitophila ทำให้ขนมปังบางส่วนมีสีชมพูจนถึงสีแดง เชื้อ *Geotrichum* (Oidium) *aurantiacum* ทำให้เนื้อขนมปังมีสีแดงคล้ำ

5. ผลิตภัณฑ์ขนมหวาน

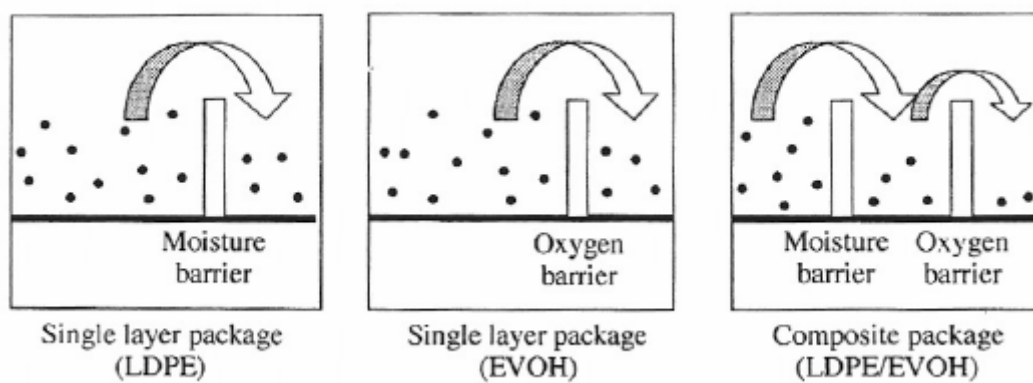
ขนมหวานมักมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากส่วนประกอบที่ใช้ในการผลิต เช่น น้ำตาลทราย และแป้ง ขนมหวานที่มีความชื้นสูงจะเสียได้ง่ายกว่าขนมหวานที่มีความชื้นต่ำ (สุมาลี, 2541) สำหรับขนมหวานของไทยหรือขนมไทยมีหลายประเภทจำแนกโดยอาศัยกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน สำหรับขนมไทยประเภทขนมเชื่อมสด มีกระบวนการผลิตด้วยการทำขนมให้สุก โดยนำส่วนผสมใส่ลงไปในน้ำเชื่อมที่กำลังเดือด เช่น ทองหยิบ ทองหยอด ฝอยทอง เม็ดขนุน กล้วยเชื่อม เป็นต้น มีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงค่อนข้างมีปัญหาในการส่งออก ทั้งในด้านการเก็บรักษาและรสชาติขนมที่เปลี่ยนไป (สถาบันพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม, 2548) เนื่องจากน้ำเชื่อมสามารถเสียได้เนื่องจากจุลินทรีย์พวกที่ชอบแรงดันออสโมซิสสูงๆ เช่น *Leuconostoc*, *Bacillus*, ยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* *Candida* และ *Rhodotorula* ราบางชนิดพวกออสโมไฟล์ เช่น *Aspergillus niger*, *A. sydowi*, *Penicillium* และพวกซีโรฟิลิก เช่น *A. glaucus* และ *P. expansum* โดยยีสต์และราชนิดต่างๆ จะเจริญในน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง 67 – 72 องศาบริกซ์ได้ (สุมาลี, 2541) หรือแม้แต่แบคทีเรียในดินที่สร้างสปอร์ เช่น *Bacillus* และ *Clostridium* ปนเปื้อนมากับอ้อย เมื่อนำมาผลิตเป็นน้ำตาลจุลินทรีย์เหล่านี้อาจติดมาด้วย โดยที่น้ำตาลมีสภาพปกติ ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้ทนความร้อนได้ ความร้อนจึงไม่สามารถทำลายสปอร์ เมื่อถึงผลิตภัณฑ์อาหารไว้นาน สปอร์อาจงอกขึ้นในสภาวะเก็บรักษาที่เหมาะสม ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเสียได้ (สุมนฑา, 2545)

6. บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

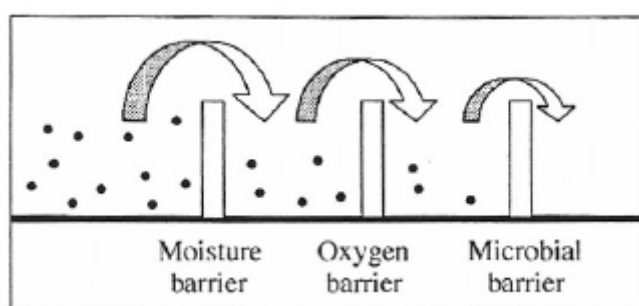
บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial packaging) เป็นบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟ (active packaging) ประเภทหนึ่ง (Han, 2003) ซึ่งบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟ คือ ระบบบรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่รักษาสภาวะที่เหมาะสมของอาหาร ในระหว่างกระบวนการแปรรูป การขนส่ง และการเก็บรักษา โดยควบคุมปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของอาหาร ได้แก่ ออกซิเดชัน การสุก การเจริญของเชื้อรา การเปลี่ยนแปลงสี การเปลี่ยนแปลงระหว่างการอบ เป็นต้น (Rooney, 1995)

บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ คือ ระบบบรรจุภัณฑ์ที่สามารถฆ่าหรือต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งปนเปื้อนมากับอาหาร มักใช้การเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมในบรรจุภัณฑ์ หรือการใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ทำให้การเจริญในช่วงแล็ก (lag period) นานขึ้น และลดอัตราการเจริญเติบโตหรือลดจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตลงได้ (Han, 2003) นอกจากนี้ข้อดีของการใช้ สารประกอบพอลิเมอร์ผสมร่วมกับสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ยังช่วยในด้านการควบคุมการปลดปล่อยสารเพื่อให้คงประสิทธิภาพตลอดช่วงอายุการเก็บรักษาอาหาร (Cagri *et al.*, 2004)

วัตถุประสงค์ของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อเป็นการรับประกันความปลอดภัย คงคุณภาพ และยืดอายุการเก็บของอาหาร ซึ่งให้ลำดับความสำคัญสลับกันกับวัตถุประสงค์ของบรรจุภัณฑ์ทั่วไปที่ต้องการเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา คงคุณภาพ และรับประกันความปลอดภัย ปัจจุบันนี้การรับประกันความปลอดภัยของอาหารถือว่าเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์จึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น (Han, 2003) เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไปกับบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ดังภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่า บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์นอกจากสามารถป้องกันได้ทั้งความชื้น ออกซิเจน เนื่องจากสมบัติของฟิล์มแต่ละชนิดแล้ว เช่น ฟิล์ม low density polyethylene (LDPE) ช่วยป้องกันการซึมผ่านของความชื้น ฟิล์ม ethylene vinyl alcohol (EVOH) ช่วยป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน และต้องใช้ร่วมกันเพื่อป้องกันการซึมผ่านของทั้งความชื้นและออกซิเจน บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ยังสามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าสู่อาหารได้ เนื่องจากมีสารยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ในฟิล์ม (Han, 2003)



(ก) ระบบบรรจุภัณฑ์ทั่วไป



(ข) ระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ภาพที่ 1 เปรียบเทียบสมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไปกับบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (ก) ระบบบรรจุภัณฑ์ทั่วไป (ข) ระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ที่มา: Han (2003)

บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์มีทั้งแบบที่ตัวบรรจุภัณฑ์สัมผัสกับอาหารโดยตรงและแบบมีช่องว่าง (headspace) ระหว่างบรรจุภัณฑ์กับอาหาร โดยบรรจุภัณฑ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ไม่เพียงป้องกันและต่อต้านจุลินทรีย์ในอาหารที่ถูกบรรจุอยู่ แต่ยังรวมถึงจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับบรรจุภัณฑ์ด้วย (Appendini and Hotchkiss 2002)

ลักษณะการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใส่ลงในบรรจุภัณฑ์มี 3 ลักษณะ คือ การปลดปล่อย (release) การดูดซึม (absorption) และอิมโมบิไลเซชัน (immobilisation) การปลดปล่อยเกิดขึ้นจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีทั้งประเภทสารละลาย หรือแก๊ส ถ้าเป็นแก๊สจะเคลื่อนที่ไปสู่อาหารหรือช่องว่างระหว่างอาหารกับบรรจุภัณฑ์ได้ แต่หากเป็นสารละลายจะไม่สามารถทำได้ การดูดซึมมีหลักการทำงานคือ เคลื่อนย้ายปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ออกจากบรรจุภัณฑ์และต่อต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ระบบ oxygen-absorber สามารถที่จะป้องกันการเจริญของเชื้อรา ซึ่งต้องการออกซิเจนภายในบรรจุภัณฑ์ และการอิมโมบิไลเซชันจะต่อต้านการเจริญของเชื้อที่ผิวอาหารเฉพาะบริเวณที่สัมผัสกับบรรจุภัณฑ์ เมื่อใช้บรรจุอาหารแข็งจึงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยกว่าอาหารเหลว เพราะโอกาสในการสัมผัสระหว่างผิวอาหารกับบรรจุภัณฑ์น้อยกว่า (Han, 2003) ดังนั้นการสัมผัสระหว่างบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์กับผิวอาหารจึงมีความสำคัญอย่างมาก จึงมักใช้การบรรจุอาหารด้วยสุญญากาศ หรือใช้การเคลือบผิวโดยการสเปรย์หรือจุ่ม (Devlieghere *et al.*, 2004)

6.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

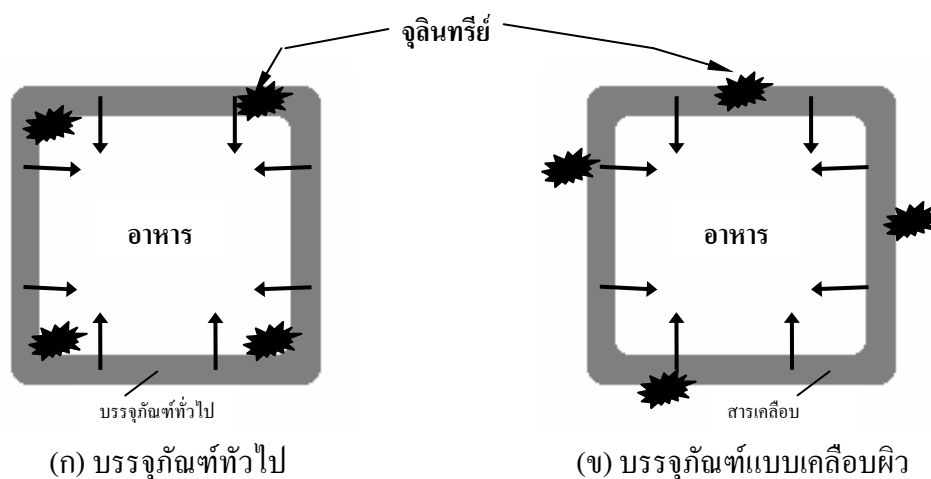
ปัจจัยที่สำคัญที่ควรพิจารณาในการออกแบบระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ คือ กิจกรรมจำเพาะ (specific activity) การต้านทานของเชื้อจุลินทรีย์ การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่ผิวอาหาร ธรรมชาติทางเคมีของอาหารและสารยับยั้งจุลินทรีย์ สภาพการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย สภาพของกระบวนการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์ คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารยับยั้งจุลินทรีย์ และกฎหมายข้อบังคับ ซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดดังนี้ (Han, 2003)

6.1.1 กิจกรรมจำเพาะของสารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้อย่างจำเพาะ ดังนั้นการที่จะเลือกใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใดขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการยับยั้ง เพราะอาหารแต่ละชนิดมีคุณลักษณะแตกต่างกัน ได้แก่ ค่า pH ค่า a_w ส่วนประกอบอาหาร และอุณหภูมิในการเก็บรักษา สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เลือกใช้ต้องสามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะของอาหารในบรรจุภัณฑ์

6.1.2 การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์

อัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ควรออกแบบให้เหมาะสมกับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ควรเร็วหรือช้ากว่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะหากอัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์เร็วกว่าจะทำให้ ความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ต่ำลง และอาจหมดก่อนอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร เชื้อจุลินทรีย์จึงเจริญเติบโตได้ภายหลังสารยับยั้งจุลินทรีย์หมด และหากอัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ช้ากว่าอัตราการ



ภาพที่ 2 ระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (ก) บรรจุภัณฑ์ทั่วไป (ข) บรรจุภัณฑ์แบบเคลือบผิว

ที่มา: คัดแปลงจาก Han (2003)

เจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญก่อนที่สารยับยั้งจะทำงาน ภาพที่ 2 แสดงระบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์แบบบรรจุภัณฑ์ทั่วไป (ก) และแบบสารเคลือบผิว (ข) ลูกศรที่ชี้เข้าไปในอาหาร คือ การเคลื่อนที่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ไปสู่อาหารที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผิวของอาหาร ดังนั้นการเคลื่อนที่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ไปสู่ผิวอาหารจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญ เมื่อระยะเวลาเวลานานขึ้นการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ตามระยะเวลาจะทำให้ความเข้มข้นของสารลดลง และลดลงจนต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง บรรจุภัณฑ์จึงไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของบรรจุภัณฑ์ทั่วไปจะเกิดขึ้นที่ผิวของอาหารภายในบรรจุ

กันที่ ขณะที่การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของบรรจุภัณฑ์แบบเคลือบผิวจะเกิดขึ้นบนผิวของสารเคลือบที่เคลือบอยู่ด้านนอกของอาหาร (Han, 2003) ดังนั้นสิ่งสำคัญของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ต้องแนบติดกับตัวอาหาร จึงจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ชนิดของพอลิเมอร์และสารอื่นๆ ที่ใช้ปรับปรุงสมบัติของฟิล์มมีผลต่อการปลดปล่อยสารยับยั้งเชื้อ ซึ่งการศึกษาของ Cha *et al* (2002) พบว่าฟิล์มโซเดียม-อัลจิเนต (Na-alginate) ที่ผสมสารยับยั้งกรดเททราอิก (etylene diamine tetraacetic acid; EDTA) 5 มิลลิโมล ในซิน 100 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม ไดโซไซม์ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก หรือสารสกัดจากเมล็ด grape fruit (grape fruit seed extract; GFSE) ร้อยละ 0.1 ให้ผลยับยั้งสูงกว่าโพแทสเซียม-คาร์ราจีแนน (K-carragenan) เมื่อใช้ความเข้มข้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นเดียวกัน เนื่องจากความเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) ของโพแทสเซียม-คาร์ราจีแนนสูงกว่าโซเดียม-อัลจิเนต เป็นผลให้ฟิล์มชนิดนี้ดูดซับน้ำได้เร็วกว่า และพองตัวเป็นเจลได้ง่าย ดังนั้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในโซเดียม-อัลจิเนต ถูกปลดปล่อยออกจากฟิล์มเร็วกว่าโพแทสเซียม-คาร์ราจีแนน และการศึกษาของ Coma *et al.* (2001) เกี่ยวกับกรดไขมันต่อสมบัติในการยับยั้งเชื้อของไนซินในฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethylcellulose; HPMC) พบว่ากรดสเตียริก (stearic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันเมื่อเติมลงในฟิล์มช่วยเพิ่มการป้องกันการผ่านเข้าออกของไอน้ำของฟิล์มได้ดีกว่ากรดไขมัน และอีเทอร์ชนิดอื่นๆ เช่น โอเลอิก (oleic acid) เมทิลปาลมิเตต (methylpalmitate) และเมทิลสเตียเรต (methylstearate) แต่เมื่อความเข้มข้นของกรดสเตียริกเพิ่มขึ้น มีผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งของฟิล์มที่ผสมไนซินลดลง เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างประจุลบของกรดสเตียริกกับประจุบวกของไนซิน ทำให้ไนซินตรึงอยู่ในฟิล์มไม่สามารถกระจายออกมาเพื่อทำหน้าที่ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ แต่ Sebt *and* Coma (2002) ได้ทำการปรับปรุงการปลดปล่อยของไนซินในฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส ให้ดีขึ้นด้วยการเติมประจุบวกของแคลเซียมไอออน เพื่อให้เข้าทำปฏิกิริยากับกรดสเตียริก แทนที่ไนซิน โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคลเซียมไอออน คือ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร

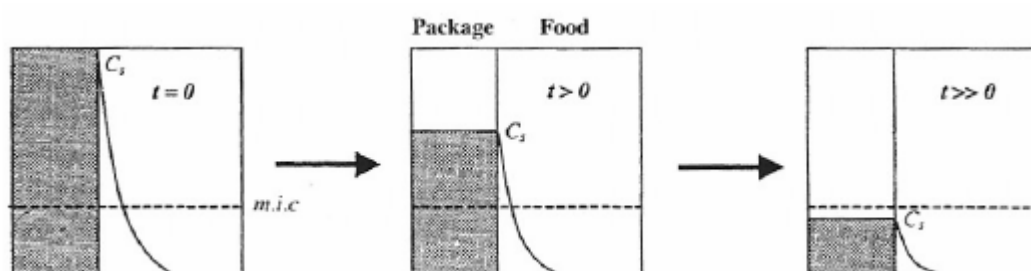
6.1.3 ธรรมชาติทางเคมีของสารยับยั้งจุลินทรีย์

ความสามารถในการละลายน้ำของสารยับยั้งจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับความสามารถในการผสมได้ระหว่างสารยับยั้งจุลินทรีย์กับพอลิเมอร์หรือพลาสติก เพราะจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาค่า pH ที่เหมาะสมต่อการยับยั้ง

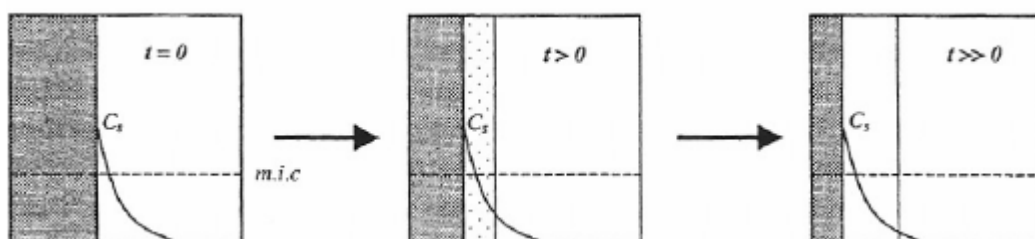
เชื้อของสารยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อเลือกใช้ให้เหมาะสมกับ pH ของพอลิเมอร์และอาหาร เพราะประสิทธิภาพในการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับค่า pH ด้วย

6.1.4 การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่อาหาร

การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่อาหารถือเป็นปัจจัยที่สำคัญอันหนึ่ง เพราะมีผลต่อประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อของบรรจุภัณฑ์ จากภาพที่ 3 ถ้าสารยับยั้งจุลินทรีย์ละลายได้ดีในอาหาร ระบบบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้ คือ ระบบชนิด unconstrained free diffusion (ก) แต่ถ้าสารยับยั้งจุลินทรีย์ละลายได้ต่ำในอาหาร จะเรียกว่าระบบชนิด monolithic system (ข) จากภาพที่ 3 ภายในรูปสี่เหลี่ยม ด้านซ้ายที่เป็นสีเทา คือ ตัวบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ด้านขวาสีขาว คือ อาหาร และเส้นประ คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (minimum inhibition concentration; m.i.c.) ระบบชนิด unconstrained free diffusion สารยับยั้งจุลินทรีย์จะละลายสู่อาหารได้สูง ความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผิวอาหาร (C_s) จะลดลงเท่ากับกับความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ จนกระทั่งมีความเข้มข้นต่ำกว่า m.i.c. จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ขณะที่ระบบชนิด monolithic system มีสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ละลายสู่อาหารได้ต่ำ C_s จึงมีความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ ซึ่งระดับของความเข้มข้น C_s นี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่อาหาร C_s จะคงที่ไปจนกระทั่งปริมาณของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์หมด นั่นคือประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อยังคงที่จนกระทั่งปริมาณของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์หมด เช่นกัน (Han, 2003) การศึกษาของ Lee *et al.* (2004) เกี่ยวกับการแพร่ของไนซินและอัลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol) ผสมไวนิลอะซีเตตเอทิลีนโคพอลิเมอร์ (vinyl acetate-ethylene copolymer) ที่เคลือบบนแผ่นกระดาษ พบว่า การแพร่ของไนซินและอัลฟา-โทโคฟีรอลมีความสัมพันธ์กับชนิดของอิมัลชัน (emulsion) โดยไนซินซึ่งมีหมู่ชอบน้ำ จึงแพร่ได้ดีเมื่ออิมัลชันเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil/water emulsion) แต่แพร่ได้น้อยเมื่ออิมัลชันเป็นชนิดน้ำในน้ำมัน (water/oil emulsion) ขณะที่อัลฟา-โทโคฟีรอลซึ่งมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จะแพร่ได้น้อยกว่าเมื่ออิมัลชันเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ ดังนั้นส่วนประกอบในอาหาร เช่น ไขมัน แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ เป็นต้น มีผลต่อการแพร่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์



(ก) ระบบบรรจุภัณฑ์ชนิด unconstrained free diffusion



(ข) ระบบบรรจุภัณฑ์ชนิด monolithic system

ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในระบบบรรจุภัณฑ์ (ก) ระบบชนิด unconstrained free diffusion และ (ข) ระบบชนิด monolithic system

ที่มา: Han (2003)

6.1.5 สถานะการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย

อุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษาและการจัดจำหน่ายมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ จึงควรเลือกใช้อุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อ และภายในอายุการเก็บรักษาของอาหาร (Han, 2003) เช่นในการศึกษาของ Lee *et al.* (2004) พบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษานมและน้ำส้มที่เก็บรักษาไว้ในกล่องกระดาษที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนที่ 3 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน สามารถลดการเจริญเติบโตของ

แอโรบิกแบคทีเรียและยีสต์ได้เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เคลือบผิวกล่องกระดาศด้วยไคโตแซนและไนซิน แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไม่มีผลในการยับยั้งโดยมีจำนวนจุลินทรีย์เจริญไม่แตกต่างกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งอุณหภูมิการเก็บรักษาอาจมีผลต่ออัตราการแพร่ของสารยับยั้งเชื้อและการเจริญของจุลินทรีย์

6.1.6 สภาวะของกระบวนการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์

กระบวนการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์มี 2 วิธี คือ กระบวนการเอ็กซ์ทรูชัน และการหล่อ กรณีการขึ้นรูปโดยการเอ็กซ์ทรูชัน สิ่งสำคัญที่ควรพิจารณาคือ ความสามารถในการทนต่อความร้อนและสภาวะที่รุนแรงของสารยับยั้งจุลินทรีย์ เนื่องจากสภาวะของการเอ็กซ์ทรูชันใช้อุณหภูมิและความดันค่อนข้างสูง ขณะที่การขึ้นรูปโดยการหล่อมิสิ่งสำคัญคือ ตัวทำละลายที่เลือกใช้ต้องสามารถละลายได้ทั้งในสารยับยั้งจุลินทรีย์และพอลิเมอร์ เพื่อให้สารยับยั้งเชื้อกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับพอลิเมอร์ ซึ่งจะส่งผลถึงความประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Han, 2003) เช่น ฟิล์มที่เตรียมโดยวิธี casting ให้ผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าฟิล์มที่เตรียมโดยวิธี heat-press เพราะวิธี heat-press ใช้อุณหภูมิสูงภายใต้แรงดัน ทำให้สารยับยั้งจุลินทรีย์ถูกทำลายเนื่องจากความร้อน และเมื่อดูจากคุณลักษณะของฟิล์มที่เตรียมโดยวิธี heat-press ด้วย scanning electron microscope พบอนุภาคของสารยับยั้งจุลินทรีย์กระจายไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับฟิล์ม (Padgett *et al.*, 1998) ดังเช่นการศึกษาของ Padgett *et al* (1998) และ Cha *et al.* (2003) พบว่า ฟิล์มที่เตรียมจากวิธี casting ให้ผลยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *Micrococcus luteus* ได้ดีกว่า

6.1.7 สมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมกับพอลิเมอร์ต้องมีปริมาณที่เหมาะสม ไม่มากเกินไปจนทำให้มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความโปร่งใสและสี และคุณสมบัติทางกลของบรรจุภัณฑ์

6.1.8 ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์เป็นสารที่มีกลิ่นหรือรสที่รุนแรง ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส รวมทั้งวัตถุดิบสำหรับผลิตฟิล์มหรือสารเคลือบที่สามารถรับประทานได้ควรคำนึงถึงสารก่อภูมิแพ้ เช่น โปรตีนถั่วลิสง โปรตีนถั่วเหลือง และโปรตีนข้าวสาลี

6.1.9 กฎหมายข้อบังคับ

การใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ต้องพิจารณาถึงกฎหมายข้อบังคับเนื่องจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ในอาหาร ต้องมีความปลอดภัยต่อการอุปโภคและบริโภค ดังนั้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเมื่อเทียบสารยับยั้งจุลินทรีย์สังเคราะห์

6.2 ประเภทบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ มีหลากหลายรูปแบบ ดังนี้

ประเภทของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์แบ่งได้หลายประเภทตามลักษณะการใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ เช่น การผสมรวมกับพอลิเมอร์ อิมโมบิไลเซชัน หรือการเคลือบบนผิวพอลิเมอร์ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของระบบบรรจุภัณฑ์ สารยับยั้งจุลินทรีย์ และอาหาร (Han; 2003) ตารางที่ 2 แสดงประเภทของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2 ประเภทของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ประเภท	ตัวอย่าง	สมบัติ/คุณลักษณะ
1. การใส่ sachets หรือ pads ที่บรรจุสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระเหยได้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร	1. sachets เช่น ตัวดูดซับออกซิเจน (oxygen absorbers) ตัวดูดซับความชื้น (moisture absorbers) และ ethanol vapor generators 2. absorbing pads (diapers)	ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน ช่วยลด a_w ดูดซึมของเหลวต่างๆ ที่ออกมาจากอาหารภายในภาชนะบรรจุซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์เหมาะต่อการเจริญเชื้อจุลินทรีย์มากกเก็บไว้ เพื่อป้องกันและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์
2. การผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งสารระเหยได้ (volatile) และสารที่ระเหยไม่ได้ (non – volatile) โดยตรงในพอลิเมอร์	1. สารระเหยได้ ได้แก่ คลอไรด์ ไดออกไซด์ (chlorine dioxide) ซัลเฟอร์ ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และอัลลิล ไอโซไธโอไซยาเนต (allyl isothiocyanate) 2. สารที่ระเหยไม่ได้ ได้แก่ กรดอินทรีย์ต่างๆ	ข้อดีของบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้ คือ สารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถซึมเข้าไปในตัวอย่างอาหารโดยที่พอลิเมอร์ไม่จำเป็นต้องสัมผัสกับอาหารโดยตรง บรรจุภัณฑ์จะต้องสัมผัสกับอาหาร และสิ่งสำคัญคือกลไกการกระจายตัวของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากผิวพอลิเมอร์ต้องมีอัตราต่ำ เพื่อว่าความเข้มข้นที่ผิวหน้ามีสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์

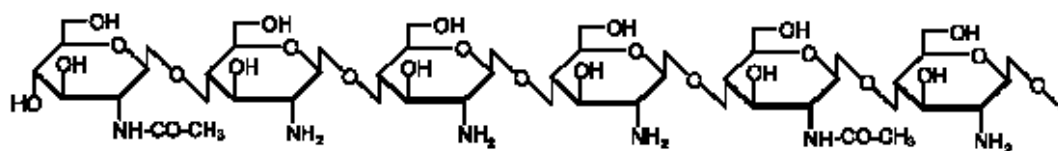
ตารางที่ 2 (ต่อ)

ประเภท	ตัวอย่าง	สมบัติ/คุณลักษณะ
3. สารยับยั้งจุลินทรีย์เคลือบลงบนผิวพอลิเมอร์	1. ไนซินผสมเมธิลเซลลูโลสเคลือบบนฟิล์มโพลีเอธิลีน 2. ไนซินผสมโปรตีนซีน (zein protein) เคลือบบนเนื้อไก่	สารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่สามารถทนความร้อนที่สูงในกระบวนการขึ้นรูปพอลิเมอร์ได้จึงใช้การเคลือบลงบนผิวพอลิเมอร์หรืออาหารแทน
4. การอิมโมบิไลเซชันสารยับยั้งจุลินทรีย์กับพอลิเมอร์ เช่น การเชื่อมกันโดยพันธะโควาเลนต์	1. ฟิล์มไอออน เมริก (ionomeric film) ใช้สารยับยั้งเชื้อ เช่น เบนโนมิล แบคทีริโอซิน (benomyl bacteriocin) 2. โพลีสไตรีน (polystyrene) ใช้สารยับยั้งเชื้อ เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) และเปปไทด์สังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 3. โพลีไวนิล อัลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) ใช้สารยับยั้งเชื้อ เช่น ไลโซไซม์ 4. ไนลอน 6,6 เรซิน (nylon 6,6 resin) ใช้สารยับยั้งเชื้อ เช่น ไลโซไซม์	การเชื่อมระหว่างหมู่ฟังก์ชัน (functional groups) ของสารยับยั้งจุลินทรีย์กับหมู่ฟังก์ชันของพอลิเมอร์ หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ เอนไซม์ เปปไทด์ โพลีอะมีน (polyamine) และกรดอินทรีย์
5. การใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	ไคโตแซน	เนื่องจากประจุบวกของอะมีนในไคโตแซนทำปฏิกิริยากับประจุลบบนเยื่อหุ้มของเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้เกิดการฉีกขาดของเซลล์

ที่มา: ดัดแปลงจาก Appendini and Hotchkiss (2002)

4. ไคโตแซน (Chitosan)

ไคโตแซน (1→4)-2-amino-2-deoxy- β -D-glucan) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการดีอะซีตีลเลชัน (deacetylation) ด้วยเบสของไคติน (chitin) ซึ่งได้มาจากเปลือกแข็งของสัตว์น้ำ (crustacean) หรือผนังเซลล์ของยีสต์รา โครงสร้างพอลิเมอร์ของไคโตแซนเป็นกลูโคซามีน (glucosamine; GlcN) และเอ็น อะซีทิล กลูโคซามีน (N-acetyl glucosamine; GlcNAc) ไคโตแซนที่ใช้กันอยู่ทางการค้ามีหมู่อะซีทิลน้อยกว่าร้อยละ 30 หรือที่เรียกกันว่าดีกรีอะซีทิลเลชัน และมวลโมเลกุลจะอยู่ระหว่าง 100 และ 1,200 kDa (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครงสร้างไคโตแซน

ที่มา: Tharanathan (2003)

ไคโตแซนมีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะเหนียว ใส และยืดหยุ่น สามารถใช้ห่อหุ้มอาหารได้ เนื่องจากเป็นฟิล์มชนิดบริโกลได้และทนต่ออนุมูลสูง (Anonymous, 2003) มีสมบัติป้องกันแก๊สออกซิเจนที่ดี แต่ป้องกันน้ำได้ต่ำ เนื่องจากเป็นพวกชอบน้ำ (hydrophilic) (Butler *et al.*, 1996) ลดการสร้างแก๊สเอทิลีน การเพิ่มขึ้นของคาร์บอนิก (Durango *et al.* 2005) เมื่อเติมพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) ช่วยในการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ แต่จะทำให้การป้องกันแก๊สต่างๆ ลดลง เช่น การผ่านเข้า-ออกของเอทิลีนเพิ่มขึ้นจาก 3.12×10^{-3} ccO₂/m.d.atm ไปเป็น 15.98×10^{-3} ccO₂/m.d.atm เมื่อเติมพอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) ซึ่งเป็นพลาสติกไซเซอร์เพิ่มขึ้นจาก 0.25 มิลลิลิตร/กรัม ไปเป็น 0.50 มิลลิลิตร/กรัม (Caner *et al.*, 1998) นอกจากนี้ไคโตแซนยังถูกใช้เตรียมเป็นฟิล์มหรือสารเคลือบเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เพราะไคโตแซนสามารถยับยั้งการเจริญของทั้งแบคทีเรียและรา การยับยั้งแบคทีเรียของไคโตแซน เนื่องจากไคโตแซนมีคุณสมบัติเป็นพวกพอลิแคทไอออนิก (polycationic) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาที่ผิวของเซลล์แบคทีเรียที่เป็นสารพวก lipopolysaccharide teichoic และ teichuronic acids หรือ capsular polysaccharide สำหรับผลต่อเชื้อรา ไคโตแซนจะเข้าไปทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์

เปลี่ยนแปลง จากการทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผิวเซลล์จึงมีผลต่อการผ่านเข้าออกของสาร รบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึม จนมีผลให้เซลล์ตาย (Davidson and Aivanovic, 2003; Durango *et al.*, 2005; Li, 2006) ดังนั้นจึงมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากไคโตแซน เช่น การนำไปใช้เป็นสารเคลือบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้สด ได้แก่ มะเขือเทศ แครอท สตอเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ ลำไย เป็นต้น (Lazaridou and Billiaderis, 2002; Durango *et al.*, 2005; Devlieghere *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2004; Jiang and Li, 2001) และอาหารอื่นๆ ได้แก่ เนื้อหมู และเต้าหู้ เป็นต้น (Ouattara *et al.*, 2000; No and Meyers, 2004)

5. สารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติ

สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในปัจจุบันมีอยู่มากมาย มักใช้กันในการอาหาร ยารักษาโรค และเครื่องสำอาง โดยแหล่งของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ได้แก่ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์บางชนิด (Davidson and Zivanovic, 2003) สารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อแตกต่างกันจึงส่งผลต่อจุลินทรีย์ไม่เหมือนกัน ไม่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใดที่สามารถต่อต้านจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด จึงควรเลือกสารยับยั้งจุลินทรีย์ให้เหมาะสมต่อเชื้อเป้าหมายที่ต้องการยับยั้ง สิ่งสำคัญที่ควรพิจารณา คือ ชนิดเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย และคุณลักษณะกลไกการทำงานเพื่อต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Han, 2003)

ชนิดเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย เช่น ความต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แบ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้โดยอาศัยออกซิเจน (aerobes) และจุลินทรีย์ที่เจริญได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน (anaerobes) โครงสร้างผนังเซลล์ (แกรมบวก และแกรมลบ) การเจริญเติบโต (spores และ vegetative cells) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต (thermophilic, mesophilic และ psychrotropic) และการต่อต้านต่อกรด และออสโมซิส (acid/osmosis resistance) ส่วนคุณลักษณะกลไกการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ กล่าวว่า มีข้อจำกัดในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่น สารยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดต่อต้านได้เฉพาะวิถีทางเมแทบอลิก และที่สารยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดเข้าทำลายเฉพาะผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ (Han, 2003)

ตัวอย่างสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่มีการศึกษาและนำไปใช้ในการยับยั้งเชื้อในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด ดังนี้

5.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

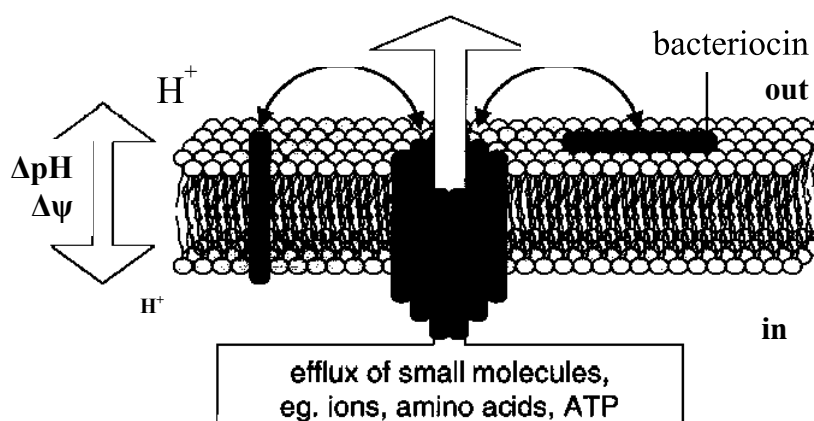
แบคทีเรียกรดแลคติกมีความสามารถในการสร้างสารที่มีผลในการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ หลายชนิด จากกระบวนการหมักโดยลดปริมาณคาร์โบไฮเดรต ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิก และสารอื่นๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไดอะซีติล และสารโมเลกุลต่ำ เช่น รูทีริน (reuterin) รูทีริไซคลิน (reutericyclin) และกรด 2-ไพโรโรลิดอน-5-คาร์บอกซิลิก (2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid) และแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งแบคเทอริโอซินเป็นสารประเภทโปรตีนมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแบคทีเรียที่สร้างแบคเทอริโอซินนั้นๆ (สุริย์รัตน์, 2545; Ouwehand and Vesterlund, 2004)

แบคเทอริโอซินเป็นโปรตีนหรือเปปไทด์ที่สังเคราะห์จากไรโบโซมของแบคทีเรียสำหรับแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถแบ่งได้เป็น 3 คลาสหลัก คือ แอนติไบโอติก (lantibiotic) เปปไทด์ขนาดเล็กที่ทนต่อความร้อน (small heat-stable peptide ซึ่งมีขนาดน้อยกว่า 13,000 Da) และเปปไทด์ขนาดใหญ่ที่ทนต่อความร้อน (large heat-labile proteins ซึ่งมีขนาดมากกว่า 30,000 Da) ส่วนคลาสที่ 4 นั้นมีโครงสร้างที่ซับซ้อนจึงยังไม่เป็นที่ยอมรับกัน โดยชนิดที่ 1 และ 2 เป็นชนิดที่สำคัญของแบคเทอริโอซินเพราะมีการนำไปใช้ในทางการค้าอย่างกว้างขวาง (Ouwehand and Vesterlund, 2004) แบคเทอริโอซินมีผลต่อแบคทีเรียอื่นๆ ทั้งแบบการทำลาย (bactericidal effect) และแบบการยับยั้ง (bacteriostatic effect)

แบคเทอริโอซินถูกมองว่าเป็นแอนติไบโอติก (antibiotic) แต่ความจริงแล้วคุณสมบัติของแบคเทอริโอซินแตกต่างจากแอนติไบโอติกในหลายๆ เรื่องอย่างชัดเจน คือ แบคเทอริโอซินถูกสังเคราะห์มาจากไรโบโซม สร้างภูมิคุ้มกันตนเองของเซลล์ผู้ผลิต กลไกต่อต้านของเซลล์เป้าหมายโดยปรับสภาพองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมาย มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเป้าหมายที่มีความหลากหลายได้น้อย และความเป็นพิษหรือผลข้างเคียงยังไม่มีรายงาน นอกจากนี้แบคเทอริโอซินจะถูกย่อยได้ด้วยน้ำลายในปาก และเอนไซม์ภายในกระเพาะ ดังนั้นแบคเทอริโอซินจะไม่สามารถทำงานได้ จึงไม่มีผลต่อจุลินทรีย์สำคัญใน

ถ้าได้ ขณะที่แอนติไบโอติกถูกสังเคราะห์มาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมขั้นที่ 2 (secondary metabolite) ไม่สร้างภูมิคุ้มกันตนเองของเซลล์ผู้ผลิต กลไกต่อต้านของเซลล์เป้าหมายโดยการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์หรือโครงสร้างภายในเซลล์ มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเป้าหมายที่มีความหลากหลายได้มาก และมีความเป็นพิษหรือผลข้างเคียง (Cleveland *et al.*, 2001)

แบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกนำไปใช้ในอาหารเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมบวก และเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและเชื้อก่อโรค เช่น *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น นอกจากนี้แบคทีเรียโอซินยังคงทนต่อความร้อน จึงสามารถนำไปใช้ร่วมกับกระบวนการให้ความร้อนได้ (Vuyst and Vandamme, 1994) แบคทีเรียโอซินเข้าทำงานที่ไซโตพลาสซึมิกเมมเบรน (cytoplasmic membrane) ของเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย เนื่องจากแบคทีเรียโอซินมีประจุเป็นบวกจึงดึงดูดกับประจุลบที่กับหมู่ฟอสเฟตที่ไซโตพลาสซึมิกเมมเบรนของแบคทีเรีย (Cleveland *et al.*, 2001) และมีผลต่อแรงในการ



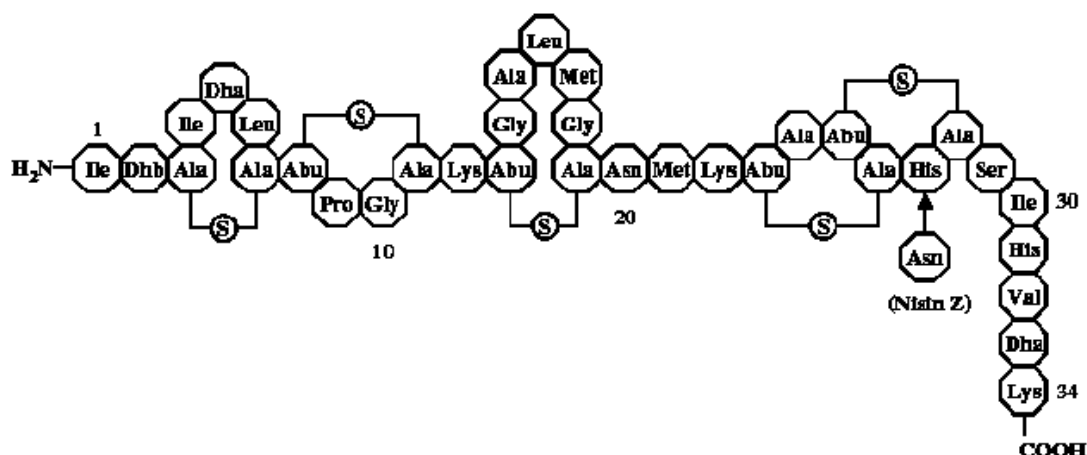
ภาพที่ 5 กลไกการทำงานของแบคทีเรียโอซินต่อเซลล์แบคทีเรียตรงตำแหน่งเยื่อหุ้มเซลล์

หมายเหตุ ΔpH = pH gradient, $\Delta\psi$ = membrane potential

ที่มา: ดัดแปลงจาก McAuliffe *et al.* (2001)

เคลื่อนที่ของโปรตอน (proton motive force) จนทำให้เกิดรูที่ชั้นฟอสโฟลิปิด (phospholipids bilayer) สารโมเลกุลต่ำ เช่น กรดอะมิโน ATP และไอออน เช่น โพแทสเซียม และแมกนีเซียม เคลื่อนที่ผ่านออกมานอกเซลล์แบคทีเรีย (ภาพที่ 5) (Vuyst and Vandamme, 1994; McAuliffe *et al.*, 2001) จนกระทั่งไปยับยั้งการสร้างพลังงานและการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์ มีผลให้เซลล์แบคทีเรียตาย อีกทั้งยังยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์อีกด้วย (Vuyst and Vandamme, 1994)

ตัวอย่างของแบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ ไนซิน ซึ่งพบเมื่อปี 1928 จัดเป็นแบคทีเรียโอซินที่จัดอยู่ในคลาสแลนติไบโอติกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียโอซินชนิดแรกที่น่าสนใจในอุตสาหกรรมอาหาร และได้รับการรับรอง GRAS (general reconized as safe) จากสหรัฐอเมริกาในการนำไปใช้อาหาร ไนซินเป็นโปรตีนหรือเปปไทด์ที่สังเคราะห์จากไรโบโซมในแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* และ *Streptococcus lactis* มีความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียอื่นๆ ไนซินประกอบด้วยกรดอะมิโน 34 ชนิด กระบวนการสังเคราะห์ไนซินเริ่มต้นจากเปปไทด์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบด้วยการดีไฮเดรชัน (dehydration) ของเซอรีน (serine) และทรีโอนีน (threonine) ไปเป็นกรด ไดดีไฮโดรอะลานีน (didehydroalanine) และไดดีไฮโดรอะมิโนบูทีริก (didehydroaminobutyric) จากนั้นมีการเติมหมู่ซีสเทอีน ซัลไฟดิล (cysteine sulphydryl) แบบสเตอริโอสเปซิฟิก (stereospecific) เพื่อสร้างพันธะคู่ที่ตำแหน่งอัลฟาและเบต้า (α , β -double bond) โดยอยู่ในรูปของกรดอะมิโนที่มีไทโออีเทอร์ (thioether) เช่น แลนไทโอนีน (lanthionine) และเบต้า-เมทิลแลนไทโอนีน (β -methyllanthionine) แต่ไม่มีความคงตัวจึงเปลี่ยนไปอยู่ในรูปวงแหวน 5 เหลี่ยม ซึ่งเป็นโครงสร้างสุดท้าย จากนั้นเคลื่อนตัวออกจากเซลล์ที่ตำแหน่ง C – terminal leader peptide แล้วถูกตัดแยกออกสุดท้ายเป็น mature nisin หลุดออกไป ไนซินมี 2 ชนิด คือ A และ Z มีความแตกต่างกันตรงกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 27 เป็นกรดอะมิโนแอสปาราจีน (asparagines) และฮิสติดีน (histidine) ตามลำดับ และไนซิน Z แสดงสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) และความคงทนต่อความร้อนมากกว่าไนซิน A เมื่อ pH สูงขึ้น (Adams, 2003) โครงสร้างไนซินแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 โครงสร้างของไนซิน Z (Dha = dehydroalanine Dhb = dehydrobutyryne Ala-S-Ala = lanthionine และ Abu-S-Ala = β -methyl-lanthionine)

ที่มา: Anonymous. (2006)

ไนซินทำหน้าที่ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* และ *Streptococcus* เป็นต้น กลไกการทำงานของไนซิน มีหลักการเดียวกับของแบคทีริโอซินคังที่ได้กล่าวข้างต้น คือ การเข้าทำปฏิกิริยา แล้วจัดเรียงทำให้เกิดรูตรงตำแหน่งเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ไวต่อไนซิน ทำให้เกิดแรงในการเคลื่อนที่ของโปรตอนถูกทำลายกับเกิดการไหลของส่วนประกอบอื่นๆ ในเซลล์ เป็นเหตุให้การควบคุมสารผ่านเข้า-ออกเมมเบรนทำงานบกพร่อง จนกระทั่งเซลล์ตาย แต่ไนซินไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบไม่ยอมให้สารโมเลกุลสูงกว่า 700 Da ผ่านซึ่งไนซินมีขนาดโมเลกุลถึง 3353 Da ดังนั้นจึงไม่สามารถผ่านเข้าไปทำงานได้ และไนซินยังไม่มีผลในการยับยั้งยีสต์และราอีกด้วย (Adams, 2003)

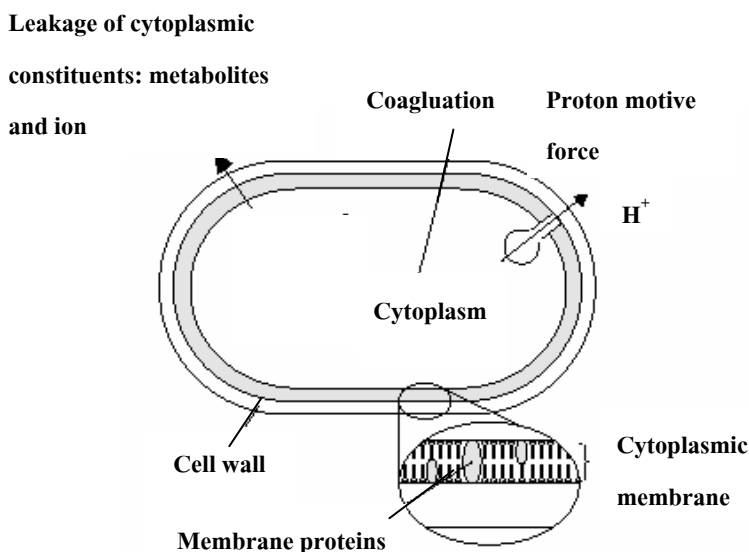
การศึกษาและการนำไปใช้ประโยชน์ของไนซิน นำไปใช้เป็นสารเติมลงในอาหารต่าง เช่น ผลิตภัณฑ์ชีส อาหารกระป๋อง เครื่องดื่มประเภทนม น้ำผลไม้ เนื้อสัตว์ และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากมาย เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Adams, 2003) นอกจากนี้มีหลายการศึกษาที่นำไนซินมาผสมกับพอลิเมอร์หลายชนิดเพื่อพัฒนาเป็นฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ไคโตแซน (chitosan) โซเดียม อัลจิเนต (Na-alginate) คาราจีแนน (K-carrageenan) กลูโคแมนแนนผสมไคโตซาน ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส (hydroxypropyl methylcellulose; HPMC) เมทิลเซลลูโลส (methylcellulose; MC) โปรตีนถั่วเหลือง และโปรตีน

ข้าวโพด เป็นต้น (Cha *et al.*, 2002; Padgett *et al.*, 1998; Cha *et al.*, 2003; Coma *et al.*, 2001; Pranoto *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006)

5.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยมีประโยชน์ต่อผักและผลไม้ในการช่วยให้กลิ่นและสี นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายพืชผล โดยพบเป็นสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากพืช มีความสามารถในการนำมาใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อีกทั้งยังสามารถควบคุมโรคพืชที่เกิดภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ การทำงานของสารประกอบฟีนอลิกเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยการเข้าทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนสปอร์ เมื่อเอนไซม์เสียสภาพทำให้อัตราการเจริญและการงอกของสปอร์ช้าลง (Ippolito and Nigro, 2003; Lopez-Malo *et al.*, 2005) โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากแบคทีเรียแกรมบวกแล้ว ยังสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์และราได้

ภาพที่ 7 แสดงกลไกการทำงานของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์แบคทีเรีย เนื่องจากสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยนี้มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ซึ่งสามารถเข้าไปรวมอยู่กับส่วนไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์และไมโทคอนเดรียของเซลล์แบคทีเรียได้ มีผลให้การผ่านเข้าออกของสารจากเซลล์เพิ่มขึ้น เกิดการรั่วของไอออน และสารประกอบที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ รบกวนแรงในการเคลื่อนที่ของโปรตอน และเกิดการตกตะกอนของสารต่างๆ ในเซลล์ จนทำให้เซลล์ตาย สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ภายในไซโตพลาสซึมเมมเบรน เช่น ATPases ซึ่งอยู่ในไซโตพลาสซึมเมมเบรนและอยู่ติดกับโมเลกุลไขมัน โดยส่วนวงแหวนไฮโดรคาร์บอน (cyclic hydrocarbon) ของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหย และมีสมบัติชอบไขมัน (lipophilic) จะไปทำปฏิกิริยากับ ATPases และเมื่อสะสมอยู่มากๆ มีผลทำให้โครงสร้างของไขมัน-โปรตีนของเซลล์เสียรูป สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยสามารถเร่งการเจริญของซูโดไมซีเลีย (pseudomycelia) ในยีสต์ เป็นผลให้เซลล์ที่สร้างใหม่ไม่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยยังสามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานหรือการสังเคราะห์โครงสร้างเซลล์ (Burt, 2004) อย่างไรก็ตามสารประกอบฟีนอลิกมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอาหาร เพราะเมื่อใช้ที่ความ



ภาพที่ 7 ผลของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยต่อเซลล์แบคทีเรีย

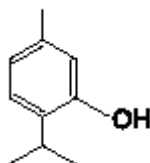
ที่มา: ดัดแปลงจาก Burt (2004)

เข้มข้นสูงจะทำให้อาหารมีกลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงและไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงเริ่มมีการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชและสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยไปใช้ร่วมกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น นิสิน (nisin) และไลโซไซม์ (lysozyme) เป็นต้น (Yamazaki *et al.*, 2004) ประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นและปัจจัยแวดล้อม เช่น a_w และค่า pH (Lopez-Malo *et al.*, 2005) ตัวอย่างสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่มักใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร มีดังนี้

5.3 ไทมอล (Thymol)

ไทมอล หรือ 5-methyl-2-isopropyl-1-phenol เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลมาเกาะ (ภาพที่ 8) เป็นสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจาก Thyme ซึ่งเป็นมินต์ชนิดหนึ่ง นิยมนำมาใช้เป็นเครื่องเทศในการเตรียมอาหารในประเทศแถบยุโรป เช่น ชุป และ ไส้กรอก เป็นต้น โดยพบว่า *Thymus vulgaris*, L. มีไทมอลเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 31.19 – 41.06 พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากดอกของ *Thymus vulgaris*, L. ที่ความเข้มข้น 800 ppm สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*,

Salmonella typhimurium, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Micrococcus* spp., *Sarcina flava*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis*, *B. thuringiensis* และ *Listeria innocua* ได้ร้อยละ 100 (Marino *et al.*, 1999)



ภาพที่ 8 โครงสร้างไทมอล

ที่มา: Burt (2004)

หลักการทำงานของไทมอล คือไทมอลจะเข้าทำลายผนังชั้นนอกของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ และทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของไซโตพลาสเมมเบรน (Delgado *et al.*, 2004) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ ไทมอลสามารถทำลายเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ของแบคทีเรียแกรมลบได้ จนทำให้เกิดการไหลออกของลิโปลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharides; LPS) และเพิ่มอัตราการซึมผ่านของสารต่างๆ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Helander *et al.*, 1998) ไทมอลจะมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพกรด เนื่องจากโมเลกุลจะมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophobic) สูง ซึ่งอาจทำให้ไปเกาะที่ส่วนที่ชอบน้ำของโปรตีนและยังสามารถละลายในไขมันได้ดีขึ้น มีผลต่ออัตราการแพร่ของสารเข้าหรือออกจากเซลล์ (Juven *et al.*, 1994)

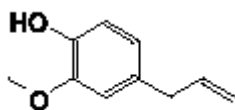
การศึกษาและนำไปใช้ประโยชน์จากไทมอล เนื่องจากไทมอลมีสมบัติเป็นสารลดอาหารตามธรรมชาติ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย รา และจุลินทรีย์อื่นๆ ในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* และแบคทีเรียในช่องปาก (Ettayebi *et al.*, 2000; Lopez-Mallo *et al.*, 2005) การศึกษาของ Nostro *et al.* (2004) รายงานว่าไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.03 – 0.06 โดยปริมาตร/ปริมาตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ได้ เชื้อ *Bacillus cereus* INRA-AVZ421 และ *Bacillus cereus* INRA-AVTZ415 มีปริมาณลดลงเมื่อใช้ไทมอลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.4 และ 0.8 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ แต่สำหรับเชื้อ *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *Rhizobium leguminosarum* และ

B. subtilis ความเข้มข้นของไทมอลที่ใช้ในการยับยั้งต้องสูงมากขึ้น (Delgado *et al.*, 2004) ในการศึกษาของ Yamazaki *et al.* (2004) เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของไทมอลโดยการใช้ร่วมกับไนซิน พบว่าไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (3.3 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้เช่นเดียวกับเมื่อผสมไทมอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (1.3 มิลลิโมล/ลิตร) ร่วมกับไนซินความเข้มข้น 1.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (0.036 มิลลิโมล/ลิตร) จึงช่วยลดปริมาณการใช้ไทมอลลงเนื่องจากข้อจำกัดในการนำไปใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารเพราะอาจทำให้เกิดกลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้การใช้ไทมอลร่วมกับไนซินยังให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีกว่าการใช้ไทมอลหรือไนซินเพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงถึงผล synergism ของไทมอลกับไนซิน (Ettayebi *et al.*, 2000) และการใช้ไทมอลร่วมกับไนซินยังเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Salmonella Typhimurium* และ *E. coli* O157:H7 โดยไทมอลจะช่วยทำลายเมมเบรนชั้นนอก ทำให้ไนซินสามารถเข้าไปยับยั้งได้ (Adams, 2003)

Chu *et al.* (2001) ศึกษาผลของไทมอลต่อจำนวนเชื้อราในเชอร์รี่หวาน (sweet cherries) พบว่าไทมอลที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดจำนวนราสีน้ำตาลลงเหลือร้อยละ 12 แต่ไม่มีผลต่อราสีน้ำเงินอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใช้ไทมอลที่ความเข้มข้นนี้ไม่มีผลต่อคุณภาพของผลเชอร์รี่ในด้านความแน่นเนื้อ (firmness) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (total soluble solid) และปริมาณกรดจากการไทเทรต (titratable acid)

5.4 ยูจีนอล (Eugenol)

ยูจีนอล หรือ 2-Methoxy-4-(2-propenyl)phenol (ภาพที่ 9) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในกานพลู (*Syzygium aromaticum*) ประมาณร้อยละ 75 – 85 (Burt, 2004) มีรายงานพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Penicillium citrinum* ทั้งยังช่วยชะลอการสร้างสารพิษของเชื้อราได้อีกด้วย (Davidson and Zivanovic, 2003)



ภาพที่ 9 โครงสร้างยูจินอล

ที่มา: Burt (2004)

หลักการทำงานของยูจินอล จากโครงสร้างของยูจินอล ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลของยูจินอลสามารถไปเกาะกับโปรตีน ทำให้ลดการทำงานของเอนไซม์ลง เช่น เอนไซม์ในเชื้อ *Enterobacter aerogenes* (Wendakoon and Sakaguchi, 1995) นอกจากนี้ยังยับยั้งการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีนเอสของเชื้อ *B. cereus* และยังมีผลต่อผนังเซลล์ ทำให้เกิดการแตกของเซลล์ (Thoroski *et al.*, 1989)

การศึกษาและการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น การศึกษาของ Kim *et al.* (1995) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของยูจินอลที่สามารถยับยั้ง *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enteritidis*, *Listeria monocytogenes* ได้เท่ากับ 1.0, 0.5 และ > 1.0 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Yamazaki *et al.* (2004) พบว่ายูจินอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (6.1 มิลลิโมล/ลิตร) และยูจินอลความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (3.0 มิลลิโมล/ลิตร) ผสมรวมกับไนซินความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (0.036 ไมโครโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้พอๆ กัน เช่นเดียวกับกรณีโพลีเอทิลีนที่กล่าวมาแล้ว การศึกษาของสิรินาถ (2548) พบว่าขนมปังที่ใส่น้ำมันหอมระเหยจากกานพลูในปริมาณร้อยละ 0.10 (โดยน้ำหนักแป้ง) มีคะแนนการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างจากขนมปังสูตรต้นแบบที่ไม่มีการใส่น้ำมันหอมระเหยทางสถิติ และสามารถเก็บรักษาในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (polyethylene, PE) ที่อุณหภูมิห้อง (28°C) ได้เป็นเวลา 3 วัน โดยไม่พบสปอร์ของเชื้อรา ขณะที่ขนมปังสูตรต้นแบบมีอายุการเก็บไม่เกิน 2 วัน นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของโคโคนีเซีย *Eurotium repens* ให้มีขนาดเล็กกว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบอบเชย ตะไคร้ bay และ thyme ตามลำดับ ในขนมเค้กที่เก็บใน petri plate เป็นระยะเวลา 42 วัน อุณหภูมิ 25°C โดยควบคุม a_w อยู่ที่ 0.80 ด้วย water-glycerol agar (Guynot *et al.*, 2003)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ไทมอล (thymol) จากบริษัท Sigma – Aldrich Chemie, ประเทศเยอรมนี
- 1.2 ยูจีนอล (eugenol) จากบริษัท Sigma – Aldrich Chemie, ประเทศเยอรมนี
- 1.3 ไนซิน (nisin) จากบริษัท Sigma – Aldrich Chemie, ประเทศเยอรมนี
- 1.4 สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก KJ119 จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะ

อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เตรียมโดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก KJ119 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS broth ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวด้วยความเร็ว 10,000 rpm แล้วกรองผ่านหัวกรองที่มีขนาดเยื่อกรอง 0.22 ไมครอน ที่ปราศจากเชื้อ เพื่อแยกเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกออกจากส่วนสารละลายใส ซึ่งก็คือ สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก

- 1.5 ไคโตแซน (Chitosan) จากบริษัท T.C. union foods, ประเทศไทย
- 1.6 มะเขือเทศพันธุ์ห่อ จากตลาดไท จังหวัดปทุมธานี
- 1.7 แป้งสาลีเอนกประสงค์
- 1.8 น้ำตาล ยี่ห้อวังขนาย
- 1.9 เกลือปน ยี่ห้อปรุngthิพย์
- 1.10 เนยขาว
- 1.11 ผงยีสต์สำเร็จรูป
- 1.12 หางนมผง
- 1.13 ขนมปั่น จากร้านเซ็นทรัลเบเกอร์รี่ สีแยกเกษตร
- 1.14 ขนมทองหยอด จากร้านรสน้ำทิพย์ สีแยกเกษตร

2. สารเคมี

2.1 กรดอะซิติก

2.2 น้ำกลั่น

2.3 เอทิลแอลกอฮอล์

2.4 สารละลายเจือจางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 เตรียมจากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 34 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำเข้าในหม้อนึ่งความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นนำมา 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและนำเข้าในหม้อนึ่งความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. อุปกรณ์ทดสอบกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์

3.1 กระดาษกรอง whatman no.4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร ที่ตัดให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

3.2 กระดาษทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ (paper disc: whatman AA. Discs) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.3 ไมโครปิเปต

4. อุปกรณ์เตรียมสารเคลือบและฟิล์ม

4.1 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

4.2 เครื่องกวนผสม (Agitator) จากบริษัท Arrow Engineering, ประเทศสหรัฐอเมริกา

4.3 เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง รุ่น GF-300 จากบริษัท Diethelm, ประเทศญี่ปุ่น

4.4 แท่นปรับระดับ พร้อมอุปกรณ์ปรับระดับ

4.5 ฝากรอง (silk screen) ขนาด 120 เมช

5. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- 5.1 เครื่องวัดสี Spectrophotometer ยี่ห้อ Minolta รุ่น CM3500d, ประเทศญี่ปุ่น
- 5.2 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Lloyd Instrument รุ่น TA 500, ประเทศอังกฤษ
- 5.3 เครื่องวัดค่า Water Activity รุ่น TH 200 บริษัท Novasina Ltd., ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 5.4 เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง รุ่น GF-300 จากบริษัท Diethelm, ประเทศญี่ปุ่น

6. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- 6.1 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (Inolab pH meter) รุ่น 1 จากบริษัท WTW, ประเทศเยอรมนี
- 6.2 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (hand refractometer) รุ่น PR-101 จากบริษัท Atago จำกัด, ประเทศญี่ปุ่น
- 6.3 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

7. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- 7.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ
- 7.2 อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 7.3 ลวดเขี่ยเชื้อ
- 7.4 หม้อนึ่งความดันสูง (Autoclave) รุ่น 3850M
- 7.5 ตู้ปลอดเชื้อ
- 7.6 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)
- 7.7 ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Kottermann รุ่น D-3162, ประเทศเยอรมนี
- 7.8 ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Binder รุ่น BD 115
- 7.9 เครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher lab-blender 400) รุ่น BA 7021, ประเทศอังกฤษ
- 7.10 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Sartorius Basic รุ่น BA 210
- 7.11 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126

7.12 ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115

8. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

8.1 ห้องทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

8.2 แบบทดสอบ

8.3 ชุดอุปกรณ์ในการทดสอบ

9. อุปกรณ์วิเคราะห์ผลทางสถิติ

9.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

9.2 โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 12.0 for Windows

วิธีการ

1. การศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

ศึกษากลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้ตัวอย่างอาหาร ได้แก่ มะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหอยเกิดการเน่าเสีย โดยเก็บรักษามะเขือเทศใส่ถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน (polypropylene; PP) ขนาด 6×9 นิ้ว ที่เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู ทั้งสองด้านของถุง แล้วปิดฉีกปากถุง ขนมปิ้งบรรจุใส่ถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน ปิดฉีกปากถุง และขนมทองหอยบรรจุด้วยโฟมแล้วหุ้มด้วยพลาสติกห่ออาหาร นำตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) สุ่มตัวอย่างออกมาสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในวันที่ 0, 3, 7 และ 10 เพื่อมาวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ดังนี้

1.1 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (plate count agar)

วิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ข้อ 1 จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อันใหม่เพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จึงถ่ายเชื้อเก็บใน NB ที่มีสารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 15 และดูดมาเก็บในหลอดเซนตริฟิวขนาดเล็ก (microcentrifuge) ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส กระทั่งนำไปศึกษาต่อ

1.2 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (DeMan, Rogosa, Sharpe Agar)

วิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ข้อ 2 จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar อันใหม่เพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จึงถ่ายเชื้อเก็บใน MRS broth ที่มีสารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 15 และเก็บในหลอดเซนตริฟิวขนาดเล็ก ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส กระทั่งนำไปศึกษาต่อ

1.3 จำนวนยีสต์

วิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ข้อ 3 จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar อันใหม่เพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายมาเลี้ยงใน yeast malt extract broth บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จึงถ่ายเชื้อเก็บใน yeast malt extract broth ที่มีสารละลายกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 15 และเก็บในหลอดเซนต์ริฟขนาดเล็กลงไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.4 เชื้อรา

วิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ข้อ 3 จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำไปต่อเชื้อ (subculture) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar อันใหม่เพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 7 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อโดยนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กระทั่งนำไปศึกษา

2. การศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดของสารยับยั้งจุลินทรีย์

2.1 การศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์จากอาหารของสารยับยั้งจุลินทรีย์

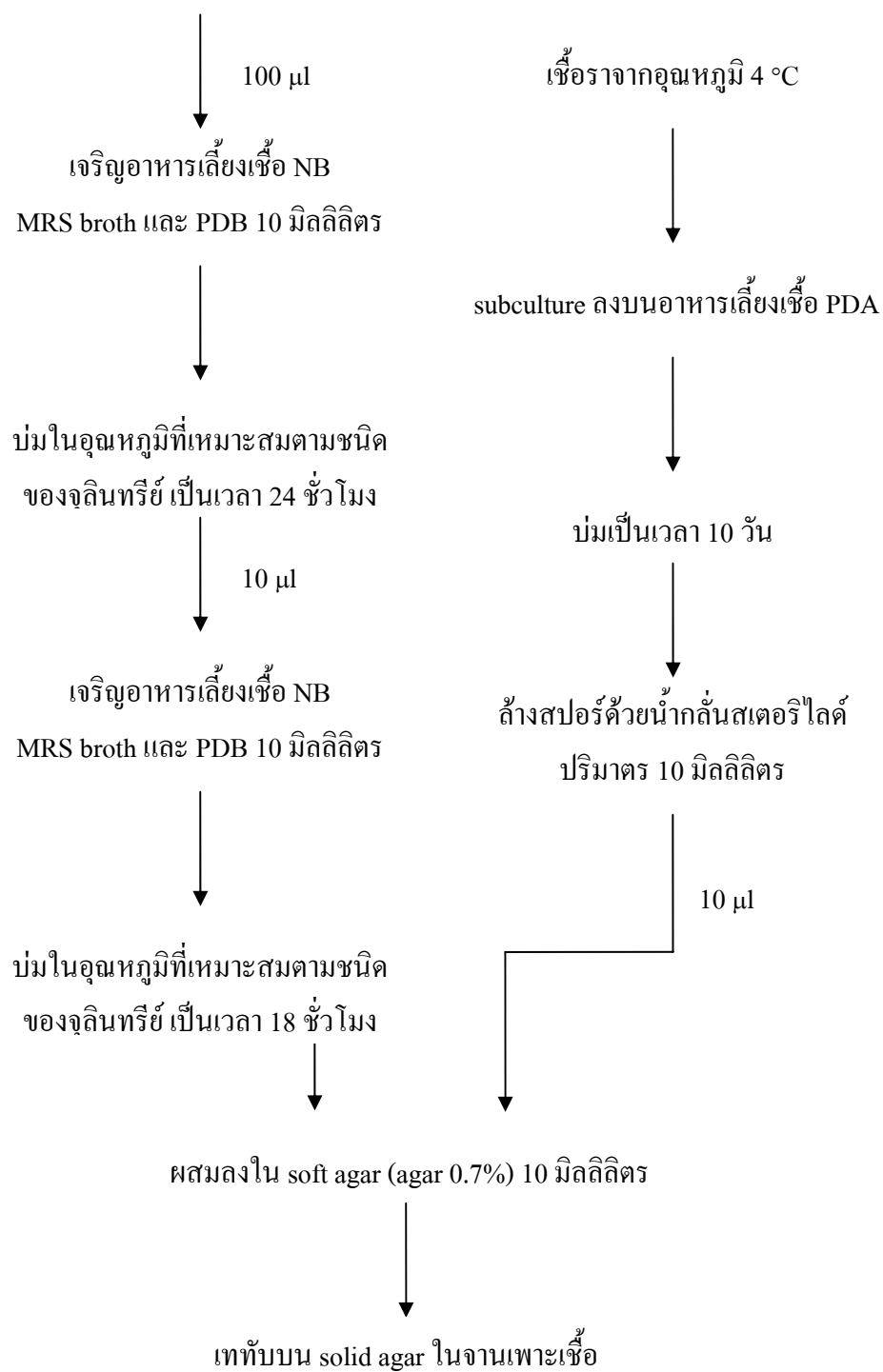
ใช้วิธี disc agar diffusion (clear inhibition zone assay) ดัดแปลงตามวิธีของ Eswaranandam *et al.* (2004) วัดกิจกรรมการยับยั้งของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร โดยนำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากข้อ 1 มาทดสอบกิจกรรมการยับยั้งของสารยับยั้งจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร ในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.02N สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ยูจีนอลความเข้มข้น 1,000 ppm และไทมอลความเข้มข้น 1,000 ppm ในเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งความเข้มข้นเหล่านี้ได้จากการตรวจเอกสารที่ศึกษา ว่าความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้ง

การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ วิธีการเตรียมจุลินทรีย์สำหรับทดสอบและวิธีทดสอบ disc agar diffusion อธิบายดังนี้

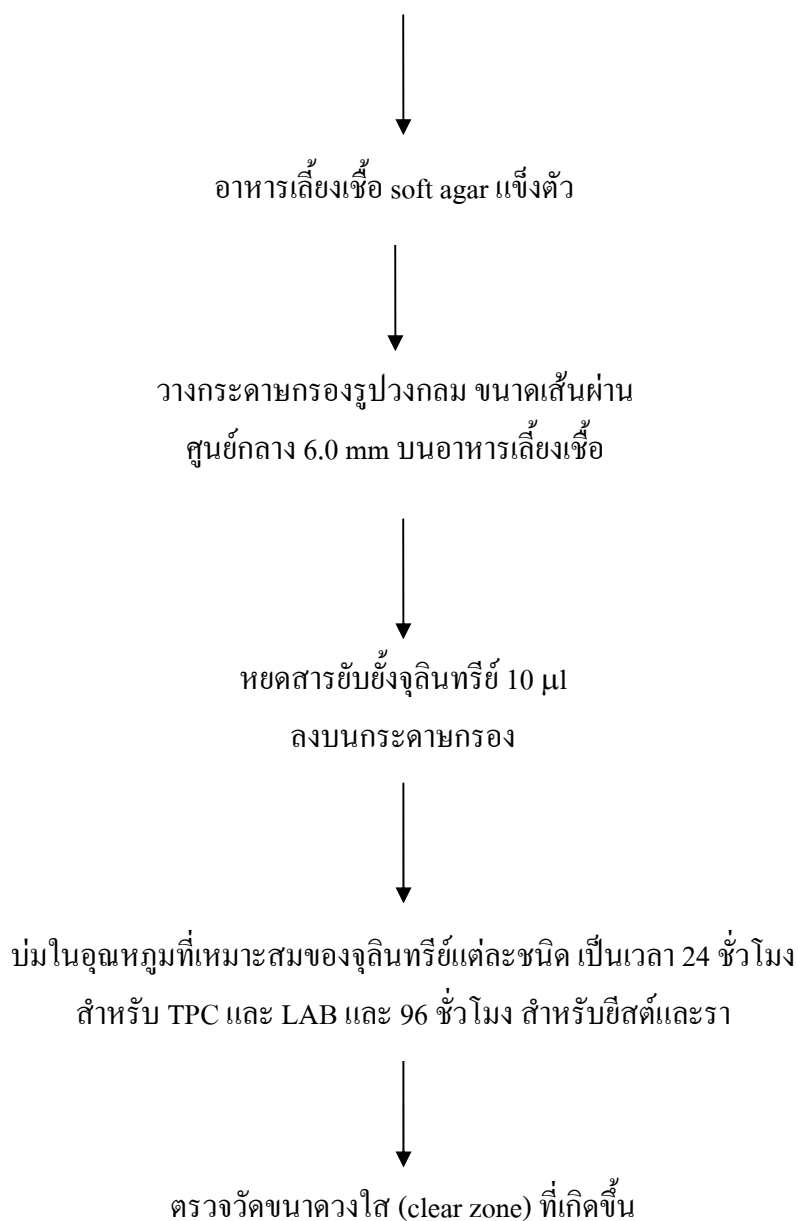
2.1.1 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA

นำเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ออกมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลาย แล้วดูดเชื้อโดยใช้ไมโครปิเปตมา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตร ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดเชื้อต่อในปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตร ในหลอดทดลองอันใหม่ บ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อที่ได้ขึ้นจำนวน 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient soft agar (มี agar ร้อยละ 0.7) ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเททับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) ที่เตรียมไว้จนแข็งตัวแล้วในงานเพาะเชื้อ ร่องอาหารเลี้ยงเชื้อ soft agar แข็งตัว จากนั้นวางกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman No. 4) รูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว หยดสารยับยั้งจุลินทรีย์ข้างต้นจำนวน 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง โดยมีตัวอย่างควบคุมคือ ตัวทำลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำงานเพาะเชื้อทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจลักษณะและขนาดวงใสที่เกิดขึ้น (ภาพที่ 10)

เชื้อ TPC LAB และยีสต์ ที่เก็บไว้ที่ -20°C



ภาพที่ 10 วิธีการ disc agar diffusion



ภาพที่ 10 (ต่อ)

หมายเหตุ TPC = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, LAB = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบน
อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

ที่มา: ดัดแปลงจาก Eswaranandam *et al.* (2004)

2.1.2 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

นำเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ออกมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลาย แล้วดูเชื้อโดยใช้ไมโครปิเปตมา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตรในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูเชื้อที่ได้นี้ต่อในปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตรในหลอดทดลองอันใหม่ บ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อที่ได้นี้จำนวน 10 ไมโครลิตรใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS soft agar (มี agar ร้อยละ 0.7) ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเททับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่เตรียมไว้จนแข็งตัวแล้วในงานเพาะเชื้อ ร่องอาหารเลี้ยงเชื้อ soft agar แข็งตัว จากนั้นวางกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman No. 4) รูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว หยดสารยับยั้งจุลินทรีย์ข้างต้นจำนวน 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง โดยมีตัวอย่างควบคุมคือ ตัวทำลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำงานเพาะเชื้อทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะและขนาดวงใสที่เกิดขึ้น (ภาพที่ 10)

2.1.3 เชื้อยีสต์

นำเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ออกมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลาย แล้วดูเชื้อโดยใช้ไมโครปิเปตมา 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose broth (PDB broth) ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตรในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูเชื้อที่ได้นี้ต่อในปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตรในหลอดทดลองอันใหม่ บ่มที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อที่ได้นี้จำนวน 10 ไมโครลิตรใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose soft agar (มี agar ร้อยละ 0.7) ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเททับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ถูกเตรียมไว้จนแข็งตัวแล้วในงานเพาะเชื้อ ร่องอาหารเลี้ยงเชื้อ soft agar แข็งตัว จากนั้นวางกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman No. 4) รูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว หยดสารยับยั้งจุลินทรีย์ข้างต้นจำนวน 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง โดยมีตัวอย่างควบคุมคือ ตัวทำลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำงานเพาะเชื้อทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะและขนาดวงใสที่เกิดขึ้น (ภาพที่ 10)

2.1.4 เชื้อรา

นำเชื้อที่เก็บในอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส ออกมาเลี้ยงเชื้อโดยใช้ขวดเลี้ยงเชื้อ แล้ว subculture ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose soft agar slant (PDA slant) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำเชื้อที่ได้ไปล้างสปอร์โดยใส่น้ำกลั่นสเตอริไลต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปแล้วใช้ขวดเลี้ยงเชื้อชุดสปอร์ให้ละลายอยู่น้ำกลั่นสเตอริไลต์ คูด สารละลายสปอร์ของเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยใช้ไมโครปิเปตมาใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose soft agar (มี agar ร้อยละ 0.7) ที่มีปริมาตรอยู่ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเททับ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ถูกเตรียมไว้จนแข็งตัวแล้วในงานเพาะเชื้อ ร่อนอาหารเลี้ยงเชื้อ soft agar แข็งตัว จากนั้นวางกระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman No. 4) รูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว หยดสารยับยั้งจุลินทรีย์ข้างต้นจำนวน 10 ไมโครลิตร ลง บนกระดาษกรอง โดยมีตัวอย่างควบคุมคือ ตัวทำลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิด นำงาน เพาะเชื้อทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะและขนาดวงใส ที่เกิดขึ้น (ภาพที่ 10)

2.2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายและสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ

2.2.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาคือ เชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ผลถูกยับยั้งบางส่วนหรือถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วยสารยับยั้งจุลินทรีย์จากผลการทดลองข้อ 2.1 นำมาวัดการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ และเวลาดังนี้ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 2 ชั่วโมง กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 4 ชั่วโมง และยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มี การเจริญเติบโตสูงสุดเป็นเชื้อเป้าหมายในการศึกษา ซึ่งคาดว่าเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร สำหรับเชื้อราไม่ต้องวัดการเจริญเนื่องจากผลการทดลองในข้อ 2.1 พบว่าเชื้อราจากอาหารแต่ละ ชนิดถูกยับยั้งได้เพียงชนิดเดียว จึงใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายได้เลย

2.2.2 การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสม

นำเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่คัดเลือกจากข้อ 2.2.1 มาศึกษาด้วยวิธี disc agar diffusion เช่นเดียวกับข้อ 2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และจัดตั้งทดลองแบบแฟกทอเรียล 2×2 ทดสอบกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ คือ ไนซินที่ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 IU/มิลลิลิตร กับยูจีนอลหรือไทมอลที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm รวม 8 สิ่งทดลอง ตรวจสอบลักษณะวงใสที่เกิดขึ้น และวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในหน่วยมิลลิเมตร มีวิธีการเตรียมจุลินทรีย์สำหรับทดสอบและวิธีทดสอบ disc agar diffusion ดังนี้

- ก. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ตามข้อ 2.1.1*
- ข. กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ตามข้อ 2.1.2*
- ค. ยีสต์ ตามข้อ 2.1.3*
- ง. รา ตามข้อ 2.1.4*

หมายเหตุ *ก่อนการถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ soft agar ต้องเจือจางเชื้อด้วย phosphate buffer เพื่อปรับปริมาตรของเชื้อทดสอบให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับจำนวนเชื้อที่มีอยู่ในมะเชื้อเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอด ที่ได้ผลการทดลองข้อ 1 โดยยืนยันผลจำนวนเชื้อด้วยการทำ dilution plate count สำหรับเชื้อกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยีสต์ หรือนับจำนวนสปอร์ด้วย heamacytometer สำหรับเชื้อรา

ผลที่จากการทดลองนี้นำมาใช้เลือกชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะนำผสมในสารเคลือบและฟิล์มตามวิธีการเตรียมในข้อ 3 และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร ได้แก่ มะเชื้อเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอด ในระหว่างการเก็บรักษาด้วยสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ในข้อ 4

3. การเตรียมสารเคลือบและฟิล์มผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์

3.1 การเตรียมสารเคลือบ

เตรียมสารละลายสารเคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร จากผงไคโตแซน 1.5 กรัม นำไปละลายและกวนผสมในสารละลายอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย tween 80 จำนวน 2,000 ppm ผสมอยู่ (ดัดแปลงจาก El-Ghaouth *et al.*, 1991) กวนผสมด้วยเครื่องกวนผสม (agitator) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ฟองอากาศหายไป แล้วกรองผ่านใยไหม ขนาด 120 เมช เพื่อแยกอนุภาคที่ไม่ละลายออกจากสารละลายใส นำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

3.2 การเตรียมฟิล์ม

เตรียมฟิล์มจากสารละลายสารเคลือบที่เตรียมจากข้อ 3.1 นำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยเทสารละลายสารเคลือบปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงบนแผ่นกระจกใสขนาด 25×25 เซนติเมตร ที่ห่อหุ้มด้วยแผ่นฟิล์มสำหรับห่ออาหาร (wrap) ซึ่งตั้งปรับระดับด้วยลูกน้ำ เพื่อควบคุมให้แผ่นฟิล์มที่เตรียมมีความหนาเท่ากันตลอดทั้งแผ่น ตั้งให้ฟิล์มแห้งภายใต้ลมเป่าในสภาวะปลอดเชื้อ เมื่อฟิล์มแห้ง จะได้แผ่นฟิล์มขนาด 25×25 เซนติเมตร น้ำหนัก 2.4 กรัม นำไปเก็บแต่ละแผ่นไว้ในถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สำหรับการผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในสารละลายสารเคลือบไคโตแซน ทำโดยการเปิดสารยับยั้งจุลินทรีย์ตามปริมาตรหรือความเข้มข้นที่ต้องการศึกษาลงในสารละลายสารเคลือบคนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยแท่งแก้วที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้ว นำไปเคลือบผิวมะเขือเทศหรือขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ (วิธีการเตรียมตามภาพผนวกที่ ค1)

4. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างอาหารที่มีการใช้สารเคลือบหรือฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์

ผลการศึกษาขั้นต้นเพื่อคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ ที่จะนำมาผสมในสารเคลือบและฟิล์มไคโตแซน (ภาคผนวก ก) ได้ช่วงความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะนำมาศึกษาอิทธิพลของสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ต่อคุณภาพของอาหารในระหว่างการเก็บรักษา

4.1 มะเขือเทศ

คัดเลือกมะเขือเทศที่มีความสุกอยู่ในระดับ pink stage ด้วยสายตา คือระดับความสุกของมะเขือเทศที่มีสีผิวเป็นสีชมพู และแดงหรือผสมกันประมาณร้อยละ 30-60 ของผล เลือкмะเขือเทศน้ำหนักประมาณ 85 ± 5 กรัม ไม่มีรอยชำและตำหนิ นำมาล้างทำความสะอาดและเคลือบผิวด้วยสารละลายสารเคลือบที่ละด้านของผลมะเขือเทศ โดยใช้มือที่สวมถุงมือยาง สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงดังตารางที่ 3 ซึ่งใช้มะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวเป็นตัวอย่างควบคุม โดยความเข้มข้นของไนซินที่ใช้ได้สูงสุดเพียง 10,000 IU/กรัม เท่านั้น เนื่องจากสหรัฐอเมริกากำหนดให้ใช้ในไนซินในอาหาร

ตารางที่ 3 สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

สิ่งทดลอง	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์		
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ไนซิน (IU/กรัมของฟิล์ม)	ยูจินอล (ppm)
control	-	-	-
chitosan	1.5	-	-
*trt1	1.5	10,000	1,000
trt2	1.5	10,000	10,000
trt3	1.5	10,000	15,000
trt4	1.5	10,000	20,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion

เช่น ซีสมิโนซินได้ไม่เกิน 10,000 IU/กรัม (Cleveland *et al.*, 2001) หลังจากเคลือบแต่ละด้านแล้ว นำมะเขือเทศมาฟุ้งที่อุณหภูมิห้องให้ด้านที่เคลือบผิวแล้วให้แห้งก่อนการเคลือบผิวอีกด้านหนึ่ง ฟุ้งลมให้แห้งเช่นกัน ทำการเคลือบผิวดังกล่าวซ้ำอีกครั้ง รวม 2 ครั้ง โดยมะเขือเทศ 1 กิโลกรัม (ประมาณ 12 ผล) จะใช้สารเคลือบในการเคลือบผิวทั้งหมด 19 กรัม จากนั้นนำผลมะเขือเทศที่เคลือบผิวและแห้งแล้วไปบรรจุลงในถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน ขนาด 6×9 นิ้ว ที่เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู ทั้งสองด้านของถุง แล้วปิดผนึกปากถุงเก็บรักษาอุณหภูมิบรรจุถุงละ 3 ลูก มะเขือเทศไว้ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และใช้มะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวเป็นตัวอย่างควบคุม สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ทุก 3 วัน และ 4 วัน) หยุดวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสเมื่อมีปริมาณการเสื่อมเสียมากกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้น หรือมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ (≤ 5.5 คะแนน) แต่คุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์จนกระทั่งมีจำนวนเชื้อเกินมาตรฐาน ซึ่งคุณภาพต่างๆ ของมะเขือเทศที่วิเคราะห์มีดังนี้

4.1.2 คุณภาพทางกายภาพ

ก. ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่าออสโมเตอร์แอคทีวิตี้ (วัดค่าตัวอย่างเฉพาะวันเริ่มต้นของการศึกษาอายุการเก็บรักษา)

ข. การเสื่อมเสีย มะเขือเทศที่ใช้ในการศึกษาการเสื่อมเสียจำนวน 102 ลูก จะถูกแยกออกจากตัวอย่างมะเขือเทศที่เตรียมวิเคราะห์คุณภาพด้านอื่นๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับผลมะเขือเทศ จากการเกิดรอยดำหนิ รอยข้ำ การเจริญของเชื้อรา หรือลักษณะผิดปกติอื่นๆ เช่น การนิ่มละของผล หรือการบวมเต่งของผลในขณะที่เนื้อภายในนิ่มละ เป็นต้น โดยมะเขือเทศแต่ละลูกจะถูกคัดทิ้งเมื่อมีลักษณะผิดปกติดังกล่าวเกินร้อยละ 10 ของผล และถ้ามะเขือเทศจำนวน 102 ลูกมีการเน่าเสียเกินกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้น มะเขือเทศที่เหลือจะถูกทิ้งทั้งหมด ร้อยละการเสื่อมเสียของมะเขือเทศคำนวณตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ร้อยละการเสื่อมเสีย} = \frac{(M1 - M2) \times 100}{M1}$$

M1 = จำนวนมะเขือเทศก่อนการเก็บรักษา

M2 = จำนวนมะเขือเทศหลังการเก็บรักษา

ค. การสูญเสียน้ำหนัก โดยการชั่งน้ำหนักมะเขือเทศจำนวน 9 ผล ที่แยกออกไว้สำหรับวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักอย่างเดียว ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักมีสมการคำนวณดังนี้

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}$$

จ. ค่าสี (ระบบ CIE L*a*b*) ค่า hue angle และค่า chroma ของผิวมะเขือเทศจำนวน 3 ตำแหน่งในหนึ่งผล ด้วยเครื่อง spectrophotometer

ฉ. เนื้อสัมผัส วัดค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) ด้วยเครื่อง Lloyd Instrument TA 500 ใช้หัวกดทรงกลมขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร กดให้ผิวเสียรูปไปร้อยละ 50 ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลมะเขือเทศ ใช้ความเร็วในการกด 10 มิลลิเมตรต่อนาที ค่าที่ได้คือ ค่าแรงสูงสุดที่ใช้ในการกดตัวอย่าง โดยบันทึกเป็นค่าความแน่นเนื้อ หน่วยนิวตัน

4.1.2 คุณภาพทางเคมี

เตรียมตัวอย่างมะเขือเทศสำหรับการวิเคราะห์โดยนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ เพื่อให้ชิ้นมะเขือเทศละเอียดและเป็นเนื้อเดียวกัน

ก. ค่า pH วัดด้วยเครื่อง pH meter โดยนำน้ำผลมะเขือเทศปั่นกรองผ่านผ้าขาวและกรองต่อด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 จึงนำมาวัดค่า

ข. ปริมาณกรดจากการไทเทรต (Titratable acidity) ตามวิธี AOAC (2002)

4.1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

ก. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

ข. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

ค. จำนวนยีสต์และรา โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

4.1.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) ให้คะแนนความชอบมะเชื้อเทศ ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ทดสอบกับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยให้คะแนนคุณลักษณะ ด้านกลิ่นมะเชื้อเทศ กลิ่นรสมะเชื้อเทศ ความแข็ง และความชอบรวม เพื่อทดสอบการยอมรับมะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนและสารเคลือบผิวไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์

ข. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณ กับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10-12 คน โดยให้คะแนนความเข้ม (intensity) แต่ละคุณลักษณะของมะเชื้อเทศ ลงบนสเกลแบบเส้นที่มีความยาว 6 นิ้ว (15 ซม.) เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงตามตารางผนวกที่ 1 ร่วมกับการทดสอบการยอมรับเมื่อเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน คือ มะเชื้อเทศสดใหม่ที่ไม่เคลือบผิวด้วยวิธี overall quality rating โดยกำหนดคะแนน 1 และ 2 หมายถึง ไม่ยอมรับมากที่สุด ตัวอย่างมีการเสื่อมเสียอย่างชัดเจน สามารถทิ้งได้ทันที ไม่ต้องทดสอบ คะแนน 3, 4 และ 5 หมายถึง ไม่ยอมรับ ตัวอย่างมีคุณภาพแตกต่างกับตัวอย่างมาตรฐานในระดับที่ไม่เป็นที่ยอมรับ คะแนน 6, 7 และ 8 หมายถึง ยอมรับได้ ตัวอย่างมีคุณภาพแตกต่างกับตัวอย่างมาตรฐาน แต่อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ และคะแนน 9 และ 10 หมายถึง ยอมรับมากที่สุด ตัวอย่างมีคุณภาพใกล้เคียงหรือเหมือนกับตัวอย่างมาตรฐาน (Lawless and Heymanin, 1999) ผู้ทดสอบทำการทดสอบตัวอย่างมะเชื้อเทศในสิ่งทดลองต่างๆ ตามระยะเวลาการเก็บรักษา

4.2 ขนมปัง

เตรียมตัวอย่างขนมปังแซนวิช (ร้านเซ็นทรัลเบเกอรี่ สี่แยกเกษตร) 1 แถวซึ่งประกอบด้วยแผ่นขนมปังจำนวน 15 แผ่น นำมาห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน (ขนาด 25×25 เซนติเมตร) สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงดังตารางที่ 4 โดยความเข้มข้นของไนซินในฟิล์มใช้ได้สูงสุดเพียง 10,000 IU/กรัม เท่านั้น เนื่องจากสหรัฐอเมริกากำหนดให้ใช้ในชีนในอาหาร เช่น ชีสมีไนซินได้ไม่เกิน 10,000 IU/กรัม (Cleveland *et al.*, 2001) และบรรจุลงถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน (ภาพที่ 11) จากนั้นนำไปเก็บรักษาอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยใช้ขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์มเป็นตัวอย่างควบคุม สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทุกวัน จะหยุดวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และประสาทสัมผัสเมื่อมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ แต่คุณภาพทางจุลินทรีย์จะ

ตารางที่ 4 สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของขนมปังระหว่างการเก็บรักษา

สิ่งทดลอง	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์		
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ไนซิน (IU/กรัมของฟิล์ม)	ยูจินอล (ppm)
control	-	-	-
chitosan	1.5	-	-
*trt1	1.5	10,000	1,000
trt2	1.5	10,000	10,000
trt3	1.5	10,000	15,000
trt4	1.5	10,000	20,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion



(ก)



(ข)

ภาพที่ 11 การเตรียมตัวอย่างขนมปัง (ก) ตัวอย่างขนมปังที่ห่อฟิล์ม (ข) ตัวอย่างขนมปังที่ห่อ ฟิล์มและบรรจุถุงพอลิโพรไพลีนเรียบร้อยแล้ว

วิเคราะห์ไปจนกระทั่งมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน ซึ่งคุณภาพต่างๆ ของขนมปังที่วิเคราะห์มีดังนี้

4.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

ก. ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (วัดค่าตัวอย่างเฉพาะวันเริ่มต้นของการศึกษาอายุการเก็บรักษา)

ข. เนื้อสัมผัส ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Lloyd รุ่น TA 500 ใช้ตัวอย่างแผ่นขนมปังหนา 12.5 มิลลิเมตร หัวกดมีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 5 เซนติเมตร ความเร็วของหัวกด 20 มิลลิเมตรต่อนาที กดลงไปเป็นระยะทางให้ผลิตภัณฑ์เสียรูปร้อยละ 40 ของความสูงตัวอย่าง ใช้โปรแกรม texture profile analysis (TPA)

4.2.2 คุณภาพทางจุลินทรีย์

ก. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

ข. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

ค. จำนวนยีสต์และรา โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

4.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) โดยให้คะแนนความชอบขนมปัง ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ทดสอบกับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ให้คะแนนคุณลักษณะ ด้านกลิ่นหอมขนมปัง ความนุ่ม และความชอบรวม เพื่อทดสอบการยอมรับขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์

ข. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณกับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10–12 คน โดยให้คะแนนความเข้ม (intensity) แต่ละคุณลักษณะของขนมปังลงบนสเกลแบบเส้นที่มีความยาว 6 นิ้ว (15 ซม.) เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงตามตารางผนวกที่ 2 ร่วมกับการทดสอบการยอมรับเมื่อเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน คือ ขนมปังสดใหม่ที่ไม่ห่อฟิล์ม ด้วยวิธี overall quality rating เกณฑ์การให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณของมะเขือเทศ

4.3 ขนมหอยทอด

เตรียมตัวอย่างขนมหอยทอด (ร้านรสน้ำทิพย์ สี่แยกเกษตร) จำนวน 24 เม็ด บรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีฟิล์มไคโตแซน (ขนาด 12.5×12.5 เซนติเมตร) รองอยู่ด้านล่างกล่อง สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงดังตารางที่ 5 โดยความเข้มข้นของไนซินในฟิล์มใช้ได้สูงสุดเพียง 10,000 IU/กรัม เท่านั้น เนื่องจากสหรัฐอเมริกากำหนดให้ใช้ในอาหาร เช่น ชีสมีไนซินได้ไม่เกิน 10,000 IU/กรัม (Cleveland *et al.*, 2001) เรียงขนมเป็น 2 ชั้น ชั้นละ 12 ชิ้น โดยที่ระหว่างชั้นของทองหอยทอดจะมีแผ่นฟิล์มวางอยู่ พยายามให้แผ่นฟิล์มสัมผัสกับขนมหอยทอดให้มากที่สุด เมื่อเรียงขนมครบทั้ง 2 ชั้น จึงนำแผ่นฟิล์มมาวางทับอีกชั้นหนึ่ง ปิดฝากล่องพลาสติกครอบด้านให้สนิทด้วยเทปกาวใส (ภาพที่ 12) จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) โดย

ตารางที่ 5 สิ่งทดลองที่มีปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของขนมหอยทอดระหว่างการเก็บรักษา

สิ่งทดลอง	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์			
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ไนซิน (IU/กรัมของฟิล์ม)	ไทมอล (ppm)	ยูจินอล (ppm)
control	-	-	-	-
chitosan	1.5	-	-	-
*trt1	1.5	10,000	1,000	500
trt2	1.5	10,000	20,000	10,000
trt3	1.5	10,000	40,000	20,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion



(ก)



(ข)

ภาพที่ 12 การเตรียมตัวอย่างขนมทองหยอด (ก) ตัวอย่างขนมทองหยอดที่เรียงในกล่องพลาสติกที่มีฟิล์มไคโตแซนหรือฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ (ข) ตัวอย่างขนมทองหยอดที่มีฟิล์มและบรรจุในกล่องพลาสติกปิดผนึกด้วยเทปกาวใสทุกด้าน

ใช้ขนมทองหยอดที่ภายในกล่องบรรจุไม่มีฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์เป็นตัวอย่างควบคุม สุ่มตัวอย่าง วิเคราะห์คุณภาพทุกวัน จะหยุดวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพเคมี และประสาทสัมผัสเมื่อมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ (≤ 5.5 คะแนน) แต่คุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์จนกระทั่งมีจำนวนเชื้อเกินมาตรฐาน ซึ่งคุณภาพต่างๆ ของขนมทองหยอดที่วิเคราะห์มีดังนี้

4.3.1 คุณภาพทางกายภาพ

ก. ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่าออสโมเตอร์แอคทีวิตี้ (วัดค่าตัวอย่างเฉพาะวันเริ่มต้นของการศึกษาอายุการเก็บรักษา)

ข. ค่าสี (ระบบ CIE $L^*a^*b^*$) ค่า hue angle และค่า chroma ของผิวมะเจือเทศ จำนวน 3 ตำแหน่ง ด้วยเครื่อง spectrophotometer

ค. เนื้อสัมผัส วัดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Lloyd ใช้หัววัดแบบหัวกดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร แรงกด 50 นิวตัน ด้วยความเร็ว 20 มิลลิเมตรต่อวินาที ความสูงของตัวอย่าง 20 มิลลิเมตร โดยมีระยะทางที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสียรูปร้อยละ 50 ใช้โปรแกรม texture profile analysis (TPA)

4.3.2 คุณภาพทางเคมี

ก. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid) โดยเตรียมตัวอย่างขนมทองหยอดปั่นให้ละเอียด แบ่งชั่งน้ำหนัก 30 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 20 มล. วัดค่าด้วยเครื่อง hand refractometer นำค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่อ่านได้จากเครื่อง hand refractometer นำไปคูณด้วย 1.67 จะได้เป็นปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่แท้จริงในขนมทองหยอด

ข. ค่า pH โดยเตรียมตัวอย่างขนมทองหยอดปั่นให้ละเอียด แบ่งชั่งน้ำหนัก 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มล. วัดค่าด้วยเครื่อง pH meter

4.3.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ก. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA โดยวิธีการตามภาคผนวก ก
- ข. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS โดยวิธีการตามภาคผนวก ก
- ค. จำนวนยีสต์และรา โดยวิธีการตามภาคผนวก ก

4.3.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) ต่อขนมทองหยอด ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ทดสอบกับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ให้คะแนน 4 คุณลักษณะ คือ กลิ่น กลิ่นรส ความแข็ง และความชอบรวม เพื่อทดสอบการยอมรับขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโดเซนและฟิล์มไคโดเซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์

ข. การทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณกับผู้ทดสอบที่ฝึกฝนแล้วจำนวน 10 – 12 คนโดยให้คะแนนความเข้ม (intensity) แต่ละคุณลักษณะของขนมทองหยอด ลงบนสเกลแบบเส้นที่มีความยาว 6 นิ้ว (15 ซม.) เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงตามตารางผนวกที่ 3 ร่วมกับการยอมรับเมื่อเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน คือ ขนมทองหยอดสดใหม่ที่ไม่ห่อฟิล์ม ด้วยวิธี overall quality เกณฑ์การให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณของมะเขือเทศ

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

6. สถานที่และระยะเวลาในการทำวิจัย

ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2548 สิ้นสุดเดือนมกราคม 2550

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

อาหารตัวอย่างที่ศึกษา 3 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอด การบรรจุมะเขือเทศบรรจุภายในถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีนขนาด 6×9 นิ้ว เจาะรูระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และปิดผนึกปากถุง ขนมปิ้งบรรจุในถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีนขนาด 6×9 นิ้ว และปิดผนึกปากถุง และขนมทองหยอดถูกบรรจุในถาดโฟมและห่อหุ้มด้วยฟิล์มห่ออาหาร (ภาพที่ 13) นำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) สุ่มตัวอย่างไปทดสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ในวันที่ 0, 3, 7 และ 10 เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ผลดังภาพที่ 14-16 และตารางผนวกที่ ข1



(ก)



(ข)

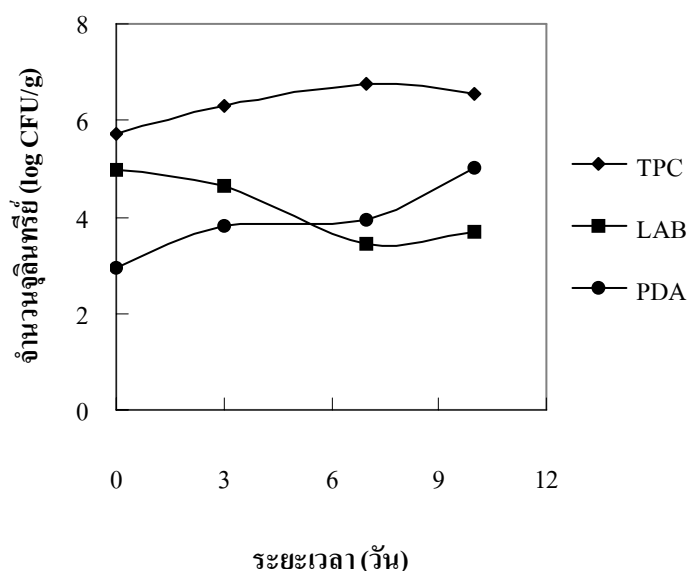


(ค)

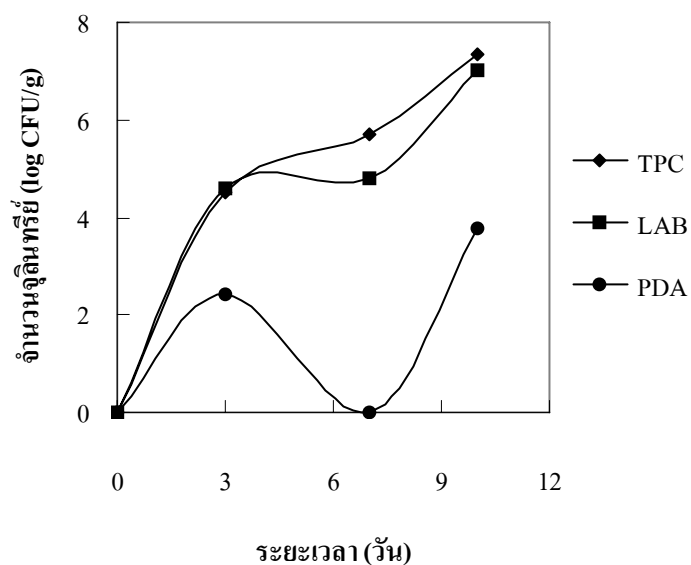
ภาพที่ 13 ตัวอย่างอาหารภายในภาชนะบรรจุ (ก) มะเขือเทศ (ข) ขนมปิ้ง และ (ค) ขนมทองหยอด

จากการทดลองพบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บอาหาร ยกเว้นปริมาณกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศที่มีจำนวนลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 และ 10 วัน อาจเนื่องมาจากมะเขือเทศที่ศึกษาไม่ได้ผ่านการล้างก่อนเก็บ ดังนั้นจำนวนเชื้อเริ่มต้นอาจแตกต่างกันทำให้การเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ไม่เท่ากันระหว่างการเก็บรักษาอาหาร และเช่นเดียวกันขนมปิ้งที่เก็บรักษาไว้ 7 วันไม่พบการเจริญเติบโตของยีสต์ อาจเป็นเพราะตัวอย่างขนมปิ้งที่สุ่มในแต่ละวันคนละแผ่นกัน และมาจากขนมปิ้งคนละแถว จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นจึงไม่เท่ากันทำให้การเพิ่มจำนวนในแต่ละวันของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จำนวนมากที่สุด กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยีสต์

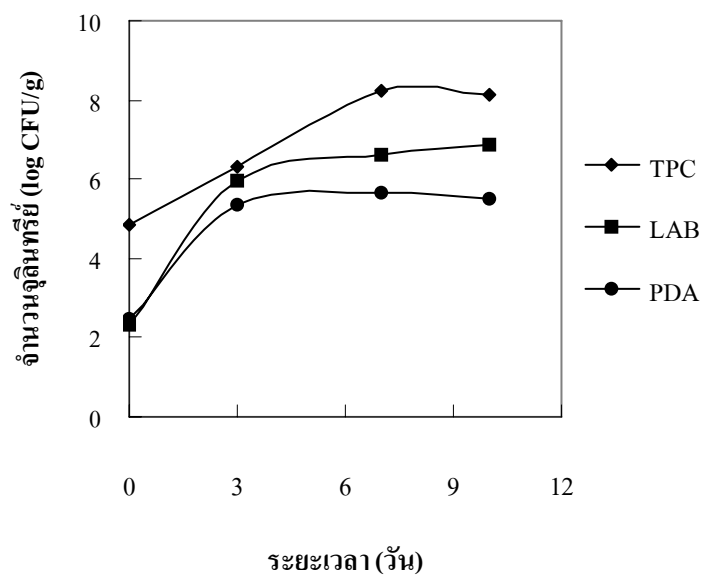
กับรา รองลงมาตามลำดับ ซึ่งจำนวนสูงสุดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่พบในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดเท่ากับ 6.75, 7.33 และ 8.21 log CFU/g ตามลำดับ จำนวนสูงสุดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดเท่ากับ 4.98, 7.03 และ 6.85 log CFU/g ตามลำดับ และจำนวนสูงสุดของยีสต์และราในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดเท่ากับ 5.00, 3.76 และ 5.63 log CFU/g ตามลำดับ และการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในขนมปิ้งและทองหยอดมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นการเพิ่มจำนวนค่อยๆ ช้าลง ขณะที่การเพิ่มจำนวนของเชื้อในมะเขือเทศค่อยๆ เพิ่มจำนวนขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา



ภาพที่ 14 จำนวนจุลินทรีย์ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 10 วัน



ภาพที่ 15 จำนวนจุลินทรีย์ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 10 วัน



ภาพที่ 16 จำนวนจุลินทรีย์ในขนมทองหยอดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 10 วัน

หมายเหตุ TPC = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, LAB = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ PDA = ซีสต์และรา

จากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อแยกชนิดเบื้องต้น และให้ได้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ โดยจำนวนไอโซเลทจากอาหารแต่ละชนิดที่แยกออกมาแสดงตามตารางที่ 6 พบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากอาหารทั้ง 3 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยังสามารถได้ว่าขนมทองหยอดแยกไอโซเลทได้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยีสต์สูงกว่ามะเขือเทศและขนมปัง เนื่องจากสมบัติของอาหาร ซึ่งประกอบด้วย ปัจจัยภายในของอาหาร เช่น a_w ความชื้น pH และความเป็นกรด สารอาหาร โครงสร้างทางชีววิทยา ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potential) สารยับยั้งจุลินทรีย์ธรรมชาติในตัวอย่างหรือที่ใส่เข้าไป และการแข่งขันของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโต และปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิที่เก็บอาหาร ความชื้น สัมผัส และปริมาณแก๊ส (Anonymous, 2003) มีผลในการคัดเลือกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารและเป็นสาเหตุในเน่าเสียของอาหาร

ตารางที่ 6 จำนวนไอโซเลท (ไอโซเลชัน) ในมะเขือเทศ ขนมปัง และขนมทองหยอด

อาหาร	TPC	LAB	Yeast	Mold
มะเขือเทศ	22	24	14	11
ขนมปัง	30	28	5	2
ขนมทองหยอด	42	47	23	5

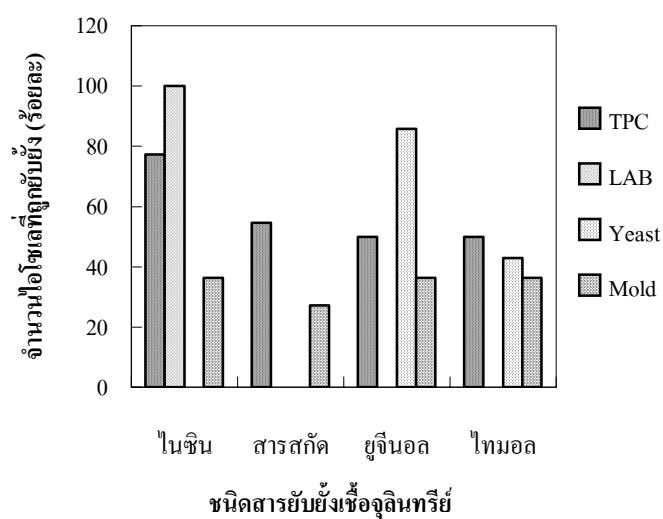
หมายเหตุ TPC = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, LAB = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, Yeast = ยีสต์ และ Mold = รา

ขนมทองหยอดมีค่า pH ก่อนการเก็บรักษาเท่ากับ 6.94 ซึ่งมีความเป็นกลางเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ในขณะที่มะเขือเทศมีค่า pH เท่ากับ 4.51 และขนมปังมีค่า pH เท่ากับ 5.66 ซึ่งมีความเป็นกรดมากกว่าไม่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด นอกจากนี้เนื่องจากขนมทองหยอดเป็นขนมในน้ำเชื่อมที่มีปริมาณน้ำตาลสูง จึงเสื่อมเสียได้ง่ายจากยีสต์และแบคทีเรียกรดแลกติก รวมทั้งสภาวะการเก็บรักษาขนมทองหยอดอยู่ในภาชนะที่ห่อด้วยฟิล์มห่ออาหารการผ่านเข้าออกของอากาศมีน้อย จึงเหมาะต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด

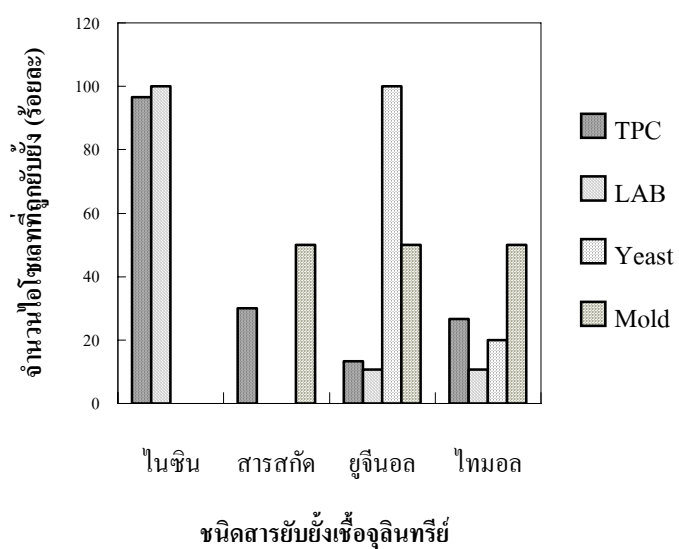
2. การศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดของสารยับยั้งจุลินทรีย์

2.1 การศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์

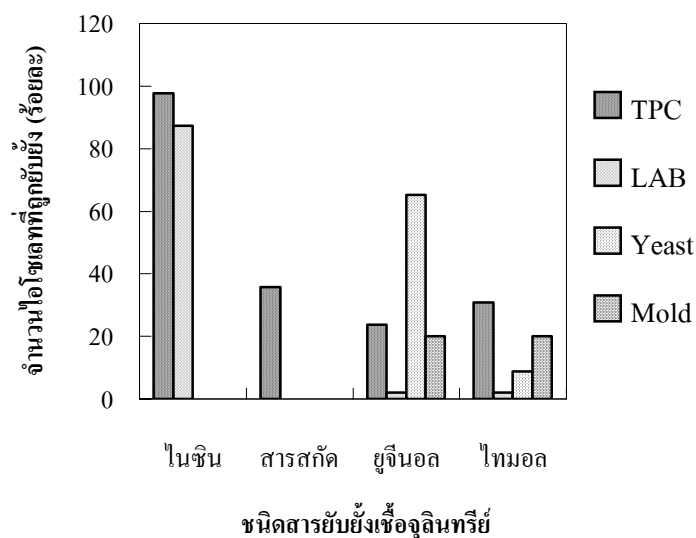
ไอโซเลทเชื้อจุลินทรีย์จากมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอด ให้ผลถูกยับยั้งด้วยสารยับยั้งจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ ยูจีนอล (1,000 ppm) ไทมอล (1,000 ppm) ไนซิน (10,000 IU/มิลลิลิตร) และสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติกแตกต่างกัน (ภาพที่ 17-19) โดยใช้วิธี disc agar diffusion ในการทดสอบ วัดประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากวงใสและขนาดของวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรอง ดังนั้นอัตราการซึมผ่านของสารจากกระดาษกรองสู่อาหารเลี้ยงเชื้อและจุลินทรีย์จึงมีอิทธิพลต่อผลการยับยั้งเชื้อ อย่างไรก็ตามแม้ว่าการใช้วิธี disc agar diffusion จะมีข้อจำกัดดังกล่าว แต่วิธีนี้มีหลักการในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับสารเคลือบและฟิล์มที่จะพัฒนาเพื่อยืดอายุการเก็บอาหาร จึงถือว่าการจำลองลักษณะการใช้งานจริง ซึ่งจะให้ผลดีกว่าการใช้วิธี broth dilution ซึ่งเป็นวิธีทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว สถานะจึงแตกต่างกับมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดที่เป็นของแข็ง เพราะวิธีทดสอบมีผลต่อประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ การละลายและการซึมผ่านของสารยับยั้งเชื้อผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์แตกต่างกัน รวมทั้งมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Devkate *et al.*, 2005; Gill and Holley, 2003; Lopez *et al.*, 2005; Suppakul *et al.*, 2003) จากผลการทดลองพบว่า ไนซินที่สามารถยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ได้ดีที่สุด เพราะไนซินในการศึกษานี้เป็นแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติก *Streptococcus lactis* ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแบคทีเรียที่สร้างแบคทีเรียโอซินนั้นๆ และยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (Adams, 2003; Ouwehand and Vesterlund, 2004) ขณะที่ยูจีนอลและไทมอลยับยั้งยีสต์และราได้ดีที่สุด แต่ยูจีนอลสามารถยับยั้งยีสต์ได้ดีกว่าไทมอล โดยจากการศึกษาของ Conner and Beuchat (1984) พบว่าสารสกัดจากกานพลูและไทม์จะไปลดกระบวนการสร้าง biomass และ pseudomycelium รวมทั้งทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ยีสต์ เกิดการปลดปล่อยสารที่เป็นต่อเซลล์ออกนอกเซลล์ จนเป็นเหตุให้เซลล์ตาย และในเมื่อเราพบว่าสารสกัดจากกานพลูและไทม์สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของเส้นใยซึ่งเป็นสารประกอบไคติน หลังจากนั้นหมู่ไฮดรอกซิลในสารประกอบฟีนอลิกจะเข้าทำปฏิกิริยาบริเวณเร่งของเอนไซม์ ส่งผลต่อการ



ภาพที่ 17 จำนวนไอโซเลตจากมะเขือเทศที่ถูกยับยั้ง



ภาพที่ 18 จำนวนไอโซเลตจากขนมปังที่ถูกยับยั้ง



ภาพที่ 19 จำนวนไอโซเลตจากขนมทองหยอดที่ถูกยับยั้ง

หมายเหตุ TPC = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, LAB = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, Yeast = ยีสต์ และ Mold = รา

เจริญเติบโตของเซลล์ (Mahmoud, 1994) การศึกษาของ Vázquez *et al.* (2001) พบว่า ยูจินอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium citrinum* ดีกว่าไทมอลเมื่อใช้ในความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากัน สำหรับสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุด

จากผลการทดลองตารางผนวกที่ ข2-ข4 แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งทั้ง 4 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นเพียงการยับยั้งบางส่วน (bacteriostatic) เนื่องจากวงใสที่เกิดขึ้นไม่ชัดเจน เชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถเจริญขึ้นมาได้ภายในวงใสที่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์วางและคิดเป็นจำนวนร้อยละของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งบางส่วนหรือถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วยสารยับยั้งเชื้อแสดงในตารางผนวกที่ ข5 การที่สารยับยั้งเชื้อมีผลต่อจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน เป็นผลมาจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีโครงสร้างและขนาดของเซลล์แตกต่างกัน เช่น เชื้อที่มีสปอร์

ขนาดใหญ่กว่า มีผลทำให้อัตราส่วนในชั้นต่อพื้นที่ผิวเซลล์น้อย ประสิทธิภาพในการยับยั้งของในชั้นจึงลดลง (Shefet, 1994), แบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีเมมเบรนชั้นนอกที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) และยอมให้สารโมเลกุลเล็กกว่า 700 Da ผ่านเท่านั้น แต่ในชั้นมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) และมีขนาดโมเลกุลใหญ่ 3353 Da (macromolecule) จึงไม่สามารถผ่านเข้าไปได้ (Halander and Mattila-Sandholm, 2000; Roller, 2003; Rota *et al.* 2004; Suppakul *et al.*, 2003) ขณะที่จุลินทรีย์และโพรทิสต์สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ แกรมลบบางชนิดได้ เช่น *E. coli* และ *Sal. typhimurium* เป็นต้น โดยทำให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวจากการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันอิ่มตัวด้วยเอนไซม์ดีแซทูเรส (desaturase enzyme) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นผลให้ของเหลวภายในเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลง มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Pasqua *et al.*, 2006)

2.2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายและสารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพ

2.2.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เพื่อที่จะคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร ภายหลังจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ จึงได้พิจารณาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่แข็งแรงและมีอัตราการเติบโตที่ดีกว่า น่าจะเป็นเชื้อที่เร่งให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหารได้มากที่สุด ซึ่งบุษกร (2547) ได้กล่าวไว้ว่า อาหารจะมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา โดยชนิดของจุลินทรีย์ก็อาจมีหลายสกุล แต่ละสกุลที่ปนเปื้อนอาจพบได้มากกว่าหนึ่งสปีชีส์ และจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีจำนวนไม่เท่ากัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่ออาหารเสียจะพบว่าจุลินทรีย์ที่เด่นที่สุดที่ทำให้อาหารนั้นเสีย อาจมีเพียงหนึ่งถึงสองชนิดเท่านั้น ที่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด ตารางที่ 7-9 แสดงผลการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยีสต์ ตามลำดับ โดยการใช้การวัดความขุ่น (turbidimetric methods) ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งได้ด้วยสารยับยั้งจุลินทรีย์และมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร แต่ถ้าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารมีเพียงชนิดเดียวที่ถูกยับยั้ง เชื้อดังกล่าวคือ d3s1-1y เป็นยีสต์จากขนมทองหยอด และ d3s2-2m, d10s3-2m และ d7s1-1m เป็นเชื้อราจากมะเชื้อเทศ ขนมปัง และขนมทองหยอด ตามลำดับ จะนำมาใช้ในการศึกษาต่อไปได้เลย การศึกษาการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS จะบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ และการเจริญของยีสต์จะบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เวลาที่แตกต่างกันในการวิเคราะห์เนื่องจากอัตราการเจริญของเชื้อแต่ละประเภทมีความแตกต่างกัน วิธีนี้เป็นการหาความหนาแน่นของเซลล์จากความขุ่นซึ่งอาศัยหลักที่ว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถดูดกลืนแสง และกระจายแสงที่ผ่านตัวมัน ปริมาณแสงที่ดูดกลืนไว้ และกระจายออกไปจะเป็นสัดส่วนกับความหนาแน่นของเซลล์ บอกถึงจำนวนเซลล์ได้ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547)

จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จากมะเขือเทศที่มีการเจริญได้สูงสุดคือ d7s2-4t จากขนมปังคือ d7s3-7t และจากขนมทองหยอดคือ d7s1-2t กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS จากมะเขือเทศที่มีการเจริญได้สูงสุดคือ d0s2-6l จากขนมปังคือ d3s3-3l และจากขนมทองหยอดคือ d3s1-7l และยีสต์จากมะเขือเทศที่มีการเจริญได้สูงสุดคือ d3s2-3y และจากขนมปังคือ d3s3-4y อย่างไรก็ตามแม้ว่าเชื้อ d10s2-1t มีการเจริญรองจาก d7s2-4t แต่จากผลการทดลองข้อ 2.1 เชื้อ d10s2-1t ถูกยับยั้งได้ด้วยยูจินอลและไทมอล ดังนั้นจึงเลือกมาศึกษาด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของไอโซเลทกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จากอาหารต่างชนิดกัน

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลืนแสง
มะเขือเทศ	d0s2-4t	0.005 c
	d7s2-4t	0.160 a
	d10s2-1t	0.086 b
	d10s2-4t	0.004 c
ขนมปัง	d3s3-1t	0.008 b
	d3s3-10t	0.007 bc
	d7s3-7t	0.012 a
	d7s3-8t	0.006 bc
	d7s3-9t	0.007 bc
	d7s3-10t	0.007 bc
	d10s3-1t	0.004 c
ขนมทองหยอด	d0s1-5t	0.017fgh
	d3s1-5t	0.015 h
	d3s1-6t	0.023 bc
	d7s1-1t	0.017fgh
	d7s1-2t	0.031 a
	d7s1-3t	0.022cde

หมายเหตุ ตัวอักษร a-h ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลืนแสง
ขนมทองหยอด	d7s1-4t	0.019 ef
	d7s1-5t	0.015 h
	d7s1-6t	0.025 b
	d7s1-7t	0.019def
	d7s1-8t	0.022 cd
	d7s1-10t	0.021cde
	d10s1-1t	0.016 fg
	d10s1-2t	0.016 fg
	d10s1-3t	0.021cde
	d10s1-4t	0.019def
	d10s1-5t	0.020 def
	d10s1-6t	0.019 ef
	d10s1-7t	0.021cde
	d10s1-8t	0.019 ef
	d10s1-9t	0.024 bc
	d10s1-10t	0.017fgh

หมายเหตุ ตัวอักษร a-h ที่แตกต่างกันในแนวตั้งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตของไอโซเลทกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS จากอาหารต่างชนิดกัน

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลืนแสง
มะเขือเทศ	d0s2-3l	0.536 bc
	d0s2-4l	0.489 c
	d0s2-5l	0.158 e
	d0s2-6l	0.914 a
	d3s2-3l	0.053 f
	d3s2-5l	0.543 b
	d7s2-3l	0.012 f
	d7s2-5l	0.359 d
	d7s2-6l	0.135 e
	d10s2-1l	0.341 d
	d10s2-2l	0.538 bc
ขนมปัง	d3s3-3l	0.070 a
	d3s3-4l	0.011 d
	d3s3-5l	0.008 d
	d3s3-7l	0.061 ab
	d7s3-1l	0.038 c
	d7s3-2l	0.005 d
	d7s3-9l	0.029 c
	d10s3-1l	0.007 d
	d10s3-2l	0.054 b
	d10s3-3l	0.000 d
	d10s3-4l	0.002 d

หมายเหตุ ตัวอักษร a-j ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลืนแสง
ขนมปัง	d10s3-6l	0.010 d
	d10s3-10l	0.008 d
ขนมทองหยอด	d0s1-1l	0.016 gh
	d0s1-2l	0.048bcd
	d0s1-3l	0.022 fg
	d3s1-6l	0.040 de
	d3s1-7l	0.071 a
	d3s1-8l	0.049 bc
	d3s1-9l	0.051 b
	d3s1-10l	0.014 gh
	d3s1-11l	0.041cde
	d3s1-12l	0.036 e
	d3s1-14l	0.023 fg
	d7s1-3l	0.026 f
	d7s1-4l	0.013 gh
	d7s1-5l	0.015 gh
	d7s1-6l	0.016 gh
	d7s1-9l	0.015 gh
	d7s1-11l	0.011 hi
	d7s1-12l	0.012 hi
	d7s1-13l	0.020fgh
	d7s1-14l	0.003 ij

หมายเหตุ ตัวอักษร a-j ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลิ่นแสง
ขนมทองหยอด	d3s3-8l	0.054 b
	d10s1-3l	0.026 f
	d10s1-4l	0.014 gh
	d10s1-6l	0.027 f
	d10s1-8l	0.053 b
	d10s1-9l	0.020fgh
	d10s1-11l	0.026 f
	d10s1-12l	0.001 j

หมายเหตุ ตัวอักษร a-j ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 9 การเจริญเติบโตของไอโซเลทยีสต์จากอาหารต่างชนิดกัน

ชนิดอาหาร	ชื่อไอโซเลท	ค่าดูดกลิ่นแสง
มะเขือเทศ	d3s2-2y	0.01 b
	d3s2-3y	0.075 a
ขนมปัง	d3s3-1y	0.066 b
	d3s3-2y	0.064 b
	d3s3-3y	0.064 b
	d3s3-4y	0.078 a
	d3s3-5y	0.067 b

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งและอาหารชนิดเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

d = วันที่สุ่ม, t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์ และ m = รา

2.2.2 การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

จากผลการทดลองประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์จากอาหารทั้ง 3 ชนิดของโนซินผสมยูจีนอล และโนซินผสมไทมอลที่ความเข้มข้นของสารดังนี้ สารผสมระหว่างโนซินที่ความเข้มข้น 1,000 IU/มิลลิลิตร (N1) กับยูจีนอลที่ความเข้มข้น 500 ppm (E1) และ 1,000 ppm (E2) หรือกับไทมอลที่ความเข้มข้น 500 ppm (T1) และ 1,000 ppm (T2) และสารผสมระหว่างโนซินที่ความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร (N2) กับยูจีนอลที่ความเข้มข้น 500 ppm (E1) และ 1,000 ppm (E2) หรือไทมอลที่ความเข้มข้น 500 ppm (T1) และ 1,000 ppm (T2) โดยใช้สารยับยั้งเชื้อเดี่ยวๆ เป็นสิ่งทดลองควบคุม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10-12 และภาพกิจกรรมการยับยั้งดังภาพผนวกที่ จ 6-จ8 พบว่าชนิดของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาผสมรวมกันเพื่อใช้ทดสอบ และระดับความเข้มข้นของสารผสมที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์ ดังนี้

ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดจากมะเขือเทศและขนมปิ้ง ส่วนใหญ่ถูกยับยั้งด้วยโนซินผสมยูจีนอลทุกความเข้มข้นได้ดีกว่าโนซินผสมไทมอล โดยดูจากขนาดวงใสที่ใหญ่และมีการยับยั้งแบบสมบูรณ์ ขณะที่จุลินทรีย์จากขนมทองหยอด พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (TPC) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (LAB) ถูกยับยั้งได้ด้วยสารผสมโนซินกับไทมอลทุกความเข้มข้นดีกว่าโนซินกับยูจีนอล แต่ยีสต์และราถูกยับยั้งได้ด้วยโนซินผสมยูจีนอลดีกว่าโนซินผสมไทมอล

ผลจากอัตราความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ต่อเชื้อจากอาหารทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งจุลินทรีย์จากอาหารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ดังนี้ การยับยั้งเชื้อ TPC มีเพียงเชื้อจากมะเขือเทศ (d7s2-4t และ d10s2-1t) ที่สารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมที่ความเข้มข้น N2E1 และ N2E2 ตามลำดับ มีกิจกรรมการยับยั้งดีกว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดเดียว ขณะที่เชื้อ TPC จากขนมปิ้ง (d7s3-7t) และขนมทองหยอด (d7s1-2t) ถูกยับยั้งได้ดีด้วย N2 สำหรับเชื้ออื่นๆ พบว่าการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมมีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ดีกว่าการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดเดียว ดังนี้ เชื้อ LAB จากมะเขือเทศ (d0s2-6l) และขนมปิ้ง (d3s3-3l) ถูกยับยั้งได้ดีด้วย N2E1 ขณะที่ขนมทองหยอด (d3s1-7l) ถูกยับยั้งได้ดีด้วย N2T2 สำหรับยีสต์จากมะเขือเทศ (d3s2-3y) และขนมปิ้ง (d3s3-4Y) กับขนมทองหยอด (d3s1-1y) ถูกยับยั้งได้ดีด้วย N2E2 และ N1E2 ตามลำดับ เชื้อราจากมะเขือเทศ (d3s2-2m) ขนมปิ้ง (d10s3-2m) และขนมทองหยอด (d7s1-1m) ถูกยับยั้งได้ดีด้วย N1E1, N2E2 และ N1E2 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส: มิลลิเมตร) จากมะเขือเทศ

ชนิดจุลินทรีย์	สารยับยั้ง	E0	E1	E2	T0	T1	T2
d7s2-4t	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	±18.21	±19.49	±21.32	±18.21	±24.39	±20.31
	N2	+21.17	+29.88	+27.89	+21.17	+27.10	+24.52
d10s2-1t	N0	-0	±12.33	±17.66	-0	-0	-0
	N1	-0	±22.42	±11.77	-0	-0	-0
	N2	+6.35	±13.56	+8.31	+6.35	-0	-0
d0s2-6l	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	±12.09	±28.29	+13.54	±12.09	±10.97	-0
	N2	+21.99	+31.74	+8.75	+21.99	+24.44	±15.80
d3s2-3y	N0	-0	-0	±15.14	-0	±14.86	±18.10
	N1	-0	±12.94	±14.85	-0	±9.50	±9.13
	N2	-0	±12.94	±21.09	-0	±9.31	±10.24
d3s2-2m	N0	-0	±14.07	±10.08	-0	±13.53	±15.74
	N1	-0	+25.36	+12.04	-0	+6.72	±7.20
	N2	-0	+18.14	+12.50	-0	±8.94	±8.40

หมายเหตุ N0, E0, T0 = ไม่ใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์

N1 = ไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/มิลลิลิตร E2 = ยูจีนอลความเข้มข้น 1,000 ppm

N2 = ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร T1 = ไทมอลความเข้มข้น 500 ppm

E1 = ยูจีนอลความเข้มข้น 500 ppm T2 = ไทมอลความเข้มข้น 1,000 ppm

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d7s2-4t = 1.46×10^6 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d10s2-1t = 3.60×10^6 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d0s2-6l = 2.46×10^4 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s2-3y = 1.85×10^4 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s2-2m = 4.82×10^4 cell/มิลลิลิตร

+ = การยับยั้งสมบูรณ์, ± = การยับยั้งบางส่วน, - = ไม่ยับยั้ง

d = วันที่สุ่ม, t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์ และ m = รา

ตารางที่ 11 กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส: มิลลิเมตร) จากขนมปัง

ชนิดจุลินทรีย์	สารยับยั้ง	E0	E1	E2	T0	T1	T2
d7s3-7t	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	±17.84	±29.24	±36.16	±17.84	±16.79	±20.86
	N2	+19.65	±34.10	±38.43	+19.65	±24.33	±30.73
d3s3-3l	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	±17.19	±32.20	±41.24	±17.19	±14.45	±8.13
	N2	+30.43	+48.11	+44.66	+30.43	±29.29	±37.71
d3s3-4y	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	-0	+9.91	+11.09	-0	-0	-0
	N2	-0	±11.03	±8.92	-0	-0	-0
d10s3-2m	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	-0	+9.16	+8.96	-0	-0	±6.50
	N2	-0	+8.19	+11.97	-0	±6.69	±7.02

หมายเหตุ N0, E0, T0 = ไม่ใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์

N1 = โนซินความเข้มข้น 1,000 IU/มิลลิลิตร E2 = ยูจินอลความเข้มข้น 1,000 ppm

N2 = โนซินความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร T1 = ไทมอลความเข้มข้น 500 ppm

E1 = ยูจินอลความเข้มข้น 500 ppm T2 = ไทมอลความเข้มข้น 1,000 ppm

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d7s3-7t = 7.25×10^7 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s3-3l = 3.76×10^7 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s3-4y = 3.45×10^3 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d10s3-2m = 3.30×10^3 cell/มิลลิลิตร

+ = การยับยั้งสมบูรณ์, ± = การยับยั้งบางส่วน, - = ไม่ยับยั้ง

d = วันที่สุ่ม, t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์ และ m = รา

ตารางที่ 12 กิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส: มิลลิเมตร) จากขนม
ทองหยอด

ชนิดจุลินทรีย์	สารยับยั้ง	E0	E1	E2	T0	T1	T2
d7s1-2t	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	±23.11	±17.32	±21.34	±23.11	±21.49	±20.25
	N2	+18.04	±23.45	±20.21	+18.04	+16.42	+15.45
d3s1-7l	N0	-0	-0	-0	-0	-0	-0
	N1	+12.19	-0	-0	+12.19	-0	+12.06
	N2	+27.59	±30.75	+9.15	+27.59	+22.14	+27.65
d3s1-1y	N0	-0	±19.71	±20.73	-0	±19.16	±18.65
	N1	-0	+12.74	+14.52	-0	±9.29	±10.54
	N2	-0	±14.05	±19.79	-0	-0	-0
d7s1-1m	N0	-0	±16.92	±17.94	-0	±18.69	±18.95
	N1	-0	+21.21	+28.61	-0	±7.25	+8.20
	N2	-0	+25.67	+25.21	-0	-0	±10.12

หมายเหตุ N0, E0, T0 = ไม่ใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์

N1 = ในชั้นความเข้มข้น 1,000 IU/มิลลิลิตร E2 = ยูจินอลความเข้มข้น 1,000 ppm

N2 = ในชั้นความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิลิตร T1 = ไทมอลความเข้มข้น 500 ppm

E1 = ยูจินอลความเข้มข้น 500 ppm T2 = ไทมอลความเข้มข้น 1,000 ppm

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d7s1-2t = 3.25×10^8 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s1-7l = 2.92×10^6 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d3s1-1y = 6.2×10^6 CFU/มิลลิลิตร

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ d7s1-1m = 1.70×10^5 cell/มิลลิลิตร

+ = การยับยั้งสมบูรณ์, ± = การยับยั้งบางส่วน, - = ไม่ยับยั้ง

d = วันที่สุ่ม, t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์ และ m = รา

จากผลการทดลองการใช้สารยับยั้งผสมระหว่างไนซินกับยูจีนอลหรือไทมอลในการต่อต้านจุลินทรีย์จากอาหารทั้ง 3 ชนิดนี้จะพบว่าเชื้อแต่ละชนิดให้ผลการยับยั้งที่ไม่เหมือนกัน และต้องได้รับชนิดของสารยับยั้งผสม รวมทั้งระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะสามารถถูกทำลายได้ดี ถ้าชนิดของสารยับยั้งผสมและระดับความเข้มข้นที่ใช้ไม่เหมาะสมจะทำให้กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมไม่แตกต่างจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดเดียว เช่นการศึกษาของ Periago *et al.* (2006) ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Bacillus megaterium* ของไนซิน (0.05 mM) ผสมกับไทมอล (0.2 mM) พบว่าสามารถลดอัตราการเจริญของเชื้อได้ แต่ไม่มีผลต่อช่วง lag phase เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใส่สารยับยั้ง และไม่ปรับปรุงอัตราการเจริญ แต่ช่วง lag phase เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารยับยั้งเพียงชนิดเดียว และการศึกษาของ Olasupo *et al.* (2003) ก็ไม่พบ synergism หรือการเสริมประสิทธิภาพการยับยั้งเมื่อใช้สารยับยั้งผสมของสารยับยั้งผสมระหว่างไนซินกับยูจีนอลหรือไทมอลต่อเชื้อ *E. coli* และ *Sal. enterica* serovar Typhimurium เพราะความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ (minimum inhibition concentration: MIC) ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากการใช้สารยับยั้งเพียงชนิดเดียว หรือเกิด antagonism หรือประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดต่ำกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียว เช่น ไนซินเมื่อใช้ร่วมกับไดอะซีติลทำให้ผลการยับยั้ง *Sal. enterica* serovar Typhimurium และ *B. subtilis* ลดลง สาเหตุสำคัญที่คาดว่าเป็นผลให้เกิดการ antagonism คือ ไนซินไปป้องกันการเข้าสู่เซลล์ของสารประกอบอินทรีย์ หรือไนซินทำปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์เหล่านี้ นอกจากนี้แม้สารยับยั้งผสมระหว่างไนซินกับยูจีนอลหรือไทมอลไม่อาจปรับปรุงการต่อต้านเชื้อ *E. coli* และ *Sal. enterica* serovar Typhimurium แต่กลับให้ synergism เมื่อทดสอบกับเชื้อ *B. subtilis* *Listeria innocua* L. *monocytogenes* IID581 ซึ่งเกิดจากยูจีนอลและไทมอลไปทำให้เมมเบรนของจุลินทรีย์เกิดการเสียสมดุล ไนซินจึงสามารถที่จะเข้าสู่เซลล์เพื่อทำลายได้ง่ายยิ่งขึ้น (Ettayebi, Yamani and Rossi-Hassani, 2000, Olasupo *et al.*, 2004, Yamazaki *et al.*, 2004)

ผลการทดลองข้างต้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมที่จะนำมาใช้ในการยืดอายุอาหารทั้งสามชนิดมีความแตกต่างกัน ความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อสำหรับยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากมะเขือเทศ คือ N2 และ E2 เพราะการยับยั้งเชื้อ TPC และ LAB ของ N2 ดีกว่า N1 และที่ระดับ N2 พบว่าเมื่อผสมกับ E1 มีประสิทธิภาพการยับยั้งดีกว่า E2 อย่างไรก็ตาม E2 สามารถฆ่าเชื้อ d10s-2-1t ได้ในขณะที่ E1 เพียงแค่ยับยั้งบางส่วนเท่านั้น ในขณะที่ E2 ให้ผลการยับยั้งอย่างสมบูรณ์ ความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อสำหรับยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากขนมปัง คือสารผสมระหว่าง N2 และ E2 เช่นเดียวกัน เพราะการยับยั้งเชื้อ TPC และ LAB ของ N2 ดีกว่า N1 และประสิทธิภาพการ

ยับยั้งของ $E2 > E1 > T2 > T1$ ขณะที่ความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์จากขนมทองหยอด คือ สารผสมระหว่าง $N2$, $T2$ และ $E1$ เพราะจากผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์ข้อ 1 พบว่าขนมทองหยอดมีเชื้อ TPC และ LAB สูงมาก จากตารางที่ 13 จะเห็นได้ว่า $N2$ มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ดีกว่า $N1$ และ $N2$ ที่ผสมกับ $T2$ มีการยับยั้งดีกว่าเมื่อผสมกับ $T1$ และเมื่อ $N2$ ผสมกับ $E1$ มีการยับยั้งไม่แตกต่างกันเมื่อผสมกับ $E2$ จึงเลือก $E1$ และที่ต้องผสมสารยับยั้งถึง 3 ชนิด เนื่องจากเชื้อ $d7s1-2t$ และ $d3s1-7l$ ถูกยับยั้งเมื่อใช้สารผสมระหว่างในชินกับ ไทมอล ในขณะที่ $d3s1-1y$ และ $d7s1-1m$ ถูกยับยั้งเมื่อใช้สารผสมระหว่างในชินกับยูจินอล สรุปได้ว่าการใช้สารยับยั้งผสมที่เหมาะสมช่วยปรับปรุงการทำงานของสาร ทำให้การต่อต้านเชื้อดีขึ้นกว่าการใช้สารยับยั้งเพียงชนิดเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อใช้ในอาหารตามผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาชิ้นส่วนของมะเจือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอดในภาคผนวก ก เนื่องจากองค์ประกอบและคุณสมบัติของอาหารอาจมีผลยับยั้งการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Gill and Holley, 2003) นอกจากนี้การใช้ประโยชน์จากสารยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้มีประสิทธิภาพ จึงนำสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมลงในสารเคลือบหรือฟิล์มที่รับประทานได้ เนื่องจากสารยับยั้งจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมาสู่ผิวอาหารอย่างช้าๆ โดยที่ความเข้มข้นของสารยับยั้งที่ผิวอาหารมีปริมาณสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และจะคงที่ไปตลอดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร จึงยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งตลอดช่วงเวลาดังกล่าว (Han, 2003)

3. การศึกษาคุณภาพของตัวอย่างอาหารในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์

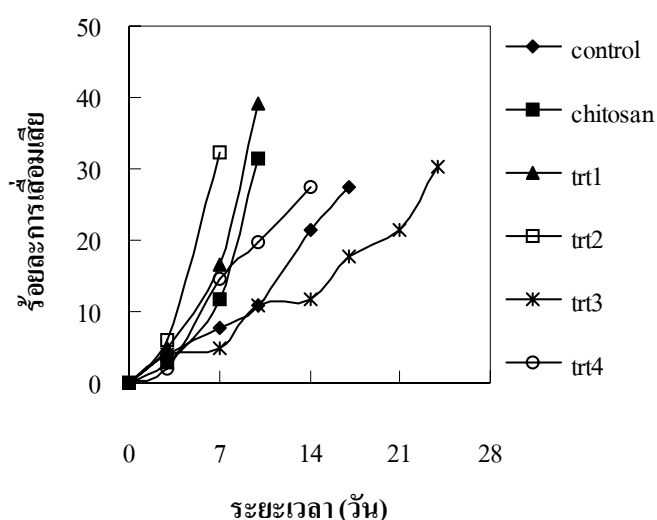
3.1 มะเจือเทศ

มะเจือเทศที่นำมาเคลือบผิวมีน้ำหนักแต่ละผลเท่ากันประมาณ 85 ± 5 กรัม มีสีผิวใกล้เคียงกันและไม่มีบาดแผล มีค่า a_w เท่ากับ 0.87 เคลือบผิวด้วยสารละลายสารเคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และสารเคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ ในชินและยูจินอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ในชินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 1,000 ppm (trt1) ในชินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 10,000 ppm (trt2) ในชินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 15,000 ppm (trt3) และในชินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 20,000 ppm (trt4) และเปรียบเทียบคุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสกับ

มะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม ภายหลังจากการเคลือบผิวและฝังให้สารเคลือบแห้ง นำมะเขือเทศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ทุก 3 และ 4 วัน จนกว่ามีปริมาณการเสื่อมเสียมากกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้น ขึ้นไป หรือมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ คือมีคะแนน ≤ 5.5 แต่คุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์จนกระทั่งมีจำนวนเชื้อเกินมาตรฐาน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ให้ผลดังนี้

3.1.1 คุณภาพทางกายภาพ

ก. การเสื่อมเสียหรือการเน่าเสีย คำนวณจากจำนวนของมะเขือเทศที่เกิดการเน่าเสียและถูกคัดทิ้งไประหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 และเปรียบเทียบเป็นปริมาณร้อยละกับจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้น เกณฑ์ในการตัดสินใจคัดมะเขือเทศแต่ละผลทิ้งพิจารณาจากการมีรอยช้ำ และพบการเจริญของเชื้อรา หรือลักษณะที่ผิดปกติ เช่น มีการบวมต่ง ในขณะที่มีเนื้อเหลวอยู่ภายในของผลมะเขือเทศ ซึ่งหากความผิดปกติดังกล่าวเกินกว่าร้อยละ 10 ของผลมะเขือเทศ มะเขือเทศผลนั้นจะถูกคัดทิ้ง และเมื่อมะเขือเทศในกองทดสอบมีการเน่าเสียมากกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้น มะเขือเทศทั้งกองที่เหลือจะถูกคัดทิ้งทั้งหมด (United States Department of Agriculture, 1997)



ภาพที่ 20 การเสื่อมเสียของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

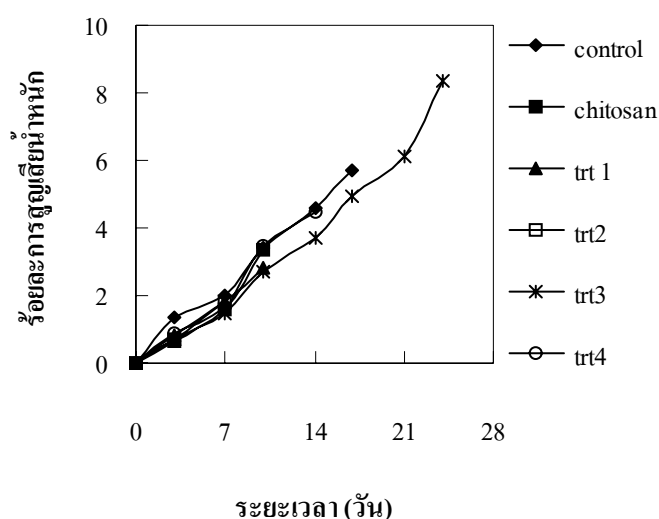
จากผลการทดลองภาพที่ 20 และตารางผนวกที่ ข6 ตัวอย่างมะเขือเทศที่เน่าเสียเร็วที่สุด คือ มะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์มกับยูจินอล 10,000 ppm รองลงมา คือมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 1,000 ppm มะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซน มะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 20,000 ppm มะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว (ตัวอย่างควบคุม) และมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 15,000 ppm ตามลำดับ จากเกณฑ์ดังกล่าวข้างต้น จะพบว่าแต่ละสิ่งทดลองต้องคัดทิ้งไปเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7, 10, 10, 14, 21 และ 24 ตามลำดับ ดังนั้นที่ระยะเวลาการเก็บรักษานี้จึงเป็นวันที่มะเขือเทศมีคุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับหรือหมดอายุการเก็บรักษา การวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ยกเว้นคุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์ถึงระยะเวลานี้

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเคลือบผิวมีผลให้มะเขือเทศมีการเน่าเสียมากกว่าไม่เคลือบผิว ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าการเคลือบผิวมีผลต่อการถ่ายเทของแก๊ส จำกัดการแลกเปลี่ยนแก๊ส เป็นผลให้เกิดการหมัก และเกิดการสะสมของสารพิษที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (toxic metabolites) ทำให้เนื้อเยื่อของมะเขือเทศถูกทำลายได้ง่ายจากเชื้อจุลินทรีย์ (Risse *et al.*, 1987) เช่น จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ย่อยเพคติน (pectinolytic microorganisms) มีผลต่อการสูญเสียความแข็งแรงของโครงสร้างผนังเซลล์ทำให้ผักนุ่ม ซ้ำและเกิดอาการเน่าและขึ้น บางครั้งมีกลิ่นเหม็นและมีน้ำไหลซึมด้วย ทำให้เกิดโรคเน่าและ (สุมนธนา, 2545) นอกจากนี้เมื่อเกิดกระบวนการหมัก น้ำตาลจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นอะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และเอทานอล (ethanol) (จรัสแท้, 2549) ซึ่งเอทานอลที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลทำให้เกิดบาดแผลขึ้นบนผลิตผล (Polenta *et al.*, 2006) ดังการศึกษาของ Tanada-Palmu and Grosso (2005) พบว่าสตรอเบอรี่ที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบกลูเตนความเข้มข้นร้อยละ 9 มีจำนวนการเสื่อมเสียจากการติดเชื้อมากกว่าสตรอเบอรี่ที่ไม่เคลือบผิว และการศึกษาของ Carlin *et al.* (1989) พบว่าที่ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงมากกว่าร้อยละ 25 ทำให้เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* เจริญในชั้นแคโรทที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และจนทำให้เกิดการเน่าเสีย ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำไหลซึมและการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสัมผัส ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับลักษณะการเสื่อมเสียของมะเขือเทศของการทดลองนี้ที่พบระหว่างการเก็บรักษา เช่น ผลมะเขือเทศเกิดการนุ่มและ และมีน้ำไหลออกมา พบรอยช้ำจากภายใน ทำให้ผลมะเขือเทศเปลี่ยนรูปไป และผลมะเขือเทศมีลักษณะบวมเต่งทั้งผล โดยที่เนื้อในนุ่มและ ทำให้ความแน่นน้อยลงจากการบีบด้วยมือ และความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่าไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ผสมยูจินอล 15,000 ppm ไม่สามารถลดการเสื่อมเสียของมะเขือเทศได้ สมบัติของอาหาร เช่น pH และ a_w ล้วนมีอิทธิพลรบกวนการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์

(Davidson and Naidu, 2000; Gill *et al.*, 2002; Holly and Patel, 2005) ดังนั้นความเข้มข้นของสารยับยั้งที่นำมาใช้ในอาหารจึงต้องมีความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาโดยวิธี disc agar diffusion และการที่ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าแต่กลับมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นกว่า อาจเป็นเพราะความเข้มข้นดังกล่าวอาจเกิด antagonism ทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งลดลง นอกจากนี้การยับยั้งเชื้อของสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ต้องการยับยั้ง เช่น *B. cereus* ถูกยับยั้งด้วยโคไโดแซนผสมในชั้นความเข้มข้น 168×10^3 IU/กรัมของฟิล์ม มีความสามารถมากกว่าในชั้นความเข้มข้น 84×10^3 , 336×10^3 และ 42×10^3 IU/กรัมของฟิล์ม ตามลำดับ (Li *et al.*, 2006)

ข. การสูญเสียน้ำหนัก จำนวนเป็นร้อยละของน้ำหนักที่หายไปสะสม

เปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น จากผลการทดลองพบว่า มะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นจะมีน้ำหนักลดลงหรือเกิดการสูญเสียน้ำหนัก ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 21 และตารางผนวกที่ ข7) เนื่องจากการสูญเสีย น้ำ ซึ่งเกิดจากน้ำเคลื่อนที่ออกจากตัวผลิตภัณฑ์ไปสู่อากาศข้างนอก น้ำจะสูญเสียไปในรูปของไอน้ำไปทางผิว ปากใบและเลนติเซลของผักและผลไม้ เพราะว่าพืชมีการหายใจตลอดเวลา และมีความร้อนออกมา ซึ่งความร้อนนี้จะไปเร่งให้เกิดการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ การสูญเสีย น้ำขึ้นกับความชื้นของอากาศภายนอก อุณหภูมิ ความดัน และการเคลื่อนที่ของอากาศบริเวณที่เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ การระเหยของน้ำออกจากผลิตภัณฑ์มีผลต่อคุณภาพของผักและผลไม้ ทำให้ผลเหี่ยวมี



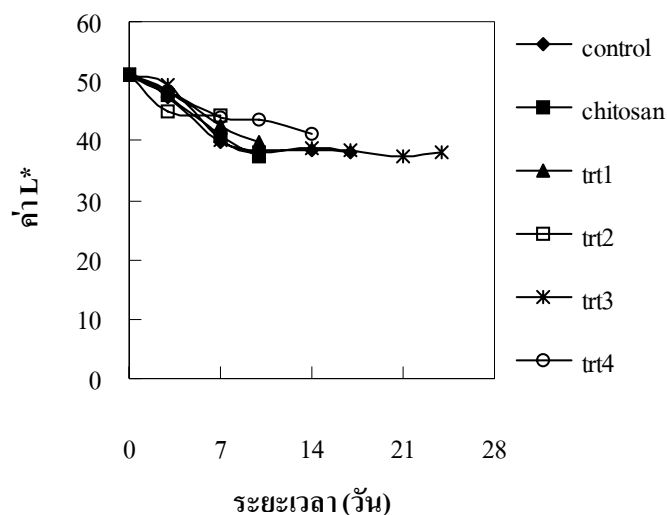
ภาพที่ 21 ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ผลต่อคุณภาพเนื้อสัมผัส และอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีบางอย่าง เช่น มีสีหรือรสชาติเปลี่ยนไป (จริงแท้, 2549) ซึ่งการสูญเสียของมะเขือเทศเป็นปัจจัยสำคัญอันดับสามที่ต้องคำนึงรองจากการฟกช้ำของผิว และการสุกมากเกินไป (Ben-Yehoshua and Bodov, 2003) มีการกำหนดมาตรฐานการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศไว้ในข้อกำหนดของ United States Department of Agriculture (1997) หากมะเขือเทศมีการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาไปมากกว่าร้อยละ 10 ของน้ำหนักผลเริ่มต้น จะถือว่ามะเขือเทศตกจากเกรดเอไปเป็นเกรดบีหรือซีที่ยอมให้มีการสูญเสียน้ำหนักไปได้ไม่มากกว่าร้อยละ 20 เพราะการสูญเสียน้ำหนักไม่เพียงแต่แสดงถึงการสูญเสียน้ำของพืช แต่ยังแสดงถึงคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของพืชได้อีกด้วย จากผลการทดลองพบว่า มะเขือเทศทุกสิ่งทดลองมีการสูญเสียน้ำหนักไม่เกินมาตรฐานระหว่างระยะเวลาอายุการเก็บรักษาของแต่ละสิ่งทดลอง

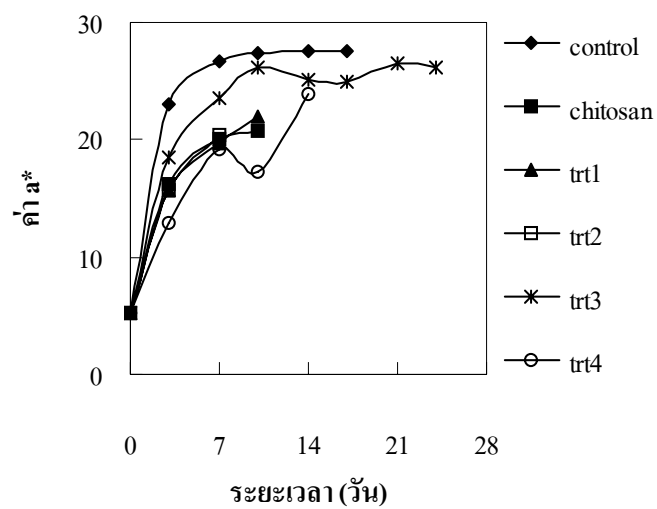
จากตารางผนวกที่ ข7 พบว่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศที่เคลือบผิวมีค่าต่ำกว่ามะเขือเทศที่ไม่ได้เคลือบผิวหรือตัวอย่างควบคุม เมื่อเก็บรักษาระหว่าง 0 ถึง 7 วัน เพราะสารเคลือบเมื่อแห้งจะเป็นฟิล์มเคลือบที่ผิวมะเขือเทศจึงช่วยกั้นการซึมผ่านของไอน้ำที่จะระเหยออกมาจากมะเขือเทศได้บ้าง จึงสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Han *et al.* (2004) สารเคลือบไคโตแซนสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักของผลสตรอเบอรี่และราสเบอร์รี่สีแดงได้ และการศึกษาของ Jiang and Li (2001) พบว่าความเข้มข้นของไคโตแซนที่เพิ่มขึ้นช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักของลำไยได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามภายหลังการเก็บรักษามะเขือเทศเป็นเวลา 7 วัน แล้วร้อยละการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) และการเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในซันและยูนิอลในสารเคลือบไม่มีผลต่อการสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่ก็มีบางการศึกษาที่พบว่าในซันที่เติมลงไปจะไปขยายโมเลกุลของไคโตแซนทำให้การเรียงไม่แน่น ความชื้นจึงผ่านเข้าออกได้ง่ายกว่า และการเติมน้ำมันกระเทียม 100-400 ไมโครลิตร/กรัมของไคโตแซน ลงในสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1 พบว่าค่าการซึมผ่านไอน้ำ (water vapor permeability) ไม่แตกต่างจากของสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1 อย่าง (Pranto *et al.*, 2005)

ก. การเปลี่ยนแปลงค่าสี วัดค่าสีตามระบบ CIE $L^*a^*b^*$ ของสีผิวมะเขือเทศ ทำการวัดค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ค่ามุมของสี (hue angle) และค่าความเข้มสี (chroma) (ภาพที่ 22-27 และตารางผนวกที่ ข8-13) พบว่า ระหว่างการเก็บรักษา สีของมะเขือเทศมีความสว่าง สีเหลือง และค่ามุมของสีลดลง แต่มีสีแดงและค่าความเข้มสีเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) จาก

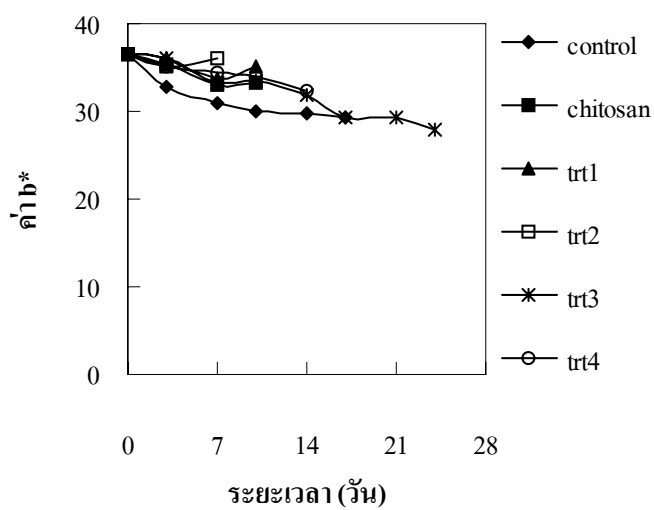
การเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นนี้แสดงว่าสีผิวของมะเขือเทศเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีแดง โดยจากค่ามุมของสีมีเปลี่ยนแปลงจากค่า 81.92° ไปเป็น $46.69-57.84^{\circ}$ แสดงให้เห็นว่าผิวมะเขือเทศเปลี่ยนสีจากเขียวไปเป็นส้มแดง เพราะค่ามุมของสีที่อยู่ระหว่าง $0-90^{\circ}$ สีมีการเปลี่ยนแปลงจากสีแดงไปเป็นสีเขียว และค่าความเข้มสีหมายถึงค่าสีที่วัดได้มีความบริสุทธิ์ของสีมากน้อยเพียงใด (Hunt, 1991) ซึ่งค่าความเข้มสีของมะเขือเทศเปลี่ยนแปลงจากประมาณ 37 ไปเป็นประมาณ 41 แสดงว่าสีแดงของผลมะเขือเทศเพิ่มขึ้น แต่สีอื่นๆ ลดลง สีแดงจึงมีความบริสุทธิ์มากขึ้น ค่า a^* เป็นพารามิเตอร์ที่ดีที่สามารถใช้ในการประเมินระดับความสุกของมะเขือเทศ และค่า b^* ซึ่งแสดงความเป็นสีเขียวที่ลดลง การศึกษาของ Batu (2004) เกี่ยวกับอัตราส่วนของ a^*/b^* เพื่อใช้เปรียบเทียบกับระดับความสุกของมะเขือเทศกับมาตรฐาน USDA colour classification (ภาพผนวกที่ ๑1) มะเขือเทศที่อยู่ในระดับ mature green มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(-0.59)-(-0.47)$, breaker มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(-0.47)-(-0.27)$, turning มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(-0.27)-(0.08)$, pink มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(0.08)-(0.60)$, light red มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(0.60)-(0.95)$ และ red มีค่า a^*/b^* เท่ากับ $(0.95)-(1.21)$



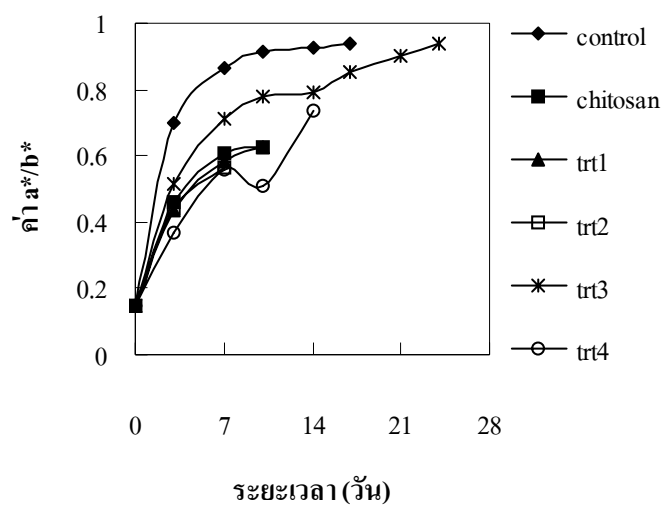
ภาพที่ 22 ค่าความสว่าง (L^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$



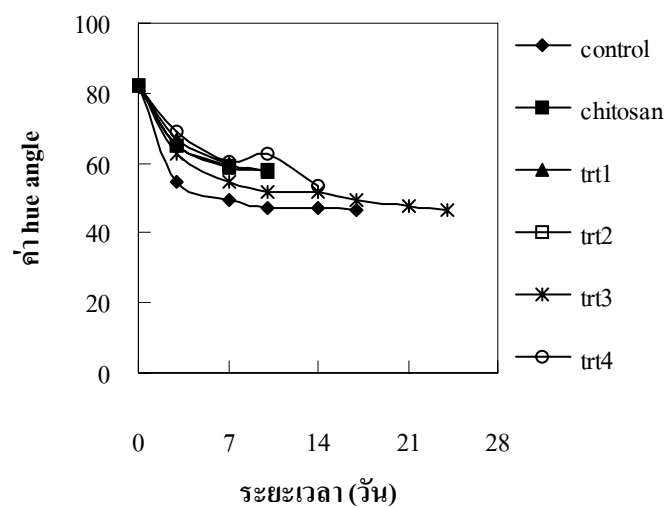
ภาพที่ 23 ค่าสีแดง (a^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^\circ\text{C}$



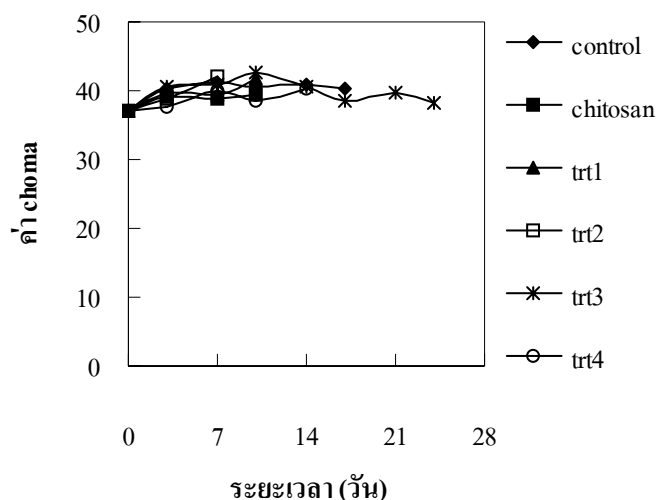
ภาพที่ 24 ค่าสีเหลือง (b^*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^\circ\text{C}$



ภาพที่ 25 ค่าอัตราส่วน a^*/b^* ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 26 ค่ามุมของสี (hue angle) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 27 ค่าความเข้มสี (chroma) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ดังนั้นจากผลการทดลองนี้มะเขือเทศที่เริ่มนำมาศึกษาจึงอยู่ในระยะการสุก pink stage (a^*/b^* เท่ากับ 0.14) ซึ่งสีผิวเป็นสีชมพู และแดงหรือผสมกันประมาณร้อยละ 30-60 ของผล และจะสุกไปเรื่อยๆ สู่ระยะที่เรียกว่า light red (ร้อยละ 60-90 ของผิวมะเขือเทศไม่ใช่สีเขียว แต่เป็นสีชมพูอมแดงถึงสีแดง) และ red (ร้อยละ 90 ของผิวมะเขือเทศไม่ใช่สีเขียว แต่เป็นสีแดง) ตามลำดับ (ภาพผนวกที่ จ1)

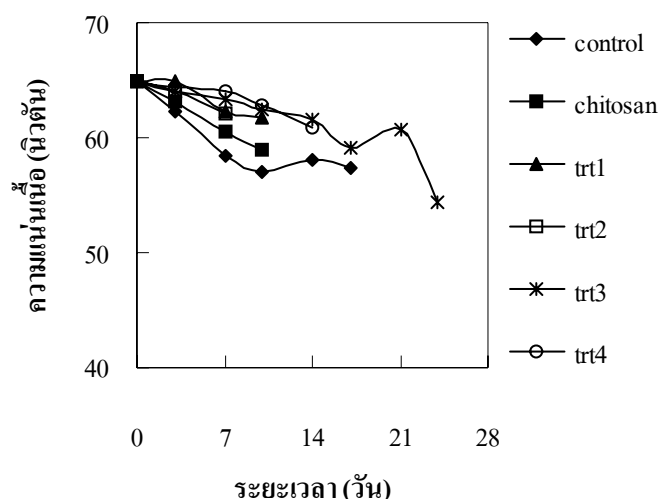
การที่มะเขือเทศในช่วงเริ่มต้นมีสีเขียวก็เนื่องมาจากมีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเขียวอยู่ในคลอโรพลาสต์ เมื่อกระบวนการสุกเกิดขึ้นคลอโรพลาสต์ (chloroplast) จะเปลี่ยนเป็นโครโมพลาสต์ (chromoplast) ซึ่งมีการสร้างแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีแดงขึ้นมา (carotenoids) ต่างจากผักผลไม้ชนิดอื่นที่การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เกิดขึ้นเนื่องจากการถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์คลอโรฟิลเลส (EC 3.1.1.14) ทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนไปเป็นไฟทอล (phytol) และพอร์ฟิริน (porphyrin) จนกระทั่งได้เป็นคลอโรฟิลไลด์ (chlorophyllide) ซึ่งเป็นสารไม่มีสี (Hutching, 1999; Calero, 2003) แคโรทีนอยด์ที่พบในมะเขือเทศส่วนใหญ่คือ ไลโคพีน (lycopene) ซึ่งมักจะอยู่ในส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble fraction) และบริเวณผิวมะเขือเทศ (Wold, *et al.*, 2004) ระหว่างการสุกของมะเขือเทศ San Marzano จากสีเขียวไปเป็นสีแดงทั้งผลมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์จาก 14 ไปเป็น 0 ไมโครกรัม/กรัม และปริมาณไลโคพีนจาก 0

ไปเป็น 181 ไมโครกรัม/กรัม ซึ่งกระบวนการสุกของมะเขือเทศจะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิ 12-30°C (Hutching, 1999) นอกจากนี้ค่าสีมีความสัมพันธ์กับปริมาณไลโคพินที่สร้างขึ้นในมะเขือเทศ เช่น ค่า a^* , a^*/b^* และ $(a^*/b^*)^2$ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไลโคพิน ค่า L^* มีความสัมพันธ์ผกผันกับปริมาณไลโคพิน ซึ่งจะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสว่างไปเป็นเข้มหรือคล้ำขึ้นในช่วงแรกของการสุก แต่ค่า b^* ไม่แสดงความสัมพันธ์กับปริมาณไลโคพิน (D'Souza, *et al.*, 1992; Arias, *et al.*, 2000)

จากผลการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าสี a^* b^* a^*/b^* และค่ามุมของสี พบว่าระหว่างการเก็บรักษามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวหรือตัวอย่างควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีเร็วกว่ามะเขือเทศที่เคลือบผิว เนื่องจากสารเคลือบผิวไคโตแซนช่วยลดการหายใจของผลไม้ (Li-Ghaouth *et al.*, 1992; Jiang and Li, 2001; Li and Yu, 2001; Devlieghere *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังลดการผลิตเอทิลีน เพราะเอทิลีนเป็นตัวกระตุ้นการสุกของผลผลิต โดยเร่งการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เนื่องจากเอทิลีนไปทำให้เยื่อไธลาคอยด์ (thylakoid membrane) ที่กั้นคลอโรฟิลล์ที่จับอยู่กับโปรตีนในเยื่อไธลาคอยด์ (thylakoid membrane) ซึ่งช่วยให้คลอโรฟิลล์ไม่ถูกทำลายเนื่องจากกรดในผักผลไม้ กลับง่ายต่อการถูกทำลาย (จริงแท้, 2549; Hutching, 1999) ดังการศึกษาของ Qiuping and Wenshui (2006) พบว่าเมื่อใช้สารเคลือบไคโตแซนร่วมกับสารเคลือบวันเมธิลไซโครโพรเพน (1-methylcyclopropene) สามารถช่วยชะลอการเสื่อมสลายคลอโรฟิลล์ของผล Indian jujube fruit เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง และการศึกษาของ Sam *et al.* (np) พบว่า สตรอเบอร์รี่ที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1-2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี L^* น้อยกว่าสตรอเบอร์รี่ที่ไม่เคลือบผิว แต่การเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบไม่มีผลต่อการชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของมะเขือเทศ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sam *et al.* (np) พบว่า การเติมน้ำมันหอมระเหยอนิซ (anise essential oil) ความเข้มข้นร้อยละ 4 ในสารเคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1 ไม่มีผลชะลอหรือเร่งการสร้างเอทิลีนในบลูเบอร์รี่ จึงอาจไม่มีผลต่อการชะลอหรือเร่งการสลายตัวของคลอโรฟิลล์

ง. การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของมะเขือเทศ วัดจากค่าความแข็ง (hardness) ซึ่งเป็นค่าแรงสูงสุดที่กดลงบนตัวอย่าง จากการศึกษพบว่า ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้น (ภาพที่ 28 และตารางผนวกที่ ข14) ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศก่อนการเก็บรักษาเท่ากับ 64.99 นิวตัน ภายหลังการเก็บรักษา 10 วัน ความแน่นเนื้ออยู่ในช่วง 57.08-62.87 นิวตัน การลดลงของความแน่นเนื้อหรือการเพิ่มขึ้นของอ่อนนุ่มของผลมะเขือ

เทศเกิดขึ้นเนื่องจากการสลายตัวหรืออ่อนตัวของผนังเซลล์ซึ่งมีเพกตินที่อยู่ในรูปโปรโตเพกติน (protopectin) ที่ละลายน้ำไม่ได้ (insoluble pectin) ซึ่งโครงสร้างของเพกตินประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ 2 ชนิด คือ กาแลคทูโรนิกแอซิดเมทิลเอสเทอร์ (galacturonic acid methyl ester) และ แรมโนส (rhamnose) เพกตินที่สกัดจากผลไม้ที่ดิบเป็น high methoxy pectin (HMP) แต่เมื่อเกิดการสุก HMP จะเกิด demethylate เปลี่ยนไปเป็น low methoxy pectin (LMP) จากการทำงานของ เอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเทอเรส (pectin methyl esterase, PME) ไปเร่งปฏิกิริยาดีเอสเทอร์ิฟิเคชัน (de-esterification) ของเพกตินทำให้ HMP เปลี่ยนไปเป็น LMP และเอนไซม์โพลิกาแลคทูโรเนส (polygalacturonase, PGase) ไปเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของสายเพกติน การทำงาน



ภาพที่ 28 ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ร่วมกันของเอนไซม์ 2 ชนิดนี้เป็นสาเหตุให้เกิดการดีโพลิเมอไรเซชัน (de-polymerization) ของเพกติน เพกตินเปลี่ยนจากรูปไม่ละลายน้ำไปเป็นรูปที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ กรดเพกติกและกรดเพกติก ทำให้เซลล์พืชอ่อนตัว และเกิดการสูญเสียของเนื้อสัมผัสระหว่างการสุกของพืช โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์โพลิกาแลคทูโรเนส เบต้า-กาแลคโตออกซิเดส และเอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเทอเรสมีผลทำให้ผลไม้เน่าขึ้น (Barret and González, 1994; Batisse *et al.*, 1996; Remón *et al.*, 2003) เอนไซม์ที่ย่อยสลายเพกตินอาจเป็นเอนไซม์ในมะเขือเทศเองหรือจากจุลินทรีย์บางชนิดที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเพกตินได้ นอกจากนี้การสลายตัวของสตาร์ชไปเป็นน้ำตาล การสูญเสียน้ำออกไปจากผลผลิต และการเสื่อมเสียเนื่องจากการติดเชื้อจุลินทรีย์โดยการเร่งการสร้างเอทิลีนล้วน

มีผลให้ความแน่นเนื้อของผักผลไม้ลดลงเช่นกัน (จริงแท้, 2549; Barkai-Golan, 2001; Ben-Yehoshua and Rodov, 2003; Thompson, 2003; Owusu-Apenten, 2005) รวมทั้งในผลไม้เชือกเทศคิบมีเคลเชื่อมร่วมอยู่กับโปรโตเพคติน ซึ่งเคลเชื่อมจะมีปริมาณลดลงถึงสามเท่าเมื่อกระบวนการสุกเกิดขึ้น (จริงแท้, 2549)

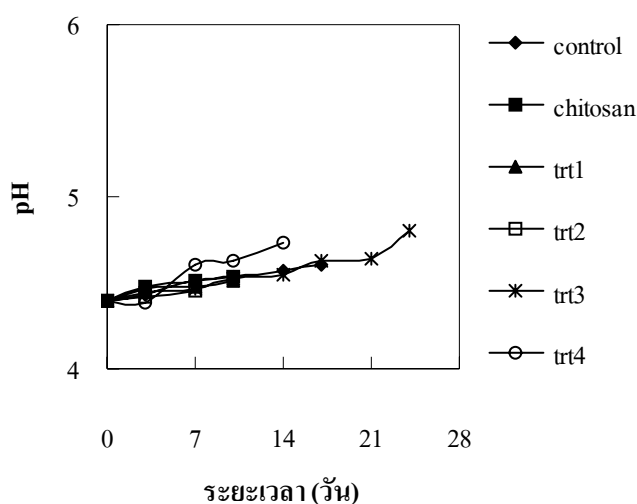
เมื่อเปรียบเทียบผลของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีต่อความแน่นเนื้อของมะเขือเทศ (ตารางผนวกที่ ข11) พบว่าระหว่างการเก็บรักษามะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนและที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มีความแน่นเนื้อไม่แตกต่างจากมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Han *et al.* (2004) พบว่าความแน่นเนื้อของราสเบอร์รี่ที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนไม่แตกต่างกับราสเบอร์รี่ที่ไม่ได้เคลือบผิว โดยอธิบายว่าการเคลือบผลราสเบอร์รี่ทำได้ยาก ต้องใช้การจุ่มราสเบอร์รี่ลงในสารเคลือบถึงสองครั้ง ทำให้แห้งช้า และการที่ผิวราสเบอร์รี่เปียกเป็นเวลานาน จึงทำให้เกิดการเน่าของผิวราสเบอร์รี่ได้เร็ว ซึ่งในการศึกษานี้มะเขือเทศแม้จะการใช้การเคลือบผิวโดยการทาด้วยมือที่สวมถุงมือยาง และทำซ้ำถึงสองครั้งเช่นกัน การศึกษาของ Pranto *et al.* (2005) พบว่าค่าการซึมผ่านไอน้ำ (water vapor permeability) ของสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1 ผสมน้ำมันกระเทียม 100-400 ไมโครลิตร/กรัมของไคโตแซน ไม่แตกต่างจากของสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1 แม้วาน้ำมันกระเทียมมีสมบัติไม่ชอบน้ำเมื่อผสมลงในฟิล์มน่าจะยิ่งเพิ่มสมบัติไม่ชอบน้ำช่วยเป็นตัวกั้นการผ่านเข้าออกของน้ำได้ ที่อาจช่วยลดการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสัมผัส

3.1.2 คุณภาพทางเคมี

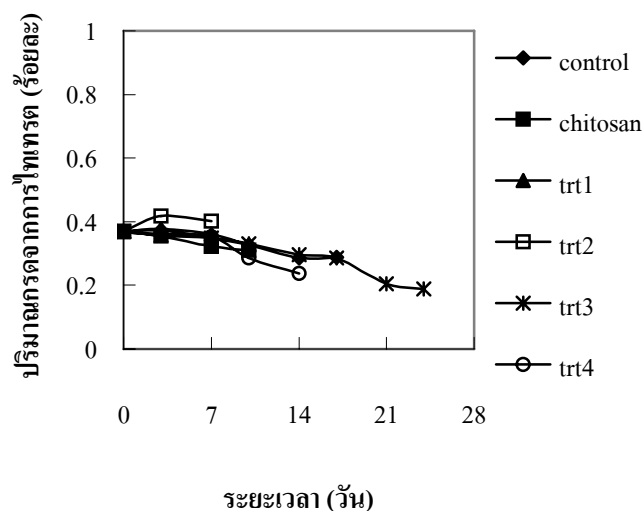
การเปลี่ยนแปลง pH และปริมาณกรดจากการไทเทรต เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาสั้น พบว่า pH ของมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 4.39 ไปเป็นช่วง 4.46-4.73 และมีปริมาณกรดจากการไทเทรตลดลงจากร้อยละ 0.37 ไปเป็นช่วงร้อยละ 0.205-0.327 ระหว่างอายุการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 29-30 และตารางผนวกที่ ข15-16) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wold *et al.* (2004) ซึ่งพบว่าระดับความสุกของมะเขือเทศมีผลต่อค่า pH และความเป็นกรด กรดในมะเขือเทศเป็นกรดซิตริก และกรดมาลิกเป็นส่วนใหญ่ การลดลงของปริมาณกรดจากการไทเทรตอาจเป็นเพราะการลดลงของกรดซิตริกเพียงอย่างเดียวหรือการลดลงทั้งกรดซิตริกและกรดมาลิก โดยกรดถูกนำไปใช้ในกระบวนการหายใจของมะเขือเทศ แต่ยกเว้นมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 ppm มีปริมาณกรด

จากการไทเทรตระหว่างการรักษาเพิ่มขึ้นไปเป็นร้อยละ 0.42 อาจเกี่ยวข้องกับการที่เป็นตัวอย่างที่มีการเสื่อมเสียเร็วที่สุด เพราะจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างกรดอินทรีย์ระหว่างการเจริญเติบโต

เมื่อเปรียบเทียบมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนและมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว พบว่าค่า pH และปริมาณกรดจากการไทเทรตแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ในการศึกษาของ Han *et al.* (2004) เกี่ยวกับการเก็บรักษาสตอเบอรี่ และราสเบอรี่สีแดงที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซน ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร และเก็บไว้ในอุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 88 พบว่า สารเคลือบไคโตแซนช่วยในการป้องกันการผ่านเข้าออกของแก๊ส จึงช่วยชะลอการสุกของผลไม้ ทำให้การเปลี่ยนแปลง pH และปริมาณกรดช้ากว่าตัวอย่างที่ไม่เคลือบผิว และการศึกษาของ Serrano *et al.* (2005) พบว่าไอของยูจินอล เมนทอล หรือไทมอลที่ใส่ในบรรจุภัณฑ์ที่มีผลเชอร์รี่สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของ pH และปริมาณกรดจากการไทเทรตของผลเชอร์รี่ได้ ขณะที่การศึกษาของ Chu *et al.* (2001) พบว่าไอของไทมอลความเข้มข้น 2, 6 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ใส่ในบรรจุภัณฑ์ที่มีเชอร์รี่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดจากการไทเทรตของเชอร์รี่ ดังนั้นความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้มีผลต่อการควบคุมการเปลี่ยนแปลง pH และปริมาณกรดจากการไทเทรตของผลิตผล



ภาพที่ 29 ค่า pH ของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

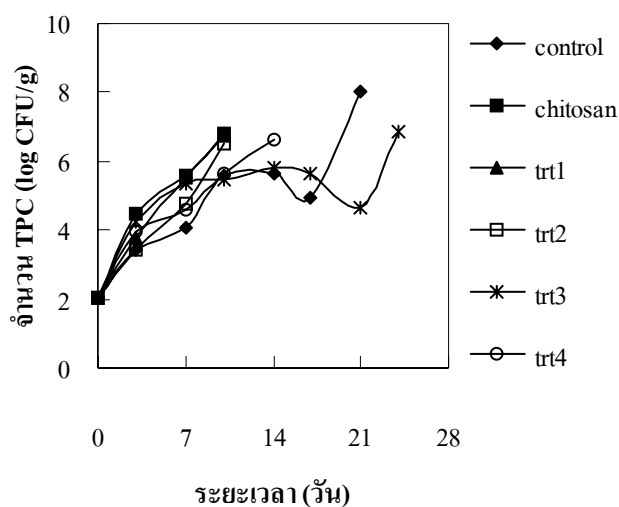


ภาพที่ 30 ปริมาณกรดจากการไทเทรตของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

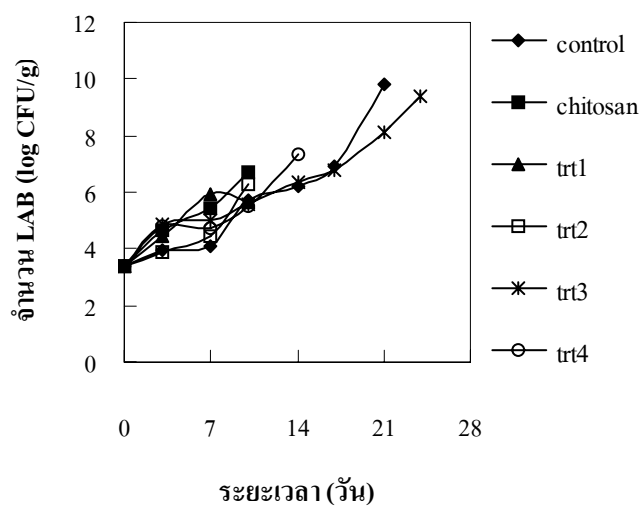
3.1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

มะเขือเทศที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโต และอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียของมะเขือเทศ คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยีสต์และรา พบว่า ระหว่างการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ยกเว้นยีสต์ที่มีปริมาณไม่แน่นอน (ภาพที่ 31-34 และตารางผนวกที่ ข17-20) จากผลการทดลองคุณภาพทางจุลินทรีย์นี้จะเห็นได้ว่ามะเขือเทศเกิดการเน่าเสียหรือเสื่อมคุณภาพเนื่องจากมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในปริมาณที่สูงกว่าข้อกำหนดตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่กำหนดให้อาหารที่นำมาบริโภคควรมีจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 1×10^6 CFU/กรัมของอาหาร ดังนั้นหากพิจารณาจากเกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้พบว่า มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm มีคุณภาพทางจุลินทรีย์ไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 24 วัน รองลงมาคือมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวหรือตัวอย่างควบคุม (21 วัน) มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm (14 วัน) มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซน (10 วัน) มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm (10 วัน) มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของ

ฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 ppm (10 วัน) โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.89, 8.03, 6.61, 6.81, 6.77 และ 6.52 log CFU/กรัมตามลำดับ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์ปริมาณการเสื่อมเสียในข้อ ก. ของข้อ 3.1.1 ที่พบว่าสารเคลือบมีผลทำให้มะเขือเทศมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตและเกิดการเน่าเสียได้รวดเร็วกว่า แม้จะมีการเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในสารเคลือบ แต่อาจเป็นความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสม จากภาพที่ 33 และตารางผนวกที่ ข17 จะเห็นได้ว่ามะเขือเทศที่มีการเคลือบผิวด้วยไคโตแซนและไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นไม่เหมาะสม พบเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS สูงกว่ามะเขือเทศไม่เคลือบผิว ในการศึกษาของ Emmambux *et al.* (np.) ในการใช้สารเคลือบเซลลูโลสในการเคลือบแครอทที่ผ่านเป็นแวนๆ เก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าแครอทที่เคลือบผิวมีการเน่าเสียจำนวนมาก เนื่องจากสารเคลือบที่เป็นพวกพอลิแซคคาไรด์มีคุณสมบัติในการต้านทานน้ำไม่ดีจึงทำให้ น้ำหรือความชื้นจากแครอทถ่ายเทมาที่ผิวที่เคลือบสารเคลือบ ผิวของแครอทจึงเปียกเหมาะต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้ง

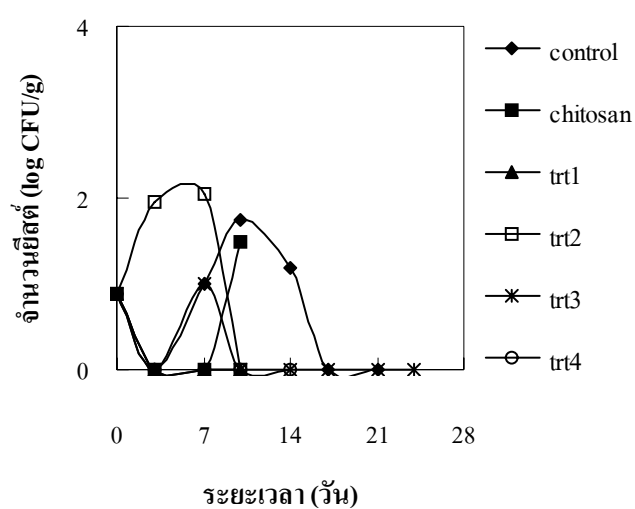


ภาพที่ 31 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

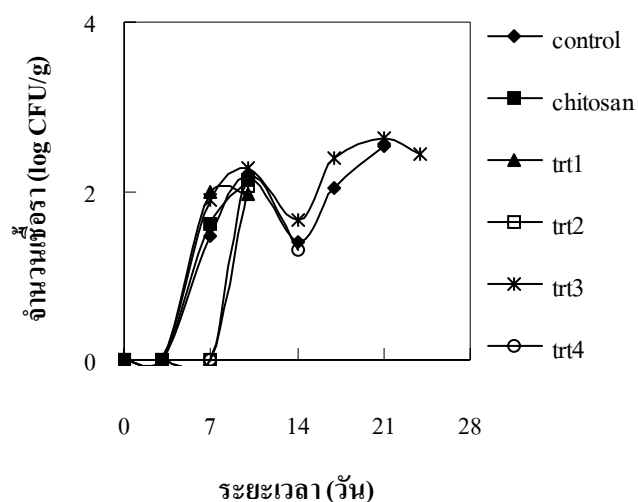


ภาพที่ 32 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,

หมายเหตุ จำนวน TPC = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA
 จำนวน LAB = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS



ภาพที่ 33 จำนวนยีสต์ในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 34 จำนวนเชื้อราในมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

ยังเร่งให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่าตัวอย่างแครอทที่ไม่เคลือบผิว สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมลงไปในการเคลือบที่มีความเข้มข้นของไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 1,000 ppm กับไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 ppm อาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นดังกล่าวน้อยเกินไปไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้และเมื่อเติมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 20,000 ppm ในการเคลือบพบว่ากลับมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นกว่ามะเขือเทศไม่เคลือบผิว เพราะความเข้มข้นดังกล่าวอาจเกิด antagonism ทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งลดลง นอกจากนี้การยับยั้งเชื้อของสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ต้องการยับยั้ง เช่น *B. cereus* ถูกยับยั้งด้วยไคโตแซนผสมไนซินความเข้มข้น 168×10^3 IU/กรัมของฟิล์ม มีความสามารถมากกว่าไนซินความเข้มข้น 84×10^3 , 336×10^3 , และ 42×10^3 IU/กรัมของฟิล์ม ตามลำดับ (Li *et al.*, 2006) และยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาอาหาร เช่นในการศึกษาของ Lee *et al.* (2004) พบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษานมและน้ำส้มที่เก็บรักษาไว้ในถ่อกกระดาศที่เคลือบด้วยสารเคลือบไคโตแซนที่ 3 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน สามารถลดการเจริญเติบโตของแอโรบิกแบคทีเรียและยีสต์ได้เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เคลือบผิวถ่อกกระดาศด้วยไคโตแซนและไนซิน แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไม่มีผลในการยับยั้งโดยมีจำนวนจุลินทรีย์เจริญไม่แตกต่างกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งอุณหภูมิการเก็บรักษาอาจมีผลต่ออัตราการแพร่ของสารยับยั้งเชื้อและการเจริญของจุลินทรีย์

จากผลคุณภาพทางจุลินทรีย์ของมะเขือเทศพบว่ามะเขือเทศมีการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA สูงเกินมาตรฐาน และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองข้อ 1 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA เป็นเชื้อที่ถูกแยกเป็นไอโซเลทออกมาได้มารองจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

3.1.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) กับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ในคุณลักษณะด้านกลิ่นมะเขือเทศ กลิ่นรสมะเขือเทศ ความแข็ง และความชอบรวม ของตัวอย่างมะเขือเทศที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 เป็นเวลา 1 วัน (ตารางที่ 13) จะเห็นได้ว่ามีเพียงตัวอย่างมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm เท่านั้นที่มีคะแนนความชอบรวม ความชอบด้านกลิ่น กลิ่นรส และความแข็งน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมหรือมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว ซึ่งอาจมีผลมาจากคุณภาพเริ่มต้นของมะเขือเทศที่สุ่มมา มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามผลการ

ตารางที่ 13 คะแนนความชอบต่อตัวอย่างมะเขือเทศ

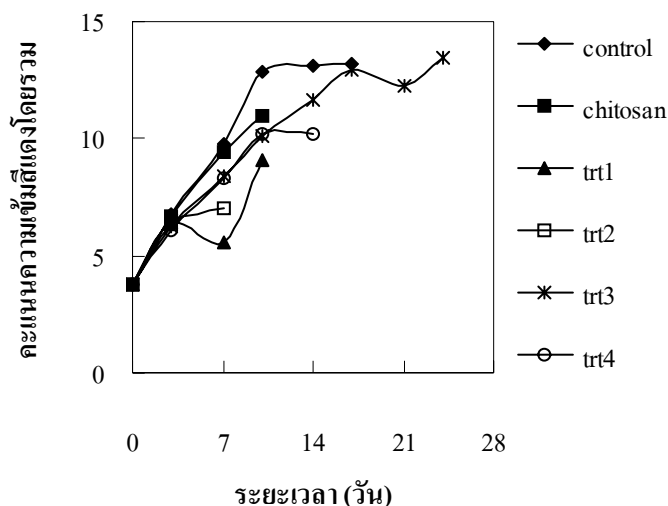
ชนิดตัวอย่าง	กลิ่นมะเขือเทศ	กลิ่นรสมะเขือเทศ	ความแข็ง	ความชอบรวม
control	6.4 a	6.1a	6.3ab	6.2 a
chitosan	6.2ab	5.9a	6.2ab	6.1ab
*trt1	5.7bc	5.1 b	5.8 b	5.4 b
trt2	5.8bc	6.0a	6.5 a	6.3 a
trt3	6.6 a	6.5a	6.3ab	6.5 a
trt4	5.6 c	5.1b	6.0ab	5.9ab

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ทดสอบความชอบส่วนใหญ่สารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมลงในสารเคลือบไม่ค่อยมีผลต่อความชอบมะเชื้อเทศของผู้บริโภค จึงมีความเป็นไปได้ในการนำสารเคลือบโคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ (ไนซิน และบูจินอล) มาใช้ประโยชน์ในการยืดอายุการเก็บรักษามะเชื้อเทศ

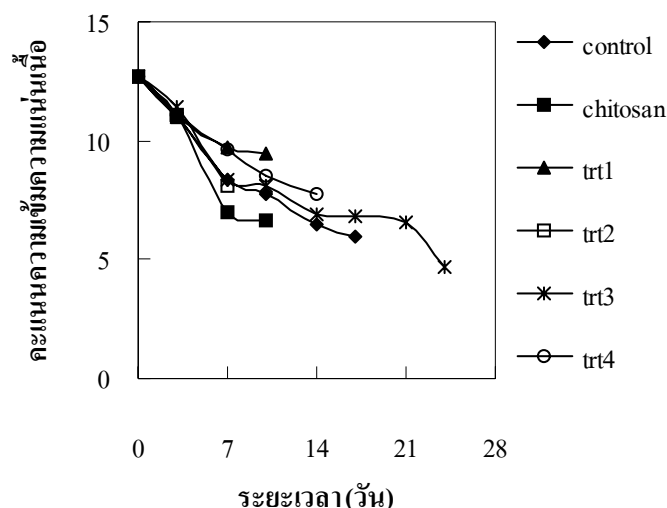
ข. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative Descriptive Analysis, QDA) กับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน โดยการให้คะแนนความเข้ม (intensity) ของคุณลักษณะต่างๆ คือ สีแดงโดยรวม ความแน่นเนื้อและความเหนียว เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละความเข้ม และมะเชื้อเทศสดใหม่ที่ไม่เคลือบผิว (ตารางผนวกที่ ง1) พร้อมทั้งทดสอบการยอมรับ (overall quality rating) เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมหรือมะเชื้อเทศสดใหม่ที่ไม่เคลือบผิว มีผลการทดลองดังนี้

สีของมะเชื้อเทศถือเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อมะเชื้อเทศ ผลการทดสอบเชิงพรรณนาปริมาณนี้แสดงให้เห็นว่ามะเชื้อเทศมีการพัฒนาของสีแดงระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 3.8 ไปเป็นช่วง 7.01-13.16 คะแนน เมื่อเวลานานขึ้น (ภาพที่ 35 และตารางผนวกที่ ข21) เนื่องจากมะเชื้อเทศที่ยังดิบมีสีเขียวก็เนื่องมาจากมีคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเขียวอยู่ในคลอโรพลาสต์ เมื่อสุกคลอโรพลาสต์จะเปลี่ยนเป็นโครโมพลาสต์ซึ่งมีการสร้างแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีแดงขึ้นมา เมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากัน พบว่ามะเชื้อเทศที่ไม่เคลือบผิวหรือตัวอย่างควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงสีผลไปเป็นสีแดงเร็วกว่ามะเชื้อเทศที่เคลือบผิว ผลที่ได้สอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่อง spectrophotometer เนื่องจากสารเคลือบผิวโคโตแซนช่วยลดการหายใจของผลไม้ (El-Ghaouth *et al.*, 1992; Jiang and Li, 2001; Li and Yu, 2001; Devlieghere *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังลดการผลิตเอทิลีน เพราะเอทิลีนเป็นตัวกระตุ้นการสุกของผลิตผล โดยเร่งการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เนื่องจากเอทิลีนไปทำให้เชื้อไรลาคอยด์ ฝักขาด คลอโรฟิลล์ที่จับอยู่กับโปรตีนในเยื่อไรลาคอยด์ ซึ่งช่วยให้คลอโรฟิลล์ไม่ถูกทำลายเนื่องจากกรดในฝักผลไม้ กลับง่ายต่อการถูกทำลาย (จริงแท้, 2549; Hutching, 1999)



ภาพที่ 35 คะแนนความแข็งเฉลี่ยโดยรวมของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ค่าความแน่นเนื้อนอกจากเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของมะเขือเทศแล้วยังเป็นคุณภาพที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อมะเขือเทศอีกด้วย เนื่องจากผู้บริโภคใช้มือบีบผลมะเขือเทศขณะเลือกซื้อนอกเหนือจากการดูสีผิว จากผลการทดลองการทดสอบ QDA คะแนนความแน่นเนื้อมีค่าลดลงระหว่างการเก็บรักษาจากคะแนน 12.71 ไปเป็นช่วง 5.96-9.5 คะแนน ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 36 และตารางผนวกที่ ข22) ผลที่ได้สอดคล้องกับการลดลงของค่าความแน่นเนื้อที่วัดจากเครื่อง Lloyd ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศที่ลดลง เนื่องจากการสลายตัวหรืออ่อนตัวของผนังเซลล์ซึ่งมีเพกตินที่อยู่ในรูปโปรโตเพกตินที่ละลายน้ำไม่ได้ ไปเป็นรูปที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ กรดเพกติกและกรดเพกติกิก ทำให้เซลล์พืชอ่อนตัว และเกิดการสูญเสียของเนื้อสัมผัสระหว่างการสุกของพืช (Barret and González, 1994; Batisse *et al.*, 1996; Remón *et al.*, 2003) การสลายตัวของสตาร์ชไปเป็นน้ำตาล การสูญเสียน้ำออกไปจากผลิตภัณฑ์ และการเสื่อมเสียเนื่องจากการติดเชื้อจุลินทรีย์โดยการเร่งการสร้างเอทิลีนล้วนมีผลให้ความแน่นเนื้อของผักผลไม้ลดลงเช่นกัน (จริงแท้, 2549; Barkai-Golan, 2001; Ben-Yehoshua and Rodov, 2003; Thompson, 2003; Owusu-Apenten, 2005) และการลดลงของแคลเซียมในผลมะเขือเทศ (จริงแท้, 2549)

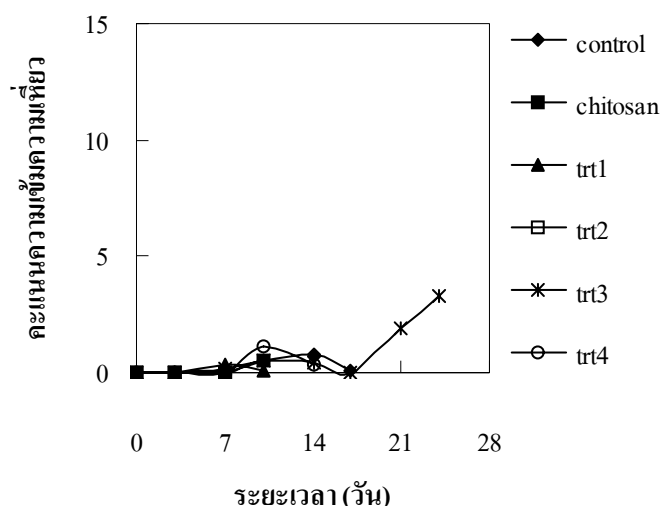


ภาพที่ 36 กะแนนความชื้นความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

เมื่อเปรียบเทียบกะแนนความชื้นความแน่นเนื้อของมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซน และมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว พบว่ามะเขือเทศที่เก็บรักษาในช่วง 3 วันแรก มีกะแนนความชื้นความแน่นเนื้อไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น มะเขือเทศแต่ละสิ่งทดลองมีกะแนนความชื้นความแน่นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเก็บรักษาไว้ 7 วัน มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm มีกะแนนความชื้นความแน่นเนื้อสูงสุดเท่ากับ 9.75 กะแนน รองลงมาก็คือ มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm มะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm และมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนมีกะแนนความชื้นความแน่นเนื้อเท่ากับ 9.63, 8.34, 8.31, 8.11 และ 7.01 กะแนน ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงความเหี่ยวของตัวอย่างมะเขือเทศในระหว่างการเก็บรักษา พิจารณาเปรียบเทียบกับรูปมะเขือเทศที่เก็บไว้เป็นเวลา 2 เดือน โดยไม่เน่าเสีย ซึ่งมีกะแนนความเหี่ยวเท่ากับ 13 กะแนน เพราะมะเขือเทศมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำ และสูญเสียออกไปได้ง่าย

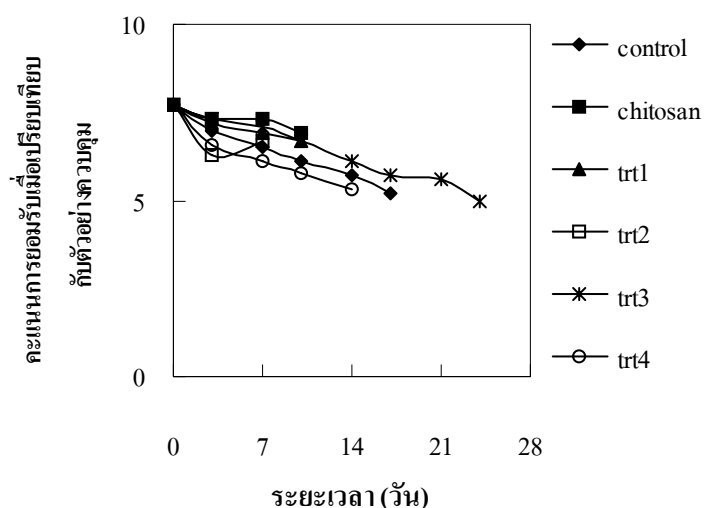
จากช่องเปิดต่างๆ หากเกิดการสูญเสียไอน้ำมาก ผลผลิตยิ่งเหี่ยวยุบ (จริงแท้, 2549) จากผลการทดลองเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลานานขึ้น มะเขือเทศทุกตัวอย่างมีความเหี่ยวเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บ จาก 0 คะแนนไปเป็น 0-0.9 คะแนน ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 37 และตารางผนวกที่ ข23) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนความเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่ามะเขือเทศที่เก็บรักษาในช่วง 3 วันแรก มีคะแนนความเหี่ยวเหี่ยวไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น มะเขือเทศแต่ละสิ่งทดลองมีคะแนนความเหี่ยวความแน่นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 24 วันมีคะแนนความเหี่ยวเหี่ยวเพียง 1.92 คะแนนเท่านั้น



ภาพที่ 37 คะแนนความเหี่ยวเหี่ยวของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

เมื่อเปรียบเทียบคะแนนการยอมรับของมะเขือเทศตัวอย่างกับตัวอย่างควบคุมหรือมะเขือเทศสดใหม่ จากภาพที่ 38 และตารางผนวกที่ ข24 พบว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm และมะเขือเทศที่เคลือบด้วย ไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm มีคะแนนการยอมรับนานสอดคล้องกับร้อยละการเสื่อมเสีย คือมีคุณภาพยังเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14, 21 และ 10 วันตามลำดับ ซึ่งเท่ากับระยะเวลาสุดท้ายที่ตัวอย่างมะเขือเทศดังกล่าวยังมีร้อยละการเสื่อมเสียต่ำกว่าร้อยละ 25 แต่มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซน และมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 และมะเขือเทศที่

เคลือบด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm ยังคงมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับอยู่แม้ว่าจะมีร้อยละของการเสื่อมเสียมากและถูกกัดทิ้งไปแล้ว



ภาพที่ 38 กะเนนการยอมรับของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ภายหลังการเก็บเกี่ยวมะเขือเทศจะสุกอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นผลให้เกิดการสูญเสียคุณภาพ จากตารางที่ 14 เปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศแต่ละสิ่งทดลองจากร้อยละการเสื่อมเสีย คุณภาพทางจุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่ามะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm ช่วยชะลอการเสื่อมเสียได้ดีที่สุด มีอายุการเก็บ 21 วัน โดยคุณภาพทางประสาทสัมผัสยังเป็นที่ยอมรับและคุณภาพทางจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐาน สามารถช่วยยืดอายุการเก็บมะเขือเทศได้นานกว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวซึ่งมีอายุการเก็บรักษา 14 วัน ขณะที่ตัวอย่างสารเคลือบอื่นที่เหลือนอกจากไม่มีผลในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษา แต่ยังกลับทำให้มะเขือเทศมีการเสื่อมเสียมากขึ้น โดยที่มะเขือเทศที่เคลือบไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มะเขือเทศที่เคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm มะเขือเทศที่เคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm และมะเขือเทศที่เคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 เท่ากับ 7, 7, 3 และ 10 วัน ตามลำดับ ดังนั้นสารเคลือบไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm เหมาะสมต่อการใช้เคลือบผิวมะเขือเทศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ 14 การประเมินอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศจากร้อยละการเสื่อมเสีย คุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชนิดตัวอย่าง	อายุการเก็บรักษา (วัน)		
	พิจารณาจากร้อยละการเสื่อมเสีย	พิจารณาจากคุณภาพทางจุลินทรีย์	พิจารณาจากการยอมรับทางประสาทสัมผัส
control	14	17	14
chitosan	7	7	nd
trt1	7	7	nd
trt2	3	7	nd
trt3	21	21	21
trt4	10	10	10

หมายเหตุ control หมายถึง มะเขือเทศที่ไม่ได้เคลือบผิวด้วยสารเคลือบ

chitosan หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm

trt4 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm

nd หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

3.2 ขนบปัง

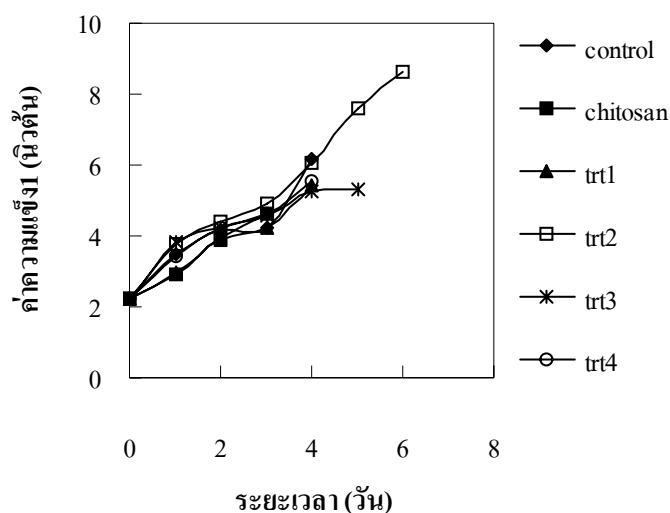
ขนบปังแซนวิช (ค่า a_w เท่ากับ 0.93) จากร้านเซ้นทรัลเบเกอรี่ สีแยกเกษตร มีขนาดจำนวนขนบปังแผ่น 15 แผ่น นำมาห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน (ขนาด 25×25 เซนติเมตร) และฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 1,000 ppm (trt1) ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 10,000 ppm (trt2) ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 15,000 ppm (trt3) และ ไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลความเข้มข้น 20,000 ppm (trt4) หลังจากนั้นนำมาบรรจุลงถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีนอีกหนึ่ง และเก็บรักษาอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ใช้ขนบปังที่บรรจุไม่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนเป็นตัวอย่างควบคุม สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทุกวันจนกว่ามีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ โดยมีคะแนน ≤ 5.5 คะแนนเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน หรือคุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์จนกระทั่งมีจำนวนเชื้อเกินมาตรฐาน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ให้ผลดังนี้

จากผลการทดลองพบว่า ขนบปังที่ไม่ห่อฟิล์ม ขนบปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน และขนบปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 1,000 ppm มีอายุการเก็บรักษาขึ้นกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยมีจำนวนยีสต์เกินเกณฑ์กำหนดเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาเท่ากับ 4, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ ขนบปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 10,000 ppm ขนบปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 15,000 ppm และขนบปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอล 20,000 ppm มีอายุการเก็บรักษาขึ้นกับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยมีคะแนนไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาเท่ากับ >6 , >5 และ >4 วัน ตามลำดับ

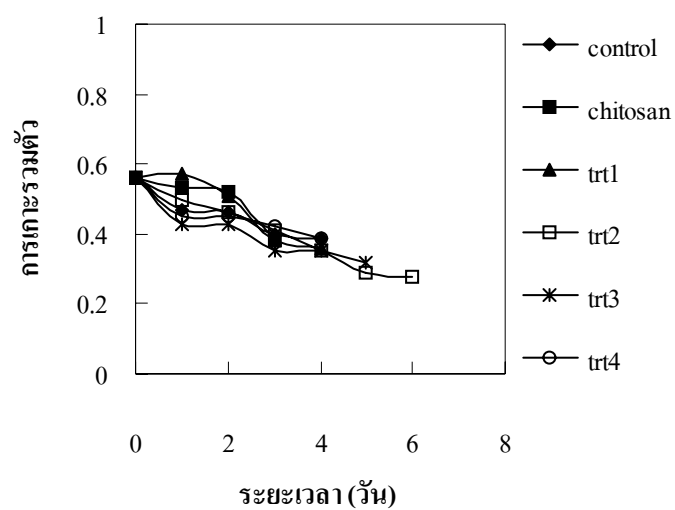
3.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส วัดคุณภาพทางเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง (Lloyd, TA 500) ใช้หัวกดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กดลงไปเป็นระยะทาง 10 มิลลิเมตร (ผลิตภัณฑ์เสียรูปร้อยละ 40) ใช้โปรแกรม texture profile analysis (TPA) ค่าคุณภาพที่วัดออกมาได้ คือ ค่าความแข็ง (hardness) ค่าการเกาะรวมตัว (cohesiveness) และค่าการคืนตัว (springiness) (ภาพที่ 39-41 และตารางผนวกที่ ข25-27)

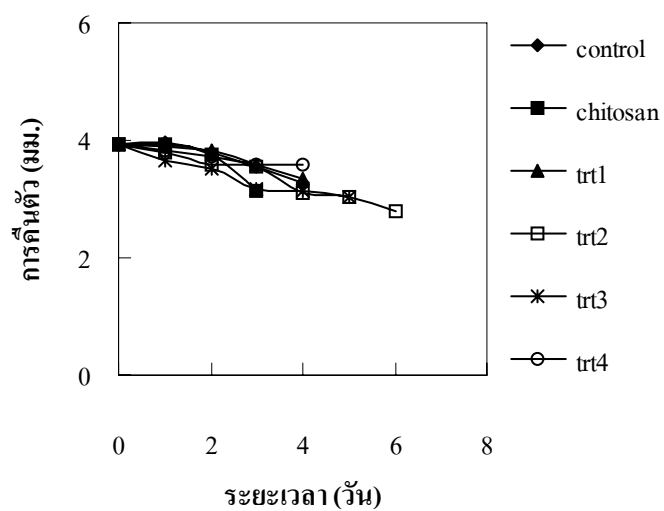
การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาขนมปังคือ ขนมปังมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้นจาก 2.22 ไปเป็นช่วง 4.62-8.61 นิวตัน ค่าการเกาะรวมตัวและค่าการกั้นตัวลดลงจาก 0.56 ไปเป็นช่วง 0.28-0.39 และจาก 3.93 ไปเป็นช่วง 2.8-3.6 mm ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสที่เกิดขึ้นเรียกว่าการเกิด staling ของขนมปัง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้ขนมปังสูญเสียความสดใหม่ สูญเสียคุณภาพทางกายภาพ เช่น ความนุ่มลดลงแต่้วนเพิ่มขึ้น เป็นต้น สูญเสียคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่น สูญเสียกลิ่นรส และความรู้สึกในปาก เป็นต้น (ปริศนา, 2547) โดยจะเกิดขึ้นภายหลังการอบและระหว่างเก็บรักษา เนื่องจากขนมปังมีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบสำคัญ เมื่อนำโดขนมปังไปอบที่อุณหภูมิสูง สตาร์ชจะเจลาติไนซ์ (gelatinized) เปลี่ยนไปเป็น swollen granule และมี partially solubilized starch ขนมปังที่เอาออกจากเตาอบและทิ้งไว้ให้เย็นในช่วงระยะเวลาสั้นๆ โมเลกุลอะไมโลสจะ กลับมาเรียงตัวกันใหม่ เนื่องจากการเกิดเจล (gelation) และโมเลกุลกิ่งของสาขอะไมโลเพกตินจะเกิดการ recrystallization ที่เรียกว่าการรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) เมื่อเก็บรักษาขนมปังเป็นระยะเวลานานขึ้น นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของความชื้นจากเนื้อในขนมปังซึ่งมีมากกว่าที่ขอบขนมปัง โมเลกุลน้ำจากเนื้อในขนมปังจึงถ่ายเทไปสู่ขอบขนมปัง (Smith, 1999; Hug-Iten, *et al.*, 1999; Ribotta and Le Bail, 2007) ขนมปังจึงมีความแข็งกับความร่วนเพิ่มขึ้น และความยืดหยุ่นลดลง



ภาพที่ 39 ค่าความแข็งของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 40 ค่าการเกาะรวมตัวของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 41 ค่าการคั่นตัวของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

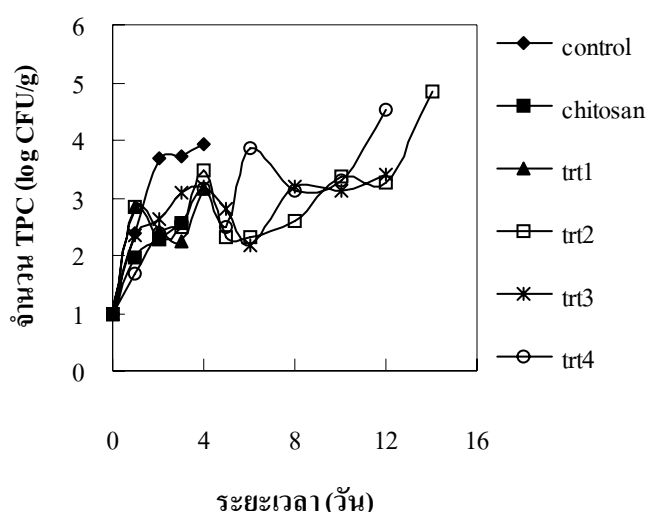
เมื่อเปรียบเทียบค่าเนื้อสัมผัสทั้งค่าความแข็ง ค่าการเกาะรวมตัว และค่าการคืนตัวภายในระยะเวลาการเก็บเท่ากันระหว่างขนมปังที่ไม่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนกับขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนและขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) (ตารางผนวกที่ ข25-27) ดังนั้นกล่าวได้ว่าฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อคุณภาพเนื้อสัมผัสของขนมปัง การห่อด้วยแผ่นฟิล์มถือเป็นการปรับบรรยากาศภายในขนมปังวิธีหนึ่ง จากการศึกษาของ Rasmussen and Hansen (2001) พบว่าขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพปรับบรรยากาศโดยการเพิ่มแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิด staling ไม่แตกต่างจากขนมปังที่ไม่มีการปรับบรรยากาศในการเก็บรักษา

3.2.2 คุณภาพทางจุลินทรีย์

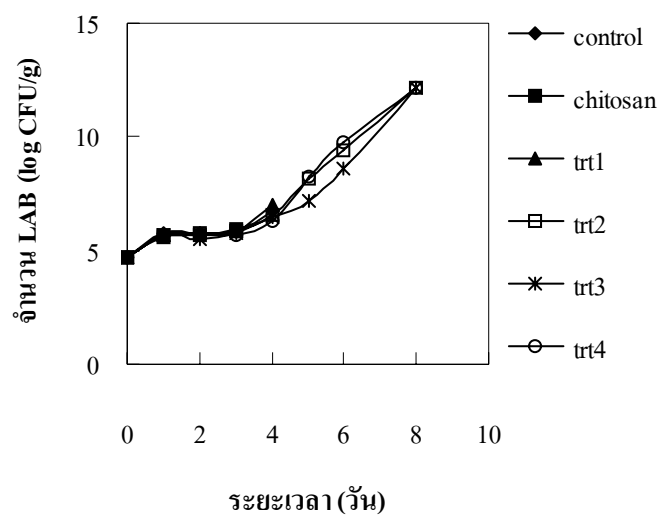
ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในขนมปัง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 55 ± 5 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโต และอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียของขนมปัง คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยีสต์และรา จากผลการทดลอง พบว่าระหว่างการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น (ภาพที่ 42-45 และตารางผนวกที่ ข28-31) ยกเว้นขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 1,000 ppm ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 ppm และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 15,000 ppm ที่ไม่พบการเจริญของเชื้อราตลอดการเก็บรักษา

เชื้อที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของขนมปังแต่ละสิ่งทดลองแตกต่างกัน ขนมปังที่ไม่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนหรือด้วยอย่างควบคุม ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 1,000 ppm มีอายุการเก็บเท่ากับ 4, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ เกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากมีจำนวนยีสต์สูงกว่า 10^2 CFU/g ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มพข.747/2548) ของขนมปังปอนด์ ว่าต้องยีสต์และรา $\leq 10^2$ CFU/g แสดงว่าฟิล์มไคโตแซนและสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ แม้ว่ามีหลายการศึกษาที่กล่าวว่าไคโตแซนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และราได้ดี และที่ความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อได้ในวิธี disc agar diffusion จึงอาจมีปัจจัยอื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งของไคโตแซนและสาร

ยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง เช่น องค์ประกอบต่างๆ ในอาหาร มีผลต่อการแพร่ของสารไปยังอาหาร การศึกษาของ Devlieghere *et al.* (2004) พบว่าปริมาณสตาร์ช โปรตีนแป้งสาลี และโซเดียมคลอไรด์ที่สูงขึ้นมีผลทำให้ประสิทธิภาพของไคโตแซนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida lambica* ลดลง แต่ไขมันหรือน้ำมันไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อของไคโตแซน และ pH ที่สูงขึ้นมีผลทำให้ประสิทธิภาพของไคโตแซนลดลงเช่นกัน เพราะที่ pH ต่ำหมู่อะมิโนในโมเลกุลไคโตแซนมีประจุบวกสามารถดึงดูดกับประจุลบของจุลินทรีย์ จึงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ และการศึกษาของ Gill *et al.* (2002) พบว่าแฮมที่เคลือบผิวด้วยเจลเจลาตินผสมน้ำมันซิแลนโด (cilantro oil) ความเข้มข้นร้อยละ 6 กับกลีเซอรอลโมโนลอเรท (glycerol monolaurate) หรือเลซิธินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ ทั้งที่ความเข้มข้นของน้ำมันซิแลนโดดังกล่าวยับยั้งเชื้อนี้ได้เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เมื่อความเข้มข้นของยูจินอลในแผ่นฟิล์มไคโตแซนเพิ่มขึ้นเท่ากับ 10,000 15,000 และ 20,000 ppm สามารถช่วยชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในขนมปังได้เพิ่มขึ้น โดยเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน โดยมีจำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินมาตรฐาน 10 วัน โดยมีจำนวนยีสต์เกินมาตรฐาน และ 12 วัน มีจำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ยีสต์และราเกินมาตรฐาน ตามลำดับ

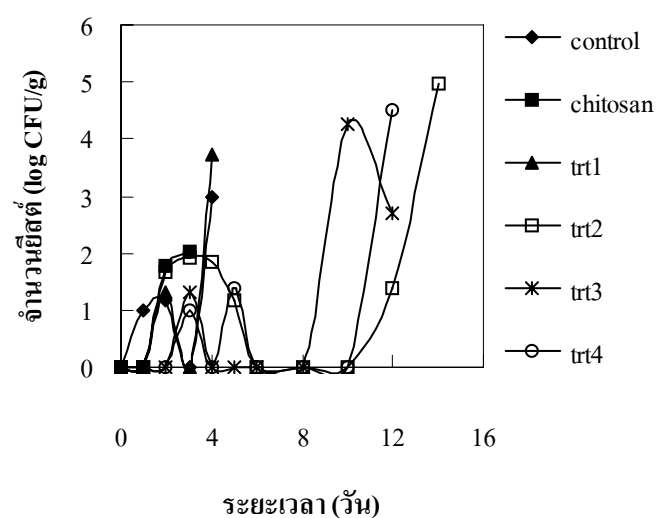


ภาพที่ 42 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

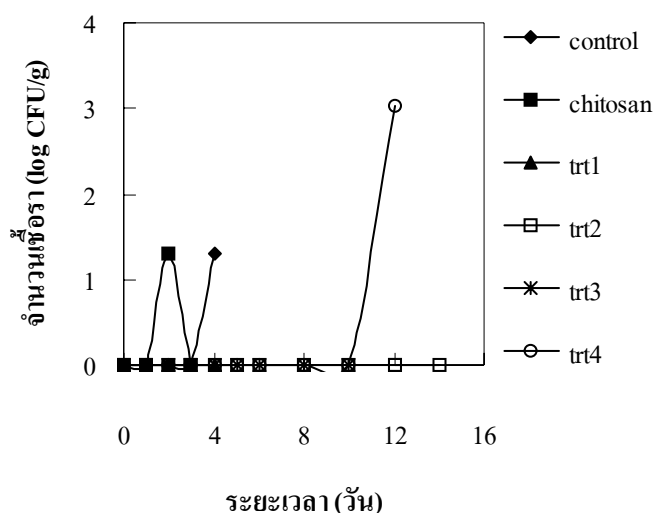


ภาพที่ 43 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

หมายเหตุ จำนวน TPC = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA
 จำนวน LAB = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS



ภาพที่ 44 จำนวนยีสต์ในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 45 จำนวนเชื้อราในขนมปังเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

จากผลการทดลองนี้พบว่าขนมปังมีการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณยีสต์เกินมาตรฐานกำหนด เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองข้อ 1 ที่ไอโซเลทของยีสต์ถูกแยกออกมาได้น้อยกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ตามลำดับ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าจำนวนเชื้อที่ถูกแยกออกมาได้มากกว่าไม่จำเป็นที่จะต้องเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่าการเสื่อมเสียของขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm มีการเจริญของจุลินทรีย์ช้าที่สุด การเสื่อมเสียนอกจากมีจำนวนยีสต์เกินมาตรฐานแล้ว ยังมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มพช.747/2548) ของขนมปังปอนด์อีกด้วย ที่กำหนดว่าต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมด $\leq 10^4$ CFU/g ดังนั้นขนมปังที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานานขึ้น กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA สามารถเจริญเติบโตจนเป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของขนมปังได้

3.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) ตัวอย่างขนมปังที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 55 ± 5 เป็นเวลา 1 วัน นำไปทดสอบความชอบกับผู้บริโภคไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ในคุณลักษณะด้านกลิ่นหอมของขนมปัง ความนุ่ม และความชอบรวม (ตารางที่ 15) จะเห็นได้ว่าตัวอย่างขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm ได้รับคะแนนความชอบน้อยกว่าขนมปังที่ไม่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนหรือตัวอย่างควบคุมและสิ่งทดลองอื่นๆ โดยได้รับคะแนนความชอบในด้านกลิ่นหอมและความนุ่มของขนมปังต่ำเช่นกัน ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมลงในฟิล์มไคโตแซนมีผลต่อกลิ่นของขนมปัง เนื่องจากยูจินอลปริมาณมากทำให้ขนมปังมีกลิ่นรสของยูจินอล มีผลทำให้ความชอบของผู้บริโภคลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของสิรินาถ (2548) พบว่าการใส่น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูเป็นส่วนผสมในขนมปังที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.50 (โดยน้ำหนักแป้ง) พบว่ามีคะแนนการยอมรับโดยรวมน้อยกว่าขนมปังที่ไม่ใส่น้ำมันหอมระเหยนี้ เนื่องจากมีผลให้ขนมปังมีกลิ่นอบเชยและกานพลูที่ค่อนข้างแรง

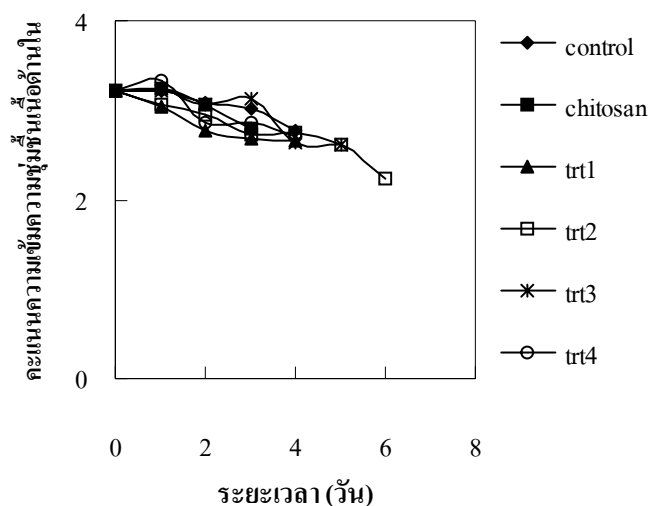
ตารางที่ 15 คะแนนความชอบต่อตัวอย่างขนมปัง

ชนิดตัวอย่าง	กลิ่นหอมขนมปัง	ความนุ่ม	ความชอบรวม
control	6.5a	6.4 a	6.7a
chitosan	6.4a	6.5 a	6.4a
trt1	6.4a	6.6 a	6.3a
trt2	6.3a	6.5 a	6.4a
trt3	5.3b	5.7 b	5.5b
trt4	5.3b	6.0ab	5.4b

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ข. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณ ทำการทดสอบกับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน โดยการให้คะแนนความเข้ม (intensity) ของคุณลักษณะต่างๆ คือ ความชุ่มชื้นที่ผิวหนังหน้าขมับ กลิ่นหอมขมับ กลิ่นหมัก และความนุ่ม ใช้วิธีเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละความเข้ม และขนมปังสดใหม่ (ตารางผนวกที่ 2) พร้อมทั้งทดสอบการยอมรับ (overall quality rating) เปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานหรือขนมปังสดใหม่ที่ไม่ห่อฟิล์ม และให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดสอบการยอมรับของมะเขือเทศ

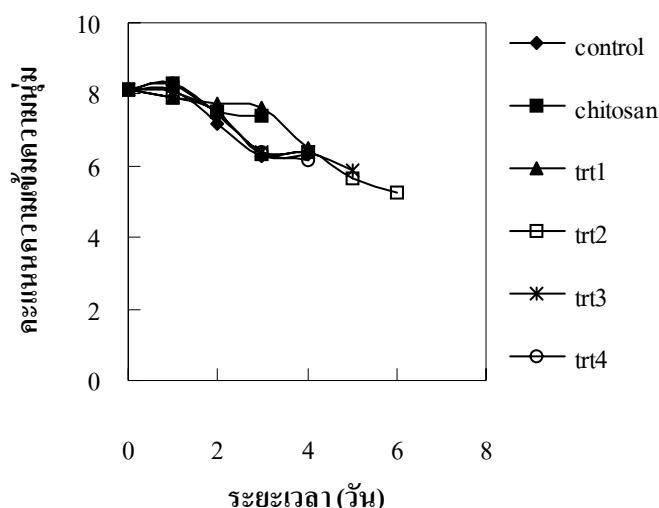
คะแนนความเข้มความชุ่มชื้นของเนื้อด้านในขนมปังลดลงจาก 3.21 คะแนนไปเป็นช่วง 2.24-2.79 คะแนน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 46 และตารางผนวกที่ 32) การที่เนื้อด้านในของขนมปังแห้งลงไปเนื่องจากมีการเคลื่อนที่ของน้ำจากบริเวณเนื้อด้านในของขนมปังซึ่งมีความชื้นสูงกว่าไปสู่ขอบขนมปังที่มีความชื้นต่ำกว่า และคะแนนความเข้มความนุ่มของขนมปังลดลงจาก 8.11 คะแนนไปเป็นช่วง 5.28-7.41 คะแนน เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 46 คะแนนความเข้มความชุ่มชื้นของเนื้อด้านในขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

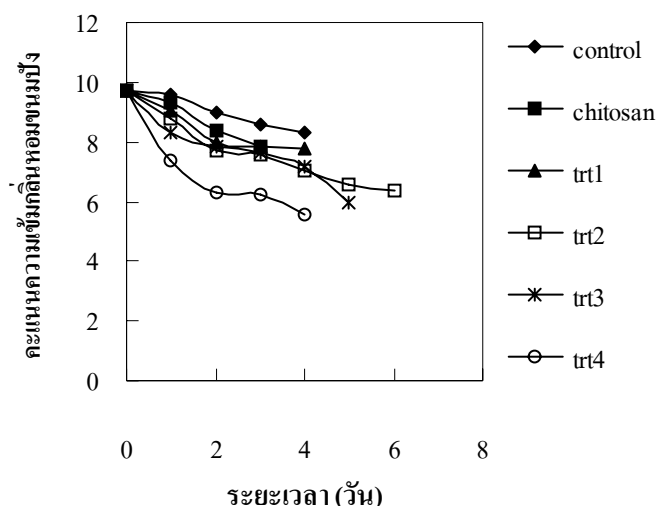
ดังภาพที่ 47 และตารางผนวกที่ 33 ซึ่งต่างเป็นผลจากการเกิด staling ของขนมปัง เมื่อเปรียบเทียบกับขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มและขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มที่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์ม โคลิโตแซนหรือตัวอย่างควบคุม พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงคะแนนความเข้มความชุ่มชื้นที่

ผิวหน้าและความนุ่มของขนมปังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าคุณภาพเนื้อสัมผัสที่วิเคราะห์จากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส ดังนั้นฟิล์มและสารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อคุณภาพด้านความชุ่มชื้นและความนุ่มของขนมปัง



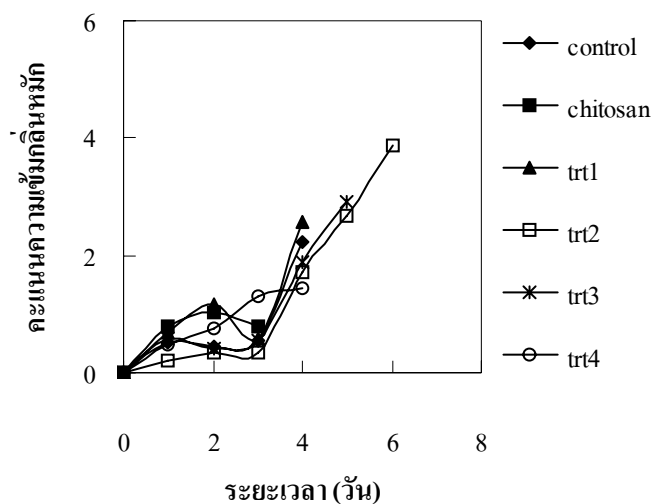
ภาพที่ 47 กะแนนความชุ่มชื้นของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

กะแนนความชื้นกลิ่นหอมขนมปังลดลงจาก 9.75 กะแนนไปเป็นช่วง 5.56-8.34 กะแนนระหว่างการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 48 และตารางผนวกที่ ข34) สาเหตุที่กลิ่นหอมขนมปังลดลงเนื่องจากการระเหยไปของกลิ่น เช่น 2-acetyl-1-pyrroline กลิ่นถูกกักอยู่ในสายอะไมโลส การเกิด staling ของขนมปัง (Belitz, 2004) กลิ่นผิดปกตินี้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ เช่น ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenes) และการเจริญของเชื้อรา ทำให้เกิดกลิ่นของ 1-butanol และ 2-butanone สูงกว่าขนมปังที่ไม่มีการเสียดจากไลพอกซีจีเนสและเชื้อรา (Needham *et al.*, 2005) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์ม พบว่าสารเคลือบและความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบมีผลให้กลิ่นหอมของขนมปังลดลง ความเข้มข้นของยูจีนอลที่เพิ่มขึ้นทำให้กลิ่นหอมของขนมปังลดลง ($p \leq 0.05$) เนื่องจากมีกลิ่นของยูจีนอลไปรบกวน



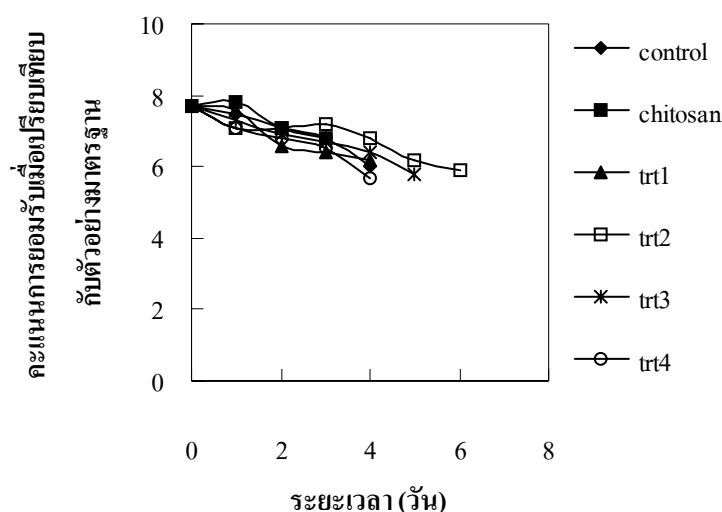
ภาพที่ 48 คะแนนความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

ขนมปังเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นมีการพัฒนาของกลิ่นหมักเพิ่มขึ้น โดยมีคะแนนความเข้มข้นหมักเพิ่มขึ้นจาก 0 ไปเป็นช่วง 0.8-3.88 คะแนน ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 48 และตารางผนวกที่ ข35) เนื่องจากการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในขนมปังเมื่อเก็บรักษานานขึ้น เช่นจากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์ม ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน และขนมปังที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 1,000 ppm มียีสต์เจริญในปริมาณที่สูงกว่ามาตรฐานเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนความเข้มข้นหมักที่เกิดขึ้นของขนมปังก็เกิดขึ้นชัดเจนในวันที่ 4 เช่นกัน เพราะยีสต์ที่เจริญโดยอาศัยกระบวนการหมัก น้ำตาลในขนมปังถูกย่อยสลาย ได้แอลกอฮอล์ และเอสเทอร์ ทำให้ขนมปังมีกลิ่นหมักเกิดขึ้น (ปริศนา, 2547) ขณะที่ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 10,000 15,000 และ 20,000 ppm มีปริมาณยีสต์ไม่เกินมาตรฐานจึงมีกลิ่นหมักที่เกิดขึ้นน้อยกว่า ดังนั้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใส่ลงในฟิล์มมีผลช่วยชะลอการเกิดกลิ่นหมักในขนมปังได้ เนื่องจากช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตและทำให้เกิดกลิ่นหมักของขนมปัง



ภาพที่ 49 กะแนความชื้นกลืนน้ำของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

การยอมรับคุณภาพของขนมปังจากการเปรียบเทียบกับตัวอย่างขนมปังแต่ละสิ่ง ทดลองกับตัวอย่างมาตรฐานหรือขนมปังสดใหม่ พบว่ากะแนการยอมรับของตัวอย่างขนมปัง ลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 50 และตารางผนวกที่ ข36) และเมื่อพิจารณา เปรียบเทียบกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่าขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนที่เก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน ขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์มและขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน เกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากมีจำนวนยีสต์เกิน มาตรฐาน แต่ยังคงมีกะแนคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับ ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm (4 วัน) มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาไปเป็นระยะเวลา ≤ 6 , ≤ 5 และ ≤ 4 วัน ตามลำดับ โดยที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐาน



ภาพที่ 50 คะแนนการยอมรับขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

จากตารางที่ 16 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนมปัง พบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมลงในฟิล์มไคโตแซนสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาขนมปังได้นานขึ้น โดยเมื่อเติมยูจินอลที่ความเข้มข้น 10,000 15,000 และ 20,000 ppm ลงในฟิล์มไคโตแซนที่ผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในขนมปังไม่ให้มีจำนวนเกินมาตรฐานเป็นระยะเวลาเท่ากับ 12, 8 และ 10 วัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากคุณภาพทางประสาทสัมผัส สิ่งทดลองขนมปังดังกล่าวมีคะแนนการยอมรับเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 6, 5 และ 4 วัน ตามลำดับ ดังนั้นคะแนนการยอมรับคุณภาพทางประสาทเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษาของขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์ม 3 ชนิดนี้ จึงมีอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 6, 5 และ 4 วัน ตามลำดับ ขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์มมีอายุการเก็บรักษา 3 วัน ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนมีอายุการเก็บรักษา 2 วัน และขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm มีอายุการเก็บรักษา 3 วัน ซึ่งมีการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณยีสต์เกินมาตรฐาน สรุปได้ว่าฟิล์มไคโตแซนผสมในซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm มีความเหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาขนมปัง

ตารางที่ 16 การประเมินอายุการเก็บรักษาของขนมปังจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชนิดตัวอย่าง	อายุการเก็บรักษา (วัน)	
	พิจารณาจากคุณภาพทางจุลินทรีย์	พิจารณาจากการยอมรับทางประสาทสัมผัส
control	3	nd
chitosan	2	nd
trt1	3	nd
trt2	12	6
trt3	8	5
trt4	10	4

หมายเหตุ control หมายถึง ขนมปังที่ไม่ได้ห่อด้วยสารเคลือบก่อนบรรจุ

chitosan หมายถึง ขนมปังที่ห่อด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง ขนมปังที่ห่อด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง ขนมปังที่ห่อด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง ขนมปังที่ห่อด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm

trt4 หมายถึง ขนมปังที่ห่อด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm

nd หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

3.3 ขนมหอยทอด

ตัวอย่างขนมหอยทอดจากร้านรสน้ำทิพย์ สีแยกเกษตร มีค่า a_w เท่ากับ 0.87 เรียงบรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีฟิล์มไคโตแซน (ขนาด 12.5×12.5 เซนติเมตร) หรือฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และยูจินอลที่ความเข้มข้น 500 ppm (trt1) ในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอลที่ความเข้มข้น 20,000 ppm และยูจินอลที่ความเข้มข้น 10,000 ppm (trt2) และในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอลที่ความเข้มข้น 40,000 ppm และยูจินอลที่ความเข้มข้น 20,000 ppm (trt3) รองอยู่ด้านล่างกล่อง ฟิล์มที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงดังตารางที่ 5 เรียงขนมหอยทอดจำนวน 24 ชิ้น เป็น 2 ชั้น ชั้นละ 12 ชิ้น โดยที่ระหว่างชั้นของหอยทอดจะมีแผ่นฟิล์มวางอยู่ พยายามให้แผ่นฟิล์มสัมผัสกับขนมหอยทอดให้มากที่สุด เมื่อเรียงขนมครบทั้ง 2 ชั้น จึงนำแผ่นฟิล์มมาวางทับอีกชั้นหนึ่ง ปิดฝากล่องพลาสติกกรอบด้านให้สนิทด้วยเทปกาวใส จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทุกวัน จนกว่ามีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่มีคะแนนการยอมรับ ≤ 5.5 คะแนนเมื่อเปรียบเทียบกับขนมหอยทอดสดใหม่ที่ใช้เป็นตัวอย่างมาตรฐาน หรือจนกระทั่งมีจำนวนจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ให้ผลดังนี้

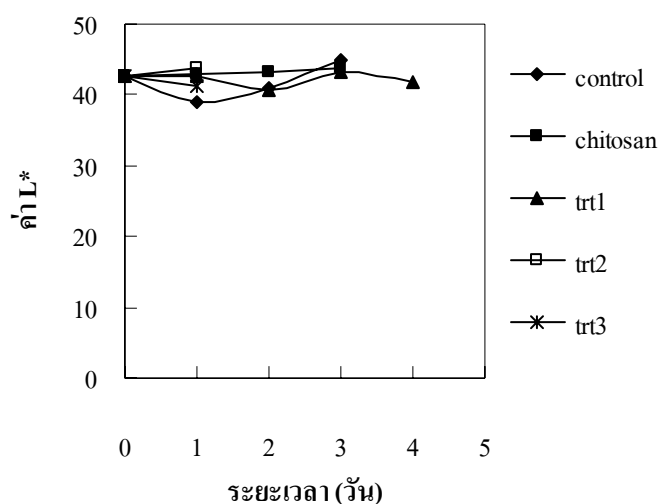
จากผลการทดลอง พบว่าขนมหอยทอดที่ไม่ห่อฟิล์ม ขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน ขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในชั้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm และขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในชั้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm มีอายุการเก็บรักษาขึ้นกับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยมีคะแนนไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาเท่ากับ 3, 3, 1 และ 1 วัน ตามลำดับ โดยขนมหอยทอดที่ไม่ห่อฟิล์ม และขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากมีกลิ่นหมัก ขณะที่ขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในชั้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm และขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในชั้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm ไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากมีกลิ่นและกลิ่นรสของไทมอลและยูจินอลที่รุนแรงเกินไป สำหรับขนมหอยทอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมในชั้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm มีอายุการเก็บรักษาขึ้นกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ มีจำนวน

กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินเกณฑ์กำหนดเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาเท่ากับ 4 วัน ตามลำดับ

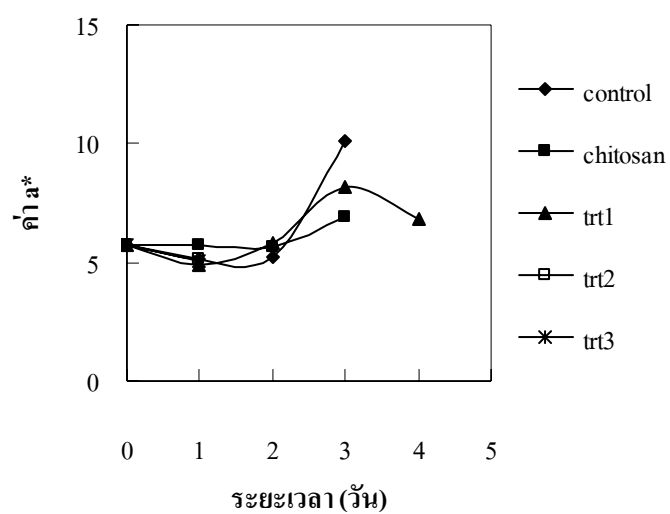
3.3.1 คุณภาพทางกายภาพ

ก. การเปลี่ยนแปลงค่าสี ด้วยระบบ CIE L*a*b* วัดออกมาเป็นค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) ค่าสีเหลือง (b*) ค่ามุมของสี (hue angle) และค่าความเข้มสี (chroma) ของทองหยอดแต่ละชิ้น จำนวน 3 ตำแหน่ง ด้วยเครื่อง spectrophotometer (ภาพที่ 51-55 และตารางผนวกที่ ข37-41) พบว่า ขนมหองหยอดมีแนวโน้มของค่าความสว่าง ค่าสีเหลือง ค่ามุมของสี และค่าความเข้มสีลดลง แต่มีค่าสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษานานขึ้น ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากค่ามุมของสีของขนมหองหยอดก่อนการเก็บรักษามีค่าเท่ากับ 75.63° และเปลี่ยนไปเป็น 66.87° , 73.4° และ 70.06° สำหรับขนมหองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม ขนมหองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน และขนมหองหยอดที่ห่อฟิล์มผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทโมล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 วัน แสดงว่าขนมหองหยอดมีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองไปเป็นสีส้มแดง ค่าความเข้มสีที่ลดลงแสดงถึงความบริสุทธิ์ของสีเหลืองของขนมหองหยอดลดลง มีการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองของ Khouryieh *et al.* (2006) พบว่าค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองของเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ทำจากไข่มีค่าความสว่างและค่าสีเหลืองลดลงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลานานขึ้น สีเหลืองของขนมหองหยอดเป็นสีของแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงของสีระหว่างการเก็บรักษาอาจเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์หรือปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) เพราะปฏิกิริยานี้นอกจากจะเกิดขึ้นขณะกระบวนการแปรรูปอาหารแล้ว ยังเกิดขึ้นได้ระหว่างการเก็บรักษาอาหาร และปฏิกิริยานี้สามารถเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิห้อง กลไกของปฏิกิริยาเกิดจากหมู่คาร์บอนิลจากโมเลกุลของน้ำตาลรีดิวซิงทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนในโมเลกุลกรดอะมิโน และ โปรตีน (นิธิยา, 2545; Ramírez-Jiménez *et al.* 2003; Belitz, 2004; Carboni *et al.*, 2005) ขนมหองหยอดมีไข่แดงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ ซึ่งในไข่แดงก็มีกลูโคสที่เป็นน้ำตาลรีดิวซิงและโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ในการศึกษาของ Carboni *et al.* (2005) ไข่ที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีพ่นฝอยมีโปรตีนร้อยละ 6.73 และน้ำตาลรีดิวซิงร้อยละ 0.84 และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 20°C พบว่าปริมาณกลูโคสและฟรุกโตสลดลงจากร้อยละ 0.43 และ 0.10 ของน้ำหนักแห้ง ไปเป็นร้อยละ 0.27 และ 0.09 ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟูโรซิน (furosine) ซึ่งเป็นผลผลิตจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นก่อนเก็บรักษา 5.01 มิลลิกรัม/กรัมของโปรตีน ไปเป็น 5.98 มิลลิกรัม/กรัมของโปรตีน และจาก

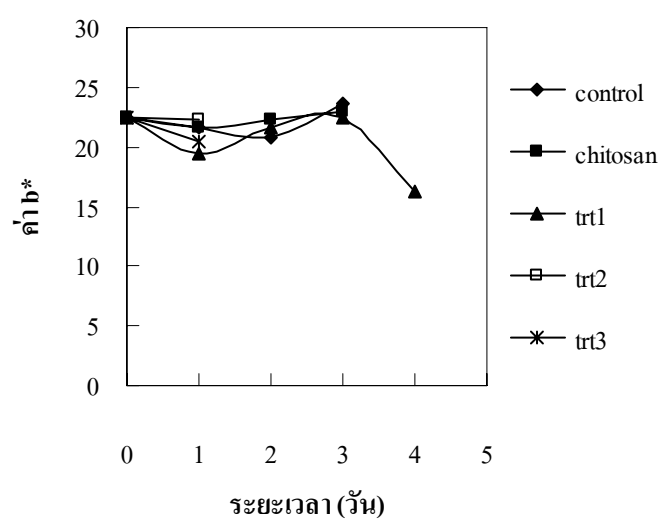
การศึกษาของเกสรินทร์ (2546) พบว่าขนมทองหยอดมีโปรตีนอยู่เท่ากับร้อยละ 4.14 และน้ำตาลรีดิวซิงเท่ากับร้อยละ 0.32 ในการศึกษาของ Oh *et al.* (2006) พบว่าการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดของน้ำเชื่อมจากน้ำตาลซูโครสที่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมาที่มีค่า pH ต่ำกว่า 8 เกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าเมื่อมีค่า pH สูงกว่า 8 และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อมีไกลซีนผสมร่วมกับน้ำเชื่อม โดยผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่ pH สูงคือ ฟูแรนโนน (furanone) (Nursten, 1986) ซึ่งขนมทองหยอดมีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 8.17 จึงเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ระหว่างการผลิต และการเก็บรักษา



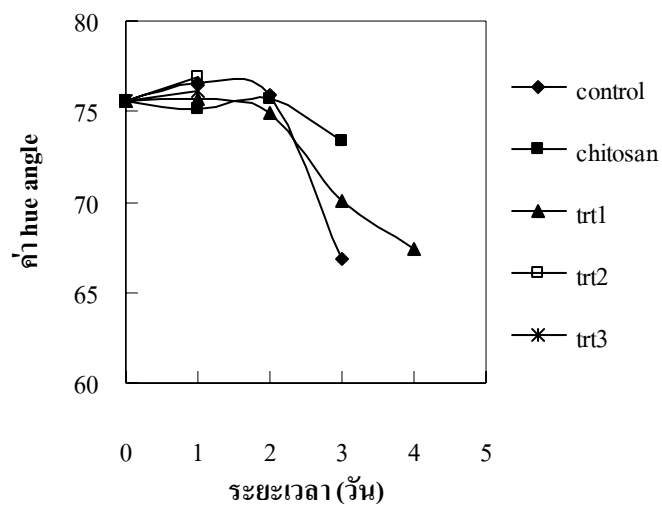
ภาพที่ 51 ค่าความสว่าง (L*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$



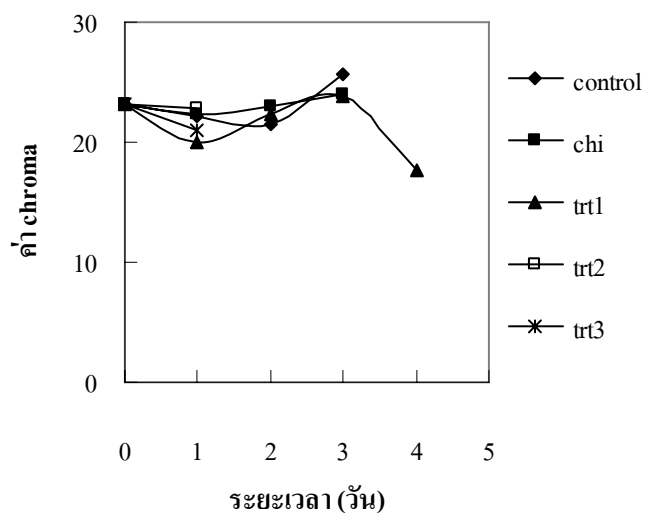
ภาพที่ 52 ค่าสีแดง (a^*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^\circ\text{C}$



ภาพที่ 53 ค่าสีเหลือง (b^*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^\circ\text{C}$



ภาพที่ 54 ค่ามุมของสี (hue angle) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$



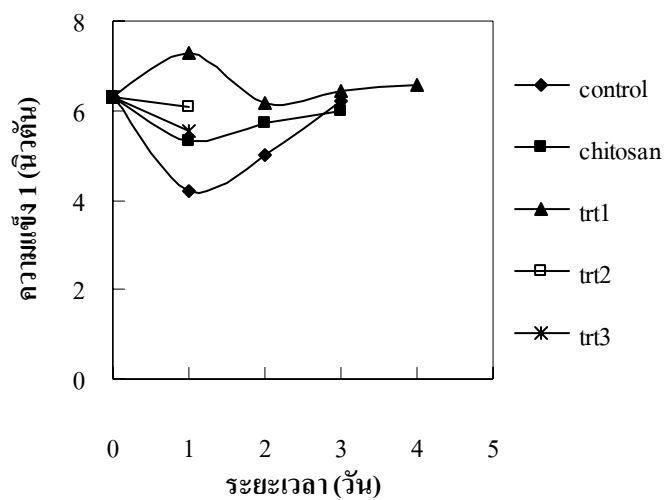
ภาพที่ 55 ค่าความเข้มสี (chroma) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนทั้งที่ผสมและไม่ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ กับตัวอย่างควบคุมหรือขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม พบว่าระหว่างการเก็บ

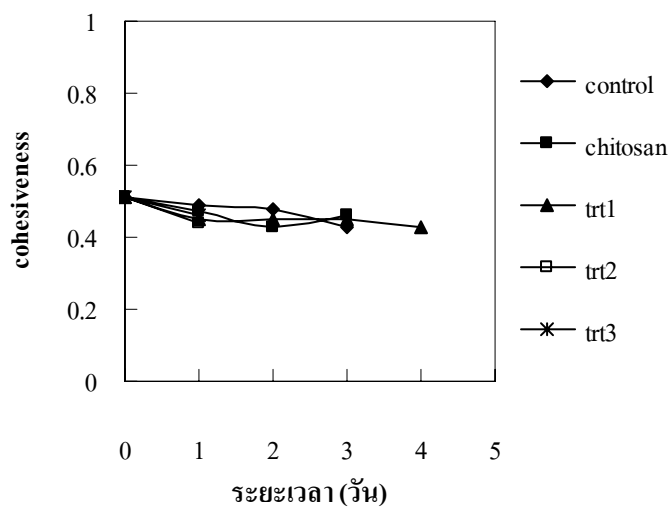
รักษา 0-2 วัน ค่าสีของขนมทองหยอดแต่ละสิ่งทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 วัน ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเพิ่มขึ้น และค่าความเข้มสีต่ำกว่าขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์ม ($p \leq 0.05$) และขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนกับขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์มมีค่าสีเหลือง ค่ามุมของสีและค่าความเข้มสีไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) แต่มีค่าความสว่าง และค่าสีแดงแตกต่างกัน

ข. การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส วัดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส พบว่าความแข็งของขนมทองหยอดไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4.18-7.28 นิวตัน แต่ค่าการเกาะรวมตัวลดลงจาก 0.51 ไปเป็นช่วง 0.43-0.46 เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 56-57 และตารางผนวกที่ ข42-43) ส่วนประกอบของขนมทองหยอดนอกจากไข่แดงแล้วยังประกอบด้วยแป้งข้าวเจ้า ซึ่งในกระบวนการผลิตขนมทองหยอดมีการให้ความร้อน แป้งเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดเจลาติไนเซชัน อนุภาคแป้งพองตัวและแตกออกเป็นสารละลายชั้นหนืดซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ละลายได้ของอะไมโลสหรือบางส่วนของอะไมโยเพกติน และเมื่อนำมาทำให้เย็นจะเกิดรีโทรเกรเดชัน สตาร์ชที่เจลาติไนซ์จะเรียงตัวเป็น โครงสร้าง viscoelastic gel มีสาเหตุมาจากอะไมโลสเรียงตัวเป็นเจล (นิธิยา, 2545; Perdon *et al.*, 1999; Hagenimana *et al.*, 2005) ทำให้เนื้อสัมผัสของขนมทองหยอดแข็งและร่วนขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน

เมื่อเปรียบเทียบขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมทองหยอดไม่ห่อฟิล์ม พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์มีค่าความแข็งอยู่ในช่วง 5.56-7.23 นิวตัน ซึ่งสูงกว่าขนมทองหยอดที่ไม่ได้ห่อฟิล์มมีค่าความแข็งเท่ากับ 4.18 นิวตันและขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนมีค่าความแข็งเท่ากับ 5.32 นิวตัน ($p \leq 0.05$) เนื่องจากไนซินที่เติมลงไปอาจจะไปขยายโมเลกุลของไคโตแซนทำให้โมเลกุลเรียงตัวไม่แน่น (Pranto *et al.*, 2005) ความชื้นเคลื่อนที่และอาจถูกกักไว้ในฟิล์ม หลังจากนั้น ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม และขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนและขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm มีความแข็งไม่แตกต่างกัน มีค่าอยู่ในช่วง 5.02-6.43 นิวตัน สำหรับค่าการเกาะรวมตัวระหว่างการเก็บรักษาของขนมทองหยอดแต่ละสิ่งทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)



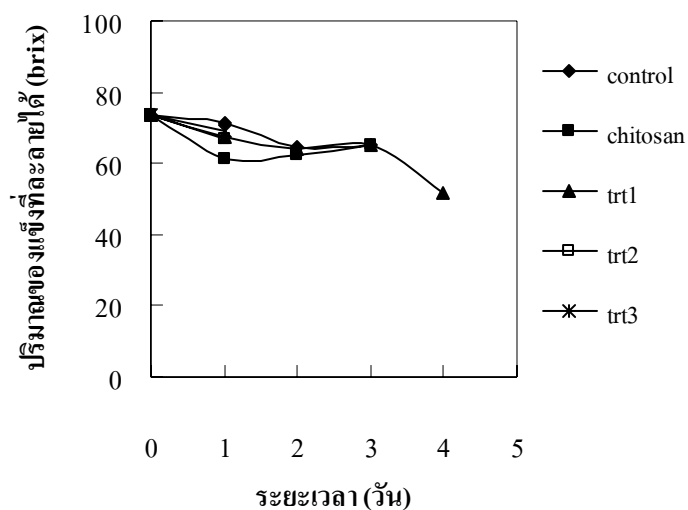
ภาพที่ 56 ค่าความแข็งของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$



ภาพที่ 57 ค่าการเกาะรวมตัวของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$

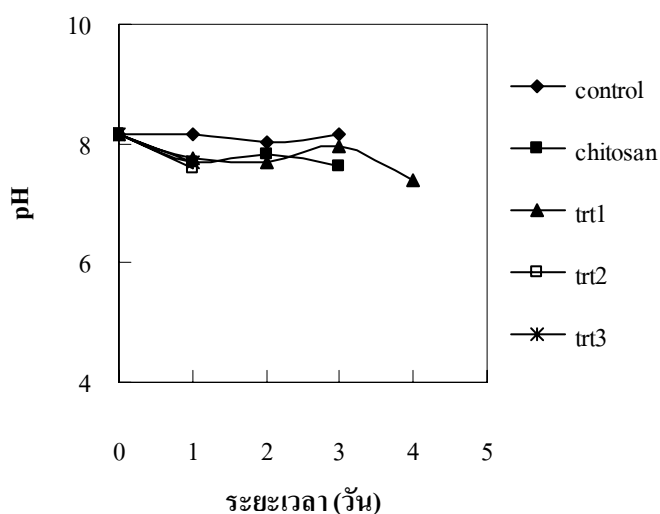
3.3.2 คุณภาพทางเคมี

ก. การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ วัดด้วยเครื่อง hand reflectometer เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้นที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 58 และตารางผนวกที่ ข44 พบว่าขนมทองหยอดมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของทุกสิ่งทดลองต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจสาเหตุจากปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูงมักมีการเสื่อมเสียมาจากยีสต์ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตได้ในที่มีน้ำตาลสูง โดยเฉพาะ *Saccharomyces Candida* และ *Rhodotorula* ซึ่งขนมทองหยอดเริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ค่อนข้างสูง เท่ากับ 73.78 องศาบริกซ์ เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ เช่น ยีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และย่อยสลายต่อในกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน หรือกระบวนการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากกระบวนการหมักจะได้เอธิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากยีสต์แล้วผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลสูงยังเสียเนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติก โดยเฉพาะ *Leconostoc* เป็นเชื้อที่มีการหมักน้ำตาล และสามารถเติบโตได้ทั้งในที่ที่มีหรือไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ $20-30^{\circ}\text{C}$ (สุมนทนา, 2545; นางลักขณ์ และปรีชา, 2547; บุญกร, 2547) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนและที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-2 วัน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน และขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 61.89-64.00 ซึ่งต่ำกว่าขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม (64.78) ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนสูงกว่าขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 10,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm และขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มตามลำดับ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 58 ปริมาณของน้ำที่ละลายน้ำได้ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$

ข. การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของขนมทองหยอดเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ องศาเซลเซียส พบว่าค่า pH อยู่ในช่วง 7.40-8.17 (ภาพที่ 59 และตารางผนวกที่ ข45) แต่ก็พบว่า ระหว่างการเก็บรักษาค่า pH ของขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน และขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ต่ำกว่าขนมทองหยอดที่ไม่ห่อ ($p \leq 0.05$)

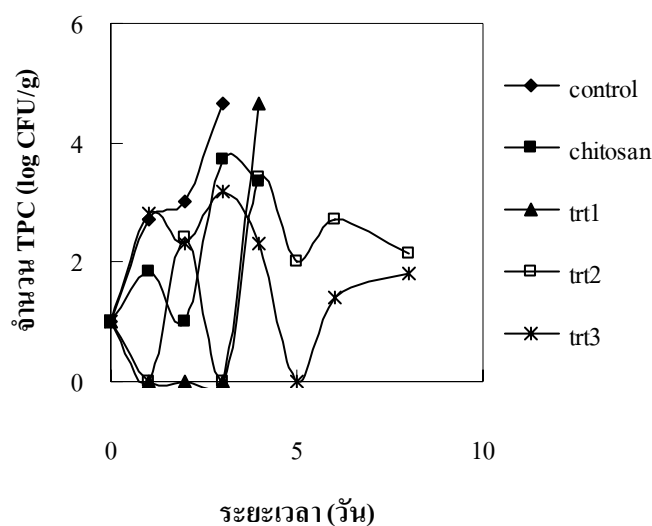


ภาพที่ 59 ค่า pH ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$

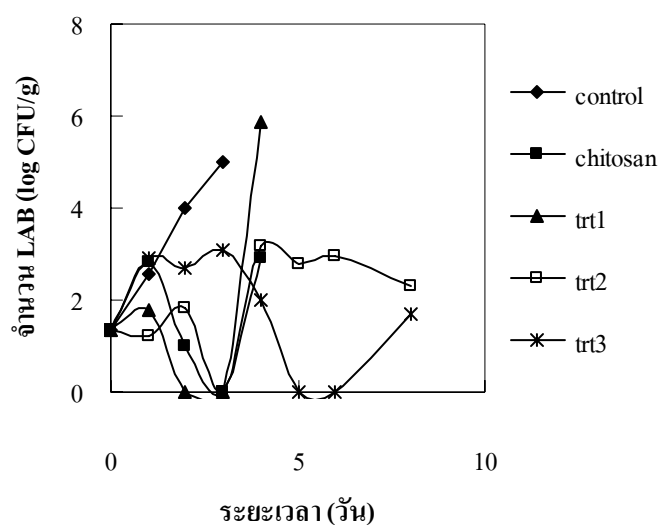
3.3.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ ขนมหองหอยอดเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโต และอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียของทองหอยอด คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยีสต์และรา พบว่าระหว่างการเก็บรักษากลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และยีสต์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ขณะที่ไม่พบการเจริญของเชื้อรา (ภาพที่ 60-62 และตารางผนวกที่ ข46-48) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของขนมไทย (มพข.1/2546) กำหนดให้ทองหอยอดอยู่ในกลุ่มของขนมเชื่อมสดที่ต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10^4 CFU/g และต้องไม่ปรากฏราให้เห็นได้อย่างชัดเจน และตามข้อกำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่ผ่านกรรมวิธีและการปรุงสุกแล้วต้องมียีสต์น้อยกว่า 10^4 CFU/g จากผลการทดลองพบการเน่าเสียของขนมทองหอยอดที่ไม่ห่อฟิล์มเกิดจากมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินมาตรฐาน เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 3 วัน ขนมหองหอยอดที่ห่อไคโตแซนมีจำนวนยีสต์เกินมาตรฐาน ขนมหองหอยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน $10,000$ IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล $1,000$ ppm และยูจีนอล 500 ppm มีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินมาตรฐาน เมื่อเก็บรักษาไว้ได้ 4 วัน ขนมหองหอยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน $10,000$ IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล $20,000$ ppm และยูจีนอล $10,000$ ppm และขนมหองหอยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน $10,000$ IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล $40,000$ ppm และยูจีนอล $20,000$ ppm มีจำนวนยีสต์เกินมาตรฐาน เมื่อเก็บรักษาไว้ได้ 8 วัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าฟิล์มไคโตแซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยให้ขนมหองหอยอดมีอายุการเก็บรักษามากกว่าขนมหองหอยอดที่ไม่ห่อฟิล์มไคโตแซนตัวอย่างควบคุม 1 วัน เพราะไคโตแซนมีประจุบวกของหมู่อะมิโนซึ่งจะไปจับกับประจุลบในเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ มีผลต่อการผ่านเข้า-ออกของสารสู่เซลล์ จนทำให้เซลล์ตาย (Li *et al.*, 2006) เมื่อผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในซิน $10,000$ IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล $1,000$ ppm และยูจีนอล 500 ppm ลงในฟิล์มไคโตแซน พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างจากฟิล์มไคโตแซนธรรมดา เพราะมีอายุการเก็บรักษาเท่ากัน แต่เมื่อความเข้มข้นของไทมอลเพิ่มขึ้นเท่ากับ $20,000$ และ $40,000$ ppm และยูจีนอลเท่ากับ $10,000$ และ $20,000$ ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 8 วัน เท่ากัน และมีจำนวนยีสต์อยู่เท่ากับ 4.16 และ 4.09 log CFU/กรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไทมอลและยูจีนอลที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีผลต่อการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส จากผลการทดลองจะเห็นว่าขนมหองหอยอด

ต้องใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นสูงผสมลงในฟิล์มถึงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี เนื่องจากค่า pH ของขนมทองหยอดมีค่าเท่ากับ 8.17 สูงกว่ามะเขือเทศและขนมปัง ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของไคโตแซน ไนซิน ไทมอลและยูจินอลขึ้นอยู่กับค่า pH โดยจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงที่ค่า pH ต่ำเพราะค่า pH มีผลต่อการแพร่และการละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากฟิล์มไปสู่อาหารและเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ (Adams, 2003; Nychas and Skandamis, 2003; Burt, 2004; Cagri *et al.*, 2004) ค่า pH ที่สูงของขนมทองหยอดทำให้ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง

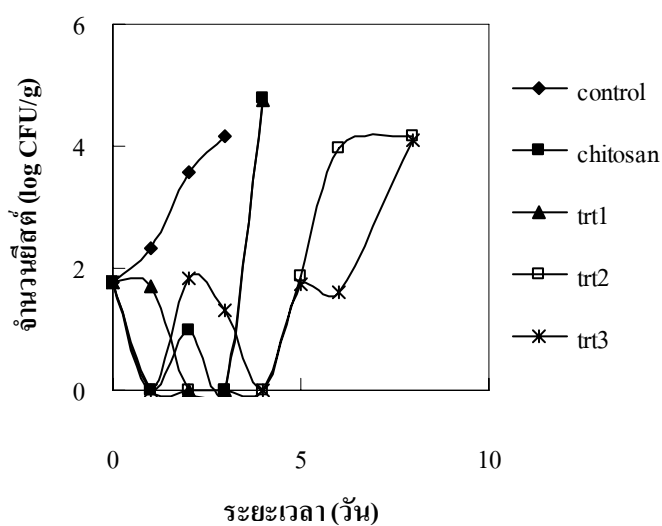


ภาพที่ 60 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมทอง หยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$



ภาพที่ 61 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$

หมายเหตุ จำนวน TPC = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA
 จำนวน LAB = จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS



ภาพที่ 62 จำนวนยีสต์ในขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$

3.3.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ก. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) ตัวอย่างขนมทองหยอดเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 65 ± 5 เป็นเวลา 1 วัน เมื่อนำไปทดสอบความชอบกับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ใน 3 คุณลักษณะ กลิ่น กลิ่นรส ความแข็งของขนมทองหยอด และความชอบรวม (ตารางที่ 17) พบว่า ฟิล์มไคโตแซนและสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เติมลงในฟิล์มมีผลต่อความชอบของผู้บริโภค โดยฟิล์มไคโตแซนมีผลต่อคะแนนความชอบด้านคุณลักษณะความแข็งมีต่ำลง เพราะฟิล์มดูดความชื้นจากทองหยอด ทำให้ขนมทองหยอดแห้งแต่ฟิล์มพองตัวขึ้น และสารยับยั้งจุลินทรีย์ นอกจากนี้ ความเข้มข้นของไทมอลและยูจินอลที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อคะแนนความชอบด้านกลิ่นและกลิ่นรส เพราะไทมอลและยูจินอลมีกลิ่นเฉพาะตัวที่รุนแรง จึงไม่เหมาะต่อการนำมาใช้ในปริมาณความเข้มข้นสูง

ตารางที่ 17 คะแนนความชอบต่อขนมทองหยอด

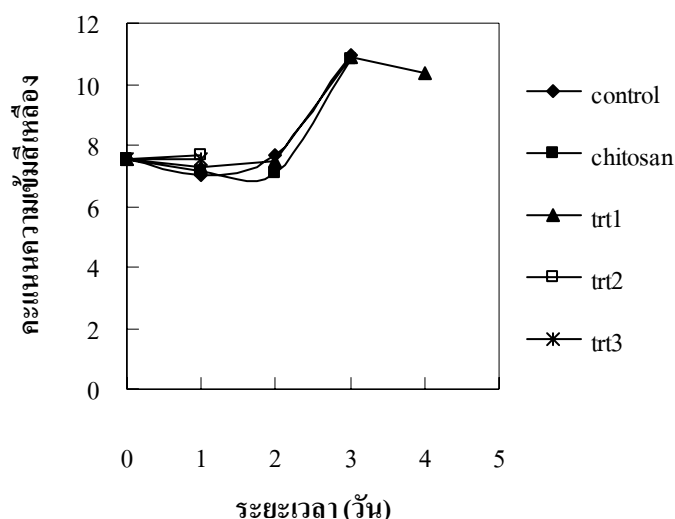
ชนิดตัวอย่าง	กลิ่น	กลิ่นรส	ความแข็ง	ความชอบรวม
control	6.10a	6.60a	6.77 a	6.73 a
chitosan	5.87a	6.37a	6.37ab	6.17ab
Trt1	5.63a	5.90a	6.10 b	5.93 b
Trt2	5.10b	5.07b	6.00 b	5.07 c
Trt3	4.63b	4.77b	5.87 b	4.63 c

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ข. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณ ทำการทดสอบกับผู้ทดสอบผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน โดยการให้คะแนนความเข้ม (intensity) ของคุณลักษณะต่างๆ คือ สีเหลือง กลิ่นหมัก และความแข็ง ใช้วิธีเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละความเข้ม และขนมทองหยอดสดใหม่ (ตารางผนวกที่ 3) พร้อมทั้งทดสอบการยอมรับ (overall quality rating) เปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน คือขนมทองหยอดสดใหม่ และให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดสอบการยอมรับของมะเขือเทศ พบว่าการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่สังเกตได้คือ ความเข้มของสีเหลืองที่

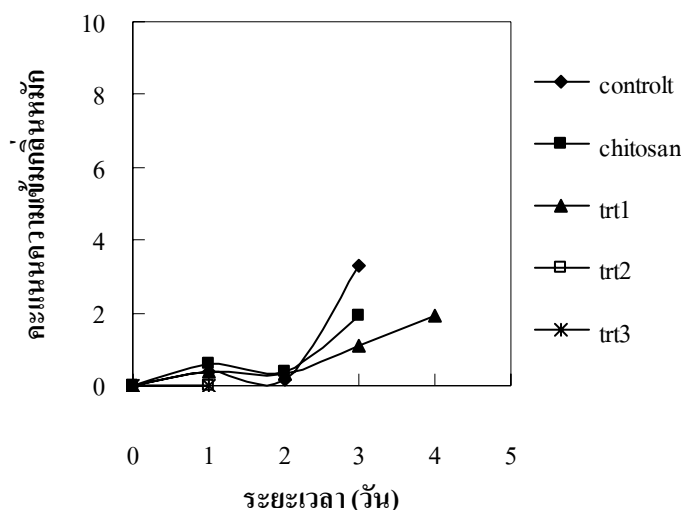
เพิ่มขึ้น และมีกลิ่นหมัก ไม่พบการเจริญของเชื้อรา โดยมีคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณดังนี้

สีเหลืองของขนมทองหยอดเป็นสีของแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุในไข่แดงที่นำมาใช้ทำขนมทองหยอด จากการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณ พบว่าสีเหลืองของขนมทองหยอดมีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีเหลืองเข้มขึ้น เพราะคะแนนความเข้มของสีเหลืองเพิ่มขึ้นจาก 7.53 ไปเป็น 10.80-10.93 ระหว่างการเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 3 วัน โดยเปรียบเทียบกับแผ่นสีมาตรฐาน munsell (hue value/chroma) ที่ใช้เป็นตัวอย่างอ้างอิงระหว่าง 5YR 8/8 มีคะแนนความเข้มสีเหลืองเท่ากับ 2.7 และ 5YR 7/12 มีคะแนนความเข้มสีเท่ากับ 9.9 แสดงว่าขนมทองหยอดมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีเหลืองปนแดงเพิ่มขึ้น เพราะค่า value ที่ลดลง (ภาพที่ 63 และตารางผนวกที่ ข 49) ซึ่งสอดคล้องกับค่ามุมของสี (hue angle) ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ที่มีค่าลดลงจาก 75.63 ไปเป็น 66.87-73.40 ค่าสีแดง (a^*) ที่เพิ่มขึ้น และค่าสีเหลือง (b^*) ที่ลดลง การที่ขนมทองหยอดมีสีเข้มขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้ระหว่างการเก็บรักษาอาหาร และเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิห้องดังที่กล่าวมาแล้ว เมื่อเปรียบเทียบขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มตัวอย่างควบคุม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$)



ภาพที่ 63 คะแนนความเข้มสีเหลืองของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$

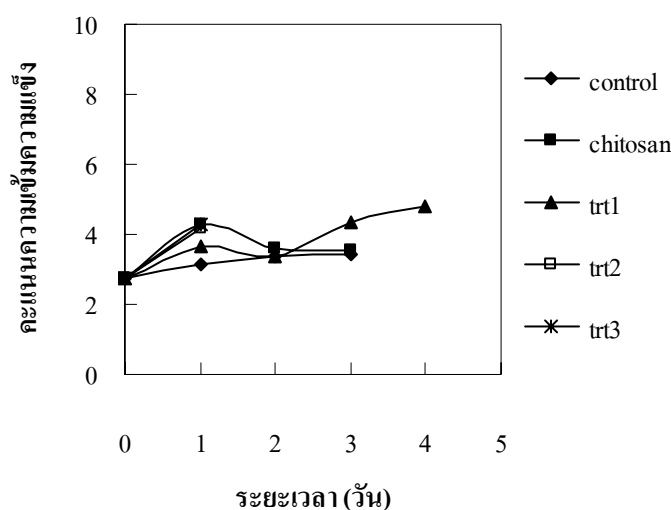
การเสียบของขนมทองหยอดเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทำให้เกิดกลิ่นหืน เมื่อเก็บไว้นานขึ้นกลิ่นหืนในขนมทองหยอดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 64 และตารางผนวกที่ ข50) เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรียกรดแลกติก เป็นต้น เพราะยีสต์สามารถย่อยสลายน้ำตาลจากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากกระบวนการหมักจะได้เอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ และแบคทีเรียกรดแลกติกถ้าเจริญเติบโตโดยอาศัยกระบวนการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเทชัน จะหมักคาร์โบไฮเดรต ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลกติกและเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นต้น (สุริรัตน์, 2545; สุมณฑา, 2545; นงลักษณ์ และปรีชา, 2547; Axelsson, 1998) ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนี้เองที่ทำให้ขนมทองหยอดมีกลิ่นหืน จากผลการทดลองคุณภาพทางจุลินทรีย์ของขนมทองหยอด พบว่าขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มไคโตแซน เริ่มมีกลิ่นหืนชัดเจนในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาสอดคล้องกับปริมาณยีสต์ที่เพิ่มขึ้นเกินมาตรฐาน ส่วนขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน และขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมในจีน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm เริ่มมีกลิ่นหืนชัดเจนในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาสอดคล้องกับปริมาณยีสต์ที่เพิ่มขึ้นเกินมาตรฐาน นั่นคือฟิล์มไคโตแซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 64 คะแนนความเข้มกลิ่นหืนของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$

จากภาพที่ 65 และตารางผนวกที่ ข51 คะแนนความเข้มความแข็งของขนมทองหยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลาเพียงหนึ่งวัน หลังจากนั้นคะแนนความเข้มความแข็งไม่

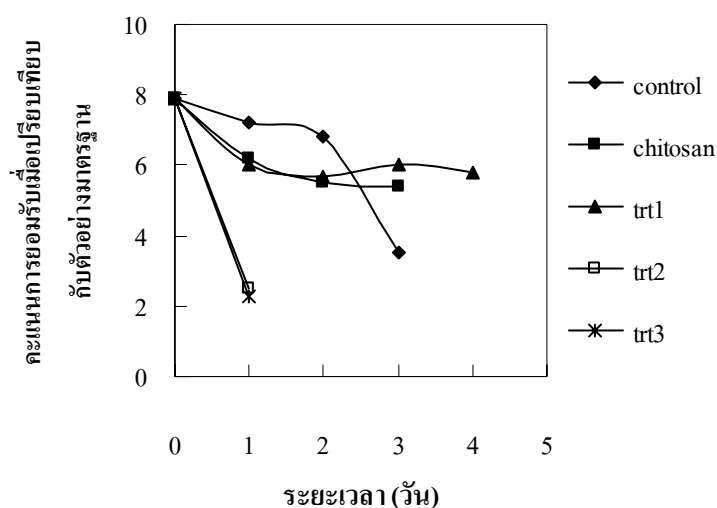
เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ความแข็งที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดรีโทรเกรเดชั่นของแป้งข้าวเจ้าที่เป็นส่วนผสมในการทำขนมทองหยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม พบว่าขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาไว้ 1 วันมีคะแนนความแข็งความแข็งแรงสูงกว่าขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์ม ($p \leq 0.05$) อาจเป็นเพราะฟิล์มไคโตแซนเป็นแผ่นฟิล์มที่แห้งเมื่อนำมาห่อขนมทองหยอดที่เปียก เพราะมีน้ำเชื่อม จึงทำให้ความชื้นถ่ายเทจากขนมทองหยอดไปสู่ฟิล์ม ขนมทองหยอดจึงแห้ง และมีเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้น และในชั้นที่เติมลงไปในฟิล์มอาจจะไปขยายโมเลกุลของไคโตแซนทำให้เรียงตัวไม่แน่น (Pranto *et al.*, 2005) ความชื้นจากขนมทองหยอดเคลื่อนที่ไปสู่ฟิล์ม ซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็งที่วัดจากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส Lloyd



ภาพที่ 65 คะแนนความแข็งความแข็งแรงของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^\circ\text{C}$

ค่าคะแนนการยอมรับต่อขนมทองหยอดลดลงระหว่างการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 66 และตารางผนวกที่ ข52) เพราะการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมทองหยอด ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มไคโตแซน ขณะที่ยังไม่หมดอายุการเก็บมีคะแนนความชอบของผู้บริโภค และคะแนนการยอมรับสูงกว่าสิ่ง

ทดลองอื่นๆ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ขนมหองหยอดไม่ห่อฟิล์มและขนมหองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนมีคะแนนไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 วัน โดยขนมหองหยอดไม่ห่อฟิล์มอาจเป็นผลมาจากมีกลิ่นหมักเกิดขึ้นชัดเจน และมีจำนวนจุลินทรีย์ คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินมาตรฐาน และขนมหองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนอาจเป็นผลมาจากมีกลิ่นหมักเกิดขึ้นเช่นกัน ขนมหองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm เกิดการเน่าเสียเนื่องจากมีปริมาณกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และยีสต์เกินมาตรฐานในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา มีผลทำให้เกิดกลิ่นหมักเพิ่มขึ้น แต่ยังมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสอยู่ ขณะที่ขนมหองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm และขนมหองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm มีคุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเปรียบเทียบกับขนมหองหยอดไม่ห่อฟิล์ม เนื่องจากกลิ่นของไทมอลและยูจินอลที่รุนแรง



ภาพที่ 66 คะแนนการยอมรับของขนมหองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$

ตารางที่ 18 การประเมินอายุการเก็บรักษาของขนมทองหยอดจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชนิดตัวอย่าง	อายุการเก็บรักษา (วัน)	
	พิจารณาจากคุณภาพทางจุลินทรีย์	พิจารณาจากการยอมรับทางประสาทสัมผัส
control	2	2
chitosan	3	2
trt1	3	≤4
trt2	7	*
trt3	7	*

หมายเหตุ control หมายถึง ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน

chitosan หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 และยูจินอล 500 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm

* ไม่ยอมรับทางประสาทสัมผัสเมื่อเก็บไว้ 1 วัน

จากตารางที่ 18 ฟิล์มไคโตแซนที่ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในซันความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm และฟิล์มไคโตแซนที่ผสมในซัน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm เมื่อนำมาใช้ห่อขนมทองหยอด แม้จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียได้เป็นอย่างดี แต่ก็ไม่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษา เนื่องจากทำให้ขนมทองหยอดมีกลิ่นที่รุนแรง ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จึงไม่เหมาะต่อการนำมาใช้บรรจุขนมทองหยอด ฟิล์มไคโตแซนช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาให้มากกว่าขนมทองหยอดไม่ห่อฟิล์มหรือตัวอย่างควบคุม 1 วัน เนื่องจากชะลอการ

เจริญของจุลินทรีย์ ทำให้ขนมทองหยอดยังคงปลอดภัยต่อการบริโภคเมื่อเก็บรักษาไม่เกิน 3 วัน แต่เมื่อพิจารณาจากคะแนนการยอมรับพบว่าไม่มีผลปรับปรุงให้มีคะแนนที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม เพราะมีคะแนนการยอมรับที่ยังยอมรับอยู่เป็นวันสุดท้ายคือ 2 วันเท่านั้น फिल्मโคโตแซนผสมไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm ช่วยให้นมทองหยอดปลอดภัยต่อการบริโภค มีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐานเมื่อเก็บรักษาไว้ 3 วัน และยังมีคะแนนการยอมรับที่ยังเป็นที่ยอมรับอยู่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน ดังนั้นอายุการเก็บของขนมทองหยอดที่เก็บด้วยฟิล์มโคโตแซนผสมไนซินความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 500 ppm เท่ากับ 3 วัน ซึ่งยืดอายุการเก็บมากกว่าตัวอย่างควบคุม 1 วัน

สรุป

การแยกเชื้อเป้าหมายที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียในมะเขือเทศ ขนมปิ้ง และขนมทองหยอด พบว่า เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA เท่ากับ 22, 30 และ 42 ไอโซเลชัน ตามลำดับ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS เท่ากับ 24, 28 และ 47 ไอโซเลชัน ตามลำดับ ยีสต์เท่ากับ 14, 5 และ 23 ไอโซเลชัน ตามลำดับ และราเท่ากับ 11, 23 และ 5 ไอโซเลชัน ตามลำดับ

นำเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อ 4 ชนิด คือ ไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119) ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 1,000 ppm โดยวิธี disc agar diffusion พบว่าไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ได้ดีที่สุด สำหรับยูจินอลและไทมอลยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ยีสต์และราบางตัวที่ ไนซินไม่สามารถยับยั้งได้ ขณะที่สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์น้อย ดังนั้นจึงควรใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างไนซินกับยูจินอล หรือไนซินกับไทมอลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ทดสอบ ประสิทธิภาพด้วยวิธี disc agar diffusion พบว่าสารผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจินอล 1,000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากมะเขือเทศ และขนมปิ้ง และสารผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากขนมทองหยอด ตามลำดับ แต่ความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อดังกล่าว ไม่สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และยืดอายุการเก็บของอาหารได้เมื่อนำมาใช้ร่วมกับฟิล์มไคโตแซน

ผลการศึกษาผลของสารเคลือบต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารทั้ง 3 ชนิด สำหรับมะเขือเทศที่เก็บที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 พบว่าสารเคลือบผิวไคโตแซนร้อยละ 1.5 ที่ไม่เติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ช่วยชะลอการสุกของมะเขือเทศ ลดการพัฒนาของสีแดง แต่มีผลให้มะเขือเทศเกิดการเสื่อมเสียมากกว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว และเมื่อผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมลงในสารเคลือบที่มีความเข้มข้นไม่เหมาะสมก็ไม่สามารถยืดอายุการเก็บรักษา

มะเขือเทศ และไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเกิดการเน่าเสียเร็วกว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว อย่างไรก็ตามสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm สามารถลดการเสื่อมเสียและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในมะเขือเทศได้ ช่วยให้มะเขือเทศมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน ซึ่งเกิดเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณการเสื่อมเสียมากกว่าร้อยละ 25 และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐานกำหนด เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลาดังกล่าว ขณะที่มะเขือเทศไม่เคลือบผิวมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน และเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณการเสื่อมเสียมากกว่าร้อยละ 25 และไม่เป็นที่ยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยมีคะแนนความแน่นเนื้อต่ำกว่ามะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm

ขนมปังเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 55 ± 5 พบว่า ฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตแซนผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ช่วยยืดอายุการเก็บขนมปังได้ และการห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนทั้งที่ผสมและไม่ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพของขนมปัง ผลการทดลองพบว่าฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm มีประสิทธิภาพดีที่สุด ช่วยให้ขนมปังเก็บรักษาได้เป็นเวลา 6 วัน โดยยังคงมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับ ซึ่งนานกว่าขนมปังที่ไม่ห่อฟิล์มซึ่งมีอายุการเก็บรักษานาน 3 วัน อย่างไรก็ตามฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นนี้สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในตัวอย่างขนมปังได้ ทำให้ขนมปังมีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐานนานถึง 12 วัน

ขนมทองหยอด พบว่าฟิล์มมีผลต่อคุณภาพทางกายภาพของขนมทองหยอด ทำให้เนื้อสัมผัสแข็ง แห้งและร่วนเร็วกว่า และความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในฟิล์มที่เพิ่มขึ้นสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาได้ แต่ความเข้มข้นที่สูงมากเกินไปของไทมอลที่ความเข้มข้น 20,000 ppm และ 40,000 ppm และยูจินอลที่ความเข้มข้น 10,000 ppm และ 20,000 ppm มีผลต่อการยอมรับด้านกลิ่นและกลิ่นรสของขนมทองหยอด จึงมีผลให้อายุการเก็บรักษาในด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัสสั้น ฟิล์มที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษานขนมทองหยอดได้นานที่สุดคือ ฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมไนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม ไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm ช่วยให้ขนมทองหยอดมีอายุการเก็บที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 นาน 3 วัน โดยมีการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณเชื้อยีสต์เกินมาตรฐานกำหนด ซึ่งมากกว่า

ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มที่มีอายุการเก็บรักษา 2 วัน ซึ่งมีการเสื่อมเสียเนื่องจากมีปริมาณเชื้อ
ยีสต์เกินมาตรฐานกำหนด และมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาสำหรับอาหารทั่วไปที่มีเชื้ออาหาร**
ควบคุมเฉพาะ. แหล่งที่มา:

<http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/BQSF/File/varity/law.htm>, 14 พฤษภาคม 2550.

กองบรรณธิการ. 2548. ธุรกิจส่งออกผักสดแช่เย็นและแช่แข็ง. **อุตสาหกรรมสาร** 48: 42-49.

เกสรินทร์ มงคลวรรณ. 2546. **การพัฒนาขนมทองหยอดให้ได้มาตรฐานการผลิตที่เหมาะสม**.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์. 2533. **มะเขือเทศผักอุตสาหกรรม**. ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท.
นนทบุรี.

ขาว พงษ์บริบูรณ์. 2544. **ตำรับลูกข้าวไข่อาชีพ ขนมห่มรายได้**. ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด (มหาชน).
กรุงเทพฯ.

จิตติยา รัตนไตรภพ. 2546. **การพัฒนาสารเคลือบผิวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษามังคุด**. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. สำนักพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนปนนท์. 2545. **เคมีอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

บางเขน 1074. 2546. มะเขือเทศและผลิตภัณฑ์ส่งออก. **ผู้ส่งออก** 17 (392): 75-83.

บุษกร อุดรพิชาติ. 2547. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 2 ฉบับปรับปรุงใหม่. การกิจเอกสาร
และตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

ปริศนา สุวรรณภรณ์. 2547. เอกสารคำสอนวิชา 052426 เบเกอรี่เทคโนโลยี (Bakery Technology). 136น.

ปานทิพย์ เปลี่ยนโมฬี. 2548. อาหารไทยมรดกทางภูมิปัญญา. อุตสาหกรรมสาร 48: 4-8.

พรวิมล ปั่นหยา. 2544. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมปังจากแป้งสาลีผสมแป้งข้าวหอมมะลิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด. 2534. ฟัล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้. วารสารอาหาร, 22(1): 1 – 6.

วาทีณี จตุพรชัย. 2546. การสกัดและผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2537. การเน่าเสียของอาหารและการป้องกัน. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สถาบันพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม. 2548. ธุรกิจขนมไทย. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สถิตย์ วิมล. 2531. การผลิตมะเขือเทศเพื่อการค้า. พิมพ์ครั้งที่ 1. ม. ป. ท.

สม ละไม. 2548. ขนมไทยสู่ชนมโลก. อุตสาหกรรมสาร 48: 21-23.

สมภพ จิตะวสันต์. 2530. การผลิตมะเขือเทศเพื่อการค้า. ม. ป. ท.

สิรินาถ ดัชนีเกษม. 2548. ผลของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและกานพลูในการยืดอายุการเก็บของขนมปัง. วารสารอาหาร, 35(1): 51 – 57.

สุริรัตน์ เงินดวง. 2545. การศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผลิตแบคทีเรียโอซินจากอาหารหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมนหา วัฒนาลินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. ชัยเจริญ. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ขนมไทย. ประกาศ
สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. ฉบับที่ 1.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ขนมโปแลนด์.
ประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. ฉบับที่ 760.

อรรถวิทย์ เจริญวรรณ. 2548. พืชผักปลอดภัยนำครัวไทยสู่ครัวโลก. ผู้ส่งออก 18(428): 8-13.

อุษามาศ วังชัยสุนทร. 2547. คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยาคืออะไร. วารสารวิชาการ
มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 24(2): 51-62.

Adams, M. 2003. Nisin in multifactorial food preservation, pp. 11-26. In S. Roller, ed.
Natural antimicrobials for the minimal processing of foods. Woodhead Publishing
Limited and CRC Press LLC, Cambridge.

American Association of Cereal Chemists, Inc. 1990. **Approved Methods of the American
Association of Cereal Chemists.** Vol.2. 8 ed, reprinted.

Anonymous. 2003. **What is chitin and chitosan? Available.** Source: chitn. asp. 16 January
2005.

Anonymous. 2003. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.** The Institute
of Food Technologists for the Food and Drug Administration of the United States
Department of Health and Human Services.

- Anonymous. 2006. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to The use of nisin (E 234) as a food additive. **The EFSA Journal** 314: 1-16.
- Appendini, P. and Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** 3: 113 – 126.
- Arias, R., Lee, T.C., Logendra, L., Janes, H. 2000. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **Journal of Agricultural Food Chemistry** 48: 1697-1702.
- Auerswald, H., Peters, P., Brückner, B., Krumbein, A. and Kuchenbuch, R. 1999. Sensory analysis and instrumental measurement of short-term store tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Postharvest Biology and Technology** 15: 323 -334.
- Axelsson, L. 1993. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology, pp. 1-3. In S. Salminen and A.V. Wright, ed. **Lactic Acid Bacteria**. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Axelsson, L. 1998. Lactic Acid Bacteria : Classification and Physiology, pp. 1-72. In S. Salminen and A.V. Wright, ed. **Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects**. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Barkai-Golan, R. 2001. **Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables Development and Control**. Elsevier, Amsterdam.
- Barret, D.M. and González, C. 1994. Activity of softening enzymes during cherry maturation. **Journal of Food Science** 59:574-577.

- Batisse, C., Buret, M. and Coulomb, P.J. 1996. Biochemical differences in cell wall of cherry fruit between soft and crisp fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 44: 453-457.
- Batu, A. 2004. Determination of acceptable firmness and colour values of tomatoes. **Journal of Food Engineering** 61:471-475.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. and Schieberle, P. 2004. **Food Chemistry**. 3rd ed. Springer, Berlin.
- Ben-Yehoshua, S. and Rodov, V. 2003. Transpiration and Water Stress, pp. 111-159. In J.A. Bartz and J.K. Brecht, ed. **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables**. 2nd, revised and expanded. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Bouchikhi, T. and Remmal, A. 2004. Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. **Letters in Applied Microbiology** 38:454-458.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential application in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology** 94:223-253.
- Butler, B.L. et al. 1996. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. **Journal of Food Science** 61(5): 952-955.
- Caboni, M.F., Boselli, E., Messina, M.C., Velazco, V., Fratianni, A., Panfili, G. and Marconi, E. 2005. Effect of processing and storage on the chemical quality markers of spray-dried whole egg. **Food Chemistry** 92: 293-303.
- Cagri, A., Uatunol, Z. and Ryser, E.T. 2004. Antimicrobial Edible Films and Coatings. **Journal of Food Protection** 67(4): 833-848.

- Calero, F.A. 2003. Active packaging and colour control: the case of fruit and vegetables, pp. 417-432. In R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Techniques**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge.
- Caner, C., Vergano, P.J. and Wiles, J.L. 1998. Chitosan Film Mechanical and Permeation Properties as Affected by Acid, Plasticizer and Storage. **Journal of Food Science** 63(6): 1049-1053.
- Carlin, F., Nguyen-the, C., Gudennec, P. and Reich, M. 1989. Microbiological spoilage of fresh ready-to-use grated carrots. **Sci. Alim.** 9:371-386.
- Carlin, F., Nguyen-the, C., Chambroy, Y. and Reich, M. 1990. Effect of controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content on fresh, "ready-to-use", grated carrots. **Int. J. food Sci Technol** 25: 110-119.
- Cha, D.S., Choi, J.H., Chinnan, M.S. and Park, H.J. 2002. Antimicrobial Films Based on Na-alginate and K-carrageenan. **LWT** 35: 715-719.
- Cha, D.S., Cooksey, K., Chinnan, M.S. and Park, H.J. 2003. Release of nisin from various heat-press and cast films. **LWT** 36: 209-213.
- Chen, S. and Nussinovitch, A. 2001. Permeability and roughness determinations of wax-hydrocolloid coatings, and their limitations in determining citrus fruit overall quality. **Food Hydrocolloids** 15: 127-137.
- Chu, C-L., Liu, W-T. and Zhou, T. 2001. Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce postharvest brown rot and blue mold rot. **Fruits** 56 (2): 123-130.

- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. and Chikindas, M.L. 2001. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobial for food preservative. **International Journal of Food Microbiology** 71: 1-20.
- Coma, V., Sebti, I., Pardon, P., Deschamps, A. and Pichavant, F.H. 2001. Antimicrobial Edible Packaging Based on Cellulosic Ethers, Fatty Acids, and Nisin Incorporation To Inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Protection** 64 (4): 470–475.
- Davidson, P.M. and Naidu, A.S. 2000. Phyto-Phenols, pp. 265-294. In A.S. Naidu, ed. **Natural Food Antimicrobial Systems**. CRC Press, Boca Raton.
- Davidson, P.M. and Zivanovic, S. 2003. The use of natural antimicrobials, pp. 5-22. In P. Zeuthen and L. Bøgh-Sørensen, ed. **Food preservation techniques**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge.
- Delgado, B., Fernández, P.S., Palop, A. and Periago, P.M. 2004. Effect of thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions. **Food Microbiology** 21: 327–334.
- Devkotte, A.N., Zore, G.B. and Karuppayil, S.M. 2005. Potential of plant oils as inhibitors of *Candida albicans* growth. **FEMS Yeast Research** 5: 867-873.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan : antimicrobial activity interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetable. **Journal of Food Microbiology**. 21:703-714.
- D'Souza, M.C., SINGHA, S. and INGLE, M. 1992. Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. **HortScience** 27(5): 465-466.

- Durango, A.M., Soares, N.F.F. and Andrade, N.J. 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control** 17(5): 336-341.
- El-Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M. 1991. Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. **Journal of Food Science** 56(6): 1991.
- El-Ghaouth, A., Ponnampalam, R., Castaigne, F. and Arul, J. 1992. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. **Hortscience** 27: 1016-1018.
- Emmambux, M.N., Iannace, S. and Stading, M. np. **Cereal Biopolymer films, coatings and other industrial products.**
- Eswaranandam, S., Hettiarachchy, N.S. and Johnson, M.G. 2004. Antimicrobial Activity of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*. **JFS** 69 (3): 79-84.
- Ettayebi, K., Yamani, J.E. and Rossi-Hassani, B-D. 2000. Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. **FEMS Microbiology Letters** 183: 191–195.
- Gahler, S., Otto, K. and Böhm, V. 2003. Alterations of Vitamin C, Total Phenolics, and Antioxidant Capacity as Affected by Processing Tomatoes to Different Product. **J. Agric. Food Chem** 51 : 7962 – 7968.
- Ghaouth, A.E., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M. 1991. Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. **Journal of Food Science** 56 (6): 1618–1620.

- Gill, M.I., Conesa, M.A. and Artes, F. 2002. Quality changes in fresh cut tomato as affected by modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology** 25: 199-207.
- Gill, A.O., Delaquis, P., Russo, P. and Holley, R.A. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **International Journal of Food Microbiology** 73: 83-92.
- Guynot, M.E., Ramos, A.J., Setó, L., Purroy, P., Sanchis, V. and Marín, S. 2003. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oil against fungi commonly causing deterioration of bakery products. **Journal of Applied Microbiology** 94: 893–899.
- Hagenimana, A., Pu, P. and Ding, X. 2005. Study on thermal and rheological properties of native rice starch and their corresponding mixtures. **Food Research International** 38: 257-266.
- Halander, I.M. and Mattila-Sandholm, T. 2000. Permeability barrier of the Gram-negative bacterial outer membrane with special reference to nisin. **Inter. Journal of Food Microbiology** 60: 153-161.
- Han, J.H. 2003. Antimicrobial food packaging, pp. 50 – 70. In R. Ahvenainen, ed. **Novel food packaging techniques**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W. and Traber M.G. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fargaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). **Postharvest Biology and Technology** 33:67-78.
- Hart, R.J. 1998. Food science and the transport of food, pp. 1-21. In R. H. Heap, M. Kierstan and G. Ford, ed. **Food Transportation**. Blackie Academic&Professional, London.

- Holley, R.A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology** 22: 272-292.
- Hug-Iten, S., Handschin, S., Conde-Petit, B. and Escher, F. 1999. Changes in Starch Microstructure on Baking and Staling of Wheat Bread. **LWT** 00(5): 255-260.
- Hunt, R.W.G. 1991. **Measuring Colour**. 2nd ed. Ellis Horwood Mimited, New York.
- Hutching, J.B. 1999. **Food Color and Apperaranace**. 2nd ed. Aspen Publishing, Inc, Gaithersburg.
- Ippolito, A. and Nigro, F. 2003. Natural antimicrobial in postharvest storage of fresh fruits and vegetable, pp. 201-224. In S. Roller, ed. **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge and Boca Raton.
- Jiang, Y. and Li, Y. 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. **Food Chemistry** 73:139-143.
- Juven, B.J., Kanner, F., Schved, F. and Weisslowicz, H. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essntial oil and its active constituents. **J. Appl Bacteriol** 76: 626-631.
- Khouryieh, H., Herald, T. and Aramouni, F. 2006. Quality and Sensory Properties of Fresh Egg Noodles Formulated with Either Total or Partial Replacement of Egg Substitutes. **JFS** 71(6): 433-437.
- Kilcast, D. and Subramaniam, P. 2000. Introduction, pp. 1-19. In D. Kilcast and P. Subramaniam, ed. The stability and shelf-life of food. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge and Boca Raton.

- Kim, J., Marshall, M.R. and Wei, C.-I. 1995. Antibacterial activity of some essential oil component against five foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46: 1111-1115.
- Lawless, H.T. and Heymanin, H. 1999. **Sensory Evaluation of Food**. Aspen Publishe, Inc. Maryland.
- Lazridou, A. and Billiaderis, C.G. 2002. Thermophysical properties of chitosan – starch and chitosan – pullulan films near the glass transition. **Carbohydrate Polymers** 48:179-190.
- Lee, C.H. *et al.* 2004. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging matherial incoporating nisin an α -tocopherol. **Journal of Food Engineering** 62:323-329.
- Lee, C.H., Park, H.J. and Lee, D.S. 2004. Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. **Journal of Food Engineering** 65:527-531.
- Li, H.Y., Yu, T. 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. **J. Sci. Food Agric** 81: 269-274.
- Li, B., Kennedy, J.F., Peng, J.L., Yie, X. and Xie, B.J. 2006. Preparation and performance evaluation of glucomannan-chitosan-nisin ternary antimicrobial blend film. **Carbohydrate Polymer** 65(4): 488-494.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology** 44(3): 300-306.

- Lopez-Mallo, A., Alzamora, S.M. and Palou, E. 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **Inter. Journal of Food Microbiology** 99: 119–128.
- Lopez, P., Sanchaz, C., Batlee, R. and Nerin, C. 2005. Solid-Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53: 6939-6946.
- Mahmoud, A.L.E. 1994. Antifungal action and antiaflatoxic properties of essential oil constituents. **Lett. Appl. Microbiol** 19: 110-113.
- Marino, M., Bersani, C. and Comi, G. 1999. Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Measured Using a Bioimpedometric Method. **Journal of Food Protection** 62(9): 1017–1023.
- McAuliffe, O., Ross, R.P. and Hill, C. 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. **FEMS Microbiology Reviews** 25: 285-308.
- Needham, R., Williams, J., Beales, N., Voysey, P. and Magan, N. 2005. Early detection and differentiation of spoilage of bakery products. **Sensors and Actuators B** 106: 20-23.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F. 1994. The Microbiology of Minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 34 (4): 371–401.
- Nielsen, P.V. and Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology** 60: 219–229.

No, H.K. and Meyers, S.P. 2004. Preparation of tofu using as a coagulant for improve shelf-life.

Int. J. food Sci Technol 39: 133-141.

Nostro, A., Blanco, A.R., Cannatelli, M.A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Roccaro, A.S. and Alonzo, V. 2004. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters** 230: 191–195.

Nursten, H. E. 1986. Maillard browning reactions in dried foods, pp. 53-68. In D. MacCarthy, ed. **Concentration and drying of foods**. Elsevier Applied Science.

Nychas, G.-J.E. and Skandamis, P.N. 2003. Antimicrobials from herbs and spices, pp. 176-200. In S. Roller, ed. **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge and Boca Raton.

Oh, S.-H., Lee, Y.-S., Kim, J.-H., Kim, J.-H., Lee, J.-W., Kim, M.R., Yook, H.-S. and Byun, M.-W. 2006. Effect of pH on non-enzymatic browning reaction during –irradiation processting using sugar and sugar-glycine solution. **Food Chemistry** 94: 420-427.

Olsdupo, N.A., Fitzgerald, D.J., Gasson, M.J. and Narbad, A. 2003. Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica serovar* Typhimurium. **Letters in Applied Microbiology** 36: 448-451.

Olsdupo, N.A., Fitzgerald, D.J., Narbad, A. and Gasson, M.J. 2004. Inhibition of *Bacillus subtilis* and *Listeria innocua* by Nisin in Combination with Some Naturally Occurring Organic Compounds. **Journal of Food Protection** 67(3): 596-600.

Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Bégin, A. and Holley, R.A. 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepare with chitosan. **International Journal of Food Microbiology** 62: 139-148.

- Ouwehand, A. and Vesterlund, S. 2004. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria, pp. 375-395. In S. Salminen, A.V. Wright and A. Ouwehand, ed. **Lactic Acid Bacteria**. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Owusu-Apenten, R. 2005. **Introduction To Food Chemistry**. CRC Press, Boca Raton.
- Padgett, T., Han, I.Y. and Dawson, P.L. 1998. Incorporation of Food-Grade Antimicrobial Compounds into Biodegradable Packagings. **Journal of Food Protection** 61 (10): 1330–1335.
- Pasqua, R.D., Hoskins, N., Betis, G. and Mauriello, G. 2006. Changes in Membrane Fatty Acids Composition of Microbial Cells Induced by Addiction of Thymol, Carvacrol, Limonene, Cinnamaldehyde, and Eugenol in the Growing Media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 54: 2745-2749.
- Perdon, A.A., Siebenmorgen, T.J., Buescher, R.W. and Gbur, E.E. 1999. Starch Retrogradation and Texture of Cooled Milled Rice During Storage. **Food Chemistry and Toxicology** 64: 828-832.
- Periago, P.M., Conesa, R., Delgado, B., Fernández, P.S. and Palop, A. 2006. Bacillus megaterium Spore Germination and Growth Inhibition by a Treatment Combining Heat with Natural Antimicrobials. **Food Technol. Biotechnol** 44 (1): 17-23.
- Polenta, G., Lucangeli, C., Budde, C., González, C.B., Murray, R. 2006. Heat and anaerobic treatments affected physiological and biochemical parameters in tomato fruits. **LWT** 39: 27-34.
- ^aPranoto, Y., Salokhe, V. and Rakshit, S.K. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-base edible film incorporated with garlic oil. **LWT** 38: 267–272.

- ^bPranoto, Y., Rakshit, S.K. and Salokhe, V.M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT** 38: 859-865.
- Qiuping, P. and Wenshui, X. 2007. Effect of 1-methylcyclopropene and/or chitosan coating treatments on storage life and quality maintenance of Indian jujube fruit. **LWT** 40: 404-411.
- Ramírez-Jiménez, A., Guerra-Hernández, E. and García-Villanova, B. 2003. Evolution of non-enzymatic browning during storage of infant rice cereal. **Food Chemistry** 83:219-225.
- Rasmussen, P.H. and Hansen, A. 2001. Staling of Wheat Bread Stored in Modified Atmosphere. **LWT** 34: 487-491.
- Remón, S., Venturini, M.E., Lopez-Buesa, P. and Oria, R. 2003. Burlat cherry quality after long range transport: optimization of packaging conditions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** 4: 425-434.
- Ribotta, P.D. and Bail, A.L. 2007. Thermo-physical assessment of bread during staling. **LWT** 40: 879-884.
- Risse, L.A., Chun, D., McDonald, R.E. and Miller, W.R. 1987. volatile production and decay during storage of cucumbers waxed, imazalil-treated, and film-wrapped. **HortScience** 22: 274-276.
- Robert, H. *et al.* 2006. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT** 39: 256-265.
- Rooney, M.L. 1995. Overview of active food packaging, pp. 1-37. In M.L. Rooney, ed. **Active Food Packaging**. Blackie Academic & Professional, London.

- Rota, C., Carramiñana, J.J., Burillo, J. and Herrera, A. 2004. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants against Selected Foodborne Pathogens. **Journal of Food Protection** 67(6): 1252-1256.
- Sam, T. np. **Extension of fresh produce shelf-life with novel chitosan coatings.**
- Schou, M., Longares, A., Montesinos-Herrero, C., Monahan, F.J., O’Riordan, D. and O’Sullivan, M. 2005. Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. **LWT** 38: 605–610.
- Sebti, I. and Coma, V. 2002. Active edible polysaccharide coating and interactions between solution coating compounds. **Carbohydrate Polymers** 49: 139–144.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D. Castillo, S., Guillén, F. and Valero, D. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. **Innovative Food Science and Eemerging Technologies** 6: 115-123.
- Singh, R.P. and Anderson, B.A. 2004. The major types of food spoilage: an overview, pp. 3-23. In R. Steele, ed. **Understanding and measuring the shelf-life of food.** Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridg and Boca Raton.
- Smith, A.C. 1999. Starch-Based Foods, pp. 152-184. In A.J. Rosenthal, ed. **Food Texture Measurement and Perception.** Aspen Publications, Inc, Gaithersbure.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K. and Bigger, S.W. 2003. Reviews Antimicrobial Properties of Basil and Its Possible Applicaton in Food Packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51: 3197-3207.

- Tanada-Palmu, P.S. and Grosso, C.R.F. 2005. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strewberry (*Fragaria ananassa*) quality. **Postharvest Biology Technology** 36: 199-208.
- Tharanathan, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology** 14: 71-78.
- Thompson, A.K. 2003. **Fruit and Vegetables : harvesting, handling and storage.** BlackwellPublishing Ltd. Oxford.
- Thoroski, J., Blank, G. and Biliaderis, C.G. 1989. Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus subtilis*. **Journal of Food Protection** 52:399-403.
- Tolonen, M. 2004. **The formation and antimicrobial activity of nisin and plant derived bioactive components in lactic acid bacteria fermentations.** Agrifood Reserch Reports 43.
- Tournas, V.H. 2005. Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. **International Journal of Food Microbiology** 99 (1): 71–77.
- United States Department of Agriculture. 1997. **United States Standards for Grads of Tomatoes for Processing.** Agricultural Marketing Service, Fruit and Vegetable Divion, Fresh Product Branch.
- Vázquez, B.I., Fente, C., Franco, C.M., Vázquez, M.J. and Cepeda, A. 2001. Inhibitory effect of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. **International journal of Food Microbiology** 67: 157-163.

- Vuyst, L.D. and Vandamme, E.J. 1994. Lactic acid bacteria and bacteriocins: their practical importance. In L.D. Vuyst and E.J. Vandamme, ed. **Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria**. Blackie Academic & Professional, London.
- Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J. 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Applied Microbiology** 84: 152-158.
- Wendakoon, C.N. and Sakaguchi, M. 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. **Journal of Food Protection** 58: 280-283.
- Wold, A.-B., Rosenfeld, H.J., Holte, K., Baugerød, H., Blomhoff, R. and Haffner, K. 2004. Colour of post-harvest ripened and vine ripened tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as related to total antioxidant capacity and chemical composition. **International Journal of Food Science and Technology** 39: 295-302.
- Yamazaki, K., Yamamoto, T., Kawai, Y. and Inoue, N. 2004. Enhancement of antilisterial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. **Food Microbiology** 21: 283-289.
- Zhuang, R., Beuchat, L.R., Chinnan, M.S., Shewfelt, R.L. and Huang, Y.-W. 1996. Inactivation of *Salmonella montevideo* on Tomatoes by Applying Cellulose-Based Edible Films. **Journal of Food Protection** 59(8): 808-812.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

1. การวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (AOAC, 2000)

ใช้วิธี pour plate โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงในถุงสเตอริไลซ์ เจือจางอาหารเป็นอัตราส่วน 1:10 ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แล้วนำไปตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมอาหารนาน 1 นาที จะได้อาหารที่มีค่าความเจือจาง 10^{-1} แล้วเจือจางอาหารให้มีความเข้มข้นเป็นอัตราส่วน 1:100 ที่มีค่าความเจือจาง 10^{-2} และอัตราส่วน 1:1000 ที่มีค่าความเจือจาง 10^{-3} ตามลำดับ (ระดับการเจือจางขึ้นกับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร) คูดตัวอย่างที่ถูกเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ระดับละ 3 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อดังกล่าว จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการเลื่อนจานเพาะเชื้อในแนวตั้ง แนวตามเข็มนาฬิกา แนวนอน และแนวทวนเข็มนาฬิกา แนวละ 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็ง กลับจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อโดยเลือกจานที่มีจำนวนโคโลนีประมาณ 30-300 โคโลนี คำนวณจำนวนโคโลนีเป็นค่าเฉลี่ย รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมอาหาร

2. การวิเคราะห์กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

ใช้วิธี pour plate การเจือจางตัวอย่างทำเช่นเดียวกับภาคผนวก ก ข้อ 1 ได้ตัวอย่างอาหารที่มีค่าความเจือจาง 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3} คูดตัวอย่างที่ถูกเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ระดับละ 3 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อ DeMan, Rogosa, Sharpe Agar (MRS agar) ซึ่งผสมแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ร้อยละ 0.6 และบรอมคลีโซล (brom cresol) ร้อยละ 0.04 ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการเลื่อนจานเพาะเชื้อในแนวตั้ง แนวตามเข็มนาฬิกา แนวนอน และแนวทวนเข็มนาฬิกา แนวละ 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็ง กลับจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อโดยเลือกจานที่มีจำนวนโคโลนีประมาณ 30-300 โคโลนี คำนวณจำนวนโคโลนีเป็นค่าเฉลี่ย รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมอาหาร

3. การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (AOAC, 2000)

ใช้วิธี pour plate การเจือจางตัวอย่างทำเช่นเดียวกับภาคผนวก ก ข้อ 1 ได้ตัวอย่างอาหารที่มีค่าความเจือจาง 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3} คูดตัวอย่างที่ถูกเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ระดับละ 3 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt extract agar หรือ potato dextrose agar ซึ่งผสมกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) ร้อยละ 10 ปริมาตรร้อยละ 1 (ปริมาตร/ปริมาตร) เพื่อปรับ pH เท่ากับ 3.5 ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการเลื่อนจานเพาะเชื้อในแนวตั้ง, แนวตามเข็มนาฬิกา, แนวนอน และแนวทวนเข็มนาฬิกา แนวละ 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็ง ไม่ต้องกลับจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จึงนำมานับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อโดยเลือกจานที่มีจำนวนโคโลนีประมาณ 10-200 โคโลนี โดยแยกกันระหว่างยีสต์และรา คำนวณจำนวนโคโลนีเป็นค่าเฉลี่ย รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมอาหาร

ภาคผนวก ข
ตารางผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในตัวอย่างอาหาร

เชื้อ	วันที่สุ่มตัวอย่าง	อาหาร		
		มะเขือเทศ	ขนมปัง	ขนมทองหยอด
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (CFU/g)	0	5.23×10^5	0.00	7.00×10^4
	3	2.05×10^6	3.22×10^4	2.15×10^6
	7	5.60×10^6	4.88×10^5	1.62×10^8
	10	3.60×10^6	2.15×10^7	1.40×10^8
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFU/g)	0	9.45×10^4	0.00	2.03×10^2
	3	4.59×10^4	4.03×10^4	9.03×10^5
	7	2.85×10^3	6.60×10^4	4.08×10^6
	10	4.90×10^3	1.06×10^7	7.03×10^6
ยีสต์และรา (CFU/g)	0	8.38×10^2	0.00	2.90×10^2
	3	6.68×10^3	2.58×10^2	2.15×10^5
	7	9.03×10^3	0.00	4.30×10^5
	10	9.98×10^4	5.75×10^3	3.23×10^5

ตารางผนวกที่ ข2 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์จากมะเชื้อเทศของโนซิน ไทมอล ยูจีนอล และ
สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119)

เชื้อ	ไอโซเลขัณฑ์	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจีนอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA					
d0s2-1t	1	-	-	-	-
d0s2-2t	2	+	+	+	+
d0s2-3t	3	-	+	+	+
d0s2-4t	4	++	-	-	-
d0s2-5t	5	±	-	-	-
d0s2-6t	6	±	-	-	-
d0s2-7t	7	±	-	-	-
d0s2-8t	8	±	-	-	-
d3s2-1t	9	±	±	±	±
d3s2-2t	10	±	±	+	+
d3s2-3t	11	-	-	-	-
d3s2-4t	12	-	±	-	-
d7s2-1t	13	±	±	±	±
d7s2-2t	14	±	±	±	±
d7s2-3t	15	-	-	-	-
d7s2-4t	16	++	-	-	-
d7s2-5t	17	+	+	+	+
d10s2-1t	18	±	±	++	++
d10s2-2t	19	±	±	±	±
d10s2-3t	20	±	±	±	±
d10s2-4t	21	±	±	±	±
d10s2-5t	22	±	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข2 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนจีน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d0s2-11	1	±	-	-	-
d0s2-21	2	±	-	-	-
d0s2-31	3	++	-	-	-
d0s2-41	4	++	-	-	-
d0s2-51	5	++	-	-	-
d0s2-61	6	++	-	-	-
d3s2-11	7	±	-	-	-
d3s2-21	8	±	-	-	-
d3s2-31	9	++	-	-	-
d3s2-41	10	±	-	-	-
d3s2-51	11	++	-	-	-
d3s2-61	12	±	-	-	-
d3s2-71	13	±	-	-	-
d7s2-11	14	±	-	-	-
d7s2-21	15	±	-	-	-
d7s2-31	16	++	-	-	-
d7s2-41	17	±	-	-	-
d7s2-51	18	++	-	-	-
d7s2-61	19	++	-	-	-
d10s2-11	20	++	-	-	-
d10s2-21	21	++	-	-	-
d10s2-31	22	±	-	-	-
d10s2-41	23	±	-	-	-
d10s2-51	24	±	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข2 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
ยีสต์					
d0s2-1y	1	-	-	±	-
d0s2-2y	2	-	-	±	±
d0s2-3y	3	-	-	-	-
d3s2-1y	4	-	-	-	-
d3s2-2y	5	-	-	++	±
d3s2-3y	6	-	-	++	±
d3s2-4y	7	-	-	±	±
d7s2-1y	8	-	-	±	-
d7s2-2y	9	-	-	±	-
d7s2-3y	10	-	-	±	±
d10s2-1y	11	-	-	±	-
d10s2-2y	12	-	-	±	-
d10s2-3y	13	-	-	±	-
d10s2-4y	14	-	-	±	±
รา					
d0s2-1m	1	±	-	-	-
d3s2-1m	2	-	-	-	-
d3s2-2m	3	-	-	++	++
d7s2-1m	4	-	-	-	-
d7s2-2m	5	-	-	-	-
d7s2-3m	6	-	-	-	-
d7s2-4m	7	±	±	±	±
d10s2-1m	8	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข2 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		ไนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
รา					
d10s2-2m	9	±	±	±	±
d10s2-3m	10	±	±	±	±
d10s2-4m	11	-	-	-	-

หมายเหตุ ++ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด > 10 mm

+ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด < 10 mm

± = การยับยั้งเชื้อบางส่วน

- = ไม่ยับยั้งเชื้อ

d = วันที่สุ่มตัวอย่าง

s1 = ทองหยอด, s2 = มะเขือเทศ, s3 = ขนมน้ำ

t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, 1 = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์, m = รา

ตารางผนวกที่ ข3 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์จากขนมปังของไนซิน ไทมอล ยูจินอล และสารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		ไนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA					
d3s3-1t	1	±	-	-	-
d3s3-2t	2	±	-	-	-
d3s3-3t	3	±	-	-	-
d3s3-4t	4	±	±	-	-
d3s3-5t	5	±	-	-	-
d3s3-6t	6	+	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข3 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA					
d3s3-7t	7	-	-	-	-
d3s3-8t	8	±	±	±	±
d3s3-9t	9	±	-	-	-
d3s3-10t	10	++	-	-	-
d7s3-1t	11	±	-	-	-
d7s3-2t	12	±	-	-	-
d7s3-3t	13	±	±	-	-
d7s3-4t	14	±	-	-	-
d7s3-5t	15	±	-	-	-
d7s3-6t	16	±	±	±	±
d7s3-7t	17	++	±	±	±
d7s3-8t	18	±	±	±	±
d7s3-9t	19	±	±	-	±
d7s3-10t	20	++	-	-	±
d10s3-1t	21	++	-	-	±
d10s3-2t	22	±	-	-	-
d10s3-3t	23	±	-	-	-
d10s3-4t	24	±	-	-	-
d10s3-5t	25	±	±	-	-
d10s3-6t	26	±	-	-	-
d10s3-7t	27	±	-	-	-
d10s3-8t	28	±	±	-	-
d10s3-9t	29	±	-	-	-
d10s3-10t	30	±	-	-	±

ตารางผนวกที่ ข3 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d3s3-11	1	±	-	-	-
d3s3-21	2	±	-	-	-
d3s3-31	3	++	-	±	±
d3s3-41	4	++	-	-	-
d3s3-51	5	++	-	-	-
d3s3-61	6	±	-	-	-
d3s3-71	7	++	-	-	-
d3s3-81	8	++	-	-	-
d7s3-11	9	++	-	-	-
d7s3-21	10	++	-	-	-
d7s3-31	11	±	-	±	±
d7s3-41	12	±	-	-	-
d7s3-51	13	±	-	-	-
d7s3-61	14	±	-	-	-
d7s3-71	15	±	-	±	±
d7s3-81	16	±	-	-	-
d7s3-91	17	++	-	-	-
d7s3-101	18	±	-	-	-
d10s3-11	19	++	-	-	-
d10s3-21	20	++	-	-	-
d10s3-31	21	++	-	-	-
d10s3-41	22	++	-	-	-
d10s3-51	23	±	-	-	-
d10s3-61	24	++	-	-	-
d10s3-71	25	±	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข3 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d10s3-8l	26	±	-	-	-
d10s3-9l	27	±	-	-	-
d10s3-10l	28	++	-	-	-
ยีสต์					
d3s3-1y	1	-	-	±	±
d3s3-2y	2	-	-	±	-
d3s3-3y	3	-	-	±	-
d3s3-4y	4	-	-	±	-
d3s3-5y	5	-	-	±	-
รา					
d10s3-1m	1	-	-	-	-
d10s3-2m	2	-	±	±	±

หมายเหตุ ++ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด > 10 mm

+ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด < 10 mm

± = การยับยั้งเชื้อบางส่วน

- = ไม่ยับยั้งเชื้อ

d = วันที่สุ่มตัวอย่าง

s1 = ทองหยอด, s2 = มะเขือเทศ, s3 = ขนุนปิ้ง

t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์, m = รา

ตารางผนวกที่ ข4 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์จากทองหยอดของไนซิน ไทมอล ยูจีนอล และ
สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก (KJ119)

เชื้อ	ไอโซเลขัณฑ์	ผลการยับยั้ง			
		ไนซิน	สารสกัด	ยูจีนอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA					
d0s1-1t	1	±	-	-	-
d0s1-2t	2	±	-	-	-
d0s1-3t	3	±	-	-	-
d0s1-4t	4	±	-	-	-
d0s1-5t	5	++	-	-	-
d0s1-6t	6	±	-	-	-
d0s1-7t	7	±	±	±	±
d0s1-8t	8	±	-	-	-
d0s1-9t	9	±	-	-	-
d0s1-10t	10	±	-	±	±
d0s1-11t	11	±	-	-	-
d0s1-12t	12	-	-	-	-
d3s1-1t	13	±	±	±	±
d3s1-2t	14	±	±	±	±
d3s1-3t	15	±	-	-	-
d3s1-4t	16	±	±	±	±
d3s1-5t	17	±	-	-	±
d3s1-6t	18	++	-	-	-
d3s1-7t	19	±	-	-	-
d3s1-8t	20	±	-	-	-
d3s1-9t	21	±	±	-	±
d3s1-10t	22	±	±	±	±
d7s1-1t	23	++	±	-	-
d7s1-2t	24	++	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข4 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA					
d7s1-3t	25	++	-	-	-
d7s1-4t	26	++	-	-	-
d7s1-5t	27	±	-	±	±
d7s1-6t	28	++	±	-	-
d7s1-7t	29	++	±	±	±
d7s1-8t	30	++	±	-	-
d7s1-9t	31	±	±	-	±
d7s1-10t	32	++	-	-	-
d10s1-1t	33	++	±	-	-
d10s1-2t	34	++	±	-	-
d10s1-3t	35	++	-	-	-
d10s1-4t	36	++	±	±	±
d10s1-5t	37	++	-	-	-
d10s1-6t	38	++	±	-	-
d10s1-7t	39	++	-	-	-
d10s1-8t	40	++	-	-	-
d10s1-9t	41	++	-	-	-
d10s1-10t	42	++	-	±	±
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d0s1-11	1	++	-	-	-
d0s1-21	2	++	-	-	-
d0s1-31	3	++	-	-	-
d0s1-41	4	-	-	-	-
d0s1-51	5	-	-	-	-
d3s1-11	6	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข4 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนซิน	สารสกัด	ยูจีนอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d3s1-2l	7	±	-	-	-
d3s1-3l	8	±	-	-	-
d3s1-4l	9	±	-	-	-
d3s1-5l	10	±	-	-	-
d3s1-6l	11	++	-	±	±
d3s1-7l	12	++	-	-	-
d3s1-8l	13	++	-	-	-
d3s1-9l	14	++	-	-	-
d3s1-10l	15	++	-	-	-
d3s1-11 l	16	++	-	-	-
d3s1-12l	17	++	-	-	-
d3s1-13l	18	±	-	-	-
d3s1-14l	19	++	-	-	-
d3s1-15l	20	±	-	-	-
d7s1-1l	21	±	-	-	-
d7s1-2l	22	-	-	-	-
d7s1-3l	23	++	-	-	-
d7s1-4l	24	++	-	-	-
d7s1-5l	25	++	-	-	-
d7s1-6l	26	++	-	-	-
d7s1-7l	27	±	-	-	-
d7s1-8l	28	±	-	-	-
d7s1-9l	29	++	-	-	-
d7s1-10l	30	-	-	-	-
d7s1-11l	31	++	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข4 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนจีน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS					
d7s1-12l	32	++	-	-	-
d7s1-13l	33	++	-	-	-
d7s1-14l	34	++	-	-	-
d7s1-15l	35	+	-	-	-
d10s1-1l	36	-	-	-	-
d10s1-2l	37	±	-	-	-
d10s1-3l	38	++	-	-	-
d10s1-4l	39	++	-	-	-
d10s1-5l	40	±	-	-	-
d10s1-6l	41	++	-	-	-
d10s1-7l	42	±	-	-	-
d10s1-8l	43	++	-	-	-
d10s1-9l	44	++	-	-	-
d10s1-10l	45	±	-	-	-
d10s1-11l	46	++	-	-	-
d10s1-12l	47	++	-	-	-
ยีสต์					
d0s1-1y	1	-	-	±	-
d0s1-2y	2	-	-	±	-
d0s1-3y	3	-	-	±	-
d0s1-4y	4	-	-	±	-
d3s1-1y	5	-	-	++	-
d3s1-2y	6	-	-	-	-
d3s1-3y	7	-	-	±	-
d3s1-4y	8	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข4 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนจีน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
ยีสต์					
d3s1-5y	9	-	-	±	-
d3s1-6y	10	-	-	±	±
d3s1-7y	11	-	-	-	-
d7s1-1y	12	-	-	±	-
d7s1-2y	13	-	-	±	±
d7s1-3y	14	-	-	-	-
d7s1-4y	15	-	-	-	-
d7s1-5y	16	-	-	±	-
d10s1-1y	17	-	-	±	-
d10s1-2y	18	-	-	-	-
d10s1-3y	19	-	-	-	-
d10s1-4y	20	-	-	±	-
d10s1-5y	21	-	-	±	-
d10s1-6y	22	-	-	±	-
d10s1-7y	23	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ๗4 (ต่อ)

เชื้อ	ไอโซเลชั่นที่	ผลการยับยั้ง			
		โนจีน	สารสกัด	ยูจินอล	ไทมอล
รา					
d3s1-1m	1	-	-	-	-
d7s1-1m	2	-	-	++	±
d7s1-2m	3	-	-	-	-
d7s1-3m	4	-	-	-	-
d10s1-1m	5	-	-	-	-

หมายเหตุ ++ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด > 10 mm

+ = การยับยั้งสมบูรณ์ วงใสขนาด < 10 mm

± = การยับยั้งเชื้อบางส่วน

- = ไม่ยับยั้งเชื้อ

d = วันที่สุ่มตัวอย่าง

s1 = ทองหยอด, s2 = มะเจือเทศ, s3 = ขนมปิ้ง

t = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, l = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, y = ยีสต์, m = รา

ตารางผนวกที่ ข5 ร้อยละของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งบางส่วนและถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วยสารยับยั้ง
จุลินทรีย์

ชนิดอาหาร	ชนิดของ เชื้อจุลินทรีย์	ไนซิน		สารสกัดจาก แบคทีเรียกรด แลกติก		ไทมอล		ยูจีนอล	
		ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง	ยับยั้ง
		บางส่วน	สมบูรณ์	บางส่วน	สมบูรณ์	บางส่วน	สมบูรณ์	บางส่วน	สมบูรณ์
มะเขือเทศ	TPC	59.09	18.18	40.91	13.64	27.27	22.73	27.27	22.73
	LAB	54.17	45.83	0	0	0	0	0	0
	Yeast	0	0	0	0	42.86	0	71.43	14.29
	Mold	36.36	0	27.27	0	27.27	9.09	27.27	9.09
ขนมปัง	TPC	83.33	13.33	30	0	26.67	0	13.33	0
	LAB	50.00	50.00	0	0	10.71	0	10.71	0
	Yeast	0	0	0	0	20.00	0	100	0
	Mold	0	0	50.00	0	50.00	0	50.00	0
ขนม ทองหยอด	TPC	69.05	28.57	35.71	0	30.95	0	23.81	0
	LAB	27.66	59.57	0	0	2.13	0	2.13	0
	Yeast	0	0	0	0	8.69	0	60.87	4.35
	Mold	0	0	0	0	20.00	0	0	20.00

หมายเหตุ TPC = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, LAB = กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบน
อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS, Yeast = ยีสต์ และ Mold = รา

ตารางผนวกที่ ข6 การเสื่อมเสียของมะเขือเทศ (ร้อยละ) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)							
	0	3	7	10	14	17	21	24
control	0	3.92	7.84	10.78	21.57	27.45	-	-
chitosan	0	2.94	11.76	31.37	-	-	-	-
trt1	0	4.90	16.67	39.22	-	-	-	-
trt2	0	5.88	32.35	48.04	-	-	-	-
trt3	0	3.92	4.9	10.78	11.76	17.65	21.57	30.39
trt4	0	1.96	14.7	19.61	27.45	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข7 การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศ (ร้อยละ) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	0aF	1.34aE	2.02aD	3.4aC	4.61aB	5.7aA	-
chitosan	0aD	0.63dEC	1.59abB	3.35aA	-	-	-
trt1	0aD	0.82bcC	1.85abB	2.84aA	-	-	-
trt2	0aC	0.71cdB	1.8abA	-	-	-	-
trt3	0aE	0.71cdDE	1.46bD	2.73aC	3.71aC	4.96aB	6.09aA
trt4	0aE	0.9bD	1.67abC	3.49aB	4.48aA	-	-

หมายเหตุ a-d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-F อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข8 ค่าความสว่าง (L*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	51.03aA	47.33abB	39.62bC	38.35bC	38.43aC	38.13aC	-
chitosan	51.03aA	47.57abB	40.66abC	37.52bC	-	-	-
trt1	51.03aA	48.45abA	42.39abB	39.7bB	-	-	-
trt2	51.03aA	44.99bB	44.06aB	-	-	-	-
trt3	51.03aA	49.45aA	40.28abB	38.04bBC	38.6aBC	38.55aBC	37.41aC
trt4	51.03aA	48.41abA	43.9aB	43.67aB	41.04aB	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข9 ค่าสีแดง (a*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	5.29aC	23.06aB	26.75aA	27.38aA	27.62aA	27.54aA	-
chitosan	5.29aC	16.28bcB	20.09bA	20.82bA	-	-	-
trt1	5.29aC	15.75bcB	19.63bA	22.01bA	-	-	-
trt2	5.29aC	15.66bcB	20.46bA	-	-	-	-
trt3	5.29aD	18.56bC	23.62abB	26.14aAB	25.15abAB	25bAB	26.52aA
trt4	5.29aD	12.91cC	19.23bB	17.28cB	23.86bA	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข10 ค่าสี เหลือง (b*) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	36.59aA	32.85aAB	31.02aB	29.91bB	29.87bB	29.41aB	-
chitosan	36.59aA	35.36aA	33.03aA	33.21abA	-	-	-
trt1	36.59aA	36.14aA	33.69aA	35.2aA	-	-	-
trt2	36.59aA	35.23aA	36.11aA	-	-	-	-
trt3	36.59aA	35.95aAB	33.15aABC	33.5abABC	31.79abBC	29.22aC	29.31aC
trt4	36.59aA	35.06aA	34.47aA	33.94abA	32.39abA	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข11 ค่าอัตราส่วน a*/b* ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	0.15	0.70	0.86	0.91	0.92	0.94	-
chitosan	0.15	0.46	0.61	0.63	-	-	-
trt1	0.15	0.43	0.58	0.62	-	-	-
trt2	0.15	0.44	0.57	-	-	-	-
trt3	0.15	0.52	0.71	0.78	0.79	0.86	0.90
trt4	0.15	0.37	0.56	0.51	0.74	-	-

ตารางผนวกที่ ข12 ค่ามุมของสี (hue angle) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	81.92aA	54.38bB	49.16bC	47.38cC	47.16bC	46.69aC	-
chitosan	81.92aA	65.04aB	58.66aC	57.84abC	-	-	-
trt1	81.92aA	66.77aB	59.63aBC	57.60abC	-	-	-
trt2	81.92aA	65.17aB	59.15aB	-	-	-	-
trt3	81.92aA	62.83aB	54.54abC	51.99bcCD	51.56aCD	49.16aCDE	47.69aE
trt4	81.92aA	69.01aB	60.57aC	62.73aC	53.56aC	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-E อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข13 ค่าความเข้มสี (chroma) ของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	37.03aA	40.32aA	41.03aA	40.69aA	40.76aA	40.41aA	-
chitosan	37.03aA	39.01aA	38.96aA	39.41aA	-	-	-
trt1	37.03aA	39.80aA	39.36aA	41.63aA	-	-	-
trt2	37.03aA	38.93aA	42.1aA	-	-	-	-
trt3	37.03aB	40.61aAB	40.77aAB	42.52aA	40.6aAB	38.54aAB	39.62aAB
trt4	37.03aA	37.76aA	40.02aA	38.43aA	40.33aA	-	-

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-B อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข14 ความแน่นเนื้อของมะเขือเทศ (นิวตัน) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	64.99aA	62.22aAB	58.41aB	57.08aB	58.01aB	57.36aB	-
chitosan	64.99aA	63.11aAB	60.57aAB	58.91aAB	-	-	-
trt1	64.99aA	64.94aA	62.27aA	61.79aA	-	-	-
trt2	64.99aA	63.97aA	62.02aA	-	-	-	-
trt3	64.99aA	64.03aA	63.35aA	62.44aA	61.53aA	59.04aA	60.77aA
trt4	64.99aA	64.41aA	63.96aA	62.87aA	60.9aA	-	-

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-B อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข15 ค่า pH ของมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	4.39	4.43	4.51	4.53	4.57	4.6	-
chitosan	4.39	4.48	4.51	4.53	-	-	-
trt1	4.39	4.46	4.48	4.51	-	-	-
trt2	4.39	4.42	4.45	-	-	-	-
trt3	4.39	4.44	4.47	4.52	4.55	4.63	4.64
trt4	4.39	4.38	4.6	4.63	4.73	-	-

ตารางผนวกที่ ข16 ปริมาณกรดจากการไทเทรตของมะเขือเทศ (ร้อยละ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	0.3690aA	0.3730bA	0.3486bAB	0.3265abB	0.2864aC	0.2880aC	-
chitosan	0.3690aA	0.3551bAB	0.3228cBC	0.3108abC	-	-	-
trt1	0.3690aA	0.3769bA	0.3608bA	0.3267abB	-	-	-
trt2	0.3690aB	0.4180aA	0.4020aA	-	-	-	-
trt3	0.3690aA	0.3565bA	0.3484bAB	0.3307aB	0.2962aC	0.2864aC	0.2050bD
trt4	0.3690aA	0.3613bA	0.3521bA	0.2870bB	0.2381bC	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข17 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในมะเขือเทศ (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)							
	0	3	7	10	14	17	21	24
control	1.05×10^2	2.85×10^3	1.14×10^4	3.60×10^5	4.30×10^5	9.00×10^4	1.06×10^8	-
chitosan	1.05×10^2	2.95×10^4	3.70×10^5	6.50×10^6	-	-	-	-
trt1	1.05×10^2	6.35×10^3	3.15×10^5	5.85×10^6	-	-	-	-
trt2	1.05×10^2	2.60×10^3	5.90×10^4	3.30×10^6	-	-	-	-
trt3	1.05×10^2	1.75×10^4	2.25×10^5	2.95×10^5	6.20×10^5	4.60×10^5	4.50×10^4	7.75×10^6
trt4	1.05×10^2	9.45×10^3	3.95×10^4	4.20×10^5	4.10×10^6	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข18 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในมะเขือเทศ (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

(หน่วย สิ่ง ทดลอง	ระยะเวลา (วัน)							
	0	3	7	10	14	17	21	24
control	2.41×10^3	9.45×10^3	1.15×10^4	5.55×10^5	1.71×10^6	8.85×10^6	6.85×10^9	-
chitosan	2.41×10^3	4.45×10^4	2.70×10^5	4.80×10^6	-	-	-	-
trt1	2.41×10^3	2.75×10^4	8.35×10^5	4.20×10^5	-	-	-	-
trt2	2.41×10^3	7.80×10^3	2.65×10^4	1.87×10^6	-	-	-	-
trt3	2.41×10^3	7.65×10^4	1.01×10^5	4.00×10^5	2.17×10^6	6.05×10^6	1.41×10^8	2.50×10^9
trt4	2.41×10^3	6.40×10^4	5.50×10^4	3.15×10^5	2.26×10^7	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข19 จำนวนยีสต์ในมะเขือเทศ (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)							
	0	3	7	10	14	17	21	24
control	7.5	0	1.00×10	5.50×10	1.50×10	0	0	-
chitosan	7.5	0	0	3.00×10	-	-	-	-
trt1	7.5	0	0	0	-	-	-	-
trt2	7.5	9.00×10	1.10×10^2	0	-	-	-	-
trt3	7.5	0	1.00×10	0	0	0	0.	0
trt4	7.5	0	0	0	0	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข20 จำนวนเชื้อราในมะเขือเทศ (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)							
	0	3	7	10	14	17	21	24
control	0	0	3.00×10	1.50×10^2	2.50×10	1.10×10^2	3.50×10^2	-
chitosan	0	0	4.00×10	1.35×10^2	-	-	-	-
trt1	0	0	9.50×10	9.00×10	-	-	-	-
trt2	0	0	0	1.15×10^2	-	-	-	-
trt3	0	0	8.00×10	1.87×10^2	4.50×10	2.40×10^2	4.35×10^2	2.75×10^2
trt4	0	0	0	1.32×10^2	2.00×10	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข21 คะแนนความเข้มสีแดงโดยรวมของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	3.8aD	6.74aC	9.74aB	12.88aA	13.12aA	13.16aA	-
chitosan	3.8aD	6.66abC	9.42aB	10.93bA	-	-	-
trt1	3.8aD	6.42bcC	5.6cB	9.05cA	-	-	-
trt2	3.8aB	6.32cA	7.01bA	-	-	-	-
trt3	3.8aG	6.28cF	8.43abE	10.15bB	11.67bD	12.93aA	12.28aAB
trt4	3.8aD	6.12cC	8.35abB	10.21bA	10.18cA	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-G อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข22 คะแนนความเข้มความแน่นเนื้อของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	12.71aA	11.08abA	8.34bB	7.78dB	6.49bC	5.96bC	-
chitosan	12.71aA	11.08abA	7.01cB	6.69eB	-	-	-
trt1	12.71aA	11.02bA	9.75aB	9.5aB	-	-	-
trt2	12.71aA	11.12abA	8.11bB	-	-	-	-
trt3	12.71aA	11.46aA	8.31bB	8.13cdBC	6.94abCD	6.85aD	6.54aD
trt4	12.71aA	11.12abA	9.63aB	8.51bcBC	7.77abC	-	-

หมายเหตุ a-e อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข23 คะแนนความเข้มความเหี่ยวของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	0aB	0aB	0bB	0.54bA	0.77abcA	0.09aB	-
chitosan	0aB	0aB	0bB	0.48bA	-	-	-
trt1	0aB	0aB	0.33aA	0.07cB	-	-	-
trt2	0aA	0aA	0bA	-	-	-	-
trt3	0aD	0aD	0.18bB	0.52bCD	0.4bcBC	0aD	1.92bA
trt4	0aB	0aB	0bB	1.1aA	0.32cB	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข24 คะแนนการยอมรับเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานของมะเขือเทศระหว่าง
การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	3	7	10	14	17	21
control	7.7aA	7.0aA	6.5abB	6.1bcB	5.7aBC	5.2aC	-
chitosan	7.7aA	7.3aAB	7.3aB	6.9aB	-	-	-
trt1	7.7aA	7.2aAB	6.9aAB	6.7abAB	-	-	-
trt2	7.7aA	6.3aB	6.7abAB	-	-	-	-
trt3	7.7aA	7.3aAB	7.1aBC	6.7abBC	6.1aCD	5.7aD	5.6aD
trt4	7.7aA	6.6aB	6.1bBC	5.8cBC	5.3aC	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

control หมายถึง มะเขือเทศที่ไม่ได้เคลือบผิวด้วยสารเคลือบ

chitosan หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้
จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm

trt4 หมายถึง มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ในซัน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm

ตารางผนวกที่ ข25 ค่าความแข็งของขนมปิ้ง (นิวตัน) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	2.22aC	3.51aBC	4.16aB	4.22aB	6.16aA	-	-
chitosan	2.22aB	2.9aB	3.94aA	4.62aA	-	-	-
trt1	2.22aD	2.96aCD	3.87aBC	4.24aB	5.42aA	-	-
trt2	2.22aD	3.78aC	4.38aC	4.92aBC	6.07aB	7.6aA	8.61aA
trt3	2.22aB	3.82aA	4.21aA	4.59aA	5.28aA	5.34bA	-
trt4	2.22aC	3.41aB	4.25aB	4.62aAB	5.55aA	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข26 ค่าการเกาะรวมตัวของขนมปิ้งระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	0.56aA	0.47bAB	0.46aAB	0.4aB	0.39aB	-	-
chitosan	0.56aA	0.53abA	0.52aA	0.38aB	-	-	-
trt1	0.56aA	0.57aA	0.51aA	0.38aB	0.36aB	-	-
trt2	0.56aA	0.5abAB	0.46aAB	0.41aBC	0.35aCD	0.29aD	0.28aD
trt3	0.56aA	0.43bB	0.43aB	0.35aBC	0.35aBC	0.32aC	-
trt4	0.56aA	0.45bAB	0.45aAB	0.42aB	0.39aB	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข27 ค่าการคืบตัวของขนมปิ้ง (mm) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	3.93aA	3.95aA	3.8aA	3.54aAB	3.27aB	-	-
chitosan	3.93aA	3.94aA	3.75aAB	3.15aB	-	-	-
trt1	3.93aA	3.9aA	3.82aA	3.6aA	3.34aA	-	-
trt2	3.93aA	3.79aA	3.57aAB	3.54aAB	3.12aBC	3.03aBC	2.8aC
trt3	3.93aA	3.67aAB	3.52aAB	3.18aB	3.13aB	3.05aB	-
trt4	3.93aA	3.83aA	3.72aA	3.6aA	3.6aA	-	-

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข28 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมปิ้ง (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)										
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14
control	1.00×10	2.47×10^2	4.95×10^3	5.05×10^3	8.55×10^3	-	-	-	-	-	-
chitosan	1.00×10	9.00×10	1.95×10^2	3.75×10^2	-	-	-	-	-	-	-
trt1	1.00×10	7.00×10^2	2.70×10^2	1.75×10^2	1.40×10^3	-	-	-	-	-	-
trt2	1.00×10	7.00×10^2	1.85×10^2	3.00×10^2	2.90×10^3	2.15×10^2	2.00×10^2	4.00×10^2	2.35×10^3	1.85×10^3	6.70×10^4
trt3	1.00×10	2.30×10^2	4.25×10^2	1.20×10^3	1.55×10^3	6.50×10^2	1.50×10^2	1.50×10^3	1.35×10^3	-	-
trt4	1.00×10	5.00×10	2.50×10^2	3.60×10^2	1.40×10^3	3.00×10^2	7.45×10^3	1.35×10^3	1.95×10^3	3.34×10^4	-

ตารางผนวกที่ ข29 จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมปัง (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)										
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14
control	4.69×10^4	4.69×10^5	5.52×10^5	7.57×10^5	5.40×10^6	-	-	-	-	-	-
chitosan	4.69×10^4	4.21×10^5	4.84×10^5	8.42×10^5	-	-	-	-	-	-	-
trt1	4.69×10^4	4.63×10^5	5.76×10^5	6.75×10^5	9.75×10^6	-	-	-	-	-	-
trt2	4.69×10^4	4.49×10^5	5.34×10^5	6.54×10^5	3.65×10^6	1.47×10^8	2.72×10^9	-	1.31×10^{10}	-	-
trt3	4.69×10^4	4.77×10^5	3.15×10^5	5.52×10^5	3.10×10^6	1.41×10^7	4.15×10^8	-	1.59×10^{12}	-	-
trt4	4.69×10^4	4.49×10^5	4.35×10^5	5.13×10^5	1.85×10^6	1.77×10^8	5.70×10^9	-	1.33×10^{12}	-	-

ตารางผนวกที่ ข30 จำนวนยีสต์ในขนมปัง (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)										
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14
control	0	1.00×10	1.50×10	0	9.60×10^2	-	-	-	-	-	-
chitosan	0	0	6.00×10	1.05×10^2	-	-	-	-	-	-	-
trt1	0	0	2.00×10	0	5.55×10^3	-	-	-	-	-	-
trt2	0	0	4.50×10	8.00×10	7.00×10	1.50×10	0	0	0	2.50×10	9.35×10^4
trt3	0	0	0	2.00×10	0	0	0	0	1.77×10^4	-	-
trt4	0	0	0	1.00×10	0	2.50×10	0	0	0	3.31×10^4	-

ตารางผนวกที่ ข31 จำนวนเชื้อราในขนมปัง (CFU/g) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)										
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	12	14
control	0	0	0	0	2.00×10	-	-	-	-	-	-
chitosan	0	0	2.00×10	0	-	-	-	-	-	-	-
trt1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
trt2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
trt3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
trt4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.05×10^3	-

ตารางผนวกที่ ข32 คะแนนความชื้นความชุ่มชื้นเนื้อด้านในขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	3.21aA	3.22aA	3.09aAB	3.02aAB	2.76aAB	-	-
chitosan	3.21aA	3.23aA	3.06aAB	2.79aB	-	-	-
trt1	3.21aA	3.03aAB	2.77aBC	2.69aC	2.65aC	-	-
trt2	3.21aA	3.06aAB	2.96aABC	2.73aBC	2.74aBC	2.61aCD	2.24aD
trt3	3.21aA	3.21aA	3.07aA	3.12aA	2.63aA	2.62aA	-
trt4	3.21aA	3.34aA	2.87aB	2.85aB	2.71aB	-	-

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข33 คะแนนความแข็งความนุ่มของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	8.11aA	8.13aA	7.2aB	6.26bC	6.3aC	-	-
chitosan	8.11aA	8.32aA	7.5aA	7.41abA	-	-	-
trt1	8.11aA	7.92aA	7.72aA	7.61aA	6.5aB	-	-
trt2	8.11aA	7.92aA	7.51aA	6.32bB	6.38aB	5.67aBC	5.28aC
trt3	8.11aA	8.07aA	7.54aA	6.41abB	6.36aB	5.9aB	-
trt4	8.11aA	8.28aA	7.46aAB	6.38abB	6.14aB	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข34 คะแนนความแข็งกลิ่นหอมของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	9.75aA	9.6aAB	8.96aAB	8.56aB	8.34aB	-	-
chitosan	9.75aA	9.35abAB	8.4aBC	7.83abC	-	-	-
trt1	9.75aA	9.06abB	7.97aC	7.82abC	7.79abC	-	-
trt2	9.75aA	8.77abB	7.71aC	7.57bC	7.03bD	6.56aDE	6.38aE
trt3	9.75aA	8.34bcB	7.86aBC	7.66bBC	7.18bC	5.98aD	-
trt4	9.75aA	7.38cB	6.33bB	6.26cB	5.56cB	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-E อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข35 คะแนนความเข้มกลืนหมักของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
25±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	0aB	0.52aB	0.44aB	0.56aB	2.24abA	-	-
chitosan	0aA	0.79aA	1.04aA	0.8aA	-	-	-
trt1	0aB	0.69aB	1.16aAB	0.58aB	2.56aA	-	-
trt2	0aC	0.19aC	0.33aC	0.34aC	1.72bB	2.69aAB	3.88aA
trt3	0aB	0.59aB	0.41aB	0.55aB	1.88bA	2.92aA	-
trt4	0aA	0.49aA	0.75aA	1.32aA	1.45bA	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข36 คะแนนการยอมรับเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานของขนมปังระหว่าง
การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	7.70aA	7.50abAB	7.10aBC	6.80aC	6.00aD	-	-
chitosan	7.70aA	7.80aA	7.10aB	6.80aB	-	-	-
trt1	7.70aA	7.60abA	6.60aB	6.40aB	6.20aB	-	-
trt2	7.70aA	7.10bA	7.10aAB	7.20aA	6.80aAB	6.20aBC	5.90aC
trt3	7.70aA	7.30abA	6.90aAB	6.70aAB	6.40aAB	5.80aB	-
trt4	7.70aA	7.10bAB	6.80aB	6.50aB	5.70aC	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

control หมายถึง มะเชื้อเทศที่ไม่ได้เคลือบผิวด้วยสารเคลือบ

chitosan หมายถึง มะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง มะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 1,000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้
จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง มะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง มะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 15,000 ppm

trt4 หมายถึง มะเชื้อเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้ง
จุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม และยูจินอล 20,000 ppm

ตารางผนวกที่ ข37 ค่าความสว่าง (L*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
30±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	42.72aB	39.04cD	40.98bC	45.04aA	-	-	-
chitosan	42.72aB	42.86abAB	43.22aAB	43.83bA	-	-	-
trt1	42.72aA	42.56abA	40.6bB	43.14cA	41.88aAB	-	-
trt2	42.72aA	43.7aA	-	-	-	-	-
trt3	42.72aA	41.37bA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข38 ค่าสีแดง (a*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	5.77aB	5.13abB	5.2bB	10.08aA	-	-	-
chitosan	5.77aB	5.72aB	5.66abB	6.89dA	-	-	-
trt1	5.77aC	4.92bD	5.8abC	8.16bA	6.85aB	-	-
trt2	5.77aA	5.16abA	-	-	-	-	-
trt3	5.77aA	5.05abA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข39 ค่าสีเหลือง (b*) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	22.39aAB	21.6aB	20.81abB	23.56aA	-	-	-
chitosan	22.39aA	21.6aA	22.27aA	23.04aA	-	-	-
trt1	22.39aA	19.38bB	21.55abA	22.47aA	16.34aC	-	-
trt2	22.39aA	22.21aA	-	-	-	-	-
trt3	22.39aA	20.44abB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข40 ค่ามุมของสี (hue angle) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	75.63aA	76.59abA	75.95aA	66.87dB	-	-	-
chitosan	75.63aA	75.16bA	75.7aA	73.4aB	-	-	-
trt1	75.63aA	75.72abA	74.89abA	70.06cB	67.36abC	-	-
trt2	75.63aA	76.9aA	-	-	-	-	-
trt3	75.63aA	76.14abA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข41 ค่าความเข้มสี (chroma) ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	23.13aB	22.21aB	21.45abB	25.63aA	-	-	-
chitosan	23.13aAB	22.36aAB	22.98aAB	24.05bA	-	-	-
trt1	23.13aA	20bB	22.32abAB	23.91bA	17.73aC	-	-
trt2	23.13aA	22.81aA	-	-	-	-	-
trt3	23.13aA	21.06abB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข42 ค่าความแข็งของขนมทองหยอด (นิวตัน) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	6.28aA	4.18cC	5.02bB	6.21bA	-	-	-
chitosan	6.28aA	5.32bcA	5.73bA	5.97bA	-	-	-
trt1	6.28aA	7.28aA	6.18abA	6.43abA	6.56bA	-	-
trt2	6.28aA	6.09abA	-	-	-	-	-
trt3	6.28aAB	5.56abcB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข43 ค่าการเกาะรวมตัวของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	0.51aA	0.49aA	0.48aA	0.43abB	-	-	-
chitosan	0.51aA	0.47abAB	0.43bB	0.46aAB	-	-	-
trt1	0.51aA	0.45abB	0.45abB	0.45aB	0.43aB	-	-
trt2	0.51aA	0.44bB	-	-	-	-	-
trt3	0.51aA	0.46abB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-b อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-B อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข44 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของขนมทองหยอด (ร้อยละ) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	73.78aA	71.44aB	64.78aC	64.89bC	-	-	-
chitosan	73.78aA	61eD	62.22cC	65.33aB	-	-	-
trt1	73.78aA	67.44cB	64bD	65bC	51.67bE	-	-
trt2	73.78aA	66.67dB	-	-	-	-	-
trt3	73.78aA	68.89bB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข45 ค่า pH ของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	8.17	8.16	8.03	8.14	-	-	-
chitosan	8.17	7.68	7.82	7.63	-	-	-
trt1	8.17	7.75	7.69	7.95	7.4	-	-
trt2	8.17	7.58	-	-	-	-	-
trt3	8.17	7.7	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ข46 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในขนมทองหยอด (CFU/g)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)								
	0	1	2	3	4	5	6	8	10
control	1.00×10	5.07×10^2	1.08×10^3	4.50×10^4	-	-	-	-	-
chitosan	1.00×10	7.00×10	1.00×10	5.07×10^3	2.30×10^3	-	-	-	-
trt1	1.00×10	0	0	0	4.55×10^4	-	-	-	-
trt2	1.00×10	0	2.60×10^2	0	2.65×10^3	1.00×10^2	5.12×10^2	1.35×10^2	1.00×10^2
trt3	1.00×10	6.40×10^2	2.00×10^2	1.54×10^3	2.00×10^2	0	2.50×10	6.50×10	1.10×10^2

ตารางผนวกที่ ข47 กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในขนมทองหยอด (CFU/g)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)								
	0	1	2	3	4	5	6	8	10
control	2.24×10	3.80×10^2	9.65×10^3	9.80×10^4	-	-	-	-	-
chitosan	2.24×10	6.87×10^2	1.00×10	0	8.00×10^2	-	-	-	-
trt1	2.24×10	5.87×10	0	0	7.15×10^5	-	-	-	-
trt2	2.24×10	1.60×10	7.00×10	0	1.45×10^3	6.00×10^2	9.50×10^2	2.05×10^2	2.50×10^2
trt3	2.24×10	8.00×10^2	4.80×10^2	1.19×10^3	1.00×10^2	0	0	5.00×10	1.15×10^2

ตารางผนวกที่ ข48 จำนวนยีสต์ในขนมทองหยอด (CFU/g) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
 $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)								
	0	1	2	3	4	5	6	8	10
control	6.00×10	2.10×10^2	3.85×10^3	1.50×10^4	-	-	-	-	-
chitosan	6.00×10	0	1.00×10	0	6.00×10^4	-	-	-	-
trt1	6.00×10	5.07×10	0	0	5.55×10^4	-	-	-	-
trt2	6.00×10	0	0	0	0	7.41×10	9.40×10^3	1.44×10^4	3.95×10^4
trt3	6.00×10	0	7.00×10	2.00×10	0	5.50×10	3.94×10	1.24×10^4	5.95×10^4

ตารางผนวกที่ ข49 คะแนนความเข้มสีเหลืองของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	7.53aB	7.03cC	7.66abB	10.93aA	-	-	-
chitosan	7.53aB	7.12bcbB	7.06bB	10.8aA	-	-	-
trt1	7.53aB	7.25abcB	7.5abB	10.9aA	10.39aA	-	-
trt2	7.53aA	7.66aA	-	-	-	-	-
trt3	7.53aA	7.51abA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข50 คะแนนความเข้มกลิ่นหมักของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	0aB	0.36aB	0.15bcB	3.29aA	-	-	-
chitosan	0aC	0.59aBC	0.36aC	1.91bA	-	-	-
trt1	0aC	0.41aBC	0.31abC	1.1cB	1.92aA	-	-
trt2	0aA	0bA	-	-	-	-	-
trt3	0aA	0bA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๕1 คะแนนความเข้มแข็งของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	2.72aB	3.12cA	3.37aA	3.44bA	-	-	-
chitosan	2.72aB	4.26aA	3.59aA	3.52bA	-	-	-
trt1	2.72aD	3.64bcBC	3.37aCD	4.33aAB	4.78aA	-	-
trt2	2.72aB	4.18abA	-	-	-	-	-
trt3	2.72aB	4.28aA	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

A-D อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ข52 คะแนนการยอมรับของขนมทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ
30±2°C

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา (วัน)						
	0	1	2	3	4	5	6
control	7.9aA	7.2aA	6.8aA	5.0aB	-	-	-
chitosan	7.9aA	6.2bB	5.7bBC	5.4aBC	5.1bC	-	-
trt1	7.9aA	6.0bB	5.7bB	6aB	5.8aB	-	-
trt2	7.9aA	2.5cB	-	-	-	-	-
trt3	7.9aA	2.3cB	-	-	-	-	-

หมายเหตุ a-c อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A-C อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

control หมายถึง ขนมทองหยอดที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซน

chitosan หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5

trt1 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม, ไทโมล 1,000 และยูจินอล 500 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ได้จาก วิธี disc agar diffusion

trt2 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม, ไทโมล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm

trt3 หมายถึง ขนมทองหยอดที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนร้อยละ 1.5 ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์; ไนซิน 10,000 IU/กรัม ฟิล์ม, ไทโมล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm

ภาคผนวก ค

การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบและฟิล์ม

การศึกษาขั้นต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบและฟิล์ม

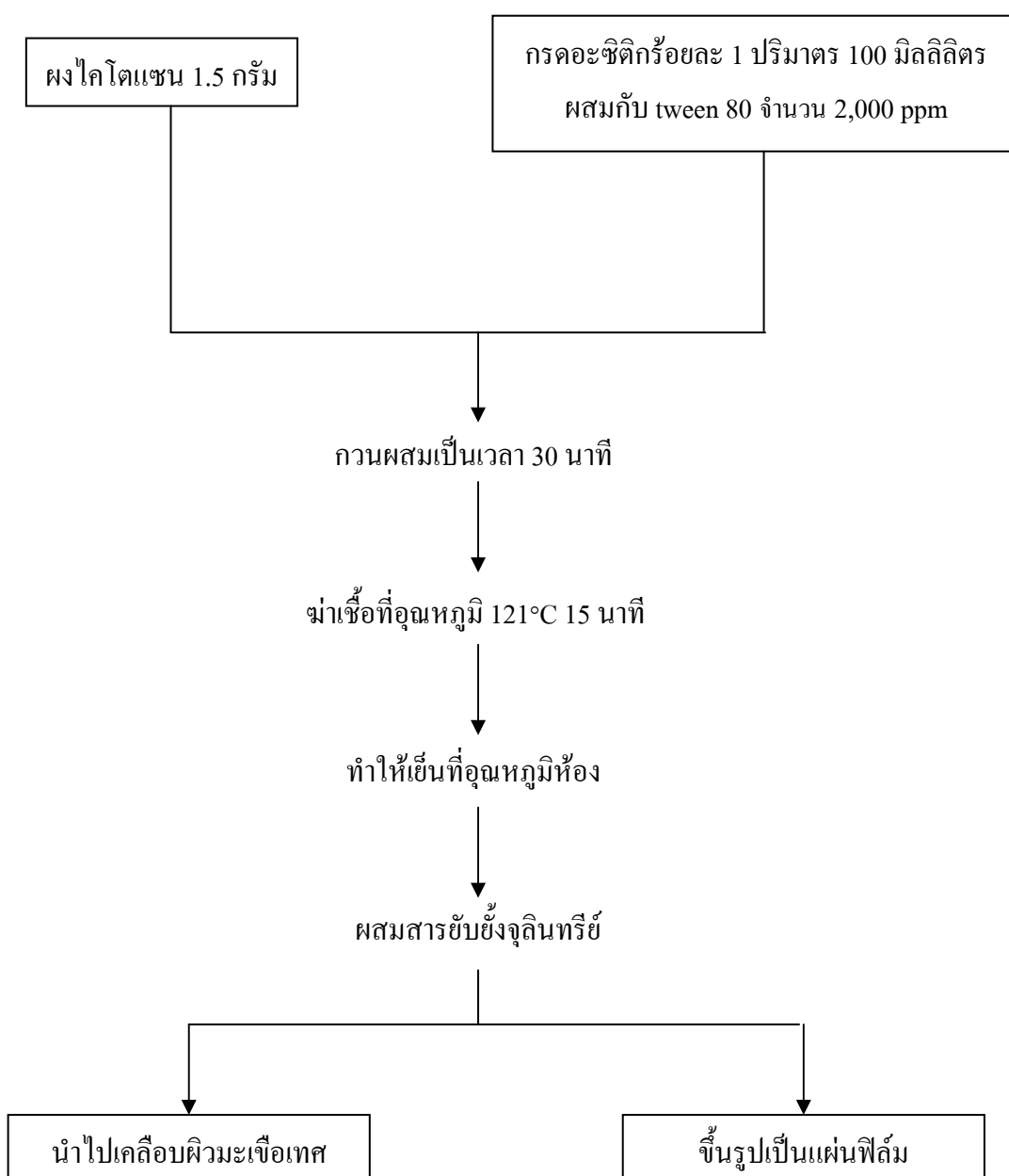
1. การเตรียมสารเคลือบและฟิล์ม

1.1 การเตรียมสารเคลือบ

เตรียมสารละลายสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากผงไคโตแซน 1.5 กรัม นำไปละลายและกวนผสมในสารละลายอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย tween 80 จำนวน 2,000 ppm ผสมอยู่ (ดัดแปลงจาก El-Ghaouth *et al.*, 1991) กวนผสมด้วยเครื่องกวนผสม (agitator) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ฟองอากาศหายไป แล้วกรองผ่านใยไหมขนาด 120 เมช เพื่อแยกอนุภาคที่ไม่ละลายออกจากสารละลายใส นำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้ออบความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.2 การเตรียมฟิล์ม

เตรียมสารละลายสารเคลือบไคโตแซนร้อยละ 1.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากผงไคโตแซน 1.5 กรัม นำไปละลายและกวนผสมในสารละลายอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย tween 80 จำนวน 2,000 ppm ผสมอยู่ กวนผสมด้วยเครื่องกวนผสม (agitator) เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ฟองอากาศหายไป แล้วกรองผ่านใยไหมซึ่งมีรูขนาด เพื่อแยกอนุภาคที่ไม่ละลายออกจากสารละลายใส นำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้ออบความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยเทสารละลายสารเคลือบปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงบนแผ่นกระจกใสขนาด 25×25 เซนติเมตร ที่ห่อหุ้มด้วยแผ่นฟิล์มสำหรับห่ออาหาร (wrap) ซึ่งตั้งปรับระดับด้วยลูกน้ำ เพื่อควบคุมให้แผ่นฟิล์มที่เตรียมมีความหนาเท่ากันตลอดทั้งแผ่น ตั้งให้ฟิล์มแห้งภายใต้ลมเป่าในสภาวะปลอดเชื้อ เมื่อฟิล์มแห้ง จะได้แผ่นฟิล์มขนาด 25×25 เซนติเมตร น้ำหนัก 2.4 กรัม นำไปเก็บไว้ในถุงพลาสติกใสพอลิโพรไพลีนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพผนวกที่ ค1 การเตรียมสารเคลือบและฟิล์ม

สำหรับการผสมสารยับยั้งเชื้อลงในสารละลายสารเคลือบไคโตแซน โดยการเปิดสารยับยั้งเชื้อตามปริมาตรหรือความเข้มข้นที่ต้องการศึกษาลงในสารละลายสารเคลือบ คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยแท่งแก้วที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้ว สามารถนำไปเคลือบผิวมะเขือเทศหรือขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ทันที (ภาพผนวกที่ ก1)

2. การศึกษาขั้นต้นเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาอาหาร

เนื่องจากความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อที่ได้จากวิธี disc agar diffusion ไม่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้เมื่อนำไปผสมในสารเคลือบและฟิล์ม ดังนั้นจึงต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีวิธีการดังนี้

2.1 มะเขือเทศ

คัดเลือกมะเขือเทศที่มีความสุกอยู่ในระดับ pink stage มีขนาด น้ำหนัก และสีผิวสม่ำเสมอใกล้เคียงกันและไม่มีบาดแผล มาเคลือบผิวด้วยสารละลายสารเคลือบที่ละด้านของผลมะเขือ ผึ่งให้ด้านที่เคลือบผิวแล้วให้แห้งก่อนการเคลือบผิวอีกด้านหนึ่ง ผึ่งลมให้แห้งเช่นกัน ทำการเคลือบผิวดังกล่าวมาแล้วซ้ำอีกครั้ง รวม 2 ครั้ง ใช้มะเขือเทศ 1 กิโลกรัม (ประมาณ 12 ผล) จะต่อสารเคลือบในการเคลือบผิวทั้งหมด 19 กรัม จากนั้นนำผลมะเขือเทศที่เคลือบผิวและแห้งแล้วไปบรรจุลงในถุงพลาสติกใสพอลิโพรไพลีน ซึ่งเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บรักษาอุณหภูมิ บรรจุลงละ 3 ลูก มะเขือเทศไว้ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส แล้วทำการสังเกตและจดบันทึกการเน่าเสียของมะเขือเทศทุกวัน เปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม ตารางผนวกที่ ก1 แสดงสิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาขั้นต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะใช้ผสมในสารเคลือบไคโตแซน

$$\text{ร้อยละการเน่าเสีย} = \frac{(\text{จำนวนผลมะเขือเทศเริ่มต้น} - \text{จำนวนผลมะเขือเทศที่เสื่อมเสีย}) \times 100}{\text{จำนวนผลมะเขือเทศเริ่มต้น}}$$

หมายเหตุ ผลมะเขือเทศที่ถือว่าเสื่อมเสียต้องมีตำหนิ รอยชำรุด การเจริญของเชื้อรา หรือลักษณะผิดปกติอื่นๆ เช่น การเน่าและของผล หรือการบวมเต่งของผล เป็นต้น มากกว่าร้อยละ 10 ของผล

ตารางผนวกที่ ค1 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษามะเขือเทศขึ้นต้น

สิ่งทดลองที่	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์	
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ยูจินอล (ppm)
1 (control)	-	-
2	1.5	-
3*	1.5	1,000
4	1.5	10,000
5	1.5	20,000
6	1.5	40,000
7	1.5	100,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion

ผลการทดลองตารางผนวกที่ ค2 มะเขือเทศที่ไม่มีเคลือบผิวเริ่มมีการเน่าเสียในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซนผสมกับยูจินอล 20,000 ppm ขณะที่มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยไคโตแซน ไคโตแซนผสมยูจินอล 1,000 ppm และไคโตแซนผสมยูจินอล 10,000 ppm กลับเร่งการเน่าเสียของมะเขือเทศเป็นวันที่ 14, 14 และ 7 ตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นของยูจินอลเพิ่มขึ้นเป็น 40,000 และ 100,000 ppm ช่วยชะลอการเสื่อมเสียของมะเขือเทศให้เริ่มเสียในวันที่ 28 อย่างไรก็ตามข้อกำหนดของ United States Standards for Grads of Tomatos for Processing (1997) กำหนดไว้ว่ามะเขือเทศที่สามารถนำไปเข้ากระบวนการแปรรูปได้ต้องมีปริมาณของเสียไม่เกินร้อยละ 25 ซึ่งจากผลการทดลองนี้พบว่ามะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมยูจินอล 10,000 ppm และไคโตแซนยูจินอล 20,000 ppm เท่านั้นที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 28 วัน อีกทั้งการใช้ปริมาณสารยับยั้งที่น้อยกว่ายังช่วยในการประหยัดต้นทุนวัตถุดิบเมื่อเปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนผสมยูจินอล 40,000 และ 100,000 ppm ที่ทั้งใช้สารยับยั้งเชื้อมากกว่าแต่ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยกว่า ดังนั้นสิ่งทดลองที่จะเลือกไปศึกษาอายุการเก็บของมะเขือเทศ คือ มะเขือเทศไม่เคลือบผิว (ตัวอย่างควบคุม) มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซน มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนที่ต้องมียูจินอล 1,000 ppm (ความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาใน disc agar diffusion) มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนที่ต้องมียูจินอล 10,000 ppm มะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนที่ต้องมียูจินอล 15,000 ppm และมะเขือเทศที่เคลือบด้วยไคโตแซนที่ต้องมียูจินอล 20,000 ppm รวม 6 สิ่งทดลอง

ตารางผนวกที่ ค2 ร้อยละการเสื่อมเสียของมะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$

สิ่งทดลองที่	ร้อยละการเสื่อมเสียในวันที่						
	7	14	21	28	35	42	49
1 (control)	0	0	16.67	50	100	-	-
2	0	16.67	16.67	25	58.33	100	-
3	0	16.67	16.67	33.33	58.33	100	-
4	8.33	8.33	8.33	16.67	41.67	58.33	100
5	0	0	16.67	16.67	58.33	75	100
6	0	0	0	33.33	58.33	58.33	100
7	0	0	0	25	50	50	100

2.2 ขนมปิ้ง

เตรียมตัวอย่างขนมปิ้งแผ่น นำมาห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนทุกๆ แผ่น แล้วนำไปเก็บรักษาอุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส แล้วทำการสังเกตและจดบันทึกการเสียของขนมปิ้งทุกวัน เปรียบเทียบกับขนมปิ้งที่ไม่มีห่อฟิล์มซึ่งใช้เป็นตัวอย่างควบคุม โดยแต่ละสิ่งทดลองมีจำนวนขนมปิ้ง 4 แผ่น ตารางผนวกที่ ค3 แสดงสิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะใช้ผสมในฟิล์มไคโตแซนสำหรับศึกษาอายุการเก็บของขนมปิ้ง

ตารางผนวกที่ ค3 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมปังขึ้นต้น

สิ่งทดลองที่	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์	
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ยูจินอล (ppm)
1 (control)	-	-
2	1.5	-
3*	1.5	1,000
4	1.5	4,000
5	1.5	8,000
6	1.5	12,000
7	1.5	16,000
8	1.5	20,000
9	1.5	40,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion

จากผลการทดลองตารางผนวกที่ ค4 พบว่าขนมปังมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 5 วัน
ฟิล์มไคโตแซนและฟิล์มไคโตซานที่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์มีผลในการช่วยเพิ่มอายุการเก็บของขนม
ปังดังนี้ ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตแซนที่ไม่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์กับขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มไค
โตแซนที่มียูจินอลความเข้มข้น 1,000 ppm และ 4,000 ppm เริ่มเสื่อมเสียในวันที่ 6 ของการเก็บ
รักษา ขนมปังที่บรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่มียูจินอลความเข้มข้น 8,000 กับขนมปังที่บรรจุด้วยฟิล์ม
ไคโตแซนที่มียูจินอลความเข้มข้น 12,000 ppm เริ่มมีการเสื่อมเสียในวันที่ 7 และขนมปังที่ห่อด้วย
ฟิล์มไคโตแซนที่มียูจินอลความเข้มข้น 16,000 กับขนมปังที่บรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่มียูจินอล
ความเข้มข้น 20,000 ppm เริ่มมีการเสื่อมเสียในวันที่ 8 แต่เมื่อใช้ฟิล์มที่มียูจินอล 40,000 ppm
สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของขนมปังได้มากกว่า 10 วัน อย่างไรก็ตาม ขนมปังที่ห่อด้วยฟิล์มที่มี
ยูจินอล 40,000 ppm นี้มีผลทำให้กลิ่นรสของขนมปังเปลี่ยนแปลงซึ่งอาจมีผลต่อการยอมรับของ
ผู้บริโภค ความเข้มข้นสูงสุดของสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่จะนำมาศึกษาจึงน่าจะ ไม่เกิน 20,000 ppm
ดังนั้นสิ่งทดลองที่จะเลือกศึกษาอายุการเก็บของขนมปัง คือ ขนมปังไม่ห่อฟิล์ม (ตัวอย่างควบคุม)
ขนมปังบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซน ขนมปังบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่ต้องมียูจินอล 1,000 ppm
(ความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาใน disc agar diffusion) ขนมปังบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่ต้องมียู

จिनอล 10,000 ppm ขนมปังบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่ต้องมีจिनอล 15,000 ppm และขนมปังบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่ต้องมีจिनอล 20,000 ppm รวม 6 สิ่งทดลอง

ตารางผนวกที่ ค4 ร้อยละการเสื่อมเสียของขนมปังระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$)

สิ่งทดลองที่	ร้อยละการเสื่อมเสียในวันที่									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 (control)	0	0	0	0	100	-	-	-	-	-
2	0	0	0	0	0	50	75	75	75	100
3	0	0	0	0	0	50	75	75	75	100
4	0	0	0	0	0	50	50	50	100	100
5	0	0	0	0	0	0	25	50	75	100
6	0	0	0	0	0	0	25	100	-	-
7	0	0	0	0	0	0	0	50	50	100
8	0	0	0	0	0	0	0	50	50	100
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.3 ขนมทองหยอด

เตรียมตัวอย่างขนมทองหยอด (ร้านรสน้ำทิพย์ สีแสดเกษตร) จำนวน 24 เม็ด บรรจุลงในกล่องพลาสติกที่มีฟิล์มไคโตแซน (ขนาด 12.5×12.5 เซนติเมตร) รองอยู่ด้านล่างกล่อง เรียงขนมเป็น 2 ชั้น ชั้นละ 12 ชิ้น โดยที่ระหว่างชั้นของทองหยอดจะมีแผ่นฟิล์มวางอยู่ พยายามให้แผ่นฟิล์มสัมผัสกับขนมทองหยอดให้มากที่สุด เมื่อเรียงขนมครบทั้ง 2 ชั้น จึงนำแผ่นฟิล์มมาวางทับอีกชั้นหนึ่ง ปิดฝากล่องพลาสติกรอบด้านให้สนิทด้วยเทปกาวใส จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) แล้วทำการสังเกตและจดบันทึกการเน่าเสียของทองหยอดทุกวัน เปรียบเทียบกับขนมทองหยอดที่ไม่มีการใช้ฟิล์มซึ่งใช้เป็นตัวอย่างควบคุม โดยแต่ละสิ่งทดลองมีจำนวนขนมปัง 3 กล่อง ตารางผนวกที่ ค5 แสดงสิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะใช้ผสมในฟิล์มไคโตแซนสำหรับศึกษาอายุการเก็บของขนมทองหยอด

ตารางผนวกที่ ค5 สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมทองหยอดชั้นต้น

สิ่งทดลองที่	ความเข้มข้นของสารเคลือบและสารยับยั้งจุลินทรีย์		
	ไคโตแซน (ร้อยละ)	ไทมอล (ppm)	ยูจินอล (ppm)
1 (control)	-	-	-
2	1.5	-	-
3*	1.5	1,000	500
4	1.5	4,000	2,000
5	1.5	8,000	4,000
6	1.5	12,000	6,000
7	1.5	16,000	8,000
8	1.5	20,000	10,000
9	1.5	40,000	20,000

หมายเหตุ * ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดจากวิธี disc agar diffusion

ผลการทดลองพบว่า ขนมทองหยอดที่ไม่ห่อฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดที่ห่อฟิล์มไคโตแซนผสมไทมอลและยูจินอลสิ่งทดลองที่ 3-7 มีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 4 วัน ถึงแม้จากการสังเกตการเจริญของเชื้อราจะมีจำนวนลดลงเมื่อความเข้มข้นสารยับยั้งจุลินทรีย์สูงขึ้น ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ไทมอลเท่ากับ 20,000 ppm และยูจินอลเท่ากับ 10,000 ppm มีอายุการเก็บรักษา 5 วัน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไทมอลเท่ากับ 40,000 ppm และยูจินอลเท่ากับ 20,000 ppm มีอายุการเก็บรักษา 6 วัน อย่างไรก็ตามฟิล์มที่มีไทมอลและยูจินอลความเข้มข้นดังกล่าว ทำให้กลิ่นรสของขนมทองหยอดเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าหากใช้ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้จะไม่สามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาทองหยอดได้ ดังนั้นสิ่งทดลองที่จะเลือกทำการศึกษายุการเก็บของขนมทองหยอดคือ ขนมทองหยอดไม่ห่อฟิล์ม (ตัวอย่างควบคุม) ขนมทองหยอดบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซน ขนมทองหยอดบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่มีไทมอล 1,000 ppm และยูจินอล 500 ppm (ความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาใน disc agar diffusion) ขนมทองหยอดบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่มีไทมอล 20,000 ppm และยูจินอล 10,000 ppm และขนมทองหยอดบรรจุด้วยฟิล์มไคโตแซนที่มีไทมอล 40,000 ppm และยูจินอล 20,000 ppm รวม 5 สิ่งทดลอง

ตารางผนวกที่ ค6 ลักษณะทองหยอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$)

ตัวอย่าง	การเกิดเชื้อ
1	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
2	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
3	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
4	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
5	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
6	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
7	วันที่ 1 - 3: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 4 : มีเชื้อราเจริญ
8	วันที่ 1 - 4: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 5 : มีเชื้อราเจริญ
9	วันที่ 1 - 5: ไม่พบการเจริญของเชื้อราและกลืนแปลกลปดอม วันที่ 6 : มีเชื้อราเจริญ

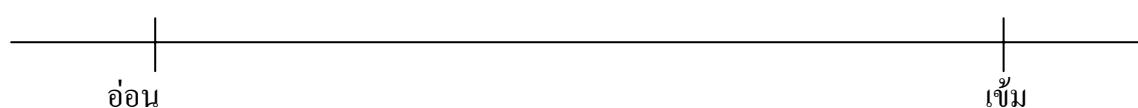
ภาคผนวก ง
แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบสอบถามสำหรับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

คำแนะนำ: จงให้คะแนนความเข้มในแต่ละคุณลักษณะของมะเขือเทศที่ท่านกำลังทดสอบต่อไปนี้
โดยทำเครื่องหมาย / บนเส้น (1 = ความเข้มของคุณลักษณะน้อยที่สุด, 15 = ความเข้มของ
คุณลักษณะมากที่สุด)

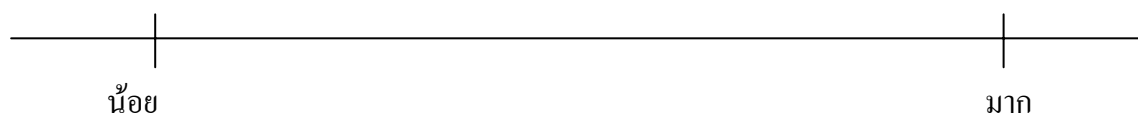
สีแดงโดยรวมของผิว



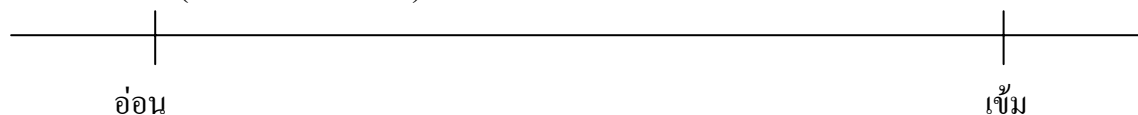
ความเขียว



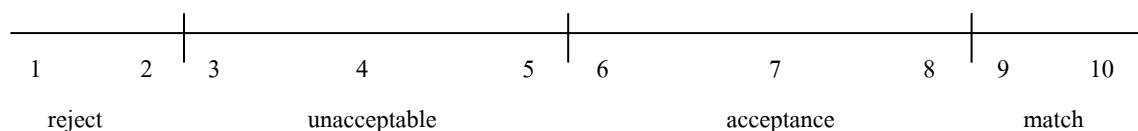
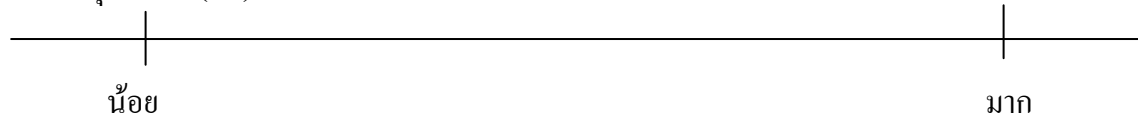
กลิ่นหุ้ง



ความแน่นเนื้อ (เมื่อบีบผลมะเขือเทศ)



ความกรอบกรอบ (ชิม)

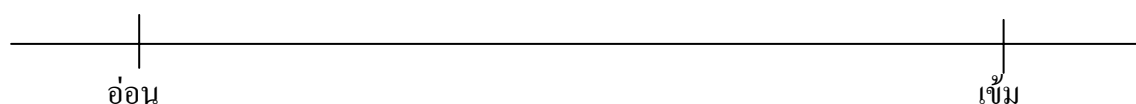


แบบสอบถามสำหรับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน

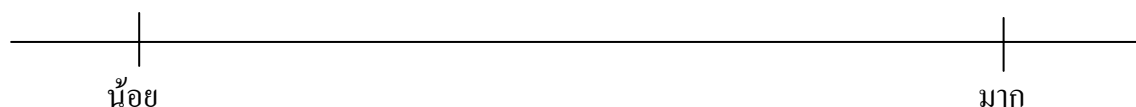
ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

คำแนะนำ: จงให้คะแนนความเข้มข้นในแต่ละคุณลักษณะของขนมปังที่ท่านกำลังทดสอบต่อไปนี้ โดย
ทำเครื่องหมาย / บนเส้น (1 = ความเข้มของคุณลักษณะน้อยที่สุด, 15 = ความเข้มของคุณลักษณะ
มากที่สุด)

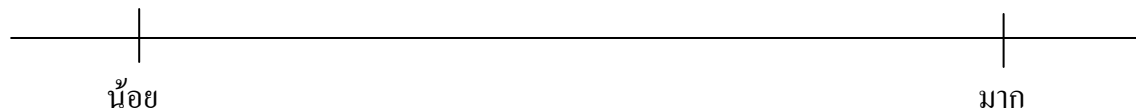
ความชุ่มชื้นของผิวขนมปัง



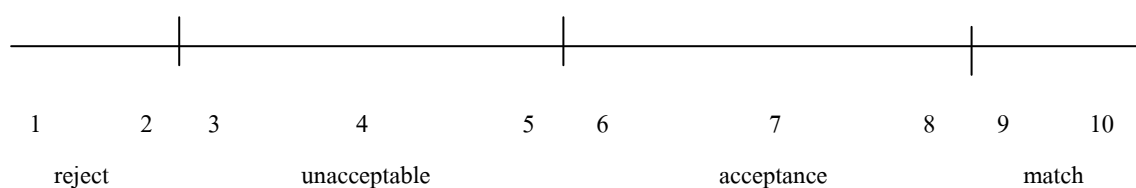
กลิ่นหอมขนมปัง



กลิ่นหมัก



ความนุ่ม (ซิม)



แบบสอบถามสำหรับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน

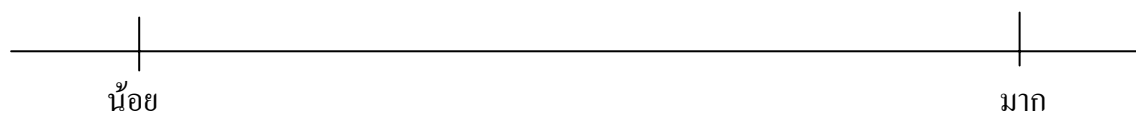
ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

คำแนะนำ: จงให้คะแนนความเชื่อมั่นแต่ละคุณลักษณะของทองหยอดที่ท่านกำลังทดสอบต่อไปนี้
โดยทำเครื่องหมาย / บนเส้น (1 = ความเข้มของคุณลักษณะน้อยที่สุด, 15 = ความเข้มของ
คุณลักษณะมากที่สุด)

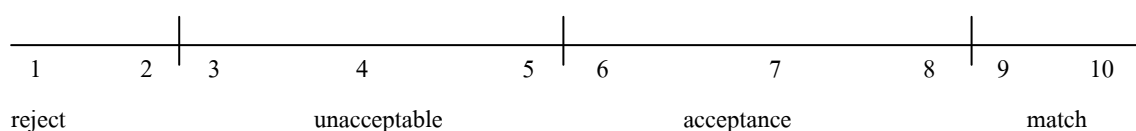
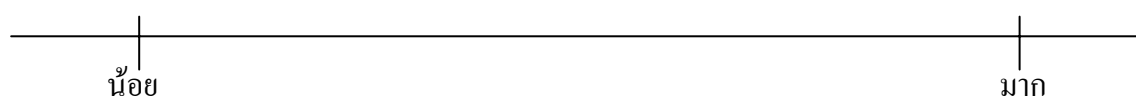
สีเหลือง



กลิ่นหมัก



ความแข็ง(ซึม)



ตารางผนวกที่ 1 ตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ

คุณลักษณะ	ตัวอย่างอ้างอิง	ค่าระดับคะแนน
สีแดงโดยรวมของผิว	ภาพมะเขือเทศดิบสีเขียว (ภาพผนวกที่ จ2)	0.0
	ภาพมะเขือเทศสดใหม่	3.8
	ภาพมะเขือเทศสุกจัด (ภาพผนวกที่ จ2)	12.5
ความเขียว	มะเขือเทศสดใหม่	0.0
	ภาพมะเขือเทศเขียวเก็บไว้นาน 2 เดือน (ภาพผนวกที่ จ2)	13.4
	มะเขือเทศสดใหม่	0.0
กลิ่นหมัก	ข้าวหมาก	10.0
	มะเขือเทศดิบ	13.7
ความแน่นเนื้อ	มะเขือเทศดิบ	13.7
(นิ้วชี้กับนิ้วโป้งบีบมะเขือเทศทั้งผล)	มะเขือเทศสดใหม่	11.0
	มะเขือเทศสุก	4.6
ความกรอบกรอบ	ไส้กรอก Frangferter ขนาด 1 ซม ³	7.0
(ฟืนกรามกัดมะเขือเทศ 1 ชิ้น)	มะเขือเทศสดใหม่	9.5
	แครอท ขนาด 1 ซม ³ ลวกน้ำร้อน 65°C เป็นเวลา 3 นาที	12.5

ตารางผนวกที่ ง2 ตัวอย่างอ้างอิงของขนมปังที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ

คุณลักษณะ	ตัวอย่างอ้างอิง	ค่าระดับคะแนน
ความชุ่มชื้น	ขนมปังโฮลวีตอบ 150°C เป็นเวลา 10 นาที	0.8
ผิวหน้าขนมปัง	ขนมปังแซนวิชสดใหม่	3.2
	เบัตเตอร์เค้ก	6.8
กลิ่นหอมขนมปัง	ขนมปังแซนวิชสดใหม่	9.9
กลิ่นหมัก	ขนมปังแซนวิชสดใหม่	0.0
	ข้าวหมาก	10.0
ความนุ่ม	ขนมปังโฮลวีตอบ 150°C เป็นเวลา 10 นาที	3.0
	ขนมปังแซนวิชสดใหม่	8.0
	เบัตเตอร์เค้ก	13.0

ตารางผนวกที่ 3 ตัวอย่างอ้างอิงของขนมทองหยอดที่ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบ

คุณลักษณะ	ตัวอย่างอ้างอิง	ค่าระดับคะแนน
สีเหลือง	แผ่นสี munsell 5YR 8/8	2.7
	ขนมทองหยอดสดใหม่	7.6
	แผ่นสี munsell 5YR 7/12	9.9
กลิ่นหมัก	ขนมทองหยอดสดใหม่	0.0
	ข้าวหมาก	10.0
ความแข็ง	ไข่ขาวตี 15 นาที ขนาด 1 ซม ³	2.8
	ขนมทองหยอดสดใหม่	2.8
	ถั่วกวน	4.7

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

ตัวอย่าง มะเขือเทศ

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างพร้อมให้คะแนนความชอบโดยให้คะแนนตามคำอธิบาย

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

5 = เฉยๆ

8 = ชอบมาก

3 = ไม่ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส
กลิ่น						
กลิ่นรส						
ความแข็ง						
ความชอบรวม						

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

ตัวอย่าง ขนมปัง

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างพร้อมให้คะแนนความชอบโดยให้คะแนนตามคำอธิบาย

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

5 = เฉยๆ

8 = ชอบมาก

3 = ไม่ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส
กลิ่น						
กลิ่นรส						
ความนุ่ม						
ความชอบรวม						

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

ตัวอย่าง ขนมทองหยอด

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่าง พร้อมให้คะแนนความชอบ โดยให้คะแนนตามคำอธิบาย

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

5 = เฉยๆ

8 = ชอบมาก

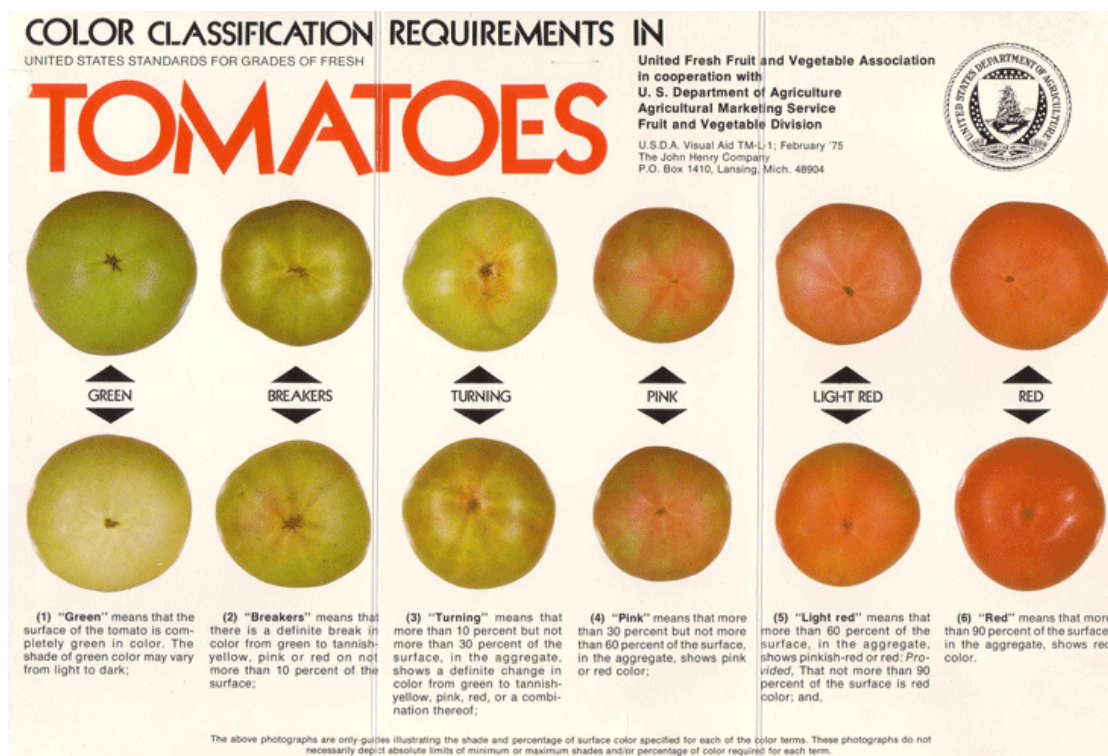
3 = ไม่ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

9 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส	รหัส
กลิ่น					
กลิ่นรส					
ความแข็ง					
ความชอบรวม					

ภาคผนวก จ
ภาพประกอบ



ภาพผนวกที่ ๑1 ระดับความสุกของมะเขือเทศตามมาตรฐาน USDA

หมายเหตุ ระดับ green หมายถึง ผลมะเขือเทศมีสีเขียวทั้งผล

ระดับ breakers หมายถึง ผลมะเขือเทศมีขั้วสีเขียว และมีสีเหลือง ชมพู และแดงปนไม่เกินร้อยละ 10

ระดับ turning หมายถึง ผลมะเขือเทศมีขั้วสีเขียว และมีสีเหลือง ชมพู และแดงปนมากกว่าร้อยละ 10 แต่ไม่เกินร้อยละ 30

ระดับ pink หมายถึง ผลมะเขือเทศมีขั้วสีเขียว และมีสีเหลือง ชมพู และแดงปนมากกว่าร้อยละ 30 แต่ไม่เกินร้อยละ 60

ระดับ light red หมายถึง ผลมะเขือเทศมีขั้วสีเขียว และมีสีเหลือง ชมพู และแดงปนมากกว่าร้อยละ 60 แต่ไม่เกินร้อยละ 90

ระดับ red หมายถึง ผลมะเขือเทศมีขั้วสีเขียว และมีสีเหลือง ชมพู และแดงปนมากกว่าร้อยละ 90



(ก)

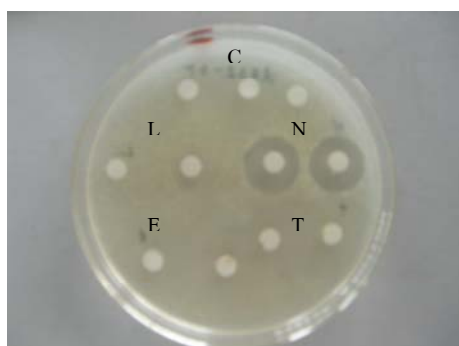


(ข)

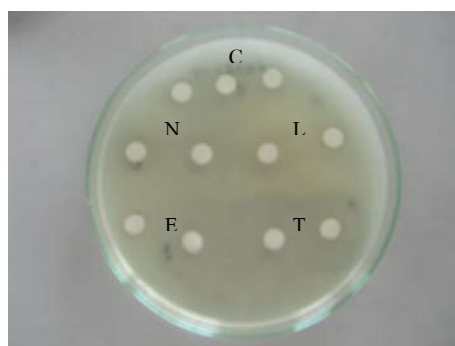


(ค)

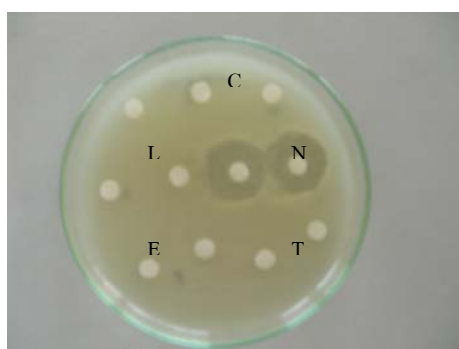
ภาพผนวกที่ จ2 ตัวอย่างอ้างอิงสำหรับทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณ ของมะเขือเทศ (ก) มะเขือเทศดิบ (ข) มะเขือเทศสุก และ (ค) มะเขือเทศเหี่ยว



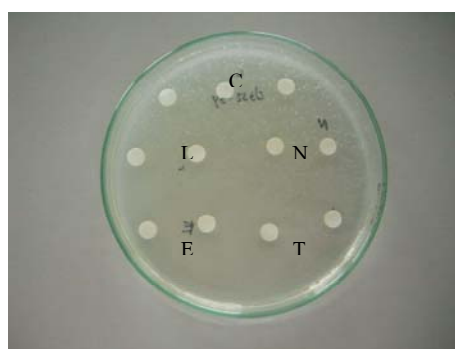
(ก1)



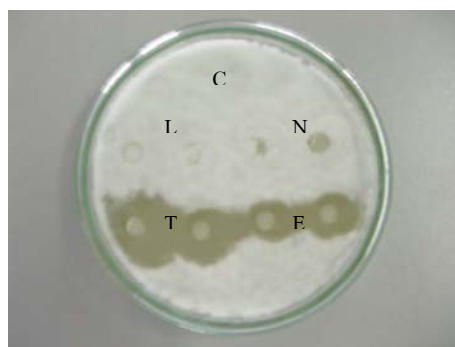
(ก2)



(ข)

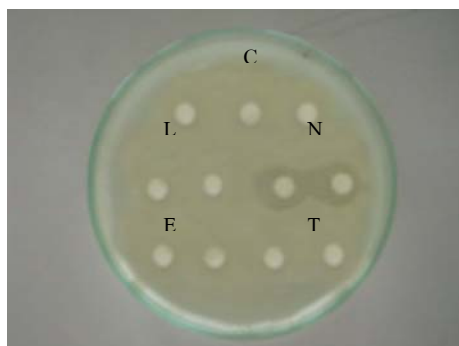


(ค)

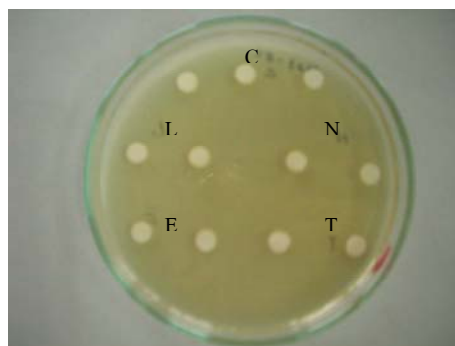


(ง)

ภาพผนวกที่ จ3 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 1,000 ppm ต่อ (ก1) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s2-4t) (ก2) (d10d2-1t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d0s2-6l) (ค) ยีสต์ (d3s2-3y) และ (ง) รา (d3s2-2m) ที่แยกได้จากมะเขือเทศ



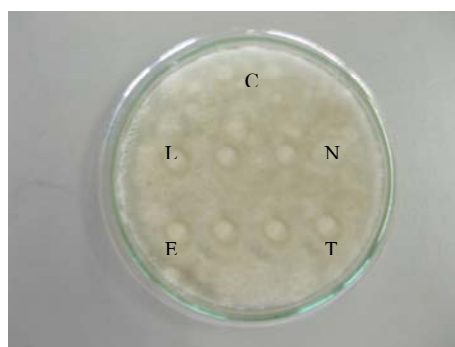
(ก)



(ข)

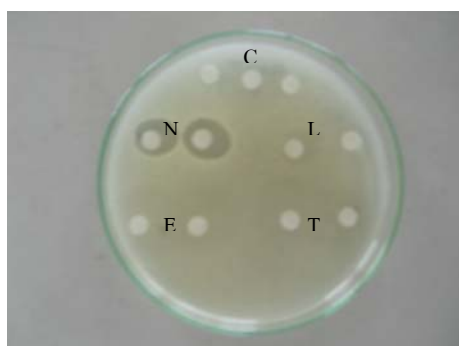


(ค)

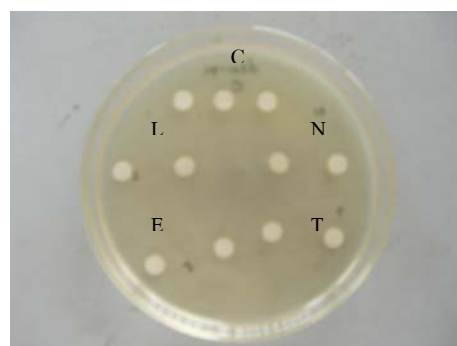


(ง)

ภาพผนวกที่ จ4 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 1,000 ppm ต่อ (ก) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s3-7t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d3s3-3l) (ค) ยีสต์ (d3s3-4y) และ (ง) รา (d10s3-2m) ที่แยกได้จากขนมปัง



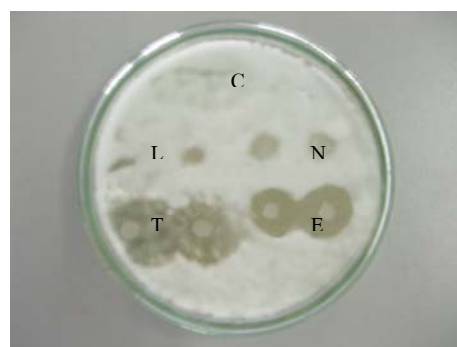
(ก)



(ข)



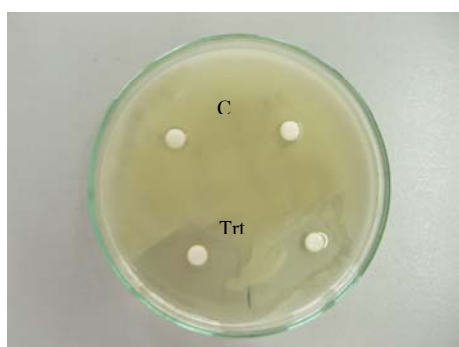
(ค)



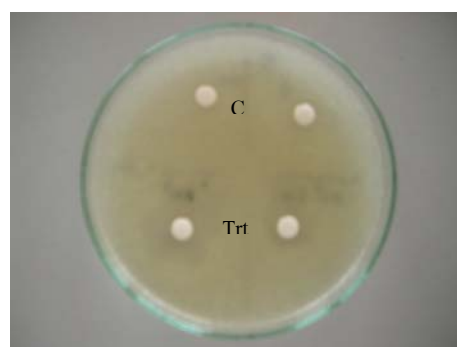
(ง)

ภาพผนวกที่ จ5 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร PD119 ไทมอล 1,000 ppm และยูจีนอล 1,000 ppm ต่อ (ก) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s1-2t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d3s1-7l) (ค) ยีสต์ (d3s1-1y) และ (ง) รา (d7s1-1m) ที่แยกได้จากขนมทองหยอด

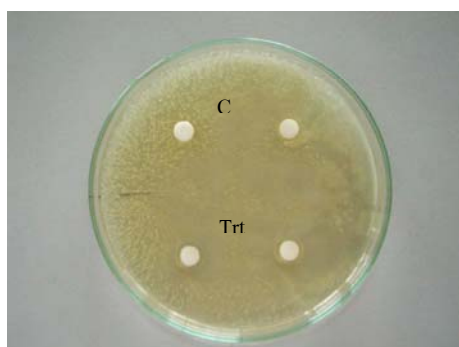
หมายเหตุ C = ตัวทำละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์ ประกอบด้วยอะซิติก 0.02 N, เอธิลแอลกอฮอล์ 95% และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS (เรียงจากซ้ายไปขวา) เป็นตัวอย่างควบคุม, N = ในจีน 10,000 IU/มิลลิลิตร, L = สารสกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติก PD119, E = ยูจีนอล 1,000 ppm และ T = ไทมอล 1,000 ppm



(ก1)



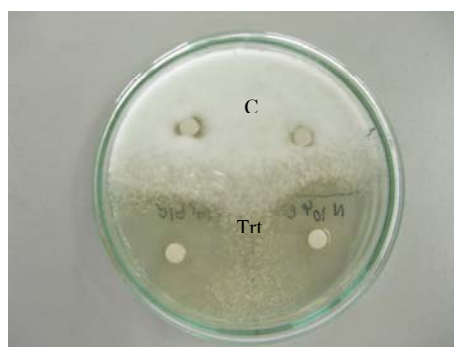
(ก2)



(ข)

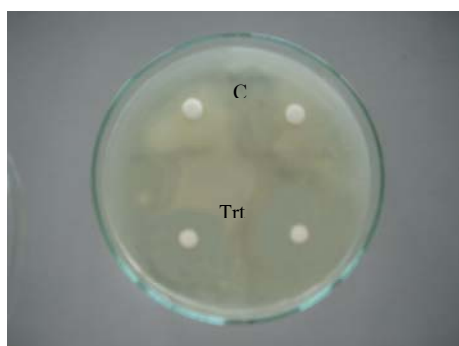


(ค)



(ง)

ภาพผนวกที่ ๖ กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/ มิลลิลิตร และยูจีนอล 1,000 ppm ต่อ (ก1) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s2-4t) (ก2) (d10d2-1t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d0s2-6l) (ค) ยีสต์ (d3s2-3y) และ (ง) รา (d3s2-3m) ที่แยกได้จากมะเขือเทศ



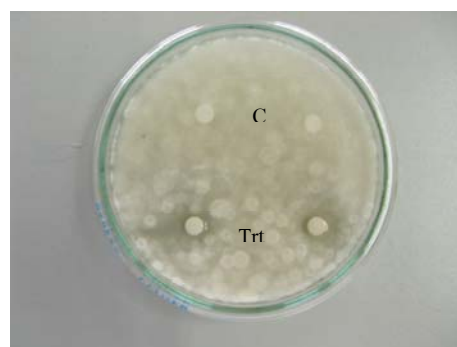
(ก)



(ข)

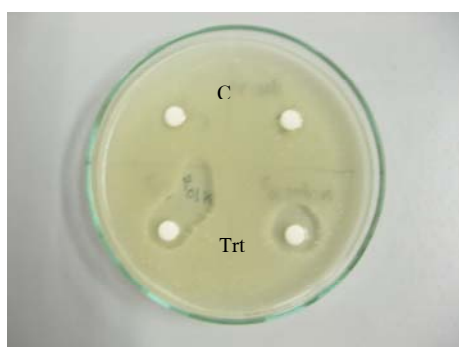


(ค)

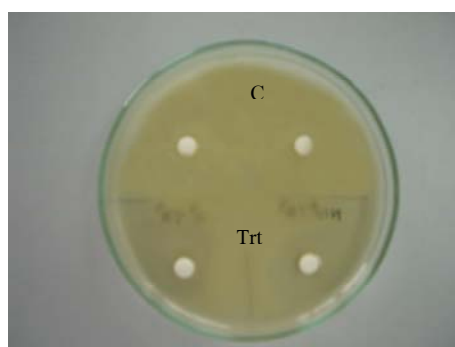


(ง)

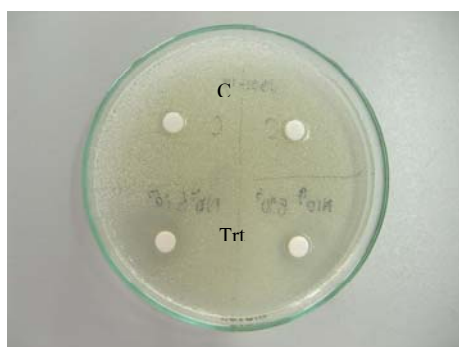
ภาพผนวกที่ ๖7 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจีนอล 1,000 ppm ต่อ (ก) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s3-7t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d3s3-3l) (ค) ยีสต์ (d3s3-4y) และ (ง) รา (d10s3-2m) ที่แยกได้จากขนมปัง



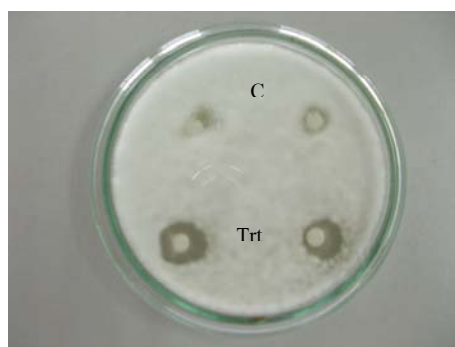
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพผนวกที่ ๖8 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร และไทมอล 1,000 ppm ต่อ (ก) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (d7s1-2t) (ข) กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (d3s1-7l) และสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมระหว่างไนซิน 10,000 IU/มิลลิลิตร และยูจีนอล 500 ppm ต่อ (ค) ยีสต์ (d3s1-1y) และ (ง) รา (d7s1-1m) ที่แยกได้จากขนมทองหยอด

หมายเหตุ C = ตัวทำละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์ประกอบด้วยอะซิติก 0.02 N และเอธิลแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวอย่างควบคุม, Trt = สารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมไนซินกับยูจีนอลหรือไทมอล