ความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่อยู่ในรูปของ Oil - in - Water อิมัลชันแบบดับเบิ้ล เลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว

โดย

นางสาวณัฏฐวรรณ ช่อดอกไม้

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่อยู่ในรูปของ Oil - in - Water อิมัลชันแบบดับเบิ้ล เลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว

โดย

นางสาวณัฏฐวรรณ ช่อดอกไม้

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

STABILITY OF LIME OIL FLAVOR IN DOUBLE - LAYER, OIL - IN - WATER EMULSIONS WITH SODIUM DODECYL SULFATE - CHITOSAN AS STABILIZERS

By

Nattawan Chordokmai

An Independent Study Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Food Technology

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2009

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้การค้นคว้าอิสระเรื่อง “ ความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่อยู่ในรูปของ Oil - in - Water อิมัลชันแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว ” เสนอโดย นางสาวณัฏฐวรรณ ช่อดอกไม้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

……..
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าอิสระ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไว

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศรี ลีจีรจำเนียร)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกพันธ์ แก้วมณีชัย)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โสภาค สอนไว)
...../...../.....

50403303 : สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
คำสำคัญ : น้ำมันมะนาว/ อิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำ/ เทคนิค layer by layer/ โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ไคโตซาน/ ปฏิกริยาออกซิเดชั่น

ณัฏฐวรรณ ช่อดอกไม้ : ความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่อยู่ในรูปของ Oil - in - Water อิมัลชันแบบดับเบิ้ล เลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว. อาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าอิสระ : ผศ.ดร.โสภาค สอนไว. 105 หน้า.

การใช้น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวในอุตสาหกรรมอาหารมีแนวโน้มสูงขึ้นทั้งนี้เพราะกลิ่นรสที่มีลักษณะเฉพาะ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารประกอบกลิ่นรสที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวเกิดการเสื่อมเสียได้ง่ายจากปฏิกริยาออกซิเดชั่นในระหว่างการเก็บรักษาเกิดเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ ทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นรสได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวด้วยระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำชนิดดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้เทคนิค layer by layer และใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำชนิดซิงเกิ้ลเลเยอร์ที่ใช้กัมอาราบิคและโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัวจาการศึกษาพบว่าการใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัวร่วมกันในระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์นั้นสามารถเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชั่นได้โดยการเพิ่มอายุการเก็บรักษาของอิมัลชั่นจาก 4 เดือนเป็น 7 เดือน โดยพบว่าหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือน ปริมาณของสารประกอบให้กลิ่นรสที่สำคัญ ซึ่งได้แก่ ลิโมนีน เบตา-ไพนีน และแอลฟา-เทอพีนีออล มีการลดลงที่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับระบบอิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์ทั้ง 2 ระบบ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ ซึ่งได้แก่ ลิโมนีนออกไซด์ คาร์โวน เบอร์นีออล และเฟนชอลถูกพบในปริมาณที่น้อยกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการประเมินทางประสาทสัมผัสแบบ triangle ที่พบว่าผู้บริโภคไม่สามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นรสระหว่างน้ำมันมะนาวและอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ในระหว่างการเก็บที่ระยะเวลา 0-7 เดือนได้ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาผลของอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (มิลลิโมลาร์) และไคโตซาน (เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้เป็นสารให้ความคงตัวในระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ ที่ 12.5:1 6:2 12.5:2 และ 12.5:3 ต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวของอิมัลชั่น จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมอิมัลชั่นคือ 6:2

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าอิสระ.....

50403303 : MAJOR : FOOD TECHNOLOGY
KEY WORDS: LIME OIL/ EMULSION/ LAYER BY LAYER TECHNIQUE/ SODIUM DODECYL SULFATE/ CHITOSAN/ OXIDATION REACTION
NATTAWAN CHORDOKMAI : STABILITY OF LIME OIL FLAVOR IN DOUBLE - LAYER, OIL - IN - WATER EMULSIONS WITH SODIUM DODECYL SULFATE - CHITOSAN AS STABILIZERS. INDEPENDENT STUDY ADVISOR : ASST.PROF.SOPARK SONWAI,Ph.D. 105 pp.

Lime oil has numerous uses in the food industry due to its unique flavor. However, the flavor components in lime oil can undergo chemical degradation caused by oxidation reaction, leading to loss of flavor and the formation of undesirable off-flavor compounds. This research compared the effectiveness in keeping the flavor components of lime oil in three different emulsion systems: 1) the double layer oil-in-water (o/w) emulsion which was produced by using layer by layer technique and using sodium dodecyl sulfate (SDS)-Chitosan as stabilizers, 2) single layer o/w emulsion stabilized with gum arabic (GA) and 3) single layer o/w emulsion stabilized with SDS. It was discovered that the double layer emulsion with SDS-Chitosan as stabilizers was the most stable emulsion system. The double-layer emulsion extended the shelf life of lime oil from 4 to 7 months. After 8 months of storage, the amount of the main flavor compounds in lime oil such as limonene, beta-pinene and alpha-terpineol slightly decreased ($p<0.05$) in double-layer emulsion, while the amount of citral decreased dramatically. The amount of undesirable off-flavor compounds such as limonene-oxide, carvone, borneol and fenchol were found less in the double-layer emulsion compared to the two single-layer emulsion systems. The triangle test found that the consumer could not detect the difference between fresh lime oil and lime oil contained in the emulsion system which was stabilized with SDS-Chitosan during storage from 0 to 7 months. In addition, the effect of the ratio of SDS (mM) and Chitosan (%) as stabilizers for double layer emulsion (12.5:1, 6:2, 12.5:2 and 12.5:3) on keeping the flavor profile of lime oil was investigated. It was discovered the suitable ratio of SDS-Chitosan for preparing the double layer emulsion was 6:2.

Department of Food Technology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2009
Student's signature .....
Independent Study Advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้เนื่องด้วย ผศ.ดร.โสภาค สอนไว และ ผศ.ดร.อรุณศรี ลีจีรจำเนียร กราบขอบพระคุณอย่างยิ่งสำหรับความกรุณาในการให้คำแนะนำและคำปรึกษาที่ดี ตรวจสอบเล่มการค้นคว้าอิสระนี้จนเสร็จสมบูรณ์ รวมทั้งความดูแลในหลายๆด้าน จนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เอกพันธ์ แก้วมณีชัย สำหรับการร่วมเป็นกรรมการสอบและคำแนะนำและมุมมองที่ต่างออกไปและความกรุณาในการตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณท่านคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีอาหารทุกท่าน สำหรับความรู้และความเอาใจใส่ตลอดเวลาที่ผู้ทำการวิจัยได้ศึกษาอยู่ในภาควิชานี้ รวมทั้งนักวิทยาศาสตร์และพี่ๆ เจ้าหน้าที่ในภาควิชาทุกท่านสำหรับความช่วยเหลือและการอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.-สสว.) สำหรับเงินทุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณน้องๆ นักศึกษาปริญญาโท น้องพิมพ์นิภา กาเผือกงาม น้องสรยา อุ่นจิตติ น้องคคนางน์ วิจารณ์ปรีชา น้องเมย์ สุรจิตตาภรณ์ น้องภาริกา รุ่งพิชยพิเชฐ และอีกหลายๆท่านที่ไม่สามารถกล่าวได้หมด ณ ที่นี้ สำหรับความช่วยเหลือในทุกๆด้าน และขอบคุณมากสำหรับน้องชญาภัส สันทอง ที่มาอยู่เป็นเพื่อนเวลามาทำแลปดึกๆ

ขอขอบคุณสำหรับ เจ้านาย พี่น้อง และเพื่อนๆ ในบริษัทจีวอฎัน (ประเทศไทย) จำกัด สำหรับความเข้าใจและคำพูดที่ให้กำลังใจสำหรับการเรียนปริญญาโทใบนี้และขอขอบคุณอย่างยิ่งสำหรับพี่ขวัญกมล เมฆอัคฆกรณ์ สำหรับการช่วยเหลือในการพิมพ์เล่มการค้นคว้าอิสระเล่มนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณที่สุดสำหรับ คุณแม่บุษรา ช่อดอกไม้ สำหรับแรงผลักดันในการทำให้ผู้วิจัยตัดสินใจในการเรียนปริญญาโท ขอบคุณสำหรับทุนทรัพย์ และที่สำคัญที่สุดขอบพระคุณสำหรับกำลังใจและความรัก ด้วยความจริงใจที่ไม่เคยต้องการสิ่งตอบแทนซึ่งเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดที่เป็นแรงผลักดันให้ผู้วิจัยมีความตั้งใจที่จะดำเนินชีวิตให้ได้ดีที่สุด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…… ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…… จ

กิตติกรรมประกาศ…… ฉ

สารบัญตาราง…….…….... ญ

สารบัญภาพ…… ฑ

บทที่

1 บทนำ……... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา…….. 1

วัตถุประสงค์ของการศึกษา…… 2

สมมุติฐานของการศึกษา…….…… 3

ขอบเขตของการศึกษา…….…… 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……... 5

มะนาว……. 5

องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยในน้ำมะนาว…… 6

สารให้กลิ่นในอาหารที่เกิดตามธรรมชาติจากพืช…… 10

การเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นรส…… 12

การเกิดการลดลง (degradation) ของสารประกอบระเหยในน้ำมันมะนาว…….. 14

การเกิดการลดลงของสารประกอบลิโมนีนจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น……... 15

การเกิดการลดลงของสารประกอบซิตรัลจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น…….. 15

อิมัลชั่นในอาหาร…… 17

ส่วนประกอบหลักของอิมัลชั่น…… 18

กลไกการเกิดอิมัลชั่น……... 19

แรงกระทำระหว่างอนุภาคของเหลวในอิมัลชั่น…….. 20

ความคงตัวของระบบอิมัลชั่น…….. 21

ความไม่คงตัวของระบบอิมัลชั่น……. 22

สารเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชั่นหรือสารอิมัลซิฟายเออร์……... 25

บทที่ หน้า

คุณสมบัติของสารอิมัลซิฟายเออร์บางชนิด……..…….. 26

เทคนิค layer-by-layer electrostatic deposition...…… 29

การประยุกต์ใช้เทคนิค LbL electrostatic deposition ในการปรับปรุงหรือเพิ่ม
คุณสมบัติความคงตัวของระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำในผลิตภัณฑ์อาหาร…… 30

3 วิธีดำเนินงานวิจัย…… 32

วัตถุดิบและสารเคมี……. 32

อุปกรณ์และเครื่องมือ……..…… 32

วิธีการทดลอง……..…… 33

การตรวจเอกสาร การรวบรวมข้อมูล และการจัดหาวัตถุดิบ…… 33

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมัน
มะนาวทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัสของอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ
คือ single layer-GA, single layer-SDS, double layer-SDS-Chitosan…… 33

การศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต
(หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) และไคโตซาน(หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ในการเตรียม
ระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ของน้ำมันมะนาวต่อ
ประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว……..… 36

4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล…..…… 38

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมัน
มะนาวทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัสของอิมัลชั่นทั้ง 3
ระบบ คือ single layer-GA, single layer-SDS, double layer-SDS-Chitosan…... 38

การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพในส่วนของจุลภาคและการกระจายตัวของ
ขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นรวมทั้งการแยกชั้นครีม……..... 38

การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญของน้ำมันมะนาว
โดยใช้เครื่อง GC-O และ GC-MS……. 44

การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาว
ในอิมัลชั่นที่ผลิตทั้ง 3 ระบบ…… 46

บทที่ หน้า

การศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบสามเหลี่ยม……. 56
การศึกษาอัตราส่วนของความเข้มข้นระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) และไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ในการเตรียมระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ของน้ำมันมะนาวต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว……. 58
ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาค การกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่น…….. 58
การศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยการพิจารณาจากการแยกชั้นครีม……. 66
การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3……... 68
การศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบสามเหลี่ยม…….. 75
5 สรุปผลการทดลอง……..…… 78

บรรณานุกรม…….. 80

ภาคผนวก……... 85
ภาคผนวก ก……. 86
ภาคผนวก ข……. 90
ภาคผนวก ค……. 95

ประวัติผู้วิจัย……... 111

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของ volatile oil ของมะนาวสดและมะนาวอบแห้ง……..	7
2	เปอร์เซ็นต์ของ volatile compound ของ lime oil โดยวิธี supercritical extraction: 60°C, 90 bar, 1ml/min CO_2, 30 minutes……...	8
3	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดครีมมิ่งในอิมัลชั่นแบบ single layer-GA, single layer-SDS, และ double layer-SDS-Chitosan ที่ระยะเวลาการเก็บนาน 0-8 เดือน……..…..	41
4	สารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสที่สำคัญของน้ำมันมะนาวสดที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS โดยวิธี direct injection และความเข้มข้นในแต่ละสารประกอบจากการใช้เครื่อง GC-O…….	45
5	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test โดยการใช้น้ำมันมะนาวสดเปรียบเทียบกับอิมัลชั่นน้ำมันมะนาวแบบ single layer-GA, single layer – SDS และ double layer-SDS-Chitosan……...	57
6	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test โดยการใช้น้ำมันมะนาวสดเปรียบเทียบกับอิมัลชั่นน้ำมันมะนาวแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซานคือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ……	77
7	ตัวอย่างตารางสุ่มลำดับการนำเสนอในการทดสอบ triangle test……..	92
8	ตารางสถิติสำหรับการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test……..	94
9	การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3……	96
10	การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3…….	97

ตารางที่ หน้า

11 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ α -terpineolในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3…… 98

12 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3…….. 99

13 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ12.5:3…….. 100

14 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ limonene oxide ในระบบอิมัล-แบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียม-โดดิซิล ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ12.5:3……..… 101

15 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ carvone ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ12.5:3…….. 102

16 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ borneol ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ12.5:3……. 103

17 การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ fenchol ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิล-ซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ12.5:3…….. 104

ตารางที่ หน้า

18 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน….…… 105

19 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน….…… 105

20 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ α -terpineolในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน….…… 106

21 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน….…… 106

22 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน….…… 107

23 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน..... 108

24 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน..... 108

25 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ α –terpineol ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน..... 109

ตารางที่ หน้า

26 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน..... 109

27 ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน..... 110

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ชื่อและโครงสร้างของสารประกอบเทอร์พีนและเทอร์พีนอยในผลไม้ตระกูลซิตรัส……..	10
2	แผนภาพการลดลงของสารประกอบลิโมนีนในสารละลายกรด……	16
3	โครงสร้างของ citral a และ b…….	17
4	กลไกการเกิด degradation ของสารประกอบซิตรัล (citral) ในสารละลายกรด…..…	18
5	แผนภาพกระบวนการผลิตอิมัลชั่น…….……..	21
6	ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชั่น…….……	25
7	โครงสร้างของกัมอาราบิค……..	27
8	โครงสร้างของโมเลกุลของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต……..…..	27
9	โครงสร้างโมเลกุลไคโตซาน……..…	28
10	แสดงกระบวนการผลิตอิมัลชั่นโดยเทคนิค layer-by-layer electrostatic deposition……...	29
11	ลักษณะทางจุลภาคอิมัลชั่น สังเกตุด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยายx100 ของอิมัลชั่น (a) single layer – GA, (b) single layer-SDS และ (3) double layer-SDS-Chitosan……...	39
12	กราฟแสดงลักษณะการกระจายตัวของขนาด oil droplet ในระบบอิมัลชั่น (1) single layer-GA, (2) single layer-SDS และ (3) double layer-SDS-Chitosan……...	39
13	กราฟแสดงค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาคดร็อปเล็ทในระบบอิมัลชั่น (1) single layer-GA, (2) single layer-SDS และ (3) double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 0, 4, 6 และ 8 เดือน……..	40
14	ลักษณะปรากฏและการเกิดการแยกชั้นครีมของระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ คือ Single layer-GA, single layer-SDS และ double layer-SDS-Chitosan ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0-8 เดือน…….	41
15	แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของความหนาของชั้นฟิล์มที่ปกคลุมอนุภาคน้ำมันของสารให้ความคงตัวต่างๆ กันคือ (a) สารลดแรงตึงผิว (0.5-1 nm) (b) โปรตีน (1-5 nm) และ (c) ไฮโดรคอลลอยด์ (5-10 nm)…….....	43

ภาพที่ หน้า

16 ปริมาณ (%) ของ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บ 0-8 เดือน….. 46

17 ปริมาณ (%) ของ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บ 0-8 เดือน…….. 47

18 ปริมาณ (%) ของ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บ 0-8 เดือน….. 47

19 ปริมาณ limonene oxide (ug/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่ การเก็บรักษา 0-8 เดือน…… 49

20 ปริมาณ carvone (ug/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่ การเก็บรักษา 0-8 เดือน……..……... 50

21 ปริมาณ borneol (ug/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่ การเก็บรักษา 0-8 เดือน…….……... 51

22 ปริมาณ (%) ของ neral ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บ 0-8 เดือน…… 52

23 ปริมาณ (%) ของ geranial ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บ 0-8 เดือน…….. 53

24 ปริมาณของ fenchol (ug/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่การเก็บรักษา 0-8 เดือน……...……... 54

25 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนของโซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:1, (b) 6:1 และ (c) 12.5:1…… 59

26 ลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนของ โซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:1, (b) 6:1 และ (c) 12.5:1……..… 59

27 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนของโซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:2, (b) 6:2 และ (c) 12.5:2…… 60

28 ลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนของ โซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:2, (b) 6:2 และ (c) 12.5:2……..… 60

29 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนของโซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:3, (b) 6:3 และ (c) 12.5:3…… 61

30 ลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนของ โซเดียม-โดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ต่างกันคือ (a) 1:3, (b) 6:3 และ (c) 12.5:3…….. 61

ภาพที่ หน้า

31 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:1 ในวันที่ 0 และวันที่ 7……. 62

32 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 6:2 ในวันที่ 0 และวันที่ 7……. 63

33 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:2 ในวันที่ 0 และวันที่ 7……. 63

34 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:3 ในวันที่ 0 และวันที่ 7……. 64

35 ลักษณะปรากฏและการแยกชั้นครีมของระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ทั้ง 4 อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา a) 0 เดือน b) 8 เดือน……... 66

36 กราฟแสดงค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาคดร็อปเล็ทในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (มิลลิโมลาร์) : ไคโตซาน (เปอร์เซ็นต์) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ที่การเก็บรักษาที่ 0, 4, 6 และ 8 เดือน ตามลำดับ…….. 67

37 ปริมาณ (%) ของ d-lmonene ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 68

38 ปริมาณ (%) ของ β-pinene ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 69

39 ปริมาณ (%) ของ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 69

ภาพที่ หน้า

40 ปริมาณ (%) ของ neral ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 70

41 ปริมาณ (%) ของ geranial ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 70

42 ปริมาณของ limonene oxide (ug/ml) ในระบบอิมัลชั่นDouble layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน……..……...…….. 71

43 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ carvone (ug/ml) ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 72

45 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ borneol (ug/ml) ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 72

46 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ fenchol (ug/ml) ในระบบอิมัลชั่น Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0-8 เดือน…….. 74

47 ปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตอิสระที่เหลือหลังการทำ primary emulsion (5%wt corn oil, 100 mM acetic buffer, pH 3.0) วัดโดยการใช้ surfactant selective electrode (SSE)…….. 75

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โดยทั่วไปสารให้กลิ่นรสในผลไม้ตระกูลซิตรัส มักอยู่ในรูปที่ละลายในน้ำมัน (oil soluble) เช่น สารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยของมะนาวซึ่งมักจะอยู่ในรูปของน้ำมันมะนาว (lime oil) ซึ่งมีสารให้กลิ่นรสที่สำคัญคือลิโมนีนและซิตรัล โดยในการนำน้ำมันหอมระเหยมาประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ประเภทที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักนั้นจะต้องมีการนำน้ำมันหอมระเหย ดังกล่าวมาทำให้อยู่ในรูปของอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำ (โดยทั่วไปในแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์) โดยใช้กัมอาราบิค เป็นสารให้ความคงตัว จึงจะทำให้สามารถนำสารให้กลิ่นรสในรูปของน้ำมันหอมระเหยนี้ไปใช้ในผลิตภัณฑ์ซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบได้ (Surh และคณะ, 2005) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าอายุของการเก็บสารให้กลิ่นรสที่อยู่ในรูปของอิมัลชั่นที่เป็นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาราบิคเป็นสารให้ความคงตัวนั้นจะมีอายุการเก็บที่สั้น เพียง 4 เดือนก็จะพบว่ามีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น(off-flavor) รวมถึงมีลักษณะทางกายภาพที่เสียไปคืออิมัลชั่นเกิดการแยกชั้น (ข้อมูลจาก flavorist ของบริษัทจีวอฎัน ประเทศสิงคโปร์) ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สั้นกว่าที่ทางอุตสาหกรรมต้องการให้เป็น ซึ่งคือประมาณ 6 - 8 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระบบการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสโดยใช้อิมัลชั่นที่เป็นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์ดังกล่าวยังไม่มีประสิทธิภาพมากพอที่จะป้องกันการเสื่อมเสียของสารให้กลิ่นรส โดยการเสื่อมเสียนี้อาจเกิดจากปฏิกิริยาของตัวสารให้กลิ่นรสเองหรือจากสภาวะการเร่งโดยปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น สภาวะกรด-ด่าง แสง และอุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งอายุการเก็บที่สั้นนี้เป็นผลให้ทางอุตสาหกรรมต้องเสียค่าใช้จ่ายในส่วนของต้นทุนในการผลิตเป็นจำนวนมาก การเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสโดยใช้ระบบอิมัลชั่นนี้นอกจากการทำแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์ แล้วยังสามารถทำได้โดยใช้ระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ ด้วยเช่นกัน ซึ่งมีการทดลองและพบว่าจะให้ประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสูงกว่าแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์(Djordjevicและคณะ, 2007) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสชนิดซิตรัล ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสชนิดหนึ่งในผลไม้ตระกูลซิตรัสด้วยระบบอิมัลชันแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน (SDS-Chitosan) เป็นสารให้ความคงตัวนั้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ

ประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสดังกล่าวด้วยระบบอิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาราบิคเป็นสารให้ความคงตัว (Djordjevic และคณะ, 2008) จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่ต้องการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาว ด้วยระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว โดยจะทำการศึกษาเปรียบเทียบกับระบบอิมัลชันแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์ที่ใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และกัมอาราบิค เป็นสารให้ความคงตัว ตามลำดับ ซึ่งหากงานวิจัยนี้บรรลุผลตามที่คาด กล่าวคือสามารถเปรียบเทียบให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัวนั้นไม่ได้ด้อยไปกว่าของอิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์ที่ใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว จะทำให้ทางอุตสาหกรรม มีทางเลือกในการที่จะผลิตสารให้กลิ่นรสให้มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาหรือมีความคงตัวที่สูงที่สุด ส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บนานขึ้นและที่สำคัญจะเป็นการเพิ่มมูลค่าและลดค่าใช้จ่ายในด้านการจัดการสินค้าให้กับผลิตภัณฑ์อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ของระบบอิมัลชั่นทั้งสามระบบ คือซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาราบิค ซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว ตามลำดับ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และไคโตซาน ในการเตรียมระบบดับเบิ้ลเลเยอร์อิมัลชั่น ของน้ำมันมะนาวต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

1.3.1 การเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ด้วยระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน เป็นสารให้ความคงตัวจะช่วยเพิ่มอายุการเก็บสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวให้ได้นานขึ้นกว่าการใช้ระบบอิมัลชันแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้ กัมอาราบิคและโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต เป็นสารให้ความคงตัว

1.3.2 อัตราส่วนระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานในการเตรียมระบบอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ ของน้ำมันมะนาวมีผลต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาวของอิมัลชั่นทั้งสามระบบ คืออิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาราบิคเป็นสารให้ความคงตัว อิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัว และอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัว โดยจะมุ่งเน้นที่การติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลิ่นรสที่เป็นสารที่สำคัญของน้ำมันมะนาวที่จะลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา เนื่องจากจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบที่เป็นสาเหตุของสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ เช่น ลิโมนีนออกไซด์ (limonene oxide) หรือคาร์โวน (carvone) และอื่นๆ ที่เกิดจากกระบวนการ ออกซิเดชั่น ของลิโมนีนและซิตรัล ซึ่งเป็นสารที่สำคัญในน้ำมันมะนาว ตามลำดับ โดยใช้ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และจะทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในเรื่องของกลิ่น โดยจะผสมน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการทำอิมัลชั่นทั้งสามระบบในเครื่องดื่มน้ำมะนาว 6% และเสิร์ฟขณะเย็น ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คนและใช้เกณฑ์การทดสอบแบบสามเหลี่ยม (Triangle test) โดยทำการเก็บที่ระยะเวลาการเก็บ 6-8 เดือนและเก็บอิมัลชั่นที่อุณหภูมิการเก็บ 22 องศาเซลเซียล ซึ่งเป็นอุณหภูมิการเก็บที่ใช้ในทางอุตสาหกรรม

1.4.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และไคโตซาน ในการเตรียมระบบ อิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ของน้ำมันมะนาว ต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาวโดยจะเริ่มจากการเตรียมอิมัลชันในระบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และไคโตซานด้วยอัตราส่วน ระหว่างปริมาณของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่แตกต่างกัน 9 อัตราส่วน และศึกษาลักษณะทางกายภาพเพื่อเลือกอัตราส่วนที่น่าจะมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษากลิ่นของน้ำมันมะนาว จากนั้นนำมาศึกษาโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลิ่นรสที่เป็นสารที่สำคัญของน้ำมันมะนาวที่จะลดลงตามระยะเวลา

ในการเก็บรักษา เนื่องจากจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบที่เป็นสาเหตุของสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ โดยใช้วิธีเดียวกันกับข้อ 1.4.1 ทั้งนี้เพื่อ หาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน ที่จะทำให้ได้ระบบอิมัลชันที่มี ประสิทธิภาพสูงสุดในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสได้นานถึง 6-8 เดือนตามต้องการ

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะนาว

มะนาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Citrus aurantifolia* (Chirstm. & Paaanz.) Swing และเป็นไม้ในตระกูล Rutaceae ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อม มีชื่อสามัญว่า lime เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก จัดอยู่ในตระกูลส้ม(citrus fruit)เชื่อว่าเป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย มีถิ่นกำ เนิดในหมู่เกาะอินดีสตะวันออก หรือทางภาคเหนือของอินเดียได้กระจายพันธุ์เข้ามาสู่แผ่นดินใหญ่ของทวีปเอเชีย (สมศักดิ์, 2541) มีหลายพันธุ์ แต่ที่แพร่หลายและนิยมปลูกกันมากคือ มะนาวหนัง มะนาวชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นลูกกลม ผิวบางเรียบค่อนข้างจะเป็นมัน มีผลดกหรือที่เราเรียกว่า "มะนาวสวน" ในช่วงระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคมจะเป็นช่วงฤดูที่มีมะนาวมาก ทำ ให้เกิดภาวะล้นตลาดและมีราคาต่ำ จึงเหมาะที่จะนำ มาเป็นผลิตภัณฑ์ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2542)

มะนาวปลูกได้ง่ายในดินแทบทุกชนิดทั้งในที่ลุ่มและที่ดอน จึงมีผู้ปลูกกันมากทั้งในแง่การเพื่อการใช้ตกแต่งเป็นไม้ประดับบ้านและเพื่อประโยชน์ในทางการค้า ผลผลิตของมะนาวส่วนใหญ่จะใช้ภายในประเทศ มีเพียงส่วนน้อยที่ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ โดยตลาดต่างประเทศที่สำคัญส่วนใหญ่เป็นตลาดในทวีปเอเชีย ได้แก่ ฮ่องกง ลาวและสิงค์โปร์ ส่วนตลาดอื่นๆปริมาณการส่งออกค่อนข้างต่ำ ตลาดมะนาวที่สำคัญภายในประเทศนั้น คือ ตลาดกลางสหกรณ์อำเภอท่ายางและอำเภอบ้านลาด ซึ่งตลาดเหล่านี้จะกระจายผลผลิตมะนาวออกไปยังพื้นที่ต่างๆทั่วประเทศ และบางส่วนของผลผลิตมะนาวจะถูกป้อนสู่โรงงานอุตสาหกรรมเพื่อใช้ในการสกัดเพื่อทำเป็นน้ำมันหอมระเหยมะนาวเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆเช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น โดยเฉพาะทางด้านอุตสาหกรรมอาหารทั้งนี้เพราะกลิ่นและรสที่เป็นลักษณะเฉพาะของมะนาว

2.1.1 องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยในน้ำมะนาว

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะนาวมีองค์ประกอบที่ซับซ้อนมากและสารประกอบที่ถูกพบมักเป็นสารประกอบที่เรียกว่าสารประกอบเทอร์พีน (terpenes) และเทอร์พีนอยด์(terpenoids) น้ำมันมะนาวจะนิยมใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มอย่างอ่อน (soft drink) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะนาวส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของเทอร์พีน น้ำมันหอมระเหยมะนาวที่ได้ส่วนใหญ่จะใช้เป็นองค์ประกอบในการเพิ่มกลิ่นรสของน้ำโคลา และเครื่องดื่มที่มีมะนาวเป็นส่วนประกอบ ทั้งนี้เพราะองค์ประกอบของสารระเหยได้ในน้ำมันมะนาวจะให้ความรู้สึกสดชื่น (freshness) และรู้สึกสะอาด (cleanliness) จึงเป็นสาเหตุหลักให้น้ำมันมะนาวถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ นอกจากอุตสาหกรรมเครื่องดื่มไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมอาหาร เช่นเครื่องดื่ม ขนมขบเคี้ยว ลูกกวาด ขนมอบ ผลิตภัณฑ์นม รวมทั้งอุตสาหกรรมน้ำหอม เป็นต้น Yadav และคณะ(2004); Atti-Santos และคณะ(2005); Smith และคณะ(2001) ได้ศึกษาถึงสารประกอบระเหยได้ที่มีในมะนาวสดและมะนาวอบแห้งโดยใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำในการสกัดน้ำมันหอมระเหยและวิเคราะห์ห์โดยใช้ GC-MS และ supercritical carbondioxide ตามลำดับ (ภาพที่ 1 และ ตารางที่1 และ 2) โดยตารางที่ 1 พบว่ามีสารประกอบทั้งหมด 32 ชนิดซึ่งเป็นสารประกอบระเหยได้จำนวนมากกว่า 98% ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น สารประเภทไฮโดรคาร์บอน(75%) แอลกอฮอล์(18%) และเอสเทอร์(1%) โดยสารประกอบไฮโดคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันมะนาวคือ ลิโมนีน (limonene) พบว่ามีถึง 37.8% ตามด้วยเบต้าไพนีน(β-Pinene) 16% แกมม่าไพนีน(γ-Pinene) 9.5% แอลฟ่าเทอร์พีนีออล(α-Terpineol) 6.7% และนีโรลิดอล(nerolidol) 7.1% ตามลำดับ และสารประกอบระเหยได้ประเภทแอลดีไฮด์ที่พบคือ นีรอล(neral) เจอราเนียล(geranial) โดดีคาแนล (dodecanal)และเตรทตระเดคาแนล(tetradecanal) (Yadav และคณะ, 2004)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของ volatile oil ของมะนาวสดและมะนาวอบแห้ง

Kovats indices	Compounds[b]	Quantity (µl)/100g[a]	
		Fresh	Dehydrated
933	β-Pinene	6.8	6.6
979	γ-Pinene	32.1	17.6
1041	Limonene[c]	75.5	53.5
1064	Cis-Ocimeme	0.7	Tr[d]
1078	γ-Terpinene	19.0	18.1
1093	Terpinolene	3.2	5.1
1102	Linalool	1.3	0.6
1107	Fenchol	0.4	1.2
1173	4-Terpineol[c]	6.8	4.7
1196	α-Terpineol[c]	13.3	10.2
1227	Neral	1.8	0.3
1258	Geranial	4.1	0.6
1329	δ-Elemene	0.6	1.1
1351	Neryl acetate	0.5	0.4
1370	Geranyl acetate	0.6	0.5
1380	β-Elemene	0.6	1.0
1395	Dodecanal	1.0	0.4
1405	α-Cedrene	4.5	3.4
1434	α-Bergamotene	4.7	3.5
1461	Germacrene-d	0.7	0.2
1594	Tetradecanal	0.4	0.1
1663	β-Bisabolol	0.4	0.1
1976	Hexadecanoic acid	1.3	0.1

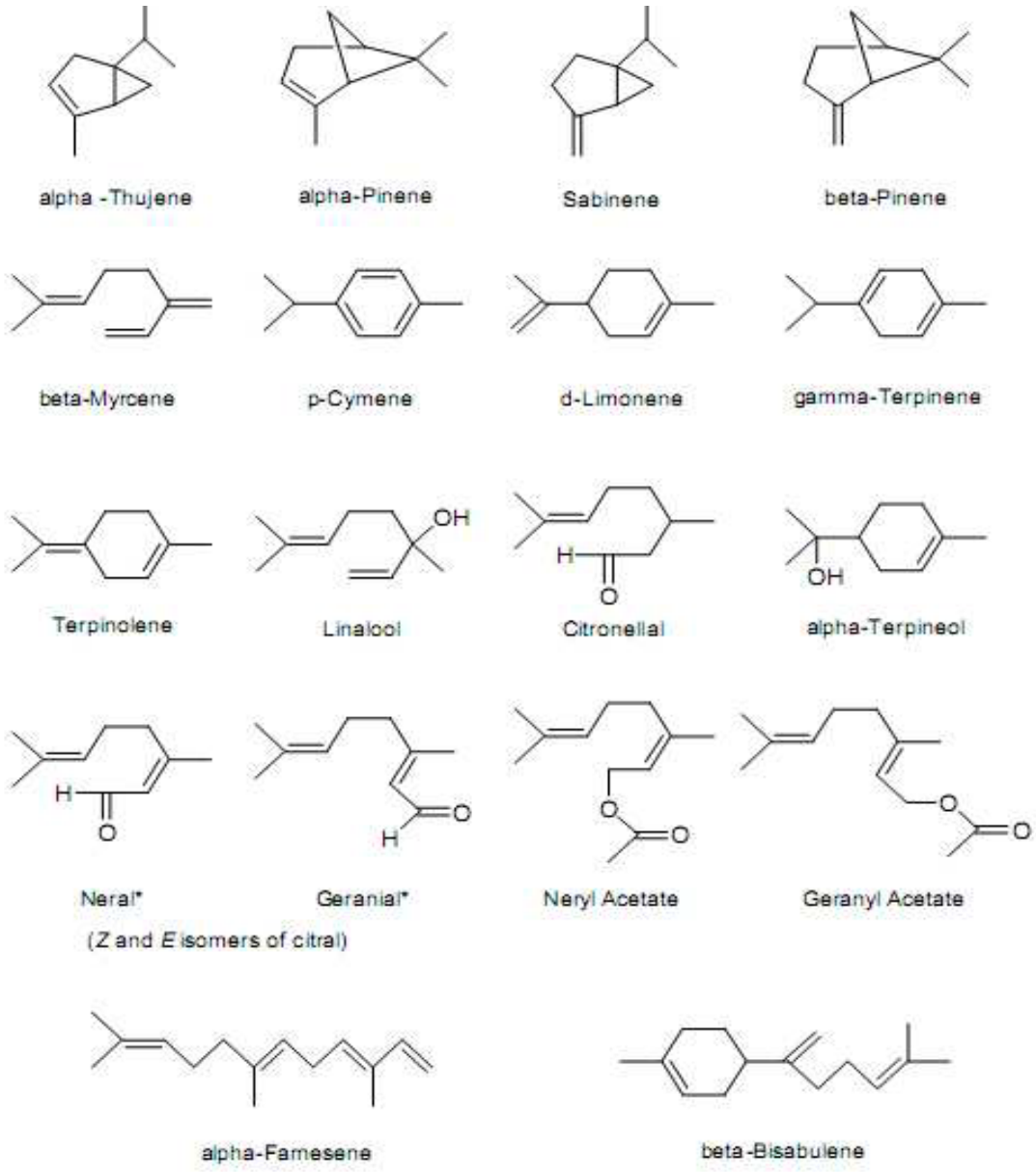
ที่มา : ดัดแปลงจาก Yadav และคณะ(2004)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของ volatile compound ของ lime oil โดยวิธี supercritical extraction : 60°C, 90 bar, 1mL/min CO_2, 30 minutes

Compound	Supercritical extraction
α-Pinene	2.7
α-Thujene	0.8
β-Pinene	14.5
Sabinene	2.2
Myrcene	1.4
α-Terpinene	0.4
d-Limonene	48.9
γ-Terpinene	17.0
ρ-Cimeme	-
α-Terpinolene	0.7
Linalool	0.2
Cis- α-Bergamotene	1.2
Terpinene-4-ol	0.5
Neral	0.7
α-Terpineol	0.4
β-Bisabolene	3.3
Geranial	1.1
Non-oxygenated	93.3
Oxygenated	3.3
Citral	1.8
Total	96.6

ที่มา : ดัดแปลงจาก Atti-Santos และคณะ(2005)

จากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารประกอบระเหยง่าย หลักที่มีอยู่ในมะนาวคือลิโมนีน ซึ่งเป็นสารประกอบประเภท monoterpene hydrocarbon และมีซิตรัล ซึ่งเป็นสารประกอบแอลดีไฮด์ที่ให้กลิ่นเฉพาะในมะนาว (Atti-Santos และคณะ, 2005)



ภาพที่ 1 ชื่อและโครงสร้างของสารประกอบเทอร์พีนและเทอร์พีนอยในผลไม้ตระกูลซิตรัส

ที่มา : Smith และคณะ(2001)

จากที่กล่าวแล้วข้างต้นว่าสารประกอบโดยส่วนใหญ่ที่ถูกพบในน้ำมันมะนาวและผลไม้ตระกูลซิตรัสจะเป็นสารประกอบจำพวกเทอร์พีนและเทอร์พีนอย โดยสารประกอบเทอร์พีนคือกลุ่มของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยโครงสร้างอาจเป็นแบบ cyclic หรือ acylic และเป็นแบบอิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัวก็ได้ ในขณะที่เทอร์พีนอยจัดเป็นสาร oxygenated ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของสารประกอบเทอร์พีนที่อาจจะประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล(hydroxyl) หรือหมู่คาร์บอนิล (carbonyl) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าโครงสร้างของสารประกอบทั้ง 2 ประเภทนี้มีลักษณะที่เหมือนกันโดยมีชุดของ C_5H_8 อยู่ในโครงสร้างหรือมีสูตรทั่วไปคือ $(C_5H_8)_n$ เช่น hemiterpene ประกอบด้วยชุดของ C_5H_8 1 ชุด monoterpene มี C_5H_8 จำนวน 2 ชุด sesquiterpene มี C_5H_8 3 ชุด เป็นต้น (เยาวภา, 2547)

เทอร์พีน เช่น ลิโมนีน และเทอร์พีนอยด์ เช่น นีรอลและเจอราเนียล (*E* และ *Z* ไอโซเมอร์ของซิตรัล ตามลำดับ) (รูปที่ 1) ถูกพบว่ามีอยู่เป็นจำนวนมากในส่วนของ oil sacs ที่อยู่ใน ส่วนที่เป็นสีหรือส่วน flavedo ที่อยู่ด้านนอกของเปลือกผลไม้ของผลไม้ตระกูลซิตรัส และน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้สามารถแยกหรือสกัดออกมาได้หลายวิธีเช่น การบีบเย็น (cold press) การกลั่นด้วยไอน้ำ(steam distillation) และการสกัด(extraction) เป็นต้น (Smith และคณะ, 2001)

2.1.2 สารให้กลิ่นในอาหารที่เกิดตามธรรมชาติจากพืช

สารให้กลิ่นในพืชจัดเป็นผลิตผลของเมตาบอลิซึมระดับทุติยภูมิ (secondary metabolite)ที่พบในพืชแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน เป็น by-product จากเซลล์ที่มีชีวิต (Stofberg, 1986) ซึ่งไม่มีหน้าที่ทางเมตาบอลิซึมที่ชัดเจน มีสารเริ่มต้นเป็นผลิตผลของเมตาบอลิซึมระดับปฐมภูมิ (primary metabolite) จากกระบวนการสังเคราะห์แสงที่พบในพืชทุกชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น (Heath, 1981; Reineccius, 1994) แล้วมีการทำงานของเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง โดยพืชแต่ละชนิดมีเอนไซม์ไม่เหมือนกัน ทำ ให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพต่างกันไป ปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดในการสร้างผลิตผลของเมตาบอลิซึมระดับทุติยภูมิ แต่สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากการพยายามปรับตัวของพืชให้เข้ากับสภาพแวดล้อม (นิจศิริ และ พยอม, 2534) สารให้กลิ่นรสตามธรรมชาติส่วนใหญ่เกิดจากสารตั้งต้นที่ไม่ระเหย ซึ่งส่วนมากเป็นพวกอนุพันธ์ของไกลโคไซด์ที่มีโครงสร้างพื้นฐานของ glucopyranosyl unit ต่อด้วยพันธะ β-glycosidic กับผลิตผลของเมตาบอลิซึมระดับทุติยภูมิที่เรียกว่า aglycone ซึ่งมักประกอบด้วยคาร์บอน 10, 11, 13 หรือ 15 อะตอม เช่น ไกลโคไซด์ของ monoterpene แต่สามารถเปลี่ยนเป็นสาร

ระเหยโดยการทำงานของเอนไซม์ หรือเกิดไฮโดรไลซิสจากกรดสารประกอบในธรรมชาติที่ให้กลิ่นมีหลายประเภท เช่น (Heath, 1981; Stofberg,1986; Reineccius, 1994; Gatfield, 1999)

1) แอลกอฮอล์ เกิดจากการสังเคราะห์ทางชีวภาพของกรดอะมิโน

2) อัลดีไฮด์ เกิดจากการสังเคราะห์ทางชีวภาพเช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ และจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะกรดไขมัน linoleic และ linolenic

3) คาร์บอนิล เป็นพวกอัลดีไฮด์ และคีโตนที่เกิดจากกรดอะมิโน

4) กรด สลายจากน้ำตาลโดยกระบวนการสังเคราะห์แสง คือคาร์โบไฮเดรตจะถูกออกซิเดชันเป็นกรด pyruvic เพื่อเข้าสู่ Krebs cycle แล้วถูกสังเคราะห์ขั้นสุดท้ายด้วยเอนไซม์

5) เอสเทอร์ สร้างจากแอลกอฮอล์ กรดไขมัน และกรดอะมิโนในเซลล์พืช

6) แลกโตน อาจเกิดจากการสังเคราะห์ทางชีวภาพโดย oxidase

7) ฟีนอล

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารผสมที่มีความซับซ้อน บางครั้งประกอบด้วยสารเคมีนับร้อยชนิด โดยทั่วไป มีการจำแนกสารประกอบออกได้เป็น 4 กลุ่ม (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544; Reineccius, 1994)

1. สารไฮโดรคาร์บอน

โดยทั่วไปเป็นสารประเภทเทอร์พีนส์ (terpene) มีสูตรทั่วไปคือ $(C_5H_8)_n$ เทอร์พีนส์เป็นองค์ประกอบของสารหลายกลุ่ม มีสูตรโครงสร้างแตกต่างกันอย่างกว้างขวาง แต่มีส่วนของโครงสร้างที่เหมือนกันคือ มีไอโซพรีน (isoprene) (C_5H_8) 2 ชุด ในกรณีที่เป็นโมโนเทอร์พีนส์ หรือ 3 ชุด ถ้าเป็นเซสควิเทอร์พีนส์ ไอโซพรีนเป็นสารประกอบพื้นฐานในชีวเคมีของสัตว์และพืชใช้ในการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ สเตียรอยด์และน้ำยาง เป็นสารที่เกิดจาก acetyl-CoA ซึ่งมีบทบาทในการสังเคราะห์และออกซิเดชันของน้ำตาล สารเทอร์พีนส์ไฮโดรคาร์บอนมีผลต่อรสชาติและกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยเล็กน้อย (Reineccius, 1994)

2. อนุพันธ์ของสารไฮโดรคาร์บอนที่มีออกซิเจนในโมเลกุล

ในสารระเหยที่มีกลิ่นหอม สาร oxygenated derivatives ของโมโนเทอร์พีนส์และเซสควิเทอร์พีนส์ มีความสำคัญมากกว่าสารเทอร์พีนส์ไฮโดรคาร์บอน กลิ่นเฉพาะของน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดเป็นกลิ่นของ oxygenated compound รวมกัน กลุ่มของสาร oxygenated ที่สำคัญได้แก่ แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ อีเทอร์ คีโตน กรดและเอสเทอร์ (Reineccius, 1994)

3. สารอนุพันธ์ของเบนซิน

เกิดจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของพืช มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงแหวนเบนซิน โดยมักจะเป็นวงแหวน C_6 มีพันธะคู่ 3 พันธะ สลับกับพันธะเดี่ยวระหว่างคาร์บอนอะตอม เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีลักษณะแตกต่างกันมาก รวมถึงสารที่ใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสที่พบตามธรรมชาติ และสารสังเคราะห์หลายชนิดที่ใช้ในอุตสาหกกรรม (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544; Reineccius, 1994)

4. สารประกอบไนโตรเจน หรือสารประกอบซัลเฟอร์

สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลายชนิดมีผลต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย แม้ว่าจะมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยในปริมาณความเข้มข้นต่ำกว่า 0.1% เช่น แอมโมเนีย ไตรเมทิลเอมีน กรดไฮโดรไซยานิก ส่วนสารประกอบซัลเฟอร์ เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ พบในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกระเทียม มัสตาร์ด (Bauer และคณะ, 1997, อ้างจาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)

2.1.3 การเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นรส

กลิ่นรสในอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากหลายสาเหตุคือ โครงสร้างของสารให้กลิ่นรสเปลี่ยน เช่น eugenol มีการเคลื่อนที่ของพันธะคู่ได้เป็น isoeugenol (Bauer และคณะ, 1997)หรือเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างสารให้กลิ่นรสซึ่งถือเป็นสาเหตุหลัก นอกจากนี้ยังเกี่ยวกับความเสถียรของสารให้กลิ่นรส (Shaikh, 2002) โดยในแง่ thermochemical stability สารที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่งตำแหน่งจะไม่ค่อยเสถียร แต่ความมีขั้วของสารไม่สัมพันธ์กับความเสถียร(Novak และคณะ, 2002)

ปฏิกิริยาหลักที่ทำ ให้สารให้กลิ่นรสเปลี่ยนแปลงคือ

1. ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดบ่อยมาก โดยจะเกิดเมื่อมีออกซิเจน รังสีอุลตร้าไวโอเลต และอนุมูลอิสระ เช่น limonene เกิดออกซิเดชัน (Bauer และคณะ, 1997) เป็น carveol และ carvone (Hiramoto และคณะ, 1999)

2. ปฏิกิริยา cyclization เช่น (+)-germacrene A เกิด cyclization เป็น selinene ในสภาวะกรด (Kraker และคณะ, 2001) หรือ citronellal เกิด cyclization เมื่อถูกกระตุ้นด้วยกรดเป็น isopulegol (Bauer และคณะ, 1997)

3. ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส, hydration หรือ hydroxylation เช่น เทอร์พีนที่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเกิด hydroxylation เป็นแอลกอฮอล์โดยการกระตุ้นด้วยกรด (Iwanami

และคณะ,1997) หรือในสารละลายกรดเจือจางที่ให้ความร้อนจะเกิดไฮโดรไลซิสของ caryophyllene oxide ที่วง epoxide ซึ่งเป็นส่วนที่ไวต่อปฏิกิริยามากสุด แล้วเกิด isomerization เป็น clovane diol (Yang และคณะ, 1993) เช่นเดียวกับ humulene diepoxide A ที่เกิดไฮโดรไลซิสเมื่อโดนความร้อนได้สารหลายชนิด เช่น humuladiene triol (Smith และคณะ, 1991) หรือการเกิด hydration พร้อมเปิดโครงสร้างที่เป็นวงของ β-pinene ได้เป็น terpineol และ *cis*-terpin hydrate (Bauer และคณะ,1997)

4. ปฏิกิริยา dehydration เช่น borneol เกิด dehydration ด้วยกรดเจือจางเป็น camphene(Bauer และคณะ,1997)

5. ปฏิกิริยา polymerization เช่น อัลดีไฮด์ที่มีลักษณะเป็นสายจะเกิดปฏิกิริยานี้ได้ง่าย (Shaikh, 2002) โดยเฉพาะเมื่อถูกความร้อน

6. ปฏิกิริยา isomerization เช่น โครงสร้างของสารให้กลิ่นที่อยู่ในรูป *cis* เปลี่ยนเป็น *trans* ที่เสถียรมากกว่า โดยมีความร้อน แสง อากาศ และ pH เป็นปัจจัยสำ คัญ (Shaikh, 2002) หรือการเกิด isomerization ของ linalool ในสภาวะกรดเป็น geraniol, nerol และ β-terpineol (Bauer และคณะ,1997)

7. การสร้าง shiff base เกิดจากอัลดีไฮด์หรือคีโตนทำ ปฏิกิริยากับเอมีน เช่น citral ทำ ปฏิกิริยากับ methyl anthranilate ได้เป็น schiff base สีเหลือง (Shaikh, 2002)

8. โครงสร้างที่เป็นวงเปิดออก เช่น โครงสร้างที่เป็นวงของแลกโตนเปิดออก เมื่ออยู่ในสภาวะกรด (Shaikh, 2002)

โดยทั่วไปสารให้กลิ่นรสสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการร่วมกันจากหลายปฏิกิริยาดังกล่าวแล้วข้างต้น เช่น อัลดีไฮด์จะเกิดออกซิเดชันได้ง่ายเมื่อมีอากาศได้ผลิตผลเป็นกรด หรือเกิด polymerization เมื่อถูกความร้อนหรือแสง และถ้ามีแอลกอฮอล์อยู่ด้วยก็จะทำ ปฏิกิริยากันได้เป็น hemi-acetal และ acetal ซึ่งเสถียรกว่าแต่มีกลิ่นอ่อนกว่า (Shaikh, 2002) นอกจากนี้ยังอาจเกิดหลายปฏิกิริยาร่วมกัน เช่น linalool, citronellol, nerol และ geraniol ที่เป็น parent monoterpene สามารถเกิดปฏิกิริยา hydration และออกซิเดชัน ได้เป็นสารพวก polyol ที่ไม่มีกลิ่น ซึ่ง polyol บางตัวไม่คงทนต่อกรด จึงเปลี่ยนรูปเป็นสารระเหยอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้องและ pH ของน้ำผลไม้ (Strauss และคณะ, 1986) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นรสนี้อาจเกิดจากได้เร็วขึ้นเนื่องจากปัจจัยซึ่งอาจเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกริยา เช่น

1. ออกซิเจน เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำ ให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Hiramoto และคณะ, 1999)

2. pH โดยทั่วไปที่ pH ต่ำจะกระตุ้นปฏิกิริยาการสลายของสารให้กลิ่นรส (Hiramoto และคณะ, 1999) เช่นเจอราเนียลเปลี่ยนเป็นเฟ็นเชล แอลกอฮอล์(fenchyl alcohol) (Schieberle และ Grosch, 1988)หรืออาจเปลี่ยนรูปเป็นลินาลูล(linalool) และแอลฟาเทอร์พีนีออล ซึ่งอัตราการเปลี่ยนรูปนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของไฮโดรเจน (Ohta และคณะ, 1991)

3. อุณหภูมิและความร้อน เช่น การสลายตัวของเทอร์พีนจากความร้อน (Parliment, 1986)โดยเฉพาะในสภาวะกรด (Iwanami และคณะ, 1997)

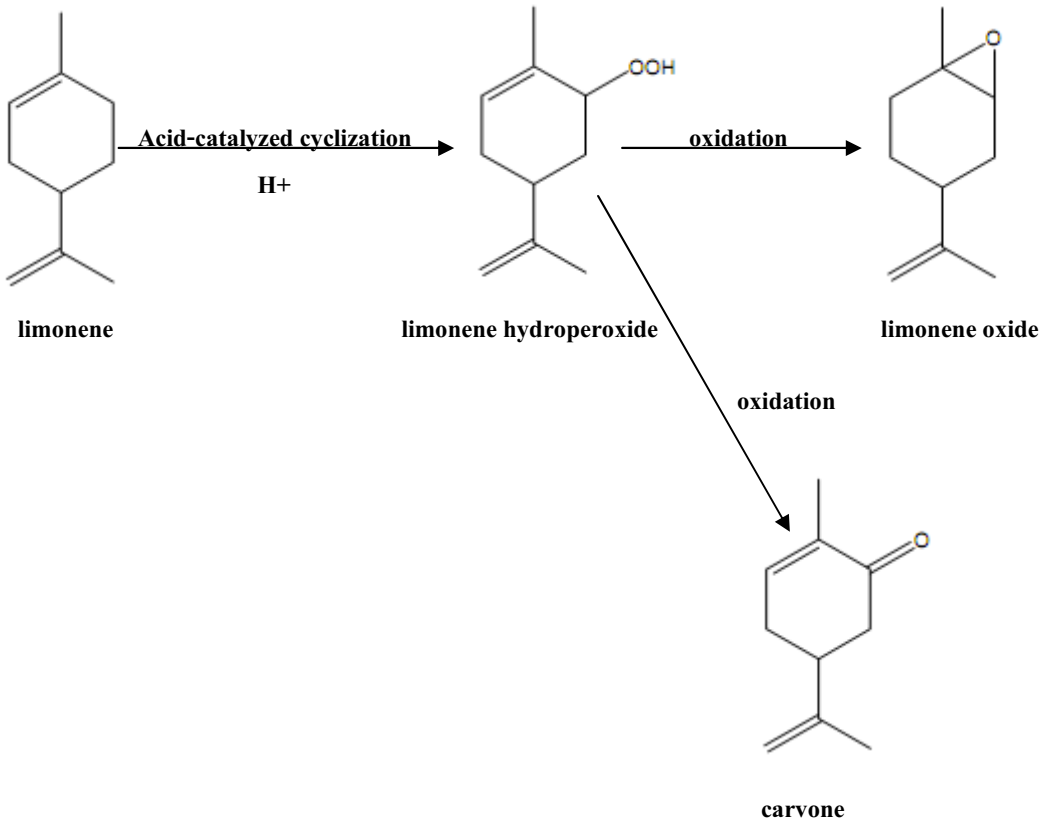
4. แสงและรังสี เช่น แสงทำให้เกิดไฮโดรไลซิสของ isohumulone (Reineccius, 1994) หรือรังสีอุลตร้าไวโอเลตก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (radical) ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ที่ไปทำ ปฏิกิริยากับออกซิเจน (Hiramoto และคณะ, 1999) ทำให้ limonene, terpinolene และ nonanal ลดลง โดยเฉพาะซิตรัลที่ลดลงมาก (Iwanami และคณะ, 1997) นอกจากนี้รังสีแกมมายังทำ ให้ monoterpene ที่มีโครงสร้างไม่เป็นวง เช่น geranial, neral, myrcene, linalool, α-terpinene, γ-terpinene และ terpinolene ลดลง

2.1.4 การเกิดการลดลง (deg radation) ของสารประกอบระเหยได้ในน้ำมันมะนาว

จากข้อมูลเบื้องต้นโดย GC-MS สามารถสรุปได้ว่าสารประกอบระเหยง่ายที่เป็นองค์ประกอบหลักและให้กลิ่นที่สำคัญในน้ำมันมะนาวได้แก่ ลิโมนีนและซิตรัล แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารประกอบทั้ง 2 ชนิดนี้มีความไม่คงตัวทางเคมีเนื่องจากปฏิกริยาออกซิเดชั่นได้ง่าย โดยเฉพาะในสภาวะกรดซึ่งความไม่คงตัวนี้เป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียกลิ่นที่ดีและนำไปสู่การเกิดโครงสร้างของสารประกอบที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นได้

2.1.4.1 การเกิดการลดลงของสารประกอบลิโมนีนจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น

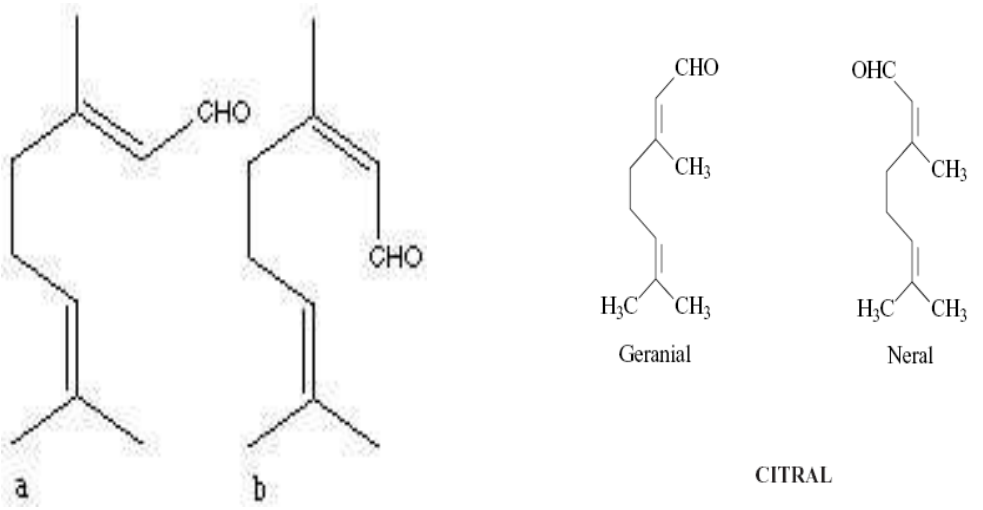
ลิโมนีนจัดเป็นสารประกอบประเภทอนุพันธ์ของสารปะกอบเทอร์พีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ให้กลิ่นสำคัญและพบว่ามีปริมาณมากกว่า 95% ในน้ำมันมะนาว ลิโมนีนถูกใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมเกียวกับการให้กลิ่นรสทั้งในอุตสาหกรรมบริโภคและอุตสาหกรรมอุปโภค แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารประกอบนี้ถูกทำลายได้ง่ายจากปฏิกริยา acid-catalyted และ autooxidation (Bertolini และคณะ, 2001) ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียกลิ่นมะนาวและเกิดโครงสร้างของสารประกอบอื่นที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ซึ่งสามารถบรรยายได้ว่าเป็นกลิ่น minty flowery และ piney (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แผนภาพการลดลงของสารประกอบลิโมนีนในสารละลายกรด
ที่มา : ดัดแปลงจาก Djordjevic และคณะ(2008)

2.1.4.2 การเกิดการลดลงของสารประกอบซิตรัลจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น

ซิตรัล จัดเป็นสารประกอบแอลดีไฮน์ซึ่งประกอบไปด้วยองค์ประกอบของสาร 2 ชนิดคือ เจอราเนียล (citral a – *E* isomer) และ เนรอล (citral b – *z* isomer) ในอัตราส่วน 65 : 35 (ภาพที่ 3) ซึ่งจะพบมากในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ มะนาว ส้ม เป็นต้น ซิตรัลเป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในผลไม้ในตระกูลซิตรัสที่สำคัญอีกตัวนอกจากลิโมนีน และถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตกลิ่นมะนาวและกลิ่นซิตรัสเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและการผลิตวิตามินซีได้อีกด้วย โดยที่เจอราเนียลจะให้กลิ่นที่แรงกว่านรอล แต่ทั้งสองชนิดก็ให้กลิ่นที่เป็นมะนาวเหมือนกัน



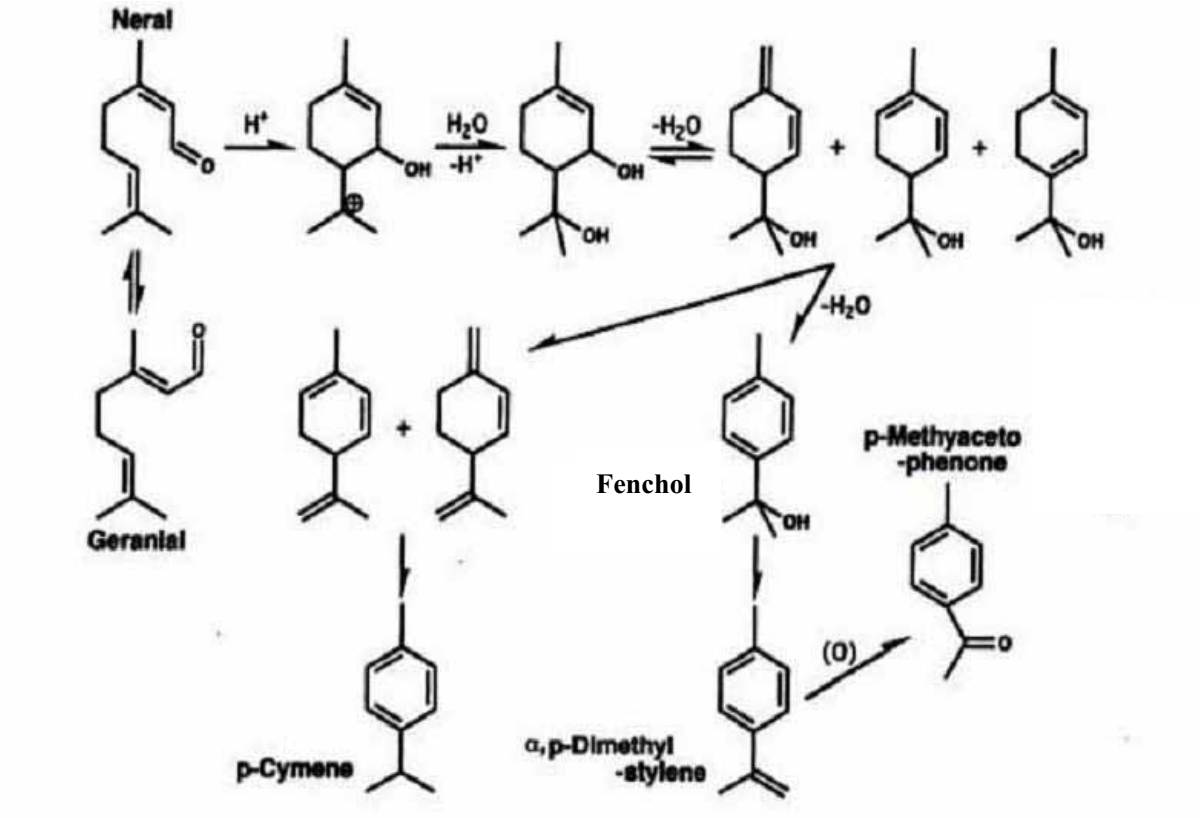
ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของ citral a และ citral b

ที่มา : www.food-info.net/uk/htm.

ซิตรัล เป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำที่ต่ำ ในขณะที่สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์และน้ำมัน รวมทั้งเป็นสารประกอบที่เป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการออกซิไดส์ในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของซิตรัส ทั้งนี้เนื่องจากเนรอล และเจอราเนียล ซึ่งเป็นไอโซเมอร์กันนั้นจะมีความไวต่อการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่น

ซิตรัลสามารถเกิดการสูญเสียได้ง่ายในสภาวะกรด หรือมีแสงและออกซิเจน(Grosch, 1994) เนื่องจากซิตรัลเป็นอัลดีไฮด์ที่มีพันธะคู่ตรงตำแหน่งแอลฟาและเบต้า ทำ ให้เกิดปฏิกิริยา cyclization และpolymerization ได้ง่าย (Bauer และคณะ, 1997) และยังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย นั่นคือในสภาวะกรด เจอราเนียลเกิด isomerization อย่างรวดเร็วเป็นเนรอล แล้วเกิด cyclization เป็น diastereoisomeric diols โดยยังคงสมดุลระหว่างเจอราเนียลและเนรอล ของวิตรัลเป็น 65:35 แต่ diol ที่ได้นี้ไม่เสถียรในสารละลายกรดจึงเกิดปฏิกริยาการสูญเสียน้ำ(dehydration) อย่างรวดเร็วเป็น monoterpene alcohol คือ ρ-mentha-1,5-dien-8-ol และ ρ-mentha-1(7),2-dien-8-ol จากนั้นแอลกอฮอล์จะเกิด disproportionation และออกซิเดชันได้ ρ-cymen-8-ol และ 8-ethoxy-ρ-cymene แล้วเปลี่ยนเป็นผลิตผลสุดท้ายที่เสถียรคือ ρ-cymene และα,ρ-dimethylstyrene (Kimura และคณะ., 1983) นอกจากนี้ยังพบ fenchyl alcohol, ρ-cresol,ρ-methylacetophenone และ 1-terpinen-4-ol เป็น off-flavor ร่วมด้วย (Schieberle และ Grosch, 1988; Hiramoto และคณะ, 1999) ซึ่งการเกิด

ออกซิเดชันจะมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือลด pH แต่สามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงนี้ได้โดยใช้กรดไอโซแอสคอร์บิคเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ (Peacock และ Kuneman, 1985)



ภาพที่ 4 กลไกการเกิด degradation ของสารประกอบซิตรัล(citral) ในสารละลายกรด
ที่มา: ดัดแปลงจาก Kimura และคณะ (1983) ; Clark และ Chamblee (1992)

2.2 อิมัลชั่นในอาหาร

อุตสาหกรรมอาหารคืออุตสาหกรรมหนึ่งในหลายๆ อุตสาหกรรมที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบอิมัลชั่น ซึ่งอิมัลชั่นในอาหารได้แก่ผลิตภัณฑ์ เช่น เครื่องดื่ม นม ครีม น้ำสลัด มายองเนส ซอส เนย และมาการีน เป็นต้น อิมัลชันในอาหารเป็นระบบการกระจายของอาหาร ซึ่งประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิดซึ่งไม่เข้ากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ถูกนำมาไว้ด้วยกันในลักษณะผสมผสานกันโดยอาศัยตัวอิมัลซิฟายเออร์(emulsifier) อิมัลชั่นที่เกิดขึ้นถ้ามองด้วยตาเปล่าจะเห็นเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ถ้าส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัตภาค คือ หยดเล็กๆของของเหลวชนิดหนึ่ง กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งหยดน้ำเล็กๆของ

ของเหลวภายในเรียกว่า วัตภาคภายใน (internal or dispersed phase) ส่วนของเหลวที่มีของเหลวเล็กๆแทรกอยู่เรียกว่า วัตภาคภายนอก (external or continuous phase) ลักษณะปรากฏของอิมัลชั่นจะขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคน้ำมันซึ่งเป็นเฟสของการกระจายตัว ถ้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคน้ำมันอยู่ในช่วง 0.15-100 μm อิมัลชั่นจะมีลักษณะปรากฏคล้ายนม ถ้าหากเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคน้ำมันอยู่ในช่วง 0.0015 – 0.15 μm ซึ่งจัดเป็นอิมัลชั่นขนาดเล็กมาก (microemulsion) ลักษณะปรากฏจะใสและมีความคงตัวมากกว่า อัตราการตกตะกอนจะขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคน้ำมันด้วย และระบบอิมัลชั่นในอาหารส่วนใหญ่จะมีขนาดของดร็อปเล็ทประมาณ 0.1 – 100 μm (Dickinsion และ Stainsby, 1982;Dickinson,1992 และ McClements, 1999)

2.2.1 ส่วนประกอบหลักของระบบอิมัลชั่น

ส่วนประกอบหลักของระบบอิมัลชั่น

1. วัตภาคน้ำ (water phase)
2. วัตภาคน้ำมัน (oil phase)
3. สารอิมัลซิฟายเออร์(emulsifier)

วัตภาคน้ำ ได้แก่ น้ำและสารต่างๆที่ละลายในน้ำได้ อาจเป็นสารเพิ่มความหนืด สารฮิวแมกแทนท์ สารกันเสีย สารลดแรงตึงผิว สีที่ละลายน้ำ สารแอนตี้ออกซิแดนท์ นอกจากนี้อาจเป็นสารออกฤทธิ์อื่นที่ละลายน้ำได้ เป็นต้น

วัตภาคน้ำมัน ได้แก่ น้ำมันต่างๆ ไขมัน ไขแข็ง สีที่ละลายในน้ำมัน สารกันหืน หรือสารออกฤทธิ์แต่ละประเภท

สารอิมัลซิฟายเออร์ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ ของแข็งอนุภาคละเอียด สารอิมัลซิฟายเออร์เป็นตัวสำคัญในการผสมผสานให้วัตภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้

โดยทั่วไประบบอิมัลชั่นในอาหารสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ

1.ระบบอิมัลชั่นชนิด “ น้ำมันในน้ำ” (oil in water, O/W) โดยของเหลวที่เป็นเฟสต่อเนื่อง คือน้ำ และของเหลวที่เป็นเฟสกระจายตัวอยู่ภายใน คือ น้ำมันซึ่งเป็นระบบอิมัลชั่นที่พบในอาหาร เช่น นม เป็นต้น

2.ระบบอิมัลชั่นชนิด “ น้ำในน้ำมัน” (water in oil, W/O) โดยของเหลวที่เป็นเฟสต่อเนื่อง คือน้ำมัน และของเหลวที่เป็นเฟสกระจายตัวอยู่ภายในคือ น้ำ ซึ่งเป็นระบบอิมัลชั่นที่พบในอาหาร เช่น เนย เป็นต้น

2.2.2 กลไกการเกิดอิมัลชั่น

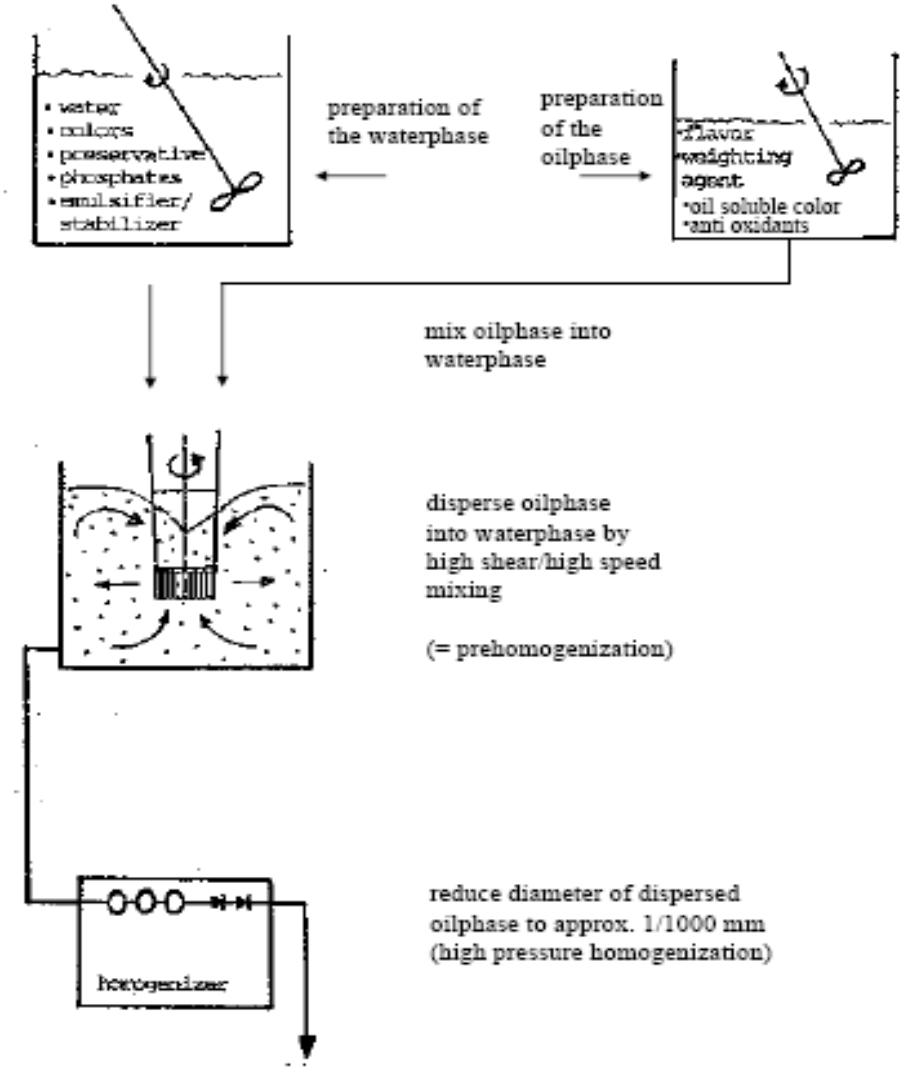
การนำของเหลว 2 ชนิดที่ไม่เข้ากันมารวมกัน ปกติของเหลวนั้นจะแยกชั้นกัน เนื่องจากแรงตึงผิวของของเหลว 2 ชนิดนั้น การเขย่าแรงๆ ซึ่งเป็นการเพิ่มพลังงานและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวทั้งสองจะทำให้ของเหลวนั้นกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ ในกันและกันมีลักษณะเป็นอิมัลชั่นเกิดขึ้น แต่สภาวะนี้ไม่คงสภาพ ซึ่งการจะทำให้อิมัลชั่นเกิดขึ้นอย่างถาวรได้ต้องเติมตัวอิมัลชั่นหรือสารอิมัลซิฟายเออร์ลงไปก่อนการเพิ่มพลังงานและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส ดังนั้นการเกิดอิมัลชั่นได้ ต้องอาศัยขบวนการ 2 ขั้นตอน (ภาพที่ 5) คือ

1. การทำให้ของเหลวที่เป็นวัตภาคภายในแตกกระจายเป็นหยดเล็กๆ โดยอาศัยพลังงาน อาจเป็นพลังงานในรูปแบบความร้อน (heat) การคนหรือเขย่า (mechanical agitation) การสั่นสะเทือนโดยคลื่นเสียง (ultrasonic vibration) หรือไฟฟ้า (electricity) เป็นต้น

2. การทำให้หยดเล็กๆ ที่แตกกระจายคงสภาพอยู่โดยอาศัยตัวทำอิมัลชั่น ซึ่งมีกลไกการทำงานดังนี้

2.1 ทำให้เกิดการลดแรงตึงผิวระหว่างผิวของของเหลวทั้งสองชนิด เป็นการลดพลังงานอิสระที่พื้นผิวสัมผัสทำให้หยดวัตภาคที่กระจายตัวอยู่นั้นรวมตัวกันได้น้อยลง เพิ่มความคงตัวของอิมัลชั่น

2.2 ทำให้เกิดฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่นโดยรอบหยดวัตภาคภายในความแข็งแรงและลักษณะการเรียงตัวของโมเลกุลของฟิล์มนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชั่น ฟิล์มที่เกิดขึ้นรอบหยดวัตภาคภายในนี้ทำหน้าที่เป็นกันชน ป้องกันการสัมผัสกันโดยตรงของหยดวัตภาคภายในซึ่งกลไกข้อนี้ถือว่าสำคัญที่สุดเพราะตราบใดที่กันชนนี้ยังอยู่จะไม่ทำให้หยดวัตภาคภายในรวมตัวกัน ความแข็งแรงของกันชนนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณตัวทำอิมัลชั่นที่ใส่ลงไปด้วยต้องมีปริมาณมากพอ การเรียงตัวของโมเลกุลฟิล์มก็จะหนาแน่น (closely packed) ทำให้อิมัลชั่นมีความคงตัวมากขึ้น



ภาพที่ 5 แผนภาพกระบวนการผลิตระบบอิมัลชั่น

ที่มา : เอกสารการสอนของบริษัทจีวอฎัน ประเทศสิงคโปร์ (2000)

2.2.3 แรงกระทำระหว่างอนุภาคของเหลวในอิมัลชั่น

ในระบบอิมัลชั่นสภาพของอนุภาคของของเหลวที่เข้ามาอยู่ใกล้กัน จะถูกกำหนดโดยปฏิกริยาของแรงดึงดูดและแรงผลักระหว่างอนุภาคของของเหลว โดยแรงผลักจะทำให้อนุภาคของเหลวไม่รวมตัวกัน อิมัลชั่นจึงมีความคงตัวดี ในขณะที่แรงดึงดูดทำให้อนุภาคของเหลวรวมตัวกันอิมัลชั่นจึงไม่คงตัว ซึ่งแรงกระทำระหว่างอนุภาคของเหลวในอิมัลชั่น(McClements,1999) สามารถอธิบายได้ดังนี้

1. แรง แวน เดอ วาลส์ ซึ่งเป็นแรงดึงดูดระหว่างอนุภาคของเหลวสองอนุภาคที่เป็นชนิดเดียวกัน ที่เกิดจากปฏิกริยาแวน เดอ วาลส์ ระหว่างโมเลกุล ซึ่งเกิดจากการแกว่งไปมาของขั้วไฟฟ้าคู่อย่างรวดเร็วของอะตอมที่ไม่มีประจุ ซึ่งจะทำให้อะตอมอื่นเกิดขั้ว และก่อให้เกิดแรงดึงดูดขึ้น

2. แรงทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic force) เป็นแรงผลักระหว่างชั้นประจุไฟฟ้าคู่ (electrical double layers) เกิดจากอิมัลซิไฟเออร์ที่ถูกดูดซับที่ผิวอนุภาคของเหลว ทำให้ผิวโดยรอบของอนุภาคของเหลวมีประจุ และเกิดความสมดุลของประจุระหว่างประจุตรงข้ามกัน เพื่อให้อนุภาคเป็นกลาง การเกิดความสมดุลของประจุรอบผิวอนุภาคของของเหลวนี้ทำให้เกิดเป็นชั้นประจุไฟฟ้าคู่ เมื่ออนุภาคของเหลวเข้าใกล้กันปฏิกริยาทางไฟฟ้าสถิตระหว่างชั้นประจุไฟฟ้าคู่จะทำให้เกิดแรงผลักซึ่งกันและกัน (repulsive)

3. แรงสเทียริก (Steric force) เกิดจากการเบียดซ้อนกัน (overlapping) ของอิมัลซิฟายเออร์โมเลกุลใหญ่ที่ดูดซับอยู่รอบๆ ดร็อปเล็ท ทำให้เกิดแรงผลักดร็อปเล็ทออกจากกัน แรงนี้จึงมีลักษณะเป็นแรงผลักที่แข็งแรงเมื่อดร็อปเล็ทอยู่ใกล้กันมากๆ

4. แรงไฮเดรชั่น (Hydration force) เกิดจากการเบียดซ้อนกัน (overlapping) ของชั้นโมเลกุลน้ำที่เกาะจับรอบๆ ผิวดร็อปเล็ทที่มีความเป็นไฮโดรโฟลิกหรือชอบน้ำ ทำให้เกิดแรงผลักเมื่อดร็อปเล็ทเข้าใกล้กัน

5. แรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic force) เกิดขึ้นเมื่อดร็อปเล็ทมีความเป็นไฮโดรโฟบิกหรือไม่ชอบน้ำที่บริเวณผิวทำให้เกิดแรงดึงดูดดร็อปเล็ทที่ผิวเป็นไฮโดรโฟบิกเหมือนกันเข้าหากัน แรงนี้มีลักษณะเป็นแรงดึงดูดที่ค่อนข้างแข็งแรง

2.2.4 ความคงตัวของระบบอิมัลชั่น

ความคงตัวของระบบอิมัลชั่น หมายถึง ความสามารถของอิมัลชั่นที่จะไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติไปตามเวลา โดยธรรมชาติแล้วระบบอิมัลชั่นเป็นระบบที่ไม่เสถียรหรือไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิก ทั้งนี้เป็นเพราะในระบบอิมัลชั่นมีการสัมผัสกันระหว่างของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายกันและกัน เช่น น้ำกับน้ำมัน ซึ่งมีความเป็นขั้วต่างกันโมเลกุลของน้ำจึงพยายามเกาะจับอยู่กับโมเลกุลของน้ำด้วยกันส่วนโมเลกุลของน้ำมันก็พยายามเกาะจับกับโมเลกุลของน้ำมันด้วยกันเอง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อน้ำกับน้ำมันมาสัมผัสกัน อย่างเช่นที่บริเวณผิวของดร็อปเล็ทในอิมัลชั่น ที่เรียกว่าผิวสัมผัสร่วม จึงเกิดแรงตึงที่ผิวสัมผัสร่วมขึ้นเป็นผลให้ระบบเกิดความไม่เสถียร หรือไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิก ผลักดันให้ระบบพยายามลดพื้นที่ผิวสัมผัสร่วม โดยการเกาะจับกันหรือรวมตัวกันของดร็อปเล็ทไปเรื่อยๆ จนในที่สุดเกิดการแยกตัวของน้ำและน้ำมัน

เห็นเป็นชั้นของน้ำและน้ำมันแยกออกจากกัน ซึ่งเรียกว่าการแยกวัฏภาค (phase separation) กระบวนการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เรียกว่าการเกิดความไม่คงตัวของอิมัลชั่นในทางกายภาพ (McClements, 1999)

2.2.5 ความไม่คงตัวของระบบอิมัลชั่น

ระบบอิมัลชั่น เป็นระบบที่ไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์เนื่องจากระบบต้องการพลังงานอิสระในการเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างเฟสของน้ำและน้ำมัน เมื่อเวลาผ่านไประบบอิมัลชั่นจึงเกิดความไม่คงตัวทางกายภาพเกิดขึ้น ซึ่งอาจพบได้หลายลักษณะดังภาพที่ 6 (Dickinson และ Stainsby, 1982; Dickinson, 1992; McClements, 1999)

1. การเกาะกลุ่มกัน (flocculation)

ความไม่คงตัวลักษณะนี้เกิดจากอนุภาคของดร็อปเล็ทตั้งแต่ 2 ดร็อปเล็ทขึ้นไปเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันและเกาะจับกันโดยไม่เกิดการรวมตัวกันของดร็อปเล็ท ดังนั้นดร็อปเล็ทยังคงมีขนาดและจำนวนเท่าเดิม เพียงเกาะกันเป็นกลุ่มเท่านั้น โดยทั่วไปพบว่าการเกาะกลุ่ม (flocculation) อาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

1.1 Bridging flocculation เกิดจากโพลิเมอร์หรือโมเลกุลของสารอิมัลซิฟายเออร์สามารถดูดซับได้ที่พื้นผิวของดร็อปเล็ทมากกว่า 1 ดร็อปเล็ทจึงทำให้ดร็อปเล็ทสามารถเชื่อมต่อกันได้

1.2 Depletion flocculation เกิดจากการที่อิมัลชั่นมีอนุภาคคอลลอยด์ที่ไม่ถูกดูดซับกระจายตัวอย่างอิสระในวัฏภาคต่อเนื่อง แต่อนุภาคคอลลอยด์เหล่านี้ไม่สามารถเคลื่อนที่เข้าหาดร็อปเล็ทได้ใกล้กว่ารัศมี (r) ของอนุภาคเอง ดังนั้นในบริเวณชั้นวงแหวน (depletion layer) รอบๆ ดร็อปเล็ท ซึ่งมีความหนาของวงแหวนเท่ากับระยะรัศมี จึงมีความเข้มข้นของอนุภาคคอลลอยด์น้อยกว่าบริเวณที่อยู่นอกวงแหวน วึ่งเป็นผลให้เกิดความแตกต่างของอนุภาคคอลลอยด์อยู่ในบริเวณทั้งสองของระบบ จึงเกิดแรงดันออสโมติกขึ้น ซึ่งเมื่อแรงดันออกโมติกเกิดขึ้นในระบบ ระบบจึงอยู่ในสภาวะที่ไม่สมดุลและพยายามขจัดแรงดันออสโมติกนี้ โดยระบบต้องพยายามให้ดร็อปเล็ทเคลื่อนที่กัน เข้าใกล้กันเพื่อให้ชั้นของวงแหวนของดร็อปเล็ทเกิดการซ้อนทับกัน เป็นการลดปริมาตรชั้นของวงแหวน ซึ่งส่งผลให้แรงดันออสโมติกลดลงได้

2. การรวมตัวกัน (coalescence)

ความไม่คงตัวนี้เกิดขึ้นเมื่อดร็อปเล็ทตั้งแต่ 2 ดร็อปเล็ทขึ้นไปเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กัน แล้วรวมตัวกันเกิดเป็นดร็อปเล็ทที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นจำนวนดร็อปเล็ทจะน้อยลงแต่จะมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อดร็อปเล็ทที่เป็นเม็ดน้ำมันรวมตัวกัน พื้นที่ผิวสัมผัสร่วม โดยรวมของอิมัลชันจะลดลง พร้อมทั้งพลังงานพื้นผิวก็ลดลงด้วย การรวมตัวกันของดร็อปเล็ทจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อดร็อปเล็ทเข้ามาใกล้กันและเยื่อหุ้มที่ผิวสัมผัสร่วมแตกออก ปฏิสัมพันธ์ระยะใกล้ระหว่างดร็อปเล็ทจะมีความสำคัญต่อการเกิดการรวมตัวกันของดร็อปเล็ทมาก อัตราการรวมตัวกันของดร็อปเล็ทจะเพิ่มขึ้นเมื่อเยื่อหุ้มที่ผิวสัมผัสร่วมละลายหรือถูกทำลายมากขึ้น เยื่อหุ้มที่หนาและยืดหยุ่นจะทำให้ดร็อปเล็ทเกิดการรวมตัวได้ยาก ดังนั้นอัตราการรวมตัวกันของดร็อปเล็ทจะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของอิมัลซิฟายเออร์ที่ผิวสัมผัสร่วมอย่างมากการรวมตัวกันของดร็อปเล็ทไม่สามารถทำให้ย้อนกลับได้โดยการกวนธรรมดา ต่างจากการเกาะตัวกัน หรือการเกิดชั้นครีมที่อาจทำให้ย้อนกลับได้โดยการกวนให้ดร็อปเล็ทในอิมัลชั่นแยกและกระจายตัวใหม่ได้อีก ในอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำ การรวมตัวกันของดร็อปเล็ทจะทำให้เกิดการแยกชั้นครีมได้เร็วขึ้น เนื่องจากดร็อปเล็ทมีขนาดใหญ่ขึ้น การรวมตัวกันของดร็อปเล็ทอย่างต่อเนื่อง ในที่สุดจะทำให้เกิดชั้นของน้ำมันลอยอยู่ด้านบนของอิมัลชั่น เรียกว่า oiling off

3. การแยกชั้นครีม (Creaming)

เกิดขึ้นเมื่อดร็อปเล็ทหรือกลุ่มของดร็อปเล็ทที่เป็นน้ำมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าวัฏภาคต่อเนื่อง จึงลอยตัวขึ้นไปรวมตัวกันบริเวณผิวหน้าด้านบนของอิมัลชั่นที่อยู่ในภาชนะ จนในที่สุดอาจเกิดเป็นชั้นน้ำมัน แยกตัวลอยอยู่เหนือส่วนที่เหลือของอิมัลชั่น อัตราร็วของการแยกชั้นครีมอาจคำนวณได้จากสมการของสโตกส์ (stokes's equation) ดังต่อไปนี้

$$\nu = \frac{2r^2(\rho_0-\rho_1)g}{9\eta_0}$$

ν = ความเร็วของการเกิด creaming (cm/sec.)

ρ_1 = ความหนาแน่นของ dispersed phase (g/m)

r^2 = รัศมีของอนุภาคดร็อปเล็ท (cm)

ρ_0 = ความหนาแน่นของ continuous phase (g/m)

g = ค่าคงที่ความเร่ง เนื่องจากแรงโน้มถ่วง (980cm/sec)

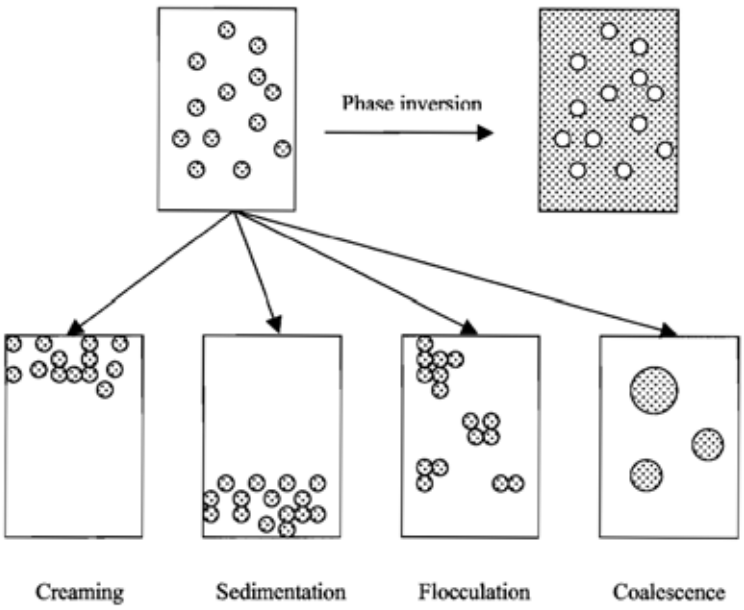
η_0= ความหนืดของ continuous phase (g/cm.sec)

จากสมการของสโตกส์ จะเห็นได้ว่า

- ถ้าดร็อปเล็ทยิ่งมีขนาดใหญ่ (r มาก) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของดร็อปเล็ท และอัตราเร็วของการแยกชั้นครีมยิ่งเร็ว (ν มาก) หรือกล่าวได้ว่าดร็อปเล็ทยิ่งมีขนาดเล็ก อิมัลชันยิ่งมีความคงตัวมาก กระบวนการโฮโมจิไนเซชันให้อิมัลชันมีดร็อปเล็ทขนาดเล็กจึงมีความสำคัญ

- ถ้าวัฏภาคต่อเนื่องยิ่งมีความหนืดสูง (ηมาก) จะทำให้อัตราเร็วของการแยกชั้นครีมยิ่งช้า (ν น้อย) การเติมสารเพิ่มความข้นหนืด (thickening agent) ในวัฏภาคต่อเนื่องจะทำให้อิมัลชันมีความคงตัวมากขึ้น

ลักษณะการแยกชั้นครีมของอิมัลชันจะขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของขนาดดร็อปเล็ทเมื่อเริ่มต้น ถ้าหากมีทั้งดร็อปเล็ทที่มีขนาดเล็กและขนาดใหญ่ปนกัน ดร็อปเล็ทขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่ลอยขึ้นสู่ด้านบนได้เร็วกว่า ดังนั้นหลังการแยกชั้นครีมจะมีชั้นของดร็อปเล็ทที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ จากด้านบนสู่ด้านล่างของภาชนะที่บรรจุอิมัลชันนั้น การเกาะกลุ่มกันหรือการรวมตัวกันของดร็อปเล็ทจะทำให้เกิดผ้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นในอิมัลชัน ทำให้กระบวนการแยกชั้นครีมเกิดเร็วขึ้น การเกิดครีมมีผลต่อคุณภาพของอาหาร เนื่องจากผู้บริโภคต้องการให้มีลักษณะปรากฏเป็นเนื้อเดียวกัน และยังมีผลต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร การเกิดครีมจัดเป็นลักษณะความไม่คงตัวที่สามารถผันกลับได้โดยการผสม



ภาพที่ 6 ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน

ที่มา : McClements (1999)

4. การเกิดออสวอลด์ไรเพนนิง (Ostwald ripening)

เกิดจากการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในดร็อปเล็ทขนาดเล็ก ผ่านวัฏภาคต่อเนื่องไปรวมตัวกับดร็อปเล็ทที่มีขนาดขนาดใหญ่กว่า เป็นผลให้ดร็อปเล็ทขนาดเล็กหายไป และดร็อปเล็ทขนาดใหญ่ขยายใหญ่ยิ่งขึ้น ความไม่คงตัวแบบนี้มักเกิดขึ้นกับอิมัลชั่นที่วัฏภาคในดร็อปเล็ทสามารถละลายในวัฏภาคต่อเนื่องได้บ้าง

2.2.6 สารเพิ่มความคงตัวของอิมัลชั่น หรือสารอิมัลซิฟายเออร์

การเพิ่มความคงตัวทางกายภาพให้กับอิมัลชั่น สามารถทำได้โดยการเติมสารอิมัลซิฟายเออร์ และ/หรือ สารเพิ่มความข้นหนืด

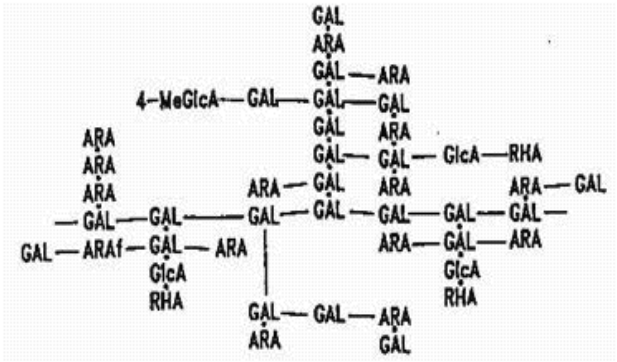
1.สารอิมัลซิฟายเออร์ คือสารที่มีคุณลักษณะเป็น surface-active molecule ซึ่งจะดูดซับอยู่บนพื้นผิวของดร็อปเล็ท ที่เป็นไขมันหรือน้ำระหว่างการโฮโมจีไนเซชัน ของวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมัน โดยส่วนมากแล้วสารอิมัลซิฟายเออร์จะเป็นโมเลกุลพวกแอมฟิฟิลิค (amphiphillic) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วหรือชอบน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วหรือไม่ชอบน้ำ ทันทีที่เกิดการดูดซับที่พื้นผิวของดร็อปเล็ทสารอิมัลซิฟายเออร์ จะช่วยให้ดร็อปเล็ทกระจายตัวได้ดีขึ้นโดยทำให้แรงตึงที่ผิวสัมผัสร่วมต่ำลง นอกจากนี้แล้วสารอิมัลซิฟายเออร์ยังช่วยลดการเกิดการรวมกันของดร็อปเล็ท โดยทำหน้าที่เสมือนเยื่อหุ้มป้องกัน หรือโดยการสร้างแรงผลักระหว่างดร็อปเล็ท มีสารอิมัลซิฟายเออร์หลายชนิดที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่เป็นโพลิเมอร์ ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่นโปรตีน และกลุ่มที่เป็นสารเซอร์แฟกแทนต์หรือสารลดแรงตึงผิว ซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็ก เช่น เลซิติน (และโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ดีและมีประสิทธิภาพควรจะดูดซับที่บริเวณผิวสัมผัสร่วมหรือผิวดร็อปเล็ทที่เพิ่งเกิดขึ้นใหม่ระหว่างการโฮโมจิไนซ์ได้มากและรวดเร็ว

สารอิมัลซิฟายเออร์แต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดดร็อปเล็ท ขนาดเล็กในระหว่างการโฮโมจีไนเซชัน และความสามารถในการป้องกันการเกิดการรวมกันของดร็อปเล็ทภายใต้สภาวะเร่งต่าง เช่น ความเป็นกรด-เบส, ionic strength, ความร้อน, การแช่เยือกแข็งและการทำแห้ง ได้แตกต่างกัน (Aoki และคณะ, 2005) นอกจากนี้แล้วสารอิมัลซิฟายเออร์ในอาหาร มีความแตกต่างกันในเรื่องของราคา, การนำไปใช้, ส่วนประกอบที่ใช้ และสถานะทางด้านกฎหมาย ซึ่งเหตุผลเหล่านี้จึงทำให้ไม่สามารถมีสารอิมัลซิฟายเออร์เพียงตัวเดียวที่จะสามารถถูกใช้ได้กับอาหารทุกชนิด ดังนั้นการเลือกสารอิมัลซิฟายเออร์แยกต่างหาก หรือการรวมกัน สำหรับอาหารแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของส่วนประกอบอื่นๆ สภาวะการโฮโมจีไนเซชันที่ใช้ในการผลิต และสภาวะเร่งต่างๆ ที่อาจเกิดในขั้นตอนระหว่างการผลิต การเก็บรักษาและการนำไปใช้

2.2.6.1 คุณสมบัติของสารอิมัลซิฟายเออร์บางชนิด

ก. กัมอาราบิค (gum Arabic)

กัมอาราบิค(ภาพที่ 7) เป็นสารประกอบประเภทโพลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) องค์ประกอบของกัมอาราบิค แบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ คือสารประกอบเชิงซ้อนของ arabinogalactan-protein (AGP) ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ กัมอาราบิค, glycoprotein(G_1) และ arabinogalactan polysaccharide (Randall และคณะ, 1989) กัมอาราบิค มีบทบาทสำคัญมากในการเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ในอิมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ ทั้งนี้เพราะโครงสร้างในส่วนของ AGP ซึ่งมีอยู่ประมาณ 90-95% จะเป็นส่วนที่มีบทบาทสำคัญมากโดยทำให้ระบบเกิดอิมัลชั่น เนื่องจากสายโพลีแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิคจะดูดซับบนพื้นผิวของอนุภาคน้ำมัน ในขณะที่สายโพลีแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิกจะยื่นออกมาในส่วนของสารละลาย ซึ่งกลไกนี้ทำให้อิมัลชั่นเกิดความคงตัวเนื่องจาก แรงสเทียริก ระหว่างอนุภาคน้ำมันที่มีโมเลกุลของกัมอาราบิคล้อมรอบ รวมทั้งมีแรงทางไฟฟ้าสถิต ที่เกิดจากสายของโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยหมู่ฟังชั่นที่มีประจุล้อมรอบอนุภาคน้ำมัน (Aoki, 2007) ดังนั้นเมื่อละลายหรือกระจายตัวในน้ำจะทำให้เกิดความข้นหนืดหรือเกิดเจล จึงมีคุณสมบัติเป็นสารสเตบิไลเซอร์ช่วยให้อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำคงตัวได้ดีขึ้น จากคุณสมบัตินี้ กัมอาราบิคจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา อย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท soft drink ที่มีองค์ประกอบของน้ำมันที่ให้กลิ่นรส เช่นน้ำมันของผลไม้ตระกูลซิตรัสโดยกัมอาบิค จะช่วยให้น้ำมันของผลไม้ตระกูลซิตรัสสามารถกระจายตัวในเฟสต่อเนื่องของน้ำได้เป็นอย่างดี (Yadav และคณะ, 2007) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์กับ สารลดแรงตึงผิว เช่นโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ซึ่งเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่มีโมเลกุลเล็กกว่า พบว่า กัมอาราบิคมีคุณสมบัติเป็น surface active ที่มีประสิทธิภาพน้อยกว่ามาก



GAL = Galactose ARA = Arabinose

GlcA = Glucuronic acid RHA = Rhamnose

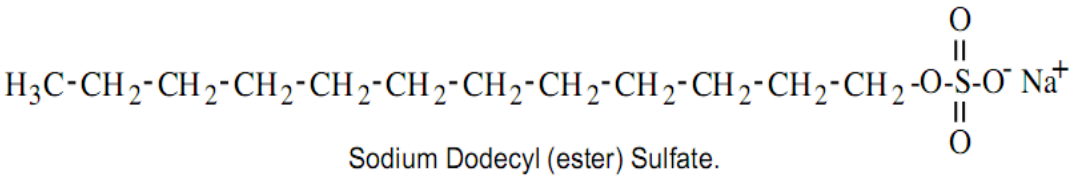
4-MeGlcA = 4-O-methylglucuronic acid

ภาพที่ 7 โครงสร้างโมเลกุลของกัมอาราบิค

ที่มา : ดัดแปลงจาก นิธิยา (2545)

ข. โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate or SDS)

โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (ภาพที่ 8) เป็นสารลดแรงตึงผิว ซึ่งมีโมเลกุลเล็กซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในโมเลกุล โดยหมู่ที่ชอบน้ำเป็นหัว (head group) และหมู่ที่ไม่ชอบน้ำเป็นหาง (tail group) โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารลดแรงตึงผิวที่เป็นตัวแทนของการเป็นแอนไอออนิกเซอแฟกแทนต์ที่ดี โดยมีการศึกษาและพบว่าโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตจะสามารถไปดูดซับได้อย่างรวดเร็วที่พื้นผิวของอนุภาคดร็อปเล็ทน้ำมันในระหว่างการโฮโมจิไนเซชั่น ทำให้ได้ primary emulsion ที่อนุภาคดร็อปเล็ทมีขนาดเล็กและปกคลุมด้วยประจุลบ (Krog และคณะ, 2004)



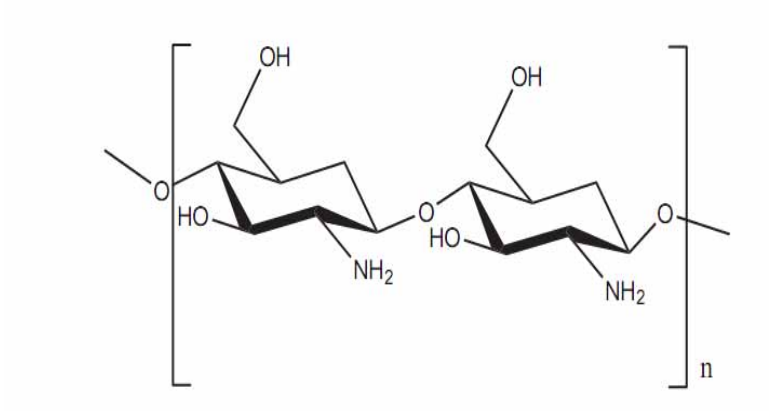
Sodium Dodecyl (ester) Sulfate.

ภาพที่ 8 โครงสร้างโมเลกุลของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต

ที่มา : Jean-Louis salvager (2002)

ค. ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน (ภาพที่ 9) จัดเป็นโพลีแซ็คคาไรด์ที่ไม่เป็นพิษและสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกำจัดหมู่อะซิตีล (deacetylation) ของไคติน ไคโตซานเกิดจากการสร้างพันธะกันของ D-glucosamine และ β(1-4) *N*-acetyl-D-glucosamine ไคโตซานมีค่า pKa ประมาณ 6 ดังนั้นที่ pH ต่ำกว่า 6 ไคโตซานจะสามารถละลายได้ดีและแสดงคุณสมบัติเป็นแคทไอออนิกโพลิเมอร์ในขณะที่ pH สูงๆ ไคโตซานมีแนวโน้มที่จะสูญเสียประจุและตกตะกอนในสารละลายได้



ภาพที่ 9 โครงสร้างโมเลกุลไคโตซาน

ที่มา : Luis Alejandro Bastardo (2005)

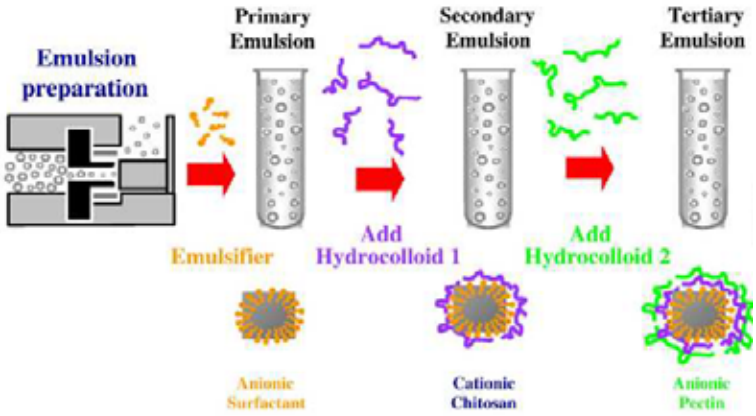
จะเห็นได้ว่ามีการผลิตสารอิมัลซิฟายเออร์ในรูปแบบที่หลากหลาย ดังกล่าวข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าอิมัลซิฟายเออร์แต่ละชนิดนั้นก็จะมีประสิทธิภาพในการผลิตอนุภาคดร็อปเล็ทให้มีขนาดเล็กในระหว่างการโฮโมจิไนซ์เซชั่น รวมทั้งความสามารถในการป้องกันการเกิดการไม่คงตัวของระบบอิมัลชั่นในสภาวะเร่งต่างๆ เช่น pH, ionic strength และ heating เป็นต้น ได้เฉพาะตัว ด้วยเหตุนี้ จึงไม่มีอิมัลซิฟายเออร์ชนิดเดียวที่จะสามารถใช้ได้กับอาหารทุกชนิด ด้วยสาเหตุนี้จึงเป็นแรงกระตุ้นให้มีนักวิจัยมากมายได้ทำการศึกษาทางเลือกใหม่ในการผลิตอิมัลชันเพื่อช่วยปรับปรุงความคงตัวของระบบอิมัลชันโดยการพัฒนากลยุทธ์ emulsifier-base ที่แปลกใหม่ ซึ่งหนึ่งในนั้น ได้แก่ การใช้อิมัลซิฟายเออร์หลายชนิดมารวมกันเพื่อนำมาใช้ทำเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ทำให้ระบบอิมัลชั่นเกิดความคงตัวได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับการใช้สารโพลีอิเล็คโตรไลท์โดยอาศัยแรงทางไฟฟ้า โดยจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารโพลีอิเล็คโตรไลท์เกิดขึ้น ซึ่งจะไปห่อหุ้มดร็อปเล็ทและทำให้อิมัลชั่นเกิด

ความคงตัวได้ดีขึ้น(Onesippe และคณะ, 2008) ซึ่งเรียกเทคนิคนี้ว่า เทคนิค layer-by-layer (LbL) electrostatic deposition (Guzey และคณะ, 2006)

2.3 เทคนิค Layer-by-Layer electrostatic deposition

Layer-by-layer (LbL) electrostatic deposition มีหลักการคือสารอิมัลซิฟายเออร์ที่มีประจุ จะถูกดูดซับอย่างรวดเร็วยังพื้นผิวของดร็อปเล็ทน้ำมัน ระหว่างการโฮโมจีไนเซชัน ซึ่งถือเป็นการผลิต primary emulsion ที่จะได้ดร็อปเล็ทที่มีขนาดเล็ก หลังจากนั้นจะมีการเติมสารไบโอโพลิเมอร์หรือโพลีอิเล็คโตไลท์ ที่มีประจุตรงข้ามลงไปในระบบ โดยสารไบโอโพลิเมอร์หรือโพลีอิเล็คโตไลท์ ที่เติมลงไปนี้จะไปดูดซับที่พื้นผิวของดร็อปเล็ท ซึ่งถือเป็นการsecondary emulsion ที่ประกอบไปด้วยอนุภาคดร็อปเล็ท ที่ถูกปกคลุมด้วย 2 ชั้นของสารอิมัลซิไฟเออร์และสารไบโอโพลิเมอร์หรือโพลีอิเล็คโตไลท์ดังแสดงดังภาพที่ 10 โดยกระบวนการนี้สามารถถูกทำซ้ำได้อีกเพื่อที่จะให้ ดร็อปเล็ทน้ำมันถูกปกคลุมด้วย 3 ชั้นหรือมากกว่าได้ เช่น emulsifier-biopolymer 1-biopolymer 2 เป็นต้น

Aoki และคณะ (2005) ได้ใช้เทคนิคนี้ในการผลิตอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำซึ่งดร็อปเล็ทจะปกคลุมด้วย sds-chitosan-pectin และได้ทำการศึกษาถึงความคงตัวของอิมัลชั่นภายใต้สภาวะเร่งต่างๆ เช่น pH, ionic strength, thermal processing และ freeze-thaw cycling โดยจากการศึกษาพบว่าอิมัลชั่นที่ใช้เทคนิค Layer-by-layer (LbL) electrostatic deposition เหล่านี้ สามารถเพิ่มความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งต่างๆ ได้ดีกว่าระบบอิมัลชั่นแบบดั้งเดิม



ภาพที่10 แสดงกระบวนการผลิตอิมัลชันโดยเทคนิค Layer-by-layer electrostatic deposition
ที่มา : Guzey และ McClements (2007)

2.3.1 การประยุกต์ใช้เทคนิค LbL-electrostatic deposition ในการปรับปรุงหรือเพิ่มคุณสมบัติความคงตัวของระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำในผลิตภัณฑ์อาหาร

Djordjevic และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองโดยใช้หลักการของระบบ layer-by-layer หรือมัลติเลเยอร์อิมัลชั่นเพื่อศึกษาถึงการลดการเกิดการลดลงของซิตรัลและ ลิโมนีนซึ่งเป็นสารประกอบระเหยที่สำคัญที่พบในผลไม้ตระกูลซิตรัส เช่นมะนาว เป็นต้น โดยได้มีการใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีโมเลกุลเล็กที่ใช้ถูกใช้มากในอุตสาหกรรมหลายประเภท ทั้งด้านเครื่องสำอาง สารซักล้าง สิ่งทอ ยา และ อาหาร โดยที่โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตนี้จะเป็นสารลดแรงตึงผิวที่แสดงประจุลบ มาทำ primary emulsion กับสารประกอบซิตรัล และลิโมนีนที่เป็นสารประกอบแอลดีไฮด์ และเทอร์พีน ซึ่งไม่ละลายน้ำ จากนั้นเติมด้วยสารไคโตซานซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารไบโอโพลิเมอร์ที่ แสดงประจุบวก ซึ่งทำให้ได้ secondary emulsion หรือเรียกว่าอิมัลชั่นแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยมีโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต-ไคโตซานเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ โดยได้ทำการเปรียบเทียบกับอิมัลชั่นแบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาราบิค และโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ จากการศึกษาพบว่าดับเบิ้ลเลเยอร์อิมัลชั่นโดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต-ไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการชะลอการลดลงของซิตรัลและลิโมนีนได้ดีกว่าซิงเกิ้ลเลเยอร์อิมัลชั่นโดยใช้กัมอาราบิคและโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตแบบ เนื่องจากสามารถลดการเกิด p-cymene ซึ่งคือผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ที่ได้หลังการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของซิตรัล รวมทั้งสามารถลดการเกิดลิโมนีนออกไซด์และคาร์โวนซึ่งคือผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ที่ได้หลังการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิโมนีน

นอกจากนี้แล้ว Klinkerson และคณะ (2006) ได้ทำการทดลองโดยการนำเทคนิค LbL-electrostatic deposition หรือมัลติเลเยอร์อิมัลชั่นนี้ไปประยุกต์ใช้กับการนำน้ำมันทูน่ามาทำการพ่นฝอยแห้ง (spray dried tuna-oil) โดยใช้เลซิตินและไคโตซานเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ และทำการติดตามปริมาณของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของกรดไขมันได้แก่ Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันทูน่าซึ่ง Omega-3 นี้เป็นกรดไขมันที่มีสายโซ่ยาวและไม่อิ่มตัว จึงมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มาก จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างของ น้ำมันทูน่า ที่ใช้เลซิตินและไคโตซานเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ก่อนและหลังการพ่นฝอยนั้นเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าการผลิตด้วยวิธีนี้ทำให้อิมัลชั่นมีความคงตัวเนื่องจากช่วยให้ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันเกิดได้น้อย

Guzey และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของสภาวะเร่งต่างๆ เช่น pH, ionic strength และ heating ต่อความคงตัวของอิมัลชั่นที่ใช้ β-Lactoglobulin-Pectin-Chitosan เป็นสารให้ความคงตัวโดยใช้เทคนิค Layer-by-layer electrostatic deposition โดยทำการศึกษาความคงตัวของ primary emulsion, secondary emulsion และ tertiary emulsion ที่ความเป็นกรดและเบส (3-7), ความเข้มข้นของเกลือ (0-500 mM) และ กระบวนการการให้ความร้อน (30-90^{o}C เป็นเวลา 30 นาที) โดยทำการศึกษาและวิเคราะห์ความคงตัวของลักษณะทางกายภาพของอิมัลชั่น จากขนาดอนุภาคของดร็อปเล็ท ζ-potential และ โครงสร้างทางจุลภาค โดยพบว่า primary emulsion ไม่คงตัวในทุกช่วงของ pH, Nacl และ thermal treatment ในขณะที่ secondary emulsion มีความคงตัวในการยับยั้งการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคดร็อปเล็ท และการแยกชั้นครีมที่อุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส และที่ความเข้มข้นของ NaCl $\leq$ 100 mM และที่ pH 3-5 ในขณะที่ tertiary emulsion มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส และที่ความเข้มข้นของ NaCl $\leq$ 100 mM และที่ pH 3-6 ซึ่งจากการวิจัยนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าเทคนิค Layer-by-layer electrostatic deposition โดยใช้สารไบโอโพลิเมอร์ หลายชนิดเป็นสารให้ความคงตัวสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของลักษณะทางกายภาพของระบบอิมัลชั่นได้

จากที่กล่าวข้างต้นว่า เทคนิค LbL- electrostatic deposition นั้นแม้ว่าจะสามารถช่วยปรับปรุงคุณสมบัติด้านความคงตัวทางเคมีกายภาพของระบบอิมัลชั่นในอาหารได้ก็ตาม แต่การเลือกใช้สารอิมัลซิฟายเออร์ และสารไบโอโพลิเมอร์หรือโพลีอิเล็คโตไลท์ คือปัจจัยที่สำคัญและจำเป็นมากที่สุด จากหลายๆ ปัจจัย เช่น ความเป็นกรดและเบส ionic strength อุณหภูมิ วิธีการผสมสารไบไอโพลิเมอร์ หรือ การแยกของดร็อปเล็ท เป็นต้น ที่จะช่วยให้การใช้เทคนิคนี้ประสบความสำเร็จ จากประสิทธิภาพของเทคนิคนี้จึงได้มีนักวิจัย ได้นำหลักการของเทคนิคนี้ไปศึกษาเพื่อหาสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ดีที่สุดเพื่อที่จะช่วยพัฒนาและเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชันต่อสภาวะเร่งต่างๆ เช่น ความเป็นกรดและเบส ionic strength กระบวนการให้ความร้อน กระบวนการแช่เยือกแข็ง กระบวนการทำแห้ง และ กระบวนการออกซิเดชั่นของไขมัน เป็นต้น และสามารถนำอิมัลชั่นนี้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารให้มีประสิทธิภาพได้มากขึ้นต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 น้ำมันมะนาวจากบริษัท จีวอฎัน (ประเทศไทย) จำกัด

3.1.2 สารลดแรงตึงผิวคือโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (SDS) แบบ Pharma grade จากบริษัทเมอร์ค (ประเทศไทย) จำกัด

3.1.3 สารประกอบไคโตซานในรูปผงจากบริษัท เฮห์ม มหาบุญ จำกัด

3.1.4 สารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ คือ กัมอาราบิค จากบริษัท รามาโปรดักชั่น จำกัด

3.1.5 สารเคมีอื่นๆ เช่น สารประกอบโซเดียมซิเตรต, กรดซิตริก จากบริษัท จีวอฎัน (ประเทศไทย) จำกัด

3.1.6 สารมาตราฐานของสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส สำหรับการวิเคราะห์ GC-MS ได้แก่ alkane standard C8-C20, dodecane, carvone, citral (a และ b), limonene, limonene oxide, borneol, α-terpineol, β-pinene และ fenchol

3.1.7 น้ำกลั่น

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 เครื่องกวนแม่เหล็ก (stirrer)

3.2.2 เครื่องกวนความเร็วสูง (บริษัท Scientific Promotion, รุ่น 81EU, 9517, Switzerland)

3.2.3 เครื่องชั่งน้ำหนักหยาบ 2 ตำแหน่ง (บริษัท Sartorius, Germany)

3.2.4 เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 4 ตำแหน่ง (รุ่น BP 221S,บริษัท Sartorius, Germany)

3.2.5 เครื่องโฮโมจิไนเซชั่นแบบใช้แรงดัน 2 stage (Type Panda, Italy)

3.2.6 เครื่องแก้ว

3.2.7 เครื่องปั่นผสม (รุ่น Utra Turrax T25 Basic บริษัท Becthai, Malaysia)

3.2.8 เครื่องปั่นผสม Vortex

3.2.9 เครื่องวัด ความเป็นกรดและด่าง (Melttler-toledo, Model: Seven Easy, China)

3.2.10 เครื่อง laser light scattering (Coulter, LS100, USA)

3.2.11 กล้องจุทรรศน์ (Olympus CHS, Japan) พร้อมกล้องถ่ายภาพ (Olympus, C-707OWZ, Japan)

3.2.12 เครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ (GC-MS) (รุ่น Hewlett-Packard (HP) 6890-MS detector HP5973) (Agilent Technology, USA)

3.2.13 เครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-ออลแฟคทอรี (GC-O) ของบริษัท Shimadzu รุ่น 2010

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การตรวจเอกสาร การรวบรวมข้อมูล และการจัดหาวัตถุดิบ

จัดเตรียมข้อมูล รวมทั้งวัตถุดิบที่จะต้องนำมาใช้ทำการศึกษา ซึ่งได้แก่ น้ำมันหอมมะนาว โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ไคโตซาน และกัมอาราบิค รวมทั้งอุปกรณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำการวิจัย

3.3.2 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส ของอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบคือ 1) ระบบชิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาบิคเป็นสารให้ความคงตัว (single-layer GA) 2) ระบบชิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัว (single-layer SDS) และ 3) ระบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว (double-layer SDS-Chitosan)

3.3.2.1 เตรียมอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบโดยดัดแปลงจากกรรมวิธีของ Djordjevic และคณะ (2007) ดังรายละเอียดดังต่อไปนี้

ก) การเตรียมอิมัลชั่นน้ำมันในน้ำแบบชิงเกิ้ลเลเยอร์ โดยใช้กัมอาราบิคเป็นสารให้ความคงตัว โดยใช้เทคนิค *LbL* electrostatic deposition โดยการผสมเฟสน้ำมัน และ เฟสสารละลายเข้าด้วยกันด้วยอัตราส่วนโดยน้ำหนักคือ 5% เฟสน้ำมัน : 95% เฟสสารละลาย โดยที่เฟสน้ำมัน คือ น้ำมันมะนาวและ เฟสสารละลายคือ สารละลายกัมอาราบิคที่ความเข้มข้น10% โดยน้ำหนักของกัมอาราบิค ในบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (pH 3) ปั่นผสม

ด้วย เครื่องกวนผสมแบบความเร็วสูงจะได้ coarse emulsion premix จากนั้นนำไปผ่านเครื่อง homogenizer 2 stages ด้วยความดันที่ 1000 psi เป็นจำนวน 3 ครั้งจะได้ primary emulsion

ข) การเตรียมอิมัลชั่นน้ำมันในน้ำแบบชิงเกิ้ลเลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัว โดยใช้เทคนิค *LbL* electrostatic deposition โดยการผสมเฟสน้ำมันและเฟสสารละลาย เข้าด้วยกันด้วยอัตราส่วนโดยน้ำหนักคือ 5% เฟสน้ำมัน : 95% เฟสสารละลาย โดยที่เฟสน้ำมันคือน้ำมันมะนาวและเฟสสารละลายคือสารละลายโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิโมลาร์ในบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (pH 3) ปั่นผสมด้วยเครื่องกวนผสมแบบความเร็วสูงจะได้ coarse emulsion premix จากนั้นนำไปผ่านเครื่อง homogenizer 2stages ด้วยความดันที่ 1000 psi เป็นจำนวน 3 ครั้งจะได้ primary emulsion

ค) การเตรียมอิมัลชั่นน้ำมันในน้ำแบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว โดยอาศัยเทคนิค *LbL* electrostatic deposition โดยการผสมเฟสน้ำมันและเฟสสารละลาย เข้าด้วยกัน ในอัตราส่วนโดยน้ำหนักคือ 5% เฟสน้ำมัน: 95% เฟสสารละลาย โดยที่เฟสน้ำมัน คือ น้ำมันมะนาวและเฟสสารละลายคือ สารละลายโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิโมลาร์ในบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (pH 3) ปั่นผสมด้วยเครื่องกวนผสมแบบความเร็วสูง ซึ่งจะทำให้ได้ primary emulsion จากนั้นนำไปผสมกับ 2% โดยน้ำหนักของไคโตซานจากนั้นนำไปผ่านเครื่อง homogenizer 2 stages ด้วยความดันที่ 1000 psi เป็นจำนวน 3 ครั้งจะได้ secondary emulsion

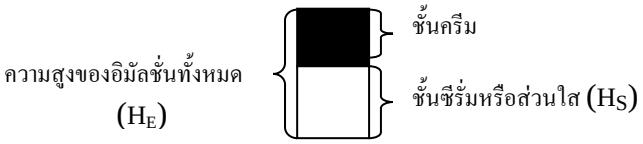
3.3.2.2 ศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน

ก) วิเคราะห์ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชันโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ ทำการถ่ายภาพ โดยนำอิมัลชันหยดลงบนแผ่นสไลด์และปิดด้วย cover slide จากนั้นนำไปส่องดูโครงสร้างทางจุลภาคของอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์พร้อมทำการถ่ายภาพโครงสร้างทางจุลภาคของอิมัลชั่นด้วยกล้องถ่ายภาพแบบดิจิตอลที่เชื่อมต่อเข้ากับกล้องจุทรรศน์

ข) วิเคราะห์ขนาดเฉลี่ยของ oil droplet (d_{32}) หน่วยเป็นไมโครเมตร รวมทั้งลักษณะการกระจายของขนาดของ oil droplet โดยการวัดโดยใช้ laser light scattering technique โดยเครื่องนี้ใช้หลักการของการวัดความเข้มของแสงเลเซอร์ที่กระเจิงออกมาจากอิมัลชั่นที่เจือจางและทำการรายงานค่าออกมาเป็นกราฟแสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

ค) วิเคราะห์ความคงตัวของระบบอิมัลชั่นโดยการศึกษาการแยกชั้นครีมโดยนำอิมัลชั่นที่เตรียมได้ 10 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง (ซึ่งวัดความสูงอยู่ที่ประมาณ 10 เซนติเมตร) ปิดหลอดทดลองด้วยฝาพลาสติก นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 55^0C เป็นเวลา 4 วัน และพิจารณาว่ามีการแยกชั้นครีมเกิดขึ้นหรือไม่ จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องและทำการวิเคราะห์การแยกชั้นครีมใน

ทุกๆ เดือน โดยทำการวัดระดับความสูงของชั้นซีรัมหรือส่วนใส (H_S) และระดับความสูงของอิมัลชั่นทั้งหมด (H_E) แล้วนำไปวิเคราะห์ % Creaming โดยใช้สูตร คือ % creaming $= 100(H_S/H_E)$



3.3.2.3 วิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญของน้ำมันมะนาวโดยใช้เครื่อง GC-O และ GC-MS (สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก) โดยทำการวิเคราะห์เพื่อบ่งชี้ว่าสารให้กลิ่นรสใดคือสารให้กลิ่นที่สำคัญในน้ำมันมะนาวด้วยเครื่อง GC-O หลังจากนั้นจะได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญดังกล่าวในน้ำมันมะนาว ที่ผลิตเป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำทั้ง 3 ระบบคือ single-layer GA, single-layer SDS และ double-layer SDS-Chitosan ด้วยเครื่อง GC-MS เพื่อสามารถช่วยให้วิเคราะห์ได้ว่าการผลิตอิมัลชั่นระบบใดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวได้มากกว่า

3.3.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ของอิมัลมัลชั่นที่ผลิตทั้ง 3 ระบบ โดยการบรรจุอิมัลชันทั้ง 3 ระบบลงในขวดสีชาและนำไปเก็บไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิคงที่ที่ 20-22 องศาเซลเซียล เป็นระยะเวลา 8 เดือน แล้วทำการติดตามปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญที่วิเคราะห์ได้จากข้อ 3.3.2.3 รวมทั้งปริมาณสารที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ซึ่งเกิดจากการลดลงของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญ ได้แก่ ลิโมนีนออกไซด์ (limonene oxide) และ คาร์โวน(carvone) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบลิโมนีน และ เบอร์นีออล (borneol) รวมทั้ง เฟนชอล (fenchol) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบซิตรัล ทุกๆ 1 เดือนเป็นระยะเวลา 8 เดือนด้วยเครื่อง GC-MS

3.3.2.5 ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของน้ำมันมะนาว เมื่อพบว่ามีปริมาณสารให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เริ่มเกิดขึ้นโดยสังเกตุจากผลการวิเคราะห์ทางเคมี โดยการผสมน้ำมันมะนาว (ปริมาณสุดท้ายมีปริมาณน้ำมันมะนาวคิดเป็น 0.05% โดยน้ำหนัก) ที่ผ่านการผลิตเป็นอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบเปรียบเทียบกับน้ำมันมะนาวที่ไม่ได้ผ่านการผลิตอิมัลชั่น (ปริมาณ 0.05% โดยน้ำหนัก) ในเครื่องดื่มน้ำมะนาว และเสิร์ฟขณะเย็น โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในเรื่องของความแตกต่างของตัวอย่าง โดยใช้การทดสอบแบบสามเหลี่ยม (triangle test) (ดูรายละเอียดในภาคผนวกภาคผนวก ข)

3.3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการทดลองจะทำซ้ำเป็นจำนวน 3 ครั้งและใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 15 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

3.3.3 การศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างของความเข้มข้นโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็น มิลลิโมลาร์) และ ไคโตซาน (หน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์) ในการเตรียมระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ของน้ำมันมะนาว ต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

3.3.3.1 เตรียมอิมัลชันในระบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว โดยอาศัยเทคนิค *LbL* electrostatic deposition (ตามข้อ 3.3.2.1(ค)) ด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกันของปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (มิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ดังนี้ 1:1, 6:1, 12.5:1, 1:2, 6:2, 12.5:2, 1:3, 6:3 และ 12.5:3 ตามลำดับ

ก) ศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันในด้านต่อไปนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซาน

- ลักษณะลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชันโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ ทำการถ่ายภาพ โดยนำอิมัลชันหยดลงบนแผ่นสไลด์และปิดด้วย cover slide จากนั้นนำไปส่องดูโครงสร้างทางจุลภาคของอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์พร้อมทำการถ่าภาพโครงสร้างทางจุลภาคของอิมัลชั่นด้วยกล้องถ่ายภาพแบบดิจิตอลที่เชื่อมต่อเข้ากับกล้องจุทรรศน์

- วิเคราะห์ขนาดของ oil droplet และการกระจายของขนาดของ oil droplet โดยการวัดโดยใช้ laser light scattering

ข) นำอัตราส่วนที่เลือกได้ข้อ ก) มาวิเคราะห์การแยกชั้นครีม ตามการทดลองข้อ 3.3.2.2

3.3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นที่สำคัญ ตามข้อ 3.3.2.3 ที่เปลี่ยนไปตามระยะเวลาการเก็บในน้ำมันมะนาวที่ผลิตเป็นอิมัลชันแบบ double layer-SDS-Chitosan โดยใช้เครื่อง GC-MS เพื่อสามารถช่วยให้วิเคราะห์ได้ว่าการผลิตอิมัลชั่นโดยใช้สารอิมัลซิฟายเออร์ด้วยอัตราส่วนใดที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวได้ดีที่สุด (การทดลองตามข้อ 3.3.2.4)

3.3.3.3 ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำมันหอมระเหยมะนาว เมื่อพบว่ามีปริมาณสารให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เริ่มเกิดขึ้น โดยการผสม น้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการผลิตเป็นอิมัลชันด้วยอัตราส่วนที่ได้ตามข้อ 3.3.1.1 เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยมะนาวที่ไม่ได้ผ่านการทำอิมัลชั่น (การทดลองตามข้อ 3.3.2.5)

3.3.3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการทดลองจะทำซ้ำเป็นจำนวน 3 ครั้งและใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 15 แบบ anova เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

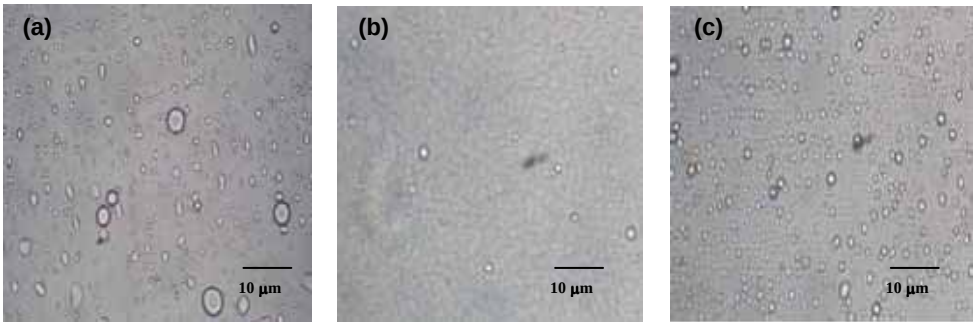
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส ของอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบคือ 1) ระบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้กัมอาบิคเป็นสารให้ความคงตัว (single-layer GA) 2) ระบบซิงเกิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตเป็นสารให้ความคงตัว (single-layer SDS) และ 3) ระบบดับเบิ้ลเลเยอร์โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว (double-layer SDS-Chitosan)

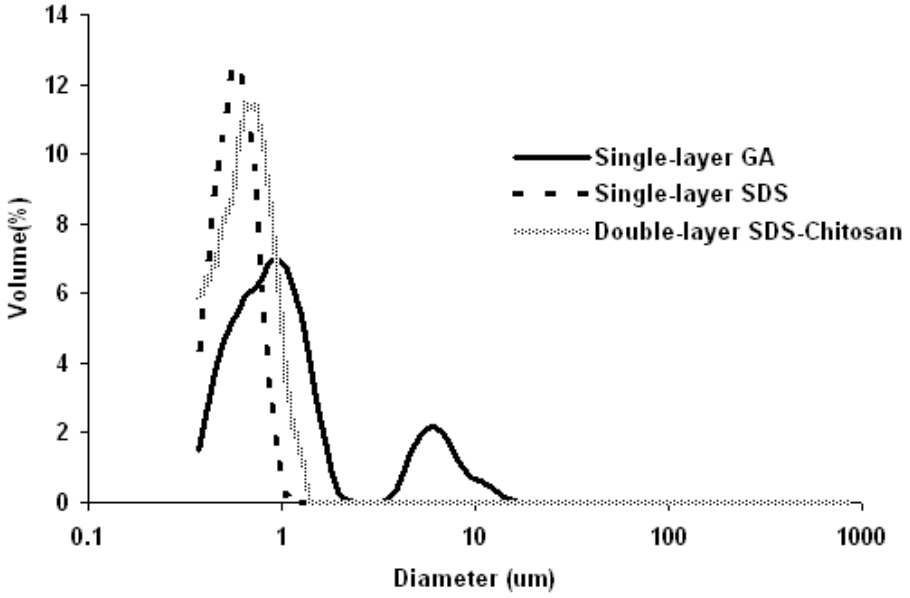
4.1.1 การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพในส่วนของลักษณะทางจุลภาคและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่น รวมทั้งการแยกชั้นครีม

ลักษณะทางจุลภาคและการกระจายตัวของขนาดของอนุภาค oil drioplet ในอิมัลชั่นเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถบ่งบอกถึงความคงตัวของอิมัลชั่น ซึ่งเกี่ยวข้องสัมพันธ์โดยตรงกับประสิทธิภาพของสารอิมัลซิฟายเออร์ ประสิทธิภาพของอุปกรณ์และสภาวะที่ใช้กระบวนการผลิต รวมถึงความสมดุลของส่วนผสมต่างๆ ที่ใช้ผลิตอิมัลชั่น โดยภาพที่ 11 แสดงอนุภาคน้ำมันในอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบและภาพที่ 12 แสดงการกระจายตัวของขนาด oil droplet ในอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่วัดได้โดยเครื่อง laser light scattering technique พบว่าอนุภาค oil droplet ของอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบมีค่าการกระจายตัวของขนาดอยู่ระหว่าง 0.4 – 10 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับที่ Dickkinson และ Stainsby (1982) และ Dickinson (1992) ที่ได้รายงานไว้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่ที่อยู่ในรูปอิมัลชั่นควรมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค oil droplet อยู่ระหว่าง 0.1 – 100 ไมโครเมตร นอกจากนี้แล้ว ภาพที่ 11 และ 12 ยังแสดงให้เห็นอีกด้วยว่าลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคของอิมัลชั่นเริ่มต้นที่สังเกตุได้จากการใช้กล้องจุลทรรศน์และการวัดการกระจายตัวของขนาดดร็อปเล็ทนั้น มีความสอดคล้องกัน โดยพบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของอนุภาคดร็อปเล็ท (d_{32})ในระบบอิมัลชั่น single layer-GA, single layer- SDS และ double layer SDS-Chitosan คือ 1.8, 0.5 และ 0.7 ไมโครเมตร ตามลำดับและพบว่าลักษณะของกราฟที่แสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet เป็นแบบ monomodal สำหรับอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ซึ่งข้อมูลที่ได้มีความใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Djordjevic และคณะ (2007) ที่ได้ทำการทดลองศึกษาลักษณะทาง

กายภาพของอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำของสารประกอบซิตรัลและลิโมนีนแบบ single layer-GA, single layer-SDS และ double layer-SDS-Chitosan โดยพบว่าค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาคดร็อปเล็ทของ single-layer GA single-layer SDS และ double-layer SDS-Chitosan คือ 1.1, 0.25 และ 0.41 ตามลำดับ

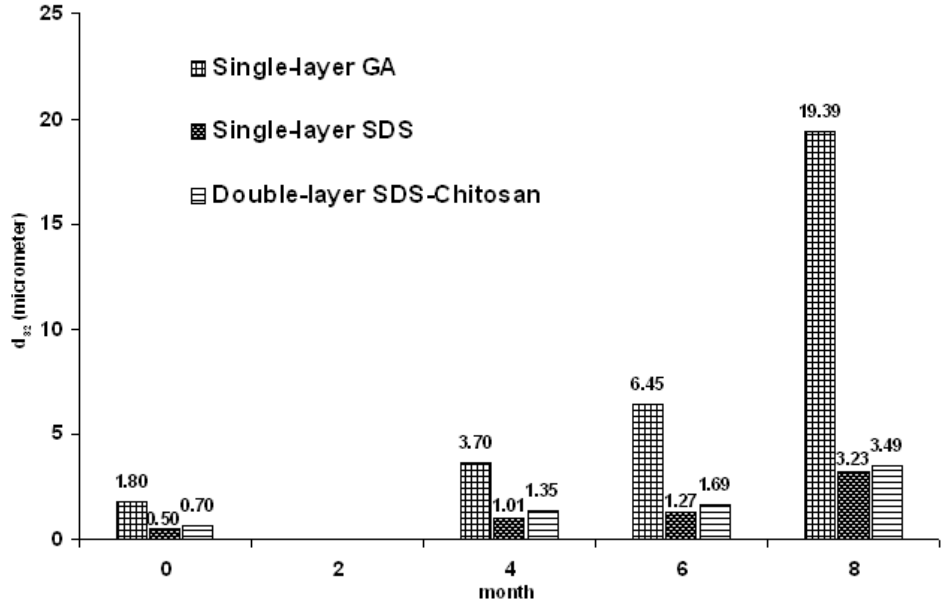


ภาพที่ 11 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นสังเกตุด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย X100 ของอิมัลชั่นระบบ (a) single layer- GA (b) single layer-SDS และ (c) double layer SDS-Chitosan

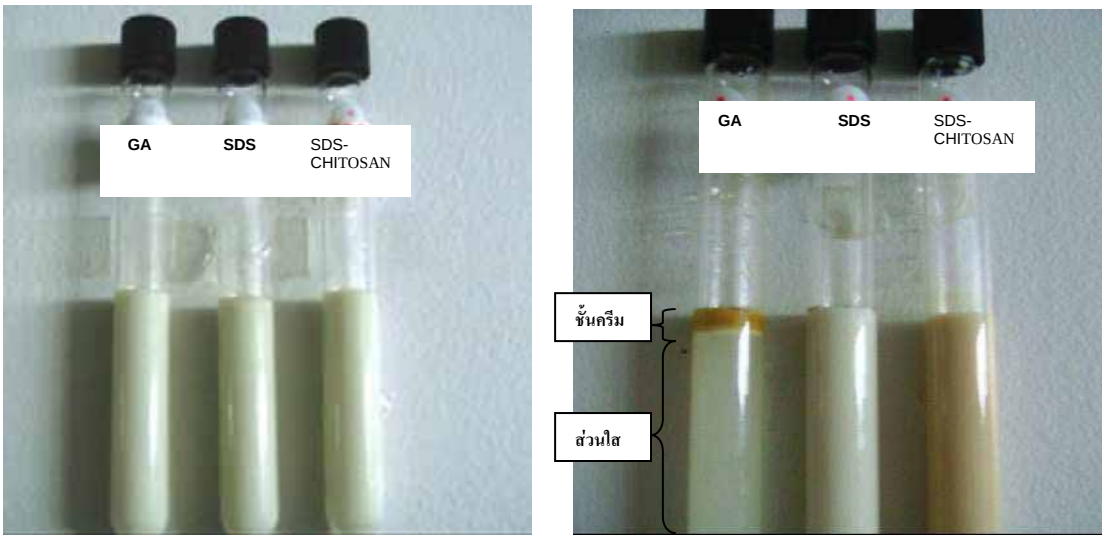


ภาพที่ 12 กราฟแสดงลักษณะการกระจายตัวของขนาด oil droplet ในระบบอิมัลชั่น (1) single layer - GA (2) single layer - SDS และ (3) double layer SDS-Chitosan ตามลำดับ

จากการศึกษาการกระจายตัวของ oil droplet ที่ระยะเวลาการเก็บที่ 4 6 และ 8 เดือน พบว่า oil droplet มีขนาดเพิ่มขึ้นทั้ง 3 ระบบแต่อย่างไรก็ตามพบว่าขนาดของ oil droplet ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single-layer GA มีการเพิ่มขึ้นมากที่สุด (ภาพที่ 13) โดยพบว่ามีค่า d_{32}เพิ่มขึ้นจาก 1.8 ไมโครเมตรเป็น 3.70, 6.45 และ 19.40 ไมโครเมตร ที่เดือนที่ 4, 6 และ 8 เดือน ตามลำดับ ในขณะที่ในระบบอิมัลชั่น single-layer SDS มีการเปลี่ยนแปลงจาก 0.5 ไมโครเมตร ไปเป็น 1.01, 1.27 และ 3.23 ไมโครเมตร ตามลำดับ และ double-layer SDS-Chitosan มีการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคดร็อปเล็ทจาก 0.7 ไมโครเมตร ไปเป็น 1.35, 1.69 และ 3.50 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการแยกชั้นครีม(ภาพที่ 14 และ ตารางที่ 3) โดยพบว่า single layer - GA มีค่าเปอร์เซ็นต์ครีมมิ่ง เป็น 0 ที่ระยะการเก็บที่เดือนที่ 0-3 แต่ว่าในเดือนที่ 4-8 มีการเกิดการแยกชั้นครีมเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บคือ 30, 42, 56, 65 และ 70 % ตามลำดับ ในขณะเดียวกันไม่พบการแยกชั้นครีม ในระบบอิมัลชัน single layer- SDS และ double layer SDS Chitosan แต่อย่างไรก็ตามพบว่า single-layer SDS มีหยดน้ำมันลอยด้านบน ตั้งแต่ในเดือนที่ 6 เป็นต้นไป



ภาพที่ 13 กราฟแสดงค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาคดร็อปเล็ทในระบบอิมัลชั่น (1) single-layer GA (2) single-layer SDS และ (3) double-layer SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษาที่ 0, 4, 6 และ 8 เดือน ตามลำดับ



ภาพที่ 14 ลักษณะปรากฏและการเกิดการแยกชั้นครีมของระบบอิมัลชัน ทั้ง 3 ระบบคือ Single layer - GA, Single layer-SDS และ Double layer -SDS-Chitosan ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ a) 0 เดือน และ b) 8 เดือน

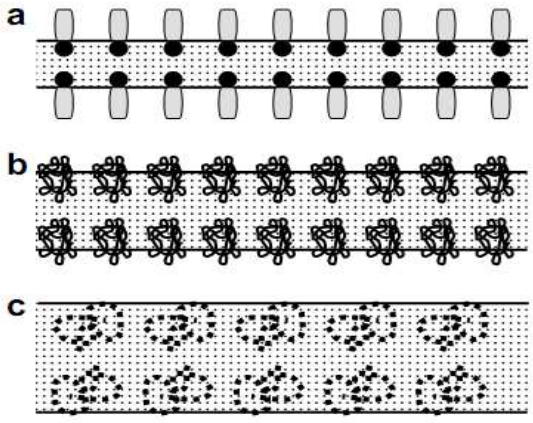
ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดครีมมิ่งในอิมัลชั่นระบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่ระยะเวลาการเก็บรักษานาน 0-8 เดือน

Storage Time	% Creaming		
(months)	Single layer-GA	Single layer-SDS	Double layer-SDS-Chitosan
0	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	30	0	0
5	42	0	0
6	56	0*	0
7	65	0*	0
8	70	0*	0

* คือมีลักษณะเป็นน้ำมันลอยอยู่ส่วนบนของอิมัลชั่น

จากข้อมูลที่ได้ทางกายภาพในเบื้องต้นของการผลิตอิมัลชั่นสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพการเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ใช้ในระบบอิมัลชั่นที่สามารถช่วยผลิตดรอปเล็ทให้มีขนาดเล็กในระหว่างการโฮโมจิไนเซชั่น จะมากที่สุดใน single layer- SDS, double layer SDS-Chitosan และ single layer- GA ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโซเดียมโดดิซิลซัลเฟเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่มีขนาดของโครงสร้างโมเลกุลเล็ก จึงทำให้มีความสามารถในการเคลื่อนที่เข้าไปดูดซับที่ผิวของ oil droplet ได้อย่างรวดเร็วจึงช่วยให้สามารถผลิตดรอปเล็ทขนาดเล็กในระหว่างกระบวนการโฮโมจิไนเซชั่นได้ ในขณะที่กัมอาราบิคนั้นมีโครงสร้างมเลกุลที่ใหญ่กว่า นอกจากนี้แล้วเมื่อพิจารณาถึงค่า HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) พบว่าโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตมีค่า HLB เท่ากับ 40 ซึ่งถือเป็น strongly hydrophilic surfactant (Akoh และ Min, 2008) ในขณะที่ กัมอาราบิคมีค่า HLB เท่ากับ 11.9 โดยค่า HLB เป็นตัวเลขที่บ่งชี้ถึงสัดส่วนของการดึงดูดของสารลดแรงตึงผิวกับน้ำมันและน้ำ หากมีค่าสูงจะมีอัตราส่วนของหมู่ที่ชอบน้ำต่อหมู่ที่ชอบน้ำมันสูงหรือสามารถบ่งชี้ถึงความสามารถในการละลายในน้ำมันหรือน้ำจึงสามารถใช้คาดคะเนถึงชนิดของอิมัลชั่นที่เกิดขึ้นได้ (Scharamm, 2005) สารอิมัลซิฟายเออร์ที่มีค่า HLB ต่ำ(3-6) จะมีลักษณะไม่ชอบน้ำ ในขณะที่ค่า HLB สูง (8-18) จะมีลักษณะชอบน้ำจึงมักถูกใช้เป็นสารให้ความคงตัวแก่อิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำ และจากคุณสมบัติดังกล่าวจึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต มีความสามารถดูดซับไปที่ผิวของดรอปเล็ทหรือหยดน้ำมันในระหว่างการโฮโมจีไนเซชั่นได้ดีและรวดเร็วมากกว่ากัมอาราบิค ซึ่งสอดคล้องกับที่ Dikinson (2009) (ดูภาพที่ 15) ได้แสดงความสัมพันธ์ของความหนาของชั้นฟิล์มที่ปกคลุมอนุภาคของ oil droplet ของระบบอิมัลชั่นที่ใช้สารให้ความคงตัวแตกต่างกันจากน้อยไปมากได้แก่ สารลดแรงตึงผิว (0.5-1 nm) < โปรตีน (1-5 nm) < ไฮโดรคอลลอยด์ (5-10 nm) และจากคุณสมบัติที่โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีคุณสมบัติเป็นแอนไอออนิกจึงทำให้อนุภาคดรอปเล็ทถูกปกคลุมไปด้วยประจุลบซึ่งเพียงพอที่จะช่วยปกป้องการเกิด aggregation โดยอาศัยแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อศึกษาถึงความคงตัวทางกายภาพในระยะยาว (การศึกษาการเกิดการแยกชั้นครีม) พบว่า double layer SDS-Chitosan จะช่วยเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชั่นได้ดีกว่า โดยเป็นไปได้ว่าไคโตซานซึ่งเป็นสารประกอบที่มีประจุบวกได้ไปหุ้มอยู่รอบๆโมเลกุลของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตที่มีประจุลบโดยผ่านแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต และทำให้เกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลเล็ก (nanostructure) ของสารประกอบเชิงซ้อนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน (Kotz และคณะ, 2001) โดยอนุภาค oil droplet ที่ถูกปกคลุมด้วยสารประกอบเชิงซ้อนนี้จะถูกปกคลุมด้วยประจุบวกซึ่งอาจมีมากเพียงพอที่จะช่วยป้องกันการเกิดการเกาะรวมกันของ oil droplet ได้ โดยอาศัยแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต รวมทั้งสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้อนุภาค oil droplet

ถูกปกคลุมด้วยชั้นที่หนามากขึ้น ซึ่งอาจช่วยทำหน้าที่เป็นเยื่อหุ้มปกป้องอนุภาค oil droplet ได้ดี ทำให้อนุภาค oil droplet ไม่มารวมกันหรือเกาะกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่ออิมัลชั่นมีการเก็บไว้ที่เวลานานขึ้น รวมทั้งสารประกอบเชิงซ้อนนี้จะไปช่วยเพิ่มความหนาแน่นโดยรวมของอนุภาคดร็อปเล็ท ดังนั้นจึงเป็นการช่วยลดความแตกต่างของความหนาแน่นระหว่างอนุภาคดร็อปเล็ทและสารละลายจึงช่วยให้สามารถช่วยลดแรงกระทำที่ส่งผลให้ระบบอิมัลชั่นเกิดการแยกชั้นครีม ที่เกิดจากแรงดึงดูดของโลกได้ (gravitation separation) (Friberg และคณะ 2004; McClements, 1999; Stauffer, 1999) และสำหรับอิมัลชั่นที่ใช้กัมอาราบิคเป็นสารให้ความคงตัวนี้จากการทดลอง จะเห็นได้ชัดเจนว่ามีการเพิ่มขึ้นของขนาดของดร็อปเล็ทเมื่อระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น และเกิดการแยกชั้นครีมขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ปริมาณกัมอาราบิคที่ถูกใช้ในปริมาณมากในการทำอิมัลชั่นเพื่อต้องการให้เกิดการปกคลุมที่พื้นผิวสัมผัสร่วมของอนุภาคดร็อปเล็ทได้อย่างสมบูรณ์เพื่อให้การอิมัลซิฟายเกิดได้ดีที่สุด จึงอาจทำให้ปริมาณกัมอาราบิคที่ไม่ถูกดูดซับมีปริมาณมากในเฟสต่อเนื่องเป็นผลให้เกิดความไม่คงตัวแบบ depletion flocculation ขึ้น จึงทำให้ดร็อปเล็ทเกิดการเกาะกันได้มากขึ้นเป็นผลให้ระบบอิมัลชั่นเกิดความไม่คงตัวได้ หรือเป็นไปได้อีกว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้นจะมีสารประกอบที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น และเมื่อมากถึงระดับหนึ่งอาจทำให้สารประกอบเหล่านี้เข้าไปแทนที่กัมอาราบิคที่บริเวณพื้นผิวดร็อปเล็ทซึ่งเป็นการเพิ่มการเกาะกลุ่มกันของดร็อปเล็ททำให้ระบบอิมัลชั่นเกิดความไม่คงตัวขึ้นได้ (Djordjevic และคณะ, 2007)



ภาพที่ 15 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของความหนาของชั้นฟิล์มที่ปกคลุมอนุภาคน้ำมันของสารให้ความคงตัวต่างๆกัน คือ (a) สารลดแรงตึงผิว (0.5-1 nm) (b) โปรตีน (1-5 nm) และ (c) ไฮโดรคอลลอยด์ (5-10 nm)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Dikinsion (2009)

4.1.2 การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญของน้ำมันมะนาวโดยใช้เครื่อง GC-O และ GC-MS

GC-O เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์กลิ่นรสโดยการใช้ระบบประสาทสัมผัสของมนุษย์ในการดมกลิ่น และบอกคุณลักษณะของกลิ่นตามที่ผู้ทดสอบคุ้นเคย วิธีนี้จะสามารถใช้วิเคราะห์หาสารประกอบระเหยที่ให้กลิ่นรสหลัก (key components) ได้จริง เนื่องจากสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสบางชนิดอาจไม่ให้กลิ่นแม้ว่าจะสามารถตรวจพบได้ในปริมาณมากก็ตาม ซึ่งในการทดลองนี้จะคัดเลือกเฉพาะสารประกอบที่ระเหยได้ที่ผู้ทดสอบจำนวน 4 คนขึ้นไปจากผู้ทดสอบทั้งหมดจำนวน 6 คนสามารถได้กลิ่น โดยจะถือว่าสารประกอบระเหยได้เหล่านี้เป็นสารให้กลิ่นรสหลักในน้ำมันมะนาว ซึ่งจะได้ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นรสหลักเหล่านี้ในขั้นตอนต่อไป โดยจะนำมาวิเคราะห์หาค่า Linear Retension time Index (LRI) โดยการฉีดสารมาตรฐานอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอนด์อะตอมตั้งแต่ 8 ถึง 20 อะตอมและคำนวณหาค่า LRI ตามรายละเอียดที่ให้ไว้ในภาคผนวก ก จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่า LRI จากการใช้เครื่อง GC-MS ผลของการวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่สำคัญในน้ำมันมะนาวสดได้รายงานไว้ในตารางที่ 4

ซึ่งจากตารางจะเห็นได้ว่าสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่สำคัญในน้ำมันมะนาวสดได้แก่ เบต้าไพนีน (β- pinene) ดี- ลิโมนีน (D-Limonene) แอลฟาเทอพีนีออล (α-terpineol) เนรอล (Neral or Citral b) และ เจอราเนียล (Geranial or Citral a) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dugo และ คณะ (2002) ที่ได้รายงานว่าสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่สำคัญในน้ำมันมะนาวคือ Citral (Citral a และ Citral b) และสารประกอบอื่นๆ ได้แก่ D-Limonene, γ-terpinene, α และ β- pinene

ตารางที่ 4 สารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นรสที่สำคัญของน้ำมันมะนาวสดที่วิเคราะห์พบจากการตรวจด้วยเครื่อง GC-Oและเครื่อง GC-MSโดยวิธี direct injection

Peak no.	LRI[R]	LRI[1]	สารประกอบ[2]	ความเข้ม (n)[3]	การบรรยายกลิ่นที่ได้
1	981	978	β-pinene	4	หวาน กลิ่นมะนาว
2	1033	1033	D-limonene	6	ซิตรัส กลิ่นมะนาว
3	1056	1064	α-Ocimene	ไม่มี	เฮิร์บ หวาน
4	1074	1083	γ-terpine	1	ซิตรัส เฮิร์บ
5	1195	1190	α-terpineol	4	หวาน เฮิร์บ ยี่หร่า
6	1247	1243	Neral	6	กลิ่นมะนาว
7	1277	1277	Geranial	6	กลิ่นมะนาว
8	1340	1350	δ-elemene	1	กลิ่นไม้
9	1382	1376	Geranyl acetatee	2	ฟรุตตี้ ฟอรัล กุหลาบ
10	1395	1385	Dodecanal	ไม่มี	ถั่ว หญ้าแห้ง
11	1405	1396	α-Cedrene	ไม่มี	ไม่สามารถระบุได้
12	1446	1440	(*Z*)- β-Santalene	ไม่มี	ไม่สามารถระบุได้
13	1452	1462	(*Z*)- β-Farnesense	ไม่มี	ไม่สามารถระบุได้
14	1461	1481	Germacene D	3	ไม้ เครื่องเทศ
15	1474	1484	Valencene	ไม่มี	กลิ่นไหม้ กลิ่นควัน
16	1515	1510	(*E*)- β-Farnesense	1	ฟอรัล กลิ่นควัน
17	1520	1530	(*E*)- γ-Bisabolol	1	ไม้ บาซามิค
18	1533	1543	γ-Elemene	1	กลิ่นเขียว ไม้ น้ำมัน
19	1584	1598	α-Bisabolol	1	ดอกไม้ เครื่องเทศ
20	1594	1606	Tetradecanal	1	ไม่สามารถระบุได้
21	1870	1885	Hexadecanal	1	ดอกไม้ กลิ่นแวกซ์
22	1976	1965	n-Hexadecanoic acid	ไม่มี	ไม่สามารถระบุได้

LRI[R] หมายถึง Linear retension time index ซึ่งบ่งชี้โดย Kovats RI จาก www.flavornet.org

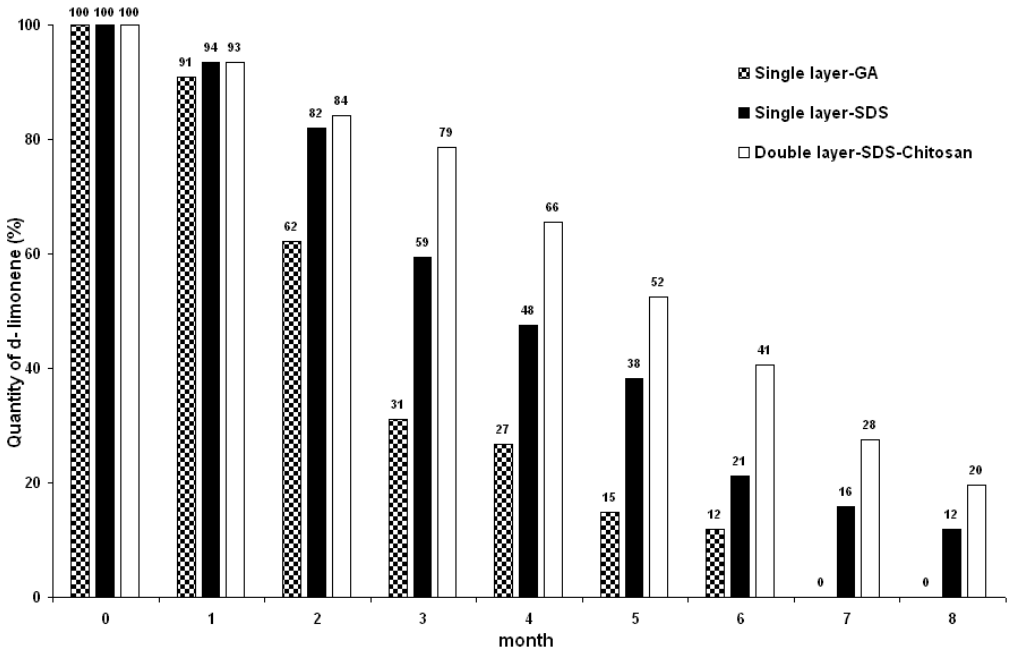
LRI[1] หมายถึง Limear retension time index จากการคำนวณโดยการใช้เครื่อง GC-O และ GC-MS

[2] หมายถึง สารประกอบได้จาก mass spectrum เทียบกับ HP Wiley 275 library

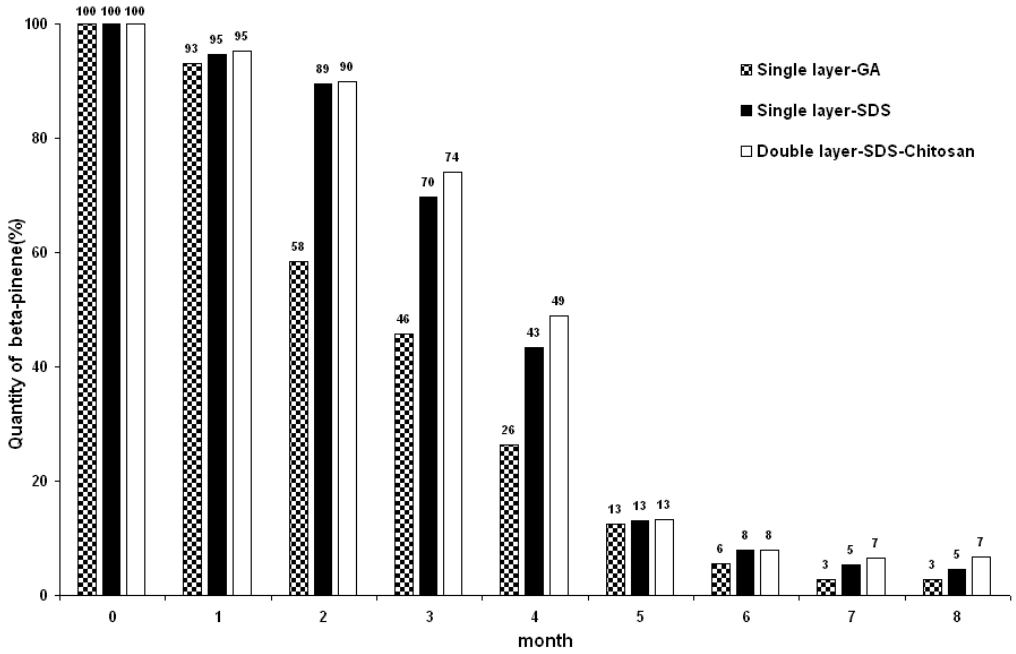
[3] หมายถึง จำนวนของผู้ทดสอบที่ได้กลิ่นจากผู้ทดสอบทั้งหมด 6 คน

4.1.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในอิมัลชันที่ผลิตทั้ง 3 ระบบ

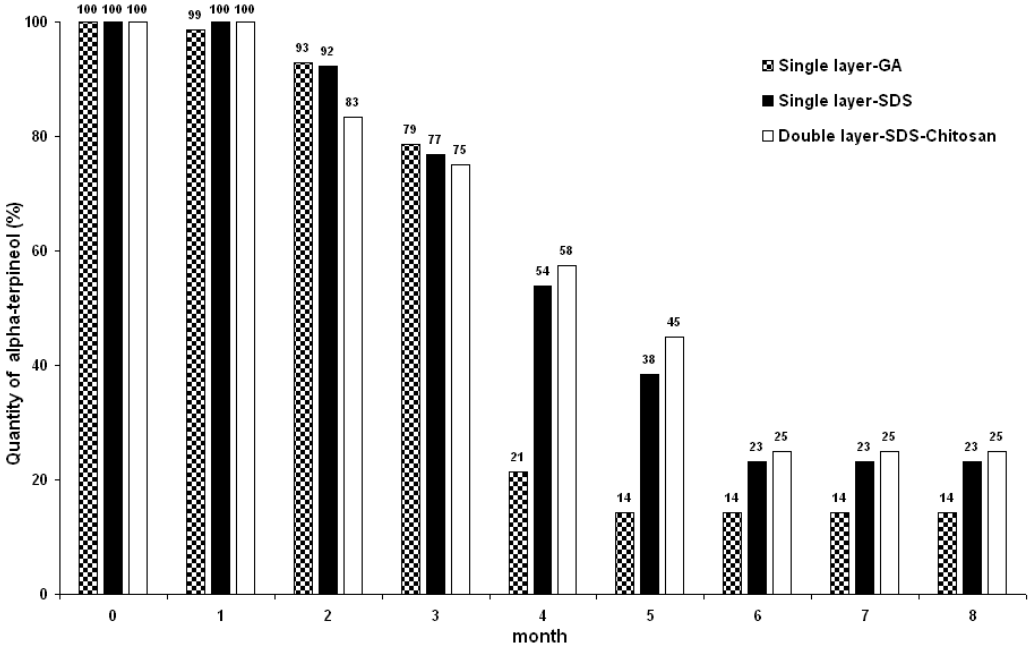
การวิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นรสหลัก 5 ตัวในน้ำมันมะนาวคือ d-limonene, β-pinene, α-terpineol, neral และ geranial และสารประกอบที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ คือ limonene oxide, carvone, borneol และ fenchol ด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้เทคนิควิธี direct injection โดยทำการวิเคราะห์ทุกๆ 1 เดือน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือน ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 16-18 สำหรับสาร d-limonene, β-pinene และ α-terpineol ตามลำดับ ซึ่งกราฟแสดงปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยให้ปริมาณสารตั้งต้นที่เวลา 0 เดือนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณจริง (mg/ml ของอิมัลชั่น) ของทุกการทดลองได้แสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ค จากภาพจะพบว่าปริมาณของสารสำคัญซึ่งเป็นสารประกอบประเภทเทอร์พีน โดยเฉพาะ d-limonene ซึ่งถือเป็นสารประกอบที่สำคัญที่พบมากและให้กลิ่นในน้ำมันมะนาว จะมีปริมาณลดลงเนื่องจากปฏิกิริยาต่างๆ ได้แก่ acid-catalyzed cyclization และปฏิกิริยาออกซิเดชัน และจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสารประกอบพวกคีโตนและอิปอกไซด์ซึ่งได้แก่ limonene oxide, carvone และ borneol (Djordjevic และคณะ, 2008) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์



ภาพที่ 16 ปริมาณ (%) ของ D-limonene ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่เวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



ภาพที่ 17 ปริมาณ (%) ของ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่เวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



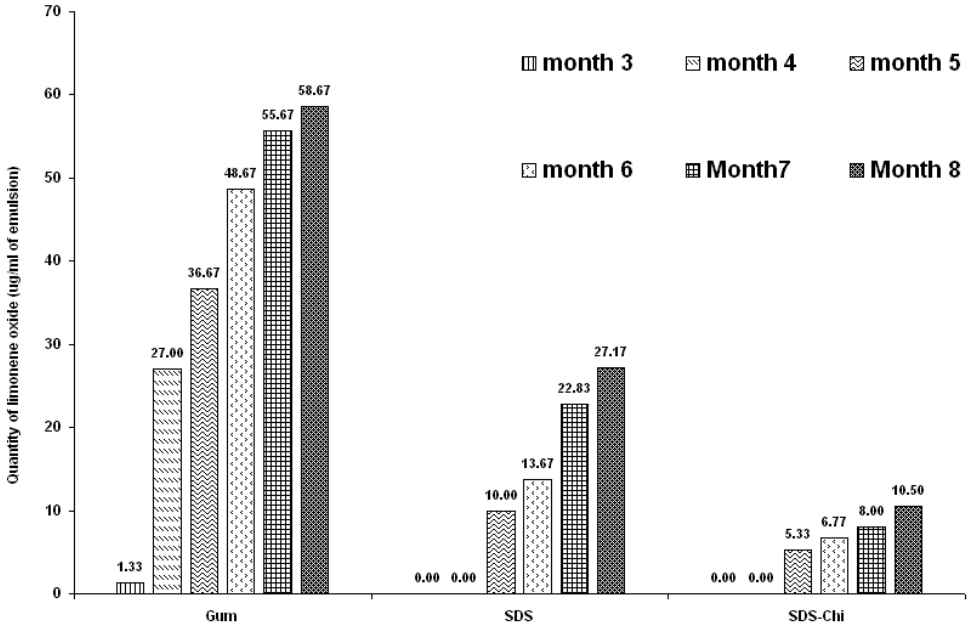
ภาพที่ 18 ปริมาณ (%) ของ α-terpineolในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่เวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

จากผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่าปริมาณของสารสำคัญ ได้แก่ d-limonene ในอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบนั้น มีแนวโน้มลดลงมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากเดือนที่ 1 จนถึงเดือนที่ 8 โดยในระบบอิมัลชั่น single layer-GA นั้นมีการลดลงของ d-limonene จากปริมาณเริ่มต้นมากที่สุด รองลงมาได้แก่ single layer-SDS และ double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณของ β-pinene และ α-terpineol มีการลดลงตามเวลามากที่สุดเช่นเดียวกันใน single layer-GA แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการลดลงตามเวลาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$) ระหว่าง 2 ระบบคือ single-layer SDS และ double-layer SDS-Chitosan ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Djordjevic และคณะ (2007) ที่ได้ทำการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารประกอบซิตรัลและลิโมนีนในอิมัลชั่นระบบน้ำมันในน้ำแบบ Double layer-SDS-chitosan เปรียบเทียบกับ Single layer –SDS และ Single layer-GA โดยการศึกษาความคงตัวของลิโมนีนนี้ ปริมาณของลิโมนีนถูกติดตามระหว่างการเก็บรักษาในที่มืดและมีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 14 วัน พบว่าสารประกอบลิโมนีน มีความคงตัวมากกว่าในอิมัลชั่นระบบ Double layer-SDS-Chitosan รองลงมาคือระบบ Single layer-SDS และระบบ Single layer-GA ตามลำดับ โดยพบว่าการลดลงของลิโมนีนเริ่มเกิดขึ้นในอิมัลชั่น Double layer- SDS-Chitosan เมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 2 วัน ในขณะที่ลิโมนีนในระบบ Single layer -GA และ Single layer-SDS มีการลดลงเป็นจำนวน 33.1% และ 15.4% หลังจากการเก็บเพียง 1 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้หลังจากการเก็บเป็นเวลา 14 วันพบว่ามีการลดลงของปริมาณลิโมนีนเป็น 45.5% และ 33.1% ใน Single layer –SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับในขณะที่ Single layer-GA มีอัตราการลดลงมากถึง 75%

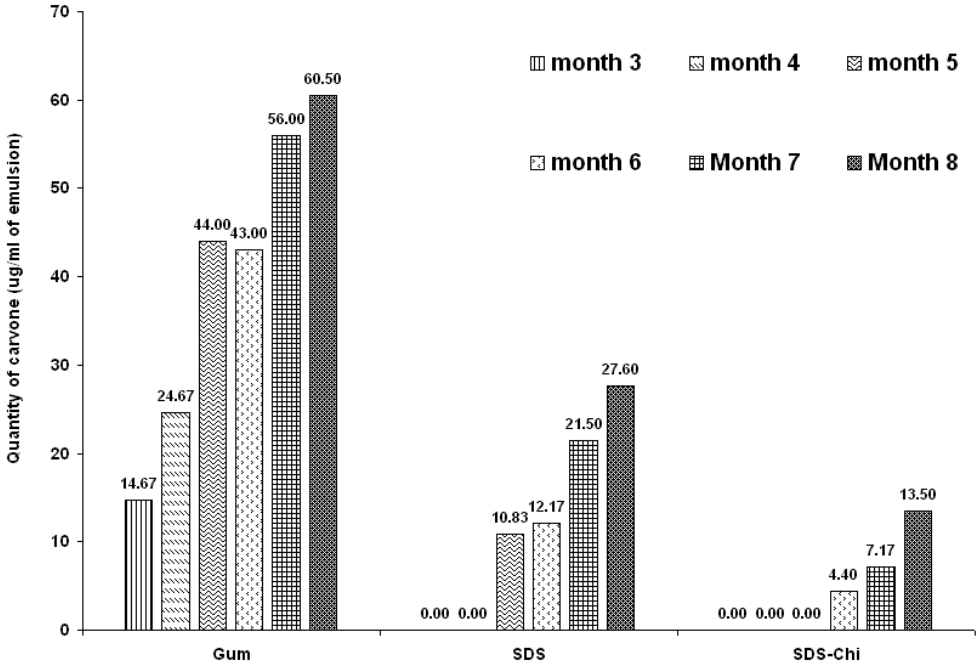
การลดลงของสารประกอบ d-limone ดังแสดงในภาพที่ 16 สอดคล้องกับการเกิดขึ้นของสารประกอบ limonene oxide และ carvone ซึ่งเป็นสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ ที่เกิดจากการปฏิกริยาออกซิเดชั่นของ d-limonene ดังแสดงในภาพที่ 19 -20 จากภาพจะพบว่าสารประกอบนี้เกิดขึ้นในทุกระบบอิมัลชั่น โดยทั้งสารประกอบ limonene oxide และ carvone จะถูกพบใน Single layer-GA หลังจากการเก็บที่ 3 เดือน และพบในเดือนที่ 5 ใน Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan จากภาพที่ 19 แสดงให้เห็นว่าในระบบ single layer-GA นั้นปริมาณ limonene oxide (ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตรของอิมัลชั่น) เพิ่มขึ้นจาก 1.33 ในเดือนที่ 3 ของการเก็บไปเป็น 58.67 ในเดือนที่ 8 ในขณะที่ปริมาณสารดังกล่าวในอิมัลชั่นระบบ single layer-SDS เพิ่มขึ้นจาก 10 ในเดือนที่ 5 ไปเป็น 27.67 ในเดือนที่ 8 และในระบบ double layer-SDS-Chitosan นั้นสารประกอบ limonene oxide เพิ่มขึ้นจากเดือนที่ 5 ซึ่งมีปริมาณสาร 5.33 ไปเป็น

10.33 ในเดือนที่ 8 โดยที่หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือนแล้วอิมัลชั่นระบบ double layer-SDS-Chitosan มีการเกิดขึ้นของสาร limonene oxide ต่ำที่สุด

และจากภาพที่ 20 พบว่าปริมาณคาร์โวนมีความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของอิมัลชั่น) เพิ่มขึ้นจาก 14.67 ในเดือนที่ 3 ไปเป็น 60.5 ในเดือนที่ 8 ในระบบอิมัลชั่น Single layer-GA และใน Single layer- SDS นั้นจะพบสารประกอบนี้ในเดือนที่ 5 และพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 10.83 ในเดือนที่ 5 ไปเป็น 27.6 ในเดือนที่ 8 ในขณะที่จะพบคาร์โวนในเดือนที่ 6 ในระบบ double layer SDS-Chitosan โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 4.4 ในเดือนที่ 6 ไปเป็น 13.5 ในเดือนที่ 8 จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารประกอบ limonene oxide และ carvone มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นน้อยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในทุกระบบอิมัลชั่น และพบว่าปริมาณของลิโมนีนออกไซด์และคาร์โวน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับ

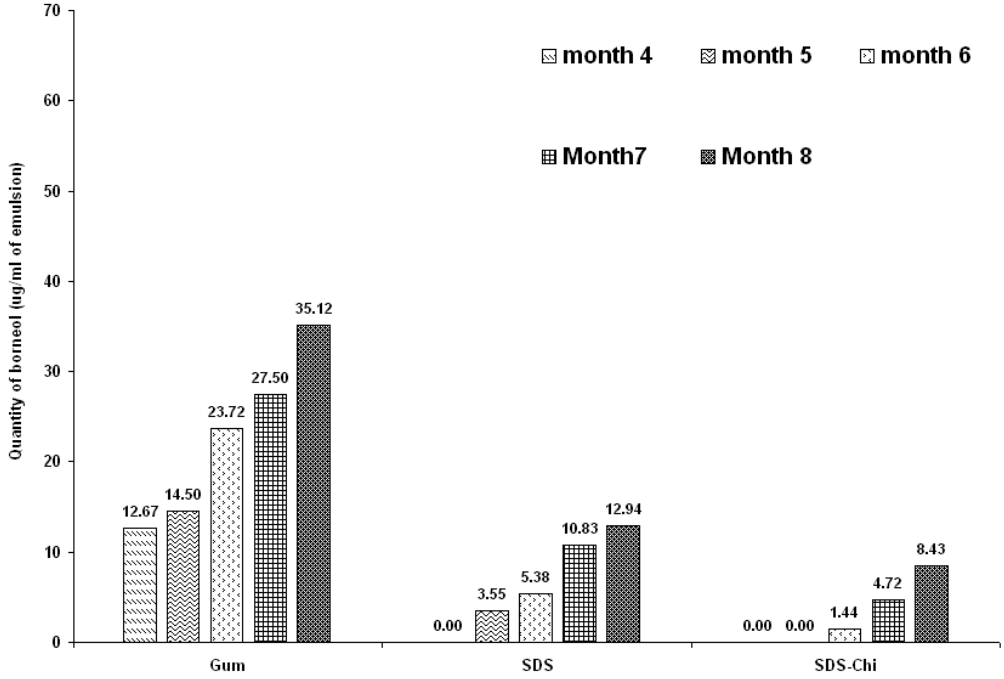


ภาพที่ 19 ปริมาณของ limonene oxide (μg/ml of emulsion)ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บรักษา 0- 8 เดือน



ภาพที่ 20 ปริมาณ carvone (μg/ml of emulsion)ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบที่การเก็บรักษา 0- 8 เดือน

นอกจากนี้แล้วงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเกิดขึ้นของสารประกอบ borneol ซึ่งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ (ภาพที่ 21) โดยสารดังกล่าวนี้เกิดจากปฏิกริยา acid-catalysted cyclization ของสารประกอบประเภทเทอร์พีน คือ pinene โดย borneol ถูกพบในเดือนที่ 4 ในระบบ Single layer-GA ในปริมาณ 12.67 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มขึ้นเป็น 35.12 (μg/ml of emulsion) ในเดือนที่ 8 และในระบบ Single layer-SDS นั้น borneol ถูกพบในเดือนที่ 5 ในปริมาณ 3.55 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มขึ้นเป็น 12.94 (μg/ml of emulsion) ในเดือนที่ 8 ในขณะที่ Double layer-SDS-Chitosan ถูกพบในเดือนที่ 6 ในระบบ ในปริมาณ 1.44 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มขึ้นเป็น 8.43 (μg/ml of emulsion) ในเดือนที่ 8 จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าสารประกอบ borneol ถูกพบซึ่งสามารถเรียงลำดับจากเร็วไปช้าคือ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับ และจากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นได้ว่าปริมาณการเกิดสารประกอบ borneol มีปริมาณมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ใน Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับด้วยเช่นกัน

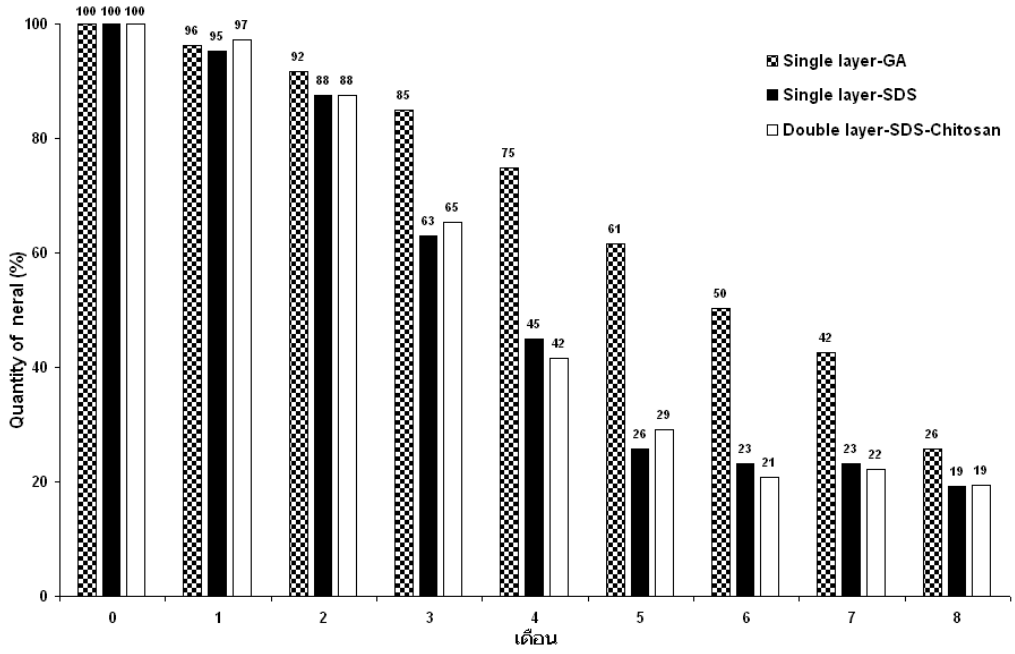


ภาพที่ 21 ปริมาณของ borneol (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่การเก็บรักษา 0- 8 เดือน

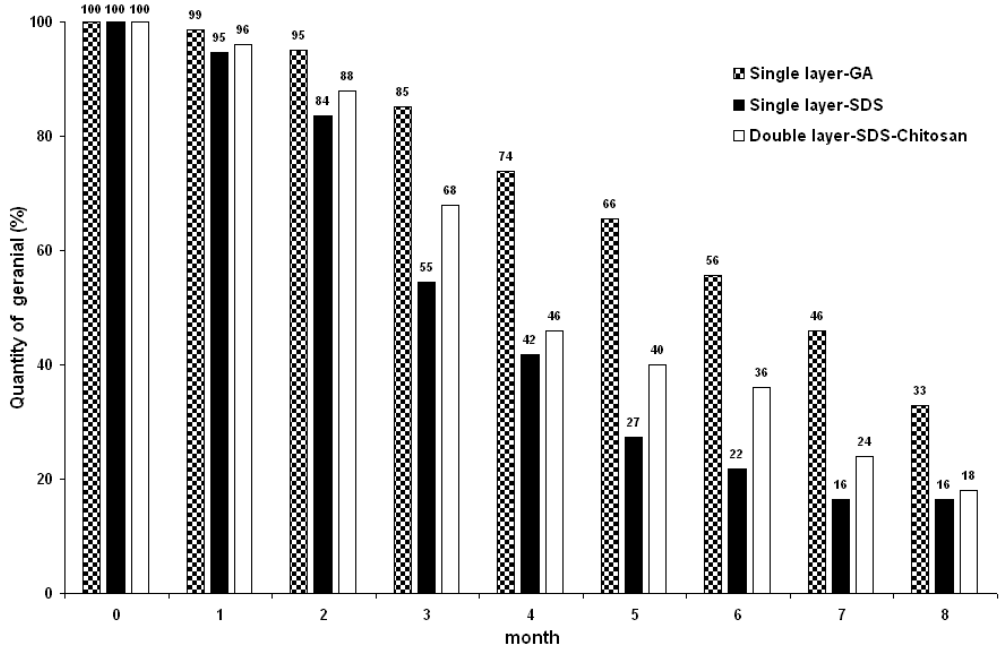
จากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่า Double layer- SDS-Chitosan ช่วยชะลอการลดลงของสารประกอบ d-limonene รวมทั้งลดการเกิดขึ้นหรือสร้างขึ้นของสารประกอบ limonene oxide, carvone และ borneol ได้ดีที่สุด ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าระบบอิมัลชั่นแบบนี้มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ดีกว่าอิมัลชั่นระบบ single layer-GA และ single layer-SDS กลไกนี้อาจสามารถอธิบายได้ว่า โดยทั่วไปปฏิกริยาออกซิเดชั่นนั้นมักจะเกิดที่บริเวณผิวสัมผัสร่วมของอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่น แต่เนื่องจากอนุภาค oil droplet นี้ถูกปกคลุมด้วย double layer ของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน เป็นผลให้ที่บริเวณผิวสัมผัสร่วมนี้ถูกปกคลุมด้วยชั้นของสารให้ความคงตัวที่หนามากขึ้น เป็นเหตุผลให้ช่วยชลอการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่นได้ และในอีกทางหนึ่งอนุภาคของ oil droplet ในระบบ double layer-SDS-Chitosan ถูกปกคลุมด้วยอนุภาคของไคโตซาน เป็นผลให้ดร็อปเล็ทแสดงประจุบวกที่แข็งแรง ทั้งนี้เพราะอนุภาคของไคโตซานจะแสดงประจุเป็นบวกในสภาวะที่เป็นกรด (ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ pH เท่ากับ 3) จึงเป็นผลให้สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้เนื่องจากแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตและแรงผลักทางสเตียริก ในขณะที่กัมอาราบิคนั้นต้องมีปริมาณการใช้ในการผลิตอิมัลชั่นที่มากจึงจะสามารถ

เข้าไปดูดซับที่บริเวณพื้นผิวของ oil droplet ได้อย่างสมบูรณ์ (Dror และคณะ, 2006) ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าปริมาณกัมอาราบิคที่ใช้ในการทำอิมัลชั่นที่มากนี้จะทำให้เกิดความไม่คงตัวแบบ depletion flocculation ซึ่งเป็นผลให้ปริมาณของกัมอาราบิคที่ผิวสัมผัสร่วมลดลง ดังนั้นเมื่อเกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่นเกิดขึ้นจึงเกิดได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น

แต่อย่างไรตามผลการทดลองพบว่าในระบบ Single layer-GA จะมีประสิทธิภาพมากกว่าในการชลอการลดลง ของสารประกอบ neral และ geranial เมื่อเทียบกับระบบ Single layer SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ดังแสดงในภาพที่ 22 – 23 โดยจากภาพจะพบว่าปริมาณ (%) ของ neral ลดลงเหลือ 96, 92, 86, 75, 61, 50, 42 และ 26 % ของปริมาณตั้งต้นที่ระยะเวลาการเก็บ 1-8 เดือน ตามลำดับ ในขณะที่ Single layer-SDS พบว่า neral มีปริมาณลดลงเหลือ 95, 88, 63, 45, 26, 23, 23, 23 และ 19% ตามลำดับ และ Double layer-SDS-Chitosan มีปริมาณลดลงเหลือ 97, 88, 65, 42, 29, 21, 22 และ 19 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่าง Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan

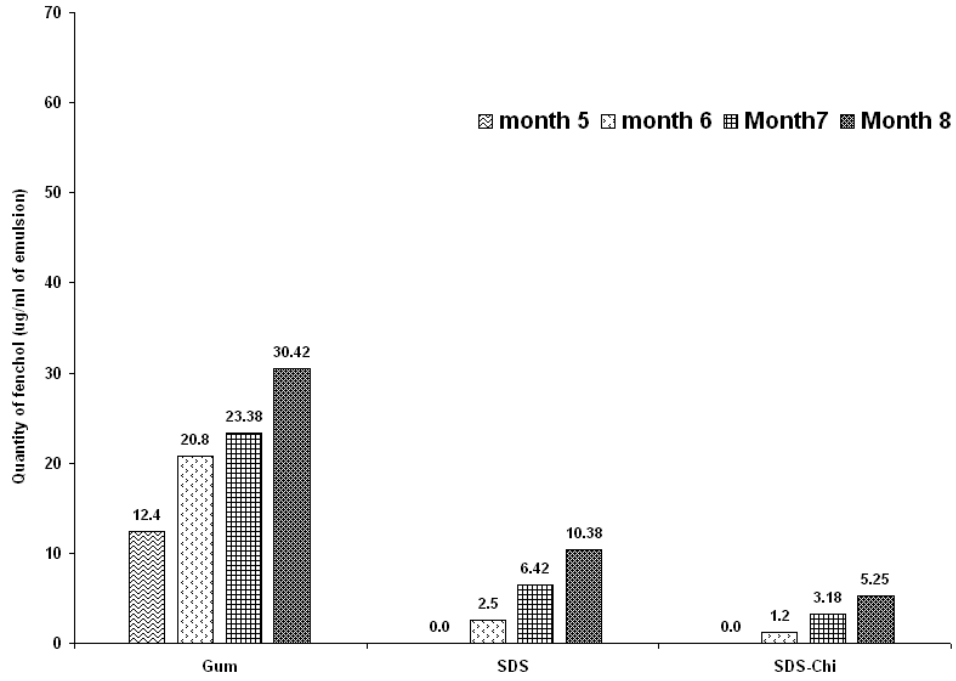


ภาพที่ 22 ปริมาณ (%) ของ neral ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่เวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



ภาพที่ 23 ปริมาณ (%) ของ geranial ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่เวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

จากภาพที่ 22 และ 23 การที่ระบบ single layer-GA สามารชลอการเสื่อมสลายของสารประกอบในกลุ่ม citral ซึ่งในที่นี้คือ neral และ geranial ได้ดีกว่าอิมัลชั่นระบบอื่นๆนั้นอาจเป็นไปได้ว่า ปริมาณของกัมอาราบิคที่ใช้ในการผลิตอิมัลชั่นมีการใช้ในปริมาณมาก จนอาจมีบางส่วนที่ไม่ถูกดูดซับที่บริเวณผิวของดร็อปเล็ท เป็นผลทำให้มีกัมอาบิคบางส่วนหลงเหลืออยู่ในสารละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่องในระบบอิมัลชั่น ซึ่งปริมาณในส่วนนี้จะเข้าไปมีผลต่อขั้นตอน acid – catalyzed cyclization (ภาพที่ 4) ซึ่งขั้นตอนนี้เป็นกลไกที่มีผลต่อการลดลงของสารประกอบ citral โดยเป็นปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลงสารประกอบ neral และ geranial ไปเป็นสารที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ต่างๆ โดยที่กัมอาราบิคซึ่งมีค่า pka ที่ 1.8 -2.2 ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการทดลองที่ pH = 3 ทำให้โมเลกุลของกัมอาราบิคจึงแสดงประจุเป็นลบและจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับกรด (H^+) ซึ่งต้องการทำให้โมเลกุลเป็นกลาง ตามทฤษฎีกรด-เบส ดังนั้น ปริมาณกรดหรือ H^+ ที่จะไปเร่งให้เกิด acid-catalyzed cyclization จึงเหลือปริมาณน้อย เป็นผลให้อัตราการเปลี่ยนแปลงของ geranial ไปเป็น neral และเกิดไปเป็นสารประกอบให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ต่างๆมีอัตราการเปลี่ยนแปลงได้น้อย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณของ neral และ geranial มีอัตราการลดลงน้อยในระบบ Single layer-GA เมื่อเปรียบเทียบกับระบบ Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan



ภาพที่ 24 ปริมาณ (%) ของ fenchol (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบ ที่การเก็บรักษา 0- 8 เดือน

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่ปริมาณที่เพิ่มขึ้นของสารประกอบ fenchol (ภาพที่ 24) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการ acid-catalysted ของ citral โดยจะเปลี่ยน neral และ geranial ไปเป็น monoterpene alcohol และสารประกอบนี้จะไม่เสถียรจึงสามารถเกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่นและดีไฮเดรชั่นได้ง่ายและเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ต่างๆ ที่เสถียรกว่า และสารประกอบ fenchol ก็เป็นสารประกอบตัวหนึ่งจากปฏิกริยานี้ (Kimura และคณะ, 1983 ; Clarck และ Chamblee, 1983) ผลการทดลองกลับแสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารประกอบ fenchol ถูกพบจากมากที่สุดไปน้อยที่สุดคือ ในระบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ตามลำดับ โดยปริมาณความเข้มข้นของเฟนชอล (ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร) ถูกพบหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ใน Double layer-SDS-Chitosan ที่ปริมาณ 1.2 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มไปเป็น 5.25 (μg/ml of emulsion) ที่ระยะเวลาการเก็บ 8 เดือนและเช่นเดียวกันกับ Single layer-SDS ที่ปริมาณ 2.5 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มไปเป็น 10.38 (μg/ml of emulsion) ที่เวลา 8 เดือน ในขณะที่ Single layer-GA พบหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 5 เดือน ที่ปริมาณ 12.4 (μg/ml of emulsion) และเพิ่มไปเป็น 30.42 (μg/ml of emulsion) ที่เวลา 8 เดือน

จากที่กล่าวไปแล้วข้างต้นว่าปริมาณของสารประกอบ fenchol เกิดจากสารประกอบ neral และ geranial ซึ่งผลการทดลองก่อนหน้าแสดงให้เห็นว่า double layer-SDS-Chitosan มีประสิทธิภาพที่สามารถชลอการลดลงของสารประกอบ neral และ geranial ได้น้อยที่สุดดังนั้นในระบบอิมัลชั่นนี้ควรจะพบสารประกอบ fenchol ในปริมาณที่มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้ (ภาพที่ 24) กลับตรงกันข้าม ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า monoterpene alcohol ซึ่งเป็นสารที่เกิดจาก acid-catalysted ของ citral นั้นจะไม่เสถียรจึงต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารประกอบ fenchol ที่เสถียรกว่าจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น ซึ่งในขั้นตอนนี้ ออกซิเจนจะเป็นสารประกอบที่เข้ามามีบทบาทเป็นอย่างมากต่อการเกิดปฏิกริยา แต่อย่างไรก็ตาม ออกซิเจนต้องมีการเกิดการแตกพันธะก่อน ซึ่งจะได้เป็นสาร radical จึงสามารถเข้าทำปฏิกริยาได้ โดยอาจจะเป็นไปได้ว่า สาร radical จะเข้าไปจับกับประจุบวกของไคโตซานที่ปกคลุมอนุภาคของ oil droplet แทนที่จะเข้าไปทำปฏิกริยากับ oil droplet จึงส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกริยาเกิดได้น้อย ดังนั้นปริมาณของสารประกอบ fenchol จึงถูกพบได้น้อยกว่าในระบบอิมัลชั่นแบบ single layer-SDS และ single layer-GA ตามลำดับ ในขณะที่ใน single layer-GA ถึงแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น monoterpene alcohol ได้ช้าแต่เมื่อเกิดโครงสร้างขึ้นแล้ว ก็สามารถเกิดปฏิกริยาได้โดยทันที จึงเป็นสาเหตุให้ถูกพบปริมาณสารประกอบ fenchol ที่มากกว่า

นอกจากนี้แล้วการทดลอง ยังพบว่าลักษณะปรากฏของอิมัลชั่นที่ใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัวนี้จะเปลี่ยนไปโดยมีสีค่อนข้างเหลืองระหว่างการเก็บรักษา (ภาพที่14) ซึ่งโครงสร้างเม็ดสีเหลืองนี้สามารถเกิดจากปฏิกริยาเมลร์ลาด (Maillard reaction) ระหว่างหมู่คาร์บอนิล (carbonyl) ซึ่งมาจากโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบสำคัญที่ให้กลิ่นรส เช่น ลิโมนีน ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็น ลิโมนีนออกไซด์ (สารประกอบประเภทคีโตน และอีปอกไซด์) กับหมู่เอมีนจากโครงสร้างของไคโตซาน (Djordjevic และคณะ, 2007) โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Klinkeson และคณะ (2005) ที่พบว่า น้ำมันปลาที่ผ่านการพ่นฝอยแล้ว (spray dry) โดยใช้เทคนิค Layer-by-layer แบบดับเบิ้ลเลเยอร์ โดยใช้เลซิตินและไคโตซาน เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ ในการทำอิมัลชั่นได้น้ำมันปลาเป็นสีเหลืองระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกริยาของหมู่เอมีนจากโครงสร้างของไคโตซาน กับหมู่แอลดีไฮด์ซึ่งเกิดจากปฏิกริยาออกซิเดชั่นของน้ำมันปลา

4.1.4 การศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส แบบสามเหลี่ยม

การทดสอบแบบสามเหลี่ยม เป็นการทดสอบความแตกต่างของตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง ซึ่งจากการศึกษานี้จะแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มซึ่งได้แก่ กลุ่มที่1 คือตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำให้อยู่ในรูปอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA กลุ่มที่ 2 คือตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำให้อยู่ในรูปอิมัลชั่นแบบ Single layer-SDS และ กลุ่มที่3 คือตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำให้อยู่ในรูปอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan โดยทำการผสมตัวอย่างทีละ 1 กลุ่มในเครื่องดื่มน้ำมะนาว และทำการเสริฟแบบเย็นกับผู้ทดสอบซึ่งเป็นผู้ชอบบริโภคเครื่องดื่มน้ำมะนาวและผ่านการฝึกฝนแล้วเป็นจำนวน 20 คน ทำการวิเคราะห์และสรุปผลทางสถิติโดยใช้ตาราง Triangle Test ซึ่งแสดงรายละเอียดไว้ภาคผนวก ข โดยการทดลองนี้เริ่มดำเนินการทำตั้งแต่การเก็บรักษาที่เดือนที่ 4 เป็นต้นไป ทั้งนี้เพราะจากการทดลองก่อนหน้านี้ในหัวข้อ 4.1.3 พบว่าที่การเก็บรักษามาจนถึงเดือนนี้มีสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 จากตารางจะเห็นได้ว่าที่การศึกษากลุ่มที่ 1 มีผู้ทดสอบจำนวน 14 คนที่ตอบถูกคือสามารถบอกได้ว่าตัวอย่างใดเป็นตัวอย่างที่ต่าง จากการเปิดตาราง Triangle test พบว่าถ้ามีผู้ตอบถูกเป็นจำนวน 11 คนขึ้นไปก็สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่าง 2 ตัวอย่างนี้มีความแตกต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาเพียง 4 เดือนเท่านั้น โดยสอดคล้องกับผลทั้งทางกายภาพและเคมี คือในเดือนที่ 4 พบว่าอิมัลชั่นดังกล่าวเกิดการแยกชั้นครีมจาก 0 เป็น 30% แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของการทำหน้าที่เป็นสารให้ความคงตัวลดลง และสอดคล้องกับลักษณะทางเคมี ที่พบว่ามีโครงสร้างของสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์เริ่มเกิดขึ้นในเดือนที่ 4 ของการเก็บรักษา

ผลการทดลองจากกลุ่มที่ 2 พบว่าในเดือนที่ 4 และ ที่ 5 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 5 และ 7 คน ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 6 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 12 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง นั่นคือตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Single layer-SDS นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 6 เดือน

ผลการทดลองจากกลุ่มที่ 3 พบว่าในเดือนที่ 4, 5, 6 และ 7 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 5, 5, 8 และ 10 คน ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 8 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 12 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง ซึ่งจากการวิเคราะห์ ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-

SDS-Chitosan มีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 8 เดือน

ทั้งนี้จากผลการทดสอบความแตกต่างเมื่อผู้บริโภคสามารถบอกความแตกต่างของตัวอย่างได้ จะให้ความเห็นว่าสามารถได้กลิ่นเหมือนมะนาวดอง และมีกลิ่นหืน หรือ กลิ่นคล้ายน้ำยาล้างห้องน้ำ หรือกลิ่นโคน หรือกลิ่นออกซิไดส์ของมะนาว ซึ่งเป็นกลิ่นที่เกิดจากการออกซิเดชั่นของสารประกอบให้กลิ่นสำคัญ เช่น d-limonene หรือ citral เปลี่ยนไปเป็น limonene oxide, carvone หรือ fenchol เป็นต้น

ตารางที่ 5 ตารางแสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test โดยการใช้น้ำมันมะนาวสด เปรียบเทียบกับอิมัลชั่นน้ำมันมะนาวแบบ single layer-GA, single layer-SDS และ double layer-SDS-Chitosan

กลุ่มที่	เครื่องดื่มน้ำมะนาว 6%				
	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7	เดือนที่ 8
1[1]	แตกต่าง[4]	-	-	-	-
2[2]	ไม่แตกต่าง[4]	ไม่แตกต่าง[4]	แตกต่าง[4]	-	-
3[3]	ไม่แตกต่าง[4]	ไม่แตกต่าง[4]	ไม่แตกต่าง[4]	ไม่แตกต่าง[4]	แตกต่าง[4]

[1] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA

[2] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Single layer-SDS

[3] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS- Chitosan

[4] คือ ความแตกต่างอย่างมีนัสำคัญที่ $p<0.05$, $n=20$

จากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่าระบบอิมัลชั่นที่ใช้เทคนิค layer-by-layer แบบ Double layer-SDS-Chitosan เป็นสารให้ความคงตัวนี้มีประสิทธิภาพมากกว่าในการเก็บรักษากลิ่นรสของน้ำมันมะนาวเมื่อเทียบกับอิมัลชั่นแบบดั้งเดิมคือ Single layer-SDS และ Single layer-GA โดยสามารถมีอายุการเก็บรักษาอยู่ที่ 7 เดือน 5 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ แม้ว่าจากผลการศึกษาจะทำให้สามารถสรุปได้ว่าเทคนิค layer-by-layer เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยปรับปรุงหรือเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชั่นน้ำมันมะนาวได้ แต่อัตราส่วนที่เหมาะสมของ

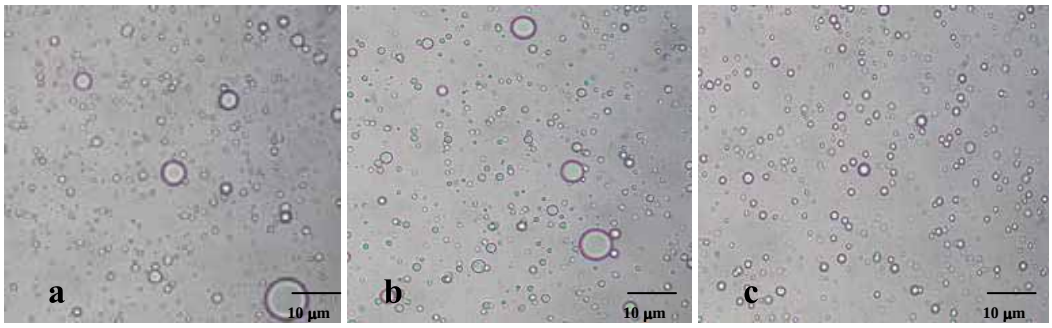
โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานก็เป็นสิ่งที่สำคัญที่จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเป็นสารให้ความคงตัว ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงได้ทำการศึกษาถึงผลของอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานในการเป็นสารให้ความคงตัวในการผลิตระบบอิมัลชั่นแบบ double layer ต่อประสิทธิภาพในการช่วยเพิ่มความคงตัวหรือเพิ่มอายุการเก็บของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

4.2 การศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างของความเข้มข้นโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และ ไคโตซาน ในการเตรียมระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ของน้ำมันมะนาว ต่อประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

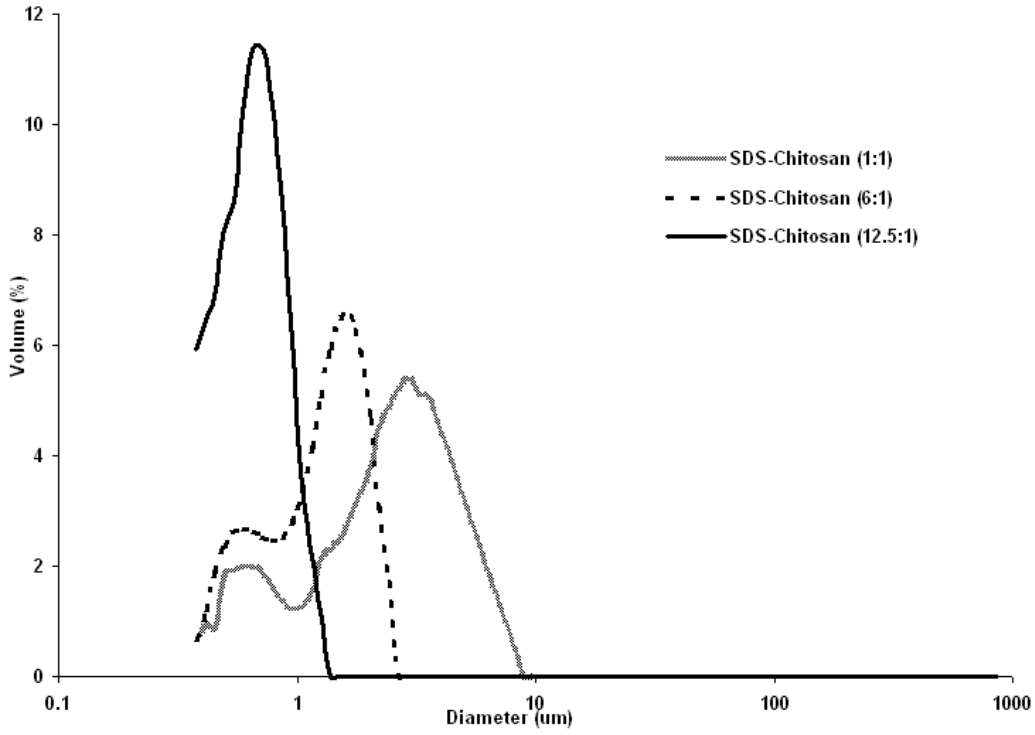
ทำการเตรียมอิมัลชั่นน้ำมันในน้ำแบบ Double layer-SDS-Chitosan ด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกันของปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (มิลลิโมลาร์) และไคโตซาน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ที่อัตราส่วน 1:1, 6:1, 12.5:1, 1:2, 6:2, 12.5:2, 1:3, 6:3 และ 12.5:3 ตามลำดับ จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ดังต่อไปนี้

4.2.1 ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาค และการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่น

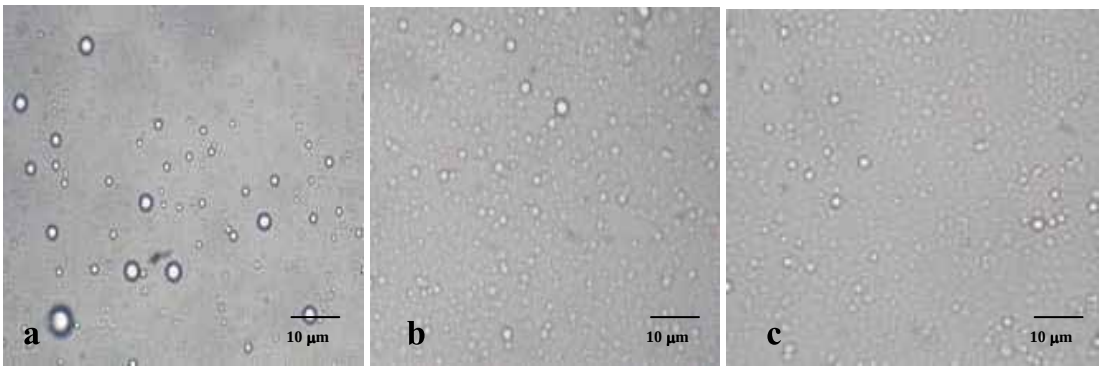
ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นทั้ง 9 อัตราส่วนที่สังเกตุได้จากการใช้กล้องจุลทรรศน์และการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง laser light scattering ได้แสดงไว้ดังภาพที่ 25-30 จากภาพแสดงให้เห็นว่าขนาดของอนุภาคอิมัลชันที่ทุกชุดทดลอง ซึ่งมีอัตราส่วนความเข้มข้นของไคโตซาน ที่ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีการกระจายตัวอยู่ที่ 0.4 – 100 ไมโครเมตร ซึ่งยังคงสอดคล้องกับที่ Dickkinson และ Stainsby (1982) และ Dickinson (1992) ได้รายงานไว้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่ที่อยู่ในรูปอิมัลชั่นควรมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค oil droplet อยู่ระหว่าง 0.1 – 100 ไมโครเมตร



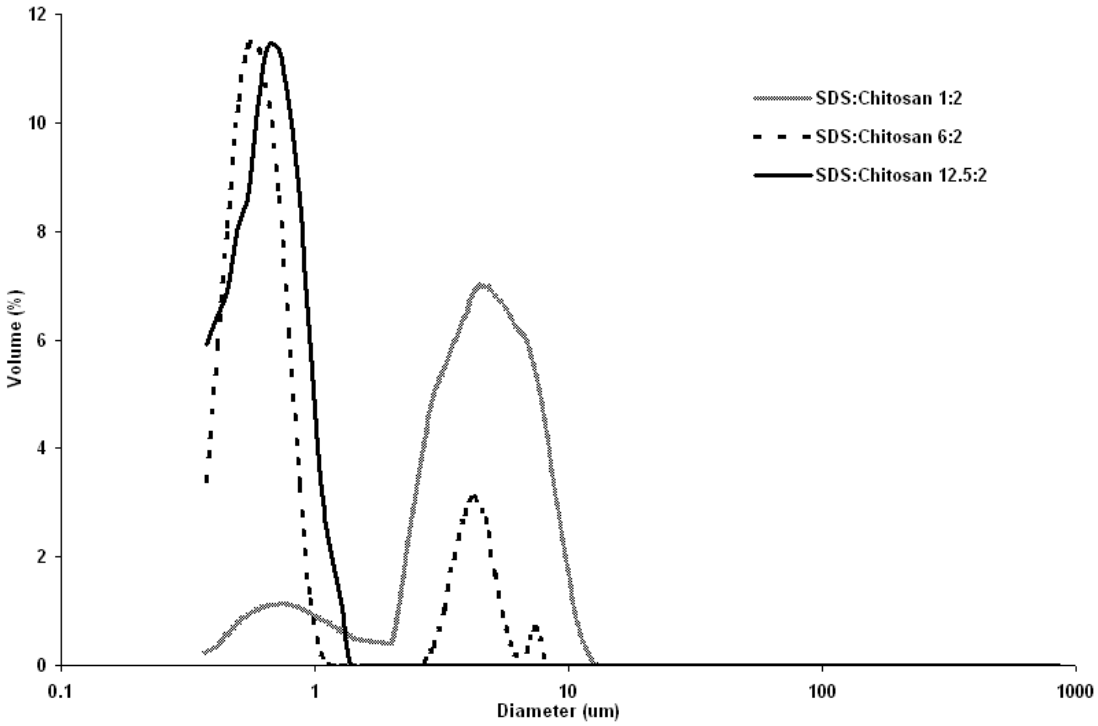
ภาพที่ 25 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่แตกต่างกัน คือ (a) 1:1, (b) 6:1 และ (c) 12.5:1



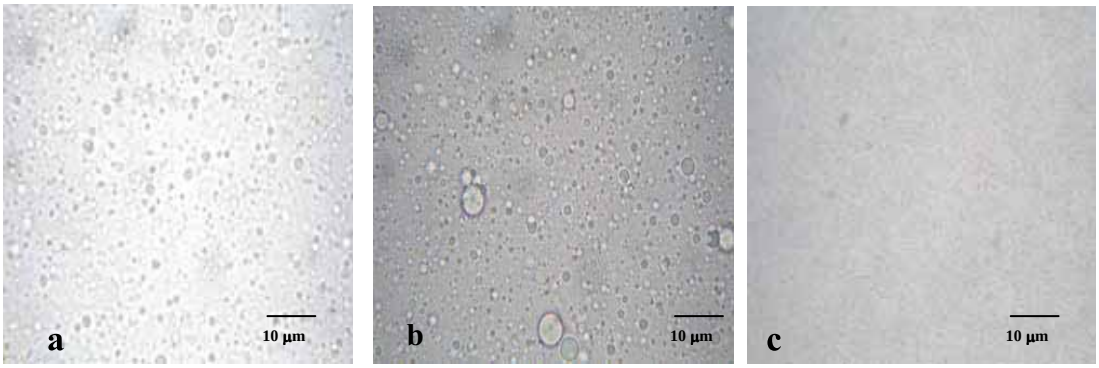
ภาพที่ 26 ลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 1:1, 6:1 และ 12.5:1



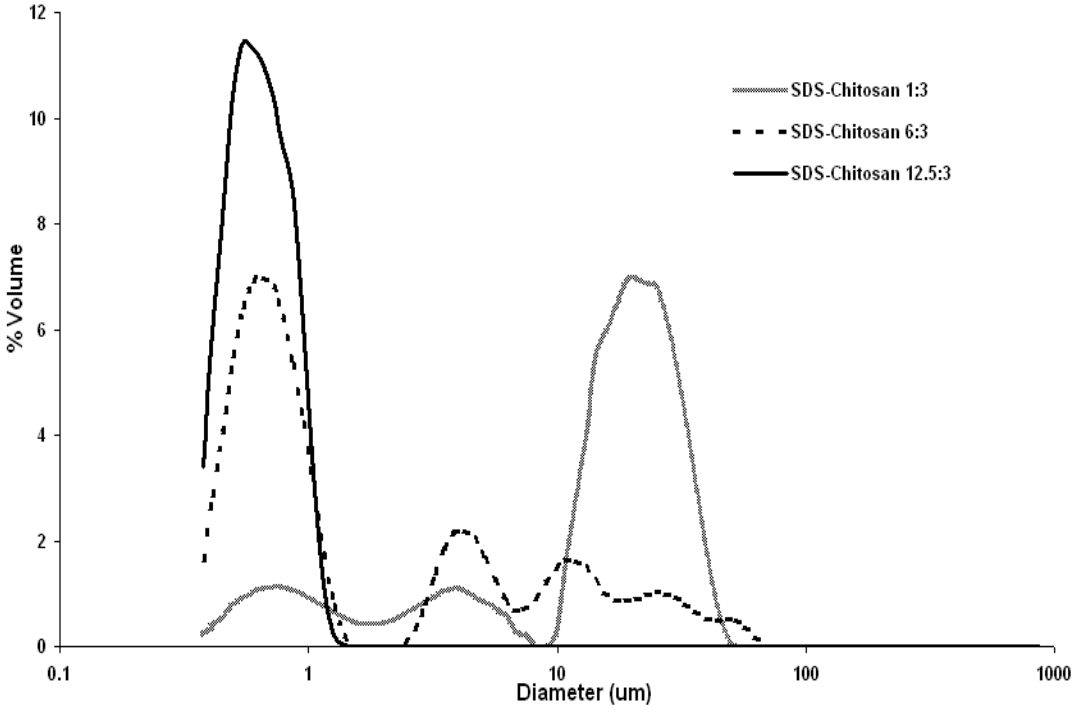
ภาพที่ 27 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่แตกต่างกัน คือ (a) 1:2, (b) 6:2 และ (c) 12.5:2



ภาพที่ 28 ลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 1:2, 6:2 และ 12.5:2

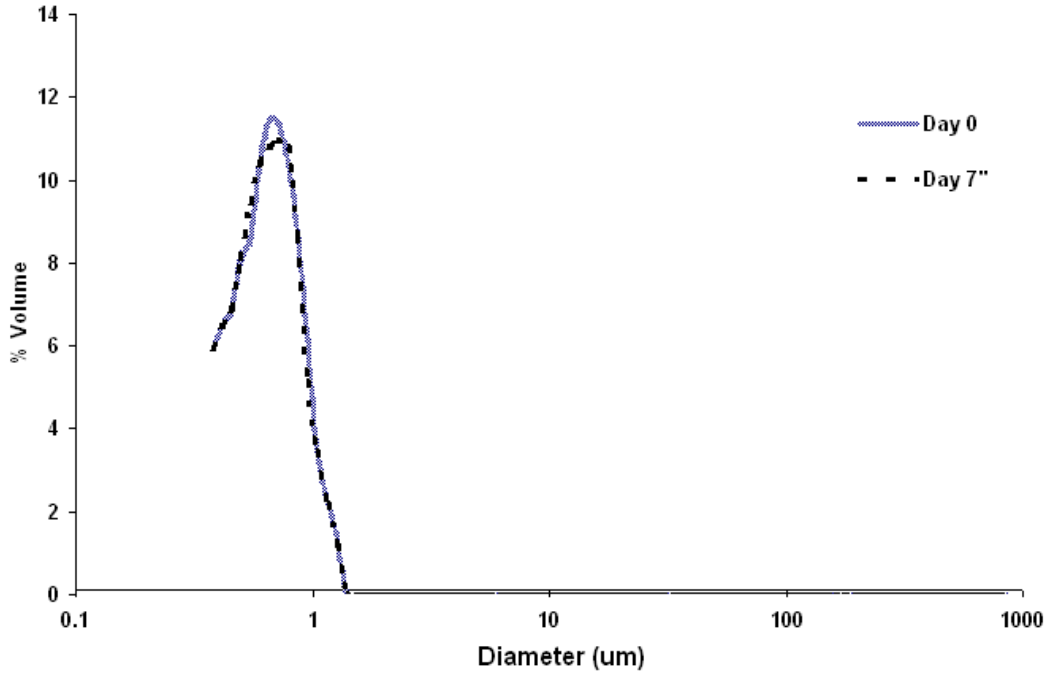


ภาพที่ 29 ลักษณะทางจุลภาคของอิมัลชั่นแบบ double layer ที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่แตกต่างกัน คือ (a) 1:3, (b) 6:3 และ (c) 12.5:3

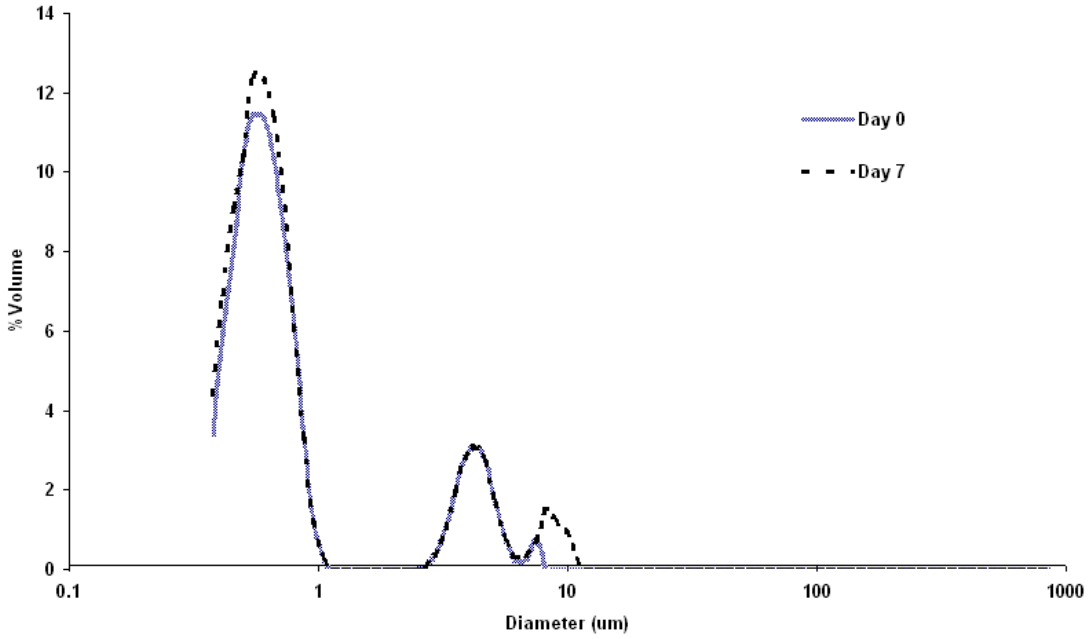


ภาพที่ 30 ลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 1:3, 6:3 และ 12.5:3

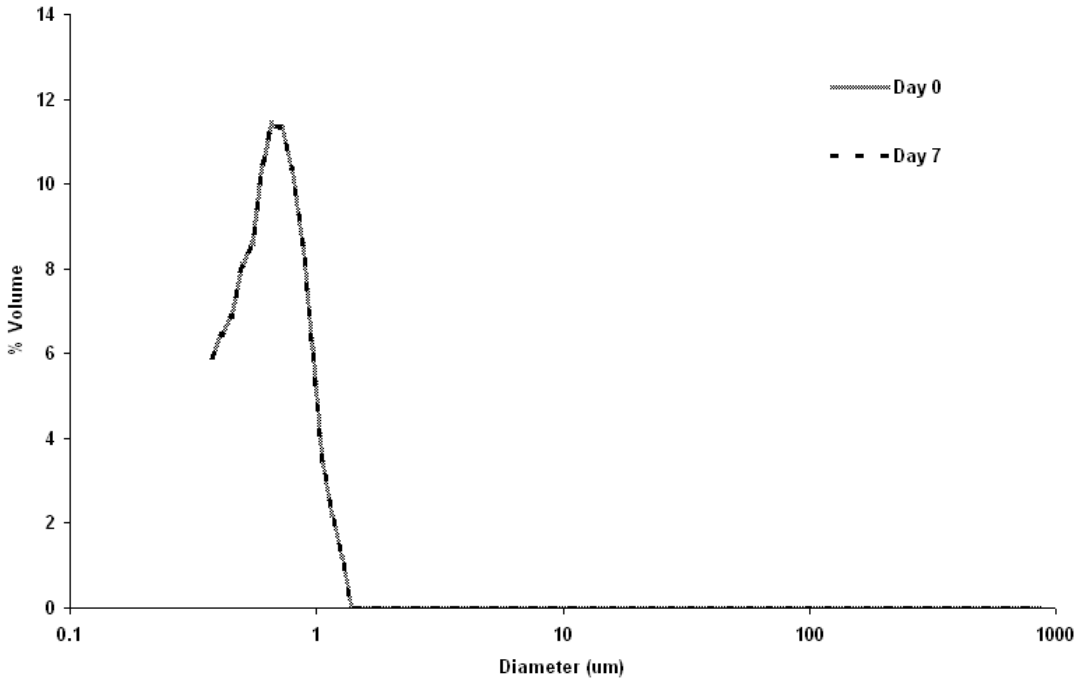
จากผลการทดลองที่ได้ผู้วิจัยได้เลือกอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 มาใช้เพื่อศึกษาติดตามประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวโดยการผลิตอิมัลชั่นแบบ Double layer ต่อไป โดยใช้เกณฑ์การพิจารณาจากลักษณะของการกระจายตัวของกราฟที่ให้ลักษณะเป็น monomodal หรือที่มีขนาดของอนุภาคที่มีขนาดเล็กซึ่งมีค่า d_{32} ที่ไม่เกิน 1 ไมโครเมตร โดยมีค่า คือ 0.75 0.91 0.71 และ 0.69 ไมโครเมตร ของทั้ง 4 อัตราส่วนตามลำดับ ซึ่งเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถช่วยสนับสนุนได้ว่า จะสามารถช่วยให้ลดการเกิดการเกาะกันหรือการรวมกันของอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นได้ เป็นผลให้ระบบอิมัลชั่นเกิดความคงตัว แต่อย่างไรก็ตามได้มีการทำการทดลองเพื่อยืนยันการเลือกอัตราส่วน โดยนำอิมัลชั่นทุกชุดการทดลองที่เลือกมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พร้อมติดตามลักษณะการเกิดการแยกชั้นครีม ซึ่งผลการทดลองพบว่าลักษณะของอิมัลชั่นไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง รวมทั้งได้นำอิมัลชั่นไปวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet อีกครั้ง พบว่าไม่พบความเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 31, 32, 33 และ 34)



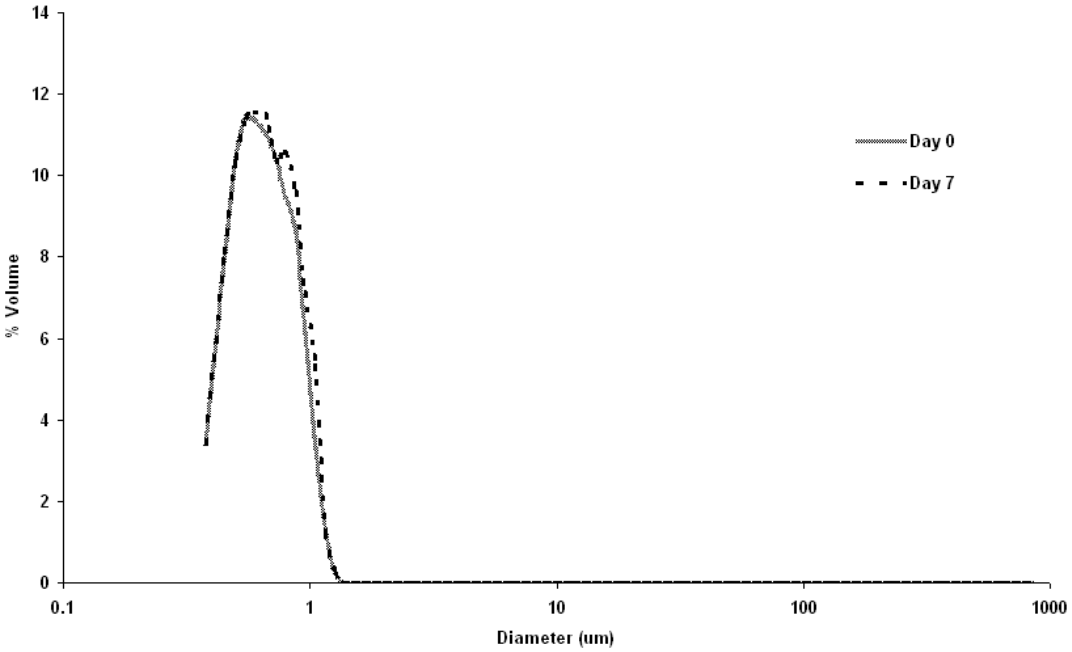
ภาพที่ 31 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน คือ 12.5:1 ในวันที่ 0 และ วันที่ 7



ภาพที่ 32 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน คือ 6:2 ในวันที่ 0 และ วันที่ 7



ภาพที่ 33 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน คือ 12.5:2 ในวันที่ 0 และ วันที่ 7



ภาพที่ 34 กราฟเปรียบเทียบลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค oil droplet ในอิมัลชั่นที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน คือ 12.5:3 ในวันที่ 0 และ วันที่ 7

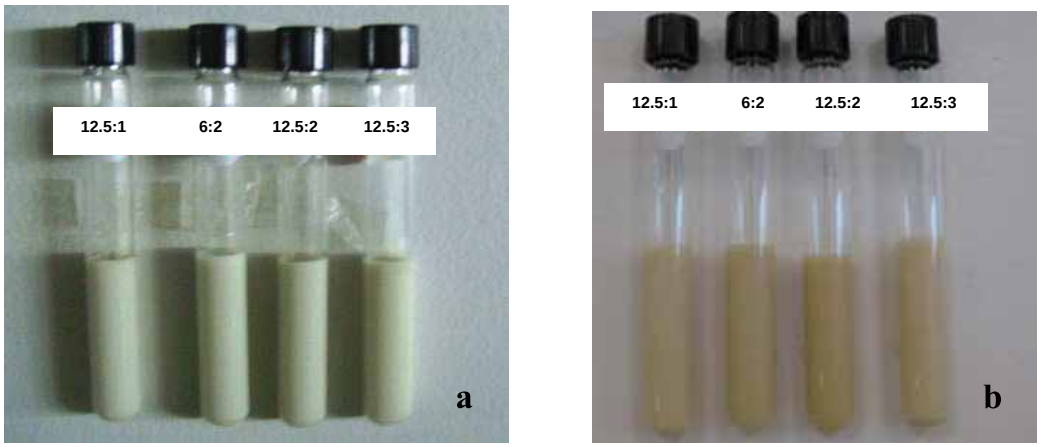
จากผลการทดลองอาจทำให้สรุปได้ว่าปริมาณโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตที่ 12.5 มิลลิโมลาร์ จะให้กราฟการกระจายตัวของอนุภาคดร็อปเล็ทเป็นลักษณะ monomodal และให้ค่า $d_{32} \leq 1$ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Djordjevic และคณะ (2007) ที่ได้ใช้ความเข้มข้นนี้ในการทดลองเพื่อศึกษาความคงตัวของสารประกอบ citral และสารประกอบ limonene ในระบบอิมัลชั่นที่ใช้โซเดียมโดดิซัลเฟตและโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต-ไคโตซาน เป็นสารให้ความคงตัว ซึ่งจากคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวเมื่อละลายใน aqueous phase และเมื่อมีความเข้มข้นมากถึงความเข้มข้นค่าหนึ่งซึ่งเรียกว่า critical micelle concentration (CMC) สารลดแรงตึงผิวจะ form ตัวเป็นไมเซลล์ (micelle) ซึ่งมีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ โดยเมื่อระยะเวลาผ่านไปโมเลกุลจะไม่มีการแยกจากกันเหมือนกับอิมัลชั่นและเมื่อสารลดแรงตึงผิวถูกเติมลงไปเหนือจุด CMC ก็จะเป็นการเพิ่มจำนวนของไมเซลล์ในระบบด้วย โดยการเกาะกลุ่มรวมกันของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว (monomer) ต่อ 1 ไมเซลล์คือ 60-100 monomer หรือ 50-70 monomer สำหรับ ionic micelle (Akoh และ Min, 2008) ซึ่งการมีจำนวนไมเซลล์มาก หมายถึงการละลายจะเกิดได้มากขึ้นด้วย จากคุณสมบัติดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิโมลาร์นี้ โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตซึ่งทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ตัวแรกในการทำ primary emulsion นั้นมีปริมาณมากพอจนถึงจุด CMC (critical micelle concentration) และสามารถไปดูดซับ oil droplet ในระหว่างการโฮโมจีไนเซชั่นได้ดีและรวดเร็ว เป็นผลให้ขนาดของ oil droplet หรือ primary emulsion ที่ได้จึงมีขนาดเล็กที่สม่ำเสมอนอกจากนี้

แล้วอนุภาคดร็อปเล็ทยังถูกปกคลุมด้วยประจุลบของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และเมื่อ secondary emulsion ถูกสร้างขึ้น โดยที่ไคโตซานซึ่งเป็นประจุบวกจะไปดูดซับที่ผิวของดร็อปเล็ทที่มีประจุลบโดยอาศัยแรงทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic) ก็ทำให้ดูดซับได้สม่ำเสมอ ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตน้อย ทำให้มีความเข้มข้นที่ไม่มากพอซึ่งทำให้การไปจับกับอนุภาคดร็อปเล็ทหรือน้ำมันมะนาวมีได้น้อย เป็นผลให้อนุภาคดร็อปเล็ทสามารถเกิดการรวมกันหรือเกาะกันเพื่อต้องการให้ระบบเกิดความเสถียร สอดคล้องกับภาพที่ 26, 28 และ 30 จะเห็นได้ว่าค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาค oil droplet เรียงลำดับจากมากไปน้อยตามปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต คือ 1, 6 และ 12.5 ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Aoki และคณะ (2005) ที่ทำการทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อคุณลักษณะของอนุภาคดร็อปเล็ทของ primary emulsion โดยพบว่าที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 4 มิลลิโมลาร์อนุภาค oil droplet จะมีขนาดใหญ่หรือกล่าวได้ว่าอิมัลชั่นมีความไม่คงตัวจากการเกิด coalescence โดยพบว่ามีลักษณะเป็น oiling off เกิดขึ้นที่บริเวณพื้นผิวส่วนบนของอิมัลชั่น นอกจากนี้แล้วความเข้มข้นของไคโตซาน ก็มีผลต่อการทำ secondary emulsion โดยพบว่าความเข้มข้นของไคโตซานที่เติมลงไปที่มากพอ จะช่วยเพิ่มความคงตัวให้อิมัลชั่นต่อการเกิด droplet aggregation เนื่องจากแรง electrostatic repulsion ที่มีมากระหว่างอนุภาคดร็อปเล็ทที่มีความเป็นประจุบวกที่สูงมาก (Pinotti และ Zaritzky, 2001) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าหากมีความเข้มข้นมากจนเกินไปอาจส่งผลให้เกิด depletion flocculation ได้ โดยไคโตซานที่มีมากเกินไปในระบบ ที่ไม่ถูกดูดซับบนผิวของดร็อปเล็ท และจะกระจายตัวอยู่ในระบบอย่างเป็นอิสระ แต่อนุภาคไคโตซานเหล่านี้ไม่สามารถเคลื่อนที่เข้าหาดร็อปเล็ทได้ใกล้กว่ารัศมีของอนุภาคเองดังนั้นในบริเวณชั้นวงแหวน (depletion layer) รอบๆดร็อปเล็ทซึ่งมีความหนาของวงแหวนเท่ากับระยะรัศมีจึงมีความเข้มข้นของไคโตซานน้อยกว่าบริเวณที่อยู่นอกวงแหวน เป็นสาเหตุให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นในบริเวณทั้งสองของระบบ จึงเกิดแรงดันออสโมติกในระบบเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ระบบอิมัลชั่นเกิดความไม่เสถียร ดังนั้นอนุภาคดร็อปเล็ทจึงพยายามเคลื่อนที่เข้าหากันเพื่อให้ชั้นของวงแหวนของดร็อปเล็ทเกิดการซ้อนทับกันเพื่อลดปริมาตรของชั้นวงแหวนและส่งผลให้แรงดันออสโมติกลดลงด้วย เป็นผลให้อนุภาคดร็อปเล็ทมีขนาดใหญ่ขึ้น หรือในกรณีที่ไคโตซานมีปริมาณที่น้อยเกินไปอาจทำให้เกิด bridging flocculation ซึ่งเกิดจากโมเลกุลของไคโตซานอาจจะไปดูดซับดร็อปเล็ทได้มากกว่า 1 ดร็อปเล็ท จึงเป็นผลให้อนุภาคดร็อปเล็ทนั้นเชื่อมต่อเข้าด้วยกันและมีขนาดใหญ่ขึ้น (Guzey และ McClements, 2006) ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ซึ่งหากสามารถหาอัตราส่วนที่มีความสมดุลได้ ก็จะสามารถช่วย

ป้องกันการไม่คงตัวของระบบอิมัลชั่นดังกล่าวข้างต้นได้ รวมทั้งอาจเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นระบบอิมัลชั่นซึ่งทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางมากยิ่งขึ้น

4.2.2 ผลของการศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยการพิจารณาจากการแยกชั้นครีม

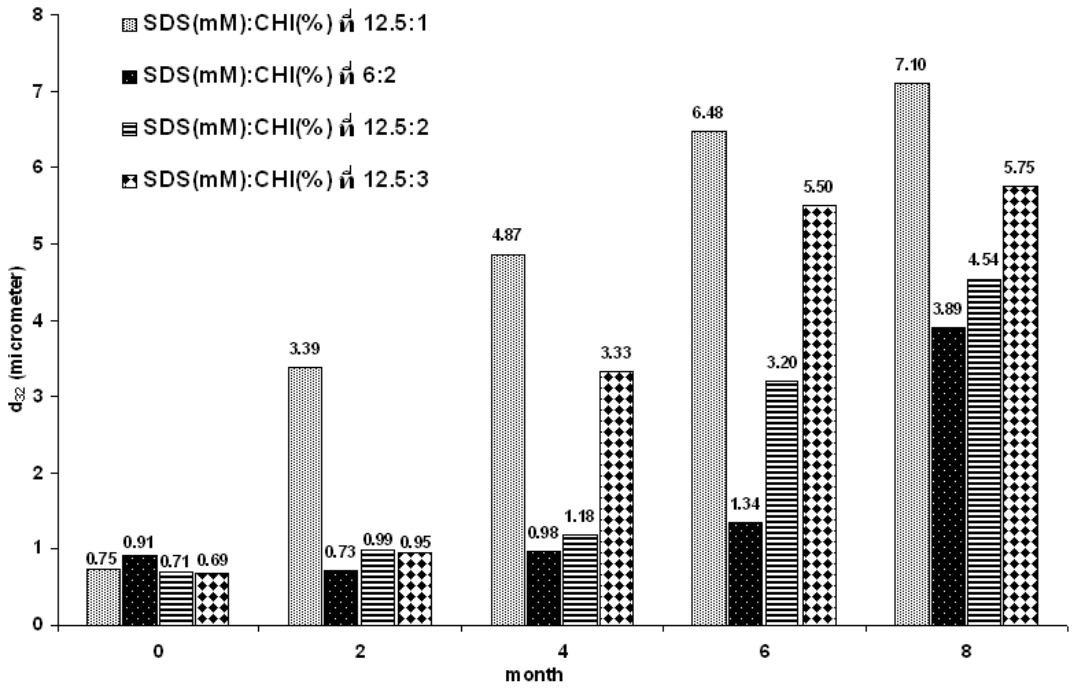
ผลการศึกษาการการแยกชั้นครีม (ภาพที่ 35) พบว่าเปอร์เซ็นต์ครีมมิ่ง มีค่าเป็น 0 ที่ระยะการเก็บที่เดือนที่ 0-8 ในทุกชุดการทดลองอิมัลชันที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ในขณะที่อัตราส่วนต่างๆ ที่ไม่ได้ถูกเลือกพบว่ามีการเกิด oiling off เกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สามารถยืนยันได้อีกครั้งว่าอัตราส่วนที่ถูกเลือกทั้ง 4 อัตราส่วนนี้น่าจะเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่อาจมีประสิทธิภาพในการช่วยเพิ่มความคงตัวของการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในระบบอิมัลชั่นของน้ำมันมะนาวแบบ double layer ได้



ภาพที่ 35 ลักษณะปรากฏและการเกิดการแยกชั้นครีมของระบบอิมัลชันแบบดับเบิ้ลเลเยอร์-โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานทั้ง 4 อัตราส่วน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา a) 0 เดือน และ b) 8 เดือน

จากผลการทดลองที่ได้พบว่า ในทุกอัตราส่วนที่ถูกเลือกนำมาใช้ในการศึกษาไม่มีผลต่อการเกิดการแยกชั้นครีม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแรงทางไฟฟ้าที่แข็งแรงระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน และสัมพันธ์กับความหนาที่คลุมอนุภาคดร็อปเล็ทที่เกิดจากการสร้างสารประกอบเชิงอนจากแรงกระทำต่อกันระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน และประจุทางไฟฟ้าที่คลุมอนุภาคดร็อปเล็ท ซึ่งคือประจุบวกของไคโตซานซึ่งมีแรงมากพอที่ทำให้เกิดการ

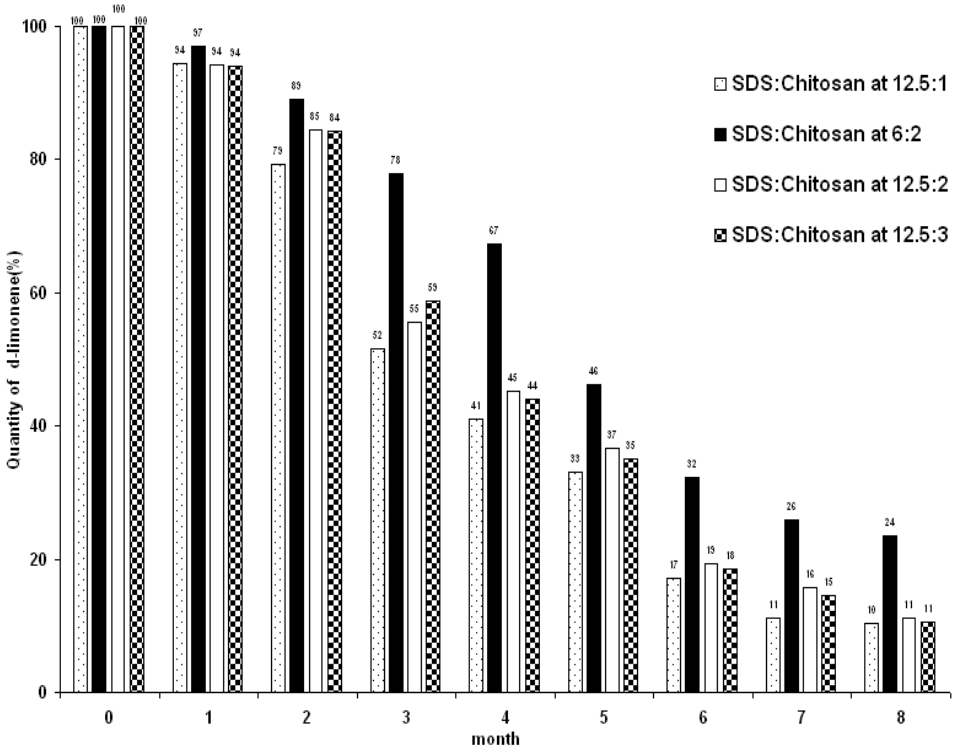
รวมกันได้หรือในอีกทางหนึ่งอาจเกิดจาก multiple layers ซึ่งสามารถเพิ่มความหนาแน่นโดยรวมของอนุภาคดร็อปเล็ท ดังนั้นจึงการเป็นการลดความแตกต่างของความหนาแน่นของส่วน dispersed phase และ continuous phase ซึ่งเป็นเหตุผลให้ลด driving force สำหรับการแยกชั้นที่อาจเกิดจากแรงโน้มถ่วงได้ (gravitation seperation) (Friberg และคณะ 2004; McClements, 1999; Stauffer, 1999) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่ขนาดอนุภาคดร็อปเล็ทพบว่าขนาดของอนุภาคดร็อปเล็ทหรือ d_{32} นั้นมีขนาดเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลองเมื่อถูกเก็บรักษาไว้เป็นเวลาที่ 2, 4, 6 และ 8 เดือนตามลำดับ (ภาพที่ 36)



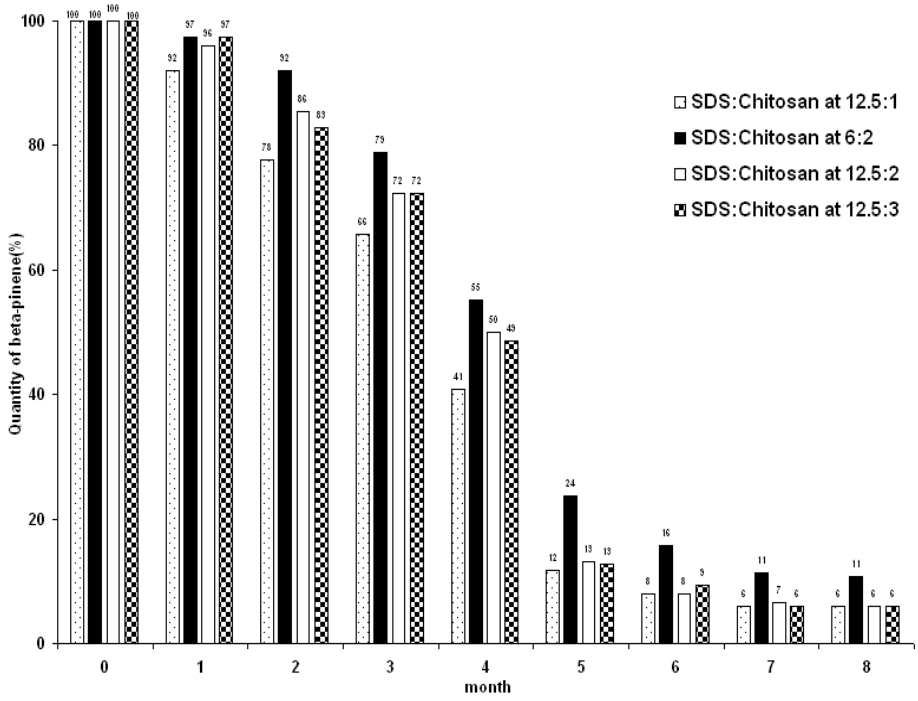
ภาพที่ 36 กราฟแสดงค่า d_{32} (ไมโครเมตร) ของอนุภาคดร็อปเล็ทในระบบอิมัลชั่น double-layer SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต(มิลลิโมลาร์):ไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ที่การเก็บรักษาที่ 0, 4, 6 และ 8 เดือนตามลำดับ

4.2.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในอิมัลชั่นแบบ double layer – SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3

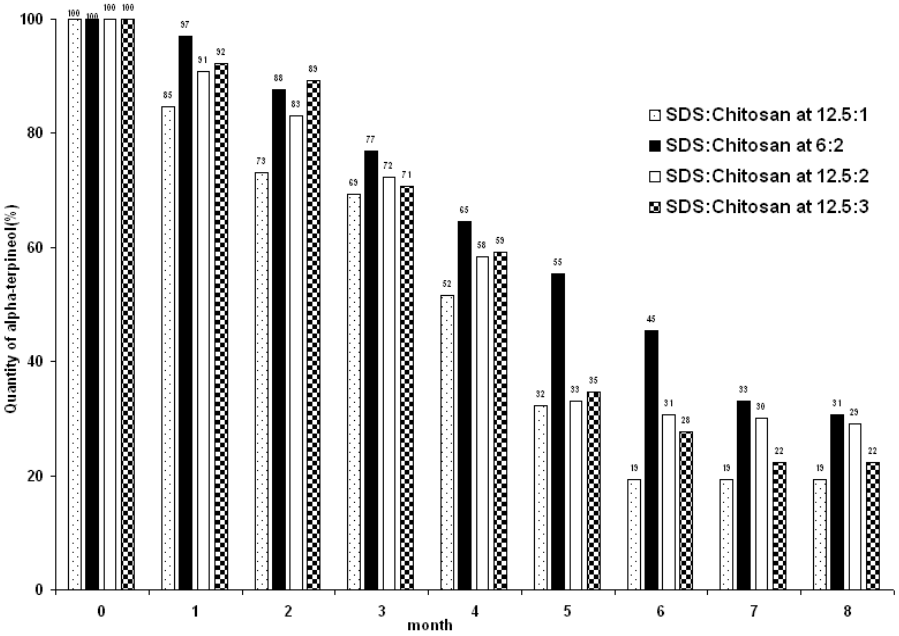
การศึกษาในส่วนนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณของสารให้กลิ่นรสหลัก (อ้างอิงจากผลของการศึกษาจากข้อ 4.1.2) และสารประกอบที่ให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้เทคนิควิธี direct injection ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือน ซึ่งผลจากการทดลองได้แสดงไว้ในภาพที่ 37 – 41 สำหรับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารd-limonene, β-pinene, α-terpineol, neral และ geranial ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา ที่ 0-8 เดือน ตามลำดับ



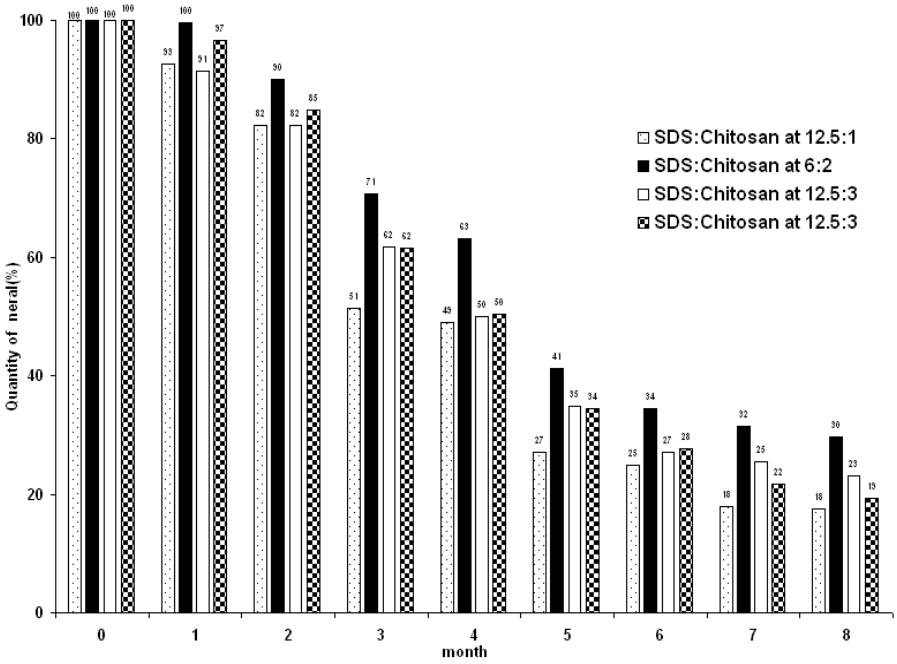
ภาพที่ 37 ปริมาณ (%) ของ D-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



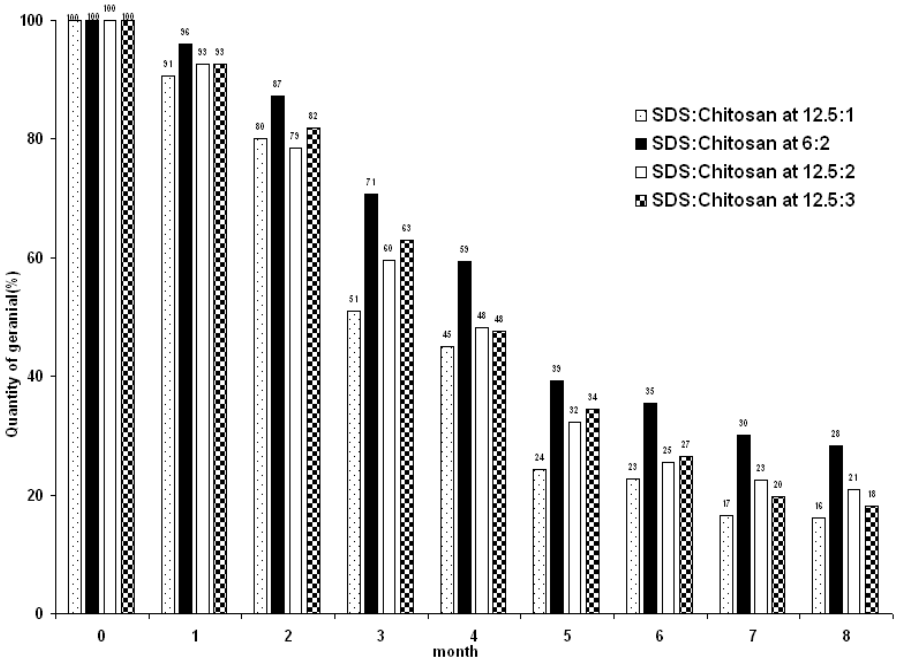
ภาพที่ 38 ปริมาณ (%) ของ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



ภาพที่ 39 ปริมาณ (%) ของ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

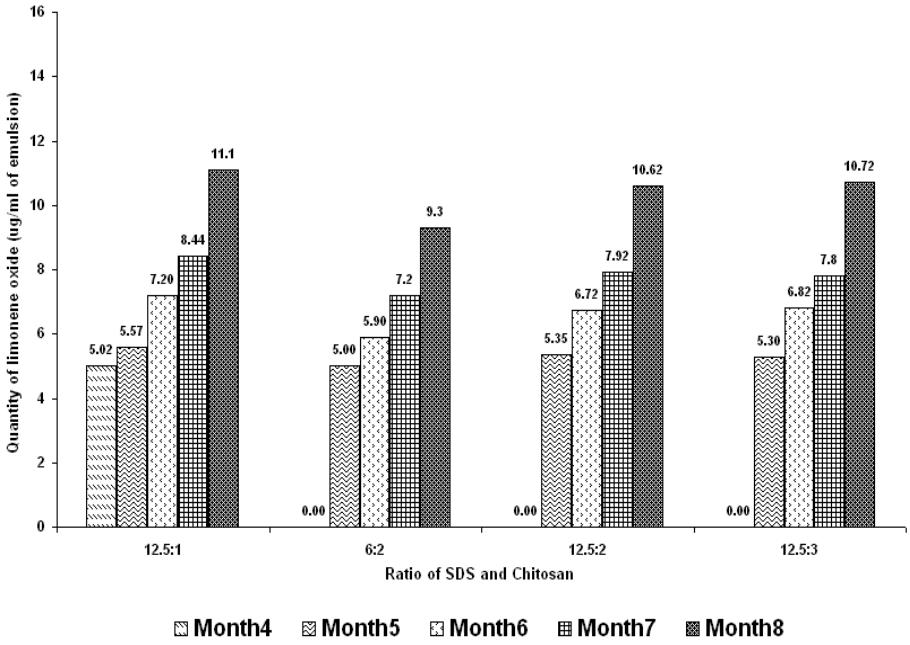


ภาพที่ 40 ปริมาณ (%) ของ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

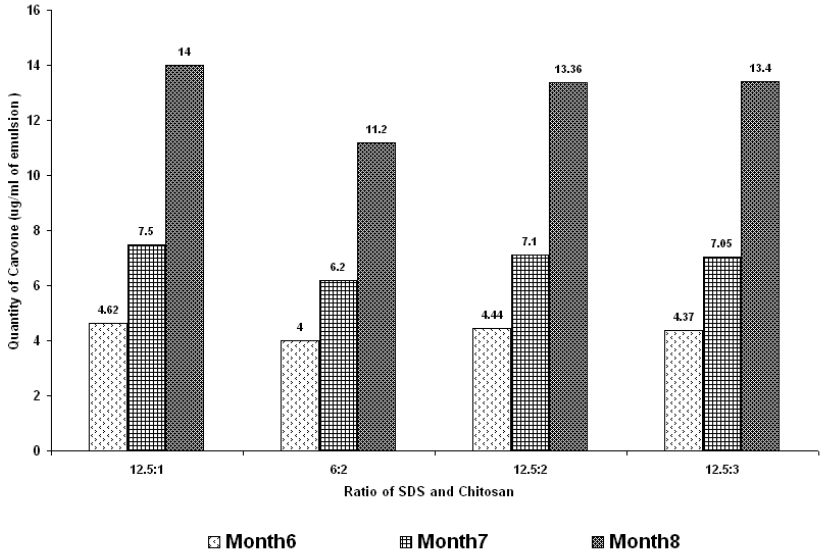


ภาพที่ 41 ปริมาณ (%) ของ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

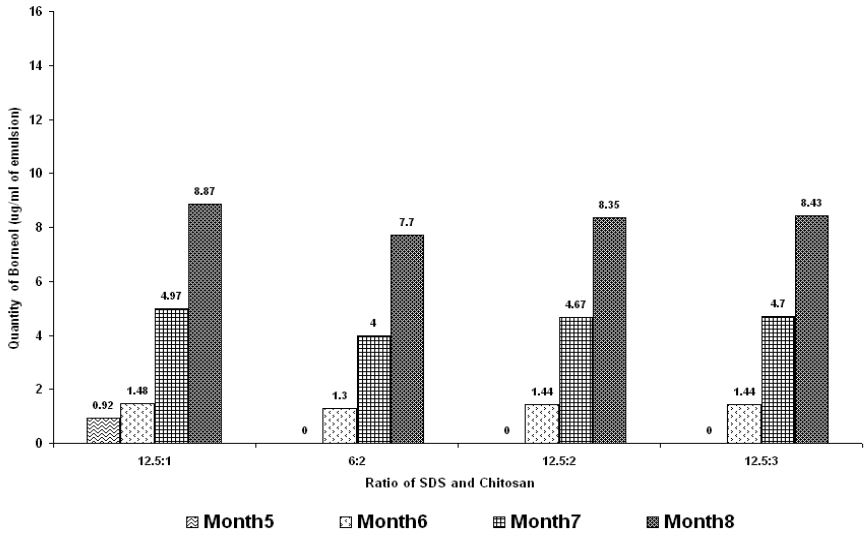
กราฟในภาพที่ 37 – 41 แสดงปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยให้ปริมาณสารตั้งต้นที่เวลา 0 เดือนเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณจริง (mg/ml ของอิมัลชั่น) ของทุกการทดลองได้แสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ค เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้พบว่าระดับการลดลงของสารประกอบให้กลิ่นสำคัญจะลดลง เรียงลำดับจากมากไปน้อยในอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ 12.5:1, 12.5:3, 12.5:2 และ 6:2 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าที่อัตราส่วนของ 12.5:2 และ 12.5:3 นั้นมีค่าที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ (ภาพที่ 42-45) ซึ่งมีปริมาณที่เกิดขึ้นจากมากไปน้อยคือ ในอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานที่ 12.5:1, 12.5:3, 12.5:2 และ 6:2 ตามลำดับโดยที่อัตราส่วน 12.5:2 และ 12.5:3 นั้นมีค่าที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นกัน



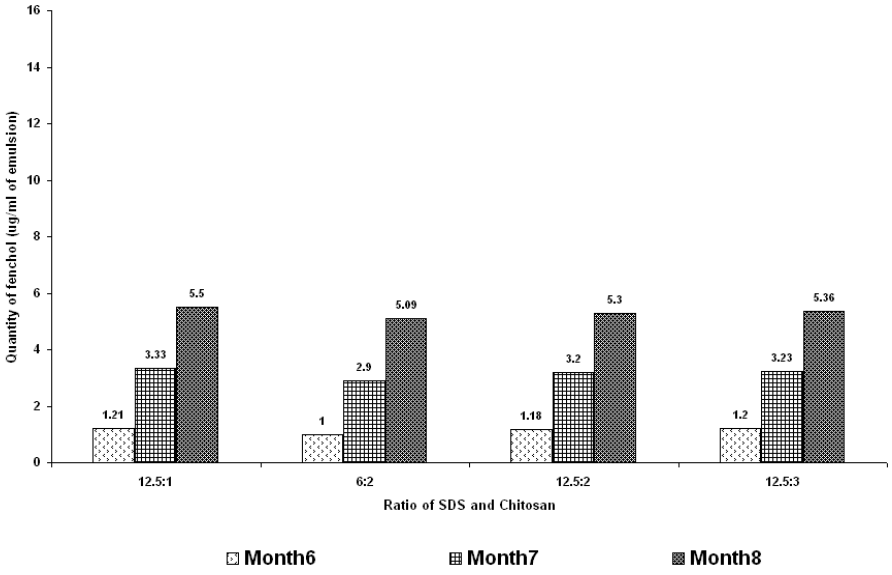
ภาพที่ 42 ปริมาณของ limonene oxide (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



ภาพที่ 43 ปริมาณของ carvone (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน



ภาพที่ 44 ปริมาณของ borneol (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

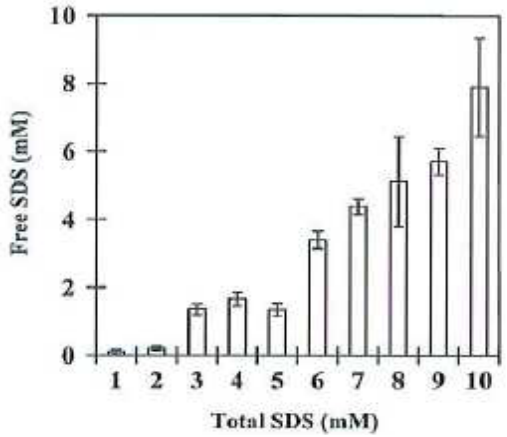


ภาพที่ 45 ปริมาณของ fenchol (μg/ml of emulsion) ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0- 8 เดือน

จากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่าอัตราส่วนของอิมัลชั่นแบบ Double layer – SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 6 : 2 นั้นมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในอิมัลชั่น เนื่องจากเมื่อพิจารณาปริมาณของสารประกอบ d-limonene, beta-pinene, alpha-terpineol, neral และ geranial ตลอดเวลาการเก็บรักษาพบว่ามีการลดลงน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนที่ 12.5:2 หรือ 12.5:3 และ 12.5:1 ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดขึ้นของปริมาณสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ คือ limonene oxide, borneol, carvone และ fenchol ที่พบว่ามีปริมาณที่เกิดขึ้นน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนที่ 12.5:2 หรือ 12.5:3 และ 12.5:1 ตามลำดับ จากผลที่ได้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ที่น่าจะเหมาะสมคือ 6 มิลลิโมลาร์โดยเป็นไปได้ว่าที่ความเข้มข้นนี้ โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต น่าจะมีปริมาณมากเพียงพอที่ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวสามารถเกิดเป็นไมเซลล์ได้ และสามารถเข้าไปทำให้อนุภาค oil droplet เกิดการคงตัวได้ดีและเร็วจึงเป็นผลให้ได้อนุภาค oil droplet ที่มีขนาดเล็กในระหว่างการโฮโมจิไนเซชั่น ส่งผลต่อ primary emulsion ที่จะมีความคงตัวมากขึ้น รวมทั้งที่ความเข้มข้นนี้อาจเป็นปริมาณที่พอดีระหว่างปริมาณของน้ำมันมะนาวและโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตจึงเป็นผลให้มีปริมาณของ

โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตที่ไม่ถูกดูดซับและเหลืออยู่ในสารละลายมีปริมาณน้อย ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Aoki และคณะ (2005) และ Masubon และคณะ (2004) ที่ได้ทำการศึกษาถึงการ interact กันระหว่างโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และ ไคโตซาน ซึ่งจากการใช้เทคนิค Surfactant selective electrode (SSE) (ภาพที่ 46) พบว่าโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้น 2-3 มิลลิโมลาร์ สามารถถูกดูดซับได้หมดที่พื้นผิวของ oil droplet (corn oil 5%) และที่ความเข้มข้นที่มากกว่านี้พบว่ามีโมเลกุลของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตที่ไม่ถูกดูดซับเหลืออยู่ในเฟสต่อเนื่อง ซึ่งในความเป็นจริงแล้ว ระบบต้องการให้มีความเข้มข้นของโมเลกุลที่ไม่ถูกดูดซับใน primary emulsion ให้น้อยที่สุด เพื่อหลีกเลี่ยงโมเลกุลเหล่านี้ไปทำปฏิกิริยากับไคโตซานที่จะใช้เป็นสารให้ความคงตัวในการผลิต secondary emulsion ต่อไป แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตก็ต้องการในปริมาณที่มากเพียงพอในการที่จะมั่นใจได้ว่าอนุภาค oil droplet จะถูกปกคลุมได้ทั้งหมดและได้เป็นดร็อปเล็ทขนาดเล็กที่มีความคงตัวต่อการเกิด aggrregation ค่าความเข้มข้นที่ ที่ดีที่สุดที่ใช้ในการเตรียม primary emulsion คือ 5-6.6 mM จึงถูกเลือกนำมาใช้

นอกจากนี้แล้วปริมาณไคโตซานที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ก็น่าจะเป็นปริมาณที่เหมาะสมหรือพอดีในการสร้างพันธะกันกับโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต และสามารถที่จะดูดซับได้พอดีกับจำนวน oil droplet ที่เกิดขึ้นจากการทำ primary emulsion จึงช่วยให้ยับยั้งการเกิด bridging flocculation และ depletion flocculation ได้ดังกล่าวแล้วในข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามได้ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสเพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้อีกครั้ง



ภาพที่ 46 ปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตอิสระ ที่เหลือหลังการทำ primary emulsion (5 wt% corn oil, 100 mM acetic acid buffer, pH 3.0) วัดโดยการใช้ surfactant selective electrode (SSE)

ที่มา : Aoki และคณะ, 2005

4.2.4 การศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบสามเหลี่ยม

ทำการทดสอบในหัวข้อนี้เช่นเดียวกันกับข้อ 4.1.4 โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่มซึ่งได้แก่ 1) กลุ่มที่ 1 เป็นตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำแบบ double layer-SDS-Chitosan โดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:1 2) กลุ่มที่2 คือ ตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นโดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 6:2 3) กลุ่มที่3 คือ ตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำโดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:2 และ 4) กลุ่มที่4 คือตัวอย่างน้ำมันมะนาวและน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำโดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:3 โดยทำการผสมตัวอย่างทีละ 1 กลุ่มในเครื่องดื่มน้ำมะนาว และทำการเสริฟแบบเย็นกับผู้ทดสอบซึ่งเป็นผู้ชอบบริโภคเครื่องดื่มน้ำมะนาวและผ่านการฝึกฝนแล้วเป็นจำนวน 20 คน และทำการวิเคราะห์และสรุปผลทางสถิติโดยใช้ตาราง Triangle Test ดังแสดงในภาคผนวก ข โดยการทดลองนี้เริ่มดำเนินการทำ ตั้งแต่การเก็บรักษาที่เดือนที่ 5 เป็นต้นไป ทั้งนี้เพราะจากการทดลองก่อนหน้านี้ในหัวข้อ 4.2.3 พบว่าที่การเก็บรักษามาจนถึงเดือนนี้มีสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นและผลการทดลองแสดงไว้ดังตารางที่ 6

โดยการศึกษากลุ่มที่ 1 พบว่าในเดือนที่ 5 และ ที่ 6 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 7 และ 9 คนตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 7 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 17 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง จากการเปิดตาราง Triangle test (ภาคผนวก ข) พบว่าถ้ามีผู้ตอบถูกเป็นจำนวน 11 คนขึ้นไปก็สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่าง 2 ตัวอย่างนี้มีความแตกต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำแบบdouble layer โดยมีอัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:1 นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 7 เดือน

ผลการทดลองที่ได้ในการศึกษากลุ่มที่ 2 พบว่าในเดือนที่ 5, 6 และ 7 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 5, 5 และ 7 คน ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 8 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 11 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง จากการเปิดตาราง Triangle test (ภาคผนวก ข) ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำแบบ double layer โดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 6:2 นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 8 เดือน

ผลการทดลองที่ได้พบว่าการศึกษากลุ่มที่ 3 พบว่าในเดือนที่ 5, 6 และ ที่ 7 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 6, 8 และ 10 คน ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 8 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 15 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง จากการเปิดตาราง Triangle test (ภาคผนวก ข) ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำแบบ double layer โดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:2 นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 8 เดือน

ผลการทดลองที่ได้พบว่าการศึกษากลุ่มที่ 4 พบว่าในเดือนที่ 5, 6 และ ที่ 7 นั้นผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยมีผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างได้ถูกต้องเพียง 6, 9 และ 10 คน ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 8 พบว่ามีผู้ทดสอบจำนวน 17 คนสามารถตอบได้ถูกต้อง จากการเปิดตาราง Triangle test (ภาคผนวก ข) ทำให้สามารถสรุปได้ว่าตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำระบบอิมัลชั่นแบบน้ำมันในน้ำแบบ double layer โดยมีอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตต่อไคโตซานคือ 12.5:3 นั้นมีความแตกต่างกับน้ำมันมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่การเก็บรักษาที่ 8 เดือน

ทั้งนี้ผลการทดสอบความแตกต่างเมื่อผู้บริโภคสามารถบอกความแตกต่างของตัวอย่างได้ จะให้ความเห็นว่าสามารถได้กลิ่นเหมือนมะนาวดอง หรือ กลิ่นคล้ายน้ำยาล้างห้องน้ำ ซึ่งเป็นกลิ่นที่เกิดจากการออกซิเดชั่นของสารประกอบให้กลิ่นสำคัญ เช่น ลิโมนีนหรือซิตรัล เปลี่ยนไปเป็นลิโมนีนออกไซด์ หรือ คาร์โวน หรือ เบอร์นีออล เป็นต้น และจากผลการทดลองพบว่ามีอัตราส่วน 3 อัตราส่วนที่ให้ผลการทดลองที่เหมือนกัน คือ 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากจำนวนผู้ทดสอบในเดือนที่ 8 ที่ผู้ทดสอบสามารถบอกความแตกต่างของตัวอย่าง 2 ตัวอย่างได้ถูกต้อง พบว่าระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนที่ 6:2 จะมีผู้ทดสอบที่สามารถบอกความแตกต่างได้อย่างถูกต้องทั้งหมด 11 คน ซึ่งน้อยกว่าระบบอิมัลชั่นที่มีอัตราส่วนที่ 12.5:2 และ 12.5:3 ที่มีผู้ทดสอบสามารถตอบถูกต้อง 15 และ 17 คน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลที่ได้จึงทำให้สรุปได้ว่าอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน ที่ 6:2 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาวในอิมัลชั่นแบบ double layer ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองทางเคมีในข้อที่ 4.2.3 ที่พบว่าอัตราการลดลงของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญ คือ d-limonene, β-pinene, α-terpineol, neral และ geranial ลดลงน้อยที่สุดรวมทั้งอัตราการเพิ่มขึ้นของสารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซาน ที่ 12.5:2, 12.5:3 และ 12.5:1 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test โดยการใช้น้ำมันมะนาวสดเปรียบเทียบกับอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosanที่อัตราส่วนของความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต ต่อ ไคโตซานคือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ

กลุ่มที่	เครื่องดื่มน้ำมะนาว 6%			
	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7	เดือนที่ 8
1[1]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	แตกต่าง[5]	-
2[2]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	แตกต่าง[5]
3[3]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	แตกต่าง[5]
4[4]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	ไม่แตกต่าง[5]	แตกต่าง[5]

[1] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS- Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:1

[2] คือการเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS- Chitosan ที่อัตราส่วน 6:2

[3] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS- Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:2

[4] คือ การเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันมะนาวกับน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS- Chitosan ที่อัตราส่วน 12.5:3

[5] คือ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$, $n=20$

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว ทางกายภาพ ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส ของอิมัลชั่นทั้ง 3 ระบบคือ 1) single-layer GA 2) single-layer SDS และ 3) double-layer SDS-Chitosan พบว่าระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan จะเพิ่มอายุการเก็บรักษาของอิมัลชั่นของน้ำมันมะนาวจาก 4 เดือน เป็น 7 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับความคงตัวทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยพบว่า

ก) ลักษณะทางกายภาพพบว่าจะสามารถยับยั้งการเกิดการแยกชั้นครีมของระบบอิมัลชั่นได้ดี เห็นได้จากว่าจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือนจะไม่พบการแยกชั้นครีมเกิดขึ้น

ข) ลักษณะทางเคมีพบว่าปริมาณของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญที่ใช้ในการติดตามความคงตัวของระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำของน้ำมันมะนาว คือ d-limonene, α-terpineol และ β-pinene มีอัตราการลดลงเรียงลำดับจากน้อยไปมากคือ double layer-SDS-Chitosan, single layer-SDS และ single layer-GA ตามลำดับ ในขณะที่ neral และ geranial จะมีปริมาณลดลงอย่างมากใน double layer-SDS-Chitosan และ single layer-SDS เมื่อเทียบกับ single layer-GA แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณของสารประกอบที่เกิดจากการเสื่อมเสียของสารให้กลิ่นรสสำคัญ เนื่องจากปฏิกริยา acid-catalyzed cyclization และ oxidation ได้แก่ limonene oxide, carvone, borneol และ fenchol ซึ่งจะให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นนั้น พบว่ามีอัตราการเกิดเรียงลำดับจากน้อยไปมากคือ double layer-SDS-Chitosan, single layer-SDS และ single layer-GA ตามลำดับ

ค) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบสามเหลี่ยมพบว่า ผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างของน้ำมันมะนาวกับ single layer-GA ได้ที่เดือนที่ 4 ในขณะที่แยกความแตกต่างของน้ำมันมะนาวกับ single layer-SDS ได้ที่เดือนที่ 6 และแยกความแตกต่างของน้ำมันมะนาว กับ double layer-SDS-Chitosan ได้ที่เดือนที่ 8

5.2 การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสของน้ำมันมะนาวในอิมัลชั่นแบบ double layer – SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซาน คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:3 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด คือ 6:2 โดยการศึกษาทางเคมีพบว่าอัตราการลดลงของสารให้กลิ่นรสที่สำคัญ มีอัตราการลดลงที่น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($p<0.05$) และอัตราการเกิดสารประกอบให้กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ก็มีอัตราการเกิดน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) รวมทั้งการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบสามเหลี่ยม พบว่าแม้ว่าผู้บริโภคสามารถบอกความแตกต่างได้ในการเก็บรักษาที่เวลาเท่ากันกับอัตราส่วนที่ 12.5:2 และ 12.5:3 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผู้บริโภคสามารถตอบได้ถูกต้องเพียง 11 คน ในขณะที่ผู้บริโภคสามารถตอบได้ถูกต้องถึง 15 และ 17 คนในอัตราส่วนที่ 12.5:2 และ 12.5:3 ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ได้ ทำให้ได้ข้อมูลการทำระบบอิมัลชั่นแบบดับเลิ้ลเลเยอร์ที่เหมาะสม ที่อาจจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการทำอิมัลชั่นในอุตสาหกรรมอาหาร หรืออื่นๆได้อีกอย่างกว้างขวาง

บรรณานุกรม

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์หนังสือแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิจศิริ เรืองรังสี. 2534. เครื่องเทศ. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

สิริลักษณ์ มาลานิยม. 2545. น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากสมุนไพรไทย. สมอ สาร 28 (325): 36.

สมศักดิ์ วรรณศิริ. 2541. สวนมะนาว พิมพ์ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2544. ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 19: พืชที่ให้น้ำมันหอม. สหมิตรพริ้นติ้ง,นนทบุรี.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารราคารายวันสินค้าเกษตรที่สำคัญเดือนมกราคม 2542 – กันยายน 2543.

อิมัลชั่น. [ออนไลน์]. 2544 มกราคม [อ้างเมื่อ 12 ตุลาคม 2552]. แหล่งที่มา URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Emulsion

เยาวภา หล่อเจริญผล 2547. ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสารให้กลิ่นรสจากต้มยำกึ่งสำเร็จรูป. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Akon, C. C and Min, D. B. Food Lipid. 2008. CRC Press, USA.

Alexandre G.S., Macedo, L.C., Dias, S.C.L and Dias, J.A. 2004. Calorimetric studies of the association of chitin and chitosan with sodium dodecyl sulfate. Colloids and Surfaces. 35: 23-27.

Atti-Santos,A.C., Rossato, M., Atti Serafini, L., Cassel, E. and Moyha, P. 2005. Extraction of essential oils from Lime(*Citrus latifolia* Tanaka) by Hydrodistillation and dupercritical Carbon Dioxide. An international Journal. 18: 155-160.

Aoiki, T., Decker, E., A. and McClement, D., J. 2005. Influence of stresses on stability of produced by a layer-by- layer electrostatic deposition technique. Food Hydrocolloids. 19: 209-220.

Ashurst, P.R. 1995. Food Flavourings. 2nd ed., London: Chapman & Hall.

Bauer, K.,D.Grabe and Surburg, H. 1997. Commond Fragrance and Flavor Materaial: Preparation, Properties and Uses. 3rd ed. Wiley-VCH, Weinheim.

Braddock, R.J. and Cadawallader, K.R. 1995. Bioconverion of citrus *d*-limonene, *In* R.L. Rouseff and M.M. Leahy, eds. Fruit Flavor: Biogenesis, Characterization and Authentication. American Chemistry Society, Washington, DC. pp.142-148.

Chamblee, T.S. and Clark, B.C. Jr. 1997. Analysis and chemistry of distilled lime oil (*Citrus aurantifolia* Swingle). Journal of Essential Oil Res. 9: 267-274.

Dickinson, E. and Stainsby. 1982. Colloids in Food. Applied Science Publishers, London.

Dickinson, E. 1992. An Introduction to food Colloids. Oxford University Press, Oxford.

Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocolloids. 17: 25-39.

Dickenson, E. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. Food Hydrocolloids. 23: 1473-1482.

Djordjevic, D., Cercaci, L., Alamed, J., McClements, D. J. and Decker, E. A. 2007. Chemical and physical stability of citral and limonene in sodium dodecyl sulfate-chitosan and gum arabic – stabilizer oil-in-water emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 3585-3591

Djordjevic, D., Cercaci, L., Alamed, J., McClements, D. J. and Decker, E., A. 2008. Stability of citral in protein- and gum arabic-stabilized oil-in-water emulsion. Food Chemistry. 106: 698-705.

Djordjevic, D., Cercaci, L., Alamed, J., McClements, D.J., Decker, E.A. 2008. Journal of Food Science. 73: 167-172.

Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. 17: 25-39.

Fan, X. and Gates, R.A. 2001. Degradation of monoterpenes in orange juice by gamma radiation. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49(5): 2422-2426.

Friberg, S., Larsson, K. and Sjoblom, J. 2004. Marcel Dekker, New York.

Gatfield, I.L. 1999. Biotechnological production of natural flavor material, pp.211-277. *In* R. Teranishi, E.L. Wick and I. Hornstein, eds. Flavor Chemistry:Thirty Year of Progress. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Grosch, W. 1993. Detection of potent odorants in food by aroma extract dilution Ananlysis. Trends in Food Science and Technology 4(3): 68-73.

Guzey, D. and McClements, D. J. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in food industry. Advance in Colloid and Interface Science. 128-130:227-248.

Guzey, D. and McClements, D. J. 2006. Influenece of Environmental Stresses on O/W Emulsions stabilized by β-Lactoglubulin-Pectin and β-Lactoglubulin-Pectin-Chitosan Membranes Produced by the Electrostatic Layer-by-Layer Deposition Technique. Published online on Spinger Science+Business Media, Inc. 1: 30-40.

Heath, H.B. 1981. Source Book of Flavors. The AVI publishing Co.,Inc., Connecticut.

Hirasa, K. and Takemasa, M. 1998. Spice Science and Technology. Marcel Dekker, Inc., New York.

International Trade Center UNICTAD/GATT. 1986. Essential Oils and Oleoresins: a Study of selected Producers and Major Markets. Palais des Nations, Geneva.

Iwanami, Y., Tateba, H., Kodama, N. and Kishino, K. 1997. Changes of lemon flavor Components in an aqueous solution during UV irradiation. Journal of Agricultural and Food Chemistry.45(2): 463-466.

Kimura, K., Nishimura, H., Iwata, I. and Mizutani, J. 1983. Deterioration mechanism of lemon flavor. 2. Formation mechanism of off-odor substances arising from citral. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 31(4): 801-804.

Kristinsson, H. G. and Rasco, B., A. 2000. Fish protein hydrolysates:production, biochemical, and functional propertie. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 40: 43-81.

Masubon, T and McClements, D. J. 2004. Characterization of Interactions between Chitosan and an Anionic Surfactant. J. Agric. Food Chem. 52: 987-991.

McClements, D.J. 1999. Food Emulsion : Principle, Practice and Techniques. CRC Press LLC., Florida.

McClements, D. J. Principles, Practice and Techniques. 2004. Food Emulsions, Principles, Practice and Techniques. Boca Raton, FL. : CRC Press.

McClements, D. J. Principles, Practice and Techniques. 2005. Food Emulsions, Principles, Practice and Techniques. Boca Raton, FL. : CRC Press.

Rodr'iguez, M.S., Albertengo, L.A. and Agull'o, E. 2002. Emulsification capacity of chitosan. Carbohydrate Polymers. 48: 271-276.

Ogawa, S., Decker, E. A., McClemetns, D. J. 2004. Production and characterisation of O/W emulsions containing droplets stabilized by lecithin-chitosan-pectin multilayered membranes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 3595-3600.

Ohta, T., Morimitsu,Y., Sameshima, Y., Samuta, T. and Ohba, T. 1991. Transformation from geraniol, neraol and their glucosides into linalool and α-terpineol during *schohu* distillation. Journal of Fermentation and Booengineering 72(5):347-351.

Onesippe, C. and Lagerge, S. 2008. Study of the complex formation between sodium dodecyl sulfate and chitosan. Colloids and Surfaces. 317: 100-108.

Oyen, L.P.A. and Dung, N.X. 1999. Plant Resources of South-East Asia: No. 19, Essential-Oil Plants. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia.

Parliament, T.H. 1986. Sample preparation techniques for gas-liquid chromatographic analysis of biologically derived aromas, pp. 34-52. *In* T.H. Parliament and R. Croteau, eds. Biogeneration of Aromas. American Chemistry Society, Washington, DC.

Peacock, V.E. and Kuneman, D.W. 1985. Inhibition of the formation of α-ρ-dimethylstyrene and ρ-cymene-8-ol in carbonated cital-containg beverage system. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 33(3): 330-35.

Reineccius, G. A. 1994. Source Book of Flavors. 2nd ed. Chapman & Hall, New York.

Buffo, R.A., Reineccius, G.A. and Oehlert, G.W. 2001. Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. Food Hydrocolloids. 15: 53-66.

Saehun Mun, Eric A. Decker and D. Julian McClements. 2006. Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan membranes. Journal of Colloid and Interface Science. 296: 581-590.

Sara , J.R. and Reineccius, G. A. 1995. Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients. ACS Symposium Series 590.28.

Schieberle, P. and Grosch, W. 1988. Identification of potent flavor compounds formed in an aqueous lemon oil/citric acid emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 36(4): 797-800.

Schwab, W., Williams, D.C. and Croteau, R. 2002. Mechanism of monoterpene cyclization: stereochemistry of the transformation of noncyclizable substrate analogs by recombinant (-)-limonene synthase, (+)-bornyl diphosphate synthase and (-)-pinene synthase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 19-20: 415-421.

Schramm, L. L. 2005. Emulsion, Foams and Suspensions. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

Stauffer, C.E. 1999. Emulsifier. Eagen Press, St. Paul, MN.

Surh, J., GuSuk, Y., Decker, E., A. and McClement, D. J. 2005. Influence of environment stresses on stability of O/W emulsion containing cationic droplets stabilized by SDS-Fish gelatin membranes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 4236-4244.

Suwimon , A. and Dungan, R. S. 2007. Solubilization in monodisperse emulsions. Journal of Colloid and Interface Science. 314: 673-682.

Klinkesorn, U., Pairat, S., Paveena, C., Decker, E.A. and McClements, D. J. 2005. Encapsulation of emulsified tuna oil in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. Food Hydrocolloids. 19: 1044-1053.

Williams, P.J. 1993. Hydrolytic flavor release in fruit and wines through hydrolysis of nonvolatile precursors, pp. 287-308. *In* T.E. Acree and R. Teranishi, eds. Flavor Science: Sensible Principles and Techniques. ACS Professional Reference Book, Washington, DC.

Yadav, A.R., Chauhan, A.S., Rekha. M. N., Rao. L.J.M. and Ramteke, R.S.(2004). Flavor quality of dehydrated lime {Citrus aurantifolia (Christm) Swingle}. Food Chemistry. 85:59-62.

Yadav, M.P., Igartuburu, J.M., Yan, Y. and Nothnagel, E. A. 2007. Chemical investigation of the Structural basis of the emulsifying activity of gum Arabic. Food Hydrocolloids, 21, 297-308.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สภาวะและการวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาวด้วย เครื่อง GC-O และ GC-MS

1.สภาวะของเครื่องGas Chromatography-Olfactometry FlameIonization Detector (GC-O) และวิธีการวิเคราะห์สารประกอบในน้ำมันมะนาว

ใช้เครื่อง Gas Chromatography-Olfactometry ของบริษัท Shimadzu รุ่น 2010 อุณหภูมิของ Injector 250°C Direct Injection Mode มีก๊าซฮีเลียมบริสุทธิ์ 99.99% เป็น carrier gas ด้วยอัตราการไหลคงที่ที่ 0.40 ml/min แยกสารด้วยแคปิลารีคอลัมน์ คือ HP-5 ยาว 30.0 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตรชั้นเคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร โดยตั้ง โปรมแกรมอุณหภูมิดังนี้ เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 80°C คงไว้ 5 นาที แล้วเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 5°C/นาที จนถึง 200°C อุณหภูมิของ FID Detector 230°C โดยการวิเคราะห์จะฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร แบบ splitless และใช้ผู้ทดสอบจำนวน 6 คน (นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร) โดยจดบันทึกเวลาและลักษณะของกลิ่นเมื่อผู้ทดสอบได้กลิ่น การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยการนำสัญญานที่ได้จากผู้ทดสอบจำนวนทั้ง 6 คน มาทำการเปรียบเทียบ โดยสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่ผู้ทดสอบตั้งแต่ 4 คนขึ้นไปสามารถรับรู้ได้ที่เวลาตรงกันจะนำมาใช้เป็นสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสตัวหลักหรือสำคัญในน้ำมันมะนาว ซึ่งจะสามารถบอกลักษณะหรือคุณภาพของกลิ่นได้จากผู้ทดสอบ และบอกชนิดของสารได้โดยเทียบกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS (เปรียบเทียบค่า LRI โดยการนำค่า retention time ของสารชนิดนั้นๆ แล้วมาคำนวณค่า LRI ใน GC-O และดูว่าตรงกับค่า LRI ของสารประกอบชนิดใดใน GC-MS ทั้งนี้ต้องมีการนำ สาร n-alkanes (C8-C20) มาทำ การวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดียวกันกับตัวอย่างด้วยเนื่องจากต้องนำค่า retention time เพื่อมาวิเคราะห์ค่า LRI ด้วย)

2.สภาวะของเครื่องGas Chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) และวิธีการวิเคราะห์สารประกอบในน้ำมันมะนาว

ฉีดตัวอย่างแบบ splitless ปริมาตร 1 ไมโครลิตร การแยกสารระเหยใช้แคปิลารีคอลัมน์ HP-5 ขนาด 60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.32 ไมโครเมตร ใช้ก๊าซฮีเลียมความบริสุทธิ์ 99.999% เป็น carrier gas โดยมีอัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสารเริ่มที่ 80 องศาเซลเซียสคงไว้ที่อุณหภูมินี้ 5 นาทีแล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส จากนั้นเพิ่มอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 5 องศาเซลเซียสต่อนาที เมื่ออุณหภูมิเพิ่ม

ถึง 230 องศาเซลเซียสคงอุณหภูมินี้ไว้ 10 นาทีรวมเวลาที่ฉีดตัวอย่าง 34 นาที แหล่งกำเนิดไอออนของ MS เป็นแบบอิเล็กตรอนอิมแพ็คท์(Electron-Impact Ionisation, EI) ค่าพลังงานไอออไนเซชัน 70 อิเล็คตรอนโวลท์ scan range30-300 m/z ความเร็วในการ scan 2.74 scan/sec การชี้เฉพาะสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสทำโดยเปรียบเทียบกับ spectra ในฐานข้อมูล (NIST98 Library) และยืนยัน retention time โดยใช้สารมาตราฐาน (standard solution) คือ d-limonene, citral (nearl และ geranial), α-terpineol และ β-pinene

3. การคำนวณค่า Linear Retention Index (LRI)

คำนวณค่า LRI จากสมการดังนี้

$$LRI = 100\,N + 100\,n\left\{\frac{t_{RA} - t_{RN}}{t_{R\,(N+n)} - t_{RN}}\right\}$$

เมื่อ N = จำนวนคาร์บอนอะตอมของอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า

n = ความแตกต่างของจำ นวนคาร์บอนอะตอมของสารอัลเคน 2 ตัวที่อยู่ระหว่างสารประกอบ ที่ต้องการหาค่า LRI

t_{RA} = retention time ของสารที่ต้องการหาค่า LRI

t_{RN} = retention time ของอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า

$t_{R\,(N+n)}$ = retention time ของอัลเคนที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า

4.การคำนวณปริมาณของสารประกอบให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

เตรียมสารละลายมาตราฐาน dodecane ความเข้มข้น 18.75 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานนี้ปริมาตร 0.1มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างจำนวน 3 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 625 นาโนกรัม คำนวณความเข้มข้นของสารประกอบให้กลิ่นได้จากสมการ

$$Q_x = \frac{A_x \times C_i}{A_i}$$

เมื่อ Q_x คือ ปริมาณของความเข้มข้นของตัวอย่าง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

A_x คือ พื้นที่ของสารประกอบตัวอย่างบนโครมาโตแกรมที่ต้องการหาปริมาณ (area unit)

A_i คือ พื้นที่ของสารละลายมาตราฐาน (area unit)

C_i คือ ปริมาณของสารละลายมาตรฐาน (นาโนกรัม)

5. การวิเคราะห์สารประกอบให้กลิ่นรสในน้ำมันมะนาว

5.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำมันมะนาว หรือตัวอย่างน้ำมันมะนาวที่ทำอิมัลชั่น เป็นจำนวน 0.2 มิลลิลิตร ลงในเมทานอลปริมาณ 2.8 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex

5.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน dodecane จำนวน 0.1 มิลลิลิตรลงในสารละลายข้อ 5.1 ปั่นผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex

5.3 กรองสารละลายในข้อ 5.2 และนำไปวิเคราะห์ต่อไป

5.4 สำหรับตัวอย่างอิมัลชั่นที่ใช้กัมอาราบิคเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ ทำการปั่นผสมโดยใช้เครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,440 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณของกัมอาราบิคที่มีปริมาณมากเกินไปในสารละลายจะได้ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสและตารางการวิเคราะห์ทางสถิติแบบสามเหลี่ยม

1. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีสามเหลี่ยม (triangle test)

การทดสอบแบบสามเหลี่ยม หมายถึงการทดสอบความแตกต่างของตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่าง A และ B แต่จัดเสนอตัวอย่างในลักษณะ 3 ชิ้น คือมีตัวอย่างเหมือนกัน 2 ตัวอย่าง (AA, BB) และอีกตัวอย่างเดี่ยว (odd sample)

คำถาม : จงหาตัวอย่างคี่ “Find the odd sample”

รูปแบบการจัดเรียง : ABB, BAB, BBA และ BAA, ABA, AAB ซึ่งรูปแบบการจัดเสนอของ triangle test ที่มความน่าจะเป็นในการตอบถูก = 1/3 หรือ 33.33%

รูปแบบการเสิร์ฟ : จัดตามตารางสุ่มของตารางที่ 11

เทคนิคการทดสอบ :

1. จัดเสนอตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบตามรูปแบบในตารางที่ 11 โดยจัดให้มีตัวเหมือน 2 ตัวอย่างและตัวเดี่ยวหรือคี่ 1 ตัวอย่าง ให้ผู้ทดสอบหาตัวอย่างคี่ (odd sample) แล้วนับจำนวนผู้ทดสอบที่ตอบถูกหรือเลือกตัวอย่างคี่ได้ถูกต้อง

2. จำนวนผู้ทดสอบ 20-40 คน สำหรับตัวอย่างที่มีความแตกต่างมาก แต่ถ้าตัวอย่างมีความแตกต่างน้อย ให้ใช้ผู้ทดสอบจำนวนมากขึ้น 50-100 คน เพื่อหลีกเลี่ยงการคาดเดา หรือผู้ทดสอบ 20 คนขึ้นไปได้ แต่กลุ่มผู้ทดสอบควรเป็นผู้ทดสอบที่ผ่านการอบรมให้เข้าใจวิธีทดสอบ รวมทั้งได้รับการฝึกฝนทางด้านประสาทสัมผัสแล้วเป็นอย่างดี

3. กรณีตัวอย่างที่มีความรู้สึกหลังทดสอบมาก (strong aftertest) ควรเสิร์ฟที่ละตัวอย่าง เพื่อเว้นระยะพัก

ตารางที่ 7 ตัวอย่างตารางสุ่มสำหรับลำดับการเสนอในการทดสอบ Triangle test

	Serving order *	
Subject	First set	Second set
1	ABB	ABA
2	BAB	AAB
3	BBA	BAA
4	AAB	BAB
5	BBA	ABA
6	ABB	AAB
7	BAA	BAB
8	ABA	BBA
9	AAB	ABB
10	BAA	BBA
11	ABA	ABB
12	BAB	BAA
13	AAB	BBA
14	BBA	AAB
15	BAA	ABB
16	ABB	BAA
17	ABA	BAB
18	BAB	ABA

* One replication per subject

2. แบบสอบถามการประเมินผลทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ น้ำมะนาว

วันที่ ..... เวลา.....

ผู้ประเมิน อายุ..... ปี เพศ (.....)ชาย (.....)หญิง

<u>คำชี้แจง</u> ท่านจะได้รับตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำมะนาว เป็นจำนวน 3 ตัวอย่าง โดยตัวอย่าง ที่ให้ชิมนี้มี 2 ตัวอย่างที่เหมือนกัน และ 1 ตัวอย่างที่ต่างกัน กรุณาชิมตัวอย่างทีละตัวอย่างตามลำดับ จากซ้ายไปขวา (กรุณาบ้วนปากด้วยน้ำทุกครั้งก่อนชิม) และกรุณาตอบคำถามด้านล่าง

รหัสตัวอย่าง ……. ……. …….

กรุณาเขียนเลขตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำมะนาวที่ต่างกัน : …….

กรุณาให้รายละเอียดของตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำมะนาวที่ต่าง : ……...

3. การวิเคราะห์และสรุปผลทางสถิติ

ใช้ตาราง Triangle test หรือ one-tailed binomial test ตามตารางที่ 12 โดยนับจำนวนผู้ทดสอบที่ตอบถูก คือ เลือกตัวอย่างที่ต่างได้ถูกต้อง แล้วนำตัวเลขไปเปรียบเทียบกับค่าในตาราง โดยพิจารณาดังนี้

โอกาสที่ตอบถูกต้อง = 1/3 (probability of guessing = 1/3)

เพราะฉะนั้น Ho (null hypothesis) = p=1/3 , q = 2/3, ตัวอย่างไม่แตกต่างกัน

และ Ha (alternative hypothesis) = p > 1/3, ตัวอย่างมีความแตกต่างกัน

ดังนั้น ถ้าจำนวนผู้เลือกตัวอย่างที่ต่างได้ถูกต้องมีมากกว่าค่าในตาราง ก็จะปฏิเสธ Ho (ตัวอย่างไม่แตกต่างกัน) และยอมรับ Ha (ตัวอย่างมีความแตกต่างกัน)

ตารางที่ 8 ตารางสถิติ สำหรับการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสแบบ triangle test

Number of tasters	Number of correct answers necessary to establish level of significance			Number of tasters	Number of correct answers necessary to establish level of significance		
	* 5%	** 1%	*** 0.1%		* 5%	** 1%	*** 0.1%
7	5	6	7	57	27	29	31
8	6	7	8	58	27	29	32
9	6	7	8	59	27	30	32
10	7	8	9	60	28	30	33
11	7	8	9	61	28	30	33
12	8	9	10	62	28	31	33
13	8	9	10	63	29	31	34
14	9	10	11	64	29	32	34
15	9	10	12	65	30	32	35
16	10	11	12	66	30	32	35
17	10	11	13	67	30	33	36
18	10	12	13	68	31	33	36
19	11	12	14	69	31	34	36
20	11	13	14	70	32	34	37
21	12	13	15	71	32	34	37
22	12	14	15	72	32	35	38
23	13	14	16	73	33	35	38
24	13	14	16	74	33	36	39
25	13	15	17	75	34	36	39
26	14	15	17	76	34	36	39
27	14	16	18	77	34	37	40
28	15	16	18	78	35	37	40
29	15	17	19	79	35	38	41
30	16	17	19	80	35	38	41
31	16	18	19	81	36	38	41
32	16	18	20	82	36	39	42
33	17	19	20	83	37	39	42
34	17	19	21	84	37	40	43
35	18	19	21	85	37	40	43
36	18	20	22	86	38	40	44
37	18	20	22	87	38	41	44
38	19	21	23	88	39	41	44
39	19	21	23	89	39	42	45
40	20	22	24	90	39	42	45
41	20	22	24	91	40	42	46
42	21	22	25	92	40	43	46
43	21	23	25	93	40	43	46
44	21	23	25	94	41	44	47
45	22	24	26	95	41	44	47
46	22	24	26	96	42	44	48
47	23	25	27	97	42	45	48
48	23	25	27	98	42	45	49
49	23	25	28	99	43	46	49
50	24	26	28	100	43	46	49
51	24	26	29	200	80	84	89
52	25	27	29	300	117	122	127
53	25	27	29	400	152	158	165
54	25	27	30	500	188	194	202
55	26	28	30	1000	363	372	383
56	26	28	31	2000	709	722	737

ที่มา ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ 9: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	27547.62153	2754.76215	190.52	<.0001
Error	21	303.65036	14.45954		
Corrected Total	31	27851.27189			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.989097	8.008256	3.802570	47.48312

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	1093.76714	364.58905	25.21	<.0001
month	7	26453.85439	3779.12206	261.36	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	14.45954
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	3.9539

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	57.398	8	2
B	45.310	8	3
B	44.980	8	4
B	42.245	8	1

ตารางที่ 10: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	39513.73802	3951.37380	773.59	<.0001
Error	21	107.26486	5.10785		
Corrected Total	31	39621.00289			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.997293	5.293257	2.260055	42.69688

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	387.03494	129.01165	25.26	<.0001
month	7	39126.70309	5589.52901	1094.30	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	5.107851
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	2.35

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	48.159	8	2
B	42.204	8	3
B	41.939	8	4
C	38.486	8	1

ตารางที่ 11: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	20765.58951	2076.55895	124.70	<.0001
Error	21	349.71122	16.65292		
Corrected Total	31	21115.30072			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.983438	7.658213	4.080798	53.28656

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	945.44136	315.14712	18.92	<.0001
month	7	19820.14815	2831.44974	170.03	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	16.65292
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	4.2432

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	61.345	8	2
B	53.444	8	3
B	52.299	8	4
C	46.059	8	1

ตารางที่ 12: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	22722.67700	2272.26770	409.50	<.0001
Error	21	116.52769	5.54894		
Corrected Total	31	22839.20469			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.994898	4.666150	2.355618	50.48313

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	622.33031	207.44344	37.38	<.0001
month	7	22100.34669	3157.19238	568.97	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	5.548938
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	2.4494

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	57.528	8	2
B	49.566	8	4
B	49.488	8	3
C	45.351	8	1

ตารางที่ 13: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยเป็นมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	22257.01623	2225.70162	386.94	<.0001
Error	21	120.79246	5.75202		
Corrected Total	31	22377.80869			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.994602	4.929082	2.398337	48.65688

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	653.66884	217.88961	37.88	<.0001
month	7	21603.34739	3086.19248	536.54	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	5.752022
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	2.4938

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	55.816	8	2
B	47.979	8	4
B	47.536	8	3
C	43.296	8	1

ตารางที่ 14: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ limonene oxide ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	488.2877000	48.8287700	63.90	<.0001
Error	21	16.0461875	0.7641042		
Corrected Total	31	504.3338875			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.968183	22.20366	0.874131	3.936875

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	6.5413125	2.1804375	2.85	0.0617
month	7	481.7463875	68.8209125	90.07	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	0.764104
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	0.9089

Means with the same letter are not significantly different.

Mean	N	trt
A	4.6663	8 1
B	3.8300	8 4
B	3.8263	8 3
C	3.4250	8 2

ตารางที่ 15: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ carvone ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	650.8732500	65.0873250	334.54	<.0001
Error	21	4.0857000	0.1945571		
Corrected Total	31	654.9589500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.993762	14.51539	0.441086	3.038750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	1.5440500	0.5146833	2.65	0.0757
month	7	649.3292000	92.7613143	476.78	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	0.194557
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	0.4586

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	3.2650	8	1
B	3.1125	8	3
B	3.1025	8	4
C	2.6750	8	2

ตารางที่ 16: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ borneol ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	264.9172313	26.4917231	461.74	<.0001
Error	21	1.2048406	0.0573734		
Corrected Total	31	266.1220719			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.995473	13.15407	0.239527	1.820938

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	0.6582344	0.2194115	3.82	0.0249
month	7	264.2589969	37.7512853	657.99	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	0.057373
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	0.2491

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	2.0300	8	1
B	1.8213	8	4
B	1.8075	8	3
C	1.6250	8	2

ตารางที่ 17: การวิเคราะห์ความแตกต่างของสารประกอบ fenchol ในระบบอิมัลชั่นแบบ double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนความเข้มข้นของโซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (หน่วยมิลลิโมลาร์) ต่อ ไคโตซาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) ที่ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 12.5:1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	111.9819500	11.1981950	1636.05	<.0001
Error	21	0.1437375	0.0068446		
Corrected Total	31	112.1256875			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.998718	6.876456	0.082732	1.203125

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	3	0.0757125	0.0252375	3.69	0.0282
month	7	111.9062375	15.9866054	2335.64	<.0001

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	0.006845
Critical Value of t	2.07961
Least Significant Difference	0.086

Means with the same letter are not significantly different.

	Mean	N	trt
A	1.25500	8	1
A	1.22375	8	4
A	1.21000	8	3
B	1.12375	8	2

ตารางที่ 18: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระบบอิมัลชั่น		
	Single layer-GA	**Single layer-SDS**	**Double layer SDS-Chitosan**
1	6.14	7.08	7.13
2	4.20	6.21	6.42
3	2.10	4.50	6.00
4	1.80	3.60	5.00
5	1.00	2.90	4.00
6	0.80	1.60	3.10
7	0.00	1.20	2.10
8	0.00	0.90	1.50

ตารางที่ 19: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระบบอิมัลชั่น		
	Single layer-GA	**Single layer-SDS**	**Double layer SDS-Chitosan**
1	0.67	0.72	0.72
2	0.42	0.68	0.69
3	0.33	0.53	0.56
4	0.19	0.33	0.37
5	0.09	0.10	0.1
6	0.04	0.06	0.06
7	0.02	0.04	0.05
8	0.02	0.035	0.051

ตารางที่ 20: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระบบอิมัลชั่น		
	Single layer-GA	**Single layer-SDS**	**Double layer SDS-Chitosan**
1	0.138	0.13	0.12
2	0.13	0.12	0.10
3	0.11	0.1	0.09
4	0.03	0.07	0.069
5	0.02	0.05	0.054
6	0.02	0.03	0.03
7	0.02	0.03	0.03
8	0.02	0.03	0.03

ตารางที่ 21: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระบบอิมัลชั่น		
	Single layer-GA	**Single layer-SDS**	**Double layer SDS-Chitosan**
1	0.086	0.074	0.07
2	0.082	0.068	0.063
3	0.076	0.049	0.047
4	0.067	0.035	0.03
5	0.055	0.02	0.021
6	0.045	0.018	0.015
7	0.038	0.018	0.016
8	0.023	0.015	0.014

ตารางที่ 22: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ Single layer-GA, Single layer-SDS และ Double layer-SDS-Chitosan ที่การเก็บรักษา 1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระบบอิมัลชั่น		
	Single layer-GA	**Single layer-SDS**	**Double layer SDS-Chitosan**
1	0.602	0.521	0.48
2	0.58	0.46	0.44
3	0.52	0.30	0.34
4	0.045	0.23	0.23
5	0.40	0.15	0.20
6	0.34	0.12	0.18
7	0.28	0.09	0.12
8	0.20	0.09	0.09

ตารางที่ 23: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ d-limonene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	**อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก)**			
	12.5:1	**6:2**	**12.5:2**	**12.5:3**
1	7.15	7.34	7.14	7.12
2	6.00	6.74	6.40	6.38
3	3.90	5.89	4.20	4.45
4	3.10	5.10	3.43	3.34
5	2.5	3.50	2.78	2.65
6	1.30	2.45	1.46	1.40
7	0.85	1.96	1.19	1.10
8	0.78	1.78	0.84	0.80

ตารางที่ 24: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ β-pinene ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	**อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก)**			
	12.5:1	**6:2**	**12.5:2**	**12.5:3**
1	0.70	0.74	0.73	0.74
2	0.59	0.70	0.65	0.63
3	0.50	0.60	0.55	0.55
4	0.31	0.42	0.38	0.37
5	0.09	0.18	0.10	0.097
6	0.06	0.12	0.06	0.071
7	0.045	0.086	0.05	0.046
8	0.045	0.082	0.046	0.046

ตารางที่ 25: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ α-terpineol ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	**อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก)**			
	12.5:1	**6:2**	**12.5:2**	**12.5:3**
1	0.11	0.126	0.118	0.12
2	0.095	0.114	0.108	0.116
3	0.09	0.1	0.094	0.092
4	0.067	0.084	0.076	0.077
5	0.042	0.072	0.043	0.045
6	0.025	0.059	0.04	0.036
7	0.025	0.043	0.039	0.029
8	0.025	0.04	0.038	0.029

ตารางที่ 26: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ geranial ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	**อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก)**			
	12.5:1	**6:2**	**12.5:2**	**12.5:3**
1	0.072	0.077	0.071	0.075
2	0.064	0.07	0.064	0.066
3	0.04	0.055	0.048	0.048
4	0.038	0.049	0.039	0.039
5	0.021	0.032	0.027	0.027
6	0.019	0.027	0.021	0.022
7	0.014	0.025	0.02	0.017
8	0.014	0.023	0.018	0.015

ตารางที่ 27: ปริมาณ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของอิมัลชั่น) ของสารประกอบ neral ในระบบอิมัลชั่นแบบ Double layer-SDS-Chitosan ที่อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก) คือ 12.5:1, 6:2, 12.5:2 และ 1.5:3 ที่การเก็บรักษา1-8 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	**อัตราส่วนของ SDS(mM) และ Chitosan(%โดยน้ำหนัก)**			
	12.5:1	**6:2**	**12.5:2**	**12.5:3**
1	0.498	0.528	0.510	0.51
2	0.44	0.48	0.432	0.45
3	0.28	0.389	0.328	0.346
4	0.248	0.327	0.265	0.262
5	0.134	0.216	0.178	0.189
6	0.125	0.195	0.14	0.146
7	0.091	0.165	0.124	0.108
8	0.089	0.156	0.115	0.10

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาว ณัฏฐวรรณ ช่อดอกไม้
(ภาษาอังกฤษ) MISS NATTAWAN CHORDOKMAI

ที่อยู่ 259/12 หมู่ที่ 12 ต.หนองตาแต้ม อ.ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์ 77120

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2541 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา วิทยาศาสตร์เคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

พ.ศ. 2550 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาเทควิชาโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรมบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติการทำงาน

ปัจจุบัน ทำงานตำแหน่ง Food Technologist-Sweet good ที่บริษัท จีวอฎัน (ประเทศไทย) จำกัด

การเสนอผลงาน

มกราคม 2553 เสนอผลงานวิจัยภาคบรรยายเรื่อง “ความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่อยู่ในรูปของ Oil - in - Water อิมัลชันแบบดับเบิ้ล เลเยอร์ โดยใช้โซเดียมโดดิซิลซัลเฟตและไคโตซานเป็นสารให้ความคงตัว” ในการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยสร้างสรรค์ “ศิลปากรวิจัย ครั้งที่ 3: ศิลปากรสรรค์สร้าง สังคมเศรษฐกิจไทยสร้างสรรค์” มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัด นครปฐม