



**ใบรับรองวิทยานิพนธ์**  
**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**  
**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)**  
**ปริญญา**

|                   |                   |
|-------------------|-------------------|
| เทคโนโลยีการบรรจุ | เทคโนโลยีการบรรจุ |
| สาขา              | ภาควิชา           |

เรื่อง      การพัฒนากระดาษแข็งเคลือบวานิลลินด้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ

The Development of Antimicrobial Vanillin Coated Paperboard for Packing Bakery  
Products

นามผู้วิจัย      นางสาวสุวรรรัตน์ รักช่วย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชฎาภรณ์ จิฎกานนท์, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา .....  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชฎาภรณ์ จิฎกานนท์, Ph.D. )

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว**

.....  
( รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr. )

**คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย**

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนากระดาษแข็งเคลือบวานิลลินต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ

The Development of Antimicrobial Vanillin Coated Paperboard for Packing Bakery Products

โดย

นางสาวสุวรรรัตน์ รักช่วย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

พ.ศ. 2552

สุวรรณ รักช่วย 2552: การพัฒนากระด้างแข็งเคลือบวานิลลินด้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ) สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธัญญารัตน์ จิฎาญจน์, Ph.D. 149 หน้า

กระด้างแข็งเป็นวัสดุบรรจุที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบเพื่อการขายปลีก โดยทั่วไปขนมอบมักจะเสื่อมเสียได้ง่ายและมีอายุการเก็บสั้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระด้างแข็งด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบสารละลายวานิลลินสำหรับประยุกต์ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ การศึกษาประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ส่วนแรกเป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลินในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วย สารละลายวานิลลินในโดเมทิลซัลโฟลค์ สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน โดยศึกษาการด้านจุลินทรีย์สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น การศึกษาส่วนที่สองเป็นการพัฒนากระด้างแข็งเคลือบสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน โดยศึกษาสมบัติทางกายภาพและประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์ของกระด้างเคลือบ ด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น และวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยจะเลือกสารเคลือบที่มีคุณสมบัติเหมาะสมเพื่อการศึกษาขั้นต่อไป ส่วนที่สามเป็นการศึกษาถึงการนำกระด้างแข็งด้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยใช้ขนมเค้กม้วนเป็นกรณีศึกษา ผลจากการศึกษาในส่วนที่หนึ่งพบว่าสารละลายวานิลลินในโดเมทิลซัลโฟลค์ และสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ *E. coli* ได้ดีที่สุด และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เท่ากับร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) ในขณะที่สารละลายวานิลลินในไคโตซานมีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ *B. cereus* ได้ดีที่สุดและมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์เท่ากับร้อยละ 0.625 (โดยน้ำหนัก) รองลงมา คือ *E. coli* และ *S. aureus* ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์เท่ากับร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ผลจากการศึกษาในส่วนที่สองพบว่ากระด้างด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีลักษณะปรากฏใกล้เคียงกับกระด้างที่ไม่ได้เคลือบ มีสมบัติทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และมีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยกระด้างด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุด เมื่อทำการศึกษาต่อในส่วนที่สามพบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระด้างด้านจุลินทรีย์มีอายุการเก็บนานกว่าเค้กที่บรรจุด้วยกล่องกระด้างธรรมดาถึง 3 วัน ณ อุณหภูมิห้อง และ 6 วัน ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับเค้กที่บรรจุด้วยกล่องกระด้างแข็งด้านจุลินทรีย์ ผลจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำกระด้างแข็งด้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา เพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค และเสริมกลิ่นสำหรับผลิตภัณฑ์

Suwarat Rakchoy 2009: The Development of Antimicrobial Vanillin Coated Paperboard for Packing Bakery Products. Master of Science (Packaging Technology), Major Field: Packaging Technology, Department of Packaging Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Tunyarut Jinkarn, Ph.D. 149 pages.

Paperboard is considered a widely used packaging material for retail sales of bakery products. In general, bakery products are easily deteriorated and have limited shelf life. This study aimed to develop antimicrobial paperboards by coating with vanillin for packing bakery products. The study composed of three parts. First part was to investigate antimicrobial effects of vanillin in different solvents including vanillin in Dimethylsulfoxide (DMSO), vanillin in alcohol and vanillin in chitosan solution. The inhibitory effects were investigated against three types of common food spoilage bacteria including *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* using the agar well diffusion method. The second part of the study was to develop vanillin coated paperboard using vanillin in alcohol and vanillin in chitosan solution. Physical properties and antimicrobial inhibitory of coated paperboard were observed via headspace diffusion and a total plate count method. Suitable coating solution derived from this part was selected for the next part of the study. The last part of the study was the application test of coated paperboard with bakery product and roll cake was selected for a case study. Results showed that vanillin in DMSO and vanillin in alcohol were more effective over *E. coli* with a minimum inhibitory concentration (MICs) for all bacteria under investigation at 2.5 % (w/w). On the other hand, vanillin in chitosan solution was more effective over *B. cereus* with a minimum inhibitory concentration (MICs) at 0.625 % (w/w) followed by *E. coli* and *S. aureus* respectively with the MICs for both *E. coli* and *S. aureus* at 5%. Results of the second part of the study showed that paperboard coating with vanillin in alcohol has similar appearance as uncoated sample. Furthermore, physical properties of coated paperboard were under general standard. Coated paperboard also explicitly showed inhibitory effect against all bacteria under the study and vanillin in alcohol at 10% (w/w) demonstrated the most suitable results. Antimicrobial paperboard carton was used for packing roll cake and shelf life can be extended for 3 days at room temperature and for 6 days at 4 °C. In addition, vanillin coated paperboard were preferred by all sensory panelists. Results of this study pointed out feasibility of applying vanillin coated paperboard for packing bakery products to extend shelf, to ensure consumer safety and to enhance product flavoring.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชัยญรัตน์ จิฎกานัญจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้คำปรึกษา ความเอาใจใส่ และความกรุณา สนับสนุนทุนในการดำเนินงานวิจัย รวมทั้งคำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับ คำปรึกษา ความรู้ และคำแนะนำในการแก้ไขปัญหายุ่งยากในการทำงานวิจัย ดร. สุพจน์ ประทีปถิ่นทอง ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ประจำห้องปฏิบัติการพัฒนาการบรรจุภัณฑ์ ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และดร. เลอพงศ์ จารุพันธ์ ประธานการสอบที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บริษัทกระดาศสไทย จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์กระดาศแข็งสำหรับใช้ในงานวิจัย และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ เครื่องมือในการทำวิจัยและช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอขอบพระคุณ คุณสุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล ที่ให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย คุณสุทธิสุดา วานิช สำหรับความช่วยเหลือ และกำลังใจ รวมทั้งเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุทุกท่านและที่มีอาจกล่าวนามในที่นี้ได้ทั้งหมด ที่ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือ และกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อวิโรจน์ และคุณแม่สุภาเพ็ญ รักช่วย คุณยาย และพี่ ๆ ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดเสมอมา ขอขอบคุณสำหรับการอบรมสั่งสอน การสนับสนุน และแรงผลักดัน ที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านและหากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

สุวรรรัตน์ รักช่วย  
กันยายน 2552

## สารบัญ

## หน้า

|                                                |     |
|------------------------------------------------|-----|
| สารบัญ                                         | (1) |
| สารบัญตาราง                                    | (2) |
| สารบัญภาพ                                      | (4) |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ                      | (7) |
| คำนำ                                           | 1   |
| วัตถุประสงค์                                   | 3   |
| การตรวจเอกสาร                                  | 4   |
| อุปกรณ์และวิธีการ                              | 36  |
| อุปกรณ์                                        | 36  |
| วิธีการ                                        | 38  |
| ผลและวิจารณ์                                   | 46  |
| สรุปและข้อเสนอแนะ                              | 113 |
| สรุป                                           | 113 |
| ข้อเสนอแนะ                                     | 115 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง                           | 117 |
| ภาคผนวก                                        | 133 |
| ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ      | 134 |
| ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา | 139 |
| ภาคผนวก ค แบบทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส    | 142 |
| ภาคผนวก ง ตารางผลการทดลอง                      | 144 |
| ประวัติการศึกษา และการทำงาน                    | 149 |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                   | หน้า |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | ข้อมูลทั่วไปของวานิลลิน                                                                                                                                           | 6    |
| 2        | ความเข้มข้นของวานิลลินที่แสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ<br>จุลินทรีย์                                                                                        | 13   |
| 3        | การนำบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟมาประยุกต์ใช้ในปัจจุบันและอนาคต                                                                                                           | 23   |
| 4        | สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่เข้าร่วมกับพอลิเมอร์ในบรรจุภัณฑ์อาหาร                                                                                              | 25   |
| 5        | บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ทางการค้าที่นำมาประยุกต์ใช้กับอาหารโดยใช้สาร<br>ต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ                                                                 | 27   |
| 6        | งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำกระดาษต้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้กับอาหาร                                                                                           | 30   |
| 7        | กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลิน                                                                                                                    | 50   |
| 8        | กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินใน<br>แอลกอฮอล์                                                                                             | 54   |
| 9        | กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน                                                                                                   | 59   |
| 10       | สมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษแข็ง Duplex Board                                                                                                                | 63   |
| 11       | ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน<br>แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5–20 (โดยน้ำหนัก) ทดสอบด้วยวิธีการแพร่<br>ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น | 67   |
| 12       | จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ต่อจานเพาะเชื้อในการทดสอบ                                                                                                                 | 71   |
| 13       | ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน<br>แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5–20 (โดยน้ำหนัก) ทดสอบด้วยวิธีการนับ<br>จำนวนจุลินทรีย์        | 74   |
| 14       | สมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลาย<br>วานิลลินในแอลกอฮอล์                                                                       | 76   |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่            |                                                                                                                                                         | หน้า |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 15                  | ลักษณะปรากฏด้านสีของกระดาษแข็ง Duplex Board และกระดาษด้าน<br>จุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ในระบบ Hunter<br>Lab                     | 77   |
| 16                  | น้ำหนักสารเคลือบของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลาย<br>วานิลลินในแอลกอฮอล์                                                                     | 78   |
| 17                  | ปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์<br>ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส และ $4 \pm 2$<br>องศาเซลเซียส  | 90   |
| 18                  | การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนความชอบของเด็ก<br>มัธยมระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียสและ $4 \pm 2$<br>องศาเซลเซียส | 111  |
| <b>ตารางผนวกที่</b> |                                                                                                                                                         |      |
| ง1                  | ค่าวอเตอร์แอกติวิตีของเค้กมัธยมระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$<br>องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส                             | 145  |
| ง2                  | ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเค้กมัธยมที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และกล่อง<br>กระดาษด้านจุลินทรีย์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส               | 146  |
| ง3                  | ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเค้กมัธยมที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และกล่อง<br>กระดาษด้านจุลินทรีย์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส                | 147  |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่                                                                                                                                                                                                                  | หน้า |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 โครงสร้างทางเคมีของวานิลลิน                                                                                                                                                                                           | 5    |
| 2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน                                                                                                                                                                                              | 10   |
| 3 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน                                                                                                                                                                                            | 11   |
| 4 โครงสร้างทางเคมีของไคเมทิลซัลฟอกไซด์                                                                                                                                                                                  | 12   |
| 5 โครงสร้างทางเคมีของเอทิลแอลกอฮอล์                                                                                                                                                                                     | 15   |
| 6 ระบบการบรรจุอาหารและลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร                                                                                                                                                  | 19   |
| 7 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลินในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์<br>(ก) <i>Bacillus cereus</i> (ข) <i>Staphylococcus aureus</i> (ค) <i>Escherichia coli</i>                                                              | 47   |
| 8 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) <i>Bacillus cereus</i> (ข) <i>Staphylococcus aureus</i> (ค) <i>Escherichia coli</i>                                              | 52   |
| 9 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารละลายวานิลลินในไคโตซานในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) <i>Bacillus cereus</i> (ข) <i>Staphylococcus aureus</i> (ค) <i>Escherichia coli</i>                                                | 56   |
| 10 ลักษณะปรากฏของกระดาษแข็ง Duplex Board (ก) ด้านหน้า และ (ข) ด้านหลัง                                                                                                                                                  | 62   |
| 11 กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์<br>(ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (ข) ร้อยละ 5 (ค) ร้อยละ 10 และ (ง) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก)                                                                  | 64   |
| 12 กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซาน<br>(ก) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ข) ร้อยละ 10 และ (ค) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก)                                                                                   | 65   |
| 13 ประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการด้านการเจริญของ <i>Bacillus cereus</i> | 69   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | เนื้อหา                                                                                                                                                                                                                                                                          | หน้า |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 14     | ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการต้านการเจริญของ <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                  | 69   |
| 15     | ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการต้านการเจริญของ <i>Escherichia coli</i>                                                                       | 70   |
| 16     | ลักษณะผิวหน้าของกระดาษด้านหลัง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 500 เท่า (ก) กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่เคลือบ (ข) เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ค) เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 (ง) ร้อยละ 5 (จ) ร้อยละ 10 และ (ฉ) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) | 80   |
| 17     | กระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ก่อนการขึ้นรูปเป็นกล่องกระดาษ                                                                                                                                                                 | 82   |
| 18     | กล่องกระดาษที่ใช้ในการบรรจุเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา (ก) ลักษณะก่อนการบรรจุเค้กม้วน (ข) ลักษณะการบรรจุเค้กม้วน                                                                                                                                                                 | 83   |
| 19     | ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา และกล่องกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส                           | 84   |
| 20     | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส                                          | 93   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                                                                         | หน้า |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 21     | ปริมาณยีสต์และราของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส                       | 95   |
| 22     | เชื้อรา <i>Rhizopus nigricans</i> ที่พบบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาและนำไปป้อนเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar                                                                                                                    | 99   |
| 23     | ลักษณะปรากฏของเค้กม้วนและการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ที่บรรจุด้วย (ก) กล่องกระดาษธรรมดา (ข) กล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์                                                                  | 100  |
| 24     | ลักษณะปรากฏของเค้กม้วนและการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส ที่บรรจุด้วย (ก) กล่องกระดาษธรรมดา (ข) กล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์                                                                   | 101  |
| 25     | ปริมาณ <i>Bacillus cereus</i> ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส         | 103  |
| 26     | ปริมาณ <i>Staphylococcus aureus</i> ของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ $4 \pm 2$ องศาเซลเซียส | 108  |

### คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

|                |   |                                         |
|----------------|---|-----------------------------------------|
| a              | = | redness                                 |
| a <sub>w</sub> | = | water activity                          |
| b              | = | yellowness                              |
| BP             | = | bird park agar                          |
| °C             | = | degree celsius                          |
| CD             | = | cross machine direction                 |
| CFU            | = | colony forming unit                     |
| cm             | = | centrimeter                             |
| DAC            | = | degree of deacetylation                 |
| DMSO           | = | dimethyl sulfoxide                      |
| GRAS           | = | generally recognised as safe            |
| L              | = | lightness                               |
| log            | = | logarithm                               |
| M              | = | molar                                   |
| MD             | = | machine direction                       |
| MICs           | = | minimum inhibitory concentration        |
| MW             | = | molecular weight                        |
| μL             | = | microliter                              |
| mg             | = | miligram                                |
| mol            | = | mole                                    |
| pH             | = | positive potential of the hydrogen ions |
| ppm            | = | part per million                        |
| PCA            | = | plate count agar                        |
| PDA            | = | potato dextrose agar                    |
| SEM            | = | scanning electron microscopy            |
| spp.           | = | subspecies                              |
| MYP            | = | mannitol egg yolk polymyxin             |

# การพัฒนากระดาษแข็งเคลือบวานิลลินต้านจุลินทรีย์เพื่อการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ

## The Development of Antimicrobial Vanillin Coated Paperboard for Packing Bakery Products

### คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคหันมาใส่ใจเรื่องสุขภาพและความปลอดภัยในการบริโภคอาหารมากขึ้น โดยเฉพาะสารเติมแต่งที่เติมลงไปในอาหารได้กลายเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้ออาหาร ผู้บริโภคได้สร้างค่านิยมในการต่อต้านสารเติมแต่งอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์ เนื่องจากเกิดความกังวลว่าจะมีผลกระทบต่อสุขภาพ ส่งผลให้แนวโน้มการใช้สารกันบูดในอาหารมีปริมาณลดลงและหันมาใช้สารเติมแต่งอาหารที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น สารเติมแต่งจากธรรมชาติบางชนิดทั้งที่มาจากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้ โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ทั้งนี้เนื่องจากสารจากธรรมชาติดังกล่าว เช่น น้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในเครื่องเทศและพืชบางชนิด เช่น ไทมอล (thymol) จากไทม์ (thyme) และออริกาโน (oregano) ซินนามัลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) จากอบเชย (cinnamon) ยูจินอล (eugenol) จากกานพลู (clove) (Dziezek, 1989) รวมทั้งวานิลลิน (vanillin) จากฝักรวานิลลา (vanilla beans) มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบหลัก ส่งผลให้มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและเป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียได้

เทคโนโลยีการบรรจุแบบแอคทีฟ (active packaging) เป็นนวัตกรรมทางด้านเทคโนโลยีการบรรจุที่พัฒนาบรรจุภัณฑ์ให้มีคุณสมบัติโดดเด่นไปจากบรรจุภัณฑ์ทั่วไป เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา เพิ่มความปลอดภัยหรือคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ยังคงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ (Suppakul *et al.*, 2003) ตัวอย่างการบรรจุแบบแอคทีฟ เช่น การใช้สารดูดซับก๊าซเอทิลีน การใช้สารดูดความชื้น การบรรจุที่มีการควบคุมองค์ประกอบของบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ บรรจุภัณฑ์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ เป็นต้น โดยบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์สามารถลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ หรือยับยั้งระยะแรก (แลคเฟส) ของการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถพัฒนาได้ในหลายรูปแบบ เช่น ฟิล์มด้านจุลินทรีย์ หรือกระดาษด้านจุลินทรีย์ผลิตได้โดยการเติมน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดจากพืช

ที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ลงไปในกระบวนการผลิต ในการเลือกใช้สารต้านจุลินทรีย์ จะต้องคำนึงถึงชนิดของอาหาร และจุลินทรีย์เป้าหมายที่เจริญอยู่ในอาหารเป็นหลัก รวมทั้งจะต้องมีการศึกษาถึงปริมาณสารที่จะใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และต้องคำนึงถึงวัสดุที่ใช้ทำเป็นบรรจุภัณฑ์ด้วย เนื่องจากวัสดุที่แตกต่างกันจะมีคุณสมบัติในการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์แตกต่างกัน ทั้งนี้พบว่ากระดาษเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์เช่นเดียวกับพลาสติก เนื่องจากกระดาษมีโครงสร้างที่เป็นรูพรุน ทำให้สารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงไปเข้าไปแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างของกระดาษ นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนากระดาษด้วยการปรับปรุงคุณสมบัติเพิ่มเติม เช่น การต้านทานน้ำ ไขมันและแก๊ส รวมทั้งความแข็งแรงทางกายภาพได้ดีพอ ๆ กับความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ (Han, 2000) กระดาษยังถือได้ว่าเป็นวัสดุอีกชนิดหนึ่งนอกเหนือจากพลาสติกที่นิยมใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร ตัวอย่างเช่น กระดาษแข็งซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบในการขายปลีก เนื่องจากต้นทุนต่ำ พิมพ์ได้สวยงาม และอาจสามารถใช้สัมผัสกับอาหารได้โดยตรงหากใช้องค์ประกอบของเยื่อกระดาษใหม่และมีสารเติมแต่งที่เหมาะสม และยังสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติจึงเป็นบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วานิลลินเป็นสารให้กลิ่นรสที่ใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร รวมทั้งผลิตภัณฑ์ขนมอบ (Cerrutti and Alzamora, 1996; Boyce *et al.*, 2003; Sinha *et al.*, 2008) นอกจากนี้วานิลลินยังมีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดในการพัฒนากระดาษแข็งให้มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยใช้วานิลลินเป็นสารสำคัญ และนำไปใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ขนมอบเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความสดใหม่ เนื่องจากองค์ประกอบของขนมอบซึ่งประกอบด้วย แป้ง น้ำตาล เนย นม ไข่ ไขมัน และส่วนประกอบเสริมอื่น ๆ มักจะเกิดการเสื่อมเสียได้ง่ายจากจุลินทรีย์และอาจส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในด้านประสาทสัมผัส และความปลอดภัยของผู้บริโภค การนำวานิลลินซึ่งเป็นสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติมาใช้จึงเป็นการเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค สามารถรักษาคุณภาพและช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งช่วยเสริมกลิ่นแก่ผลิตภัณฑ์ขนมอบผ่านทางบรรจุภัณฑ์อีกด้วย

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของวานิลลินและสารเคลือบที่เตรียมจากวานิลลินในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์
2. ศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลินและสารเคลือบที่เตรียมจากวานิลลินในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์
3. ศึกษาสมบัติของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบที่เตรียมจากวานิลลิน
4. ศึกษาการประยุกต์กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบที่เตรียมจากวานิลลินในการบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบ

## การตรวจเอกสาร

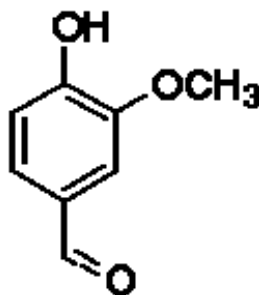
### 1. วานิลลิน

ผู้บริโภคในปัจจุบันมีความต้องการอาหารที่มีคุณภาพสูง มาจากธรรมชาติ มีขั้นตอนในการเตรียมที่ไม่ซับซ้อน และปราศจากสารกันบูด ในขณะที่ยังคงคุณภาพของอาหาร และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ (Fitzgerald *et al.*, 2003) ส่งผลให้มีการใช้สารด้านการเจริญของจุลินทรีย์จากธรรมชาติทั้งที่มาจากสัตว์ ได้แก่ เอนไซม์ เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) แลคโตเพอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) โปรตีน เช่น แลคโตเฟอร์ริน (lactoferrin) แลคโตเฟอร์ริซิน (lactoferricin) และโอวทรานสเฟอร์ริน (ovotransferrin) และเปปไทด์สายสั้น เช่น ฮิสตามีน (histatins) และแมกเคนนิน (magainins) จากพืช ได้แก่ ฟิโตอะเลกซิน (phytoalexins) ฟีนอลิก (phenolics) และน้ำมันหอมระเหย และจากจุลินทรีย์ ได้แก่ ไนซิน (nisin) และแปปดิโอซิน (pediocin) มากขึ้น (Beuchat and Golden, 1989; Wilkins and Board, 1989; Board and Gould, 1991; Chung and Murdock, 1991; Smith, 1993; Gould, 1996; Brul and Coote, 1999) หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า แนวความคิดสีเขียว เช่น การใช้น้ำมันหอมระเหยในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (Burt, 2004) โดยสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเครื่องเทศและน้ำมันหอมระเหย มีผลในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ไทมอล (thymol) จากไทม์ (thyme) และออริกาโน (oregano) ซินนามัลแอลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) จากอบเชย (cinnamon) ยูจินอล (eugenol) จากกานพลู (clove) (Dziezek, 1989) และวานิลลิน (vanillin) จากฝั้ววานิลลา (Beuchat and Golden, 1989; Boyce *et al.*, 2003; Fitzgerald *et al.*, 2003; Jadhav *et al.*, 2009)

วานิลลิน (vanillin) หรือ 4-ไฮดรอกซี-3-เมทอกซีเบนซัลดีไฮด์ (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_8H_8O_3$  ส่วนที่เป็นฟังก์ชันหลักได้แก่ อัลดีไฮด์ (aldehyde) อีเทอร์ (ether) และแอลกอฮอล์ (alcohol)

วานิลลินในธรรมชาติสามารถสกัดได้จากเมล็ดวานิลลา วานิลลินสังเคราะห์ใช้เป็นตัวแต่งกลิ่นในอาหาร เครื่องดื่ม และยา สารสกัดวานิลลาในธรรมชาติจะมีสารประกอบแตกต่างกันเป็นร้อยชนิดเนื่องจากวานิลลินที่ได้จากธรรมชาติมีราคาแพงมาก ดังนั้นวานิลลินที่ใช้ในอุตสาหกรรมจึงได้จากการสังเคราะห์ การสังเคราะห์เพื่อการค้าครั้งแรกตั้งต้นจากยูจินอล (eugenol) เมื่อผ่านกระบวนการไฮโดรเมอเรชันจะได้ไอโซยูจินอล (isoeugenol) และตามด้วยกระบวนการออกซิเดชันจะได้วานิลลินแต่ปัจจุบันได้จากการฟอร์มิลเลชัน (formylation) กัวไอเอคอล (guaiacol) หรือเรียกว่า

ปฏิกิริยาไรเมอร์-ไทมานน์ (Reimer-Tiemann reaction) และจากการหมักลิกนิน (lignin) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมกระดาษ (Anonymous, 2008b) ในปัจจุบันพบว่าร้อยละ 90 ของวานิลลินที่มีจำหน่ายในท้องตลาดได้มาจากการสังเคราะห์ โดยใช้สารตั้งต้นจากธรรมชาติ เช่น ลิกนิน (lignin) ยูจินอล (eugenol) หรือกัวไอเอคอล (guaiacol) (Hocking, 1997; Roa and Ravishankar, 2000; Zhao, 2005)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของวานิลลิน

ที่มา: Anonymous (2008b)

โดยทั่วไปวานิลลินถูกใช้เป็นสารให้กลิ่นรสในอาหารอย่างแพร่หลาย เช่น ไอศกรีม ชอคโกแลต และขนมหวาน (Cerrutti and Alzamora, 1996; Boyce *et al.*, 2003; Sinha *et al.*, 2008) ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม และเป็นสารตัวกลางในอุตสาหกรรมเคมี และอุตสาหกรรมยา (Walton *et al.*, 2003; Sinha *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าวานิลลินมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Burri *et al.*, 1989; Shyamala *et al.*, 2007; Jadhav *et al.*, 2009; Mourtzinou *et al.*, 2009) และด้านการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา (Cerrutti *et al.*, 1997; Davidson *et al.*, 2000; Lambert *et al.*, 2001; Lopez-Malo *et al.*, 2002; Walsh *et al.*, 2003; Fitzgerald *et al.*, 2004; Moon *et al.*, 2006; Shyamala *et al.*, 2007)

กิจกรรมในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลินยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่คาดว่าคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลิน เป็นผลมาจากหมู่ฟีนอลิกที่อยู่ในโครงสร้างของวานิลลิน นอกจากนี้ยังพบว่าวานิลลินมีโครงสร้างคล้ายกับยูจินอล (eugenol) ซึ่งเป็นสารสำคัญในกานพลู เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (antimycotic) (Beuchat and Golden, 1989) และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic) (Fitzgerald *et al.*, 2004) ผลของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นกับระดับความเข้มข้นของวานิลลินที่ใช้ (Prindle and wright, 1977) โดยที่ระดับความเข้มข้นของวานิลลินต่ำจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพลังงาน (energy production) ของจุลินทรีย์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของวานิลลินสูงจะทำให้เกิดการสูญเสีย

สภาพของโปรตีน (protein denature) ได้ สอดคล้องกับการรายงานของ Rico-Munoz *et al.* (1987) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกมีผลในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เอทีพีเอส (ATPase activity) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มไซโตพลาสติก (cytoplasmic membrane) ของ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานในการลำเลียงอาหาร นอกจากนี้วานิลลินยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ในอาหารเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) (Burri *et al.*, 1989)

### ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของวานิลลิน

| สมบัติ          | ข้อมูลจำเพาะ                                                                                                                              |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อเคมี        | 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde                                                                                                           |
| ชื่ออื่น        | vanillin , vanillic aldehyde                                                                                                              |
| สูตรเคมี        | $C_8H_8O_3$                                                                                                                               |
| น้ำหนักโมเลกุล  | 152.14 g/mol                                                                                                                              |
| คุณสมบัติ       | ความหนาแน่น และสถานะ: 1.056 g/cm <sup>3</sup> , solid<br>การละลาย ใน น้ำ: 1 g/100 ml (25 °C)<br>จุดหลอมเหลว: 80-81 °C<br>จุดเดือด: 285 °C |
| ด้านความปลอดภัย | MSDS: External MSDS<br>Flash point: 147 °C<br>R/S statement: R: 22 , S: 24/25<br>RTECS number: YW5775000                                  |
| ลักษณะทั่วไป    | ผลึกทรงเข็ม สีขาว หรือเหลืองอ่อน                                                                                                          |

ที่มา: Anonymous (2008b)

Cerrutti and Alzamora (1996 ) ได้ศึกษาถึงผลของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยจากมินท์ ในการต้านการเจริญของยีสต์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Zygosaccharomyces rouxii* และ *Debaryomyces hansenii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำผลไม้เข้มข้น ได้แก่ น้ำแอปเปิ้ลและน้ำกล้วยเข้มข้น โดยมีจุดประสงค์หลักเพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมของวานิลลิน และน้ำมันหอมระเหยจากมินท์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์

ได้โดยที่คุณภาพโดยรวมทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำผลไม้ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จากการทดลองด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจากมินท์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ทั้งที่ระดับค่าออกเตอร์แอคติวิตีเท่ากับ 0.99 และ 0.95 แต่เมื่อใช้ร่วมกับวานิลลิน พบว่าที่ระดับค่าออกเตอร์แอคติวิตีเท่ากับ 0.95 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Debaryomyces hansenii* ได้ โดยการใช้วานิลลิน 1000 ppm ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากมินท์ 100 ppm และเมื่อใช้วานิลลินเพียงอย่างเดียวที่ระดับ 1000 ppm พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Debaryomyces hansenii* ได้เฉพาะที่ระดับค่าออกเตอร์แอคติวิตีเท่ากับ 0.95 เท่านั้น แต่เมื่อใช้วานิลลินที่ระดับ 2000 ppm พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ทั้งที่ระดับค่าออกเตอร์แอคติวิตีเท่ากับ 0.99 และ 0.95 จากนั้นเมื่อทำการทดลองโดยใช้วานิลลินที่ระดับ 2000 ppm ในน้ำแอปเปิ้ลและน้ำกล้วยเข้มข้น พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่เจริญในน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้นได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ในน้ำกล้วยได้ ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ในน้ำผลไม้ทั้งสองชนิดแตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันและโปรตีน พบว่าในน้ำกล้วยมีไขมันและโปรตีนสูงกว่าน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้น ซึ่งปริมาณโปรตีนและไขมันจะมีผลในการลดความสามารถของวานิลลินในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ลง จึงเป็นสาเหตุทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ในน้ำกล้วยเข้มข้นได้ ดังนั้นทำการเพิ่มปริมาณวานิลลินเป็น 3000 ppm ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii* และ *Debaryomyces hansenii* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Zygosaccharomyces bailii* ได้ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าวานิลลินสามารถใช้ในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ การนำวานิลลินไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารจะต้องใช้วานิลลินในปริมาณที่มากกว่าในหลอดทดลอง รวมทั้งจะต้องคำนึงถึงผลกระทบที่จะมีต่อประสาทสัมผัสโดยรวมด้วย ซึ่งปริมาณวานิลลินที่เติมลงไปจะต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ผู้บริโภคยอมรับได้

Fitzgerald *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาถึงสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ของวานิลลินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารให้กลิ่นรสวานิลลา (vanilla flavour) โดยทดสอบกับยีสต์ 3 สายพันธุ์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii* และ *Zygosaccharomyces rouxii*. พบว่าระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลิน (MICs) ที่สามารถต้านการเจริญของยีสต์ 3 สายพันธุ์ได้คือ 21, 20 และ 13 mM ตามลำดับ โดยกระบวนการหมักทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ sub-MIC ของวานิลลินในอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของสารชีวภาพ คือ วานิลลิลแอลกอฮอล์ (vanillyl alcohol) และพบวานิลลิกแอซิด (vanillic acid) ในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสารทั้งสองไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ยีสต์ได้ จากผล

การทดสอบพบแอลดีไฮด์ปริมาณหนึ่งในโครงสร้างของวานิลลิน พบว่ามีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ และผลจากการเปลี่ยนรูปของสารชีวภาพของวานิลลินถือได้ว่าเป็นผลดีต่อยีสต์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านการเจริญของยีสต์ (MICs) เท่านั้น และเมื่อความเข้มข้นของวานิลลินเพิ่มมากขึ้น การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก็จะมากขึ้น เป็นผลให้การเปลี่ยนรูปของสารชีวภาพเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ด้วยการสันดาปภายในเซลล์

Penney *et al.* (2004) ทำการศึกษาถึงการนำเอาวานิลลิน ในซิน และผลแคนเบอร์รี่เติมลงไปไนโยเกิร์ตผลไม้ที่มีการเติมบลูเบอร์รี่ เพื่อใช้ในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของผลไม้สดที่ใช้เติมในโยเกิร์ต พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมบลูเบอร์รี่เพียงอย่างเดียวมีการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียในปริมาณสูง ( $> 10^3$  cfu/กรัมของโยเกิร์ต) ภายในหนึ่งสัปดาห์ ในขณะที่โยเกิร์ตผลไม้ที่มีการเติมวานิลลิน 1000 ppm และ 2000 ppm ลงไปสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียได้แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ acid-adapted *Escherichia coli* ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าจะให้ผลแค่เพียงชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ออกไป และเมื่อเวลาผ่านไปจะมีการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นมาใหม่ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าวานิลลินและสารกันบูดจากพืชอื่น ๆ สามารถใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารได้ เช่น โยเกิร์ตผลไม้

Valero and Giner (2006) ทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืช 7 ชนิดเป็นสารต้านจุลินทรีย์เพื่อช่วยในการถนอมอาหาร โดยทำการศึกษาถึงผลของน้ำมันหอมระเหยต่อกลไกการเจริญของสปอร์ของ *Bacillus cereus* INRA L2104 ในอาหารเหลวแครอท (carrot broth) แล้วทำการตรวจวัดผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆที่ความเข้มข้นที่หลากหลาย ได้แก่ คาวาคอล (carvacrol) ซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) ยูจีนอล (eugenol) เมนทอล (menthol) ไทมอล (thymol) และวานิลลิน (vanillin) พบว่าซินนามาลดีไฮด์ 5 ไมโครลิตร คาวาคอล 15 ไมโครลิตร หรือ 30 มิลลิกรัมของไทมอลใน 100 มิลลิตร ของอาหารเหลวแครอทสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หมดภายในเวลามากกว่า 60 วัน ที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส ส่วนวานิลลินพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เช่นกัน ที่ปริมาณ 50 มิลลิกรัม โดยสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้พอ ๆ กับการใช้ไทมอล 20 มิลลิกรัม โดยเมื่อทำการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าควรใช้น้ำมันหอมระเหยในระดับต่ำ ๆ ที่เพียงพอในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เนื่องจากจะได้ไม่มีผลกระทบต่อกลิ่นรสของอาหาร

Rupasinghe *et al.* (2006) ทำการทดสอบความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์ของวานิลลิน โดยทดสอบกับจุลินทรีย์ก่อโรค 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* และ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida albicans*, *Lactobacillus casei*, *Penicillium expansum* และ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เจริญในผลไม้ตัดแต่ง โดยได้ทดลองกับแอปเปิ้ลตัดแต่งหั่นบาง 2 สายพันธุ์ คือ แอมไพร์ (Empire) และคริสปิน (Crispin) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 วัน จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อยู่ในช่วง 6-18 มิลลิโมลา ซึ่งขึ้นกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด และเมื่อใช้วานิลลินที่ 12 มิลลิโมลา ร่วมกับสารต้านการเกิดสีน้ำตาลทางการค้า (calcium ascorbate, NatuerSeal™) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ร้อยละ 37 และร้อยละ 66 ในแอปเปิ้ลตัดแต่งหั่นบางพันธุ์แอมไพร์ และคริสปิน ตามลำดับ แต่เมื่อทดลองใช้วานิลลินที่ความเข้มข้นดังกล่าวเพียงอย่างเดียวเพื่อใช้ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลตัดแต่งหั่นบาง พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลได้ จากการทดลองวานิลลินมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย การนำวานิลลินไปใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ในผลไม้ เช่น แอปเปิ้ลหั่นบางและอื่น ๆ มีความเป็นไปได้ แต่จะต้องพิจารณาถึงปริมาณสารที่เติมลงไปว่ามีผลกระทบต่อคุณภาพโดยรวมทางประสาทสัมผัสและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคหรือไม่

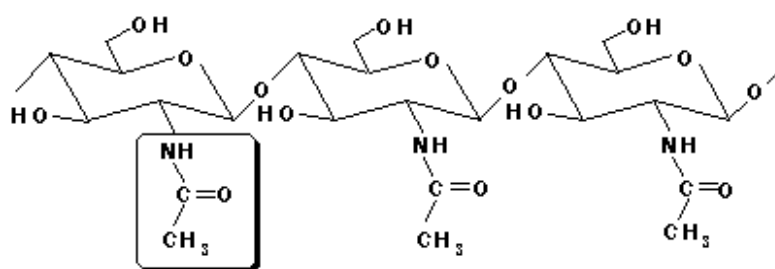
Sangsuwan *et al.* (2008) ได้ทำการทดลองผลิตฟิล์มไคโตซานเมททิลเซลลูโลสที่มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยใช้ห่อแคนตาลูปและสับปะรดตัดแต่งที่เก็บรักษาไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาฟิล์ม 3 ชนิด ได้แก่ ฟิล์มยัดรีดทางการค้า ฟิล์มไคโตซานเมททิลเซลลูโลส และฟิล์มไคโตซานเมททิลเซลลูโลสที่มีการเติมวานิลลิน (ฟิล์มวานิลลิน) พบว่าฟิล์มที่ผลิตขึ้นในการทดลองทั้ง 2 ชนิดสามารถต้านทานการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในแคนตาลูปตัดแต่งได้ โดยฟิล์มไคโตซานเมททิลเซลลูโลสสามารถลดปริมาณยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในแคนตาลูปและสับปะรดตัดแต่งได้อย่างรวดเร็ว แต่พบว่าฟิล์มวานิลลินจะมีประสิทธิภาพดีกว่าโดยสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 4 logcycle ภายใน 6 วัน โดยฟิล์มวานิลลินมีสีเหลืองมากกว่าฟิล์มชนิดอื่นและทำให้ปริมาณกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) ในสับปะรดลดลง โดยพบว่าวันสุดท้ายของการเก็บรักษาสับปะรดที่ห่อด้วยฟิล์มวานิลลินมีปริมาณกรดแอสคอบิกเพียงร้อยละ 10 ของความเข้มข้นเริ่มต้นเท่านั้น

Mourtzinou *et al.* (2009) ศึกษาคุณสมบัติในการต้านปฏิริยาออกซิเดชัน และการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลิน วานิลลิกแอซิด โดยศึกษาจากค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลิน และวานิลลิกแอซิดในการต้านการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* และ *Yersinia enterocolitica* ด้วยวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น พบว่าวานิลลินและวานิลลิกแอซิด มีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยที่ระดับความเข้มข้นของวานิลลิกแอซิดที่สูงขึ้น ส่งผลให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์มีค่าต่ำลง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการให้ความร้อนแก่วานิลลินจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการต้านปฏิริยาออกซิเดชัน และการต้านการเจริญของจุลินทรีย์

## 2. ไคตินและไคโตซาน

### 2.1 ไคติน

ไคตินเป็นโพลิเมอร์สายยาวที่ประกอบขึ้นจากน้ำตาลหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine มาเรียงต่อกันเป็นสายยาว เป็นองค์ประกอบของเปลือกแข็งที่หุ้มเซลล์ของ รา ยีสต์ และจุลินทรีย์หลายชนิด และโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จำพวก กุ้ง ปู ปลาหมึก เป็นต้น มีลักษณะปรากฏเป็นเกล็ดแข็งละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิก แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ

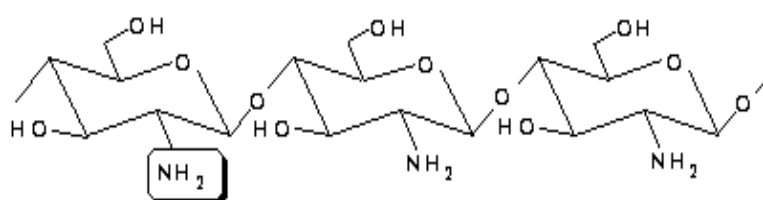


ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

ที่มา: Anonymous (2009a)

## 2.2 ไคโตซาน

ไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine (เรียกว่า deacetylation คือ เปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เป็น glucosamine) ออกตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป และมีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อน ปกติแล้วไคโตซานที่ได้จะมี ส่วนผสมของ น้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโพลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือร้อยละของการเกิด deacetylation) มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานบอกถึงความยาวของสายไคโตซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีสายยาวและสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้น การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งร้อยละของการเกิด deacetylation และน้ำหนักโมเลกุล (Anonymous, 2009a)



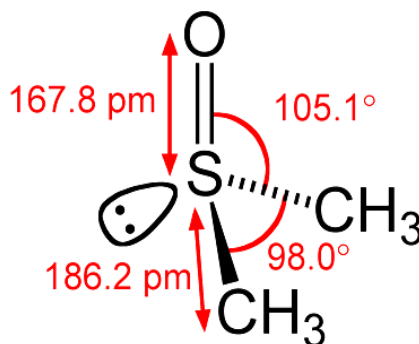
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ที่มา: Anonymous (2009a)

ไคโตซานมีคุณสมบัติเด่น คือสามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ (biodegradable) ไม่เป็นพิษ (nontoxic) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทั้ง ยีสต์ รา และแบคทีเรีย (Begin and Calsteren, 1999) และสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Despond *et al.*, 2004) นอกจากนี้ไคโตซานแสดงประจุบวก (cationic polyelectrolyte) ในสารละลายกรดเจือจางเนื่องจากหมู่เอมีโนอิสระ ( $-NH_2$ ) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ถูกโปรตอนส่งผลให้ไคโตซานสามารถละลายได้ดีในสารละลายกรดเจือจาง (Wang *et al.*, 2007a) ไคโตซานยังสามารถก่อตัวเป็นเจลและอนุภาคผ่านโครงสร้างร่างแห ซึ่งสามารถเก็บกักสารสำคัญที่จะพาไว้ข้างในได้ (พิสิฐฐ์, 2544) ไคโตซานจึงได้รับความสนใจมากในการใช้เป็นตัวพาและสารควบคุมการปลดปล่อยในอุตสาหกรรมยา (Wang *et al.*, 2007b) เครื่องสำอาง (Kim *et al.*, 2006) และอาหาร (Deladino *et al.*, 2008)

### 3. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์

ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) เป็นสารประกอบเคมีที่มีสูตรเคมี คือ  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  เป็นของเหลวไม่มีสี และเป็นตัวทำละลายมีขั้วที่มีความสำคัญ เนื่องจากสามารถละลายได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว สามารถผสมเข้ากับสารละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้ดีพอๆ กับน้ำ สามารถซึมเข้าสู่ผิวหนังได้อย่างรวดเร็วเมื่อสัมผัสโดยตรง แต่มีความเป็นพิษน้อยกว่าสารอื่น ๆ ในลักษณะเดียวกัน เช่น dimethylformamide, dimethylacetamide, *N*-methyl-2-pyrrolidone, HMPA เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ดีมาก จึงเป็นที่นิยมใช้เป็นตัวทำละลายในปฏิกิริยาเคมี ไดเมทิลซัลฟอกไซด์เป็นสารที่มีจุดเดือดสูงจึงระเหยเป็นไอได้ช้าในสภาวะบรรยากาศปกติ นอกจากนี้ยังเป็นสารที่ใช้ในการแช่แข็งเซลล์อีกด้วย (Anonymous, 2009b)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของไดเมทิลซัลฟอกไซด์

ที่มา: Anonymous (2009b)

**ตารางที่ 2** ความเข้มข้นของวานิลลินที่แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์

| Title                                                                                                            | Microorganism                                                                                                              | Vanillin      | Reference                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------------------------|
| Inhibitory effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purees                 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ,<br><i>Zygosaccharomyces rowii</i> ,<br><i>Debaryomyces hansenii</i> and <i>Z. bailii</i> | 2000-3000 ppm | Cerrutti and Alzamora, 1996     |
| Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin                                                   | <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                                                                                            | 21 mM         | Fitzgerald <i>et al.</i> , 2003 |
| Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin                                                   | <i>Zygosaccharomyces bailii</i>                                                                                            | 20 mM         | Fitzgerald <i>et al.</i> , 2003 |
| Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin                                                   | <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> .                                                                                          | 13 mM         | Fitzgerald <i>et al.</i> , 2003 |
| The potential of phytopreservatives and nisin to control microbial spoilage of minimally processed fruit yogurts | Yeast and Bacterial cell                                                                                                   | 2000 ppm      | Penney <i>et al.</i> , 2004     |

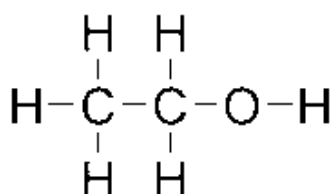
ตารางที่ 2 (ต่อ)

| Title                                                                                                                   | Microorganism                                                                                                                                                                                                                                 | Vanillin                                                   | Reference                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples      | <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar, <i>Candida albicans</i> , <i>Lactobacillus casei</i> and <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 12 mM                                                      | Rupasinghe <i>et al.</i> , 2006 |
| Antifungal activity of Vanillin on fresh-cut tropical fruit                                                             | Fungi                                                                                                                                                                                                                                         | 80 mM                                                      | Ngarmsak, 2007                  |
| Effect of chitosan/methyl cellulose film on microbial and quality characteristics of fresh-cut cantaloupe and pineapple | <i>E. coli</i> and <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                                                                                                                                                                                            | 0.9 g                                                      | Sangsuwan <i>et al.</i> , 2008  |
| Thermal oxidation of vanillin affects its antioxidant and antimicrobial properties                                      | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> and <i>Yersinia enterocolitica</i>                                                        | Vanillin:vanillic acid;100:0.0, 77:23, 53:47, 25:75, 0:100 | Mourtzinis <i>et al.</i> , 2009 |

#### 4. เอทานอล

เอทานอล (ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ที่สามารถบริโภคได้ ลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวไม่มีสีที่สามารถระเหยได้ มีกลิ่นฉุนและสามารถถูกเป็นเปลวไฟได้โดยไม่มีควันเกิดขึ้น เอทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสายโซ่ตรง มีสูตรเคมี คือ  $C_2H_5OH$  สามารถเขียนในรูปทั่ว คือ  $CH_3-CH_2-OH$  ซึ่งให้เห็นว่าโครงสร้างทางเคมีของเอทิลแอลกอฮอล์ ประกอบด้วย เมทิลกรุป ( $CH_3-$ ), เมทิลลีนกรุป ( $-CH_2-$ ) และ ไฮดรอกซิลกรุป ( $-OH$ )

เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประโยชน์หลากหลาย สามารถละลายเข้ากับน้ำและสารละลายอินทรีย์อื่นๆได้ รวมทั้งกรดแอซิก (acetic acid) อะซีโตน (acetone) เบนซีน (benzene) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride) คลอโรฟอร์ม (chloroform) ไดเมทิลอีเทอร์ (diethyl ether) เอทิลลีนไกลคอล (ethylene glycol) กลีเซอรอล (glycerol) ไนโตรมีเทน (nitromethane) ไพริดีน (pyridine) และโทลูอีน (toluene) อิทธิพลจากควมมีขั้วของไฮดรอกซิลกรุป (hydroxyl group) เป็นสาเหตุทำให้เอทานอลสามารถละลายสารประกอบประเภทไอออนิกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxides) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxides) แมกนีเซียมคลอไรด์ (magnesium chloride) แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) แอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) แอมโมเนียมโบรไมด์ (ammonium bromide) และ โซเดียมโบรไมด์ (sodium bromide) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซเดียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมคลอไรด์สามารถละลายได้ดีมากในเอทานอล นอกจากนี้เอทานอลยังสามารถละลายสารที่ไม่มีขั้วรวมทั้งน้ำมันหอมระเหย (essential oil) และสารแต่งกลิ่นรส (flavoring) สารแต่งสี (coloring) และสารในอุตสาหกรรมยา (medicinal agents) ได้ เนื่องจากปลายด้านหนึ่งของโครงสร้างสมับัติที่ไม่มีขั้ว (Anonymous, 2009c)



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของเอทิลแอลกอฮอล์

ที่มา: Anonymous (2009c)

## 5. การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์มีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีในการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่ต้องคำนึงถึง เช่น ลักษณะของงานทดสอบ ชนิดของเชื้อทดสอบ จำนวนเชื้อทดสอบ ลักษณะทางกายภาพ หรือทางเคมีของสารต้านจุลินทรีย์ ความผันแปรในองค์ประกอบและปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์เป็นต้น (มาลิน, 2542; Holley and Patel, 2005) สำหรับวิธีที่ได้รับความนิยมและเป็นวิธีมาตรฐานแบ่งได้เป็น 3 วิธีดังนี้

### 5.1 การเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงปริมาณ สามารถทดสอบในหลอดทดลองโดยนำสารต้านจุลินทรีย์ในปริมาณที่เท่ากันเจือจางในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในลักษณะลดลงทุก ๆ 2 เท่า จากนั้นใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบลงในอาหารภายหลังการเพาะบ่มจะสังเกตความขุ่นใสของอาหาร และแปลผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์พิจารณาจากค่าความขุ่นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม หากอาหารเหลวนั้นมีความขุ่นแสดงว่าเกิดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และสารต้านจุลินทรีย์นั้นมีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้น้อย พิจารณาในกรณีที่สารต้านจุลินทรีย์ชนิดนั้นต้องไม่มีผลทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดความขุ่น ด้วยวิธีนี้สามารถทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ (Minimum Inhibitory Concentrations, MICs) ณ จุดที่ความเข้มข้นของสารที่เปลี่ยนอาหารเหลวจากขุ่นเป็นใส การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถรู้ผลได้เร็ว ให้ผลการทดสอบที่แน่นอน ทราบปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ได้โดยละเอียดถูกต้องและใช้ทดสอบวิธีการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ได้

### 5.2 การเจือจางในอาหารวุ้น (agar dilution method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบความไวของเชื้อเชิงปริมาณนำสารต้านจุลินทรีย์เจือจางด้วยน้ำหรือ ตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ระดับความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นทดสอบ แล้วผสมกับอาหารวุ้นตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง หลังจากนั้นทำการเพาะเชื้อทดสอบแล้วถ่ายเชื้อลงบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้เป็นจุด ๆ สังเกตการณ์เจริญของเชื้อบนอาหารหลังการเพาะบ่ม วิธีนี้สามารถทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ (Minimum Inhibitory Concentrations, MICs) โดย ณ ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่เจริญถือเป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ วิธีนี้เหมาะสมกับการทดสอบเชื้อ

จำนวนมากและสามารถทำการทดสอบจุลินทรีย์หลายชนิดในเวลาเดียวกัน อีกทั้งสามารถสังเกตการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นได้

### 5.3 การให้ซึมผ่านในอาหารวุ้น (agar diffusion method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ อาศัยหลักการแพร่ซึมของสารต้านจุลินทรีย์สู่อาหารวุ้นโดยนำสารต้านจุลินทรีย์ใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่ด้านบน หรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้แล้วภายหลังการเพาะบ่มสังเกตรอบบริเวณสิ่งรองรับว่ามีบริเวณยับยั้งหรือบริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อจุลินทรีย์เจริญขึ้นหรือไม่ ความกว้างของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อสารต้านจุลินทรีย์ วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับสารต้านจุลินทรีย์ เช่น สิ่งรองรับเป็นหลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (agar-well diffusion method) สิ่งรองรับเป็นถ้วยโลหะทรงกระบอก (cup diffusion method) หรือกระดาษชั้บกลมซึมผ่านในอาหารวุ้น (agar-disc diffusion method) ทั้งนี้ปัจจุบันการใช้กระดาษชั้บกลมเป็นที่นิยมเนื่องจากสะดวกต่อการใช้งานแต่ความสามารถในการละลายและขนาดโมเลกุลของสารต้านจุลินทรีย์จะมีผลต่อการแทรกซึมของสารต้านจุลินทรีย์รอบแผ่นกระดาษชั้บกลม ขณะที่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุมและถ้วยสามารถเห็นผลการทดสอบได้ชัดเจนกว่าจึงเหมาะกับสารต้านจุลินทรีย์ที่มีการซึมผ่านได้ยาก ในปัจจุบันพบว่าวิธีนี้นิยมใช้ทดสอบการต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มที่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน วิธีนี้สามารถบอกได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์ทดสอบหรือไม่ อีกทั้งยังสะดวก ประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ

## 6. บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial packaging) เป็นบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟประเภทหนึ่ง (Han, 2003) ที่สามารถฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียซึ่งปนเปื้อนมากับอาหาร บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เตรียมได้จากการผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์โดยตรง หรือการใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ในช่วงเริ่มต้น (lag period) นานขึ้น และลดอัตราการเจริญเติบโตหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตได้ (Han, 2003) โดยการรวมกันระหว่างตัววัสดุที่เป็นบรรจุภัณฑ์ ซึ่งอาจอยู่ในรูปของฟิล์มหรือสารเคลือบที่รับประทานได้กับสารยับยั้งจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังอาจใช้ร่วมกับเทคนิคในการบรรจุ เช่น เทคนิคการปรับสภาพอากาศในบรรจุภัณฑ์ (modified atmosphere packaging, MAP) การพัฒนาอย่างต่อเนื่องในการหาวัสดุใหม่ ๆ ที่จะนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ยับยั้ง

เชื้อจุลินทรีย์เป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากการนำพลาสติกมาใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์นั้น แม้จะทำให้มีต้นทุนการผลิตต่ำ แต่วัสดุประเภทพลาสติกมีข้อจำกัดอย่างมากในการใช้งาน (ชินวัฒน์, 2548) วัตถุประสงค์ของบรรจุภัณฑ์ที่ยังจุลินทรีย์ คือ เพื่อรับประกันความปลอดภัย คุณภาพ และยืดอายุการเก็บของอาหาร ปัจจุบันการรับประกันความปลอดภัยของอาหารถือว่าเป็นสิ่งสำคัญ บรรจุภัณฑ์ที่ยังจุลินทรีย์จึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น

## 6.1 ระบบการบรรจุแบบด้านจุลินทรีย์

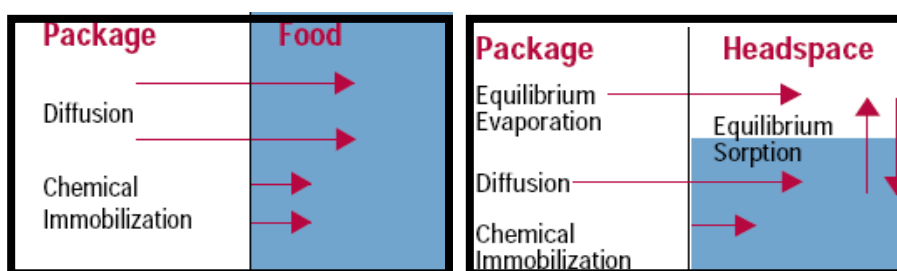
โดยส่วนใหญ่ระบบการบรรจุอาหารจะประกอบด้วยวัสดุบรรจุ อาหาร บรรยากาศ ภายในภาชนะบรรจุ ระบบการบรรจุจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร เช่น อาหารที่มีลักษณะเป็นของแข็ง หรือของเหลว ดังนั้นจึงมีทั้งระบบภาชนะบรรจุ/อาหาร หรือภาชนะบรรจุ/บรรยากาศ ภายในภาชนะบรรจุ/อาหาร ซึ่งจะเกิดการแพร่ของสาร (diffusion) และการดูดซับสมดุล (equilibrium sorption) ดังภาพที่ 6 (Han, 2003) ในระบบการบรรจุแบบด้านจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ระบบ ได้แก่

### 6.1.1 ระบบที่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร (migrating system)

เป็นระบบที่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารเป็นการบรรจุในระบบที่อาหารสัมผัสกับวัสดุบรรจุโดยตรง หรืออาหารมีความหนืดความหนืดต่ำหรือเป็นของเหลว ไม่มีบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์จึงสัมผัสกับอาหารโดยตรง สารด้านจุลินทรีย์ที่ผสมในวัสดุบรรจุ เคลือบ หรือถูกตรึงไว้บนผิวของวัสดุบรรจุ จะเกิดการเคลื่อนที่ไปยังอาหาร

### 6.1.2 ระบบที่ไม่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร (non-migrating system)

เป็นระบบที่ไม่มีการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหารเป็นการบรรจุที่ภายในภาชนะบรรจุจะมีช่องว่างระหว่างอาหารกับวัสดุบรรจุ หรือมีบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ สารด้านจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในช่องว่างเหนืออาหารและแสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์



ภาพที่ 6 ระบบการบรรจุอาหารและลักษณะการเคลื่อนที่ของสารจากวัสดุบรรจุไปยังอาหาร  
ที่มา: Han (2003)

## 6.2 ประเภทของการบรรจุด้านจุลินทรีย์

### 6.2.1 ซองหรือแผ่นปลดปล่อยสารระเหย (sachets/pads)

ลักษณะของการบรรจุด้านจุลินทรีย์แบบซองหรือแผ่นปลดปล่อยสาร มีการประยุกต์ใช้เชิงการค้า เช่น ซองปลดปล่อยไอเอทานอล ประกอบด้วยเอทานอลซึ่งถูกดูดซับอยู่ในวัสดุตัวพาและบรรจุในซองพอลิเมอร์ เอทานอลจะซึมผ่านชั้นเลือกผ่านและผ่านช่องออกมาสู่บรรยากาศที่ล้อมรอบผลิตภัณฑ์ซึ่งบรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุตัวอย่างทางการค้า ได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์ แอนตี้โมลไมด์ โออีเทก อีทีแพค และเฟรทเทค ระบบนี้ถูกใช้ในการยืดอายุการเก็บโดยปราศจากการขึ้นราของผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์ปลาแห้ง

### 6.2.2 การพ่นก๊าซหรือแผ่นปลดปล่อยก๊าซ (gas flushing or emitting pads)

การพ่นก๊าซหรือการปลดปล่อยก๊าซจะควบคุมการเจริญของราในการยืดอายุการเก็บของผลไม้ที่มักพบการเจริญของเชื้อรา มีการใช้สารกำจัดราหรือสารต่อต้านรา เช่น ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเสื่อมเสียขององุ่น และได้ผลดีกว่าการฉายรังสีแกมมาและการใช้ร่วมกันระหว่างความร้อน และฉายรังสี อย่างไรก็ตามระบบการพ่นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์อาจก่อให้เกิดปัญหาหลายด้าน ซึ่งรวมถึงการฟอกขาวของผิวองุ่น และการตกค้างของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ทำให้มีการพัฒนาระบบการปลดปล่อยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ภายใต้การควบคุม พบว่าสามารถยับยั้งราได้ผลอย่างน่าพอใจในขณะที่ช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้

### 6.2.3 สารเคลือบหรือฟิล์มเคลือบด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial coatings or coated films)

สารเคลือบที่เหมาะสมบางครั้งสามารถเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์เพื่อคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ ในระยะแรก ๆ ของการพัฒนาการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ มีการนำสารกำจัดราเติมลงในไข่ เพื่อใช้เคลือบผิวผลไม้ ผัก และเนยแข็ง สารต่อต้านจุลินทรีย์ได้ถูกนำมาใช้เติมในสารเคลือบเพื่อชะลอการเจริญของยีสต์ รา และ แบคทีเรีย ระหว่างการเก็บรักษาและการกระจายสินค้า สารต้านจุลินทรีย์โดยทั่วไปที่ใช้ได้แก่ กรดอินทรีย์ และเกลือของกรดอินทรีย์ สารต้านจุลินทรีย์ซึ่งไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิในการผลิตฟิล์มพลาสติกจะถูกนำมาเคลือบบนแผ่นฟิล์ม ตัวอย่างเช่น ไนซิน/เซลลูโลสอีเทอร์เคลือบบนฟิล์มพอลิเอทิลีน เซลลูโลสอีเทอร์ถูกนำมาใช้เป็นสารตัวพาสำหรับการเคลือบ พบว่าฟิล์มดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 6.2.4 ฟิล์มดูดซับด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial adsorbed films)

การดูดซับสารต่อต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มพลาสติกเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เพื่อที่จะช่วยให้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อนสามารถใช้ในการเติมลงไปในฟิล์ม ตัวอย่างเช่น ไนซินดูดซับในพอลิเอทิลีน เอทิลีน ไวนิลอะซิเตต พอลิโพรพิลีนพอลิเอไมด์ หรือ พอลิเอทิลีน เทอเรพเทเลท เพดิโอซินดูดซับถุงเซลลูโลส และถุงกันการซึมผ่าน การปรับแต่งโดยใช้ตัวทำละลายและ/หรือโครงสร้างของพอลิเมอร์ สามารถช่วยเสริมการดูดซับสารต่อต้านจุลินทรีย์ ฟิล์มพอลิเอทิลีน-โค-เมทาคริลิกแอซิด ซึ่งผ่านโซเดียมไฮดรอกไซด์ และการบวมตัวโดยใช้ตัวทำละลายอะซีโตน พบว่าการดูดซับและการแพร่ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการดังกล่าว

### 6.2.5 ฟิล์มเกาะติดต่อต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial immobilized films)

ระบบการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งมีการใช้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เกาะติดโดยอาศัยพันธะโควาเลนต์หรือพันธะไฮออนิกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นการเกาะติดจะต้องอาศัยฟังก์ชันนอลกรุปทั้งของสารต่อต้านจุลินทรีย์ และพอลิเมอร์ นอกจากฟังก์ชันนอลกรุป การเกาะติดอาจจะต้องมีโมเลกุลตัวเชื่อมประสาน (สเปเซอร์) ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมพื้นผิวของพอลิเมอร์กับสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดชีวสมมันต์ ตัวเชื่อมประสานนี้ช่วยผ่อนคลายอิสระการ

เคลื่อนที่ที่พอเพียง ส่งผลให้สารต่อต้านจุลินทรีย์สามารถสัมผัสกับจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหาร ตัวอย่างเช่น เปปไทด์ของกรดแอมิโน 14 ตัว ซึ่งเกาะติดบนพอลิस्टาไทริน โดยการสังเคราะห์เปปไทด์แบบเฟสของแข็ง และถูกทดสอบการต่อต้านจุลินทรีย์ทางอาหาร

#### 6.2.6 फिल्मแต่งเติมด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial incorporated films)

การเติมสารต่อต้านจุลินทรีย์ลงไปในพื้นที่พลาสติกโดยตรงนั้น เป็นวิธีการที่สะดวก ที่จะได้สมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม สารต่อต้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เติมลงไปวัสดุบรรจุ โดยเฉพาะฟิล์มจะมีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.1-5 (โดยน้ำหนัก) สารต้านจุลินทรีย์อาจเติมลงในฟิล์มพอลิเมอร์ในช่วงของการหลอม หรือการใช้ตัวทำละลายกระบวนการผลิต พอลิเมอร์เชิงความร้อน เช่น การอัดรีด และ การฉีดขึ้นรูป อาจนำมาใช้ร่วมกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีความเสถียรเชิงความร้อน สำหรับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน เช่น เอนไซม์ และ สารระเหยเหมาะที่จะใช้ตัวทำละลายช่วยในเติมสารดังกล่าวลงในวัสดุพอลิเมอร์

#### 6.2.7 สารเคลือบหรือฟิล์มด้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด (inherently antimicrobial coatings or films)

พอลิเมอร์บางชนิดแสดงคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์โดยกำเนิด และนำมาประยุกต์ใช้ในสารเคลือบและฟิล์ม พอลิเมอร์ที่มีประจุบวก เช่น พอลิ-แอล-ไลซีนและไลโคซานจะก่อให้เกิดการจับตัวของเซลล์ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการรั่วของสารสำคัญภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากประจุบวกของแอมินจะทำปฏิกิริยาสัมพันธ์กับประจุลบของเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้พอลิเมอร์ที่มีประจุบวก เช่น ไลโคซาน ยังสามารถใช้ร่วมกับสารต่อต้านจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น กรดอินทรีย์ และสารสกัดจากพืช เพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งได้สูงสุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์

#### 6.2.8 फिल्मด้านจุลินทรีย์ดัดแปรพื้นผิว (surface modified antimicrobial films)

การดัดแปรพื้นผิวของพอลิเมอร์เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถก่อให้เกิดคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ของฟิล์ม ยกตัวอย่างเช่น การดัดแปรอิเล็กตรอนของพอลิเมอร์ ก่อให้เกิดแอมินกรุปเกิดขึ้นที่พื้นผิวฟิล์ม ซึ่งมีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ เมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์โดยใช้ยูวีเอ็กไซเมอร์เลเซอร์ฟิล์มไนลอน 6, 6 ซึ่งผ่านการฉายรังสี โดยใช้เลเซอร์ที่คลื่น

ความถี่ 193 นาโนเมตร พบว่าสามารถแสดงสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากร้อยละ 10 ของเอไมด์ กรู๊ปถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นเอมีนซึ่งเกาะกับสายโซ่พอลิเมอร์ (Suppakul, 2004)

ในอุตสาหกรรมอาหารวัสดุที่ใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ส่วนใหญ่ทำมาจากกระดาษ ในรูปแบบของภาชนะบรรจุประเภทต่างๆ เช่น ถาดหรือกล่องบรรจุอาหาร กล่องกระดาษลูกฟูก และภาชนะบรรจุอื่นๆ ได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีข้อดีคือ มีน้ำหนักเบา ขึ้นรูปเป็นภาชนะบรรจุได้หลากหลายรูปแบบ สามารถนำกลับมาหมุนเวียนใช้ใหม่ได้ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เนื่องจากกระดาษเป็นวัสดุบรรจุที่มาจากธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากกระดาษ มีโครงสร้างที่มีรูพรุนจำนวนมาก จึงมีข้อจำกัดในเรื่องความสามารถในการดูดซับน้ำ ความชื้น และไขมันจากอาหารหรือสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ทำให้กระดาษมีความแข็งแรงลดลง จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการปรับปรุงคุณสมบัติกระดาษ ซึ่งอาจจะมีการเคลือบขี้ผึ้ง เพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการต้านทานน้ำและยืดอายุการเก็บรักษา (Rodriguez *et al.*, 2007)

ความต้องการวัสดุบรรจุที่จะใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบัน พบว่ามีแนวโน้มต้องการวัสดุบรรจุที่มีคุณสมบัติที่หลากหลายร่วมกัน ไม่ใช่แค่เพียงทำหน้าที่ป้องกันผลิตภัณฑ์ภายในได้เพียงอย่างเดียว แต่ในปัจจุบันบรรจุภัณฑ์จะต้องมีหน้าที่พิเศษที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้ด้วย ในขณะที่มีความปลอดภัยและยังคงรักษาคุณภาพของอาหารไว้ได้ ทั้งทางด้านประสาทสัมผัสและสารอาหารต่าง ๆ (Han, 2000)

ดังนั้นการพัฒนากระดาษ ซึ่งเป็นวัสดุบรรจุที่ใช้อย่างแพร่หลายในการอุตสาหกรรมอาหาร ให้มีคุณสมบัติที่ดีและหลากหลายมากขึ้น เช่น สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และอาหารเน่าเสีย ระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารได้ ร่วมกับการพัฒนาคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลร่วมด้วย ดังนั้นการพัฒนากระดาษให้มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์และมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและถือได้ว่าเป็นความท้าทายอย่างหนึ่งของวงการอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์เป็นอย่างยิ่ง

**ตารางที่ 3** การนำบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟมาประยุกต์ใช้ในปัจจุบันและอนาคต

| Concept                                  | Food groups                                        |                         |                              |                                              |                  |                                              |                                                                    |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
|                                          | Dry                                                | High fat                | Minimally processed          | Meat and dairy                               | Frozen           | Bakery                                       | Beverages                                                          |
| O <sub>2</sub> -scavenger                | Roasted nuts, coffee, dried fish, cerials, specie, | Potato chips, chocolate | Fresh, pre-cooked pasta      | Cheese, salami, smoked meats, fish, sausages | Fish, vegetables | Pizza crust, bread, cakes, cookies, pastries | Beer, fruit juice, ready-to-drink tea, tomato-based products, wine |
| CO <sub>2</sub> -emitter                 | Nuts                                               | Potato crisps, Peanuts  | Produce                      | Fresh meat and fish                          |                  | Sponge cake                                  |                                                                    |
| C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -emitter   |                                                    |                         |                              | Climacteric produce                          |                  |                                              |                                                                    |
| C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -scavenger |                                                    |                         | Climacteric produce          |                                              |                  |                                              |                                                                    |
| CO <sub>2</sub> -scavenger               | Coffee                                             | Fruit                   | Cheese, beef jerkey, poultry |                                              |                  |                                              |                                                                    |

ตารางที่ 3 (ต่อ)

| Concept                | Food groups      |          |                     |                |           |                                            |                 |
|------------------------|------------------|----------|---------------------|----------------|-----------|--------------------------------------------|-----------------|
|                        | Dry              | High fat | Minimally processed | Meat and dairy | Frozen    | Bakery                                     | Beverages       |
| Ethanol emitter        | Semi-dry fish    |          |                     | Cheese         | Fish      | Sweet bread, high moisture bakery products |                 |
| Antimicrobial release  |                  |          | Fruit               | Cheese meat    |           | Bread, cakes                               |                 |
| Antioxidant release    | Breakfast cereal |          |                     |                |           |                                            | Bag-in-box wine |
| Flavour releasing film |                  |          |                     |                | Ice-cream |                                            | Orange juice    |
| Flavour absorption     |                  |          |                     | Fish           |           |                                            | Fruit juicess   |

ที่มา: Vermeriren *et al.* (1999)

**ตารางที่ 4** สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่ใช้ร่วมกับพอลิเมอร์ในบรรจุภัณฑ์อาหาร

| Active component | Polymer/carrier                | Substrate           | References                                                               |
|------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Lysozyme         | PVOH, nylon, cellulose acetate | Culture media       | Appendini and Hotchkiss (1997)                                           |
|                  | Edible film                    | Culture media       | Padgett, Han and Dawson (1998)                                           |
| Nisin            | Cellulose film, PE             | Cheese, ham         | Scannell <i>et al.</i> (2000)                                            |
|                  | SPI, corn zein film            | Culture media       | Padgett, Han and Dawson (1998)                                           |
|                  | PE                             | Beef carcass tissue | Siragusa, Cutter and Willett (1999), Cutter, Willett and Siragusa (2001) |
|                  | HPMC                           | Culture media       | Coma, Sebt, Pardon, Deschamps and Pichavant (2001)                       |
|                  | Silicon coating                | Culture media       | Daeschel, McGuire and Almakhlafi (1992)                                  |
|                  | Corn zein film                 | Culture media       | Padgett, Han and Dawson (2000)                                           |
|                  | PVC, LDPE, nylon               | Culture media       | Natrajan and Sheldon (2000)                                              |
|                  | Corn zein film                 | Culture media       | Hoffman, Han and Dawson (2001)                                           |
|                  | SPI, WPI, WG, EA               | Phosphate buffer    | Ko, Janes, Hettiarachchy and Johnson (2001)                              |
| Lacticin         | Cellulose film, PE             | Cheese, ham         | Scannell <i>et al.</i> (2000)                                            |
| Pediocin         | Cellulose                      | Cooked meats        | Ming, Weber, Ayres and Sandine (1997)                                    |

ตารางที่ 4 (ต่อ)

| Active component           | Polymer/carrier | Substrate                          | References                                         |
|----------------------------|-----------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Glucose oxidase            | Alginate        | Fish                               | Field, Pivarnick, Barnett and Rand (1986)          |
| Acetic acid                | Chitosan        | Water                              | Ouattara, Simard, Piette, Begin and Holley (2000a) |
|                            | Chitosan        | Bologna, cooked ham, pastrami      | Ouattara, Simard, Piette, Begin and Holley (2000b) |
| Lactic acid                | Alginate        | Lean beef muscle                   | Siragusa and Dickinson (1992)                      |
| Sorbic acid                | WPI             | Culture media                      | Cagri, Ustunol and Ryser (2001)                    |
| Propionic acid             | Chitosan        | Water                              | Ouattara <i>et al.</i> (2000a)                     |
|                            | Chitosan        | Bologna, cooked ham, pastrami      | Ouattara <i>et al.</i> (2000b)                     |
| Grapefruit seed<br>extract | LDPE            | Lettuce, soybean sprouts           | Lee, Hwang and Cho (1998)                          |
| Hinokitiol                 | LDPE            | Vegetables, fruits                 | Imakura, Yamada and Fukazawa (1992)                |
| Bamboo powder              | Not stipulated  | Fishery products, vegetables, etc. | Oki (1998)                                         |
| Tocopherol                 | LDPE            | Beef                               | Moore <i>et al.</i> (2003)                         |

ที่มา: Devlieghere *et al.* (2003)

ตารางที่ 5 บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ทางการค้าที่นำมาประยุกต์ใช้กับอาหารโดยใช้สารด้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ

| Active component     | Tradename       | Producer Company       | Packaging forms for food applications | References                                                                              |
|----------------------|-----------------|------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Allyl isothiocyanate | WasaOuro        | Lintec Corporation     | Pressure sensitive labels, sheets     | <a href="http://www.lintec.co.jp/index-e.html">http://www.lintec.co.jp/index-e.html</a> |
| Glucose Oxidase      | Bioka           | Bioka Ltd              | Sachets                               | <a href="http://www.bioka.fi/index.html">http://www.bioka.fi/index.html</a>             |
| Ethanol vapor        | Ethicap         | Freund                 | Sachets                               | Smith, Hoshino and Abe (1995)                                                           |
|                      | Negamold Fretek |                        |                                       |                                                                                         |
|                      | Oitech          | Nippon Kayaku          |                                       |                                                                                         |
| Carbon dioxide       | Freshpax        | Multisorb technologies | Sachets                               | Smith et al. (1995)                                                                     |
|                      | Verifrais       | SARL Codimer           |                                       |                                                                                         |

ที่มา: Devillieghere *et al.* (2003)

## 7. กระดาษด้านจุลินทรีย์และการนำไปใช้

กระดาษถือได้ว่าเป็นวัสดุที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นวัสดุที่นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร การนำเอากระดาษมาพัฒนาให้มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ได้ถือได้ว่าเป็นแนวทางที่น่าสนใจ โดยในการพัฒนากระดาษจะต้องคำนึงถึงหลาย ๆ ปัจจัยประกอบกัน ได้แก่ ชนิดและน้ำหนักกระดาษ ชนิดและปริมาณสารด้านจุลินทรีย์ เทคนิคการเคลือบ ชนิดของอาหารที่จะนำมาประยุกต์ใช้ จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารชนิดนั้น ๆ ผลกระทบที่จะมีต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ การปลดปล่อยสารด้านจุลินทรีย์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษ รวมทั้งผลกระทบที่จะมีต่อคุณภาพของอาหารซึ่งมีผลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์และความปลอดภัยของผู้บริโภค

โดยพบว่าโอกาสในการพัฒนากระดาษให้มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์มีความเป็นไปได้เช่นเดียวกับพลาสติก ทั้งนี้เนื่องจากกระดาษมีโครงสร้างที่เป็นรูพรุน ทำให้สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงไป เข้าไปแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างได้ ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของกระดาษได้ เช่น การต้านทานน้ำ ไขมันและแก๊ส รวมทั้งความแข็งแรงทางกายภาพได้ดีพอๆกับความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ (Han, 2000) ซึ่งในปัจจุบันมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาถึงการนำเอากระดาษด้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้กับอาหารและผักผลไม้

Lee *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงผลของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ ที่มีต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในนมพาสเจอร์ไรด์และน้ำส้ม ด้วยการทดสอบกับกระดาษแข็งที่มีการเคลือบด้วยไนซิน และ โคลโตซาน โดยมีไวนิลอะซิเตต (vinyl acetate) เป็นตัวเชื่อม โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 3, 10 และ 20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวัดการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยการนับจำนวนเชื้อของแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (aerobic bacteria) และยีสต์ โดยเทียบกับกระดาษเปล่าที่เคลือบด้วยตัวเชื่อมเพียงอย่างเดียว เป็นตัวควบคุม (control) และทำการวิเคราะห์การเจริญของจุลินทรีย์ด้วย Baranyi's growth model ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ คือ ที่อุณหภูมิ 3 และ 10 องศาเซลเซียส ได้แต่ไม่สามารถยับยั้งได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และพบว่าหากใช้สารด้านจุลินทรีย์สองตัวควบคู่กันจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้น โดยไนซินและโคลโตซานที่เติมลงไปจะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยช่วยยืดระยะแรก (แลกเฟส) และลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์

Rodriguez *et al.* (2007) ได้ทำการศึกษาถึงการนำเอาน้ำมันหอมระเหยผสมกับพาราฟินที่ใช้เคลือบกระดาษและสามารถสัมผัสกับอาหารได้ น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ ได้แก่ การพลู (*Syzygium aromaticum*) อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) ออริกาโน (*Origanum vulgare*) และ Cinnamaldehyde-enriched cinnamon EO ทั้งนี้เนื่องจากในอุตสาหกรรมอาหารรวมทั้งผักและผลไม้ มักจะใช้กระดาษเป็นบรรจุภัณฑ์ ซึ่งมักมีการเจริญของเชื้อรามากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ดังนั้นเมื่อนำเอาน้ำมันหอมระเหยมาเป็นส่วนผสมในการเคลือบกระดาษ จึงช่วยต้านจุลินทรีย์และยืดยอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองกับสตอร์เบอร์รี่ 2 ชนิดที่แตกต่างกัน โดยบรรจุสตอร์เบอร์รี่ในถาดที่ขึ้นรูปด้วยกระดาษต่อต้านจุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดีระหว่างการทดลองโดยที่ไม่สูญเสียคุณภาพด้านประสาทสัมผัสไป

อุดมลักษณ์ และคณะ (2544) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก กานพลู ขมิ้นชัน โหระพา และอบเชย ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่พบในผลิตภัณฑ์ผลไม้กวน การสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำพบว่า ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยจาก กานพลูสูงสุด คือร้อยละ 22.33 รองลงมา คือ น้ำมันอบเชยร้อยละ 1.15 น้ำมันขมิ้นชันร้อยละ 0.98 และน้ำมันโหระพาร้อยละ 0.44 ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Eurotium* sp. และเชื้อ *Penicillium chrysogenum* ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี disc agar diffusion พบว่าน้ำมันอบเชยออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด เมื่อนำกระดาษฟางข้าวมาเคลือบด้วยสารละลายน้ำมันอบเชย พบว่ากระดาษฟางข้าวที่เคลือบด้วยสารละลายน้ำมันอบเชยความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถต้านทานการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของผลไม้กวนได้ การเคลือบกระดาษด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีผลให้คุณสมบัติทางเชิงกลของกระดาษลดลง และเมื่อนำกระดาษฟางข้าวเคลือบสารละลายน้ำมันอบเชยความเข้มข้นร้อยละ 2 มาใช้ในการเก็บรักษาทุเรียนกวน พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาทุเรียนกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 70 วัน สำหรับการศึกษาการยอมรับกระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันอบเชยของผู้บริโภค พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับกระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันอบเชยร้อยละ 89.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายน้ำมันอบเชยในการนำมาเคลือบกระดาษเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชยที่สามารถต้านทานเชื้อราที่พบในผลไม้กวน โดยจากศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อราในผลิตภัณฑ์ผลไม้กวน พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในผลิตภัณฑ์ผลไม้กวนที่ดีที่สุด จึงนำน้ำมันอบเชยมาใช้ในการเคลือบกระดาษ จากการทดสอบความต้านทานเชื้อราของกระดาษเคลือบสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหย 6 ระดับ คือความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 ตามลำดับ

พบว่ากระดาษเคลือบสารละลายน้ำมันอบเชยความเข้มข้นร้อยละ 2 ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger*, *Eurotium* sp. และ *P. carmemberti* ได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 6 งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำกระดาษด้านจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้กับอาหาร

| อาหาร                 | สารด้านจุลินทรีย์              | เอกสารอ้างอิง                  |
|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Durian paste          | Essential oils                 | อุดมลักษณ์ และคณะ, 2544        |
| Milk cream            | Nisin and $\alpha$ -tocopherol | Lee <i>et al.</i> , 2004a      |
| Milk and Orange juice | Nisin and/or Chitosan          | Lee <i>et al.</i> , 2004b      |
| Strawberries          | Essential oils                 | Rodriguez <i>et al.</i> , 2007 |

## 8. ผลิตภัณฑ์ขนมอบ

### 8.1 ความหมายและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ขนมอบ

ผลิตภัณฑ์ขนมอบ (bakery product) คือ ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้งสาลี โดยอาศัยการทำให้แป้งขึ้นฟูโดยอาศัยยีสต์ช่วย ซึ่งยีสต์จะผลิตก๊าซออกมาส่งผลให้โดมีการพองตัว นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมอื่น ๆ ที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารมากมาย ได้แก่ ไข่ เนย น้ำตาล และอื่น ๆ เป็นต้น เมื่อเตรียมส่วนผสมพร้อมแล้วจึงนำไปอบเป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีความหลากหลาย ผลิตภัณฑ์ขนมอบเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้น และมีค่าออกซิเจนอิสระที่ค่อนข้างสูง อายุการเก็บสั้นที่อุณหภูมิปกติเพียง 2-3 วัน โดยขนมปังที่อบสุกใหม่ ๆ จะมีความชื้นของเนื้อขนม (crumb) สูงประมาณร้อยละ 45 และอุณหภูมิประมาณ 98 องศาเซลเซียส ในขณะที่เปลือกนอก (crust) มีความชื้นต่ำประมาณร้อยละ 2 แต่อุณหภูมิประมาณ 150 องศาเซลเซียส ขณะปล่อยให้ขนมมอดลงทำให้ความชื้นในเนื้อลดลงแต่ความชื้นของเปลือกนอกเพิ่มขึ้น ทำให้ถ้าไม่มีการบรรจุที่เหมาะสมอาจทำให้เนื้อขนมแห้งแข็ง ในขณะที่เปลือกนอกและเหนียว ส่งผลให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้

### 8.2 เค้ก

เค้ก (cake) เป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบที่อาศัยการขึ้นฟูจากสารที่ทำให้เกิดการขึ้นฟู ไข่ และอากาศในเนย (batter) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการตี โดยทั่วไปสามารถแบ่งชนิดของเค้กตามส่วนผสมหลักได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่

### 8.2.1 เค้กที่มีไขมันเป็นส่วนผสมหลัก (shortened or shortening cakes)

เค้กชนิดนี้จะมีเนยขาว หรือไขมันอื่น ๆ เช่น มาการีนในปริมาณสูง ในการทำเค้กที่ต้องการให้มีปริมาณมากมักใช้ไขมันผสมระหว่างเนยสดกับเนยขาว และใช้การเติมแต่งกลิ่นเนย ตัวอย่างเค้กประเภทนี้ คือ เค้กเนยสดที่นิยมกันในประเทศไทย ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะเค้กที่ได้ อันหนึ่งคือ การตีให้ฟองอากาศเข้าไปอยู่ในส่วนผสม ทั้งนี้จะมีผลต่อปริมาตรและเนื้อเค้กที่ได้ อากาศที่เข้าไปนี้จะอยู่ในส่วนผสมเมื่อมีการตีไขมัน น้ำตาลและไข่เข้าด้วยกัน และปริมาณของก๊าซในส่วนผสมจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมผงฟู โครงสร้างของเค้กจะเกิดจากการรวมตัวกันระหว่างแป้งและไข่เป็นหลัก

### 8.2.2 เค้กที่มีการตีไข่จนขึ้นฟูเป็นส่วนผสมหลัก (foam-type of cake)

เค้กชนิดนี้อาจมี หรือไม่มีไขมันในส่วนผสมก็ได้ แต่จะมีไข่ที่ตีจนขึ้นฟูเป็นส่วนผสมหลัก เค้กชนิดนี้มักมีขนาดใหญ่ และมีเนื้อละเอียดนุ่มกว่าเค้กชนิดแรก ทั้งนี้การตีไข่จะช่วยให้เกิดการขึ้นฟู และช่วยให้เกิดโครงสร้างของเค้ก น้ำตาลจะช่วยให้ไข่ฟูอยู่ได้นาน เกิดความยืดหยุ่นและอ่อนตัว ทำให้อากาศขยายตัวได้และสามารถเก็บกักก๊าซที่เกิดขึ้นในระหว่างการอบได้ด้วย การทำเค้กชนิดนี้ต้องอาศัยความพิถีพิถันมากกว่าชนิดแรก เนื่องจากการตีไข่ ซึ่งถ้าตีมากหรือน้อยต่างกันก็จะส่งผลกระทบต่อคุณภาพเค้ก ไข่ที่นำมาใช้ควรเป็นไข่สดและมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ซึ่งจะทำให้ตีให้ขึ้นฟูได้ง่าย

## 8.3 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบ

ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น ขนมปัง เค้ก โดนัต และพาย เป็นต้น มักจำหน่ายในลักษณะผลิตภัณฑ์สดและมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2-3 วัน ซึ่งการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมอบ แบ่งออกเป็น 3 ประการสำคัญ คือ

### 8.3.1 สเตลิง (staling)

สเตลิงเกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียคุณภาพของขนมปังเป็นส่วนใหญ่ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมี ทำให้เปลือกขนมปังเหนียวไม่กรอบ ส่วนเนื้อร่วนและมีสีขาวขุ่น โดยไม่เกี่ยวข้องกับการสูญเสีย น้ำ กลิ่นเริ่มผิดปกติ อะมิโลสจะแยกตัวจากเม็ดสตาร์ชและเกิด

เป็นตะกอนขุนขาวและกลูเตนสูญเสีย น้ำ การเสื่อมเสียนี้จะเริ่มเกิดตั้งแต่ขนมปังออกจากเตาอบและเสื่อมคุณภาพจน กระทั่งไม่เหมาะที่จะบริโภคภายใน 2-3 วัน

### 8.3.2 การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความชื้น

ผลิตภัณฑ์ขนมอบโดยทั่วไปมีค่าความชื้นสัมพัทธ์สมดุลประมาณร้อยละ 78 ถึง 97 (ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเท่ากับ 0.78-0.97) เมื่อเก็บไว้ในอากาศจะมีแนวโน้มสูญเสียทำให้เนื้อสัมผัสร่วนและแห้ง ผลิตภัณฑ์บางชนิดที่มีส่วนผสมของแป้ง และครีม หรือ ไข่ ซึ่งมีความชื้นแตกต่างกันเกิดการถ่ายเทความชื้นระหว่างกันทำให้เนื้อสัมผัสผิดปกติ นอกจากนี้การบรรจุผลิตภัณฑ์ขนมอบในภาชนะปิดอาจเกิดหยดน้ำภายในภาชนะเป็นสาเหตุให้ผิวผลิตภัณฑ์เปียกชื้นมากขึ้น เชื้อราเจริญเติบโตได้ง่ายขึ้น ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขโดยการเลือกวัสดุบรรจุที่มีอัตราการซึมผ่านไอน้ำเหมาะสม

### 8.3.3 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญที่สุด ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมอบเสื่อมเสีย จุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุด คือ เชื้อรา บางกรณีอาจจะพบแบคทีเรียและยีสต์บ้าง ซึ่งสาเหตุมาจากอุปกรณ์เครื่องใช้ไม่สะอาดและหรือสุขอนามัยคนงานไม่ดี แบคทีเรียที่พบมากเช่น *Serratia marcescens*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus mesentericus* ส่วนแบคทีเรียที่เป็นพิษตรวจพบน้อยมาก ถ้าพบส่วนใหญ่จะเป็นแค่ไส้ครีมต่างๆ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Salmonella* เป็นต้น ยีสต์ที่ตรวจพบมักเป็นสายพันธุ์ที่ทนแรงดันออสโมติกได้ เช่น *Saccharomyces baillii* var. *osmophilus* จะผลิตแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเนื่องจากเชื้อราเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดของการเสื่อมเสียคุณภาพ อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ขนมอบจึงมักกำหนดจากระยะเวลาที่สังเกตไม่พบเชื้อราบนผลิตภัณฑ์ ซึ่งนิยมเรียกว่า Mould-Free Shelf Life ของผลิตภัณฑ์นั้น (งามทิพย์, 2538)

โดยทั่วไปแล้วผิวหน้าของก้อนขนมปังที่อบเสร็จใหม่ ๆ จะปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอาศัยอยู่ แต่ขนมปังเหล่านี้อาจได้รับสปอร์ของเชื้อราที่อยู่ในอากาศปนเปื้อนลงบนผิวขนมปัง ก่อนการนำไปบรรจุห่อ หรืออาจเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนในระหว่างการหั่นขนมปังเป็นชิ้นบาง ๆ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในมิด เจียง ภาชนะ ที่ใช้ในการตัด หั่นขนมปัง การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในขนมเค้กก็มีสาเหตุเดียวกับการปนเปื้อนในขนมปัง สปอร์ของแบคทีเรียทำให้เกิด

เมือก (ropiness) ในขนมปังยังคงมีชีวิตรอดได้ในขณะอบขนมเค้กให้สุก ปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค คือ การที่เชื้อราสร้างสารพิษได้ โดยเฉพาะเชื้อที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน (afla toxin) จึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งที่ต้องลดการปนเปื้อนของเชื้อราในอาหาร เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้บ่อยและมักทำให้ขนมปัง และผลิตภัณฑ์ขนมอบเสีย การอบขนมปังมีอุณหภูมิสูงเพียงพอในการทำลายสปอร์เชื้อราทุกชนิดที่อยู่ในหรือบนขนมปัง ดังนั้นเชื้อราที่เติบโตได้นั้นเป็นเชื้อราที่ปนเปื้อนมาภายหลังการอบขนม และระหว่างการปล่อยให้เย็นลง หรืออาจเป็นเชื้อที่มาจากผู้สัมผัสขนมปังหรือจากวัสดุที่ใช้ในการทำขนมปัง หรืออาจมาจากการหั่นขนมปังให้เป็นชิ้น เชื้อราสำคัญที่เติบโตบนขนมปังจะเรียกว่า ราขนมปัง (bread mold) ได้แก่ *Rhizopus nigricans* มีเส้นใยสีขาวและมีสปอร์แรงเงาเป็นจุดดำ ๆ และ *Aspergillus niger* มีโคนิเดียสีดำ สีม่วงออกน้ำตาล สีดำ และสีเหลือง ซึ่งจะซึมเข้าสู่เนื้อขนมปัง

ผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีค่าออกซิเจนอิสระ ( $a_w$ ) ตั้งแต่ 0.86 ขึ้นไปจะเสื่อมเสียจากเชื้อราเป็นสำคัญ เมื่อค่าออกซิเจนอิสระของผลิตภัณฑ์ต่ำลงการเน่าเสียส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อราที่ไม่ทนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีค่าออกซิเจนอิสระค่อนข้างสูง พบว่าจะมีการเน่าเสียจากยีสต์ และ Lactic Acid Bacteria มากกว่าเชื้อรา ซึ่งเมื่อมีการเจริญจะมีการสร้างแอลกอฮอล์ ทำให้กลิ่นรสผิดปกติ และปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาทำให้ภาชนะโป่งพอง เช่น *Pichia burtonii* นิยมเรียกว่า chalk moulds จะสังเกตเห็นได้ง่ายเป็นเส้นใยขาวบนขนมปังจากการที่เชื้อราเป็นสาเหตุสำคัญในการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบทำให้มีการใช้วัตถุกันเสีย เช่น กรดพรีออนิก หรือเกลือของกรดพรีออนิก กรดซอร์บิก หรือเกลือของกรดซอร์บิก ช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้และเพิ่มอายุการเก็บให้ผลิตภัณฑ์ แต่แนวโน้มผู้บริโภคต้องการอาหารที่มีการใช้วัตถุกันเสียน้อยหรือไม่ใช้เลย (งามทิพย์, 2550)

นอกจากนี้ยังมีการเสื่อมเสียเนื่องจากการย่อยสลายไขมัน โดยจุลินทรีย์ทำให้ได้กรดไขมันและอาหารเกิดการหืน (microbial rancidity) (ธีรพร, 2546)

## 9. การถนอมอาหารด้วยสารเคมี

### 9.1 สารเจือปนในอาหาร

สารเจือปนในอาหารหรือเรียกว่า food additives องค์การอนามัยโลกให้ความหมายของสารเจือปนในอาหารว่าหมายถึงสาร หรือส่วนประกอบของสารซึ่งไม่ใช่ส่วนประกอบหลักของ

อาหารและเมื่อเติมอยู่ในอาหารแล้วจะมีผลต่อการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษา หรือการบรรจุ แต่ทั้งนี้ไม่รวมถึงโอกาสของการปนเปื้อนเนื่องจากจุลินทรีย์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาความหมายของ สารเจือปนในอาหาร จึงสามารถเน้นได้ว่าสารเจือปนในอาหารนี้เป็นสารที่ผู้ผลิตมีความตั้งใจที่จะใช้หรือเติมเข้าไปนั่นเอง

สารเจือปนในอาหารเหล่านี้บางชนิดซึ่งเติมลงไปเพื่อป้องกันการเสื่อมเสีย หรือการย่อยสลายของอาหารสามารถจัดอยู่ในกลุ่มของสารถนอมอาหารประเภทสารเคมีหรือที่เรียกว่า chemical preservatives ได้ โดยสาเหตุของการเสื่อมเสียดังกล่าวประกอบด้วยสาเหตุจากจุลินทรีย์จากเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารหรือจากปฏิกิริยาเคมีเป็นต้น ส่วนเหตุผลที่สารถนอมอาหาร (preservatives) สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากสารถนอมอาหารนั้นเข้าไปก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ ซึ่งจะทำการกิจกรรมของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไป หรือ ยีนส์ ซึ่งจะทำการระบบพันธุศาสตร์ของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้แล้วสารถนอมอาหารบางชนิดอาจใช้ทำหน้าที่ต่าง ๆ ดังเช่น เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidants) โดยเฉพาะลักษณะทางกายภาพเป็นสารที่ใช้ทำปฏิกิริยาสะเทินกับกรด (neutralizers) เป็นสารที่รักษาความคงตัวโดยเฉพาะลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ (stabilizers) เป็นสารเคลือบผิวผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ หรือป้องกันการสูญเสีย น้ำ หรือยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์และปฏิกิริยาทางเคมีที่ไม่ต้องการให้ช้าลง

สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารเจือปนในอาหารที่จัดอยู่ในกลุ่ม chemical preservatives ในการทำลายจุลินทรีย์หรือยับยั้งการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ พอที่จะรวบรวมได้ คือ ความเข้มข้นของสารเจือปนที่ใช้ ความเข้มข้นของสารเจือปนที่ใช้ ชนิด จำนวน อายุ และความเป็นมา อุณหภูมิ เวลา สภาพทางเคมี และกายภาพของสารตั้งต้นที่ตรวจพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ทั้งนี้สภาพดังกล่าวประกอบด้วย ปริมาณความชื้น พีเอช ชนิด และปริมาณของตัวทำละลาย ความตึงผิว และสารแขวนลอย เป็นต้น

อย่างไรก็ตามสารเคมีอาจใช้เป็นสารทำลายแบคทีเรีย (bactericidal) ถ้าใช้ในความเข้มข้นที่กำหนดไว้ แต่ถ้าใช้สารเคมีดังกล่าวในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าที่กำหนดไว้ ประสิทธิภาพของสารเคมีนั้นจะลดลง ดังนั้นจึงส่งผลเพียงแค่ยับยั้งการเจริญเติบโตเท่านั้น นอกจากนี้ถ้าสารเคมีดังกล่าวถูกเจือจางมาก ๆ อาจทำให้ประสิทธิภาพการต้านทานหรือการยับยั้งแบคทีเรียสูญหายไป

ดังนั้น สารถนอมอาหารประเภทสารเคมีหรือ chemical preservatives ซึ่งทำหน้าที่เป็น สารถนอมอาหารที่ต่อต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (antimicrobial preservatives) คือ สารเคมีที่ เมื่อถูกเติมลงไปในการอาหารแล้วทำหน้าที่ป้องกัน หรือยับยั้งการเสื่อมเสียของอาหาร แต่ทั้งนี้สารเคมี เหล่านี้จะไม่รวมถึงเกลือ น้ำตาล น้ำส้มสายชู เครื่องเทศ น้ำมันสกัดจากเครื่องเทศ หรือสารที่มาจาก ควินินไม้ (ในการรมควัน) (วรารุณี, 2538 )

## 9.2 สารเคมีที่อนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ขนมอบเป็นผลิตภัณฑ์ที่อุดมไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ เหมาะแก่ การเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งก่อให้เกิดการเสื่อมเสียได้ ดังนั้นจึงมีการเติมสารเคมีบางชนิดลงไปเพื่อ เป็นกันควบคุมและป้องกัน การเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบ และเพื่อเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ.2527) และฉบับที่ 119 (พ.ศ.2532) อนุญาตให้ใช้ได้ โดยกรดพอร์ฟิโอนิก โซเดียม พอร์ฟิโอเนต หรือแคลเซียมพอร์ฟิโอเนต ซึ่งใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทำให้ขนม ปังมีอายุการเก็บรักษาเหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดขนมปัง ใช้ได้ไม่เกินร้อยละ 0.2 ขณะที่ปริมาณที่ เหมาะสมสำหรับขนม คือร้อยละ 0.15 (ผู้จัดการออนไลน์, 2551)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. วัสดุดิบ

- 1.1 กระดาษแข็งประเภท Duplex board (ได้รับอนุเคราะห์จาก บริษัทกระดาษสหไทย จำกัด, ประเทศไทย)
- 1.2 วานิลลิน (Vanillin; 4-Hydroxy-3-methylbenzaldehyde) (Sigma-aldrich, USA)
- 1.3 ไคโตซาน (Chitosan 95% DAC, MW~760000, Seafresh Chitosan Lab Company Limited, Thailand)
- 1.4 แก้วม้วน (บริษัท อิน แอนด์ เอ้าท์ เดอะเบเกอรี่ คาเฟ่ จำกัด, ประเทศไทย)

#### 2. จุลินทรีย์

- 2.1 *Bacillus cereus* DMST 5040 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 2.2 *Staphylococcus aureus* DMST 8840 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
- 2.3 *Escherichia coli* DMST 4212 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)

#### 3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรีย (Nutrient Broth) (Merck, Germany)
- 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ (Yeast Malt Broth) (Hi-media, India)
- 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Bacillus cereus* (MYP Agar) (Difco, USA)
- 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Staphylococcus aureus* (Bird Parker Agar) (Difco, USA)
- 3.5 วุ้นผง (agar powder, Chili)

#### 4. สารเคมี

- 4.1 เอทานอล (ethanol 95%, Merck, Germany)
- 4.2 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Germany)
- 4.3 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka chemie, Switzerland)
- 4.4 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Fluka chemie, Switzerland)
- 4.5 กรดแลคติก (Ajax Finechem, Australia)
- 4.6 กลีเซอรอล (J.T. Baker, USA)

#### 5. เครื่องมือ

- 5.1 จานเพาะเชื้อ (Griener, Germany)
- 5.2 ตัวเจาะหลุมวุ้น (Cork Borer) เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
- 5.3 ไมโครปิเปต (Axygen, USA)
- 5.4 หม้อนึ่งความดัน (Huxley model HL-340, USA)
- 5.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Germany)
- 5.6 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (Binder model KBF 240, Germany)
- 5.7 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (Contherm model CAT 180, New Zealand)
- 5.8 เครื่องเคเทรอร์
- 5.9 ตู้ปลอดเชื้อ (ISSCO laminar flow model VS-123, USA)
- 5.10 เครื่องผสม (Vortex mixer model CTL 107, Canada)
- 5.11 เครื่องยวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV spectrophotometer) (JASCO model 7800, USA)
- 5.12 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง (Sartorius model BP2110S, Germany)
- 5.13 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius model BP110S, Germany)
- 5.14 เทอร์โมมิเตอร์ 100 องศาเซลเซียส
- 5.15 เวย์นเคลิปเปอร์ (MACOH, England)
- 5.16 เครื่องวัดความหนา (Mitutoyo ID-C112BS, Japan)
- 5.17 Hotplate และ Stirrer (Stuart Scientific, UK)
- 5.18 เครื่องวัดวอเตอร์แอกติวิตี

- 5.19 แปรงขนาดหน้าตัด 6 เซนติเมตร
- 5.20 หลอดเก็บจุลินทรีย์ ขนาด 1 มิลลิลิตร
- 5.21 แท่งแก้วสามเหลี่ยม
- 5.22 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 5.23 ลวดเขี่ยเชื้อ
- 5.24 เครื่องควบคุมอุณหภูมิและปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ (WTB Binder KBF 240, Germany)
- 5.25 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (PHILIP XL30, Finland)
- 5.26 เครื่องวัดสี (Minolta model CM-310, Japan)
- 5.27 อุปกรณ์ตัดกระดาษ
- 5.28 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

## วิธีการ

### 1. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของวานิลลินในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์

#### 1.1 การเตรียมสารละลายวานิลลินในไดเมทิลซัลฟอกไซด์

ทำการเตรียมสารละลายวานิลลินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10, 5, 2.5 และ 1.25 (โดยน้ำหนัก) ในลักษณะลดลงทุก ๆ 2 เท่า โดยใช้ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO) ความเข้มข้น 30 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย

#### 1.2 การทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์

ทำการทดสอบโดยดัดแปลงวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น (Modified agar well diffusion technique) (Chung *et al.*, 1990) โดยนำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์จำนวน  $10^6$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อและเทอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) จากนั้นใช้เทคนิค pour plate โดยหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกับจุลินทรีย์ทดสอบกระจายทั่วจาน

เพาะเชื้อ รือให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จากนั้นทำการเจาะหลุมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลินทรีย์ทดสอบ ด้วยตัวเจาะหลุมวุ้นเบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร หยดสารละลายวานิลลินซึ่งละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่เตรียมได้ตามข้อที่ 1.1 ปริมาณ 40 ไมโครลิตร ลงในหลุมวุ้นความเข้มข้นละหลุม และทำการหยดไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้น 30 ไมโครลิตรต่อมิลลิตร จำนวน 1 หลุม เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมผลเชิงลบ (negative control) (Hili *et al.*, 1997) จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ โดยบันทึกผลการทดลองจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งซึ่งมีลักษณะใส ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์เจริญในบริเวณดังกล่าว โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งจะต้องมีขนาดตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (Nascimento *et al.*, 2000) หากบริเวณยับยั้งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 7 มิลลิเมตร แสดงว่าสารละลายวานิลลินในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ บันทึกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ โดยความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ หรือค่า Minimum Inhibitory Concentrations; MICs เป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวานิลลินในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป

## 2. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์

### 2.1 การเตรียมสารละลาย

#### 2.1.1 สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

ทำการเตรียมสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10, 5, 2.5 และ 1.25 (โดยน้ำหนัก) ในลักษณะลดลงทุก ๆ 2 เท่า โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย

#### 2.1.2 สารละลายวานิลลินในไคโตซาน

ทำการเตรียมสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 (โดยน้ำหนัก) โดยทำการเตรียมสารละลายไคโตซานร้อยละ 1

(โดยน้ำหนัก) ด้วยการละลายไคโตซาน (95% Deacetylation) 1 กรัม ในสารละลายกรดแลกติก ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาณ 100 กรัม คนตลอดเวลาเพื่อช่วยให้ไคโตซานละลายในกรดแลกติก ได้ดีขึ้น ณ อุณหภูมิห้อง เมื่อไคโตซานละลายจนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายกรดแลกติกทำการ กรองเพื่อแยกเอาตะกอนบางส่วนของไคโตซานที่ละลายได้ไม่หมดออก เหลือเพียงส่วนที่เป็น สารละลาย จากนั้นทำการเติมกรีเซอรอลร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) ลงไปเพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติก ไซเซอร์ (plasticizer) เมื่อเตรียมสารละลาย ไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) เสร็จ เรียบร้อย การนั้นใช้สารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) เป็นตัวทำละลายในการเตรียม สารละลายวานิลลินในไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 (โดยน้ำหนัก) ในลักษณะลดลงทุก ๆ 2 เท่า โดยให้ความร้อนแก่สารละลายวานิลลินในไคโตซานที่ อุณหภูมิ  $83 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้วานิลลินละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวกับ สารละลายไคโตซานร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

## 2.2 การทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญ ของจุลินทรีย์

### 2.2.1 สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

ทำการทดสอบด้วยวิธีเดียวกับข้อ 1.2 โดยหยดสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่เตรียมได้จากข้อที่ 1 ปริมาณ 40 ไมโครลิตร ลงใน หลุมวงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ความเข้มข้นละหลุม และใช้เอทิลแอลกอฮอล์ความ เข้มข้นร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุมผลเชิงลบ (negative control) (Hili *et al.*, 1997) จากนั้นนำจาน เพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการประเมินกิจกรรม การต้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Nascimento *et al.*, 2000) และบันทึกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์

### 2.2.2 สารละลายวานิลลินในไคโตซาน

ทำการทดสอบด้วยวิธีเดียวกับข้อ 1.2 โดยหยดสารละลายวานิลลินในไคโตซาน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่เตรียมได้จากข้อที่ 1 ปริมาณ 40 ไมโครลิตร ลงในหลุมวงขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ความเข้มข้นละหลุม และใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้น

ร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) เป็นชุดควบคุมผลเชิงลบ (negative control) (Hili *et al.*, 1997) จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการประเมินกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Nascimento *et al.*, 2000) และบันทึกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน

### 3. การเตรียมกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยวานิลลิน

#### 3.1 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

3.1.1 นำหนักมาตรฐานของกระดาษ (ASTM D646-96 Reapproved 2001)

3.1.2 ความหนาของกระดาษ (ASTM D645-97 Reapproved 2002)

3.1.3 ปริมาณความชื้นในกระดาษ (ASTM D644-99 Reapproved 2002)

3.1.4 สี (ระบบ L\*a\*b\*)

#### 3.2 การเคลือบกระดาษ

##### 3.2.1 การเคลือบกระดาษด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

เตรียมสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20, 10, 5 และ 2.5 (โดยน้ำหนัก) โดยละลายวานิลลินในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นนำสารละลายปริมาณ 2 กรัม เทลงบนกระดาษแข็ง Duplex board ด้านหลัง (ด้านสีเทา) ที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.7 เซนติเมตร จากนั้นใช้แปรงขนาดหน้าตัด 6 เซนติเมตร ปาดสารละลายให้ทั่วแผ่นกระดาษในทิศทางเดียวกัน นำไปผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้องในแนวราบทิ้งไว้ 1 คืนจนแห้งสนิท จากนั้นนำไปเก็บไว้ในเดสซิเคเตอร์เพื่อควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษทางด้านจุลินทรีย์และสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นต่อไป

### 3.2.2 การเคลือบกระดาษด้วยสารละลายวานิลลินในโคโตะซาน

เตรียมสารละลายวานิลลินในโคโตะซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20, 10 และ 5 (โดยน้ำหนัก) โดยละลายวานิลลินในสารละลายโคโตะซานความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) นำสารละลายอุณหภูมิ  $83 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณ 2 กรัม เทลงบนกระดาษแข็ง Duplex board ด้านหลัง (ด้านสีเทา) ที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.7 เซนติเมตร จากนั้นใช้แปรงขนาดหน้าตัด 6 เซนติเมตร ปาดสารละลายให้ทั่วแผ่นกระดาษในทิศทางเดียวกันโดยพยายามไม่ให้เกิดการปาดซ้ำตำแหน่งเดิม จากนั้นนำไปผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้องในแนวราบทิ้งไว้ 1 คืนจนแห้งสนิท นำไปเก็บไว้ในเคสซิเคเตอร์เพื่อควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 สำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษทางด้านจุลินทรีย์และสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นต่อไป

## 4. การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์

### 4.1 วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น

ทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ตามวิธีการของ Sanla-Ead *et al.* (2006) โดยเทวุ้นปริมาณ 15 มิลลิลิตร รอให้วุ้นแข็งตัวใช้เทคนิค spread plate โดยนำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์จำนวน 50 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เกลี่ยให้จุลินทรีย์กระจายทั่วจานเพาะเชื้อ จากนั้นวางกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) เป็นเวลา 2 นาที ไว้ใต้ฝาของจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำมาประกบกับตัวจานเพาะเชื้อและปิดผนึกโดยรอบด้วยพาราฟิล์ม บ่มจานเพาะเชื้อในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นประเมินกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์โดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญเปรียบเทียบกับชุดควบคุมรายงานผลเป็นดัชนีการด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial index) คำนวณดัชนีการด้านจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบเมื่อทดสอบด้วยกระดาษควบคุมและกระดาษด้านจุลินทรีย์

จากสูตร

$$\text{Antimicrobial index} = \frac{\phi_C - \phi_M}{\phi_C}$$

เมื่อ

$\phi_c$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยกระดาษควบคุม

$\phi_m$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยกระดาษด้านจุลินทรีย์

#### 4.2 วิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

ทดสอบกระดาษด้านจุลินทรีย์ตามวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น จากนั้นทำการเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณต่าง ๆ ในจานเพาะเชื้อ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ จำนวน 5 ตำแหน่ง มาตำแหน่งละ 1 โคโลนี ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปิดตัวอย่างที่ผ่านการบ่มแล้วปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า คูลสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค spread plate จากนั้นประเมินกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์ โดยพิจารณาจากปริมาณจุลินทรีย์ (log cfu/mL) และรายงานผลเป็นร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์ (% reduction)

#### 5. ศึกษาสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษด้านจุลินทรีย์

5.1 น้ำหนักมาตรฐานของกระดาษ (ASTM D646-96 Reapproved 2001)

5.2 ความหนาของกระดาษ (ASTM D645-97 Reapproved 2002)

5.3 ปริมาณความชื้นในกระดาษ (ASTM D644-99 Reapproved 2002)

5.4 สี (ระบบ L\*a\*b\*)

5.5 น้ำหนักสารเคลือบ

#### 6. ศึกษาลักษณะผิวหน้าของกระดาษด้านจุลินทรีย์

นำตัวอย่างกระดาษ ได้แก่ กระดาษแข็ง Duplex Board (ตัวควบคุม) กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) และกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) มาเก็บไว้ในตู้ควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ  $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ  $65 \pm 2$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดตัวอย่างขนาด  $5 \times 5$  มิลลิเมตร นำไปเก็บในเคชิตเตอร์ที่มีสารดูดความชื้นเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออกจากตัวอย่าง จากนั้นนำไปตรวจลักษณะผิวหน้าของ

กระดาด้านจุลินทรีย์ด้วยกล่องจุลทรรศน์อิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด (PHILIP XL30, Finland) ด้วยกำลังขยาย 500 เท่า

## 7. ศึกษาการประยุกต์ใช้กระดาด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ

### 7.1 การศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของเค้กม้วนและกายภาพของกล่องกระดาดแข็ง

ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพของกล่องกระดาด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายที่ผ่านการวิเคราะห์แล้วว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์และมีสมบัติเหมาะสมในการผลิตกล่องในการบรรจุผลิตภัณฑ์เค้กม้วน มาผลิตเป็นกล่องทรงลูกบาศก์ ขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 6 x 6 x 6 เซนติเมตร หรือมีปริมาตรเท่ากับ 216 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นทำการมาเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) เป็นเวลา 10 นาที และใช้ในการบรรจุเค้กม้วนระหว่างการทดลองโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 และ 7 และที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 เพื่อนำมาการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของเค้กม้วน และสมบัติทางกายภาพของกล่องกระดาดแข็งระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งได้แก่

#### 7.1.1 ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค้กม้วน

#### 7.1.2 ความชื้นของกล่องกระดาด

### 7.2 การศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

นำตัวอย่างเค้กม้วนที่สุ่มมาระหว่างการทดลอง ตามวิธีเดียวกับข้อ 7.1 มาเพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่

#### 7.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

#### 7.2.2 จำนวนยีสต์และรา

#### 7.2.3 จำนวน *Bacillus cereus*

#### 7.2.4 จำนวน *Staphylococcus aureus*

### 7.3 ศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ทำการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาโดยอาศัยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 15 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9 point hedonic scale) เพื่อประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เค้กที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับกล่องกระดาษธรรมดาว่าเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคหรือไม่ โดยให้ผู้ทดสอบพิจารณาจากความชอบหรือการยอมรับโดยรวม เพื่อพิจารณาผลของกระดาษด้านจุลินทรีย์ว่าที่มีต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสซึ่งจะส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

### 8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และหากค่าที่ได้จากการทดลองมีความแตกต่าง ทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 15.0 for Windows

### 9. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

### 10. ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2551 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2552

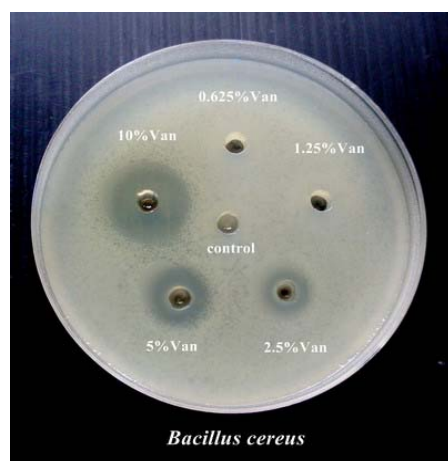
## ผลและวิจารณ์

### 1. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของวานิลลินในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์

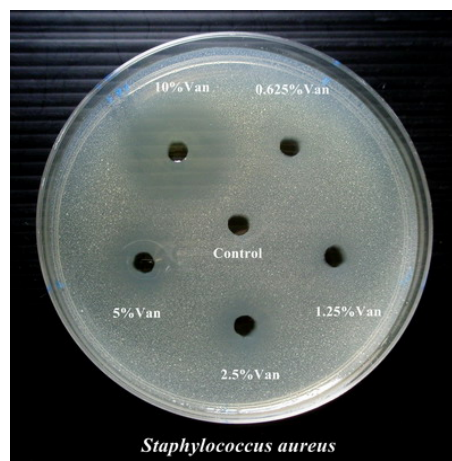
การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของวานิลลินและความเข้มข้นต่ำที่สุดหรือค่า MICs ของวานิลลินที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยอาศัยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ หรือ Dimethylsulfoxide (DMSO) เป็นสารช่วยในการละลาย โดยค่า MICs วัดได้จากความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลินที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยแสดงบริเวณด้านขนาด 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (หลุมเจาะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ผลการทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลิน พบว่าวานิลลินสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ แกรมลบได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 7 และมีค่า MICs เท่ากับร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) แสดงดังตารางที่ 7 เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของวานิลลิน พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยขนาดของบริเวณด้านจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นของวานิลลินเพิ่มมากขึ้น

วานิลลินเป็นสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบหลักในฝักวานิลลา เป็นสารประกอบฟีนอลิก ที่มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ เชื้อรา และแบคทีเรีย มีรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติของวานิลลินในการต้านการเจริญของ ยีสต์ และเชื้อราจำนวนมาก เมื่อเทียบกับรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการต้านการเจริญของแบคทีเรียซึ่งยังมีจำนวนจำกัด (Rupasinghe *et al.*, 2006) วานิลลินมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ หรือละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำ (1 กรัมต่อ 100 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) จึงมีความจำเป็นที่จะต้องอาศัยตัวช่วยในการละลาย โดยนำ DMSO มาใช้เป็นตัวทำละลายเพื่อเพิ่มการละลายของวานิลลินในการทดสอบ ซึ่งความเข้มข้นของ DMSO ที่ใช้ในการทดลองกำหนดให้มีความเข้มข้นไม่เกิน 30 ไมโครลิตรต่อ มิลลิลิตร เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษา (Hili *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตามพบว่ามีรายงานการวิจัยอื่น ๆ ที่ใช้ DMSO ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันไปจากการทดลองนี้ เช่น 10% DMSO (Kotan *et al.*, 2007) 50% DMSO (Okeke *et al.*, 2001) และ 75% (v/v) DMSO (Tippayatum and Chonhenchob, 2007) DMSO เป็นตัวทำละลายที่ดี ากนิยมนำใช้ในการแช่แข็งเซลล์และเพาะเลี้ยงเชื้อ แต่ปัญหาที่เกิดจากการใช้ตัวทำละลายอื่นที่ไม่ใช่

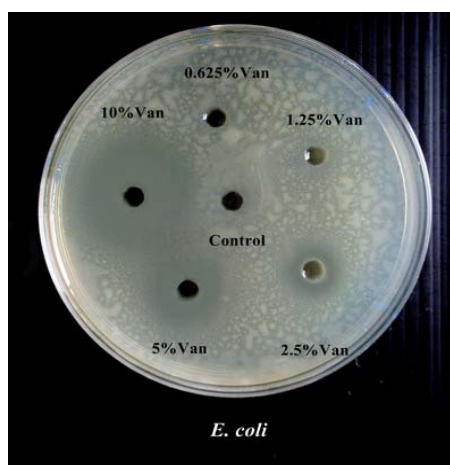
น้ำ คือ สารละลายเหล่านี้จะมีผลต่อการตอบสนองของจุลินทรีย์ ซึ่งมีการรายงานว่าสารเหล่านี้จะช่วยให้การซึมผ่านของสารทดสอบไปยังผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย (Kim *et al.*, 1995; Hammer *et al.*, 1999)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 7 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของวานิลลินในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) *Bacillus cereus*

(ข) *Staphylococcus aureus* (ค) *Escherichia coli*

Rammal *et al.* (1993) กล่าวว่าการใช้สารเพิ่มการละลายเหล่านี้อาจทำให้ความสามารถในการแสดงประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่ำกว่าความเป็นจริง เพื่อที่จะให้ทราบค่า MICs ที่แท้จริงของวานิลลินในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์นั้นจะต้องเลือกวิธีในการทดสอบที่เหมาะสม เนื่องจากวานิลลินมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำทำให้ควบคุมการแพร่และละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ยาก ซึ่งทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้วิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น (Chung *et al.*, 1990) ในการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ต้านจุลินทรีย์

จากตารางที่ 7 พบว่าวานิลลินมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบมีองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์ที่แตกต่างกันอย่างมาก โดยชั้นของเปปติโดไกลแคนในแบคทีเรียแกรมลบบางกว่าของแบคทีเรียแกรมบวกมาก (ประมาณ 1 ใน 10) และมีพันธะเปปไทด์ที่เชื่อมระหว่างเส้นเปปติโดไกลแคนน้อยกว่า และไม่มีพันธะของ teichoic acid ที่เพิ่มความแข็งแรง ดังนั้นผนังเซลล์ของพวกแกรมลบจึงแข็งแรงน้อยกว่าแกรมบวกมาก ชั้นนอกของโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบที่ติดกับเปปติโดไกลแคน คือชั้นของไลโปโปรตีน (lipoprotein) ฟอสโฟไลปิด (phospholipid) และสารพอลิเมอร์คือ ไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งพบเฉพาะในผนังเซลล์ของแกรมลบเท่านั้น ชั้นนอกสุดของผนังเซลล์ (outer envelope หรือ outer membrane) ทำหน้าที่ป้องกันสารเคมีที่เป็นพิษเข้าสู่ภายในเซลล์ (ธีรพงษ์, 2546) ซึ่งการที่วานิลลินมีคุณสมบัติที่ไม่มีข้อสังเกตให้สามารถแพร่หรือละลายเข้าไปสู่ผนังเซลล์ด้านนอกของแบคทีเรียแกรมลบซึ่งเป็นชั้นขององค์ประกอบไขมัน ได้แก่ ไลโปโปรตีนฟอสโฟไลปิด และไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ ส่งผลให้เซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบเสียสมดุลในการป้องกันสารเคมีที่เป็นพิษเข้าสู่ภายในเซลล์

Mourtzinis *et al.* (2009) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติของวานิลลินและวานิลลิกแอซิดในการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ด้วยการดัดแปลงวิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น พบว่าวานิลลินและวานิลลิกแอซิดมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *B. cereus* ในทิศทางเดียวกัน คือ มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้านอยู่ในช่วง 5-7 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งได้แก่ *B. cereus* และ *S. aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้านอยู่ในช่วง 3-5 มิลลิเมตร และ 1-3 มิลลิเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับ Rodriguez-Vaquero *et al.* (2007) ซึ่งศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลิกในไวน์หลายชนิด และ

พบว่าวานิลลิกแอซิดซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งในไวนน์มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *E. coli* แต่ไม่สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* ได้

กลไกในการต้านการเจริญของแบคทีเรียของวานิลลินยังไม่ชัดเจนมากนัก แต่เนื่องจากวานิลลินมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับยูจีนอล (eugenol) ซึ่งเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่พบในกานพลู และเบนโซอิกแอซิด (benzoic acid) ซึ่งเป็นสารกันบูดทางการค้าที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยวานิลลินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ประเภทแบคทีริโอสแตติก (bacteriostatic) ซึ่งมีคุณสมบัติแตกต่างไปจากสารต้านจุลินทรีย์ประเภทสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ เช่น คาวาครอล (carvacrol) และไทมอล (thymol) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ประเภทแบคทีริซิดอล (bactericidal) (Fitzgerald *et al.*, 2004a; Ultee *et al.*, 2002) โดยวานิลลินจะแพร่ผ่านและเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการสูญเสียสมดุลของไอออนของสารภายในเซลล์ ยับยั้งกระบวนการหายใจของเซลล์ ทำให้ของเหลวภายในเซลล์รั่วไหล จากกลไกต่าง ๆ ทำให้สามารถต้านการเจริญ หรือทำลายจุลินทรีย์ได้ (Fitzgerald *et al.*, 2004a) โดยกลไกและระดับความรุนแรงในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในวานิลลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสารประกอบฟีนอลิกจะส่งผลกระทบต่อเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ให้พลังงานแก่เซลล์ของจุลินทรีย์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของฟีนอลิกสูงจะทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนของเซลล์จุลินทรีย์ (Prindle and Wright, 1977)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติของวานิลลินในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์มากมาย ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่า MICs ของแต่ละงานวิจัย พบว่ามีความหลากหลายและยากที่จะนำมาเปรียบเทียบกันได้ ทั้งนี้เนื่องจากหลายปัจจัยมีผลต่อประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของวานิลลิน เช่น แหล่งที่มาของวานิลลินซึ่งมีความหลากหลายมาก ทั้งที่ได้จากการสังเคราะห์ และจากธรรมชาติ ซึ่งมีความหลากหลายทั้งสายพันธุ์ แหล่งเพาะปลูก และฤดูเก็บเกี่ยว รวมทั้งกระบวนการและสภาวะในการสกัด หรือผลิตวานิลลินสำหรับการสกัดน้ำมันหอมระเหยในอุตสาหกรรม พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนให้ผลในการต้านจุลินทรีย์ได้มากกว่าการสกัดด้วยน้ำ นอกจากนั้นอาจเกี่ยวข้องกับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ทดสอบ แหล่งที่มาและปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในการทดสอบ รวมทั้งวิธีการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน (Gill *et al.*, 2002; Friedman *et al.*, 2003; Mourtzinis *et al.*, 2009)

ตารางที่ 7 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของวานิลลิน

| จุลินทรีย์       | ความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในไดเมทิลซัลโฟลไซด์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก) |                       |                               |          |                               |          |                               |          |
|------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|----------|-------------------------------|----------|-------------------------------|----------|
|                  | 10                                                                   |                       | 5                             |          | 2.5                           |          | 1.25                          |          |
|                  | ขนาดบริเวณด้าน <sup>1</sup><br>(มิลลิเมตร)                           | ค่าดัชนี <sup>2</sup> | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี |
| แบคทีเรียแกรมบวก |                                                                      |                       |                               |          |                               |          |                               |          |
| <i>B. cereus</i> | 14.65±0.84 <sup>bC</sup>                                             | 1.93                  | 8.96±0.63 <sup>aB</sup>       | 0.79     | 7.51±0.51 <sup>aA</sup>       | 0.50     | -                             | -        |
| <i>S. aureus</i> | 14.60±0.87 <sup>aC</sup>                                             | 1.92                  | 10.53±0.67 <sup>bB</sup>      | 1.11     | 7.92±0.43 <sup>bA</sup>       | 0.58     | -                             | -        |
| แบคทีเรียแกรมลบ  |                                                                      |                       |                               |          |                               |          |                               |          |
| <i>E. coli</i>   | 15.98±0.91 <sup>cC</sup>                                             | 2.19                  | 10.95±0.77 <sup>cB</sup>      | 1.20     | 8.74±0.94 <sup>cA</sup>       | 0.75     | -                             | -        |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>ค่าดัชนีการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์

<sup>A-C</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

<sup>a-c</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

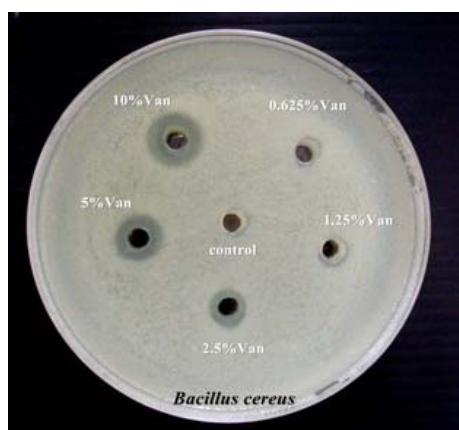
## 2. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารเคลือบผสมวานิลลินและความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์

### 2.1 สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

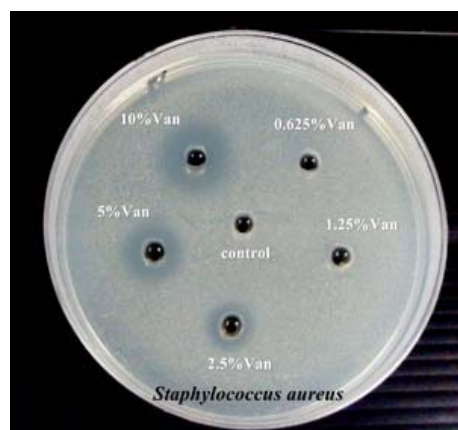
การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์และความเข้มข้นต่ำที่สุด หรือค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยใช้วิธีการทดสอบเดียวกับการทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคเมทิลซัลฟอกไซด์และความเข้มข้นต่ำที่สุด ผลการทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์พบว่าสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ในทิศทางเดียวกับวานิลลินที่ใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย แสดงดังภาพที่ 8 คือ มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์แกรมลบได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ตามลำดับ โดยมีค่า MICs เท่ากับร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) แสดงดังตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยขนาดของบริเวณด้านจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีค่าดัชนีการต้านการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์เพิ่มมากขึ้น

วานิลลินมีลักษณะทางกายภาพเป็นผลึกรูปทรงเข็ม สีขาวหรือเหลืองอ่อน และต้องอาศัย DMSO เป็นสารช่วยในการละลาย ซึ่ง DMSO เป็นสารที่ไม่ควรสัมผัสกับอาหารโดยตรง เนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นในการพัฒนากระดาษต้านจุลินทรีย์จากวานิลลินจะต้องมีการศึกษาการเตรียมสารเคลือบจากวานิลลินที่มีความเหมาะสมและปลอดภัยต่อผู้บริโภค สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์เป็นสารเคลือบที่ได้จากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย เอทิลแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติที่ดีในการละลายน้ำมันหอมระเหย รวมทั้งสารให้กลิ่นรส (anonymous, 2009c) เอทิลแอลกอฮอล์สามารถละลายวานิลลินได้ดี สังเกตได้จากสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีสารแขวนลอยหรือตะกอนของวานิลลินเกิดขึ้น นอกจากนี้ขั้นตอนการเตรียมสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ยังไม่ซับซ้อน ไม่ต้องอาศัยความร้อนจึงเป็นการช่วยลดต้นทุนทางด้านพลังงาน จึงเป็นโอกาสที่ดีที่จะผลิตในเชิงอุตสาหกรรมได้ ประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลิน

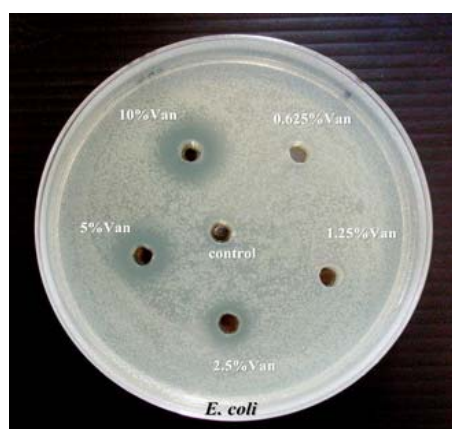
ในแอลกอฮอล์ พบว่าเป็นผลมาจากวานิลลินโดยตรงเนื่องจากในการทดลองพบว่าเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบไม่แสดงผลในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ แสดงดังภาพที่ 8



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 8 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ก) *Bacillus cereus* (ข) *Staphylococcus aureus* (ค) *Escherichia coli*

เอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดี และมีคุณสมบัติในการฆ่าจุลินทรีย์ และนิยมใช้กับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ต้องการให้อยู่ในสภาวะปลอดเชื้อ เอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ได้ดี ซึ่งผลิตภัณฑ์ขนมอบที่เน่าเสียได้ง่ายจากยีสต์ เช่น โดนัทยีสต์ แอปเปิลเทอร์น โอเวอร์ เค้กวานิลลา และเค้กครีมต่าง ๆ เป็นต้น ที่ไม่สามารถใช้การบรรจุภายใต้สภาพไร้ออกซิเจนหรือมีคาร์บอนไดออกไซด์สูง ๆ ในการยืดอายุการเก็บได้ การฉีดพ่นเอทานอลโดยตรงไม่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการให้ความร้อนก่อนบริโภค จึงมีผู้ผลิตวัตถุดิบเอทานอล มาให้กับผลิตภัณฑ์ขนมอบ ตัวอย่างเช่น Ethicap ผลิตโดยบริษัท Freund Industry Co., Ltd ประเทศญี่ปุ่น ประกอบด้วยผงซิลิกาไดออกไซด์ (Silica dioxide) ที่มีโครงสร้างเป็นรูพรุนและมีเอทานอลร้อยละ 95 แทรกอยู่ในรูพรุนนี้ บรรจุในซองกระดาษเคลือบ EVA น้ำหนักบรรจุ 1-7 กรัมต่อซอง เมื่อได้รับความชื้นจากอาหาร เอทานอลจะระเหยเป็นไอออกมา ทำให้สภาพในภาชนะบรรจุไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งรวมถึงยีสต์ด้วย (งามทิพย์, 2550) จากการทดลองนี้พบว่าเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งเป็นตัวควบคุมไม่แสดงผลในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของเอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทดสอบมีปริมาณเพียง 40 ไมโครลิตร ซึ่งมีปริมาณไม่มากพอที่จะแสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นผลการทดลองที่ได้เป็นผลจากประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของวานิลลินเพียงอย่างเดียว โดยเอทานอลจะทำหน้าที่เป็นเพียงตัวทำละลายเท่านั้น แสดงดังภาพที่ 8

เมื่อพิจารณาผลการทดลองสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์เปรียบเทียบกับสารละลายวานิลลินที่อาศัย DMSO เป็นตัวทำละลาย พบว่าให้ผลในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบในทิศทางเดียวกัน คือ สามารถด้านการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *S. aureus* และ *B. cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกตามลำดับ โดยกลไกและประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบสามารถอธิบายได้เช่นเดียวกับกลไกในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยวานิลลินที่อาศัย DMSO เป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 8 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

| จุลินทรีย์       | ความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก) |                       |                          |          |                         |          |                |          |
|------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|----------|-------------------------|----------|----------------|----------|
|                  | 10                                                           |                       | 5                        |          | 2.5                     |          | 1.25           |          |
|                  | ขนาดบริเวณด้าน <sup>1</sup>                                  | ค่าดัชนี <sup>2</sup> | ขนาดบริเวณด้าน           | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน          | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน | ค่าดัชนี |
|                  | (มิลลิเมตร)                                                  |                       | (มิลลิเมตร)              |          | (มิลลิเมตร)             |          | (มิลลิเมตร)    |          |
| แบคทีเรียแกรมบวก |                                                              |                       |                          |          |                         |          |                |          |
| <i>B. cereus</i> | 14.65±0.84 <sup>bC</sup>                                     | 1.49                  | 9.44±0.47 <sup>aB</sup>  | 0.89     | 7.74±0.12 <sup>aA</sup> | 0.55     | -              | -        |
| <i>S. aureus</i> | 15.44±0.07 <sup>bC</sup>                                     | 2.09                  | 10.80±0.49 <sup>bB</sup> | 1.16     | 7.99±0.32 <sup>bA</sup> | 0.60     | -              | -        |
| แบคทีเรียแกรมลบ  |                                                              |                       |                          |          |                         |          |                |          |
| <i>E. coli</i>   | 16.30±0.83 <sup>cC</sup>                                     | 2.26                  | 12.51±0.98 <sup>cB</sup> | 1.15     | 8.18±0.57 <sup>cA</sup> | 0.64     | -              | -        |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>ค่าดัชนีการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์

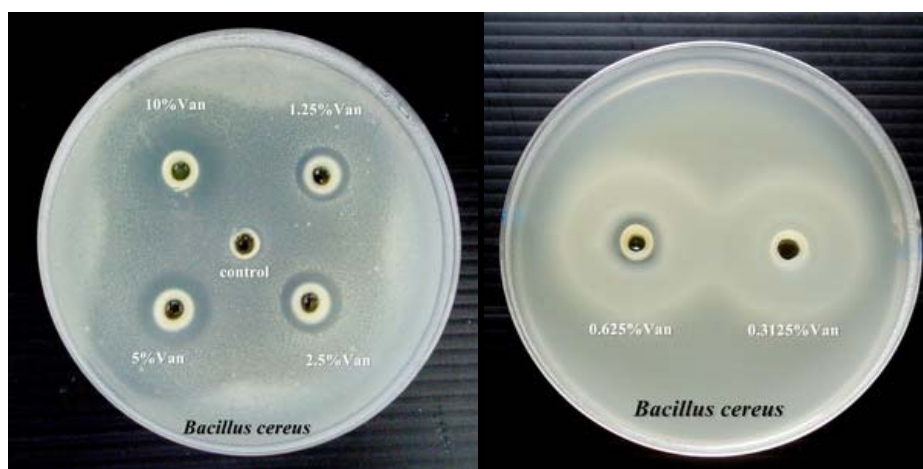
<sup>A-C</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

<sup>a-c</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

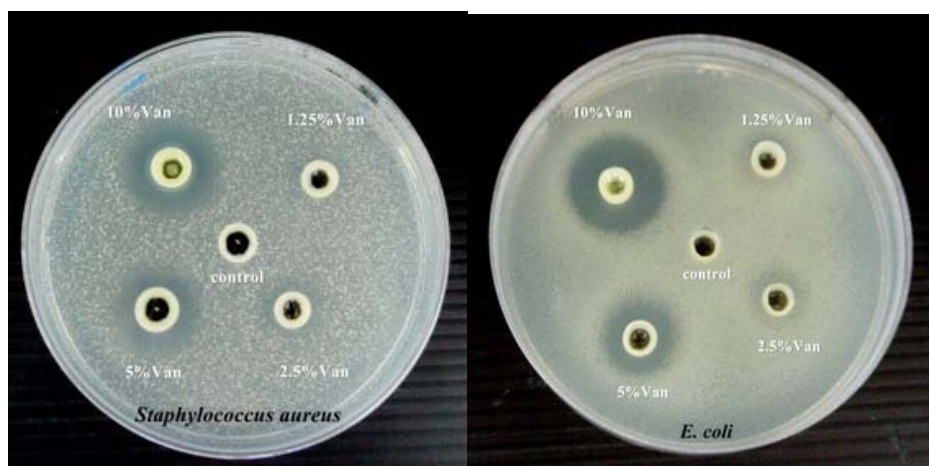
## 2.2 สารละลายวานิลลินในไคโตซาน

การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซานและความเข้มข้นต่ำที่สุดหรือค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบโดยใช้วิธีการแพร่ผ่านในหลุมวุ้น ผลการทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน พบว่าสารละลายวานิลลินในไคโตซานสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ แต่ให้ผลการทดสอบที่แตกต่างไปจากผลการทดสอบของวานิลลินและสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ คือ สารละลายวานิลลินในไคโตซานมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.625 (โดยน้ำหนัก) รองลงมาเป็น *Escherichia coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์แกรมลบ และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก โดยมีค่า MICs เท่ากัน คือ ร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) แสดงดังตารางที่ 9 และเมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยขนาดของบริเวณด้านจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีค่าดัชนีการต้านการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในไคโตซานเพิ่มมากขึ้น

ไคโตซานเป็นสารที่ละลายได้ในสารละลายกรดเจือจาง แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ ในขณะที่วานิลลินเป็นสารที่ละลายได้ยาก ต้องอาศัยตัวช่วยละลาย เช่น DMSO และแอลกอฮอล์ ดังนั้นในการเตรียมสารละลายวานิลลินในไคโตซานจึงมีขั้นตอนในการเตรียมสารเคลือบที่ซับซ้อนและต้องอาศัยความร้อนช่วยในการละลาย ลักษณะของสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่เตรียมได้มีลักษณะข้นคล้ายนม และมีสีเหลืองอ่อน ๆ สารเคลือบที่ได้ไม่สามารถละลายเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะเป็นสารคอลลอยด์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่มีระดับความเข้มข้นของวานิลลินสูง (มากกว่าร้อยละ 5) จะเกิดการตกตะกอน หรือตกผลึกรูปทรงเข็มเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือเมื่ออุณหภูมิลดลง ดังนั้นระดับความเข้มข้นของวานิลลินจึงเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการเตรียมสารละลายวานิลลินในไคโตซาน



(ก)



(ข)

(ค)

ภาพที่ 9 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารละลายวานิลลินในไคโตซานในการต้านการเจริญของ จุลินทรีย์ (ก) *Bacillus cereus* (ข) *Staphylococcus aureus* (ค) *Escherichia coli*

ไคโตซานเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้เองตามธรรมชาติ (inherently antimicrobial) (Goldberg *et al.*, 1990) โดยฟิล์มที่ได้จากไคโตซานจะมีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Chen *et al.*, 1996; Caner *et al.*, 1998; Despond *et al.*, 2004) ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย (Begin and Calsteren, 1999) ไคโตซานจะแสดงประจุบวก (cationic polyelectrolyte) ในสารละลายกรดเจือจาง เนื่องจากหมู่อะมิโนอิสระ ( $-NH_2$ ) ที่คาร์บอนตำแหน่ง

ที่ 2 ถูกโปรโตเนต ส่งผลให้ไคโตซานสามารถละลายได้ดีในสารละลายกรดเจือจาง (Wang *et al.*, 2007a) และจากคุณสมบัติในการก่อตัวเป็นเจลในลักษณะโครงสร้างร่างแห ทำให้ไคโตซานสามารถกักเก็บสารสำคัญที่จะพาไว้ภายในโครงสร้างร่างแหได้ (พิสิฐ, 2544) ไคโตซานจึงเป็นสารที่ได้รับความสนใจมากในการใช้เป็นตัวพาและสารควบคุมการปลดปล่อยในอุตสาหกรรมยา (Wang *et al.*, 2007b) เครื่องสำอาง (Kim *et al.*, 2006) และอาหาร (Deladino *et al.*, 2008) ในอุตสาหกรรมกระดาษนิยมใช้ไคโตซานเป็นสารเติมแต่งในกระบวนการผลิตกระดาษ ไคโตซานสามารถใช้เป็น dry strength agent สำหรับกระบวนการผลิตกระดาษจากเยื่อเยื่อคาลิปตัด การประยุกต์ในการผลิตกระดาษที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานจะมีความแข็งแรงมากขึ้น (Lertsutthiwong *et al.*, 2002) และเมื่อผ่านการพิมพ์ด้วยระบบ anionic printing จะมีผลทำให้ได้งานพิมพ์ที่มีความคมชัด (Hirano, 1996)

ไคโตซานมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากไคโตซานมีประจุบวกสามารถจับกับเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารสำคัญของเซลล์ ในอุตสาหกรรมอาหารหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคตินและไคโตซานให้เป็นสารที่ใช่เติมในอาหารได้ โดยนำไปใช้เป็นสารกักตุน สารช่วยรักษากลิ่นรส และสารให้ความข้น ใช้เป็นสารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้ เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) สำหรับบรรจุอาหาร (anonymous, 2009d) จากคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของไคโตซานและวานิลลิน ดังนั้นการใช้ไคโตซานร่วมกับวานิลลินในลักษณะของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน จึงคาดว่าจะเป็นการช่วยเสริมประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิด

จากผลการทดลองพบว่า โดยภาพรวมการใช้ไคโตซานร่วมกับวานิลลินกลับมีประสิทธิภาพด้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์และวานิลลินเพียงอย่างเดียว โดยสารละลายไคโตซานที่ใช้เป็นตัวควบคุมในการทดลองมีความเข้มข้นเพียงร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) จึงไม่แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด แสดงดังภาพที่ 9 ซึ่งสอดคล้องกับ Pranoto *et al.* (2005) ซึ่งศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มไคโตซานที่มีการผสมน้ำมันกระเทียม โปแตสเซียมซอร์เบต และไนซิน พบว่าฟิล์มดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *L. monocytogenes* และ *Bacillus cereus* ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานที่ไม่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าว ลักษณะโครงสร้างของไคโตซานอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน เนื่องจากไคโตซานเป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติ ที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ (No *et al.*, 2003) จึงเก็บกัก

วานิลลินไว้ในโครงสร้างและค่อย ๆ ปลดปล่อยออกมา ดังนั้นปริมาณของวานิลลินที่ถูกปลดปล่อยออกมาระหว่างทำการทดลองอาจมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณที่แท้จริง ทำให้ประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ในการทดลองได้น้อยลง โดยค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในไคโตซานในการต้านการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งสูงกว่าค่า MICs ของวานิลลินและสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ คือ ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (No *et al.*, 2002; Pranoto *et al.*, 2005; Dyahningtyas and Bisping, 2008; Hosseini *et al.*, 2008) ในขณะที่วานิลลินมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้เกิดการเสริมประสิทธิภาพซึ่งกันและกันระหว่างสารต้านจุลินทรีย์ 2 ชนิด อย่างไรก็ตามการผสมกันระหว่างสารทั้ง 2 ชนิด อาจทำให้ประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ลดลงได้ อันเนื่องมาจากข้อจำกัดด้านโครงสร้างภายหลังการผสมที่อาจทำให้การปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ลดลง

เมื่อพิจารณาค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในไคโตซานในการต้านการเจริญของ *B. cereus* มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 0.625 (โดยน้ำหนัก) และมีค่าน้อยกว่า MICs ของ *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งเท่ากับร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) เป็นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจาก *B. cereus* สามารถผลิตเอนไซม์ไคโตซานเนส (chitosanase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายไคโตซานให้กลายเป็นไคโตซานโอลิโกแซ็กคาไรด์ (chitosan oligosaccharides) (Wangtueai *et al.*, 2006) โดยไคโตซานโอลิโกแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (Price and Storck, 1975; Tominaga and Tsujisaka, 1975; Somashekar and Joseph, 1996) จึงเป็นการช่วยเสริมประสิทธิภาพของสารละลายวานิลลินในไคโตซานในการต้านการเจริญของ *B. cereus* ดังนั้นสารละลายวานิลลินในไคโตซานจึงมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *B. cereus* ได้ดีกว่า *E. coli* และ *S. aureus*

การหาค่า MICs มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการพิจารณาและกำหนดความเข้มข้นของสารเคลือบวานิลลินที่ใช้ในการผลิตกระดาษต้านจุลินทรีย์ ซึ่งโดยทั่วไปสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในวัสดุทางการบรรจุภัณฑ์จะมีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.1-5 (โดยน้ำหนัก) (Appendini and Hotchkiss, 2002)

ตารางที่ 9 กิจกรรมการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน

| จุลินทรีย์       | ความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) |                       |                               |          |                               |          |
|------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|----------|-------------------------------|----------|
|                  | 10                                                         |                       | 5                             |          | 2.5                           |          |
|                  | ขนาดบริเวณด้าน <sup>1</sup><br>(มิลลิเมตร)                 | ค่าดัชนี <sup>2</sup> | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี |
| แบคทีเรียแกรมบวก |                                                            |                       |                               |          |                               |          |
| <i>B. cereus</i> | 19.51±0.71 <sup>bE</sup>                                   | 2.90                  | 15.41±0.72 <sup>cD</sup>      | 2.08     | 14.39±0.72 <sup>C</sup>       | 1.88     |
| <i>S. aureus</i> | 15.32±0.46 <sup>aB</sup>                                   | 2.06                  | 11.23±0.35 <sup>aA</sup>      | 1.25     | -                             | -        |
| แบคทีเรียแกรมลบ  |                                                            |                       |                               |          |                               |          |
| <i>E. coli</i>   | 20.65±0.69 <sup>cB</sup>                                   | 3.13                  | 14.69±0.50 <sup>bA</sup>      | 1.94     | -                             | -        |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>ค่าดัชนีการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์

<sup>A-C</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

<sup>a-c</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 9 (ต่อ)

| จุลินทรีย์       | ความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในไคโตซาน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) |                       |                               |          |                               |          |
|------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|----------|-------------------------------|----------|
|                  | 1.25                                                       |                       | 0.625                         |          | 0.3125                        |          |
|                  | ขนาดบริเวณด้าน <sup>1</sup><br>(มิลลิเมตร)                 | ค่าดัชนี <sup>2</sup> | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี | ขนาดบริเวณด้าน<br>(มิลลิเมตร) | ค่าดัชนี |
| แบคทีเรียแกรมบวก |                                                            |                       |                               |          |                               |          |
| <i>B. cereus</i> | 12.84±0.43 <sup>B</sup>                                    | 1.57                  | 11.87±0.46 <sup>A</sup>       | 0.46     | -                             | -        |
| <i>S. aureus</i> | -                                                          | -                     | -                             | -        | -                             | -        |
| แบคทีเรียแกรมลบ  |                                                            |                       |                               |          |                               |          |
| <i>E. coli</i>   | -                                                          | -                     | -                             | -        | -                             | -        |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์ จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>ค่าดัชนีการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหลุมวุ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่พบบริเวณด้านการเจริญของจุลินทรีย์

<sup>A-C</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

<sup>a-c</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 8 และ 9 เมื่อพิจารณาค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ และ สารละลายวานิลลินในไคโตซาน พบว่ามีค่า MICs ในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบอยู่ ระหว่างความเข้มข้น 0.625-5 (โดยน้ำหนัก) ดังนั้นในการผลิตกระดาศด้านจุลินทรีย์จึงสามารถใช้ สารละลายวานิลลินแอลกอฮอล์ หรือสารละลายวานิลลินในไคโตซานในช่วงความเข้มข้นที่ได้จากการ หาค่า MICs หรือที่ความเข้มข้นที่มากกว่าค่า MICs ได้ แต่ในการกำหนดความเข้มข้นของสาร เคลือบและชนิดของสารเคลือบที่เหมาะสมจะต้องคำนึงถึงสมบัติในการด้านจุลินทรีย์และการ ยอมรับของผู้บริโภคประกอบด้วย เช่น คุณสมบัติในการด้านจุลินทรีย์ของกระดาศด้านจุลินทรีย์ เมื่อนำไปใช้จริงในการบรรจุอาหาร ซึ่งอาจจะให้ผลที่แตกต่างจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เนื่องจากอาหารมีองค์ประกอบ คุณสมบัติทางกายภาพ และการเจริญของจุลินทรีย์ที่ หลากหลายเมื่อเปรียบเทียบกับในหลอดทดลอง สอดคล้องกับ Shelef (1983) ซึ่งรายงานว่าระดับ ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารจริง และในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าแตกต่างกัน โดยความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในอาหารจริงมี ค่ามากจนเป็นที่น่าสังเกต คือ ประมาณ 10 เท่า หรือมากกว่าเมื่อเทียบกับในอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงการนำกระดาศด้านจุลินทรีย์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์ เช่น การจัด จำหน่ายและเก็บรักษา รวมถึงกระบวนการที่ใช้ในการผลิตกระดาศด้านจุลินทรีย์ เนื่องจากอาจ ส่งผลต่อปริมาณสารด้านจุลินทรีย์ได้ ในการผลิตกระดาศด้านจุลินทรีย์จะต้องคำนึงถึงปริมาณสาร ด้านจุลินทรีย์ซึ่งอาจจะสูญเสียระหว่างกระบวนการผลิต การจัดจำหน่ายและการเก็บรักษา ดังนั้นใน การพิจารณาความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์จำเป็นต้องอาศัยหลาย ๆ ปัจจัยประกอบกัน เพื่อให้ กระดาศด้านจุลินทรีย์ที่ผลิตได้มีสมบัติในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มากที่สุด นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์ที่ใช้จะต้องมีปริมาณที่ไม่ส่งผลต่อกลิ่นรส หรือรสชาติของอาหาร และไม่มีผลต่อสมบัติของกระดาศ เป็นต้น

เมื่อพิจารณากิจกรรมการด้านจุลินทรีย์และค่า MICs ของสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน พบว่าสารเคลือบทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพใน การด้านจุลินทรีย์ทดสอบและมีค่า MICs แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยสารละลาย วานิลลินในแอลกอฮอล์มีค่า MICs ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน มีค่า MICs อยู่ระหว่างร้อยละ 0.625-5 (โดยน้ำหนัก) ดังนั้นในการผลิตกระดาศด้านจุลินทรีย์จึง เลือกสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5-20 (โดยน้ำหนัก) และ สารละลายวานิลลินใน ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5-20 (โดยน้ำหนัก) เนื่องจากเป็น ระดับความเข้มข้นที่สามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ และที่ระดับความ เข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) เป็นระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการผลิตกระดาศด้านจุลินทรีย์

ทั้งนี้เนื่องจากกระดาษด้านจูลินทรีย์ที่ผลิตจะใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารจริง ดังนั้นจึงต้องเพิ่มระดับความเข้มข้นของวานิลลินให้สูงกว่าการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ ประมาณ 10 เท่า เพื่อนำมาศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษด้านจูลินทรีย์ต่อการด้าน จูลินทรีย์ในการทดลองต่อไป

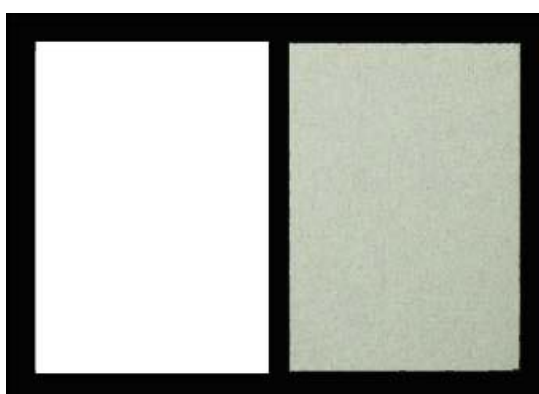
### 3. การเตรียมกระดาษด้านจูลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผสมวานิลลิน

#### 3.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

การเตรียมกระดาษด้านจูลินทรีย์ ใช้กระดาษแข็ง Duplex Board เป็นวัตถุดิบซึ่งมีลักษณะปรากฏ แสดงดังภาพที่ 10 คือ ด้านหน้าของกระดาษมีสีขาว มันวาว ผิวเรียบ เนื่องจากเป็นด้านที่ผ่านการเคลือบจากโรงงานผลิตมาก่อน ส่วนกระดาษด้านหลัง มีสีเทา ไม่มีความมันวาว ลักษณะผิวหยาบ เนื่องจากเป็นด้านที่ไม่ผ่านการเคลือบ ผลการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษแข็ง Duplex Board ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ แสดงดังตารางที่ 10

#### 3.2 การเคลือบกระดาษ

เนื่องจากการเตรียมกระดาษด้านจูลินทรีย์ จะต้องคำนึงถึงหลาย ๆ ปัจจัยร่วมกัน ทั้งคุณสมบัติในการด้านจูลินทรีย์ สมบัติทางกายภาพ และลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจูลินทรีย์ที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นในการกำหนดความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ในการผลิตกระดาษด้านจูลินทรีย์ จึงต้องพิจารณาจากปัจจัยดังกล่าวร่วมกัน



(ก) ด้านหน้า (ข) ด้านหลัง

ภาพที่ 10 ลักษณะปรากฏของกระดาษแข็ง Duplex Board (ก) ด้านหน้า และ (ข) ด้านหลัง

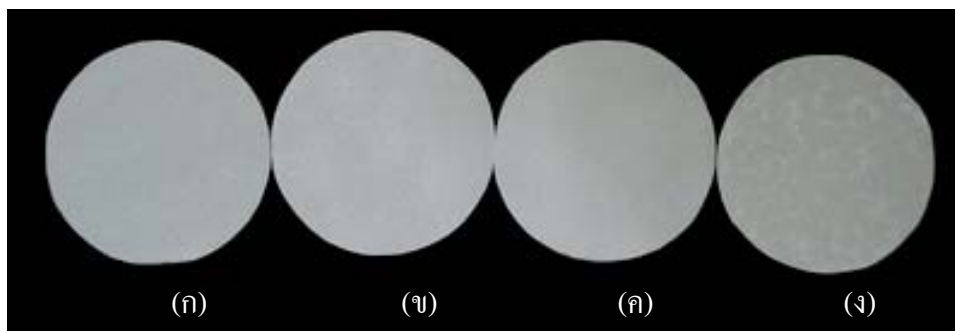
ตารางที่ 10 สมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษแข็ง Duplex Board

| สมบัติทางกายภาพ                   | ค่าทดสอบ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1</sup> |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| น้ำหนักมาตรฐาน (กรัมต่อตารางเมตร) | 294.75 $\pm$ 1.89                               |
| ความหนา (มิลลิเมตร)               | 0.35 $\pm$ 0.02                                 |
| ความชื้น (ร้อยละ)                 | 7.54 $\pm$ 0.34                                 |
| ค่า L*                            | 71.29 $\pm$ 0.14                                |
| ค่า a*                            | -0.13 $\pm$ 0.02                                |
| ค่า b*                            | 3.82 $\pm$ 0.10                                 |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

### 3.2.1 การเคลือบกระดาษด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

จากการทดลองเบื้องต้นเพื่อกำหนดความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการเตรียมกระดาษด้านจุลินทรีย์ โดยการเคลือบกระดาษแข็ง Duplex Board บริเวณด้านหลังเพียงด้านเดียว ด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ พบว่ามีผลึกของวานิลลินกระจายอยู่บนกระดาษแข็ง โดยที่ระดับความเข้มข้นของวานิลลินต่ำกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ผลิตได้มีลักษณะปรากฏคล้ายกับกระดาษแข็งก่อนเคลือบ และเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบสูงขึ้นจะสังเกตเห็นผลึกของวานิลลินชัดเจนขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) จะมองเห็นชัดด้วยตาเปล่า และเมื่อสัมผัสพบว่ากระดาษที่เตรียมได้มีความหยาบและสากมือ แสดงดังภาพที่ 11

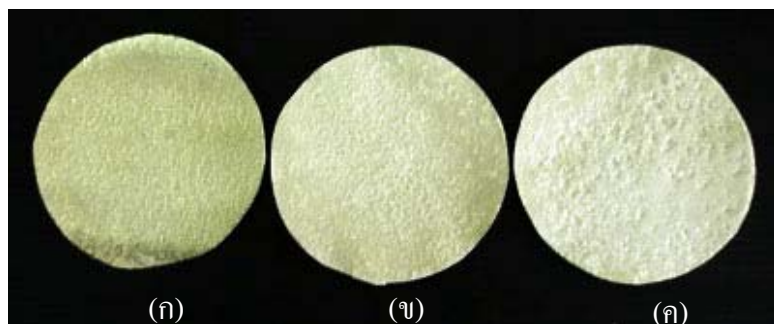


ภาพที่ 11 กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (ข) ร้อยละ 5 (ค) ร้อยละ 10 และ (ง) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก)

### 3.2.2 การเคลือบกระดาษด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซาน

การเตรียมกระดาษด้านจุลินทรีย์จากสารละลายวานิลลินในไคโตซาน โดยการเคลือบกระดาษแข็ง Duplex Board บริเวณด้านหลังเพียงด้านเดียว ด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซาน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ พบว่าสารละลายวานิลลินในไคโตซานมีลักษณะคล้ายร่างแห หรือเส้นใยกระจายอยู่บนผิวหน้าของกระดาษ ซึ่งลักษณะของสารละลายวานิลลินในไคโตซานสอดคล้องกับ Hirano *et al.* (1999) ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการเตรียมเส้นใยจากไคโตซานที่มีการผสมวานิลลิน โดยวานิลลินที่เติมลงไปมีผลกระทบต่อคุณสมบัติของเส้นใยไคโตซาน ทำให้ความเหนียว (tenacity) และความยืดหยุ่น (elongation) ของเส้นใยไคโตซานมีค่าลดลง และ Cestari *et al.* (2006) ศึกษาการสังเคราะห์เยื่อตัดแปลงวานิลลินไคโตซานความหนาแน่นต่ำ จึงเป็นการยืนยันได้ว่าสารผสมระหว่างวานิลลินและไคโตซาน มักอยู่ในรูปของเส้นใย หรือเชื่อมมากกว่าอยู่ในลักษณะของสารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน

จากลักษณะของสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่อยู่ในลักษณะที่เป็นเส้นใย หรือโครงสร้างร่างแห ส่งผลให้สารละลายวานิลลินในไคโตซานยากที่จะแทรกตัวเข้าไปในรูพรุนของกระดาษ เนื่องจากมีโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่กว่ารูพรุนของกระดาษ ทำให้สารเคลือบจับตัวกันหนาบนผิวหน้ากระดาษ โดยเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบสูงขึ้น ลักษณะการจับตัวกันระหว่างวานิลลินและไคโตซานก็ยิ่งมีความหนาแน่นมากขึ้น ประกอบกับกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้มีสีเหลือง จึงมีลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับ แสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซาน (ก) ความเข้มข้น ร้อยละ 5 (ข) ร้อยละ 10 และ (ค) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก)

การเตรียมกระดาษด้านจุลินทรีย์มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาเลือกชนิดของสารเคลือบและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมและมีปริมาณเพียงพอในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อนำกระดาษด้านจุลินทรีย์ไปผลิตเป็นภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร จะต้องอาศัยสมบัติทั้งทางด้านกายภาพ ลักษณะปรากฏ และคุณสมบัติในการด้านจุลินทรีย์ประกอบกัน แต่เนื่องจากการทดลองผลิตกระดาษด้านจุลินทรีย์ในเบื้องต้นด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ และสารละลายวานิลลินในไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 2.5-20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อพิจารณาจากลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ได้หลังการเคลือบด้วยสารเคลือบทั้ง 2 ชนิด พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซาน มีลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับ และไม่เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นจึงได้คัดเลือกกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 2.5-20 (โดยน้ำหนัก) ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากมีลักษณะปรากฏเป็นที่ยอมรับ มีลักษณะปรากฏใกล้เคียงกับกระดาษแข็ง Duplex Board ที่ใช้เป็นวัตถุดิบมากที่สุด อีกทั้งมีขั้นตอนการเตรียมสารละลาย และการผลิตที่ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องอาศัยความร้อนจึงช่วยประหยัดพลังงาน และต้นทุนในการผลิต นอกจากนี้ค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีค่า เท่ากับ ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) ในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิด ซึ่งต่ำกว่าค่า MICs ของสารละลายวานิลลินในไคโตซานซึ่งมีค่าประมาณร้อยละ 0.625-5 (โดยน้ำหนัก) ทั้งนี้เนื่องจากกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ มีวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ผลิตเป็นภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งในอาหารมีโอกาสพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกัน ดังนั้นในการพิจารณา ค่า MICs ของสารเคลือบในการผลิตกระดาษด้านจุลินทรีย์ จะต้องพิจารณาจากค่า MICs ที่มีค่าสูงพอในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้งสามชนิดได้ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งเมื่อ

พิจารณาสารละลายวานิลลินในไคโตซาน พบว่าต้องใช้ที่ระดับ MICs ร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิด

#### 4. การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์

##### 4.1 วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น

การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 2.5-20 (โดยน้ำหนัก) ในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น ประเมินกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์รายงานผลเป็นดัชนีการด้านจุลินทรีย์ แสดงผลดังตารางที่ 11 โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 3 ชนิด เมื่อทดสอบด้วยกระดาษแข็ง Duplex Board (ตัวควบคุม) กระดาษแข็ง Duplex Board เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) และกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ผลทดสอบพบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์สามารถด้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยกระดาษด้านจุลินทรีย์ดังกล่าวทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบมีขนาดเล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษควบคุม แสดงดังภาพที่ 13-15

จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการด้านจุลินทรีย์ทดสอบเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระดาษแข็ง Duplex Board ซึ่งเป็นตัวควบคุม กับกระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ พบว่าค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เป็นการสนับสนุนว่าเอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ มีการระเหยไประหว่างขั้นตอนการทำแห้งกระดาษที่อุณหภูมิห้องจนหมด หรือมีปริมาณคงเหลือน้อยมาก เมื่อพิจารณาค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 และ 5 (โดยน้ำหนัก) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) มีค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 0.01-0.02 และที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) มีค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 0.02-0.19 ซึ่งค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์โดยรวมอยู่ในเกณฑ์ต่ำ

**ตารางที่ 11** ประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5–20 (โดยน้ำหนัก) ทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น

| จุลินทรีย์       | ตัวอย่างกระดาษ                 | ประสิทธิภาพของกระดาษในการต้านจุลินทรีย์             |                        |
|------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------|
|                  |                                | เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี <sup>1</sup><br>(มิลลิเมตร) | ดัชนีการต้านจุลินทรีย์ |
| <i>B. cereus</i> | ตัวควบคุม <sup>2</sup>         | 0.54±0.04                                           | 0 <sup>a</sup>         |
|                  | ตัวควบคุมเชิงลบ <sup>3</sup>   | 0.54±0.04                                           | 0 <sup>a</sup>         |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 0.54±0.06                                           | 0.02 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 0.53±0.04                                           | 0.02 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 0.43±0.05                                           | 0.21 <sup>b</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 0.42±0.04                                           | 0.23 <sup>b</sup>      |
| <i>S. aureus</i> | ตัวควบคุม                      | 0.46±0.12                                           | 0 <sup>a</sup>         |
|                  | ตัวควบคุมเชิงลบ                | 0.46±0.11                                           | 0.01 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 0.45±0.04                                           | 0.01 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 0.43±0.05                                           | 0.08 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 0.33±0.03                                           | 0.30 <sup>b</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 0.32±0.03                                           | 0.30 <sup>b</sup>      |
| <i>E. coli</i>   | ตัวควบคุม                      | 0.45±0.05                                           | 0 <sup>a</sup>         |
|                  | ตัวควบคุมเชิงลบ                | 0.45±0.06                                           | 0 <sup>a</sup>         |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 0.44±0.04                                           | 0.02 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 0.36±0.03                                           | 0.19 <sup>a</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 0.30±0.04                                           | 0.33 <sup>b</sup>      |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 0.22±0.02                                           | 0.50 <sup>b</sup>      |

หมายเหตุ <sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำวัด 20 โคโลนี

<sup>2</sup> กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่มีการเคลือบ

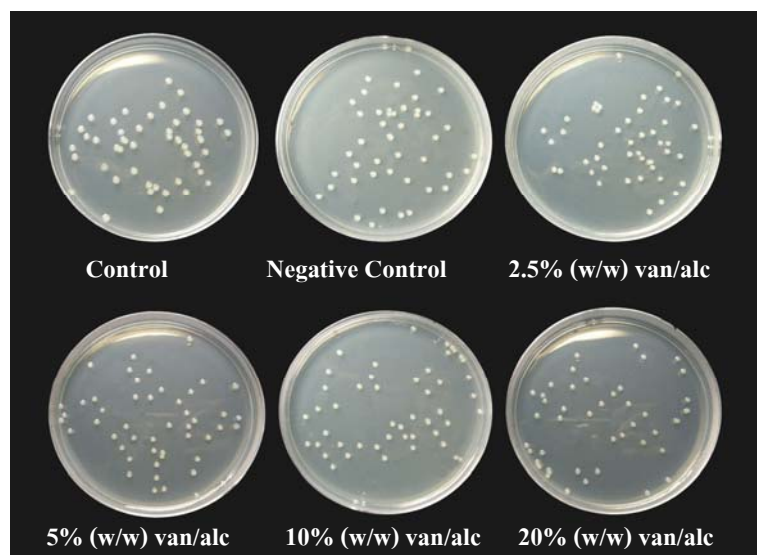
<sup>3</sup> กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ โดยไม่มีการเติมวานิลลิน

<sup>a-b</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

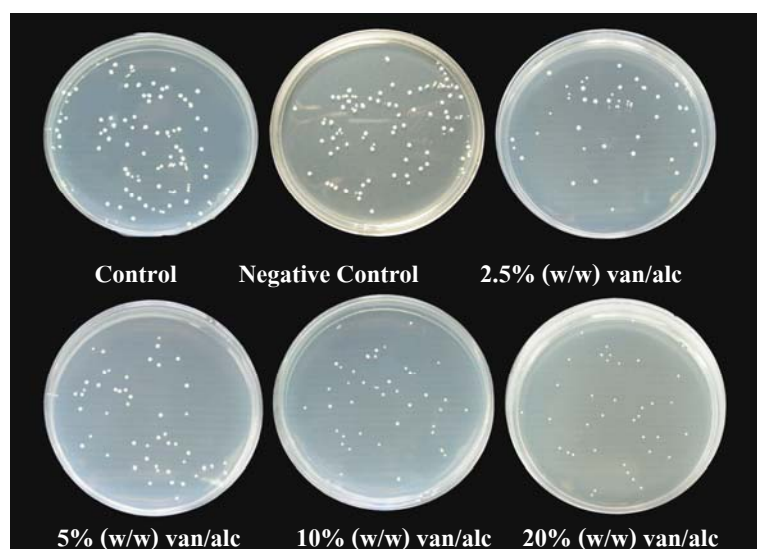
จากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 และ 5 (โดยน้ำหนัก) มีประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า เมื่อพิจารณาค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่ามีค่าที่สูงขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) มีค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 0.21-0.33 และที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) มีค่าดัชนีการด้านจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 0.23-0.50 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่ทุกระดับความเข้มข้นของวานิลลิน พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีแนวโน้มแสดงความไวต่อการด้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก สอดคล้องกับ Rodriguez *et al.* (2007) ศึกษากิจกรรมการด้านจุลินทรีย์ของกระดาษที่เคลือบด้วยไขมันหอยนางรมและไขมันหอยเชลล์ ในการด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนัก) ของไขมันหอยนางรมและไขมันหอยเชลล์ ไม่สามารถด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* และ *Listeria monocytogenes* แต่สามารถด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella choleraesuis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้เล็กน้อย และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็นร้อยละ 8 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงสุดในการทดสอบ พบว่าไม่สามารถด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ ในขณะที่แสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นคำกล่าวที่ว่าแบคทีเรียแกรมลบสามารถต้านทานไขมันหอยนางรมและไขมันหอยเชลล์ได้เป็นความจริงเสมอไป ไม่ว่าจะเป็นการสัมผัสโดยตรง หรือว่าในระบบที่เป็นไอระเหย เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีส่วนของผนังเซลล์ที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งอยู่ในรูปของโมเลกุลไลปิดโพลีแซคคาไรด์ ทำให้น้ำมันหอยนางรมและไขมันหอยเชลล์สามารถละลายเข้าไปสู่เซลล์ได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่งผลให้แบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อไขมันหอยนางรมและไขมันหอยเชลล์มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก สอดคล้องกับ Rodriguez-Vaquero *et al.* (2007) ศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แต่ละชนิด พบว่าวานิลลินแอซิดซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่พบในไวน์ แสดงกิจกรรมในการด้านการเจริญของ *E. coli* แต่ไม่แสดงกิจกรรมในการด้านการเจริญของ *S. aureus* ซึ่งเป็นการยืนยันว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อสารประกอบฟีนอลิกและวานิลลิน มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เช่นเดียวกับ Moon *et al.* (2006) ศึกษาผลของวานิลลินในการด้านการเจริญ

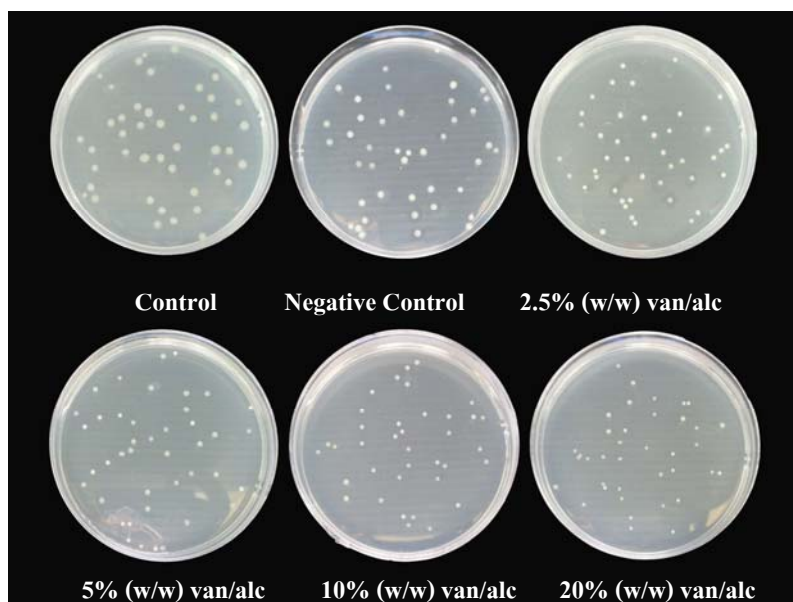
ของ *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli* O157:H7 ที่ระดับพีเอชระหว่าง 3.5-4.5 ในน้ำแอปเปิ้ล พบว่า *Escherichia coli* O157:H7 มีความไวต่อวานิลลินมากกว่า *Listeria monocytogenes*



ภาพที่ 13 ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการต้านการเจริญของ *Bacillus cereus*



ภาพที่ 14 ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการต้านการเจริญของ *Staphylococcus aureus*



ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบวานิลลินแอลกอฮอล์ ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นในการต้านการเจริญของ *Escherichia coli*

การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น เป็นวิธีการที่เหมาะสมกับการทดสอบสารต้านจุลินทรีย์ที่ไม่ชอบน้ำ หรือมีความสามารถในการแพร่ผ่านวุ้นได้น้อย ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่สามารถใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยรวมทั้งวานิลลินได้ เนื่องจากช่วยขจัดปัญหาเกี่ยวกับการไม่ละลายน้ำ หรือความไม่มีขั้วของสารทดสอบในการทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านของสารทดสอบสู่วุ้น หรือจากกระดาษต้านจุลินทรีย์สู่วุ้น และยังช่วยลดปัญหาในการใช้ตัวทำละลายเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลาย หรือการแพร่ผ่านของสารทดสอบ เนื่องจากการใช้สารเพิ่มการละลายดังกล่าวมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เพราะการใช้ตัวทำละลายเพื่อเพิ่มการละลายจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง นอกจากนี้วิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นเป็นวิธีที่จำลองสภาวะในการทดสอบ ใกล้เคียงกับการสภาวะในการบรรจุอาหารจริง เนื่องจากช่องว่างเหนือวุ้นในการทดสอบจะเปรียบเสมือนช่องว่างเหนืออาหารในภาชนะบรรจุ หรือ headspace ซึ่งสารต้านจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมาจากกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่ติดไว้บนฝาของจานเพาะเชื้อ เช่นเดียวกับการที่สารต้านจุลินทรีย์ถูกปลดปล่อยออกมาจากกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่ถูกใช้เป็นวัสดุบรรจุ และแสดงประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ในลักษณะเดียวกัน

การทดสอบด้วยวิธีนี้ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ซึ่งมีผลกระทบต่อการประเมินประสิทธิภาพของกระดาด้านจุลินทรีย์ เช่น ความหนาของกระดาด้านจุลินทรีย์ ซึ่งควรมีความหนาที่สม่ำเสมอเท่ากันทั้งแผ่น และในแต่ละแผ่นที่ใช้ในการทดสอบควรมีความหนาเท่ากัน เนื่องจากความหนาของกระดาดมีส่งผลต่อปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้น เมื่อกระดาดมีความหนา มากกว่าปกติจะส่งผลให้ปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้นลดลง ในทางกลับกันปริมาตรช่องว่างเหนือวุ้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อกระดาดบางกว่าปกติ ปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้นเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อการประเมินประสิทธิภาพของกระดาด้านจุลินทรีย์ เนื่องจากเมื่อปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้นลดลงจะทำให้ระยะห่างระหว่างกระดาดด้านจุลินทรีย์กับผิวหน้าของวุ้นลดลง ทำให้ระยะทางในการแพร่ของสารด้านจุลินทรีย์น้อยลง และสารทดสอบมีความเข้มข้นมากขึ้น เนื่องจากอัตราในการปลดปล่อยสารด้านจุลินทรีย์คงที่ ในขณะที่ปริมาตรในการทดสอบลดลง นอกจากนี้ความหนาของวุ้นก็เช่นเดียวกัน คือ หากมีการเทวุ้นหนาจะส่งผลให้ปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้นลดลง และหากบางเกินไปจะทำให้ปริมาตรของช่องว่างเหนือวุ้นเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงควรกำหนดปริมาณวุ้นและความหนาของวุ้นให้เท่ากันทุกครั้ง และมีผิวหน้าวุ้นที่สม่ำเสมอ ไม่มีส่วนที่นูนขึ้นของวุ้นเนื่องจากวุ้นเป็นก้อนจากการแข็งตัวระหว่างการเท เนื่องจากจะส่งผลให้ระยะห่างระหว่างวุ้นกับกระดาดด้านจุลินทรีย์ที่ติดไว้กับฝาจานเพาะเชื้อมีระยะห่างไม่เท่ากัน และส่งผลให้ขนาดโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบในจานเพาะเชื้อเดียวกันมีขนาดไม่เท่ากัน โดยบริเวณที่มีวุ้นหนา หรือมีระยะห่างระหว่างวุ้นกับกระดาดด้านจุลินทรีย์น้อยกว่าจะทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบมีขนาดเล็กกว่า เนื่องจากระยะทางในการแพร่ของสารด้านจุลินทรีย์สู่ผิวหน้าของวุ้นน้อยกว่า จึงแสดงประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์ได้มากกว่า นอกจากนี้จำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อในการทดสอบควรมีปริมาณที่ง่ายต่อการนับจำนวนและสามารถมองเห็นความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีได้ชัดเจน และสามารถวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีได้ง่าย โดยในการทดสอบนี้กำหนดให้มีจุลินทรีย์ 50 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 จำนวน โคโลนีของจุลินทรีย์ต่อจานเพาะเชื้อในการทดสอบ

| จุลินทรีย์                   | จำนวน โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ <sup>1</sup> (CFU/plate) |
|------------------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Bacillus cereus</i>       | 44.56±2.41                                           |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 42.78±2.53                                           |
| <i>Escherichia coli</i>      | 40.89±1.37                                           |

หมายเหตุ <sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

วิธีการทดสอบนี้เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้องแม่นยำในการประเมินประสิทธิภาพของ กระจกด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มากกว่าวิธีการแพร่ผ่านจาก กระจกสู่วุ้น เนื่องจากปริมาณสารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกระจกด้านจุลินทรีย์ทั้งหมด สามารถแพร่กระจายอยู่ในบริเวณช่องว่างเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ และแสดงประสิทธิภาพในการต้าน จุลินทรีย์ โดยสารด้านจุลินทรีย์มีโอกาสถูกกักไว้ในโครงสร้างของกระจกน้อยกว่าการทดสอบ ด้วยวิธีการแพร่ผ่านจากกระจกสู่วุ้น เนื่องจากวิธีการแพร่ผ่านจากกระจกสู่วุ้นจะมีข้อจำกัดใน การแพร่ของสารด้านจุลินทรีย์ที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้แสดงประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้ไม่เต็ม ความสามารถ นอกจากนี้ลักษณะในการทดสอบนี้เป็นการจำลองสภาวะในการบรรจุ และกลไกการ ปลดปล่อยสารด้านจุลินทรีย์ในการบรรจุกับผลิตภัณฑ์อาหารจริง แสดงประสิทธิภาพในการต้าน จุลินทรีย์ของกระจกด้านจุลินทรีย์ในสภาวะของไอระเหยจากบรรจุภัณฑ์ไปยังอาหาร โดยทั่วไป วิธีการนี้นิยมใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อรา (Nielsen and Rios, 2000; Guynot *et al.*, 2003; Lopez-Malo *et al.*, 2005; Rakotonirainy and Lavedrine, 2005; Rupika *et al.*, 2005) สอดคล้องกับ Caccioni *et al.* (1997) ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านเชื้อรา ของสารระเหยจากธรรมชาติ โดยใช้วิธีการควบคุมความดันไอของสารทดสอบไปสู่ช่องว่างเหนือ ภาชนะบรรจุ พบว่าสารทดสอบสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นความดันไอของสาร สามารถใช้เป็นวิธีในการประเมินประสิทธิภาพของสารที่ไม่มีขั้วและไม่ชอบน้ำได้ เนื่องจากความ ดันไอแสดงถึงแนวโน้มของโมเลกุลของสารที่แพร่ผ่านไปยังส่วนที่เป็นก๊าซ ซึ่งเกี่ยวข้องกับระดับ ของการเกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์กับน้ำและตัวถูกละลายต่าง ๆ โดยในสภาวะที่อุณหภูมิและความ เข้มข้นคงที่ ถ้าความดันไอของสารเพิ่มขึ้น การสร้างพันธะกับน้ำจะลดลงและทำให้เกิดลักษณะของ สารไม่ชอบน้ำมากขึ้น สอดคล้องกับ Ben Arfa *et al.* (2006) ซึ่งใช้วิธีนี้ในศึกษากิจกรรมการต้าน จุลินทรีย์ของควาครอล (carvacrol) โดยทดสอบกับแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ดังนั้นการเลือกใช้วิธีนี้ ในการทดสอบประสิทธิภาพของกระจกด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสาร ละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมและให้ผลที่น่าเชื่อถือ สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้ในสภาวะ จริง

#### 4.2 วิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของกระจกด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลาย วานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ในการต้าน จุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก คือ *B. cereus* และ *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *E. coli* โดยประเมินประสิทธิภาพของกระจกด้านจุลินทรีย์จากการนับจำนวนโคโลนีของ

จุลินทรีย์ที่บ่มเพาะจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ถ่ายมาจากงานเพาะเชื้อจำนวน 5 โคโลนี ที่ผ่านการทดสอบด้วยกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยรายงานผลเป็นร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์ แสดงดังตารางที่ 13 ผลการทดสอบพบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ทุกระดับความเข้มข้นสามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด และแสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบโดยทำให้จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบมีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับตัวควบคุม คือ กระดาษแข็ง Duplex Board และตัวควบคุมเชิงลบ คือ กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

จากการทดลองพบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ ร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) มีความสามารถในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทุกระดับ โดยร้อยละการลดลงของจุลินทรีย์ ของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) และกระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีร้อยละการลดลงอยู่ในช่วงน้อยกว่าร้อยละ 3 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ต่ำ มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า โดยเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) พบว่าร้อยละการลดลงของ *B. cereus* และ *S. aureus* เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็นร้อยละ 4.19 และ 3.43 ตามลำดับ ในขณะที่ร้อยละการลดลงของ *E. coli* มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 14.4 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลินเป็นร้อยละ 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่าร้อยละการลดลงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) แสดงร้อยละการลดลงของ *B. cereus*, *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 18.17, 18.23 และ 24.41 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) แสดงร้อยละการลดลง เท่ากับ 19.34, 19.50 และ 24.58 ตามลำดับ

ผลการประเมินประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ ด้วยวิธีการนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบ และรายงานผลเป็นร้อยละการลดลง พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ *E. coli* ได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น *S. aureus* และ *B. cereus* ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้นที่แสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของกระดาษต้านจุลินทรีย์ทั้ง 2 วิธี เป็นการวัดประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ โดยสังเกตจากความสมบูรณ์และปริมาณของ โคโลนีทดสอบ เมื่อสารต้านจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์จะเข้า ทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ความสมบูรณ์ของโคโลนีลดลง โดยสังเกตจากขนาดโคโลนีที่เล็กลง ซึ่งเมื่อนำโคโลนีดังกล่าวไปป้อนเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ และทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนโคโลนี พบว่ามีจำนวนโคโลนีน้อยกว่าเมื่อไม่มีการใช้สารต้านจุลินทรีย์ สอดคล้องกับ Rodriguez *et al.* (2007) อธิบายว่าการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและสีของโคโลนีของจุลินทรีย์ทดสอบ เป็นการบ่งชี้ว่า สารต้านจุลินทรีย์มีผลทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เสียหายและเกิดการรั่วไหลและเสียสมดุลของ กระบวนการสันดาปในเซลล์

**ตารางที่ 13** ประสิทธิภาพของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5–20 (โดยน้ำหนัก) ทดสอบด้วยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์

| จุลินทรีย์       | ตัวอย่างกระดาษ                 | ประสิทธิภาพของกระดาษในการต้านจุลินทรีย์       |                                  |
|------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|
|                  |                                | ปริมาณจุลินทรีย์ <sup>1</sup><br>(log CFU/ml) | การลดลงของจุลินทรีย์<br>(ร้อยละ) |
| <i>B. cereus</i> | ตัวควบคุม <sup>2</sup>         | 7.99±0.03                                     | 0 <sup>a</sup>                   |
|                  | ตัวควบคุมเชิงลบ <sup>3</sup>   | 7.98±0.02                                     | 0.31±0.11 <sup>a</sup>           |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 7.84±0.02                                     | 1.91±0.24 <sup>ab</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 7.66±0.02                                     | 4.19±0.15 <sup>bc</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 6.54±0.01                                     | 18.17±0.43 <sup>c</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 6.65±0.03                                     | 19.34±0.08 <sup>c</sup>          |
| <i>S. aureus</i> | ตัวควบคุม                      | 7.08±0.02                                     | 0 <sup>a</sup>                   |
|                  | ตัวควบคุมเชิงลบ                | 7.08±0.01                                     | 0.23±0.18 <sup>a</sup>           |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 6.90±0.02                                     | 2.56±0.32 <sup>ab</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 6.84±0.03                                     | 3.43±0.48 <sup>bc</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 5.79±0.01                                     | 18.23±0.32 <sup>c</sup>          |
|                  | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 5.70±0.01                                     | 19.50±0.34 <sup>c</sup>          |

ตารางที่ 13 (ต่อ)

| จุลินทรีย์     | ตัวอย่างกระดาด                 | ประสิทธิภาพของกระดาดในการต้านจุลินทรีย์       |                                  |
|----------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|
|                |                                | ปริมาณจุลินทรีย์ <sup>1</sup><br>(log CFU/ml) | การลดลงของจุลินทรีย์<br>(ร้อยละ) |
| <i>E. coli</i> | ตัวควบคุม                      | 7.99±0.01                                     | 0 <sup>a</sup>                   |
|                | ตัวควบคุมเชิงลบ                | 7.98±0.03                                     | 0.35±0.27 <sup>a</sup>           |
|                | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 7.90±0.02                                     | 1.06±0.35 <sup>ab</sup>          |
|                | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 6.84±0.04                                     | 14.40±0.12 <sup>bc</sup>         |
|                | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 6.04±0.04                                     | 24.41±0.38 <sup>c</sup>          |
|                | สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 6.02±0.03                                     | 24.58±0.43 <sup>c</sup>          |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>กระดาดแข็ง Duplex Board ที่ไม่เคลือบ

<sup>3</sup>กระดาดแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ โดยไม่มีการเติมวานิลลิน

<sup>a-c</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## 5. สมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาดต้านจุลินทรีย์

ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพของกระดาดต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้จากการเคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) มีสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นแตกต่างจากกระดาดแข็ง Duplex Board ก่อนการเคลือบ ซึ่งเป็นตัวควบคุม และกระดาดแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ โดยพบว่า น้ำหนักมาตรฐานและความหนาของกระดาดต้านจุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกระดาดแข็งก่อนเคลือบ เมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้น้ำหนักมาตรฐานและความหนาของกระดาดเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยน้ำหนักมาตรฐานและความหนาจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรง เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบมากขึ้น ปริมาณสารเคลือบที่อยู่บนผิวหน้าและในกระดาดจะมีปริมาณมากขึ้นทำให้กระดาดมีน้ำหนักมาตรฐานและความหนาเพิ่มขึ้น ผลการทดลองพบว่ากระดาดที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 และ 5 (โดยน้ำหนัก) มีค่า น้ำหนักมาตรฐานและความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่าทั้ง 2 ระดับมีค่าน้ำหนักมาตรฐาน

และความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 5 (โดยน้ำหนัก) แสดงดังตารางที่ 14

จากตารางที่ 14 แสดงให้เห็นว่าความชื้นในกระดาษมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาการกลับมาตกผลึกใหม่ของวานิลลินในสารเคลือบ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาคายความร้อน ส่งผลให้ระบบมีอุณหภูมิลดลงแต่สิ่งแวดล้อมมีอุณหภูมิสูงขึ้น (นิรนาม, 2552) ความร้อนที่เกิดขึ้นส่งผลให้น้ำในกระดาษระเหยออกไป โดยเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบสูงขึ้น ปฏิกิริยาการกลับมาตกผลึกจะเกิดได้มากขึ้น ทำให้น้ำในกระดาษเกิดการระเหยออกไปได้มากขึ้นเป็นผลให้มีความชื้นในกระดาษลดลง โดยความชื้นในกระดาษแข็ง Duplex Board ซึ่งเป็นตัวควบคุม กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ และกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามปริมาณความชื้นของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้จากการทดลองในทุกะดับความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานในการผลิตกระดาษแข็งทั่วไป คือ ไม่เกินร้อยละ 10 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มอก.283-2521)

ตารางที่ 14 สมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

| กระดาษตัวอย่าง                 | น้ำหนักมาตรฐาน<br>(กรัม/ตารางเมตร) | ความหนา<br>(มิลลิเมตร) | ความชื้น<br>(ร้อยละ)    |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| ตัวควบคุม <sup>1</sup>         | 294.75±1.89 <sup>a</sup>           | 0.35±0.02 <sup>a</sup> | 7.54±0.34 <sup>c</sup>  |
| ตัวควบคุมเชิงลบ <sup>2</sup>   | 294.79±2.30 <sup>a</sup>           | 0.35±0.02 <sup>a</sup> | 7.53±0.17 <sup>c</sup>  |
| สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | 298.53±2.62 <sup>b</sup>           | 0.36±0.01 <sup>b</sup> | 7.52±0.10 <sup>c</sup>  |
| สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 5   | 300.61±3.28 <sup>b</sup>           | 0.36±0.01 <sup>b</sup> | 7.35±0.17 <sup>bc</sup> |
| สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 10  | 308.56±1.37 <sup>c</sup>           | 0.37±0.01 <sup>c</sup> | 7.20±0.28 <sup>b</sup>  |
| สารเคลือบความเข้มข้นร้อยละ 20  | 317.25±1.27 <sup>d</sup>           | 0.39±0.01 <sup>d</sup> | 6.79±0.40 <sup>a</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1</sup>กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่เคลือบ

<sup>2</sup>กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ โดยไม่มีการเติมวานิลลิน

<sup>a-d</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การศึกษาลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจูลินทรีที่เตรียมได้ เป็นส่วนหนึ่งที่ต้องพิจารณาควบคู่กับการศึกษาทางกายภาพอื่นๆ เนื่องการมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค จากการศึกษาลักษณะปรากฏด้านสีของกระดาษด้วยด้วยเครื่องวัดสีในระบบ Hunter Lab โดยพิจารณาความแตกต่างของค่าสี ( $\Delta E$ ) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแตกต่างของค่าสีของกระดาษด้านจูลินทรีกับกระดาษธรรมดา เมื่อพิจารณาค่าสีของกระดาษตัวอย่างในการทดสอบ พบว่ากระดาษแข็ง Duplex Board (ตัวควบคุม) และกระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ค่า  $a^*$  และ ค่า  $b^*$  ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระดาษธรรมดาและกระดาษด้านจูลินทรีที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่าค่าความสว่างหรือค่า  $L^*$  มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ดังนั้นการเคลือบกระดาษด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีแนวโน้มทำให้กระดาษด้านหลังมีค่าความสว่างลดลง แสดงดังตารางที่ 15

**ตารางที่ 15** ลักษณะปรากฏด้านสีของกระดาษแข็ง Duplex Board และกระดาษด้านจูลินทรีที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ในระบบ Hunter Lab

| ตัวอย่างกระดาษ               | ค่าทดสอบ <sup>1</sup>   |                         |                        |                   |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------|
|                              | $L^*$                   | $a^*$                   | $b^*$                  | $\Delta E$        |
| ตัวควบคุม <sup>2</sup>       | 71.29±0.14 <sup>c</sup> | -0.13±0.02 <sup>a</sup> | 3.82±0.10 <sup>a</sup> | 0 <sup>a</sup>    |
| ตัวควบคุมเชิงลบ <sup>3</sup> | 71.26±0.17 <sup>c</sup> | -0.13±0.03 <sup>a</sup> | 3.79±0.16 <sup>a</sup> | 0.04 <sup>a</sup> |
| ความเข้มข้นร้อยละ 2.5        | 69.83±0.77 <sup>a</sup> | 0.18±0.02 <sup>b</sup>  | 4.08±0.07 <sup>b</sup> | 1.51 <sup>c</sup> |
| ความเข้มข้นร้อยละ 5          | 69.79±0.23 <sup>a</sup> | 0.58±0.10 <sup>c</sup>  | 4.27±0.06 <sup>c</sup> | 1.72 <sup>d</sup> |
| ความเข้มข้นร้อยละ 10         | 70.71±0.20 <sup>b</sup> | 0.58±0.12 <sup>c</sup>  | 4.49±0.29 <sup>d</sup> | 1.14 <sup>b</sup> |
| ความเข้มข้นร้อยละ 20         | 71.53±0.20 <sup>c</sup> | 1.04±0.13 <sup>d</sup>  | 4.72±0.18 <sup>c</sup> | 1.50 <sup>c</sup> |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำวัด 20 โคโลนิ

<sup>2</sup>กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่มีการเคลือบ

<sup>3</sup>กระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ โดยไม่มีการเติมวานิลลิน

<sup>a-c</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 15 เมื่อพิจารณาค่า  $a^*$  พบว่ากระดาษแข็ง Duplex Board และกระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์มีค่า  $a^*$  เป็นลบ แสดงว่าสีของกระดาษมีแนวโน้มเป็นสีเขียว ในขณะที่กระดาษที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ทุกระดับความเข้มข้นมีค่า  $a^*$  เป็นบวก ซึ่งแสดงว่ากระดาษที่ผ่านการเคลือบมีแนวโน้มเป็นสีแดง โดยเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้นค่า  $a^*$  ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวานิลลินเป็นสารเคลือบที่มีสีเหลืองอ่อน และมักเกิดการออกซิเดชันได้ง่ายทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งระหว่างการทำทดลองพบว่า เมื่อเก็บกระดาษที่เคลือบด้วยสารเคลือบวานิลลินไว้เป็นเวลานานประมาณ 2-3 เดือน สีของกระดาษที่เคลือบจะมีสีน้ำตาลแดงอ่อนๆ ในบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารเคลือบสูง สำหรับค่า  $b^*$  ของกระดาษด้านจุลินทรีย์พบว่ามีค่ามากกว่ากระดาษธรรมดา โดยกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นสูง จะมีค่า  $b^*$  สูงขึ้น เนื่องจากค่า  $b^*$  เป็นบวกแสดงว่าสีของกระดาษมีแนวโน้มเป็นสีเหลือง ดังนั้นการที่ค่า  $b^*$  เพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้นเป็นผลจากสารเคลือบวานิลลินที่มีสีเหลืองอ่อน ๆ

ตารางที่ 16 น้ำหนักสารเคลือบของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์

| กระดาษด้านจุลินทรีย์  | น้ำหนักสารเคลือบของกระดาษด้านจุลินทรีย์ <sup>1</sup><br>(กรัมต่อตารางเมตร) | การสูญเสียสารเคลือบ (ร้อยละ) |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 | $3.25 \pm 0.38^a$                                                          | $0.58 \pm 0.05$              |
| ความเข้มข้นร้อยละ 5   | $3.93 \pm 0.62^a$                                                          | $0.75 \pm 0.04$              |
| ความเข้มข้นร้อยละ 10  | $6.30 \pm 1.60^b$                                                          | $0.80 \pm 0.05$              |
| ความเข้มข้นร้อยละ 20  | $12.07 \pm 1.12^c$                                                         | $0.80 \pm 0.05$              |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

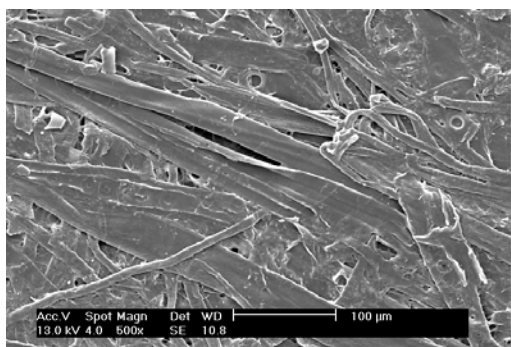
<sup>a-c</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 16 แสดงน้ำหนักของสารเคลือบของกระดาษด้านจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการด้านการเจริญของกระดาษด้านจุลินทรีย์ เนื่องจากปริมาณสารเคลือบของกระดาษด้านจุลินทรีย์ เป็นปริมาณวานิลลินที่แท้จริงที่แสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากในกระบวนการเตรียมกระดาษด้านจุลินทรีย์ มีขั้นตอนที่อาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียวานิลลินในสารเคลือบได้บางส่วน เช่น ขั้นตอนการเคลือบอาจจะมีสารบางส่วนคงค้างที่เปราะที่ใช้ในการเคลือบกระดาษ ขั้นตอนการทำแห้งกระดาษอาจส่งผลให้สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นสารระเหยเกิดการระเหยออกไปในบางส่วนระหว่างกระบวนการเคลือบและเก็บรักษา

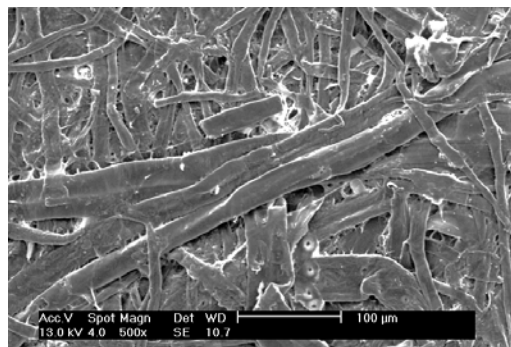
กระดาษ โดยจากการทดลองพบว่ามีย่อยละการสูญเสียปริมาณสารเคลือบประมาณร้อยละ 0.58-0.8 ปริมาณวานิลลินคงเหลือบนกระดาษคำนวณได้จากการเปรียบเทียบน้ำหนักมาตรฐานของกระดาษ ด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์เทียบกับน้ำหนักมาตรฐานของ กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่ได้เคลือบ โดยตัดปริมาณความชื้นในกระดาษออกไปจากน้ำหนัก มาตรฐานเพื่อให้ได้น้ำหนักของวานิลลินที่คงเหลือบนกระดาษอย่างแท้จริง โดยปริมาณวานิลลินคง เหลือบนกระดาษ เป็นผลรวมของปริมาณวานิลลินที่แทรกซึมลงไปในรูพรุนของกระดาษรวมกับ ปริมาณวานิลลินที่ปกคลุมอยู่บนผิวหน้าของกระดาษด้านจุลินทรีย์ จากการทดลองพบว่าน้ำหนัก ของสารเคลือบเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น

## 6. ลักษณะผิวหน้าของกระดาษด้านจุลินทรีย์

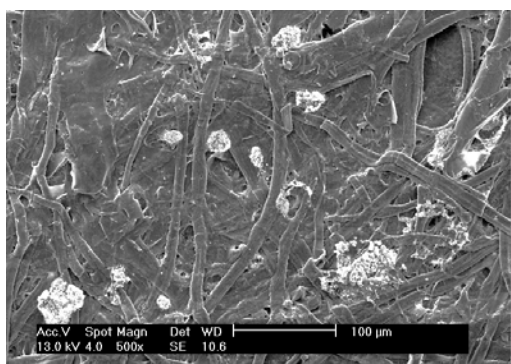
การศึกษาลักษณะผิวหน้าของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง กราด (Scanning Electron Microscope; SEM) เปรียบเทียบกับกระดาษ Duplex board ที่ใช้เป็นตัว ควบคุม และกระดาษ Duplex Board ที่เคลือบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิง ลบ โดยทำการทดสอบเฉพาะด้านหลังของกระดาษ เนื่องจากเป็นด้านที่มีการเคลือบด้วยสารเคลือบ ในการทดลองนี้ แสดงดังภาพที่ 16 ผลการตรวจสอบลักษณะผิวหน้าด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่ระดับกำลังขยาย 500 เท่า ของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วย สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษควบคุมและกระดาษควบคุมเชิงลบ พบว่ากระดาษที่มีการเคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ทุกระดับความเข้มข้นมีรูพรุน ของกระดาษลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มมากขึ้นความมีรูพรุนของกระดาษจะ ลดลงมากขึ้น เนื่องจากมีจำนวนอนุภาคของวานิลลินในสารเคลือบเข้าไปแทรกตัวในรูพรุนของ กระดาษมากขึ้น ทำให้ความสามารถในการแทรกตัวเข้าไปในรูพรุนของกระดาษมากขึ้นด้วย นอกจากนี้สังเกตเห็นอนุภาคของวานิลลินกระจายตัวอยู่บนเส้นใยของกระดาษโดยไม่สามารถ แทรกตัวเข้าไปในรูพรุนของกระดาษได้ เนื่องจากอนุภาคของวานิลลินบางส่วนมีขนาดใหญ่กว่า ขนาดของรูพรุนของกระดาษทำให้ไม่สามารถแทรกเข้าไปอยู่ในรูพรุนของกระดาษได้ เนื่องจาก ความเข้มข้นที่สูงขึ้นของสารเคลือบส่งผลให้มีอนุภาคบางส่วนของสารเคลือบที่หลงเหลือจากการ แทรกตัวเข้าไปอยู่ในรูพรุนของกระดาษ หรือเกิดสภาวะอึดตัวในการแทรกตัวของสารเคลือบเข้าสู่ รูพรุนของการกระดาษ จึงมีการจับตัวกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น แสดงดังภาพที่ 16



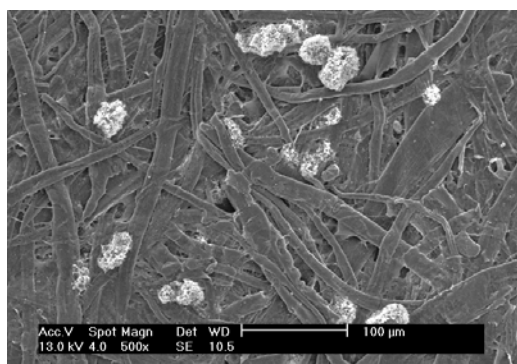
(ก)



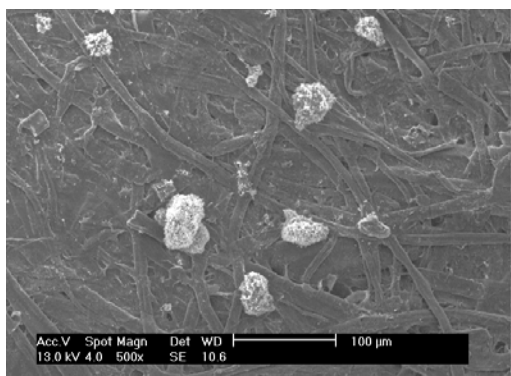
(ข)



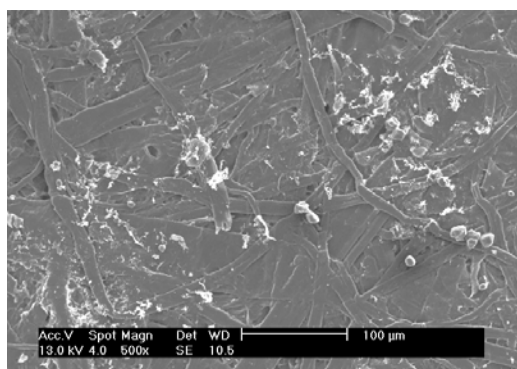
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

**ภาพที่ 16** ลักษณะผิวหน้าของกระดาษด้านหลังต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด  
 กำลังขยาย 500 เท่า (ก) กระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่เคลือบ (ข) เคลือบด้วย  
 เอทิลแอลกอฮอล์ (ค) เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.5  
 (ง) ร้อยละ 5 (จ) ร้อยละ 10 และ (ฉ) ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก)

วานิลลินเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายค่อนข้างต่ำและมีแนวโน้มในการกลับมารวมตัวหรือตกผลึกใหม่สูงหลังการเคลือบสารเคลือบลงบนกระดาษและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องส่งผลให้เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ที่ใช้เป็นตัวทำละลายระเหยออกไปจนหมด หรือเหลือน้อยมาก ทำให้ความเข้มข้นของวานิลลินบนผิวหน้ากระดาษเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มในการกลับมารวมตัวและตกผลึกอีกครั้ง เกิดเป็นอนุภาคเล็ก ๆ บนผิวหน้ากระดาษ ซึ่งมีผลต่อผิวสัมผัสและความเรียบของกระดาษ

จากการทดสอบกิจกรรมด้านจุลินทรีย์และสมบัติทางกายภาพบางประการของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์แสดงความสามารถในการด้านจุลินทรีย์ได้ และมีสมบัติทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของการผลิตกระดาษแข็ง นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่บ่งชี้ว่าวานิลลินเป็นสารด้านจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติด้านปฏิริยาออกซิเดชัน (Mourtzinou *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2007) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำวานิลลิน ซึ่งเป็นสารด้านจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่เกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์และปฏิริยาออกซิเดชัน ในการทดลองนี้ได้เลือกผลิตภัณฑ์เค้กม้วนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาสั้น เน้นเสียได้ง่ายจากจุลินทรีย์ และมักเกิดการเหม็นหืนจากปฏิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ผลิตบางรายเติมสารกันบูด ซึ่งเป็นสารเคมีลงไปในผลิตภัณฑ์เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และการจัดจำหน่าย ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงในเรื่องสุขภาพ นอกจากนี้วานิลลินยังเป็นสารด้านจุลินทรีย์ที่มีกลิ่นรสเข้ากันได้กับเค้กม้วน เนื่องจากมีกลิ่นหอมหวาน เป็นสารให้กลิ่นรสที่นิยมใช้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์ขนมอบ ดังนั้นการนำวานิลลินมาใช้กับผลิตภัณฑ์เค้กม้วนจึงมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการประยุกต์ใช้กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยวานิลลินซึ่งเป็นสารด้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยการบรรจุผลิตภัณฑ์เค้กม้วนด้วยกล่องกระดาษที่ใช้กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) เป็นวัสดุบรรจุ สาเหตุที่เลือกใช้สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่แสดงประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 5 (โดยน้ำหนัก) ในขณะที่มีประสิทธิภาพในการด้านจุลินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคลือบที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) แต่ช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้มากกว่า และปริมาณวานิลลินที่เติมลงไปในสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ





(ก)

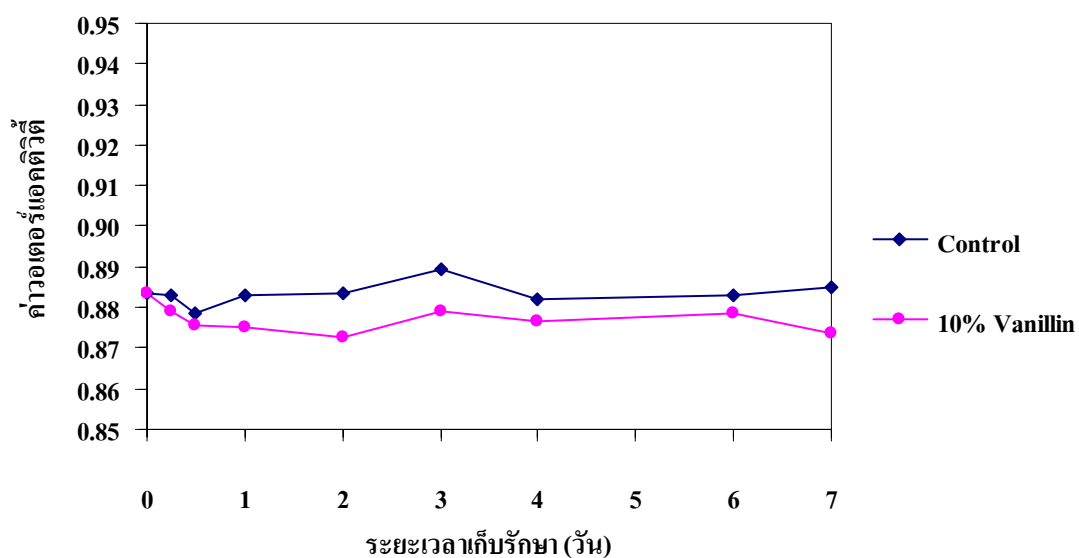


(ข)

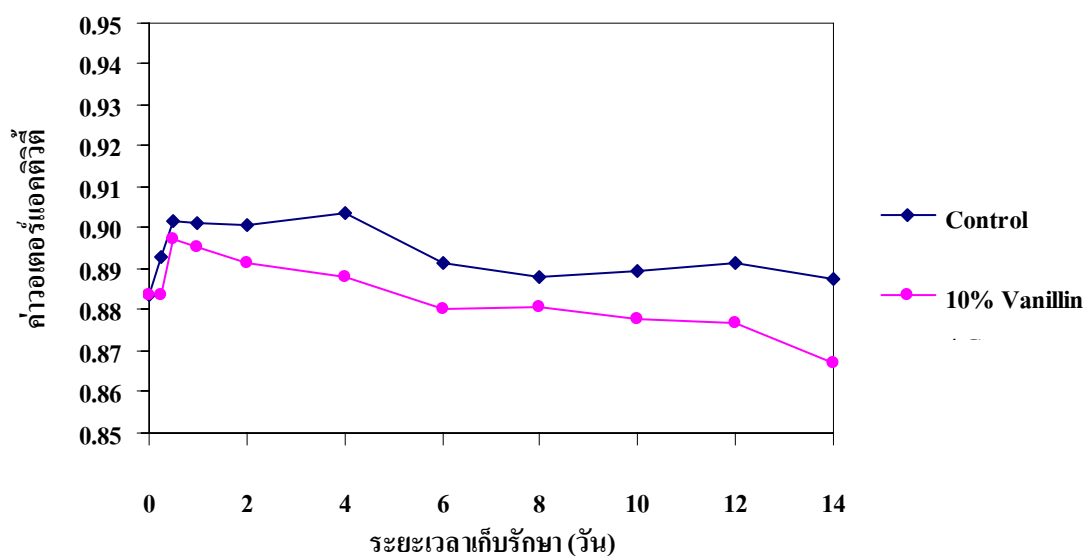
ภาพที่ 18 กล่องกระดาษที่ใช้ในการบรรจุเค็กม้วนระหว่างการเก็บรักษา (ก) ลักษณะก่อนการบรรจุเค็กม้วน (ข) ลักษณะการบรรจุเค็กม้วน

#### 7.1.1 ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค็กม้วน

ในการทดลองบรรจุเค็กม้วนไส้ครีม ด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ซึ่งผลิตจากกระดาษแข็ง Duplex board ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ผลการวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค็กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าเค็กม้วนมีค่าวอเตอร์แอคทีวิตีเริ่มต้นเท่ากับ 0.88 ระหว่างการทดลองเค็กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา มีค่าวอเตอร์แอคทีวิตีค่อนข้างคงที่ โดยในช่วงแรกมีค่าวอเตอร์แอคทีวิตีเท่ากับ 0.88 จากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.89 ในวันที่ 3 ของการทดลอง และมีค่าลดลงมาเป็น 0.88 ในวันที่ 4-7 เท่ากับตอนเริ่มต้น ส่วนผลการวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค็กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ พบว่ามีค่าต่ำกว่าค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค็กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา โดยมีค่าวอเตอร์แอคทีวิตีค่อนข้างคงที่เท่ากับ 0.88 และลดลงเล็กน้อยในวันที่ 2 เป็น 0.87 จากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.88 ในวันที่ 4-6 และกลับมาลดลงอีกครั้งในวันที่ 7 เป็น 0.87 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลอง แสดงดังภาพที่ 19



(ก)



(ข)

ภาพที่ 19 ค่าออกฤทธิ์เอนไซม์ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา และกล่องกระดาษด้าน  
 จุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10  
 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ  $4 \pm 2$   
 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ระหว่างการทดลองต่ำกว่าเค้กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา โดยค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันทั้งที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์และกล่องกระดาษธรรมดามีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนมากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส คือ ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.88 เป็น 0.90 ในวันที่ 4 และมีค่าลดลงเป็น 0.89 ในวันที่ 6 และมีค่าคงที่ไปจนถึงวันที่ 14 ในขณะที่ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันที่บรรจุในกล่องธรรมดา คือ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกจาก 0.88 เป็น 0.90 ในวันที่ 1 ของการทดลอง จากนั้นในวันที่ 2 ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ลดลงเหลือ 0.89 และคงที่ไปจนถึงวันที่ 4 ในวันที่ 6-12 พบว่าค่าวอเตอร์แอกติวิตี้มีค่าคงที่เท่ากับ 0.88 และมีค่าลดลงอีกครั้งในวันที่ 14 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลองโดยมีค่าเท่ากับ 0.87 แสดงดังภาพที่ 19

ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของเค้กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษทั้ง 2 ชนิด คือ กล่องกระดาษธรรมดาและกระดาษด้านจุลินทรีย์ มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ในช่วงประมาณ 0.87-0.90 สอดคล้องกับ Guynot *et al.* (2005) ศึกษาการใช้ฮาร์ดเคิลเทคโนโลยี (hurdle technology) ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา ซึ่งเป็นสาเหตุในการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีความชื้นปานกลาง มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ในช่วง 0.80-0.90 โดยศึกษาการใช้สารกันบูดประเภทกรดอ่อนที่ระดับต่าง ๆ รวม กับค่าพีเอชระหว่าง 4.5-5.5 พบว่าค่าพีเอชและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้มีผลต่อประสิทธิภาพของสารกันบูดในการต้านการเจริญของเชื้อรา

จากผลการทดลองค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ระหว่างการเก็บรักษามีแนวโน้มคงที่ หรือค่อนข้างลดลงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ขนมเค้กเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้สูง เมื่อเก็บไว้ในสภาวะบรรยากาศปกติ ทำให้เกิดการถ่ายเทความชื้นระหว่างเค้กกับสภาพแวดล้อม และระหว่างเนื้อเค้กชั้นใน และส่วนที่เป็นไส้กับเปลือกนอกของเค้ก โดยการเปลี่ยนแปลงความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้เป็นผลจากการถ่ายเทของไอน้ำระหว่างอาหารกับอากาศที่ล้อมรอบ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นกับความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของอาหาร รวมทั้งความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิของอากาศในระหว่างการเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิคงที่ หากค่าความดันไอน้ำสมดุลของอาหารสูงกว่าความดันไอน้ำที่มีจริงในอากาศ จะทำให้เกิดการถ่ายเทไอน้ำจากอาหารไปสู่อากาศ ส่งผลให้ความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของอาหารลดลง ซึ่งกระบวนการถ่ายเทไอน้ำ

ระหว่างอาหารกับอากาศจะดำเนินอย่างต่อเนื่องจนถึงภาวะสมดุล คือ ความดันไอน้ำของอาหาร เท่ากับความดันไอน้ำที่มีจริงในอากาศ เช่นเดียวกับการถ่ายเทไอน้ำระหว่างเนื้อเค้กและไส้ครีม ซึ่งไอน้ำจะเคลื่อนที่จากบริเวณที่มีความดันไอน้ำสูงไปยังบริเวณที่ที่มีความดันไอน้ำที่ต่ำกว่า คือจากไส้ครีมซึ่งมีความชื้นสูงไปสู่เนื้อเค้ก ทำให้เนื้อเค้กมีการสะสมไอน้ำไว้และมีการถ่ายเทไปสู่เปลือกนอกของเค้ก ซึ่งมีความชื้นและความดันไอน้ำต่ำกว่า สอดคล้องกับ งามทิพย์ (2550) อธิบายว่า ผลึกน้ำตาลขมอบเป็นผลึกน้ำตาลที่มีความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีสูง โดยขนมปังอบที่สุกใหม่ๆ จะมีความชื้นของเนื้อขนมสูงประมาณร้อยละ 45 และอุณหภูมิประมาณ 98 องศาเซลเซียส ในขณะที่เปลือกนอกมีความชื้นต่ำประมาณร้อยละ 2 แต่อุณหภูมิสูงประมาณ 150 องศาเซลเซียส ขณะปล่อยให้อุณหภูมิลดลง ไอน้ำจากเนื้อขนมปังจะเคลื่อนออกมาที่ผิวและออกไปสู่อากาศ ทำให้ความชื้นของเนื้อลดลง แต่ความชื้นของเปลือกนอกจะเพิ่มขึ้น ถ้าไม่มีการบรรจุที่เหมาะสมอาจทำให้เนื้อขนมแห้งแข็ง ในขณะที่เปลือกนอกแฉะและเหนียว และจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตาม ค่าวอเตอร์แอกติวิตีของผลึกน้ำตาลจะไม่คงที่ และมีการเปลี่ยนแปลงตลอดกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา (Vytrasova *et al.*, 2002)

งามทิพย์ (2550) กล่าวว่าค่าวอเตอร์แอกติวิตีเป็นค่าที่บ่งบอกถึงคุณภาพของผลึกน้ำตาลอาหาร ซึ่งอาหารแต่ละชนิดจะมีค่าวอเตอร์แอกติวิตีวิกฤตที่ทำให้คุณภาพของอาหารเสื่อมเสีย เล็กเป็นผลึกน้ำตาลที่มีความชื้นปานกลางจนถึงสูง ง่ายต่อการสูญเสียความชื้น ซึ่งจะทำให้คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื้อเค้กจะมีลักษณะแห้งและแข็ง มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีวิกฤตอยู่ในช่วง 0.50-0.80

นอกจากนี้ค่าวอเตอร์แอกติวิตียังเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเสื่อมเสียคุณภาพของอาหารทางด้านจุลินทรีย์อีกด้วย เนื่องจากเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต รวมทั้งใช้ในการทำงานของเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ การเกิดปฏิกิริยาเคมีและชีวเคมี ซึ่งความชื้นในอาหารเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอที่จะบ่งบอกถึงคุณภาพและการเสื่อมเสียของอาหารได้ เนื่องจากอาหารบางชนิดเสื่อมเสียได้ง่ายแม้จะมีความชื้นต่ำ ค่าวอเตอร์แอกติวิตีที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน โดยทั่วไปแบคทีเรียจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีสูง ตั้งแต่ 0.91 ยกเว้นบางสายพันธุ์ เช่น *Streptococcus* และ *Micrococcus* ที่เจริญที่ค่าวอเตอร์แอกติวิตี 0.86 ในขณะที่ยีสต์และราสามารถเจริญในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีต่ำกว่าแบคทีเรีย คือ ประมาณ 0.88 และ 0.80 ตามลำดับ ยกเว้น ยีสต์บางสายพันธุ์ที่สามารถเจริญที่ค่าวอเตอร์แอกติวิตีต่ำ 0.60-0.62 เช่น ออสโมฟิลิกยีสต์ (วรารุติ, 2538)

### 7.1.2 ความชื้นของกล่องกระดาษ

ผลการตรวจวัดปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษที่ใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์เค้ก ม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าความชื้นเริ่มต้นของกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีค่าเท่ากับร้อยละ 7.72 และ 7.42 ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษทั้งสองชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ในวันที่ 7 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่าเท่ากับร้อยละ 8.20 และ 8.12 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์กับกล่องกระดาษธรรมดา พบว่ากล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณความชื้นต่ำกว่ากล่องกระดาษธรรมดาตลอดอายุการเก็บรักษา

สำหรับผลการตรวจวัดปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษที่ใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์เค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่ามีลักษณะการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในทิศทางเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส คือ ปริมาณความชื้นของกระดาษเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษในวันที่ 14 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษา พบว่าปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีค่าเท่ากับร้อยละ 9.15 และ 8.80 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 15 อย่างไรก็ตามค่าความชื้นของกล่องกระดาษที่วัดได้จากการทดลองมีค่าไม่เกินร้อยละ 10 ตามค่าความชื้นในการผลิตกระดาษแข็งโดยทั่วไป (มอก.283-2521)

กระดาษเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติในการต้านทานน้ำและไอน้ำต่ำ สามารถดูดความชื้น การสภาพแวดล้อมได้ง่าย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นระหว่างการเก็บรักษาได้ง่าย ซึ่งเป็นผลจากสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิ ในสถานะที่ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงโอกาสที่กระดาษจะดูดความชื้นจะสูงขึ้น เนื่องจากปริมาณไอน้ำในอากาศสูงจะเกิดการถ่ายเทมวลของไอน้ำไปสู่กระดาษได้สูงกว่าในสถานะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ สอดคล้องกับ Anonymous (2009e) อธิบายว่าความชื้นในกระดาษกับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมีความสัมพันธ์กัน โดยความชื้นในกระดาษที่อยู่สถานะหนึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามสถานะความชื้นสัมพัทธ์เกิดการเปลี่ยนแปลง และการเปลี่ยนแปลงจะสิ้นสุดเมื่อเกิดความชื้นสมดุลขึ้น โดยความชื้นในกระดาษที่สมดุลจะมีค่าประมาณ 1 ใน 10 ของความชื้นสัมพัทธ์ในเวลานั้น ดังนั้นการวางกระดาษที่มีความชื้นร้อยละ 6 ในห้องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 กระดาษจะไม่เปลี่ยนแปลงความชื้น แต่ถ้านำกระดาษที่มีความชื้นร้อยละ 4 วางในห้องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 จะทำให้กระดาษดูด

ความชื้นเข้าไปจนมีความชื้นที่ร้อยละ 6 ซึ่งเป็นความชื้นสมดุลทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการผลิตกระดาษมีขั้นตอนการตีเส้นใยเพื่อให้แตกกระจายในน้ำเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการประสานกันของเส้นใยโดยมีน้ำเป็นตัวกลางในการประสาน แต่การประสานที่เกิดขึ้นเป็นแบบไม่ถาวร และจากการที่เส้นใยเยื่อเป็นวัตถุดิบที่ชอบน้ำ ดังนั้นเมื่ออากาศมีความชื้นเพิ่มขึ้นเส้นใยเยื่อจะดูดซับความชื้นและทำให้การประสานของเส้นใยเกิดการคลายตัว ทำให้กระดาษเกิดการยืดตัวและความแข็งแรงของกระดาษลดลง ในทางกลับกันเมื่อความชื้นในอากาศลดลง เส้นใยเยื่อจะคายความชื้นออกมาทำให้กระดาษเกิดการหดตัว มีความแข็งและกรอบเพิ่มขึ้น และมีค่าความแข็งแรงบางค่าลดลง

Kirwan (2005) ความชื้นในกระดาษ มีผลต่อความแข็งแรงของกระดาษ โดยค่าความแข็งแรงส่วนใหญ่จะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อค่าความชื้นมีการเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามทิศทางของเส้นใยในกระดาษเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการดูดซับความชื้นจากสิ่งแวดล้อม พบว่ากระดาษในทิศทาง CD จะมีแนวโน้มที่จะเกิดการพองตัวเนื่องจากการดูดซับความชื้นจากสิ่งแวดล้อมได้ง่ายกว่ากระดาษในทิศทาง MD

จากผลการทดลองปริมาณความชื้นในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีค่าต่ำกว่าปริมาณความชื้นในกล่องกระดาษธรรมดา อาจเป็นผลมาจากการเคลือบกระดาษด้วยสารเคลือบวานิลินแอลกอฮอล์ ซึ่งวานิลินเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายในน้ำต่ำหรือไม่ชอบน้ำ ทำให้กระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารดังกล่าวมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำไปด้วย สอดคล้องกับวนพร (2549) ศึกษาปริมาณความชื้นของกระดาษกราฟที่ไม่ได้เคลือบเทียบกับกระดาษกราฟที่หลังเคลือบด้วยออกซิไดซ์สตาร์ชและแคตไอออนิกสตาร์ช พบว่ากระดาษกราฟที่หลังเคลือบด้วยสตาร์ชดัดแปรทั้งสองชนิดมีความชื้นเพิ่มขึ้น โดยความชื้นของกระดาษกราฟที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากสตาร์ชซึ่งสามารถดูดซับความชื้นจากสภาพแวดล้อมได้บางส่วนและจากกระดาษกราฟเองที่สามารถดูดซับความชื้นได้เช่นกันในสถานะที่มีความชื้นสูง

ดังนั้นคุณสมบัติของสารเคลือบที่ใช้ในการเคลือบกระดาษจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษ โดยกระดาษที่ผ่านการเคลือบจะมีคุณสมบัติในการดูดน้ำเช่นเดียวกับสารเคลือบที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการเคลือบ คือ เมื่อใช้สารเคลือบที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำจะทำให้กระดาษมีคุณสมบัติในการดูดน้ำลดลง เนื่องจากสารเคลือบดังกล่าวจะแทรกตัวเข้าไปในรูพรุนของกระดาษ และบางส่วนกระจายอยู่บนผิวหน้าของกระดาษทำหน้าที่กั้นไม่ให้กระดาษสัมผัสกับความชื้นโดยตรง ในทางกลับกันเมื่อใช้สารเคลือบที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ กระดาษเคลือบที่ได้จะมี

คุณสมบัติในการดูดน้ำเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณความชื้นของกระดาศเป็นผลร่วมกันระหว่างสารเคลือบและกระดาศซึ่งมีความสามารถในการดูดน้ำในสถานะที่ความชื้นสูงได้เช่นกัน

เมื่อพิจารณาถึงสถานะในการเก็บรักษาแก้วม้วนระหว่างการทดลอง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสถานะในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณความชื้น โดยกล่องกระดาศทั้งสองชนิดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีปริมาณความชื้นสูงกว่ากล่องกระดาศที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษามีความสัมพันธ์กับค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความชื้นสัมพัทธ์จะมีค่าลดลง ในทางกลับกันเมื่ออุณหภูมิลดลงความชื้นสัมพัทธ์จะมีค่าเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณไอน้ำในอากาศหรือสภาพแวดล้อมมากขึ้น เป็นสาเหตุทำให้กระดาศสามารถดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อมได้มากกว่าในสถานะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ นอกจากนี้ลักษณะของการเก็บรักษาที่แตกต่างกันส่งผลต่อค่าความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศระหว่างเก็บรักษาเช่นกัน ลักษณะในการเก็บรักษาแก้วม้วนไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้องมีลักษณะเป็นสถานะเปิดมีการถ่ายเทและไหลเวียนของอากาศภายในห้อง ทำให้อากาศในอากาศมีโอกาสเคลื่อนย้าย หรือกระจายตัวได้อย่างอิสระมากขึ้นทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการเก็บไว้ในตู้เย็นหรือห้องเย็น ลักษณะในการเก็บรักษาเป็นสถานะปิดทำให้อากาศในอากาศ มีพื้นที่ในการกระจายตัว หรือไหลเวียนได้จำกัด เกิดการอึดตัวของไอน้ำได้ง่ายและอาจเกิดการควบแน่นของไอน้ำได้ ส่งผลให้มีค่าความชื้นสัมพัทธ์สูง

ทวี และคณะ (2542) ศึกษาการออกแบบสร้างชุดทดลองเครื่องลดความชื้นด้วยระบบ ทำความเย็นโดยใช้สารทำความเย็น R-134a เนื่องจากปัญหาที่เกิดในอุตสาหกรรม เกี่ยวกับความชื้นสัมพัทธ์สูงในอากาศมีผลต่อกระบวนการการผลิตของอุตสาหกรรมหลายประเภท จึงได้ทำการใช้หลักการทำความเย็นมาลดความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ โดยวิธีการควบแน่นซึ่งเป็นวิธีหนึ่งในการแยกปริมาณไอน้ำออกจากอากาศในห้องทดลอง โดยทำการทดลองการลดความชื้นในห้องปิดซึ่งอากาศภายในห้องทดลองมีความชื้นสัมพัทธ์สูงและเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความชื้นสัมพัทธ์ โดยใช้วัสดุจากธรรมชาติ วัสดุคัดแปลงจากธรรมชาติ เช่น ข้าวเปลือก ไม้ กระดาศ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความชื้นสัมพัทธ์มีผลแปรผกผันกัน โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความชื้นสัมพัทธ์จะลดต่ำลง

ตารางที่ 17 ปริมาณความชื้นของกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาเก็บมวลที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ความชื้น <sup>1</sup> (ร้อยละ)        |                               |                                      |                               |
|----------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|
|                            | อุณหภูมิ $25 \pm 2$<br>(องศาเซลเซียส) |                               | อุณหภูมิ $4 \pm 2$<br>(องศาเซลเซียส) |                               |
|                            | ตัวควบคุม                             | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม                            | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ |
| 0                          | $7.72 \pm 0.38^a$                     | $7.42 \pm 0.39^a$             | $7.72 \pm 0.38^a$                    | $7.42 \pm 0.39^a$             |
| 0.25                       | $7.94 \pm 0.65^a$                     | $7.86 \pm 0.34^{ab}$          | $8.07 \pm 0.38^{ab}$                 | $7.79 \pm 0.28^{ab}$          |
| 0.5                        | $8.06 \pm 0.11^a$                     | $7.91 \pm 0.44^{ab}$          | $8.07 \pm 0.24^{ab}$                 | $7.86 \pm 0.16^{bc}$          |
| 1                          | $8.10 \pm 0.24^a$                     | $7.88 \pm 0.46^{ab}$          | $8.09 \pm 0.22^{ab}$                 | $7.90 \pm 0.24^{bc}$          |
| 2                          | $8.05 \pm 0.84^a$                     | $7.89 \pm 0.20^{ab}$          | $8.14 \pm 0.29^b$                    | $7.96 \pm 0.35^{bc}$          |
| 3                          | $8.08 \pm 0.31^a$                     | $7.96 \pm 0.48^b$             | -                                    | -                             |
| 4                          | $8.17 \pm 0.83^a$                     | $8.01 \pm 0.36^b$             | $8.32 \pm 0.04^{bc}$                 | $8.03 \pm 0.33^{bc}$          |
| 6                          | $8.20 \pm 0.33^a$                     | $8.13 \pm 0.17^b$             | $8.47 \pm 0.33^{bcd}$                | $8.25 \pm 0.33^{cd}$          |
| 7                          | $8.20 \pm 0.18^a$                     | $8.12 \pm 0.15^b$             | -                                    | -                             |
| 8                          | -                                     | -                             | $8.56 \pm 0.26^{cd}$                 | $8.26 \pm 0.17^{cd}$          |
| 10                         | -                                     | -                             | $8.83 \pm 0.32^{df}$                 | $8.49 \pm 0.26^{df}$          |
| 12                         | -                                     | -                             | $9.09 \pm 0.17^f$                    | $8.53 \pm 0.32^{df}$          |
| 14                         | -                                     | -                             | $9.15 \pm 0.32^f$                    | $8.80 \pm 0.37^f$             |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a-f</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

-ไม่ได้ทำการทดลอง

Anonymous (2009f) อธิบายว่าความชื้นสัมพัทธ์เปลี่ยนแปลงเมื่ออุณหภูมิของอากาศมีการเปลี่ยนแปลง ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำลง ในทางกลับกันเมื่ออุณหภูมิลดลงค่าความชื้นสัมพัทธ์ก็จะเพิ่มขึ้น ในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำอากาศจะเต็มไปด้วยมวลของไอน้ำ และทำให้อากาศมีความชื้นสัมพัทธ์สูง ดังนั้นความสัมพัทธ์ของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เป็นแบบแปรผกผันกัน คือ ความชื้นสัมพัทธ์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

## 7.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

จากการทดลองบรรจุเค้กม้วนด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ซึ่งเคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) โดยทำการเตรียมกล่องกระดาษแสดงดังภาพที่ 18 จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 และ 7 และอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 โดยตรวจคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เค้ก 4 ชนิด ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา จำนวน *S. aureus* และ *B. cereus*

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเค้กม้วน พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษทั้งสองชนิด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นเท่ากับ  $2.54 \log \text{ cfu/กรัม}$  โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในการทดลองเป็นไปตามเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องน้อยกว่า  $1 \times 10^6$  โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ  $6 \log \text{ cfu/กรัม}$  โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น พบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนได้ กล่าวคือ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเค้กม้วนตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณน้อยกว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา (ตัวควบคุม) มีค่าเท่ากับ  $6.29 \log \text{ cfu/กรัม}$  และ  $6.92 \log \text{ cfu/กรัม}$  ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา มีค่าเกินค่ามาตรฐานของจุลินทรีย์ทั้งหมดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์และกล่องกระดาษธรรมดา พบว่ากล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาเค้กม้วน

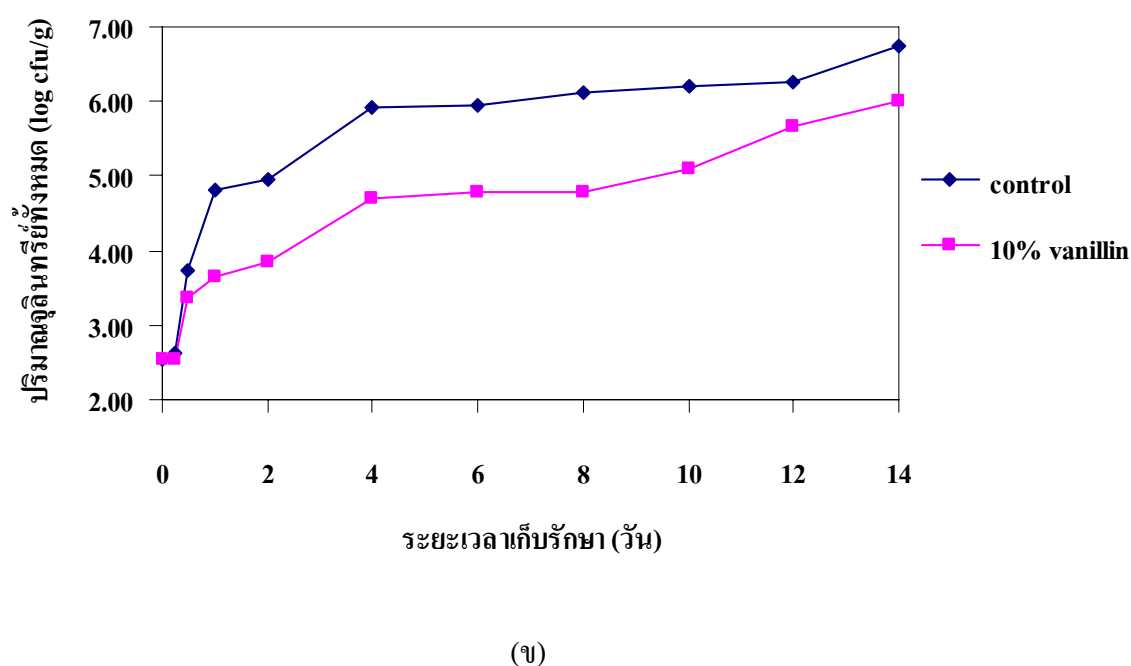
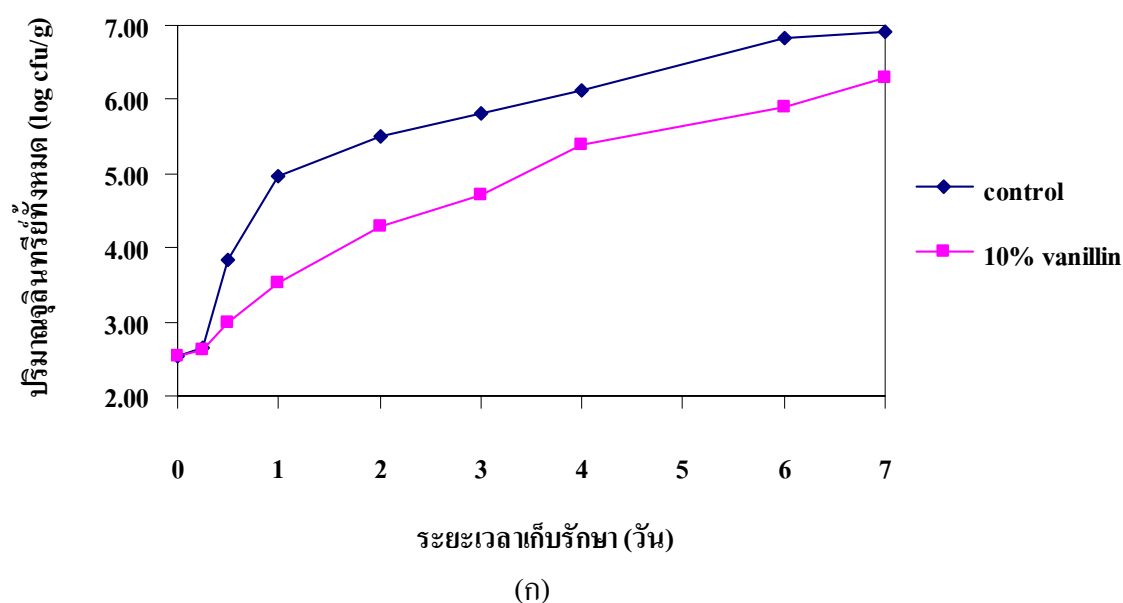
ให้ยาวนานขึ้นจากเดิมเมื่อบรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา มีอายุการเก็บรักษา 3 วัน มีปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ  $5.80 \log \text{ cfu/กรัม}$  แต่เมื่อบรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์เคลือบมีอายุ การเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 6 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ  $5.89 \log \text{ cfu/กรัม}$  ดังนั้นกระดาษ ด้านจุลินทรีย์สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนออกไปได้ 3 วัน แสดงดังภาพที่ 20

เมื่อเก็บรักษาเค้กม้วนไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าตลอดอายุการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่อัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตลอด อายุการเก็บรักษาต่ำกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทำให้มีอายุการเก็บรักษา ที่ยาวนานกว่า โดยเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มี ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตลอดอายุการเก็บรักษา 14 วัน เท่ากับ  $6.75 \log \text{ cfu/กรัม}$  และ  $6.01 \log \text{ cfu/กรัม}$  ตามลำดับ เพื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีอายุการเก็บรักษา เท่ากับ 6 และ 12 วัน โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ  $5.94 \log \text{ cfu/กรัม}$  และ  $5.65 \log \text{ cfu/กรัม}$  ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ดังนั้นกระดาษด้านจุลินทรีย์จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของ เค้กม้วนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ได้เพิ่มขึ้น 6 วัน แสดงดังภาพที่ 20

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบ ด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) จะช่วยด้านการเจริญของจุลินทรีย์ ในเค้กม้วนได้ โดยส่งผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาลดลง และ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนให้เพิ่มขึ้นได้ และพบว่าการเก็บรักษาเค้กม้วนไว้ที่ อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้มากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ช่วยเสริม ประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ สอดคล้องกับ งามทิพย์ (2538) กล่าวว่า การควบคุมอุณหภูมิการเก็บรักษาให้ต่ำและคงที่มากที่สุด ตลอดระยะเวลาตั้งแต่ผู้ผลิตไปจนถึงผู้บริโภคจะช่วยด้านการเจริญของจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ได้ใน ระดับหนึ่งและช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้

Guynot *et al.* (2005) พบว่าในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขนมอบ ด้วยการแช่ เย็นร่วมกับการใช้สารต้านจุลินทรีย์จะเป็นการช่วยเสริมประสิทธิภาพกัน โดยสารต้านจุลินทรีย์เป็น ปัจจัยหลักในการยืดอายุการเก็บรักษา หรือช่วยให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย

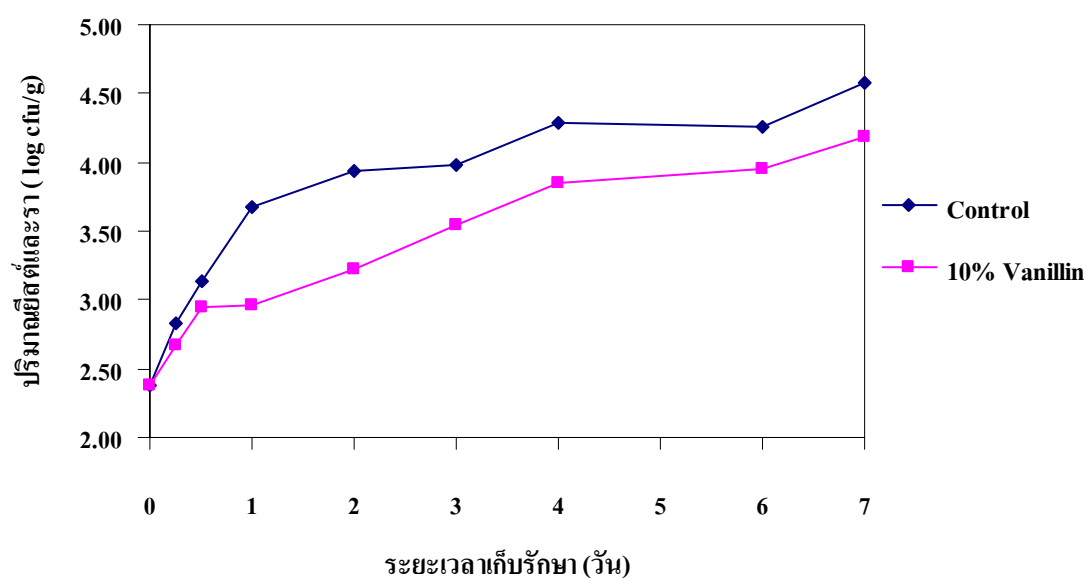
เจริญช้าลง การใช้ 2 เทคโนโลยีร่วมกัน จะเป็นการทำงานเสริมกันในการต้าน หรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์



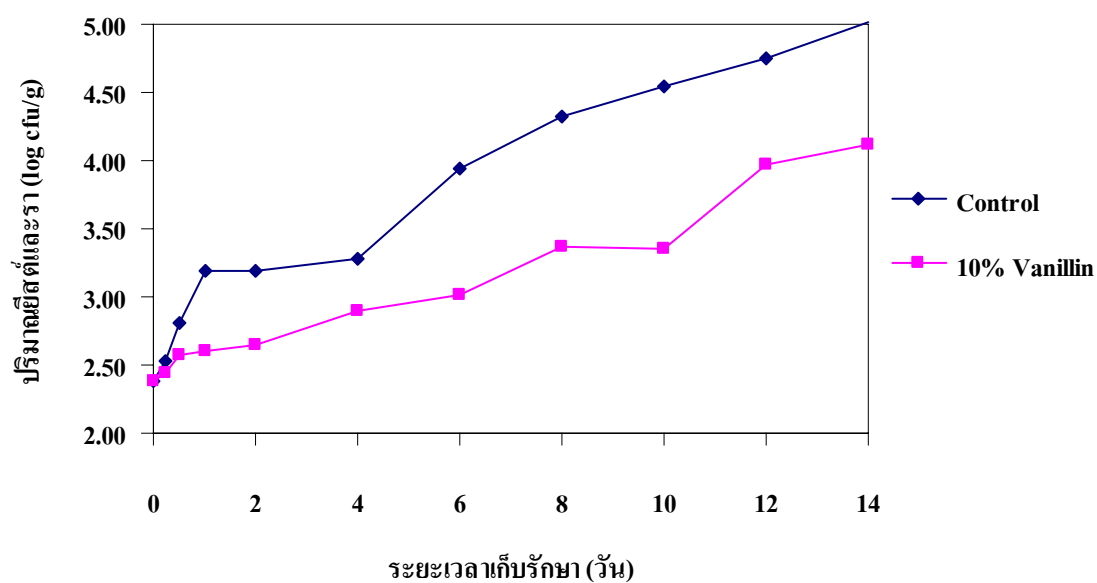
ภาพที่ 20 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียสและ (ข) อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษทั้งสองชนิด คือ กล่องกระดาษธรรมดา (ตัวควบคุม) และกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) มีปริมาณยีสต์และราเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีปริมาณยีสต์และราเริ่มต้นเท่ากับ  $2.38 \log \text{cfu/กรัม}$  ซึ่งเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่ากล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ในเค้กม้วน ทำให้เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณยีสต์และราน้อยกว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา คือ ตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $4.58 \log \text{cfu/กรัม}$  และ  $4.18 \log \text{cfu/กรัม}$  ตามลำดับ โดยระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดามีอายุในการเก็บรักษา 3 วัน มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $3.99 \log \text{cfu/กรัม}$  ในขณะที่เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีอายุการเก็บรักษา 6 วัน มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $3.95 \log \text{cfu/กรัม}$  ดังนั้นการบรรจุเค้กม้วนด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนเพิ่มขึ้น 3 วัน โดยมีปริมาณยีสต์และราน้อยกว่า  $1 \times 10^4$  โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ  $4 \log \text{cfu/กรัม}$  ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) แสดงดังภาพที่ 21

เมื่อเก็บรักษาเค้กม้วนไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณยีสต์และราตลอดอายุการเก็บรักษาน้อยกว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา โดยมีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $5.04 \log \text{cfu/กรัม}$  และ  $4.11 \log \text{cfu/กรัม}$  ตามลำดับ และพบว่าเค้กม้วนที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษานานกว่าเก็บที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส คือ เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาที่มีอายุการเก็บรักษา 6 วัน มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $3.94 \log \text{cfu/กรัม}$  ในขณะที่เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีอายุการเก็บรักษา 12 วัน มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ  $3.97 \log \text{cfu/กรัม}$  ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ที่กำหนดมาตรฐานของยีสต์และราว่าต้องน้อยกว่า  $1 \times 10^4$  โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ  $4 \log \text{cfu/กรัม}$  ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 21



(ก)



(ข)

ภาพที่ 21 ปริมาณยีสต์และราของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้าน  
 จุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่  
 (ก) อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

จิตรนา และอรอนงค์ (2539) กล่าวว่าผลิตภัณฑ์ขนมอบ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมเสียได้ง่ายเนื่องจากยีสต์และเชื้อรา การเสื่อมเสียดังกล่าว มีสาเหตุมาจากการเก็บรักษาไม่ดีพอ โดยสาเหตุของการปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราจากวัตถุดิบมีน้อยมาก เนื่องจากวัตถุดิบดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการหลายขั้นตอน นอกจากนั้นในขั้นตอนสุดท้ายยังต้องผ่านเตาอบซึ่งมีอุณหภูมิสูง ซึ่งไม่มีเชื้อราใดๆ สามารถทนทานได้ และทำให้เชื้อราตายทั้งหมดตายได้ ดังนั้นปัญหาหลักของการปนเปื้อนของสปอร์เชื้อรา เป็นสาเหตุมาจาก สถานที่ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หลังการอบ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการหั่น เครื่องบรรจุและการบรรจุ วิธีป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อรา คือ รักษาความสะอาดและสุขลักษณะ และเก็บรักษาในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ รวมทั้งควรทำให้ผลิตภัณฑ์เย็นลงอย่างรวดเร็วภายหลังการอบ นอกจากนี้อาจจะมีการใช้สารเคมีบางชนิด โดยใช้ในปริมาณที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เพื่อเป็นช่วยชะลอการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 2-3 วัน

เชื้อราที่พบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์ขนมอบ รวมทั้งเค้กและขนมปัง ได้แก่ *Rhizopus nigricans* หรือเรียกว่า ราขนมปัง (bread mold) มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวและมีสปอร์แรงเจียเป็นจุดดำๆ เรียกว่า ราดำ และ *Aspergillus niger* ซึ่งมีคอนิเดียสีดำ สีม่วงออกน้ำตาล สีดำ และสีเหลือง โดยเชื้อราดังกล่าวจะซึมเข้าสู่เนื้อขนมปัง หรือผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใกล้เคียง (งามทิพย์, 2550; Hebeda and Zobel, 1996) สอดคล้องกับ วราวุฒิ (2538) พบว่า เชื้อรา *Rhizopus nigricans* และ *Aspergillus flavus-oryzae* เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากธัญพืช ขนมปัง และผลิตภัณฑ์ขนมอบ

Abellana et al. (1997) พบว่าเชื้อราในกลุ่ม *Eurotium*, *Aspergillus* และ *Penicillium* เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีความชื้นปานกลาง ในขณะที่ Marin et al. (2002) พบว่า *Aspergillus spp.* และ *Aspergillus eorylophilum* จะไม่เจริญบนผิวหน้าของเค้กในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีประมาณ 0.88 ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเติมสารกันบูดก็ตาม

จากการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา ในผลิตภัณฑ์เค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งมีค่า วอเตอร์แอกติวิตีอยู่ในช่วง 0.87 -0.90 โดยพบว่าในช่วงแรกของระยะเวลาในการเก็บรักษา สาเหตุในการเน่าเสียของเค้กเป็นผลมาจากยีสต์ เนื่องจากไม่พบการเจริญของเชื้อราในระหว่างการเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ และประกอบกับการสังเกตการณ์เจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งพบว่าการเก็บรักษาเค้กม้วนที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 3 วันแรก เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษทั้ง 2 ชนิด ไม่พบการ

เจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วน แต่ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุด้วย กล่องกระดาษธรรมดามีการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้า แสดงดังภาพที่ 23 และมีการเจริญของเชื้อราเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ในขณะที่เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้าน จุลินทรีย์ พบว่าเริ่มมีการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามค่า วอเตอร์แอกติวิตีของเค้กม้วนที่เก็บที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ก่อนข้างคงที่อยู่ในระดับ 0.88 ซึ่งพบว่าเป็นช่วงที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus spp.* ซึ่งสอดคล้องกับ Marin *et al.* (2002) พบว่า *Aspergillus spp.* และ *Aspergillus eorylophilum* จะไม่เจริญในสภาวะที่มี ค่าวอเตอร์แอกติวิตีประมาณ 0.88 ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเติมสารกันบูดก็ตาม ดังนั้นเชื้อราที่เจริญบน ผิวหน้าของเค้กม้วนส่วนใหญ่คาดว่าเป็นเชื้อรา *Rhizopus nigricans* และเมื่อทำการเจียเชื้อรา ดังกล่าวไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามียีสต์เป็นเส้นใยสีขาว และมีสปอร์แรงเจียเป็นจุดดำ ๆ แสดงดังภาพที่ 22 ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อรา *Rhizopus nigricans*

ลักษณะการเจริญของเชื้อราและยีสต์ที่พบในเค้กม้วน ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีลักษณะเดียวกับเค้กม้วนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส แต่พบการเจริญ ของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กช้ากว่า คือ เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา เริ่มพบการ เจริญของเชื้อราบนผิวหน้าเค้กหลังระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน ในขณะที่เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่อง กระดาษด้านจุลินทรีย์เริ่มพบการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าเค้กในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา แสดง ดังภาพที่ 24 ดังนั้นในช่วงแรกของการเก็บรักษาของเค้กม้วนที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ซึ่งยังไม่พบการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าเค้ก พบว่าสาเหตุหลักที่ทำให้เค้กม้วนเน่าเสีย คือ ยีสต์ เนื่องจากในช่วงแรกของการเก็บรักษาเค้กม้วนมีค่าวอเตอร์แอกติวิตีค่อนข้างสูง คือ อยู่ในช่วง 0.88-0.90 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ส่วนใหญ่ สอดคล้องกับ วราวุฒิ (2538) กล่าวว่ายีสต์ส่วนใหญ่สามารถเจริญในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีในช่วง 0.87-0.94 ในขณะที่ เชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีในช่วง 0.70-0.80 ดังนั้นเมื่อ ระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งพบว่าค่าวอเตอร์แอกติวิตีของเค้กม้วนมีค่าลดลง ส่งผลให้มีการ เจริญของเชื้อราระหว่างการเก็บรักษา

เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ ซึ่งเคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) พบว่ามีอายุการเก็บรักษาที่นานกว่า เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่อง กระดาษธรรมดา ทั้งนี้เป็นผลมาจากวานิลลินที่เติมลงไปในการเตรียมสารเคลือบ โดยวานิลลินเป็น สารต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อรา และยีสต์ ได้เป็นอย่างดี (Cerrutti and Alzamora, 1996; Fitzgerald *et al.*, 2003; Rupasinghe *et al.*, 2006; Sangsuwan *et al.*, 2008)

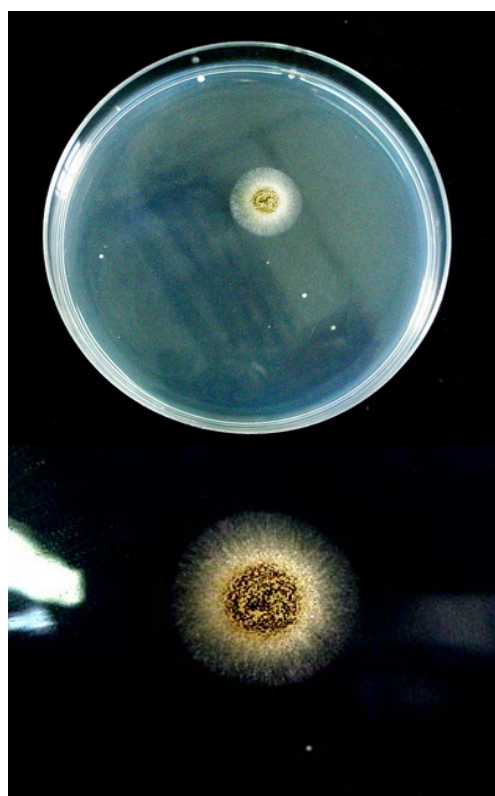
Lopez-Malo *et al.* (1995) ศึกษาประสิทธิภาพของวานิลลินในการต้านการเจริญของ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* และ *Aspergillus parasiticus* ในอาหารแข็งที่ใช้ผลไม้เป็นส่วนประกอบหลัก พบว่าสามารถต้านการเจริญของเชื้อราได้เป็นเวลา 2 เดือน

Matamoros-Leon *et al.* (1999) ใช้วานิลลินความเข้มข้น 3 mM ร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบทความเข้มข้น 2 mM ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium* 3 ชนิด ได้แก่ *Penicillium digitatum*, *Penicillium glabrum* และ *Penicillium italicum* ซึ่งเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ในสถานะที่มีค่าพีเอช 3.5 และมีค่าออกซิเจนแอคทีวิตี เท่ากับ 0.98 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้นาน 1 เดือน

Lopez-Malo *et al.* (2005) ศึกษาการผลของค่าออกซิเจนแอคทีวิตี (0.99 หรือ 0.95) พีเอช (4.5 หรือ 3.5) และสารต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ โพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) โซเดียมไบซัลไฟต์ (sodium bisulfite) คาร์วาคโรล (carvacrol) ซิตรัล (citral) ยูจีนอล (eugenol) ไทมอล (thymol) หรือ วานิลลิน (vanillin) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 1800 ppm ร่วมกัน ในการต้านการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) โดยติดตามเวลาในการงอกของสปอร์ของเชื้อรา และอัตราการเจริญของรสปิของเชื้อรา พบว่าการลดค่าพีเอช หรือค่าออกซิเจนแอคทีวิตี มีผลต่อการลดลงของรสปิในการเจริญของเชื้อราเป็นอย่างมาก และช่วยชะลอระยะเวลาในการงอกของสปอร์เชื้อราลงได้ และเมื่อความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก็จะเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชมีผลต่อประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ น้อยกว่าสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมี โดยพบว่า *Aspergillus flavus* มีความไวต่อไทมอล ยูจีนอล คาร์วาคโรล โพแทสเซียมซอร์เบท โซเดียมไบซัลไฟต์ และโซเดียมเบนโซเอต มากกว่าวานิลลิน ในสถานะที่มีค่าพีเอช เท่ากับ 3.5

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราในเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และกล่องกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส สามารถสรุปได้ว่าในระยะแรกของการเก็บรักษาเค้กม้วนไว้ที่อุณหภูมิทั้ง 2 พบว่าในช่วงแรกของการเก็บรักษาซึ่งมีค่าออกซิเจนแอคทีวิตีค่อนข้างสูง จะมีการเจริญของยีสต์เป็นส่วนใหญ่ และเมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และเค้กม้วนมีค่าออกซิเจนแอคทีวิตีลดลงจะพบการเจริญของเชื้อราบน

ผิวหนังของกุ้งซึ่งในระยะเวลาที่พบการเจริญของเชื้อราจะเป็นช่วงระยะเวลาที่กุ้งม้วนดังกล่าวหมดอายุการเก็บรักษาแล้ว นอกจากนี้ยังพบว่า การเก็บรักษากุ้งม้วนไว้ที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่า คือ ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส จะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของกุ้งม้วนออกไปได้นานกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารต้านจุลินทรีย์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะเป็นการเสริมประสิทธิภาพกันระหว่าง 2 เทคโนโลยี ซึ่งจะเป็นการช่วยชะลอการเน่าเสียของกุ้งม้วน จากยีสต์และเชื้อราออกไปได้ โดยกุ้งม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาด้านจุลินทรีย์จะมีอายุการเก็บรักษาที่นานกว่า กุ้งม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาดธรรมดา เนื่องจากวานิลลินที่เติมลงไปในการละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์จะแสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของยีสต์และราได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของกุ้งม้วนออกไปได้นานกว่าการบรรจุกุ้งม้วนด้วยกล่องกระดาดธรรมดา



ภาพที่ 22 เชื้อรา *Rhizopus nigricans* ที่พบบนผิวหนังของกุ้งม้วนระหว่างการเก็บรักษา และนำไปบ่มเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar



(ก)



(ข)

ภาพที่ 23 ลักษณะปรากฏของเค้กม้วนและการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่บรรจุด้วย (ก) กล่องกระดาษธรรมดา (ข) กล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์



(ก)



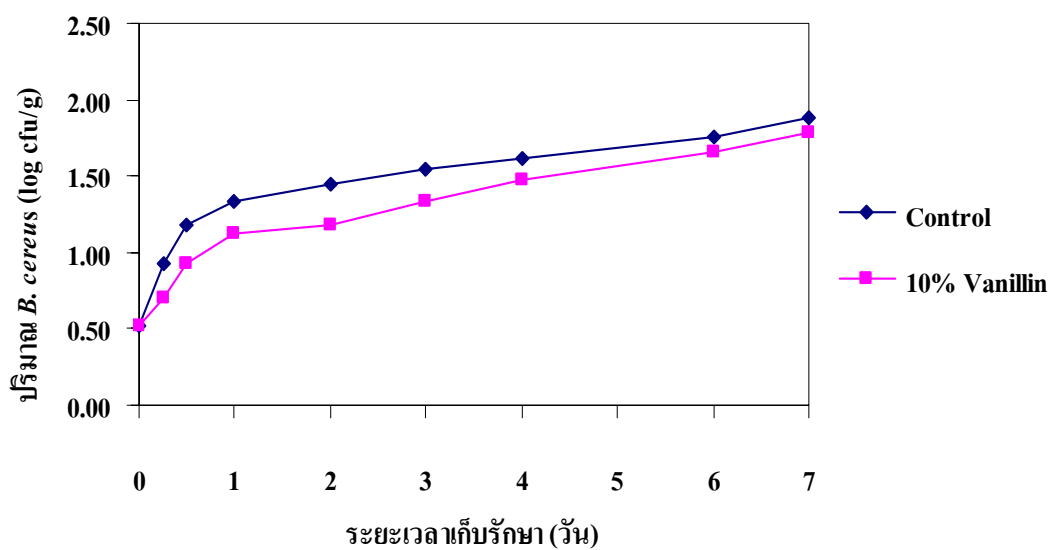
(ข)

ภาพที่ 24 ลักษณะปรากฏของเค้กม้วนและการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่บรรจุด้วย (ก) กล่องกระดาษธรรมดา (ข) กล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์

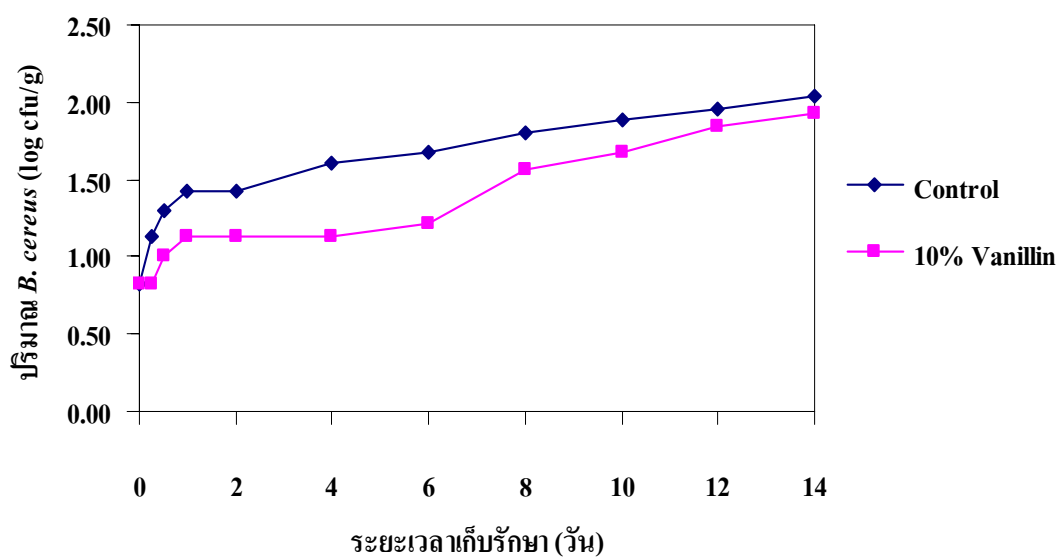
การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วน พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษ ทั้ง 2 ชนิด เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีปริมาณ *B. cereus* เริ่มต้นเท่ากับ  $0.52 \log \text{cfu/กรัม}$  โดยปริมาณเชื้อ *B. cereus* จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อ *B. cereus* ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน มีค่าเท่ากับ  $1.88 \log \text{cfu/กรัม}$  และ  $1.79 \log \text{cfu/กรัม}$  ซึ่งมีปริมาณอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ที่กำหนดมาตรฐานของเชื้อ *B. cereus* ว่าต้องน้อยกว่า 200 โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ  $2 \log \text{cfu/กรัม}$  แสดงให้เห็นว่ากล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *B. cereus* ได้ ส่งผลให้เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* น้อยกว่าในเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา

เช่นเดียวกันกับเค้กม้วนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ตลอดการเก็บรักษา 14 วัน พบว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* น้อยกว่าเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา คือ มีค่าเท่ากับ 1.92 และ 2.04 ตามลำดับ จากผลการทดลองปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนที่บรรจุในกระดาษธรรมดาเป็นเวลา 7 วันมีปริมาณสูงกว่าเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) แสดงดังภาพที่ 25

จิตรนา และอรอนงค์ (2539) กล่าวว่า การเสื่อมเสียของขนมปังและผลิตภัณฑ์ขนมอบจากเชื้อแบคทีเรีย เกิดขึ้นเนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ และสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถทนความร้อนภายในเตาอบได้ ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียจะเจริญเติบโตภายในผลิตภัณฑ์ และจะทำลายสาร โปรตีนและสแตร์ภายในผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิดกลิ่นเน่า มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติคล้าย ๆ กับสับปะรดที่สุกเกินไป เนื้อภายในจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ หรือสีดำ มีลักษณะเหนียว สีของเปลือกนอกจะมีสีแดง อย่างไรก็ตามพบว่าในปัจจุบัน ลักษณะการเน่าเสียดังกล่าวไม่ค่อยพบ เนื่องจากสามารถป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวส่วนใหญ่จะอยู่ในดินและในบรรยากาศ ดังนั้นสาเหตุหลักของการเน่าเสียจากแบคทีเรียจึงมาจากวัตถุดิบที่ไม่สะอาด



(ก)



(ข)

ภาพที่ 25 ปริมาณ *Bacillus cereus* ของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

Hebeda and Zobel (1996) พบว่าโดยทั่วไปแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมอบเน่าเสีย ได้แก่ *Bacillus mesentericus* และ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ขนมปังเน่าเสีย เกิดยางหนืด เหนียว หรือที่เรียกว่า โรป (ropiness) โดยสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทนทานต่ออุณหภูมิในการอบผลิตภัณฑ์ และอยู่รอดหลังการอบ ขณะที่รอให้ขนมอบเย็นตัวลง หรือระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามพบว่า การเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ขนมอบ หรือเค้กที่มีไส้ครีมเป็นสาเหตุมาจาก *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Salmonella* (งามทิพย์, 2538)

Schmedemann (2007) ทำการสำรวจคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ขนมอบในประเทศออสเตรเลีย พบว่าในปี 2001-2005 มีประชากรป่วยเนื่องจากเชื้อ *Salmonella Typhimurium* จำนวนมาก ดังนั้นจึงทำการสุ่มตรวจคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยทำการตรวจวัดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *Salmonella* spp. โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค และเป็นตัวชี้วัดครชนิในด้านสุขอนามัย เพื่อใช้ในการกำหนดมาตรฐานทางด้านสุขอนามัยของผลิตภัณฑ์ขนมอบ ในการสำรวจพบว่าผลิตภัณฑ์ขนมอบส่วนใหญ่ ไม่พบการเจริญของ *Salmonella* sp. และ *S. aureus* ในระดับที่เป็นอันตราย โดยผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมแต่งครีมภายหลังการอบ มักจะพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในปริมาณที่สูง ดังนั้นอุณหภูมิในการอบผลิตภัณฑ์จึงเป็นปัจจัยสำคัญในการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้การลดค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ให้ต่ำลงจะช่วยลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียลงได้ รวมถึงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่ต่ำ หรืออุณหภูมิแช่เย็น และการรักษาสุขอนามัยระหว่างขั้นตอนขนส่ง และขั้นตอนการเตรียม เป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยลดปัญหาการเน่าเสียจากแบคทีเรียลงได้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษทั้ง 2 ชนิด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าตลอดอายุการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ยกเว้นปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่มีอายุการเก็บรักษา 14 วัน จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงว่าเชื้อ *B. cereus* ไม่ใช่สาเหตุหลักในการเน่าเสียของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้เนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเค้กม้วนที่ใช้ในการทดสอบนี้ มีคุณภาพสูง และมีการควบคุมคุณภาพอย่างเข้มงวด จึงมีโอกาที่จะมีการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ได้ยาก ส่งผลให้มีเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นน้อย และเมื่อผ่าน

กระบวนการอบัตราการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวต่ำ ส่งผลให้เชื้อ *B. cereus* มีโอกาสที่จะทำให้แก็กมันเกิดการเน่าเสียระหว่างการเก็บรักษาความเป็นไปได้น้อยด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของแก็กมันระหว่างการเก็บรักษาซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.87-0.90 เป็นสถานะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ซึ่งปกติสถานะที่เหมาะสมในการเจริญของ *B. cereus* คือ มีค่าวอเตอร์แอคทีวิตีอยู่ระหว่าง 0.92-0.95 (วรารุณี, 2538)

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของแก็กมัน พบว่าแก็กมันที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีปริมาณ *S. aureus* เริ่มต้นเท่ากับ 0 log cfu/กรัม โดยปริมาณเชื้อ *S. aureus* จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตลอดอายุการเก็บรักษา 7 วัน แก็กมันที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์มีปริมาณเท่ากับ 2.12 log cfu/กรัม และ 1.86 log cfu/กรัม ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของแก็กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของเชื้อ *S. aureus* ว่าต้องน้อยกว่า 200 โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ 2 log cfu/กรัม ในขณะที่แก็กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาไม่อยู่ในเกณฑ์ โดยวันที่มีเชื้อ *S. aureus* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ วันที่ 4 มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 1.93 log cfu/กรัม เช่นเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส โดยปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตลอดอายุการเก็บรักษา 14 วัน แก็กมันที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดามีปริมาณเชื้อ *S. aureus* มากกว่าแก็กมันที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 2.2 log cfu/กรัม และ 1.85 log cfu/กรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของแก็กมันที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมที่อยู่เกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) คือ วันที่ 10 โดยมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 1.88 log cfu/กรัม แสดงดังภาพที่ 26

บุญกร (2550) *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น โคโลนีมีสีเหลือง หรือทอง ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชที่เหมาะสมคือ 7-7.5 ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีต่ำที่สุดสำหรับการเจริญในสภาพมีออกซิเจนมีค่าประมาณ 0.86 และในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนมีค่าประมาณ 0.90 เชื้อชนิดนี้บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ผลิตสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) สามารถพบได้ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหาร

และนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ อาหารที่มักพบเชื้อชนิดนี้ ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด ผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น

Meldrum *et al.* (2006) ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภค ที่วางจำหน่ายในเวลล์ ประเทศอังกฤษ ระหว่างปี 2003-2005 โดยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอ *Escherichia coli*, *Listeria spp.*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ต่ำ ได้แก่ แล็กคริม คัสตาร์ดหั่นบาง และแซนวิชไข่มายองเนส และผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์สูง ได้แก่ ผลไม้แห้ง โดยอาหารที่มีครีมเป็นส่วนประกอบจะเน่าเสียได้ง่าย และพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในปริมาณสูง พบว่าแล็กคริมมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *B. cereus* ในปริมาณที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค คือ มีปริมาณ *E. coli* มากกว่าหรือเท่ากับ 100 โคโลนีต่อกรัม มีปริมาณ *S. aureus* ระหว่าง  $10^{-2}$  ถึงน้อยกว่า  $10^{-4}$  โคโลนีต่อกรัม และมีปริมาณ *B. cereus* ระหว่าง  $10^{-4}$  ถึงน้อยกว่า  $10^{-5}$  โคโลนีต่อกรัม

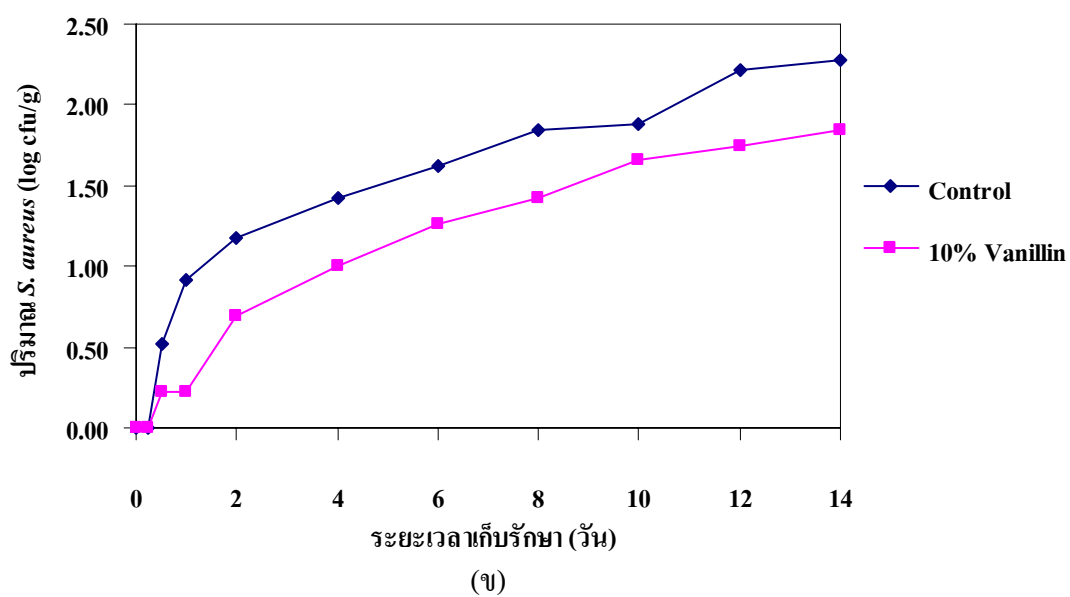
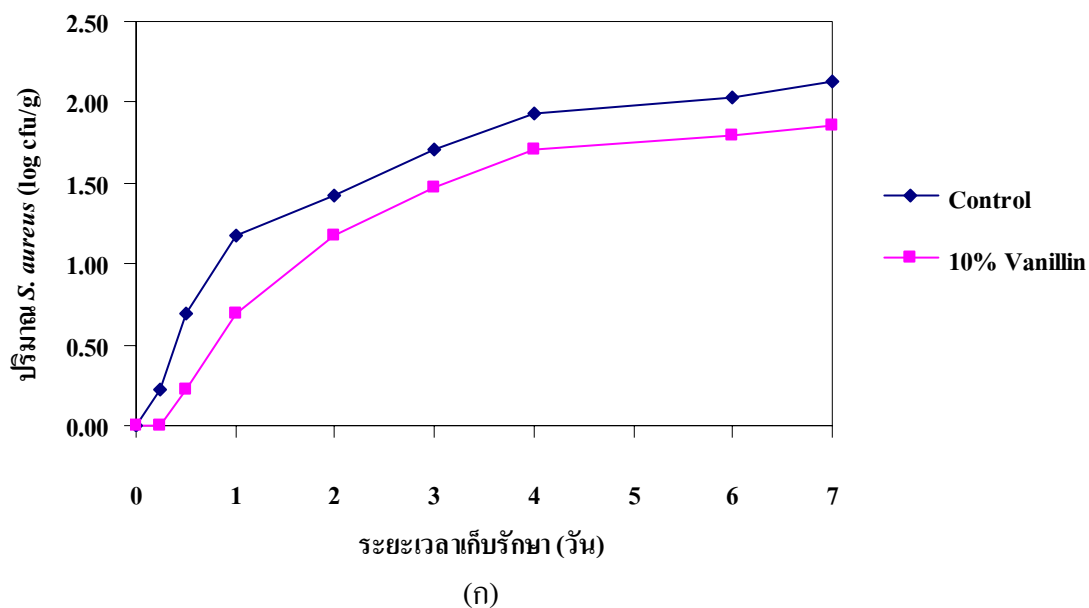
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์เค้กม้วน พบว่ามีปริมาณเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 0 log cfu/กรัม แสดงว่าเค้กม้วนที่ใช้ในการทดสอบมีสุขลักษณะที่ดี และมีคุณภาพสูง จึงไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว หรือมีการปนเปื้อนในปริมาณที่น้อยมาก แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณ *S. aureus* ในเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องทั้ง 2 ชนิด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณ *S. aureus* เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจาก *S. aureus* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่บ่งบอกถึงสุขอนามัย โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้แรงงานคนในการเตรียมมักพบการปนเปื้อนของ *S. aureus* เนื่องจากมีสุขลักษณะที่ไม่ดีระหว่างการประกอบอาหาร โดยปกติผลิตภัณฑ์อาหารและวัตถุดิบมักไม่พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* แต่มักเกิดการปนเปื้อนข้าม หรือที่เรียกว่า cross-contamination จากคนไปสู่อาหาร จากสภาวะแวดล้อม หรืออุปกรณ์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะไปสู่อาหาร อย่างไรก็ตามระหว่างการเก็บรักษาพบว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* ยังอยู่ในเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ซึ่งกำหนดมาตรฐานของเชื้อ *S. aureus* ว่าต้องน้อยกว่า 200 โคโลนีต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม หรือเท่ากับ 2 log cfu/กรัม ยกเว้นเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดาที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน และเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วัน ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาที่พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์ และรา รวมทั้งปริมาณ *B. cereus* และ *S. aureus* เกินเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของ

อาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ซึ่งแสดงว่าเค้กม้วนดังกล่าวหมดอายุแล้ว

นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของผลิตภัณฑ์เค้กม้วนที่ใช้ในการทดสอบมีลักษณะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากมีไส้ครีม และมีค่าวอเตอร์แอกติวิตีในช่วง 0.87-0.90 จึงเหมาะสมต่อการเจริญของ *S. aureus* ซึ่งเจริญได้ดีในสภาวะที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีระหว่าง 0.84-0.92 (วรารุณี, 2538) อย่างไรก็ตามจากผลการทดสอบ พบว่าการเก็บรักษาเค้กม้วนไว้ที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่า คือ ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเจริญของ *S. aureus* ให้ช้าลงได้ จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนออกไปได้นานกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สอดคล้องกับ งานทิพย์ (2550) ที่อธิบายว่า *S. aureus* สามารถเจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีหรือไม่มีอากาศ สามารถสร้างสารพิษ enterotoxin ซึ่งทนทานความร้อนได้สูง และทำให้เกิดโรคท้องร่วง การเก็บรักษาอาหารไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการเจริญเติบโต และการสร้างสารพิษของ *S. aureus* ได้

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เค้กม้วน พบว่าบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์จากกระดาษแข็ง Duplex Board ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียสได้ โดยสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กม้วนให้ยาวนานขึ้น และเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากใช้สารด้านจุลินทรีย์ที่มาจากธรรมชาติ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นวัสดุบรรจุในการผลิตกล่องกระดาษ หรือบรรจุภัณฑ์ในลักษณะอื่น ๆ ในการบรรจุ ปกป้อง และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขนมอบหรือผลิตภัณฑ์อาหารอื่น ๆ ได้

ในการนำบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์จากกระดาษแข็งที่เคลือบด้วยสารเคลือบวานิลลินไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร จะต้องคำนึงถึงคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภคประกอบด้วย เนื่องจากวานิลลินเป็นสารที่สามารถระเหยได้ และมีกลิ่นรส ซึ่งอาจจะมีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์อาหารที่บรรจุ (Moon *et al.*, 2006; Rupasinghe *et al.*, 2006; Rojas-Grau *et al.*, 2007) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่อเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) เปรียบเทียบกับเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 26 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่ (ก) อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และ (ข) อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

### 7.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) เปรียบเทียบกับเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9 point hedonic scale) ซึ่งเป็นการทดสอบความชอบหรือการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค กำหนดช่วงคะแนน คือ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 2 = ไม่ชอบมาก, 3 = ไม่ชอบปานกลาง, 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย, 5 = เฉย ๆ / บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่, 6 = ชอบเล็กน้อย, 7 = ชอบปานกลาง, 8 = ชอบมาก และ 9 = ชอบมากที่สุด เพื่อทดสอบว่าผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์เค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์หรือไม่ โดยใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 15 คน ซึ่งแต่ละคนจะต้องทดสอบในแต่ละตัวอย่างเป็นจำนวน 2 ครั้ง และทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคะแนนเฉลี่ยของเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษธรรมดา และเค้กม้วนที่บรรจุในกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยใช้การทดสอบด้วยค่า t-test แบบกลุ่มตัวอย่างมีความสัมพันธ์กัน (dependent samples) ผลการทดสอบที่ได้ แสดงดังตารางที่ 18

ผลการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าคะแนนความชอบหรือการยอมรับผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 0-3 เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างคะแนนความชอบหรือการยอมรับเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และในวันที่ 4 และ 6 ของการเก็บรักษาทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ เพื่อประเมินคะแนนความชอบหรือการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค พบว่าในวันที่ 6 มีคะแนนความชอบ หรือการยอมรับประมาณ 4 คะแนน แสดงว่าผู้ทดสอบไม่ชอบผลิตภัณฑ์เล็กน้อย อย่างไรก็ตามในวันที่ 4 และ 6 ไม่ได้ทำการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา เนื่องจากพบว่าการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้ก สอดคล้องกับผลการทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ซึ่งมีปริมาณเกินเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536)

สำหรับการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าคะแนนความชอบหรือการยอมรับผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 0-5 เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างคะแนนความชอบ หรือการยอมรับเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ในวันที่ 6 พบว่าคะแนนความชอบ หรือการยอมรับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และในวันที่ 8, 10 และ 12 ของการเก็บรักษา ทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ เพื่อประเมินคะแนนความชอบ หรือการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค พบว่าในวันที่ 12 มีคะแนนความชอบ หรือการยอมรับประมาณ 4 คะแนน แสดงว่าผู้ทดสอบไม่ชอบผลิตภัณฑ์เล็กน้อย อย่างไรก็ตามในวันที่ 8, 10 และ 12 ของการเก็บรักษา ไม่ได้ทำการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา เนื่องจากพบว่ามีกรณีการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของเค้ก สอดคล้องกับผลการทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์ และรา ซึ่งมีปริมาณเกินเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536)

จากการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วน พบว่าโดยภาพรวมเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ มีคะแนนความชอบ หรือการยอมรับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับ Cerrutti and Alzamora (1996) พบว่าวานิลลินเป็นสารให้กลิ่นรส ที่ใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม เครื่องดื่ม ช็อคโกแลต ลูกอม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เค้ก พุดดิ้ง และคุกกี้ ดังนั้นการใช้วานิลลิน จึงไม่ทำให้การรับรู้กลิ่นรส ทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคผิดเพี้ยนไป

วานิลลินที่เติมลงไปในการเตรียมสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีกลิ่นรสที่หอมหวานและเข้ากันได้ดีกับผลิตภัณฑ์ขนมอบ เนื่องจากวานิลลินเป็นสารให้กลิ่นรสที่ไม่รุนแรง สอดคล้องกับ Korthou and Verpoorte (2007) พบว่าวานิลลินเป็นสารที่มีกลิ่นรสอ่อน ๆ สามารถนำมาใช้เป็นสารต้าน จุลินทรีย์ได้ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของวานิลลินที่มีความสามารถในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ อาจเป็นส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสได้

ตารางที่ 18 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนความชอบของเค็กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2 และ 4±2 องศาเซลเซียส

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน |              |               |                               |              |               |
|----------------------------|---------------------------------------------|--------------|---------------|-------------------------------|--------------|---------------|
|                            | อุณหภูมิ 25 ± 2 (องศาเซลเซียส)              |              |               | อุณหภูมิ 4 ± 2 (องศาเซลเซียส) |              |               |
|                            | Control                                     | 10% Vanillin | ระดับนัยสำคัญ | Control                       | 10% Vanillin | ระดับนัยสำคัญ |
| 0                          | 6.40±1.30                                   | 6.40±1.30    | NS            | 6.40±1.30                     | 6.40±1.30    | NS            |
| 1                          | 6.27±1.53                                   | 6.37±1.67    | NS            | 6.23±1.45                     | 6.23±1.38    | NS            |
| 2                          | 5.20±1.77                                   | 5.33±2.14    | NS            | 5.58±1.96                     | 5.97±1.50    | NS            |
| 3                          | 5.70±1.82                                   | 6.33±1.15    | NS            | -                             | -            | -             |
| 4                          | -                                           | 5.57±1.83    | -             | 6.23±1.50                     | 6.43±1.79    | NS            |
| 6                          | -                                           | 4.83±1.56    | -             | 4.50±2.11                     | 5.97±1.43    | *             |
| 8                          | -                                           | -            | -             | -                             | 6.53±1.41    | -             |
| 10                         | -                                           | -            | -             | -                             | 5.07±1.82    | -             |
| 12                         | -                                           | -            | -             | -                             | 4.17±1.80    | -             |

หมายเหตุ จำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด 15 คน ทดสอบ 2 ครั้ง

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

\* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ไม่ได้ทำการทดสอบ

เมื่อพิจารณาผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้กม้วนของผู้ทดสอบ จากข้อเสนอแนะของผู้ทดสอบ พบว่ามีผู้ทดสอบเพียงเล็กน้อยที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา และเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ได้ โดยระบุว่าเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดามีกลิ่นของกระดาษ หรือกลิ่นที่ไม่เป็นที่พึงประสงค์ ในขณะที่เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ พบว่ามีผู้ทดสอบบางส่วนที่สามารถรับรู้ถึงกลิ่นของวานิลลิน ซึ่งมีกลิ่นเหมือนกลิ่นวานิลลา และให้คะแนนความชอบ หรือการยอมรับในระดับสูง แสดงว่ามีผู้บริโภคเพียงบางส่วนเท่านั้น ที่มีความไวต่อการรับรู้กลิ่นรส ของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการใช้กล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบวานิลลินในการบรรจุเค้กม้วนมีแนวโน้มเป็นที่ยอมรับ โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกลิ่นรสเพียงเล็กน้อย ซึ่งเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค สอดคล้องกับ Char *et al.* (2009) ซึ่งศึกษาผลของวานิลลินในการด้านการเจริญของ *Listeria innocua* ในกระบวนการผลิตน้ำส้มด้วยความร้อน และได้ทำการศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้ม ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9 point hedonic scale) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 80 คน ผลการทดสอบพบว่าการเติมวานิลลินในน้ำส้มเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อย

จากข้อเสนอแนะของผู้ทดสอบ พบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่สามารถรับรู้ถึงเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษาที่เปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื้อสัมผัสของเค้กจะมีความแข็งมากขึ้น ทั้งนี้เกิดการสูญเสียความชื้นภายในเนื้อเค้กระหว่างการทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับค่าอัตราการเหี่ยวแห้งของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งค่อนข้างคงที่ในช่วงแรกของการเก็บรักษา และมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสโดยรวมของเค้กม้วนระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบหรือการยอมรับ และข้อเสนอแนะของผู้ทดสอบร่วมกัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเค้ก ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลง หรือความแตกต่างของเนื้อสัมผัสของเค้กมากกว่าการเปลี่ยนแปลงหรือความแตกต่างทางด้านกลิ่นรส

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารละลายวานิลลินที่ใช้ไคเมทิลซัลฟอกไซด์เป็นตัวทำละลายและความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธีการเจือจางในหลุมวุ้น เป็นการยืนยันว่าวานิลลินเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* โดยมีความเข้มข้นต่ำที่สุดใน การต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) และขนาดของบริเวณ ด้านจะมีขนาดใหญ่มากขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของวานิลลินเพิ่มมากขึ้น วานิลลินมีประสิทธิภาพใน การต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ตามลำดับ

2. การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารเคลือบจากวานิลลิน ได้แก่ สารละลาย วานิลลินในแอลกอฮอล์ และสารละลายวานิลลินในไคโตซาน และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถ ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารเคลือบจากวานิลลินทั้ง 2 ชนิด ด้วยวิธีการเจือจางในหลุมวุ้น สารเคลือบทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* โดยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์จะ แสดงประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ในลักษณะเดียวกับวานิลลิน คือ มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ได้ดีกว่า แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ตามลำดับ โดยมีความ เข้มข้นต่ำสุดในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เท่ากับร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก) ในขณะที่สารละลายวานิลลินในไคโตซาน มีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของ จุลินทรีย์ทดสอบแตกต่างกัน โดยมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้ดี ที่สุด มีค่า MICs เท่ากับ ร้อยละ 0.625 (โดยน้ำหนัก) รองลงมา คือ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ตามลำดับ มีค่า MICs เท่ากัน คือ ร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) โดยขนาดของ บริเวณด้านจะมีขนาดใหญ่มากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มมากขึ้น

3. การเตรียมกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผสมวานิลลิน ได้แก่ สารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) และ สารละลายวานิลลินในไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) โดยการเคลือบสารเคลือบทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ บนกระดาษแข็ง Duplex Board ด้านหลัง (ด้านสีเทา) ด้วยวิธีการเคลือบด้วยแปรง ลักษณะปรากฏของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ได้จากการเคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในไคโตซานไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค คือ สารเคลือบไม่สามารถซึมหรือแทรกตัวเข้าไปในรูพรุนของกระดาษ ทำให้สารเคลือบดังกล่าวมีการจับตัวคล้ายโครงสร้างร่างแห มีลักษณะเป็นผลึกเส้นใย และมีสีเหลือง ในขณะที่กระดาษแข็งที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์มีลักษณะปรากฏคล้ายกับกระดาษที่ไม่ผ่านการเคลือบ และสีของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่ผ่านการเคลือบมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่เพิ่มขึ้น

4. การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ ทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธีการแพร่ผ่านช่องว่างเหนือวุ้น และวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ทุกระดับความเข้มข้นสามารถด้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และประสิทธิภาพในการด้านการเจริญของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น

5. ทดสอบสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 20 (โดยน้ำหนัก) พบว่ากระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ มีคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้น ได้แก่ น้ำหนักมาตรฐาน ความหนา ความชื้น และค่าสี อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานในการผลิตกระดาษแข็งทั่วไป (มอก.283-2521) โดยความชื้นของกระดาษด้านจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ในขณะที่น้ำหนักมาตรฐานและความหนาของกระดาษมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ค่าสีของกระดาษด้านจุลินทรีย์มีค่าความสว่าง หรือค่า  $L^*$  น้อยกว่ากระดาษที่ไม่ได้เคลือบ ยกเว้นกระดาษด้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินในแอลกอฮอล์ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) ในขณะมีค่า  $a^*$  และ ค่า  $b^*$  มากกว่ากระดาษที่ไม่ได้เคลือบ โดยค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อ

ความเข้มข้นของสารเคลือบเพิ่มขึ้น ทำให้ลักษณะปรากฏทางด้านสีของกระดาษมีแนวโน้มเป็นแดง หรือสีเหลืองเพิ่มขึ้น และมีความสว่างลดลงเล็กน้อย

6. ศึกษาการประยุกต์ใช้กระดาษด้านจูลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารละลายวานิลลินใน แอลกอฮอล์ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยนำกระดาษด้านจูลินทรีย์ที่เตรียมได้ ผลิตเป็นกล่องและใช้บรรจุเค้กม้วน พบว่ากระดาษด้านจูลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการต้านการ เจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และเป็นสาเหตุทำให้เค้กเน่าเสียได้ทุกชนิด โดยการเก็บรักษาเค้ก ม้วนที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส มีการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเค้กม้วนจากปกติที่ใช้กล่องจากกระดาษธรรมดาได้ จากเดิม 6 วัน เป็น 12 วัน ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส และจากเดิม 3 วัน เป็น 6 วัน ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส สำหรับการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบให้ คะแนนความชอบ หรือการยอมรับผลิตภัณฑ์เค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องด้านจูลินทรีย์ และเค้กม้วนที่ บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95

#### ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาอัตราการปลดปล่อยของสารด้านจูลินทรีย์ในกระดาษ เนื่องจากอัตราการปลด ปล่อยของสารด้านจูลินทรีย์ในวัสดุบรรจุ ไปยังอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ การ ควบคุมอัตราการปลดปล่อยของสารด้านจูลินทรีย์ในกระดาษด้านจูลินทรีย์ให้เหมาะสมกับลักษณะ การเจริญของจุลินทรีย์จะเป็นการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. ศึกษาวิธีการในการผลิตกระดาษด้านจูลินทรีย์ ให้สามารถผลิตได้จริงในอุตสาหกรรม เนื่องจากในการทดลองในห้องปฏิบัติการเป็นการผลิตกระดาษด้านจูลินทรีย์ด้วยวิธีการเคลือบด้วย แปร่ง จึงควรศึกษาวิธีการเคลือบอื่น ๆ โดยวิธีการในการเคลือบจะต้องไม่ส่งผลกระทบต่อ ประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารด้านจูลินทรีย์ที่ใช้ในการเตรียมสารเคลือบ

3. ศึกษาวิธีการเก็บรักษากระดาษด้านจูลินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถรักษาคุณภาพ ทางกายภาพ และประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจาก กระดาษเป็นวัสดุที่ไวต่อการดูดและคายความชื้น ทำให้มีโอกาสที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และคุณสมบัติระหว่างการเก็บรักษาได้ง่าย

4. ศึกษาการประยุกต์ใช้กระดาด้านจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความหลากหลายมากขึ้น โดยต้องเลือกชนิดและคุณสมบัติของอาหารให้เหมาะสมกับสารด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส และมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ในขณะที่ยังสามารถคงคุณค่าทางโภชนาการ และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. เกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. สธ. 0524/5756.

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2538. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ลิ้นคอรัน โปรโมชั่น, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_. 2550. การบรรจุอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท เอส.พี.เอ็ม. การพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ชินวัฒน์ ทองซัซ. 2548. ไบโพลิเมอร์กับการใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. แหล่งที่มา: [http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp\\_4\\_2548\\_biopolymer.pdf](http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp_4_2548_biopolymer.pdf), 18 เมษายน 2551.

ทวี ภู่วรรณ, ชีระพงศ์ เจริญเยาว์ และรัฐพงศ์ ศาสตร์สนิท. 2542. ชุดทดสอบเครื่องลดความชื้นด้วยระบบทำความเย็น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ธีรพร กงบังเกิด. 2546. จุลชีววิทยาอาหาร. แหล่งที่มา: [http://www.agi.nu.ac.th/agmis/person/view\\_person\\_detail.asp?id=743](http://www.agi.nu.ac.th/agmis/person/view_person_detail.asp?id=743), 18 เมษายน 2551.

นวพร วรรณวิศาล. 2549. ผลของการเคลือบสตาร์ชดัดแปรที่มีต่อสมบัติความแข็งแรงของกระดาษคราฟท์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นรินาม. ม.ป.ป. ปฏิกริยาคายความร้อน. เคมีออนไลน์. แหล่งที่มา: [http://e-chemistry.tripod.com/sasan/s4\\_2.htm](http://e-chemistry.tripod.com/sasan/s4_2.htm), 2 ตุลาคม 2552.

พิสิญ์ ธรรมวิถิ. 2544. การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตแซนผสมโปแตสเซียมซอร์เบตและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ทุเรียนกวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษกร อุดรรักษาติ. 2550. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

มาลิน จุลศิริ. 2542. ยาด้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน, นครปฐม.

ผู้จัดการออนไลน์. 2551. วัตถุดิบเสียที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่. แหล่งที่มา: <http://www.manager.co.th/Qol/ViewNews.aspx?News>, 18 เมษายน 2551.

วราวุฒิ ทรูสง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2522. กระดาษแข็งเพื่อการพิมพ์. มอก. 283-2521.

อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, อุไรวรรณ คิลกณนันทน์, วุฒินันท์ คงทัด, วิชัย หฤทัยธนาสันดีและสุภาณิดา บัวบาน. 2544. การพัฒนากระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้กวน. แหล่งที่มา: [http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC44060 54. pdf](http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC44060%2054.pdf), 18 เมษายน 2551.

Abellana, M., L. Torres, V. Sanchis and A.J. Ramos. 1997. Characteristaion of different industrial bakery products. II. Study of mycobiota. **Alimentaria** 287: 51-56.

Anonymous. 2008a. **Cake**. Bakery Technology. Available Source: <http://coursewares.mju.ac.th/FT449/Lab/Cake/index-cake.htm>, March 30, 2008.

\_\_\_\_\_. 2009a. **Chitosan**. Wikipedia. Available Source: <http://www2.mtec.or.th/th/images/pdf/chitin-chitosan/chapter4.pdf>, March 5, 2009.

Anonymous. 2009b. **Dimethyl sulfoxide**. Wikipedia. Available Source: [http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyl\\_sulfoxide](http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyl_sulfoxide), March 5, 2009.

\_\_\_\_\_. 2009c. **Ethanol**. Wikipedia. Available Source: <http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol>, March 5, 2009.

\_\_\_\_\_. 2009d. **Effect of Chitosan**. e-KMUTT. Available Source: [http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter4\\_7.html](http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter4_7.html), August 26, 2009.

\_\_\_\_\_. 2009e. **Paper Moisture**. Thai Paper Co.,Ltd. Available Source: <http://www.thaipaper.com/faqs.asp?mnu=knowledge&smnu=faqs>, August 20, 2009.

\_\_\_\_\_. 2009f. **Temperature and Moisture**. Temperature-Moisture Relationship. Available Source: [http://ocw.usu.edu/Forest\\_\\_Range\\_\\_and\\_\\_Wildlife\\_Sciences/Wildland\\_Fire\\_Management\\_and\\_Planning/Unit\\_4\\_\\_Temperature-Moisture\\_Relationship\\_4.html](http://ocw.usu.edu/Forest__Range__and__Wildlife_Sciences/Wildland_Fire_Management_and_Planning/Unit_4__Temperature-Moisture_Relationship_4.html), August 20, 2009.

\_\_\_\_\_. 2008b. **Vanillin**. Wikipedia. Available Source: <http://th.wikipedia.org/wiki/9/Vanillin>, March 30, 2008.

Appendini, P. and J. H. Hotchkiss. 2002. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 3: 113-126.

ASTM International. 2004a. Standard Test Methods for Grammage of Paper and Paperboard (Mass Per Unit Area). ASTM D 646-96 (Reapproved 2001). **Annual Book of ASTM Standards** 15.09: 40-44.

ASTM International. 2004b. Standard Test Methods for Moisture Content of Paper and Paperboard by Oven Drying. ASTM D 644-99 (Reapproved 2002). **Annual Book of ASTM Standards** 15.09: 34-36.

\_\_\_\_\_. 2004c. Standard Test Methods for Thickness of Paper and Paperboard. ASTM D645/D 645M-97 (Reapproved 2002). **Annual Book of ASTM Standards** 15.09: 37-39.

Begin, A. and M.R.V. Calsteren. 1999. Antimicrobial films produced from chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules** 26: 63-67.

Ben Arfa, A., S. Combes, L. Preziosi-Belloy, N. Gontard and P. Chalier. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters in Applied Microbiology** 43: 149-154.

Beuchat, L.R. and D.A. Golden. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. **Food Technology** 43: 134-142.

Board, R.G. and G.W. Gould. 1991. Future prospects. In N.J. Russel and G.W. Gould, ed. **Foods Preservatives**. Blackie Academic and Professional, Glasgow and London.

Brul, S. and P. Coote. 1999. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology** 50: 1-17.

Boyce, M.C., P.R. Haddad and T. Sostaric. 2003. Determination of flavour components in natural vanilla extracts and synthetic flavourings by mixed micellar electrokinetic capillary chromatography. **Analytica Chimica Acta** 485: 179-186.

Burri, J., M. Graf, P. Lambelet and J. Loliger. 1989. Vanillin: more than a flavouring agent-a potential antioxidant. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 48: 49-56.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. **International Journal of Food Microbiology** 94: 223-253.
- Caccioni, D.R.L., F. Gardini, R. Lanciotti and M.E. Guerzoni. 1997. Antifungal activity of natural volatile compounds in relation to their vapour pressure. **Science Aliments** 17: 21-34.
- Caner, C., P. Vergano and J. Wiles. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer and storage. **Journal of Food Science** 63: 1049–1053.
- Char, C., S. Guerrero and S.M. Alzamora. 2009. Survival of *Listeria innocua* in thermally processed orange juice as affected by vanillin addition. **Food Control** 20: 67–74.
- Chen, M.C., G.H.C. Yeh and B.H. Chiang. 1996. Antimicrobial and physicochemical properties of methyl cellulose and chitosan films containing a preservative. **Journal of Food Processing Preservation** 20: 279-390.
- Chung, K.T. and C.A. Murdock. 1991. Natural systems for preventing contamination and growth of microorganisms in foods. **Food Structure** 10: 361-374.
- \_\_\_\_\_, W.R. Thomasson and C.D. Wu-Yuan. 1990. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. **Journal of Applied Bacteriology** 69: 498-503.
- Cerrutti, P. and S.M. Alzamora. 1996. Inhibitory effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purees. **International Journal of Food Microbiology** 29: 379-386.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and S.L. Vidales. 1997. Vanillin as an antimicrobial for producing shelf-stable strawberry puree. **Journal of Food Science** 62: 608-610.

- Cestari, A.R., E.F.S. Vieira and C.R.S. Mattos. 2006. Thermodynamics of the Cu (II) adsorption on thin vanillin-modified chitosan membranes. **Journal of Chemical Thermodynamics** 38: 1092-1099
- Davidson, P.M. and A.S. Naidu. 2000. Phyto-phenols. In A.S. Naidu, ed. **Natural Food Antimicrobial Systems**. CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York, Washington, DC.
- Deladino, L., P. S. Anbinder, A. S. Navarro and M. N. Martio. 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. **Carbohydrate Polymer** 71: 126-134.
- Despond, S., E. Espunche, N. Cartier and A. Domard. 2004. Barrier properties of paper-chitosan-carnauba wax films. **Journal of Applied Polymer Science** 98: 704-710.
- Devlieghere, F., L. Vermeiren and J. Debevere. 2004. New preservation technologies: Possibilities and limitation. **International Dairy Journal** 14: 273-285.
- Dyahningtyas, T.E. and B. Bisping. 2008. Antimicrobial Activity of Different Chitosan Fractions Against Spoilage Microorganisms in Seafood. In **Proceedings of the Food Micro 2008 Evolving microbial food quality and safety**. Aberdeen, Scotland.
- Dziezak, J.D. 1989. Spices. **Food Technology** 43: 102-116.
- Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson, J. Ueckert, A. Bos and A. Narbad. 2004a. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. **Journal of Applied Microbiology** 97: 104-113.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson. 2004b. The potential application of vanillin in preventing yeast spoilage of soft drinks and fruit juices. **Journal of Food Protection** 67: 391-395.

- Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson 2003. Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin. **International Journal of Food Microbiology** 86: 113-122.
- Friedman, M., P.R. Henika, C.E. Levin and R.E. Mandrell. 2003. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. **Journal of Food Protection** 65: 1545-1560.
- Gill, A.O., P.J. Delaquis, P. Russo and R.A. Holley. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **International Journal of Food Microbiology** 73: 83-92.
- Goldberg, S., R. Doyle and M. Rosenberg. 1990. Mechanism of enhancement of microbial cell hydrophobicity by cationic polymers. **Journal of Bacteriology** 172: 5650–5654.
- Gould, G. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. **Journal of Food Protection** 59: 82-86.
- Guynot, M.E., A.J. Ramos, L. Seto, P. Purroy, V. Sanchis and S. Martin. 2003. Antifungal activity of volatile compound generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. **Journal of Applied Microbiology** 94: 893-899.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, V. Sanchis and S. Marin. 2005. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). **International Journal of Food Microbiology** 101: 161– 168.
- Jadhav, D., B.N. Rekha, G.R. Parag, R.K. Virendra. 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. **Journal of Food Engineering** 93: 421-426.

Jay, M. J. and G. V. River. 1984. Antimicrobial activity of some food flavoring compounds. **Journal of Food Safety** 6: 129-139.

Kim, D. G., Y. Jeong, C. Choi, S. H. Roh, S. K. Kang, M. K. Jang and J. W. Nah. 2006. Retinol-encapsulated low molecular water-soluble chitosan nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**. 319: 130-138.

Kirwan, Mark J. 2005. **Paper and Paper board Packaging Technology**. 1 ed. Blackwell Publishing Ltd., 9600 Garsington Road Oxford OX4 2DQ, UK.

Hammer, K.A. 1999. Antimicrobial essential oils. **Journal of Applied Microbiology** 86: 985-990.

Han, J.H. 2000. Antimicrobial Food Packaging. **Food Technology** 54: 56-65.

Han, J.H. 2003. Antimicrobial Food Packaging, pp. 50-70. In R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Technique**. Woodhead Publishing, UK.

Hebeda, Ronald E. and Henry F. Zobel. 1996. **Baked goods freshness: technology, evaluation, and inhibition of staling**. 1 ed. Marcel Dekker, Inc, 270 Madison Avenue, New York, New York 10016.

Hili, P., C.S. Evans and R.G. Veness. 1997. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Applied and Environmental Microbiology** 24: 269-275.

Hirano, S. 1996. Chitin biotechnology applications. **Biotechnology Annual Review** 2: 237-258.

- Hirano, S, K. Nagamura, M. Zhanga, S.K. Kimb, B.G. Chungb, M. Yoshikawac and T. Midorikawac. 1999. Chitosan staple fibers and their chemical modification with some aldehydes. **Carbohydrate Polymers** 38: 293-298.
- Hocking, M.B. 1997. Vanillin: synthetic flavoring from spent sulfite liquor. **Journal of Chemical Education** 74: 1055–1059.
- Holley, R.A. and D. Patel. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology** 22: 273 - 292.
- Hosseini, M.H., S. Razavi, S.M.A. Mousavi, S.A.S. Yasaghi and A.G. Hasansaraei. 2008. Improving Antibacterial Activity of Edible Films Based on Chitosan by Incorporating Thyme and Clove Essential Oils and EDTA. **Journal of Applied Sciences** 16: 2895-2900.
- Korthou, H. and R. Verpoorte. 2007. Vanilla, pp. 203–217. In R. G. Berger, ed. **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. Springer, Berlin.
- Kotan, R., F. Dadasoglu, S. Kordali, A. Cakir, N. Dikbas and R. Cakmakci. 2007. Antibacterial activity of essential oils extracted from some medicinal plants, carvacrol and thymol on *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria (Doidge) Dye causes bacterial spot disease on pepper and tomato. **Journal of Agricultural Technology** 3: 299-306.
- Lambert, R.J.W., P.N. Skandamis, P.J. Coote and G.J.E. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology** 91: 453-462.
- Lee, C.H., D.S. An, S.C. Lee, H.J. Park and D.S. Lee. 2004a. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and  $\alpha$ -tocopherol. **Journal of Food Engineering** 62: 323-329.

- Lee, C.H., H.J. Park and D.S. Lee. 2004b. Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. **Journal of Engineering** 65: 527-531.
- Lertsutthiwong, P., S. Chandkrachang, M.M. Nazhad and W.F. Stevens. 2002. Chitosan as a dry strength agent for paper. **Appita Journal** 55: 208-212.
- Lopez-Malo, A., S. M. Alzamora and A. Argaz. 1995. Effect of natural vanillin on germination time and radial growth of moulds in fruit-based agar systems. **Food Microbiology** 12: 213-219.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and E. Palou. 2002. *Aspergillus flavus* dose-response curves to selected natural and synthetic antimicrobials. **International Journal of Food Microbiology** 73: 213-218.
- \_\_\_\_\_. 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **International Journal of Food Microbiology** 99: 119-128.
- Marin, S., M.E. Guynot, V. Sanchis, J. Arbones and A.J.Ramos. 2002. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Penicillium corylophilum* spoilage prevention of bakery products by means of weak-acid preservatives. **Journal of Food Science** 67: 2271-2277.
- Matamoros-Leon, B., A. Argaz and Lopez-Malo, A. 1999. Individual and combined effects of vanillin and potassium sorbate on *Penicillium digitatum*, *Penicillium glabrum* and *Penicillium italicum* growth. **Journal of Food Protection** 62: 540-542.
- Meldrum, R.J., R.M.M. Smith, P. Ellis and J. Garside. 2006. Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. **International Journal of Food Microbiology** 108: 397-400.

- Moon, K., P. Delaquis, P. Toivonenb and K. Stanichb. 2006. Effect of vanillin on the fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in a model apple juice medium and in apple juice. **Food Microbiology** 23: 169-174.
- Mourtzinis, I., S. Konteles, N. Kalogeropoulos and V.T. Karathanos. 2009. Thermal oxidation of vanillin affects its antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chemistry** 114: 791-797.
- Nascimento, G.G.F., L. Juliana, P.C. Freitas and G.L. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology** 31: 4.
- Ngarmsak, 2007. **Antifungal activity of Vanillin on fresh-cut tropical fruit**. Available Source: [http://www.actahort.org/books/746/746\\_50.htm](http://www.actahort.org/books/746/746_50.htm), March 30, 2008.
- Nielsen P.V. and R. Rios. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology** 60: 219-229.
- No, H.K., N.Y. Park, S.H. Lee and S.P. Meyers. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. **International Journal of Food Microbiology** 74: 65-72.
- \_\_\_\_\_. 2003. Comparison of physicochemical, binding and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process. **Journal of Agricultural Food Chemistry** 51: 7659-7663.

- Okeke, M.I., C.U. Iroegbu, E.N. Eze, A.S. Okoli and C.O. Esimone. 2001. Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology** 78: 119–127.
- Penney, V., G. Henderson, C. Blum and P. Johnson-Green. 2004. The potential of phytopreservative and nisin to control microbial spoilage of minimally processed fruit yogurts. **Innovation Food Science and Emerging Technologies** 5: 369-375.
- Pranoto, Y., S.K. Rakshit and V.M. Salokhe. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT** 38: 859-865.
- Price, J.S. and R. Storck. 1975. Production, purification and characterization of an extracellular chitosanase from *Streptomyces*. **Journal of Bacteriology** 124: 1574-1585.
- Prindle, R.F. and E.S. Wright. 1977. **Phenolic compounds**. In: Block, S.S. ed. Disinfection, Sterilization and Preservation. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Rakotonirainy, M.S. and B. Lavedrine. 2005. Screening for antifungal activity and related compounds to control the biocontamination in libraries and storage areas. **International Biodeterioration and Biodegradation** 55: 141-147.
- Rao, R.S., G.A. Ravishankar. 2000. Vanilla flavour: production by conventional and biotechnological routes. **Journal Science Food Agriculture** 80: 289-304.
- Remmal, A., T. Bouchikhi, K. Rhayour and M. Ettayebi. 1993. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. **Journal of Essential Oil Research** 5: 179-184.

- Rico-Munoz, E., E. Bargiota and P.M. Davidson. 1987. Effect of selected phenolic compounds on the membrane-bound adenosine triphosphatase of *Staphylococcus aureus*. **Food Microbiology** 4: 239-249.
- Rodriguez, A., R. Batlle and C. Nerin. 2007. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. Part II. **Progress in Organic Coatings** 60: 33-38.
- Rodriguez-Vaquero, M. J., M. R. Alberto and M. C. Manca de Nadra. 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. **Food Control** 18: 93-101.
- Rojas-Grau, M. A., R.M. Raybaudi-Massilia, R.C. Soliva-Fortuny , R.J. Avena-Bustillos, T.H. McHugh and O. Martin-Belloso. 2007. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology** 45: 254-264.
- Rupasinghe, H.P.V., J. Boulter-Bitzer, T. Ahn and J.A. Odumeru. 2006. Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. **Food Research International** 39: 575-580.
- Rupika, L.A.S., K. Sonneveld, J. Miltz and S.W. Bigger. 2005. Development and evaluation of low-density polyethylene-based antimicrobial food packaging polymers containing polymers containing thymol and carvacrol. In **the 22 nd IAPRI Symposium 2005**.
- Sangsuwan, J., N. Rattanapanone and P. Rachtanapun. 2008. Effect of chitosan/methylcellulose film on microbial and quality characteristics of fresh-cut cantaloupe and pineapple. **Postharvest Biology and Technology** 49: 403-410.
- Sanla-Ead, N., A. Jangchud, V. Chonhenchob and P. Suppakul. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon, clove and galangal essential oils and their principle constituents, and possible application in active packaging. In **Proceedings of the 15th IAPRI World Conference on Packaging 2006**. Tokyo, Japan.

- Schmedemann, E. 2007. **Sweet Baked Goods: A survey of the microbiological quality of sweet baked goods.** Food Policy and Programs Branch, Public Health, Department of Health Government of South Australia.
- Sinha, A.K., U.K. Sharma and N. Sinha. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. **International Journal of Food Science Nutrition** 5: 299-326.
- Shelef, L.A. 1983. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety** 6: 29-44.
- Shyamala, B.N., M. Madhavanidu, G. Sulochanamma and P. Srinivas. 2007. Studies on the Antioxidant Activities of Natural Vanilla Extract and Its Constituent Compounds through in Vitro Models. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. 55: 7738-7743.
- Smith, J. 1993. **Antimicrobial preservative-reduced foods.** In: J. Smith ed. Technology of Reduced-Additive Foods. Blackie Academic and Professional, London.
- Somashekar, D. and R. Joseph. 1996. Chitosanases-properties and application: a review. **Bioresource Technology** 55: 35-45.
- Suppakul, P. 2004. Antimicrobial Food Packaging. **Thai Packaging Newsletter**: 33-43.
- Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S.W. Bigger. 2003. Active packaging technologies with emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **Journal of Food Science** 68: 408-420.
- Tippayatum, P. and V. Chonhenchob. 2007. Antibacterial Activities of Thymol, Eugenol and Nisin Against Some Food Spoilage Bacteria. **Kasetsart Journal of Natural Science** 41: 319-323.

- Tominaga, Y. and Y. Tsujisaka. 1975. Purification and some enzymatic properties of the chitosanase from *Bacillus R-4* which lyses *Rhizopus* cell walls. **Biochimica et Biophysica Acta** 410: 145-155.
- Ultee, A., M.H.J. Bennik and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiolog** 68: 1561-1568.
- Valero, M. and M.J. Giner. 2006. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. **International Journal of Food Microbiology** 106: 90-94.
- Vermeiren, L., F. Devlieghere, M. van Beest, N. de Kruijf and J. Debevere. 1999. Developments in the active packaging of food. **Trends in Food Science and Technology** 10: 77-86.
- Vytrasova, J., P. Pribanova and L. Marvanova. 2002. Occurrence of xerophilic fungi in bakery gingerbread production. **International Journal of Food Microbiology** 72: 91-96.
- Walsh, S.E., J.Y. Maillard, A.D. Russell, C.E. Catrenich, D.L. Charbonneau and R.G. Bartolo. 2003. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and negative bacteria. **Journal of Applied Microbiology** 94: 240-247.
- Walton, N.J., M.J Mayer and A. Narbad. 2003. Molecules of interest: vanillin. **Phyto chemistry** 63: 505-515.
- Wangtueai, S., W. Worawattanamateekul, M. Sangjindavong, N. Naranong and S. Sirisansaneeyakul. 2006. Isolation and Screening of Chitosanase Producing Microorganisms. **Kasetsart Journal of Natural Science** 40: 944 - 948.

Wang, Q., Z. Dong, Y. Du and J. F. Kennedy. 2007a. Controlled release of ciprofloxacin hydrochloride from chitosan/polyethylene glycol blend films. **Carbohydrate Polymers** 69: 336-343.

\_\_\_\_\_, N. Zhang, X. Hu., J. Yang and Y. Du. 2007b. Chitosan/starch fibers and their properties for drug controlled release. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 66: 398-404.

Wilkins, K.M. and R.G. Board. 1989. Natural antimicrobial systems. In G.W. Gould, ed. **Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures**. Elsevier Applied Science, London and New York.

Zhao, L.Q., Z.H. Sun, P. Zheng and L.L. Zhu. 2005. Biotransformation of isoeugenol to vanillin by novel strain of *Bacillus fusiformis*. **Biotechnology Letters** 27: 1505-1509.

ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ

## การทดสอบหาน้ำหนักมาตรฐานของกระดาษ

มาตรฐานการทดสอบ ASTM D 646-96 (Reapproved 2001)

### เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง
2. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
3. อุปกรณ์สำหรับตัดกระดาษ

### วิธีการทดสอบ

1. ตัดกระดาษขนาด 20×25 เซนติเมตร จำนวน 10 แผ่น นำกระดาษไปเก็บไว้ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 2 อย่างน้อย 24 ชั่วโมง (ISO 187)
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างกระดาษครั้งละ 1 แผ่น รายงานค่าน้ำหนักมาตรฐานเฉลี่ย เป็นกรัมต่อตารางเมตร

### การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักมาตรฐาน (กรัม/ตารางเมตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของกระดาษ (กรัม)} \times 10000}{\text{พื้นที่ของกระดาษ (ตารางเซนติเมตร)}}$$

## การทดสอบหาความหนาของกระดาษ

มาตรฐานการทดสอบ ASTM D 645-97 (Reapproved 2002)

### เครื่องมือ

1. ไมโครมิเตอร์ (Mitutoyo, Japan)
2. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
3. อุปกรณ์สำหรับตัดกระดาษ

### วิธีการทดสอบ

1. เตรียมกระดาษขนาด  $30 \times 150$  มิลลิเมตร อย่างน้อย 10 แผ่น เก็บไว้ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ  $27 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ  $65 \pm 2$  อย่างน้อย 24 ชั่วโมง (ISO 187)
2. วัดความหนาด้วยไมโครมิเตอร์ แผ่นละ 5 จุด โดยให้ห่างจากขอบของกระดาษอย่างน้อย 6 มิลลิเมตร รายงานค่าความหนาเฉลี่ยเป็นมิลลิเมตร

## การทดสอบหาปริมาณความชื้นในกระดาษ

มาตรฐานการทดสอบ ASTM D 644-99 (Reapproved 2002)

### เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
4. ภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (moisture can)
5. เครื่องเคเตอร์บรรจุมารวัดความชื้น

### วิธีการทดสอบ

1. อบถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $105 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทิ้งไว้ให้เย็นในเครื่องเคเตอร์เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักถ้วย
2. สุ่มตัวอย่างกระดาษเพื่อนำไปเก็บในเครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่สถานะอุณหภูมิ  $27 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง
3. ตัดกระดาษให้มีขนาดประมาณ  $2 \times 2$  เซนติเมตร ใส่ในถ้วยอลูมิเนียมที่มีน้ำหนักประมาณ 3 กรัม บันทึกเป็นค่าน้ำหนักกระดาษก่อนอบ นำไปใส่ในตู้อบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยระหว่างการอบให้เปิดฝาด้วยเอาไว้เล็กน้อย
4. เมื่อครบเวลา ปิดฝาด้วยแล้วนำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในเครื่องเคเตอร์เป็นเวลาประมาณ 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบอีกครั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกัน มีค่าแตกต่างกันไม่เกิน 0.0010 กรัม บันทึกเป็นค่าน้ำหนักกระดาษหลังอบ
5. ทำการทดสอบอย่างน้อย 5 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของความชื้นที่ได้ในหน่วยร้อยละ

### การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น(ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักกระดาษก่อนอบ} - \text{น้ำหนักกระดาษหลังอบ}) \times 100}{(\text{น้ำหนักกระดาษก่อนอบ})}$$

## การทดสอบค่าสี ( $L^* a^* b^*$ )

### เครื่องมือ

1. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
2. เครื่องวัดสี
3. อุปกรณ์สำหรับตัดกระดาษ

### วิธีการทดสอบ

1. ตัดกระดาษตัวอย่างขนาด  $6 \times 6$  เซนติเมตร
2. นำตัวอย่างไปเก็บในเครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่สภาวะอุณหภูมิ  $27 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ  $65 \pm 2$  อย่างน้อย 24 ชั่วโมง (ISO 187)
3. เปิดเครื่องและทำการ calibrate เครื่องวัดสี
4. นำหัววัดวางบนตัวอย่างกระดาษ สังเกตไม่ให้มีบริเวณใดของหัววัดเลขออกไปนอกกระดาษที่ต้องการวัดสี
5. กดปุ่มเพื่อให้เครื่องทำการวัดสี
6. บันทึกค่าสี  $L^* a^* b^*$  ที่ได้
7. ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ

**ภาคผนวก ข**

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

### การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

ถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารแข็งผิวเอียง (agar slant) NA โดยเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ลงบนผิวอาหารเอียงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย จากนั้นถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารเอียงเชื้อเหลว แล้วนำไปเพาะเชื้ออีกครั้ง ณ อุณหภูมิและเวลาที่กล่าวมาข้างต้น นำสารแขวนลอยจุลินทรีย์ที่ได้ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดเก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่มีกลีเซอรอลร้อยละ 40 ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -2 องศาเซลเซียสก่อนนำมาใช้งานต่อไป

### การวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

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

### การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของเค้กม้วน

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสีย ในเค้กม้วน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA PDA และอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (selective difference agar) ตามลำดับ โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 นำตัวอย่างเค้กม้วน 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปนในเครื่องตีปนอาหาร คูดสารละลาย ตัวอย่างที่ตีปนได้ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า โดยคูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค spread plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ BP และ PCA และบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA วิเคราะห์ผลโดยการสังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

หมายเหตุ PCA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)

PDA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณยีสต์-รา (yeast-mold)

MYP สำหรับวิเคราะห์ *B. cereus* (โคโลนีเติบโตจนถึงดีมาก หลังจากการบ่ม 18-40 ชั่วโมง ในเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีชมพู หรือแดง ลักษณะขอบขรุขระ ไม่เรียบ ไม่มีบริเวณใส หรือสีเหลืองล้อมรอบ)

BP สำหรับวิเคราะห์ *S. aureus* (โคโลนีเติบโตจนถึงดีมาก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.0-1.5 มิลลิเมตร ใน 18 ชั่วโมงหลังจากการบ่ม จนถึง 3.0-5.0 มิลลิเมตร ในเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีน้ำตาล ลักษณะโค้งมน ขอบเรียบ มีเส้นตะกอนสีขาว ล้อมรอบและมีบริเวณใสขนาด 2.0-5.0 มิลลิเมตรล้อมรอบโคโลนีอีกทีหนึ่ง)

**ภาคผนวก ค**

แบบทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

**แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส**  
**ผลิตภัณฑ์เค้กม้วน**

ชื่อ..... วันที่.....

คำชี้แจง : กรุณาทดสอบตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามสเกลที่ให้มาให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

- 1 = ไม่ชอบมากที่สุด
- 2 = ไม่ชอบมาก
- 3 = ไม่ชอบปานกลาง
- 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
- 5 = เฉยๆ / บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่
- 6 = ชอบเล็กน้อย
- 7 = ชอบปานกลาง
- 8 = ชอบมาก
- 9 = ชอบมากที่สุด

|              |  |  |  |  |
|--------------|--|--|--|--|
| รหัสตัวอย่าง |  |  |  |  |
| คะแนน        |  |  |  |  |

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ภาคผนวก ง  
ตารางผลการทดลอง

**ตารางผนวกที่ ง1** ค่าวอเตอร์แอคทีวิตีของเค้กมันระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$   
องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1</sup> |                               |                    |                               |
|----------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|
|                            | อุณหภูมิ $25 \pm 2$                                        |                               | อุณหภูมิ $4 \pm 2$ |                               |
|                            | (องศาเซลเซียส)                                             |                               | (องศาเซลเซียส)     |                               |
|                            | ตัวควบคุม <sup>2</sup>                                     | กล่องกระดาษด้าน<br>จูลินทรีย์ | ตัวควบคุม          | กล่องกระดาษด้าน<br>จูลินทรีย์ |
| 0                          | $0.88 \pm 0.00$                                            | $0.88 \pm 0.00$               | $0.88 \pm 0.00$    | $0.88 \pm 0.00$               |
| 0.25                       | $0.88 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.01$               | $0.89 \pm 0.01$    | $0.88 \pm 0.00$               |
| 0.5                        | $0.88 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.01$               | $0.90 \pm 0.01$    | $0.90 \pm 0.01$               |
| 1                          | $0.88 \pm 0.02$                                            | $0.88 \pm 0.01$               | $0.90 \pm 0.01$    | $0.90 \pm 0.01$               |
| 2                          | $0.88 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.02$               | $0.90 \pm 0.01$    | $0.89 \pm 0.01$               |
| 3                          | $0.89 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.01$               |                    | -                             |
| 4                          | $0.88 \pm 0.02$                                            | $0.88 \pm 0.02$               | $0.90 \pm 0.01$    | $0.89 \pm 0.02$               |
| 6                          | $0.88 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.01$               | $0.89 \pm 0.01$    | $0.88 \pm 0.00$               |
| 7                          | $0.88 \pm 0.01$                                            | $0.88 \pm 0.01$               |                    | -                             |
| 8                          | -                                                          | -                             | $0.89 \pm 0.00$    | $0.88 \pm 0.01$               |
| 10                         | -                                                          | -                             | $0.89 \pm 0.01$    | $0.88 \pm 0.01$               |
| 12                         | -                                                          | -                             | $0.89 \pm 0.01$    | $0.88 \pm 0.01$               |
| 14                         | -                                                          | -                             | $0.89 \pm 0.01$    | $0.87 \pm 0.00$               |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>กล่องกระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่มีการเคลือบ

ตารางผนวกที่ ๖2 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์เก็บที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม) <sup>1</sup> |                               |            |                               |                        |                               |                              |                               |
|----------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                            | จุลินทรีย์ทั้งหมด                            |                               | ยีสต์และรา |                               | <i>Bacillus cereus</i> |                               | <i>Staphylococcus aureus</i> |                               |
|                            | ตัวควบคุม <sup>2</sup>                       | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม  | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม              | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม                    | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ |
| 0                          | 2.54                                         | 2.54                          | 2.38       | 2.38                          | 0.52                   | 0.52                          | 0                            | 0                             |
| 0.25                       | 2.64                                         | 2.62                          | 2.84       | 2.67                          | 0.92                   | 0.70                          | 0.22                         | 0                             |
| 0.5                        | 3.83                                         | 3.00                          | 3.13       | 2.95                          | 1.18                   | 0.92                          | 0.70                         | 0.22                          |
| 1                          | 4.96                                         | 3.53                          | 3.67       | 2.96                          | 1.34                   | 1.12                          | 1.18                         | 0.70                          |
| 2                          | 5.49                                         | 4.28                          | 3.94       | 3.23                          | 1.45                   | 1.18                          | 1.43                         | 1.18                          |
| 3                          | 5.80                                         | 4.72                          | 3.99       | 3.54                          | 1.54                   | 1.34                          | 1.71                         | 1.48                          |
| 4                          | 6.13                                         | 5.39                          | 4.29       | 3.85                          | 1.62                   | 1.48                          | 1.93                         | 1.71                          |
| 6                          | 6.83                                         | 5.89                          | 4.26       | 3.95                          | 1.75                   | 1.65                          | 2.03                         | 1.79                          |
| 7                          | 6.92                                         | 6.29                          | 4.58       | 4.18                          | 1.88                   | 1.79                          | 2.12                         | 1.86                          |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>กล่องกระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่มีการเคลือบ

ตารางผนวกที่ 33 ค่าปริมาณจุลินทรีย์ของเค้กม้วนที่บรรจุด้วยกล่องกระดาษธรรมดาและกล่องกระดาษด้านจุลินทรีย์เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม) <sup>1</sup> |                               |            |                               |                        |                               |                              |                               |
|----------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                            | จุลินทรีย์ทั้งหมด                            |                               | ยีสต์และรา |                               | <i>Bacillus cereus</i> |                               | <i>Staphylococcus aureus</i> |                               |
|                            | ตัวควบคุม <sup>2</sup>                       | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม  | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม              | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ | ตัวควบคุม                    | กล่องกระดาษ<br>ด้านจุลินทรีย์ |
| 0                          | 2.54                                         | 2.54                          | 2.38       | 2.38                          | 0.82                   | 0.82                          | 0                            | 0                             |
| 0.25                       | 2.62                                         | 2.54                          | 2.54       | 2.45                          | 1.12                   | 0.82                          | 0                            | 0                             |
| 0.5                        | 3.74                                         | 3.37                          | 2.82       | 2.57                          | 1.30                   | 1.00                          | 0.52                         | 0.22                          |
| 1                          | 4.81                                         | 3.64                          | 3.19       | 2.60                          | 1.43                   | 1.12                          | 0.92                         | 0.22                          |
| 2                          | 4.95                                         | 3.86                          | 3.20       | 2.64                          | 1.43                   | 1.12                          | 1.18                         | 0.70                          |
| 4                          | 5.92                                         | 4.69                          | 3.28       | 2.90                          | 1.60                   | 1.12                          | 1.43                         | 1.00                          |
| 6                          | 5.94                                         | 4.79                          | 3.94       | 3.01                          | 1.67                   | 1.22                          | 1.62                         | 1.26                          |
| 8                          | 6.12                                         | 4.79                          | 4.33       | 3.36                          | 1.80                   | 1.56                          | 1.85                         | 1.43                          |

ตารางผนวกที่ 33 (ต่อ)

| ระยะเวลาเก็บรักษา<br>(วัน) | ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/กรัม) <sup>1</sup> |             |                |             |                        |             |                              |             |
|----------------------------|----------------------------------------------|-------------|----------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------------|-------------|
|                            | จุลินทรีย์ทั้งหมด                            |             | ยีสต์และรา     |             | <i>Bacillus cereus</i> |             | <i>Staphylococcus aureus</i> |             |
|                            | ตัวควบคุม <sup>2</sup>                       | กล่องกระดาษ | ตัวควบคุม      | กล่องกระดาษ | ตัวควบคุม              | กล่องกระดาษ | ตัวควบคุม                    | กล่องกระดาษ |
|                            | ด้านจุลินทรีย์                               |             | ด้านจุลินทรีย์ |             | ด้านจุลินทรีย์         |             | ด้านจุลินทรีย์               |             |
| 10                         | 6.21                                         | 5.09        | 4.55           | 3.35        | 1.88                   | 1.67        | 1.88                         | 1.65        |
| 12                         | 6.27                                         | 5.65        | 4.75           | 3.97        | 1.95                   | 1.85        | 2.21                         | 1.74        |
| 14                         | 6.75                                         | 6.01        | 5.01           | 4.11        | 2.04                   | 1.92        | 2.28                         | 1.85        |

หมายเหตุ <sup>1</sup>ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>2</sup>กล่องกระดาษแข็ง Duplex Board ที่ไม่มีการเคลือบ

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

|                                |                                                                                                                                         |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ –นามสกุล                  | นางสาวสุวรรรัตน์ รักช่วย                                                                                                                |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด           | วันที่ 16 พฤศจิกายน 2527                                                                                                                |
| สถานที่เกิด                    | สุราษฎร์ธานี                                                                                                                            |
| ประวัติการศึกษา                | ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)<br>ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร<br>สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน   | -                                                                                                                                       |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน           | -                                                                                                                                       |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | -                                                                                                                                       |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ           | ได้รับทุนผู้ช่วยสอนจากบัณฑิตวิทยาลัย<br>มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2551)                                                              |