

ไลโปโซมเอนแคปซูเลชันของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มเพกติน
เพื่อยืดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ตัดแต่ง



นางสาวอรชร เมฆเกิดชู

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



4 9 7 2 5 7 1 8 2 3

LIPOSOME ENCAPSULATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN PECTIN FILM
FOR EXTENDING SHELF LIFE OF FRESH-CUT MEAT



Miss Orachorn Mekkerdchoo

ศูนย์วิทยทรัพยากร

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

512070

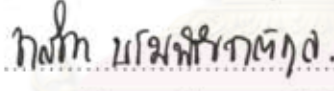
หัวข้อวิทยานิพนธ์	ไลโปโซมเอนแคปซูลเลขันของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มของ เพกตินเพื่อยืดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ตัดแต่ง
โดย	นางสาวอรชร เมฆเกิดชู
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. ซาลีดา บรมพิชัยชาติกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

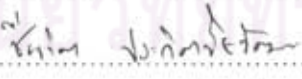

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ นารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเจียร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร. ซาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชินจิต ประกิตชัยวัฒนา)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สักกมน เทพหัสดิน ณ อยุธยา)

อรรร เมฆเกิดชู : โลโซมเอนแคปซูลเชลินของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มเพกตินเพื่อยืดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ตัดแต่ง (LIPOSOME ENCAPSULATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN PECTIN FILM FOR EXTENDING SHELF LIFE OF FRESH-CUT MEAT) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ.ดร. ชาลิตา บรมพิชัยชาติกุล,อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ.ดร. พาสวดี ประทีปะเสน 150 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการโลโซมเอนแคปซูลเชลินในการกักเก็บสารสกัดที่มีสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม สารสกัดจากเปลือกหับทิมด้วยเอธานอล เพื่อช่วยคงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และนำไปใช้ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ในการทดลองส่วนแรกประเมินฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดที่เลือกมาศึกษา พบว่า น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกหับทิม มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 *Escherichia coli* ATCC 8739 *Salmonella Typhimurium* ATCC 23564 และ *Salmonella Choleraesuis* ATCC 25923 และเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ ได้แก่ *Pseudomonas sp.* ATCC 25619 *Lactobacillus sp.* TISTR 539 และ *Lactobacillus sake* TISTR 890 ในการขึ้นรูปฟิล์มพบว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถเกิดโมเดลของ สารละลายเลซิตินคือร้อยละ 11โดยน้ำหนัก จากนั้นเตรียมอิมัลชันสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยวิธีดับเบิลอิมัลชัน ให้ภูมิภาค น้ำมันประกอบด้วยสารละลายเลซิตินในเอธานอล และน้ำมันผสม (น้ำมันกระเทียมกับน้ำมันกานพลู) และภูมิภาคน้ำเป็น สารละลายน้ำของสารสกัดจากเปลือกหับทิมด้วยเอธานอล โดยแปรความเข้มข้นสารละลายเลซิตินที่ร้อยละ 12 14 และ 16 โดย น้ำหนัก และอิมัลชันที่มีสัดส่วนของสารละลายเลซิตินต่อสารสกัดทั้งหมด (น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียมและสารสกัดจากเปลือก หับทิมด้วยเอธานอล) เท่ากับ 1:3 1:6 และ 1:9 โดยน้ำหนักของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดเท่ากัน ความเข้มข้นเลซิตินร้อยละ 12 โดย น้ำหนัก และอัตราส่วนระหว่างสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ 1:6 ให้อิมัลชันที่คงตัวและสามารถยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ใน เกณฑ์ดี การทดลองที่สองศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มของเพกติน (ร้อยละ 2.5 3 3.5 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ผสมแคลเซียม คลอไรด์ (ร้อยละ 3 5 7 และ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และ พลาสติไซเซอร์ (กลีเซอรอลและซอร์บิทอลร้อยละ 40 50 และ 60 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยแปรเข้มข้นของเพกตินที่ร้อยละ 2.5 3 3.5 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าที่ความเข้มข้น เพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และกลีเซอรอลร้อยละ 50 โดย น้ำหนักต่อปริมาตร ให้ค่า tensile strength (TS) 19.09 MPa ค่า elongation (%) 7.85% และค่า water vapour permeability (WVP) 6.49 $\mu\text{g}/\text{m}^2 \text{s Pa}$ มีสมบัติทางกายภาพที่ดีอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ เมื่อตรึงโลโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์ (ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก) ลงในฟิล์มเพกตินที่ผลิตขึ้น นำมาประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันของฤทธิ์ในการต้าน จุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นความเข้มข้นโลโซมที่ร้อยละ 4 และ 6 โดยน้ำหนัก ที่ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุดอย่างมี นัยสำคัญในจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก จากนั้นทดสอบสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม พบว่าการเติมโลโซมลงไปใแผ่นฟิล์มทำให้ค่า TS ลดลง ค่า %E WVP ΔE และค่าความชุ่มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยความเข้มข้นโลโซมที่ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ให้ค่า %E สูงสุด และสมบัติทางกายภาพอื่นๆในเกณฑ์ดีและยอมรับได้ จึงเลือกฟิล์มเพกตินที่ผสมโลโซมที่มีสาร ต้านจุลินทรีย์ผสมที่ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักไปใช้กับอาหาร ซึ่งฟิล์มที่เลือกมีสมบัติทางกายภาพดังนี้ TS 17.78 MPa %E 15.4 % WVP 10.2 $\mu\text{g}/\text{m}^2 \text{s Pa}$ ΔE 16.55 และค่าความชุ่ม 5.02 $\text{Au} \times \text{nm}/\mu\text{m}$ ในขั้นตอนสุดท้ายเมื่อนำฟิล์มไปใช้ร่วมกับเนื้อสัตว์ตัดแต่ง โดยหุ้มชิ้นเนื้อ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า แผ่นฟิล์มเพกตินผสมโลโซมของสารต้านจุลินทรีย์สามารถลดจำนวน จุลินทรีย์ได้ 0.96 – 4.01 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (16 วัน) โดยฟิล์มเพกตินผสมโลโซมที่หุ้มเนื้อสัตว์ตัดแต่ง สามารถยืดอายุการเก็บเนื้อสัตว์ตัดแต่งได้มากกว่า 6 วัน และสามารถยืดอายุการเก็บในเนื้อหมูตัดแต่งได้มากกว่า 8 วัน และให้ฤทธิ์ ในการยับยั้งสูงที่สุดในจุลินทรีย์กลุ่มของ *E. coli* และ coliform และให้ผลในการยับยั้งที่ใกล้เคียงกันระหว่าง *Pseudomonas sp.* และ *Lactobacillus sp.*

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....อ.ดร. เมฆเกิดชู.....
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....อ.ดร. บรมพิชัยชาติกุล.....
ปึกการศึกษา.....2551..... ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....อ.ดร. พาสวดี ประทีปะเสน.....

#4972571823: MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS: LIPOSOME ENCAPSULATION/ ANTIMICROBIAL EXTRACTS/ EDIBLE FILM/ SPOilage MICROORGANISMS

ORACHORN MEKKERDCHOO : LIPOSOME ENCAPSULATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN PECTIN FILM FOR EXTENDING SHELF LIFE OF FRESH-CUT MEAT. THESIS ADVISOR : CHALEEDA BOROMPICHAICHARTKUL, Ph.D., CO-ADVISOR : ASST.PROF. PASAWADEE PRADPASENA, Ph.D. 150 pp.

The aim of this research was to determine a suitable condition to encapsulate antimicrobial extracts from herbs and spices in liposome for using in pectin film in order to maximize the antimicrobial properties of those extracts against food spoilage microorganisms. Clove oil, garlic oil and pomegranate extracts were selected to used in the experiments. In the first section, antimicrobial activity of clove oil, garlic oil and pomegranate extracts was tested and it was found that they had ability to inhibit food pathogen and food spoilage microorganisms such as *Pseudomonas sp.* ATCC 25619, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 8739, *Salmonella* Typhimurium ATCC 23564, *Salmonella* Choleraesuis ATCC 25923, *Lactobacillus sp.* TISTR 539 and *Lactobacillus sake* TISTR 890. For liposome preparation, critical micelle concentration (CMC) of lecithin to form liposome was 11 % w/w. The emulsion of antimicrobial extracts was prepared by using double emulsion method. Oil phase contained lecithin solution in ethanol and mixture of clove oil and garlic oil (weight ratio of clove oil to garlic oil = 1:1) while water phase contained pomegranate extract. The concentration of lecithin was varied to 12, 14 and 16 % w/w and ratio of lecithin solution to antimicrobial extracts was 1:3, 1:6 and 1:9. Stability of the emulsions was then examined. The results showed that the emulsion prepared with lecithin concentration of 12% and ratio of lecithin solution to antimicrobial extract of 1:6 gave the best stability and good inhibition. All prepared emulsions showed positive result for bacterial inhibition. In the second section, physical properties of pectin film were studied at different pectin concentrations (2.5, 3, 3.5 and 4% w/v) mixed with calcium chloride (3, 5, 7 and 10% w/v) and plasticizers (glycerol (GLY) and sorbitol (SOR) at concentration of 40, 50 and 60% of the weight of pectin into film mixture). The results showed that at pectin concentration 4% w/v with calcium chloride 3% w/v and using GLY 50% exhibited better physical properties (TS 19.09 MPa, %E 7.85%, WVP 6.49 $\mu\text{g}/\text{m s Pa}$) than other treatments. Then liposome with antimicrobial extracts was added into selected film condition at varied concentration (2, 4 and 6% w/w). Antimicrobial effects of pectin film incorporated with the liposome showed no significant different ($p \geq 0.05$) in bacterial inhibition zone between liposome concentrations except those of 4 and 6 % w/w had highest inhibition zone against *Lactobacillus sp.* and *Lactobacillus sake* significantly. The result showed that TS of the film decreased while the %E, WVP, ΔE and film opacity increased when compared to the control, the pectin film incorporated with 4% w/w liposome had highest %E and the other of physical properties were acceptable. Therefore, pectin film incorporated with 4% w/w liposome was selected. It had the following physical peoperties; TS 117.78 MPa, %E 15.4 %, WVP 10.2 $\mu\text{g}/\text{m s Pa}$, (ΔE) 16.56 and film opacity 5.02 Au x nm/ μm . In the final section, pectin film incorporated with liposome was tested against microbial growth (aerobic plate counts, *Pseudomonas sp.*, lactic acid bacteria, *Salmonella spp.*, *E.coli* and coliform) of fresh-cut meats (pork and beef loins) during refrigerated storage (4 °C) for 16 days. The result showed that it could reduce microbial load of 0.96 – 4.34 log CFU/g after 16 days of storage. The pectin film incorporated with liposome had ability to extended shelf life of fresh-cut meat more than 6 days for beef loin and extended from 8 for pork loin. The film was most effective in inhibiting growth of *E.coli* and coliform

Department : ... Food Technology
 Field of Study : ... Food Technology
 Academic Year : ... 2008

Student's Signature Orachorn Mekkerdchoo
 Advisor's Signature Chaleeda Borompichaichartkul
 Co-Advisor's Signature Pasawadee Pradpasena

กิตติกรรมประกาศ

ในการจัดทำเอกสารวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะที่ดีต่องานวิจัยแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด ซึ่งช่วยให้เอกสารวิจัยฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเจียร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา และรองศาสตราจารย์ ดร. สักกมน เทพหัสดิน ณ อยุธยา ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการเป็นประธานและกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งเสนอข้อคิดเห็นและให้ข้อเสนอแนะต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้และข้อเสนอแนะต่างๆทางเทคโนโลยีทางอาหารและข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และขอบคุณน้องสาวและคุณก๊ากที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณเพื่อนร่วมงาน และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ช่วยเหลือและทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การเสื่อมเสียของเนื้อสด.....	4
2.2 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์.....	6
2.3 ไลโปโซมเอนแคปซูเลชัน (liposome encapsulation).....	11
2.4 ฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคได้.....	20
2.5 เพกติน.....	24
2.6 พลาสติไซเซอร์.....	26
2.7 บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์.....	30
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	36
3.1 วัตถุประสงค์ เชื้อจุลินทรีย์ อุปกรณ์และสารเคมี.....	36
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	38
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง.....	46
4.1 ประเมินความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลู กระเทียมและเปลือกทับทิม.....	46

	หน้า
4.2 ศึกษาสัดส่วนระหว่างสารละลายเลซิทิน และสารสกัดต้านเชื้อจุลินทรีย์ ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิค ดับเบิลอิมัลชัน และประเมินความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของไลโปโซม เอนแคปซูเลชันของสารสกัด โดยวิธี disc diffusion.....	49
4.3 ศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ พลาสติไซเซอร์ และสารสกัดในรูปไลโปโซมสำหรับการขึ้นรูป เป็นฟิล์มเพกติน.....	60
4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์ตัดแต่งเมื่อใช้ร่วมกับฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซมที่ตรึงสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	104
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	114
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	114
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	115
รายการอ้างอิง.....	116
ภาคผนวก.....	130
ภาคผนวก ก.....	132
ภาคผนวก ข.....	137
ภาคผนวก ค.....	141
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	150

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์หลักในสมุนไพรรและเครื่องเทศที่ใช้ในอาหาร.....	7
2.2	การใช้สารด้านจุลินทรีย์จากพืชในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ.....	7
2.3	สมบัติเชิงกลของฟิล์มบรีโอบคได้ชนิดต่างๆ.....	29
2.4	คุณสมบัติการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มบรีโอบคได้ชนิดต่างๆ.....	30
3.1	ปริมาณขององค์ประกอบอิมัลชัน ($W_1/O/W_2$).....	41
4.1	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดโดยตัวทำละลายต่างๆ และยาปฏิชีวนะ พื้นฐาน โดยวิธี disc diffusion.....	47
4.2	ลักษณะของอิมัลชันที่ความเข้มข้นของสารละลายเลซิดินและสัดส่วนของ สารละลายเลซิดินต่อสารด้านจุลินทรีย์ผสมต่างๆ กัน.....	51
4.3	การแยกชั้นน้ำของอิมัลชันที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิดิน และสัดส่วนของสารละลายเลซิดินต่อสารด้านจุลินทรีย์ผสมต่างกัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	52
4.4	การแยกชั้นน้ำมันของอิมัลชันที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิดิน และสัดส่วนของสารละลายเลซิดินต่อสารด้านจุลินทรีย์ผสมต่างกัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	53
4.5	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของอิมัลชันของสารด้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion.....	55

ตารางที่	หน้า
ค1	ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่ความเข้มข้นเพกติน และแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆกัน..... 141
ค2	ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่แปรปริมาณของพลาสติกไซเซอร์ คือ ซอร์บิทอลและกลีเซอรอล..... 142
ค3	ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่แปรปริมาณไลโพโซม ของสารต้านจุลินทรีย์ผสม..... 143
ค4	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของฟิล์มเพกตินที่ตรึงไลโพโซม ของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion..... 144
ค5	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count) ในชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโพโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 145
ค6	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (<i>Lactobacillus</i> sp.) ในชั้นเนื้อตัดแต่ง ควบคุม และชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโพโซมของ สารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 146
ค7	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม <i>Pseudomonas</i> sp. ในชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโพโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 147
ค8	จำนวนของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ในชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโพโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 148
ค9	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม coliform ในชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโพโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 149

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะเนื้อวุ้นสด (A) และลักษณะของเนื้อวุ้นเมื่อเก็บเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (B)..	5
2.2	ลักษณะดอกกานพลูที่นำมากลั่นน้ำมัน (A) น้ำมันกานพลู (B) และสูตรโครงสร้าง Eugenol ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในน้ำมันกานพลู (C).....	8
2.3	ปฏิกิริยาการสร้าง allicin จากสารตั้งต้น alliin ในกระเทียม.....	9
2.4	สูตรโครงสร้างเลซิธิน (lecithin) มีสมบัติเป็นฟอสโฟลิพิด เป็นสารที่ก่อรูปเป็นไลโปโซม.....	13
2.5	โครงสร้างของอนุภาคไลโปโซมแบบยูนิลามัลลาร์ (A) และมัลทิลลามัลลาร์ (B).....	14
2.6	การเกิดไมเซลล์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดของตัวทำอิมัลชัน.....	15
2.7	กลไกการเกิดไลโปโซมสองชั้นแบบ (W ₁ /O/W ₂)	16
2.8	เทคนิคการบดด้วยความดันสูง (A) เทคนิคการเตรียม โดยใช้คลื่นความถี่สูง (B) และเทคนิคการเตรียมไลโปโซม โดยอัดผ่านแผ่นเมมเบรน (C).....	18
2.9	วิธีการเตรียมไลโปโซมจาก dried film lipid ให้ลักษณะไลโปโซมที่หลากหลาย.....	18
2.10	หน่วยย่อยของ D-galacturonic acid (A) โครงสร้างโพลีเมอร์ของโมเลกุลเพกติน (B).....	24
2.11	การเกิด junction zone ของ HM-เพกติน (A) และการเกิด junction zone ของ LM-เพกติน (B).....	25
2.12	โครงสร้างโมเลกุลของซอร์บิทอล.....	27
2.13	โครงสร้างโมเลกุลของกลีเซอรอล.....	27
2.14	สมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไป (A) และบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (B).....	31
2.15	การเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ของรูปแบบ การทำงานของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ต่างๆกัน.....	33
4.1	วงใสในการยับยั้งการเจริญของ <i>Lactobacillus</i> sp. โดยวิธี disc diffusion method (แสดงการเกิดวงใสของน้ำมันกานพลู น้ำคั้นกระเทียม น้ำมัน กระเทียม และสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยแอลกอฮอล์).....	48

รูปที่	หน้า	
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงผิวกับความเข้มข้น ของสารละลายเลซิตินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-20 โดยน้ำหนัก.....	49
4.3	ลักษณะของอิมัลชันที่เกิดขึ้น โดยมีลักษณะครีมชั้น (A) และลักษณะครีมเหลว (B).....	50
4.4	ลักษณะการแยกชั้นของอิมัลชัน.....	52
4.5	ไลโปโซมที่ผลิตได้ก่อนการ extrusion (A) และภายหลังกการ extrusion (B) ของสารละลายเลซิตินร้อยละ 12 โดยน้ำหนักที่สัดส่วนโดยน้ำหนัก ของสารต้านจุลินทรีย์ 1:6	54
4.6	ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลาย เลซิตินร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน.....	56
4.7	ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลาย เลซิตินร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก ต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน.....	56
4.8	ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลาย เลซิตินร้อยละ 16 โดยน้ำหนัก ต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน.....	57
4.9	วงใสแสดงตัวอย่างการยับยั้งการเจริญของ <i>Lactobacillus sp.</i> ของอิมัลชันของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion method.....	57
4.10	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของอิมัลชันของ สารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิตินร้อยละ 16 โดยน้ำหนักที่สัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6 กับสารสกัดจากธรรมชาติ โดยวิธี disc diffusion.....	58
4.11	ลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปได้ คือ ลักษณะแผ่นฟิล์ม ที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มภายหลัง จากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B).....	60
4.12	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความหนาของ แผ่นฟิล์ม.....	61
4.13	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า ความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์ม.....	62
4.14	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าร้อยละ การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม.....	63

รูปที่	หน้า	
4.15	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อ ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม.....	64
4.16	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อ ค่าของความต่างของสี (ΔE) ของแผ่นฟิล์ม.....	65
4.17	ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ ต่อค่าความชื้นของแผ่นฟิล์ม.....	66
4.18	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ).....	67
4.19	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ).....	67
4.20	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ).....	67
4.21	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ).....	68
4.22	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ).....	68
4.23	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ).....	68

รูปที่	หน้า	
4.38	ลักษณะของแผ่นฟิล์มเพกตินที่เติมพลาสติกไซเซอร์ที่ขึ้นรูปได้ คือ ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มหลังจากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B).....	75
4.39	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าความหนาของแผ่นฟิล์ม.....	76
4.40	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์ม.....	77
4.41	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าร้อยละการยึดตัวของฟิล์ม.....	78
4.42	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม.....	79
4.43	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าของความต่างของสี(ΔE) ของแผ่นฟิล์ม.....	80
4.44	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอล กับค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม.....	81
4.45	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ).....	82
4.46	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ).....	83
4.47	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)	83

รูปที่	หน้า
4.62	รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ) 88
4.63	ลักษณะของแผ่นฟิล์มผสมไลโปโซมที่ขึ้นรูปได้ ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มหลังจากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B) 90
4.64	ค่าความหนาของแผ่นฟิล์มที่แปรปริมาณไลโปโซมต่างๆกัน..... 91
4.65	ค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มที่แปรปริมาณไลโปโซมต่างๆกัน..... 92
4.66	ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของแผ่นฟิล์มที่แปรปริมาณไลโปโซมต่างๆกัน..... 93
4.67	ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม ที่แปรปริมาณไลโปโซมต่างๆกัน..... 94
4.68	ค่าของความต่างของสีของแผ่นฟิล์มที่แปรปริมาณไลโปโซมต่างๆ กัน..... 95
4.69	ค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน..... 96
4.70	ภาพถ่ายพื้นผิว (A)และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)..... 97
4.71	ภาพถ่ายพื้นผิว (A)และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ) 97
4.72	ภาพถ่ายพื้นผิว (A)และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ) 98

รูปที่	หน้า
4.73	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซม ของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion..... 99
4.74	ลักษณะวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซม ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ATCC 8739 (A) <i>E. coli</i> ATCC 25922 (B) <i>Salmonella Choleraesuis</i> (C) <i>Salmonella</i> Typhimurium (D) <i>Pseudomonas</i> sp. (E) <i>Lactobacillus</i> sp.(F) และ <i>Lactobacillus sake</i> (G).. 100
4.75	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมกับอิมัลชัน ของสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่สัดส่วน 1:6 โดยใช้เลซีติน ความเข้มข้นร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก โดยวิธี disc diffusion..... 102
4.76	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมกับฟิล์ม ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยแอลกอฮอล์ โดยวิธี disc diffusion..... 103
4.77	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count) ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและ ชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 104
4.78	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (Total lactic acid bacteria) ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 106
4.79	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม <i>Pseudomonas</i> sp. ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 108
4.80	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม <i>E. coli</i> ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 109
4.81	จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม <i>coliform</i> ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน..... 110
ก1	ชุดทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำประกอบด้วยถ้วยทดสอบ การซึมผ่านของไอน้ำ (A) และเดซิเคเตอร์ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน (B)..... 133

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันความนิยมในการบริโภคอาหารสดและอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยที่สุด มีเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีความสมบูรณ์ทางโภชนาการสูง แต่อาหารเหล่านี้มีข้อเสีย คือ เกิดการเสื่อมเสียได้ง่ายและอายุการเก็บรักษาสั้น เพราะมักประสบปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์กลุ่มเนื้อสัตว์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงสูง เนื่องจากมีโปรตีนสูง และมีค่า water activity เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด เนื้อสัตว์มักเกิดเมือกบริเวณผิวหน้าของเนื้อ (surface slime) เกิดจากจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas sp.* และเกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อเกิดจากจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus sp.* (สุขใจ ชูจันทร์, 2547; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ วิธีการที่นิยมในการยืดอายุการเก็บอาหารกลุ่มนี้ คือ การแช่เย็น แต่ยังไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Jeyamkondan, Jayas and Holley, 2000; Quintavalla and Vicini, 2002; Devlieghere, Vermeriren and Debevere, 2004; Buffo and Holley, 2005; Aymerich, Picouet and Monfort, 2008) และการใช้สารเคมีเป็นสารถนอมอาหารไม่เป็นที่นิยมในปัจจุบัน เพราะผู้บริโภคตระหนักในด้านความปลอดภัยมากขึ้น จึงทำให้มีการนำผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมาใช้ในการถนอมอาหารแทนสารเคมี ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการถนอมอาหารที่มีความน่าสนใจในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียแก่อาหารและยืดระยะเวลาการเน่าเสียของอาหารออกไป

สารสกัดจากเครื่องเทศ (spices) และสมุนไพร (herb) เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติอย่างหนึ่งที่มีการศึกษาวิจัยพบว่ามีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) ได้เป็นอย่างดี เนื่องด้วยมีสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดของพืชเหล่านี้ เช่น eugenol ในน้ำมันกานพลู หรือ allicin ในกระเทียม เป็นต้น อีกทั้งพืชสมุนไพรเหล่านี้จัดอยู่ในระดับ GRAS (generally recognized as safe) ซึ่งทำให้เกิดอาการแพ้และผลข้างเคียงน้อยกว่าสารสังเคราะห์ (Cowan, 1999; Nychas, Skandamis and Tassou, 2003; Burt, 2004; Holley and Patel, 2005) โดยสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้แพร่หลายอยู่แล้วในอาหารไทย เช่น น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม สารสกัดจากอบเชย เป็นต้น

แต่เนื่องมาจากสารสกัดเหล่านี้มีความไวต่อสิ่งแวดล้อม เกิดการเสื่อมสลายและสูญเสียความสามารถในการป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ได้ง่าย (Hao, Brackett and Doyle, 1998; Dorman and Deans, 2000) ดังนั้น กระบวนการเอนแคปซูลชันหรือการห่อหุ้ม (encapsulation) ได้ถูกนำมาใช้ในการเคลือบหรือห่อหุ้มผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเหล่านี้เพื่อป้องกันการสลายสภาพแวดล้อม ซึ่งทำให้ออกฤทธิ์ได้นาน พร้อมทั้งสามารถควบคุมและชะลอการปลดปล่อยสารออกมาตามระยะเวลาที่ต้องการ นอกจากนี้ยังช่วยในการกลบกลืน และไม่เป็นสารที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ (อรัญญา มโนสร้อย และ จีระเดช มโนสร้อย, 2545; Chacon, Buffo and Holley, 2006; Liolios *et al.*, 2009) การใช้เทคนิคการกักเก็บด้วยไลโปโซม (liposome entrapment) ในการทำเอนแคปซูลชัน เพื่อเก็บกักสารสกัดจากพืชที่มีทั้งสมบัติมีขั้ว เช่น สารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดที่มีสมบัติไม่มีขั้ว เช่น น้ำมันหอมระเหย ได้ในโมเลกุลเดียวกัน จึงเหมาะสำหรับสารสกัดจากพืชที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน รวมทั้งไลโปโซมเป็นสารที่เข้ากับร่างกายได้ดีและมีความปลอดภัยสูง เพราะมีองค์ประกอบหลักเป็นสารธรรมชาติ เช่น เลซิตินจากไข่แดงหรือถั่วเหลือง คอเลสเทอรอล เป็นต้น

เพื่อความสะดวกรวดเร็วขึ้นในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การนำสารสกัดที่ผ่านการเอนแคปซูลชันแล้วไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบริโภคได้ (edible film) โดยใช้สารพอลิเมอร์จากธรรมชาติ คือ โพลีแซคคาไรด์มาเป็นสารที่ทำให้เกิดการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม ซึ่งแผ่นฟิล์มช่วยรักษาโครงร่างและการคงตัวของไลโปโซมระหว่างการเก็บรักษา เมื่อแผ่นฟิล์มสัมผัสกับผลิตภัณฑ์อาหาร ความชื้นที่ปล่อยออกมาจากอาหาร ทำให้สารสกัดที่กักเก็บภายในไลโปโซมค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ สารสกัดนี้ถูกกักระหว่างผิวสัมผัสของอาหารและไขมันของผนังไลโปโซมทำให้เกิดการเคลือบเป็นแผ่นฟิล์มที่ผิวหน้าอาหาร ทำให้สารสกัดสามารถสัมผัสกับอาหารได้มากยิ่งขึ้น จึงช่วยลดความเสี่ยงในการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากขึ้นและยังช่วยป้องกันการระเหยของน้ำจากผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย (Quintavalla and Vicini, 2002; Han, 2005; Cutter, 2006)

การนำไลโปโซมมาใช้เพื่อกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์มาใช้ในอาหารมีจำกัด ส่วนมากใช้ในการกักเก็บกลิ่นรส (flavor) ของอาหาร (Gibbs *et al.*, 1999) ส่วนงานวิจัยที่ศึกษาการกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์โดยใช้ไลโปโซมนิยมใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเป็นส่วนมาก (Pourkavoos, 1992; Hill *et al.*, 1997; Rukholm *et al.*, 2006) ซึ่งไม่เหมาะในการนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษากระบวนการเอนแคปซูลชันโดยใช้ไลโปโซมในการกักเก็บสารสกัดจากพืชที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งเป็นแนวทางการพัฒนาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ มาเป็นสารที่ใช้ในการถนอมอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพในระดับอุตสาหกรรม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษากระบวนการเอนแคปซูลเลชันโดยใช้ไลโปโซมในการกักเก็บสารสกัดจากพืชที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พร้อมทั้งศึกษากระบวนการขึ้นรูปฟิล์มเพกตินเพื่อใช้ในการตรึงสารต้านจุลินทรีย์ภายหลังการเอนแคปซูลเลชัน และนำไปประยุกต์ใช้กับเนื้อสัตว์ตัดแต่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นแนวทางการพัฒนาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ มาเป็นสารที่ใช้ในการถนอมอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลู กระเทียมและเปลือกทับทิม โดยวิธี disc diffusion
2. การวิเคราะห์ค่า critical micelle concentration (CMC) ของสารละลายเลซิติน
3. ศึกษาหาสัดส่วนระหว่างเลซิติน และสารสกัดต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิค ดับเบิลอิมัลชัน และประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของไลโปโซมเอนแคปซูลเลชันของสารสกัดโดยวิธี disc diffusion
4. ศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ พลาสติไซเซอร์ และสารกักต้งยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปไลโปโซม สำหรับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกติน
5. ศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่มีไลโปโซมห่อหุ้มสารสกัดจากกานพลู กระเทียมและเปลือกทับทิม เมื่อใช้กับเนื้อสัตว์ตัดแต่ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเสื่อมเสียของเนื้อสด

โดยทั่วไปการเสื่อมเสียของเนื้อสด เกิดจากจากผลทางชีวเคมีและจุลินทรีย์มากที่สุด เนื้อสัตว์เองจัดเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ดังนั้น จุลินทรีย์จึงเป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสียของอาหารประเภทนี้ การเสื่อมเสียทางชีวเคมีสามารถเกิดได้จากการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์เองที่เรียกว่า autolysis เช่น จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในเนื้อสัตว์เอง รวมถึงการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากการออกซิไดส์ของไขมันที่มีในเนื้อสัตว์ การเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ที่เกิดจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อที่สำคัญมาจาก 2 แหล่ง คือ จากสภาพแวดล้อมภายนอกของสัตว์หรือเนื้อสัตว์ เช่น สภาพแวดล้อมของฟาร์ม อุปกรณ์หรือผู้ปฏิบัติงาน การเก็บรักษา และจากสภาพแวดล้อมภายในของสัตว์ก่อนและหลังการชำแหละ เช่น ความสมบูรณ์หรือความเป็นโรคของสัตว์ จุลินทรีย์ก่อโรคในเลือดและลำไส้ โดยมักเกิดการปนเปื้อนในช่วงการฆ่า ชำแหละ และการตัดแต่ง การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์สามารถจำแนกได้จากพื้นฐานที่เกิดจากการเสื่อมเสียในสภาพบรรยากาศแบบมีอากาศหรือไร้อากาศรวมถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย ดังนี้ (สุขใจ ชูจันทร์, 2547; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549; Quintavalla and Vicini, 2002; Develieghere *et al.*, 2004; Aymerich *et al.*, 2008)

2.1.1) การเสื่อมเสียในสภาพที่มีอากาศ แบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุในการเสื่อมเสียในรูปแบบต่างๆ คือ การเกิดเมือกบริเวณผิวหน้าของเนื้อ (surface slime) ได้แก่ *Pseudomonas* *Acinetobacter* *Moraxella* *Alcaligenes* *Streptococcus* *Leuconostoc* *Bacillus* *Micrococcus* และ *Lactobacillus* บางสายพันธุ์ อุณหภูมิและความชื้นมีผลในการเจริญของเชื้อ เช่น อุณหภูมิแช่เย็นและมีความชื้นสูง เชื้อ *Pseudomonas* *Alcaligenes* เจริญได้ดี กรณีที่ความชื้นต่ำ พบการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม *micrococi* ยีสต์และรา ที่อุณหภูมิห้อง พบการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม *mesophilic* สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ โดยสีแดงสดของเนื้อเปลี่ยนเป็นสีเขียว แดงและเทา จากสารประกอบพวกออกซิไดซิง เช่น เปอร์ออกไซด์จากจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* การเปลี่ยนแปลงที่เกิดในส่วนของไขมันของเนื้อสัตว์ เกิดจากกลุ่ม *lipolytic bacteria* ที่ทำให้เกิด *lipolysis* และอาจเพิ่มการออกซิเดชันที่เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน คือ *Pseudomonas* *Acinetobacter* การเกิด phosphorescence เกิดจากแบคทีเรียที่ผลิตสารเรืองแสงที่เจริญบนผิวของเนื้อ เช่น *Photobacterium spp.* การเกิดสีต่างๆ

จากจุลินทรีย์ที่ผลิตสี เช่น จุดสีแดงเกิดจาก *Serratia marcescens* สีเหลืองเกิดจาก *Micrococcus* หรือ *Flavobacterium* จุดสีน้ำเงินแกมเขียวกับจุดสีน้ำตาลดำจาก *Chromobacterium lividum* สีม่วงบนชั้นไขมัน (stamp-ink) เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่ม cocci และ rod กลิ่นหรือรสที่เสียไป เรียกว่า Taints เช่น *Actinomycetes* ทำให้มีกลิ่นคล้ายดิน เรียกว่า musty หรือ earth flavor

2.1.2) การเสื่อมเสียในสภาพไร้อากาศ เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม facultative และ anaerobic bacteria เจริญภายในขึ้นเนื่องการเสื่อมเสียในรูปแบบต่างๆ คือ souring โดยเกิดกลิ่นรสเปรี้ยว โดยจากการย่อยสลายโปรตีนหรือการผลิตกรดแลคติก เช่น *Clostridium* และ โคลิฟอร์ม การเสื่อมเสียแบบนี้เรียกว่า stinking sour fermentation ในภาชนะสุญญากาศมักเกิดจากกลุ่มแลคติกแบคทีเรีย putrefaction ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโปรตีนทำให้เกิดกลิ่นเน่าเหม็น เช่น *Clostridium* และกลุ่ม facultative บางกลุ่ม

นอกจากการเสื่อมเสียที่เกิดจากการเก็บรักษาเนื้อสัตว์แล้ว อุณหภูมิในการเก็บยังมีความสำคัญต่อชนิดจุลินทรีย์ เช่น ที่อุณหภูมิต่ำใกล้จุดเยือกแข็ง ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญช้าหรือหยุดเจริญ โดยที่แบคทีเรียยังไม่ตาย เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas* *Acinetobacter* *Moraxella* *Alcaligen* *Streptococcus* *Leuconostoc* *Flavobacterium* และ *Lactobacillus* เป็นต้น ส่วน *Clostridium* มักต้องการอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิตู้เย็นในการเจริญ การเสื่อมเสียของเนื้อหมูสดแช่เย็น มักมีการเสื่อมเสียทางชีวเคมีและทางจุลินทรีย์มักเกิดจาก *Pseudomonas* *Acinetobacter* และ *Moraxella* ส่วนแบคทีเรียประเภทแลคติกก็เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียได้ 3 แบบ คือ เกิดเมือกที่ผิวหรือภายในเนื้อ เกิดสีเขียวในผลิตภัณฑ์ และเกิดรสเปรี้ยว การเสื่อมเสียของเนื้อวัวสด มักมีการเสื่อมเสียทางชีวเคมี เช่น reddish-brown methemoglobin green-gray-brown oxidation pigment โดยปฏิกิริยาของออกซิเจน และทางจุลินทรีย์ คือมักเกิดจุดสีจากจุลินทรีย์ การเกิด phosphorescence จุดโคโลนิ์ของแบคทีเรีย ยีสต์และรา เป็นต้น



รูปที่ 2.1 ลักษณะเนื้อวัวสด (A) และลักษณะเนื้อวัวเมื่อเก็บเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (B) ในบรรจุภัณฑ์ที่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส
ที่มา : Coma (2008)

Oussalah และคณะ (2004) พบว่าเนื้อวัวที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว มีอายุการเก็บรักษาที่สั้นคือ ระหว่าง 3 ถึง 5 วัน เมื่อเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิมากกว่า 4 องศาเซลเซียส โดยเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas Enterobacteriaceae* และแบคทีเรียกลุ่มแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของเนื้อ นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Samonella Enteritidis* *E.coli* O157:H7 และ *Yersinia enterocolitica* ที่เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร เป็นสาเหตุของการเกิดอาหารเป็นพิษและถึงแก่ชีวิตได้

2.2 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ที่ผ่านมา มีรายงานการวิจัยจำนวนมากที่ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์จากสารสกัดจากพืชต่างๆ ตัวอย่างเช่น น้ำมันหอมระเหย มีการศึกษาถึงน้ำมันหอมระเหยของจากพืช 21 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร 5 ชนิด คือ *Campylobacter jejuni* *E. Coli* *Salmonella Enteritidis* *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus* พบว่า น้ำมันจากเบย์ อบเชย กานพลู และไทม์ ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 0.075 โดยปริมาตรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Smith-Palmer, Stewart and Fyfe, 1998) นอกจากนี้ สารสกัดจากธรรมชาติชนิดอื่นๆ เช่น สารสกัดจากพืชสมุนไพรด้วยน้ำและเมธานอลมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในทางเดินอาหาร คือ *E. coli* *Shigella sonnei* *Shigella flexneri* และ *Salmonella sp.* พบว่า สารสกัดเมธานอลของเปลือกผลทับทิมที่ความเข้มข้น 8 มก./มล. มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบร้อยละ 56.8-59 64.3 - 70 100 50-51.5 ตามลำดับ มีค่าการยับยั้งมากกว่ายาปฏิชีวนะ chloramphenicol แต่ไม่มากกว่า trimethoprim (Alanis *et al.*, 2005) และสารสกัดจากกระเทียม ขิง กานพลู พริกไทยดำ และพริกเขียวสกัดด้วยน้ำ พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus sphaericus* *Enterobacter aerogenes* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermis* *Shigella flexneri* และ *Salmonella Typhi* โดยให้ขนาดวงใสในการยับยั้งตั้งแต่ 19.3-30 มิลลิเมตร (Arora and Kaur, 1999) และเมื่อนำสารสกัดจากพืชและสมุนไพรเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้กับอาหาร พบว่าการใช้สารประกอบน้ำมันหอมระเหย 9 ชนิดและน้ำมันกระเทียม สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของซีนพลาสติกจาก 4 วันเป็น 12 วัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (Mahmound *et al.*, 2004) ซึ่งการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหย สารสกัดต่างๆจากพืช เพื่อใช้ทดแทนการถนอมอาหารด้วยสารเคมี และทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเหล่านี้มีชื่อเรียกว่า "green label" ซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน (Devlieghere *et al.*, 2004)

จากการวิจัยที่ผ่านมาสามารถสรุปสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากสารสกัดจากพืชต่างๆ ปริมาณความเข้มข้นที่ใช้ในตัวอย่างอาหาร และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งได้ ในตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 สารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์หลักในสมุนไพรและเครื่องเทศที่ใช้ในอาหาร

Herb /spice	Active compound	Herb /spice	Active compound
Allspice	eugenol, methyl eugenol	Coriander	β -pinene, α -linalool
Cinamon	cinnamaldehyde, eugenol	Pimento	eugenol, limonene
Cloves	eugenol, eugenol acetate	Basil	linalool, methylchavicol
Cumin	cuminaldehyde	Mustard	Allyl isothiocyanate
Garlic	allicin, diallyl disulfide	ginger	Tanins
Mint	menthol, menthone	Lemon grass	citral, citronellol, geraneol, cineole
Oregano	thymol, carvacrol	Chili	capsaicin
Rosemary	borneol, 1,8-cineole	Onion	<i>d-n</i> -propyl disulfide
Sage	thujone, borneol	Ginseng	Saponins
Thyme	thymol, carvacrol, menthol	Hops	lupulone, humulone

ที่มา : ดัดแปลงจาก Nychas และคณะ (2003)

ตารางที่ 2.2 การใช้สารต้านจุลินทรีย์จากพืชในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ

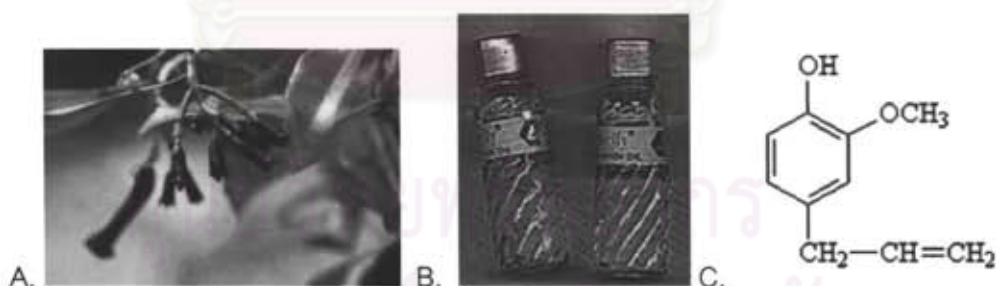
Antimicrobial agent	Concentration	Food	Organism
Basil	1% (w/v)	Spagetti sauce	<i>Shigella</i> spp.
Carvacrol	3% (v/w)	Fish cubes	<i>S. Typhimurium</i>
Cilantro oil	6% in film	Ham	<i>L. monocytogenes</i>
Cinnamaldehyde	0.5% (w/w)	Dried beef Cream puff	Inoculated Gram-positive, natural Gram-negative microflora
Cloves	1% (w/v)	Beef	<i>L. monocytogenes</i>
Clove oil	500 μ g/ ml	Cooked pork	<i>Aeromonas hydrophila</i>
Diallyl disulfide	20 μ l	Ground beef	<i>Campylobacter jejuni</i>
Garlic	4 % (w/w)	Sausages	<i>Natural microflora</i>
Oregano	0.05% (v/v)	Whole fish	<i>Natural microflora</i>
Mint oil	2	Tzatziki	<i>S. Enteritidis</i> <i>L. monocytogenes</i>

ที่มา : ดัดแปลงจาก Holly และ Patel (2005)

สำหรับงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกเครื่องเทศและสมุนไพรที่มีแพร่หลายอยู่แล้วในประเทศไทย พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์นำมาใช้ คือ น้ำมันกานพลู สารสกัดกระเทียม และสารสกัดจาก เปลือกผลทับทิม

2.2.1 น้ำมันกานพลู (Clove oil)

กานพลูมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et Harrison มีชื่อพ้อง คือ *Syzygium aromaticum* (Linn.) เป็นพืชเมืองร้อน ชอบอากาศร้อนและความชื้นสูง มีการเพาะปลูกมากในประเทศไทย จัดเป็นเครื่องเทศเก่าแก่ชนิดหนึ่งที่รู้จักกันมา ยาวนานของชาวตะวันตก มีกลิ่นหอมและมีรสเผ็ดร้อน น้ำมันกานพลูเป็นน้ำมันซึ่งได้จากการนำดอกกานพลูแห้งมาลั่นด้วยไอน้ำ เมื่อกลั่นใหม่ๆจะไม่มีสี หรือเป็นสีนวล กลิ่นหอมและรสเผ็ด น้ำมันกานพลูเป็นสารประกอบพวกฟีนอลไม่น้อยกว่าร้อยละ 85 ส่วนใหญ่เป็น eugenol (2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol) ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังประกอบด้วย eugenol acetate และ caryophyllene รวมกันเป็นร้อยละ 99 โดยจากสารประกอบทั้ง 3 ชนิด เป็น eugenol อยู่ถึงร้อยละ 70-90 และสารที่พบปริมาณน้อยใน น้ำมันกานพลู คือ methyl-n-amyl สารคีโตนชนิดนี้ทำให้น้ำมันมีกลิ่นเฉพาะของน้ำมันกานพลู ส่วนมากน้ำมันกานพลูใช้ในการแต่งกลิ่นอาหารจำพวกเนื้อ เช่น หมูแฮม ฯลฯ (พยอม ตันติวัฒน์, 2527)



รูปที่ 2.2 ลักษณะดอกกานพลูที่นำมากลั่นน้ำมัน (A) น้ำมันกานพลู (B) และสูตรโครงสร้าง Eugenol ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในน้ำมันกานพลู (C)

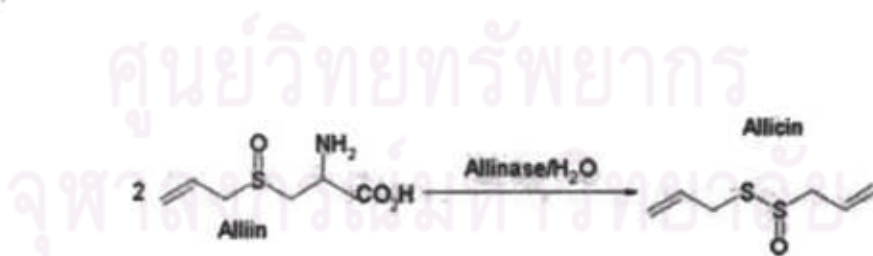
ที่มา : Branan, Butcher และ Olsen (2007)

Quattara และคณะ (1997) ทดลองประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ พบว่า

น้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ดุที่สุดทั้งแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Brochothrix thermosphacta* *Carnobacterium piscicola* ATCC 43224 *Lactobacillus curvatus* ATCC 25601 *Lactobacillus sake* ATCC 15521 และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas fluorescence* *Serratia liquefaciens* ที่ความเข้มข้นในอัตราการใช้จาก 1/100 และ 1/10 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานทดลอง แยกได้จากเนื้อสัตว์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของเนื้อ และพบสารออกฤทธิ์ยับยั้ง จุลินทรีย์ คือ eugenol จัดเป็นร้อยละ 93-95 ของน้ำมันกานพลู และไม่พบ phytotoxic effect ในน้ำมันกานพลู

2.2.2 น้ำมันกระเทียม

กระเทียม (garlic) เป็นพืชหัว (bulb) มีอายุอยู่ได้หลายปี หัวประกอบด้วยกลีบ (clove) หลายกลีบ แต่ละกลีบมีเยื่อบางสีขาวหรืออมชมพู มีถิ่นกำเนิดในตอนกลางทวีปเอเชีย และยุโรป มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Allium sativum* Linn สารสำคัญและประโยชน์ที่พบในหัวกระเทียมคือ ไกลโคไซด์ allyin หรือ alliin (sallyl-L-cystein sulfoxide) เมื่อนำกระเทียมมาขยี้ สับหรือตำ เอนไซม์ allinase เปลี่ยน allyin ให้เป็น allicin (allyl thiosulfinate) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกซัลเฟอร์ allicin ที่เป็นน้ำมันไม่มีสี ละลายน้ำ และผสมเป็นเนื้อเดียวกับเอธานอล เบนซิน และอีเทอร์ มีฤทธิ์หยุดยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดได้ดีกว่า allyin และ allicin มีสมบัติรวมกับโปรตีนได้ ซึ่งสมบัตินี้ทำให้กระเทียมเป็นยาปฏิชีวนะได้ เพราะ allicin ไปรวมกับโปรตีนของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเท่ากับเป็นการทำลายเชื้อนั้นๆ (Ankri and Mirelman, 1999)



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการสร้าง allicin จากสารตั้งต้น alliin ในกระเทียม
ที่มา : Ankri และ Mirelman (1999)

Siripongvutikorn และคณะ (2005) ศึกษาผลในการยับยั้งจุลินทรีย์และสมบัติยับยั้งอนุมูลอิสระของเครื่องเทศไทยในต้มยำ พบว่าน้ำมันกระเทียมให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง

แกรมบวกและลบได้สูงสุดมากกว่าส่วนผลมในตั้มย่ำอื่นๆ โดยมีผลกับ *P. fluorescens* ATCC 49839 *E.coli* O157:H7 *S. aureus* ATCC 13565 *L. monocytogens* ทั้งนี้เชื่อว่า allicin (diallyl thiosulfinate) เป็นสารประกอบที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเทียม ซึ่งกลไกการทำงานของ allicin คือ มีผลยับยั้งต่อปฏิกิริยาทางเคมีของกลุ่ม thiol ของเอนไซม์หลายชนิดในจุลินทรีย์ รวมทั้งเป็นสารไวต่อปฏิกิริยา thiosulfinate เช่น alcohol dehydrogenase thioredoxin reductase RNA polymerase cysteine proteinase ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ แม้ที่ความเข้มข้นต่ำ

2.2.3 สารสกัดจากเปลือกทับทิม

ทับทิมมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Punica granatum* Linn. มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ปลูกทั่วไปในเมืองไทย ใบมีกลิ่นเหม็นเขียว ดอกมีกลีบสีแดง ผลกลม สีเหลืองอมแดง มีเมล็ดจำนวนมาก แต่ละเมล็ดหุ้มด้วยเนื้อสีชมพูใสๆ มีกลิ่นหอม สารสำคัญในทับทิม คือ แอลคาลอยด์เพลเล็ตเทอรีน (pelletierine) ไอโซเพลเล็ตเทอรีน (isopelletierine) และ tannin ในเปลือกผลทับทิม (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2538)

Ahmad, Mehmood และ Mohammad (1998) ได้คัดเลือกพืชอินเดียที่ใช้ทางการแพทย์ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยสกัดสารด้วยน้ำ เฮกเซน และเอธานอล และใช้ความเข้มข้นที่ 200 มก./มล พบว่า สารสกัดด้วยเอธานอลให้ค่าการยับยั้งที่สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ และ เฮกเซน โดยสารสกัดเอธานอลจากเปลือกผลทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้ง *B. subtilis* ATCC 6051 *Proteus vulgaris* ATCC 6380 *P. aeruginosa* ATCC 25619 *E. coli* K-12 *S. aureus* มีค่า inhibition zone อยู่ในช่วง มากกว่า 20 10-19 10-19 10-19 และ 20 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยพบ flavonoid tannin steroid และ triterpene เป็นสารประกอบที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ในเปลือกทับทิม และการวิเคราะห์ความเป็นพิษในระดับเซลล์ต่อ fresh sheep erythrocytes ไม่พบความเป็นพิษในระดับเซลล์

Burt (2004) รวบรวมผลการทดลองของน้ำมันหอมระเหยที่มีสมบัติยับยั้งแบคทีเรียและความสามารถนำไปใช้ได้ พบว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ มาจากความเป็น hydrophobic ของน้ำมันหอมระเหย และส่วนของสารประกอบฟีนอลในน้ำมันที่สามารถแทรกเข้าไปภายในส่วนไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์และไมโทคอนเดรียของจุลินทรีย์ ที่ส่งผลต่อการรั่วของ intercellular membrane ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก เช่น โซเดียมหรือ

ไปแต่สเต็ม หรือทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบเอนไซม์ของจุลินทรีย์โดยทำให้เอนไซม์เสียสภาพ หรือจับกับหมู่จำเพาะที่จำเป็นต่อการทำงานของจุลินทรีย์ การเจริญของจุลินทรีย์จึงหยุดชะงักและตายในที่สุด

2.3 ไลโปโซมเอนแคปซูลชัน (liposome encapsulation)

การทำไลโปโซมเอนแคปซูลชัน คือ การเคลือบหรือห่อหุ้มอนุภาคของแข็งเล็กๆ หรือหยดของเหลวเล็กๆ หรือก๊าซ โดยสารที่ใช้เคลือบต้องไม่เกิดปฏิกิริยากับอนุภาคสารที่ถูกเคลือบและต้องไม่เสื่อมสลายก่อนนำไปใช้ เมื่อนำไปเคลือบแล้วต้องปลดปล่อยอนุภาคที่เคลือบ (core) ออกมาได้ตามที่ต้องการ โดยอนุภาคที่ถูกเคลือบไว้เรียกว่า แคปซูล ซึ่งเป็นของผลิตภัณฑ์ที่ออกฤทธิ์นาน มีลักษณะคือ สารที่ถูกเคลือบด้วยสารที่ใช้เคลือบเพื่อชะลอการปลดปล่อย โดยควบคุมอัตราการซึมและการละลาย (Mathiowitz, Kreitz and Peppas, 1999)

กระบวนการเอนแคปซูลชันมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันสารที่เป็นแกนจากสิ่งแวดล้อมภายนอกที่อาจทำให้สารที่เป็นแกนไม่คงตัวและเสื่อมสลายได้ง่าย สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสองชนิดที่ทำเอนแคปซูลชันได้ สามารถเปลี่ยนแปลงของเหลวหรือก๊าซไปเป็นของแข็ง ลดการระเหยของสารที่เป็นแกน ลดความเป็นพิษของสารที่เป็นแกน รวมทั้งมีประโยชน์ในการช่วยกลบกลิ่นและรสที่ไม่พึงประสงค์ของสารที่ถูกเคลือบ และเป็นรูปแบบที่เก็บรักษาได้นานกว่าในรูปของเหลว ทำให้สะดวกในการนำไปใช้ (Young, Sarda and Rosenberg, 1993; Bakan, 1994; Gibbs *et al.*, 1999)

ข้อพิจารณาสำหรับการทำเอนแคปซูลชัน คือ สมบัติของสารที่เป็นแกน สารที่ใช้เคลือบ สมบัติการปลดปล่อยสารที่เป็นแกนจากสารที่ห่อหุ้ม และวิธีการทำเอนแคปซูลชัน กระบวนการเอนแคปซูลชันโดยใช้การจับกับไลโปโซม เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในทางเภสัชศาสตร์ อาทิเช่น วัคซีนหรือวิตามิน เข้าไปในร่างกาย โดยมีสมบัติที่เป็นประโยชน์มากเนื่องจาก มีความแข็งแรงกว่าสารเคลือบที่เป็นไขมันชนิดอื่นๆโดยใช้ส่วนประกอบที่เป็นชั้น (layer) ของฟอสโฟลิพิด ไม่เป็นพิษ และสามารถนำไปใช้เป็นอาหารได้ (Finch, 1993; พิมพ์ใจ อมรศิริรัตนกุล, 2543)

Chacon และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลการยับยั้งของ microencapsulated ของ allyl isothiocyanate (AIT) ในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในเนื้อสับละเอียดที่อุณหภูมิตู้เย็น พบว่า AIT ที่ห่อหุ้มมีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ลดลงมากกว่า 2.5 log cycle ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา และสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสับได้จาก 15 วันเป็น 18 วัน

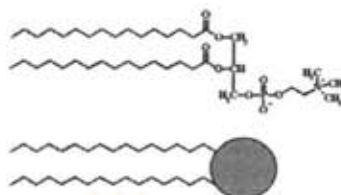
2.3.1 ไลโพโซม (liposome)

ไลโพโซม คือ อนุภาคหรือถุงกลมๆ ขนาดเล็กของสารไขมันในสารละลายน้ำ สารไขมันที่อยู่ในรูปของอนุภาคเกิดจากโมเลกุลของไขมันประเภทฟอสโฟลิพิดทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วในโมเลกุลเดียวกัน โดยเอาส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลพวกเดียวกัน ส่วนประเภทมีขั้ว (polar lipid) ที่สามารถจับกับน้ำและเกิดเป็นไลโพโซมได้อยู่ในลักษณะของการเรียงตัวเป็นแถวของโมเลกุลไขมันเรียงซ้อนกันเป็นสองชั้นอยู่ในรูปเป็นโครงสร้างของผนังสองชั้น (double layer) ซึ่งอาจมีผนังสองชั้นซ้อนกันมากกว่าหนึ่งชั้น โดยมีชั้นของสารละลายน้ำกั้นอยู่ระหว่างผนังสองชั้นก็ได้ ทำให้ไลโพโซมมีความสามารถเก็บกักสารทั้งสมบัติมีขั้วและส่วนของสารสกัดที่มีสมบัติไม่มีขั้วได้ในโมเลกุลเดียวกัน และไลโพโซมยังช่วยเพิ่มความคงตัว ป้องกันการสลายตัวของสารที่ถูกเก็บกักไว้ในไลโพโซมจากการถูกทำลายโดยสิ่งแวดล้อมภายนอก (Barenholz, 2003)

ข้อดีของไลโพโซม คือ ไม่เป็นพิษเนื่องจากไลโพโซมเตรียมจากไขมันที่เป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและสามารถถูกทำลายได้ในร่างกาย ดังนั้น จึงไม่อันตรายและไม่ทำให้เกิดอาการแพ้เมื่อเข้าสู่ร่างกาย ไลโพโซมช่วยเพิ่มความคงตัวของสารที่ถูกเก็บกักและช่วยป้องกันการสลายตัวของสารเคมีที่ถูกเก็บกักไม่ว่าสารนั้นเก็บกักไว้ในชั้นน้ำหรือชั้นไขมันของไลโพโซม ซึ่งเป็นการป้องกันสารจากการถูกทำลายโดยสิ่งแวดล้อมภายนอก ไลโพโซมช่วยลดความเป็นพิษของสารที่ถูกเก็บกักเนื่องจากการดัดแปลงสมบัติของไลโพโซม โดยการเลือกส่วนประกอบไขมันที่เหมาะสม และลดขนาดของไลโพโซม สามารถควบคุมการกระจายตัวและการออกฤทธิ์ของไลโพโซมที่เตรียมได้และสามารถดัดแปลงสมบัติของไลโพโซมได้ง่าย โดยการเลือกส่วนประกอบของไขมัน และเทคนิคหรือวิธีการเตรียมไลโพโซมซึ่งทำให้ได้ไลโพโซมที่มีขนาดอนุภาคและประจุบนผิวแตกต่างกันได้มากมาย (อรัญญา มโนสร้อย และจิระเดช มโนสร้อย, 2545; ธวัชชัย แพชมัด, 2547; Redelmeier, 2001)

เลซิทิน (Lecithin) เป็นสารที่สามารถก่อรูปเป็นไลโพโซมได้ เนื่องจากมีสมบัติเป็นฟอสโฟลิพิดชนิดฟอสฟาติดีลคอลลิน ซึ่งประกอบด้วยกลีเซอรอล กรดไขมัน กรดฟอสฟอริกและคอลลิน เลซิทินเป็นฟอสโฟลิพิดที่พบทั่วไปในเซลล์ของสัตว์ มีหน้าที่เกี่ยวกับการทำงานของเมมเบรน เลซิทินเป็น amphoterics ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 จึงเป็น zwitterion หรือ dipolar ion มีประจุลบอยู่ที่กรดฟอสฟอริก และมีประจุบวกอยู่ที่ไนโตรเจนของคอลลิน เลซิทินส่วนใหญ่มีหมู่เอซิลเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวที่ตำแหน่งที่ 1 และเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่ตำแหน่งที่ 2 โดยกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของเลซิทินขึ้นอยู่กับชนิดของเลซิทิน เช่น ปาล์มิติลเลซิทินมีกรดปาล์มิติก เลซิทินพบมากในไข่แดงและถั่วเหลือง โดยเฉพาะเลซิทินในถั่วเหลืองใช้

เป็นแหล่งวัตถุดิบ การผลิตเลซิทินในอุตสาหกรรม เลซิทินบริสุทธิ์ไม่มีสี มีลักษณะมัน (greasy) ถูกไฮโดรไลซ์และออกซิไดส์ได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีความสามารถรวมกับสารอื่นได้ เช่น โปรตีนหรือ คาร์โบไฮเดรต (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างเลซิทิน (lecithin) มีสมบัติเป็นฟอสโฟลิพิด เป็นสารที่ก่อรูปเป็นไลโปโซม
ที่มา : พรเพ็ญ คงเอี่ยมพิธิ (2550)

2.3.2 ชนิดของไลโปโซม

ประเภทของไลโปโซม สามารถแบ่งได้ตามวิธีการผลิต หรือจำนวนผนัง bilayer ของไลโปโซม หรือขนาดของไลโปโซม ดังนี้ (อรัญญา มโนสร้อย และจิรเดช มโนสร้อย, 2545; Fielding 1991; Vemuri and Rhodes, 1995)

2.3.2.1 ไลโปโซมที่มีผนังสองชั้นหลายชั้น (multilamella vesicles, MLV) มี bilayer หลายชั้นโดยมีน้ำเป็นตัวกั้นแต่ละชั้น เป็นไลโปโซมที่สามารถเตรียมขึ้นจากการกระจายตัวหรือฟองตัวของไขมันในสารละลายน้ำ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.5-10 ไมโครเมตร เตรียมได้โดยการเขย่าด้วยมือ จัดเป็นไลโปโซมชนิดแรกที่ค้นพบสามารถบรรจุสารได้ดี คงตัวดี แต่ขนาดไลโปโซมที่ได้มีความแตกต่างกันมาก เมื่อถูกปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บถูกปล่อยโดยผ่านชั้นของผนังสองชั้น (double layer) ไปสู่ชั้นน้ำ และสามารถนำไลโปโซมประเภทมัลติลามลาร์นี้มาเตรียมเป็นไลโปโซมที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียวได้โดยกระบวนการต่างๆ เช่น การใช้คลื่นความถี่สูง (sonication)

2.3.2.2 ไลโปโซมขนาดใหญ่ที่มีผนังสองชั้นหลายชั้น (large multilamellar vesicles; LMV) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.05-10 ไมครอน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บในชั้นน้ำร้อยละ 5-15 สามารถเตรียมได้โดยใช้เครื่องเขย่า (mechanical stirring หรือ vortex) ไลโปโซมประเภทนี้มีความกตตันผิวเท่ากับศูนย์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆของผนังไขมันสองชั้น (double layer) ของไลโปโซมไปเป็นผนังไขมันชั้นเดียว (monolayer) จากนั้นสารที่ถูกกักเก็บค่อยๆ ปล่อยออกมาสู่ชั้นน้ำ

2.3.2.3 โลโซโซมขนาดเล็กที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียว (small unilamella vesicles, SUV) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.025-0.10 ไมครอน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บในชั้นน้ำร้อยละ 0.5-1 แม้บรรจุสารได้น้อยแต่ขนาดที่เตรียมค่อนข้างสม่ำเสมอและคงตัวดี สามารถเตรียมได้โดยใช้เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิทรานซิชันของโลโซโซม หรือการนำโลโซโซมที่มีผนังสองชั้นหลายชั้น (MLV) มาผ่านการ sonication

2.3.2.4 โลโซโซมขนาดกลางที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียว (intermediate unilamella vesicles, IUV) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 1-10 ไมครอน ประสิทธิภาพในการกักเก็บในชั้นน้ำมากกว่า SUV แต่น้อยกว่า LUV

2.3.2.5 โลโซโซมขนาดใหญ่ที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียว (large unilamella vesicles, LUV) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.1-0.4.0 ไมครอน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บในชั้นน้ำร้อยละ 35-65 มีปริมาตรในชั้นน้ำมากกว่า LMV ถึง 10 เท่า แต่ขนาดที่ได้ไม่ค่อยสม่ำเสมอและคงตัวไม่ดี สามารถเตรียมได้โดยใช้ reverse phase evaporation หรือ ether evaporation เหมาะสมกับการนำส่งยา เนื่องจาก สามารถบรรจุยาที่ละลายในวัฏภาคน้ำได้มาก และมีผนังชั้นเดียวกับเยื่อหุ้มเซลล์



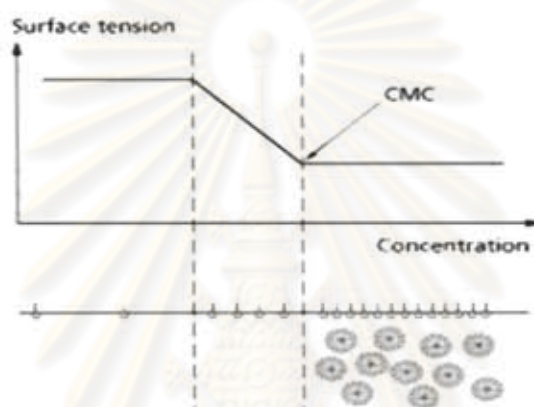
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของอนุภาคโลโซโซมแบบยูนิลามลลาร์ (A) และมัลติลามลลาร์ (B)

ที่มา : Walde และ Ichikawa (2001)

2.3.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทำอิมัลชันที่ทำให้เกิดไมเซลล์ (CMC)

เป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างแรงตึงผิวของสารละลายตัวทำอิมัลชันกับความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันในตัวทำละลายต่างๆ โดยใช้ไมเซลล์ของสารทำอิมัลชันหุ้มสารสกัดที่ไม่ละลายในน้ำ ทำให้การกระจายของสารสกัดในน้ำสม่ำเสมอ ดังนั้นความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมสารละลายไมเซลล์ ต้องสูงกว่าความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่ำสุดที่เกิดไมเซลล์ในสารละลายคือ CMC ของสารทำอิมัลชันในสารละลายที่นำมาเตรียมผลิตภัณฑ์ ซึ่งหาได้จากความสัมพันธ์ระหว่างแรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน โดย CMC คือ

ความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันที่ค่าแรงตึงผิวเริ่มคงที่ไม่ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน โดยความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันไม่มีผลต่อค่าแรงตึงผิว (Hiemenz, 1977) เนื่องจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวหรือสารทำอิมัลชันอยู่เต็มผิวหน้าแล้ว เมื่อเพิ่มสารลดแรงตึงผิว ส่วนเกินของสารลดแรงตึงผิวนั้นถูกผลักเข้าไปอยู่ใต้ผิวสัมผัส ซึ่งการก่อตัวเป็นไลโปโซมเกิดจากการพยายามจัดเรียงตัวเพื่อให้อยู่ในรูปที่มีพลังงานต่ำ เพื่อให้มีความคงตัวที่ดีที่สุดตามกฎเทอร์โมไดนามิก (ธวัชชัย แพชมัด, 2547) โดยรูปร่างโมเลกุลส่วนหัวที่ชอบน้ำรวมตัวกันอยู่ในน้ำเป็นโมเลกุลที่เรียกว่า micelle ดังนั้น จึงสามารถกระจายส่วนที่ไม่ละลายในน้ำให้สามารถกระจายในน้ำได้



รูปที่ 2.6 การเกิดไมเซลล์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดของตัวทำอิมัลชัน

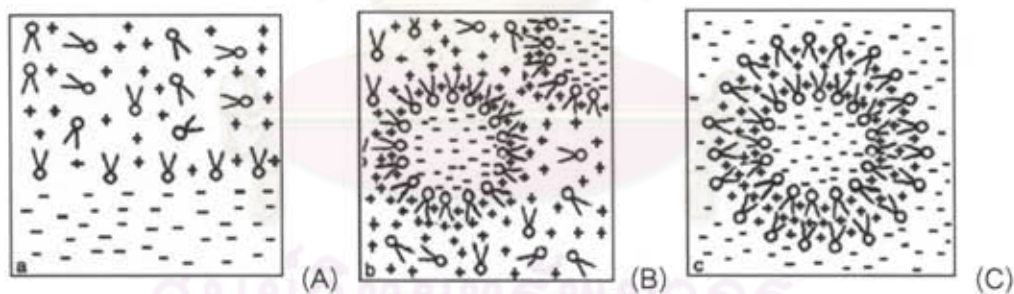
ที่มา : Purohit และ Balasubramanian, 2006

2.3.4 การเตรียมไลโปโซม

การเตรียมไลโปโซมมีผลต่อการกระจายตัวของสารที่ถูกกักเก็บ (homogenous หรือ heterogenous) ขนาดของไลโปโซมและจำนวน bilayer ของไลโปโซม (Walde and Ichikawa, 2001) การเตรียมทุกวิธี ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนพื้นฐาน ดังนี้ (1) การละลายฟอสโฟลิพิดในตัวทำละลายที่เหมาะสม (2) การแยกตัวทำละลายออกจากฟอสโฟลิพิด (3) การกระจายฟอสโฟลิพิดในตัวกลางที่เป็นน้ำ (4) การแยกสารที่ไม่ถูกกักเก็บจากไลโปโซมที่เตรียมได้ ซึ่งความแตกต่างของแต่ละวิธี อยู่ที่การใช้ตัวทำละลาย วิธีการละลายฟอสโฟลิพิดและการแยกเอาตัวทำละลายออก จากการรายงานของอรัญญา มโนสร้อย และจิระเดช มโนสร้อย (2545); ธวัชชัย แพชมัด (2547) และ Vemuri และ Rhodes (1995) อธิบายวิธีการเตรียมไลโปโซม ดังนี้

2.3.4.1 การเตรียมไลโปโซมด้วยวิธีทางเคมี (chemical method)

การเตรียมโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent dispersion method) คือ นำฟอสโฟลิพิดในตัวทำละลายอินทรีย์มากระจายในวัฏภาคน้ำซึ่งมีตัวทำละลายอยู่ ซึ่งวัฏภาคน้ำถูกกระจายตัวและถูกทำให้คงตัวด้วยฟอสโฟลิพิด โดยโมเลกุลของฟอสโฟลิพิดเรียงตัวเป็น monolayer ซึ่งเป็นจุดตั้งต้นของการเกิดเป็น bilayer ของไลโปโซม มีหลายเทคนิคที่นิยมใช้ เช่น เตรียมอิมัลชันโดยใช้วิธีการเตรียมอิมัลชัน 2 ครั้ง (double emulsion technique) เตรียมไลโปโซมโดยเริ่มจากการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำในไขมัน ด้วยการใส่สารละลายน้ำปริมาณน้อยลงในสารละลายของฟอสโฟลิพิดที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ บั่นให้สารละลายน้ำแตกออกเป็นอนุภาคขนาดเล็ก ในอ่างกำเนิดคลื่นความถี่สูง (sonicator bath) หรือวิธีการอื่นให้เข้ากันจนเกิดเป็นอิมัลชัน อนุภาคน้ำเล็กๆ เหล่านี้สามารถคงตัวอยู่ได้โดยที่โมเลกุลฟอสโฟลิพิดเรียงตัวเป็นอนุภาคทรงกลมหุ้มโมเลกุลน้ำไว้ภายในเช่นเดียวกับการเกิดไมเซลล์ที่ฟอสโฟลิพิดต้องมีจำนวนมากพอจึงเกิดผนังสองชั้น จากนั้นนำอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W_1/O) ที่เตรียมได้มาเติมสารละลายน้ำปริมาณมากเพื่อเตรียมเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ ($W_1/O/W_2$) ซึ่งมีอนุภาคของฟอสโฟลิพิดเรียงตัวเป็นผนังอีกชั้นหนึ่งรอบชั้นฟอสโฟลิพิดเดิม เมื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ผนังฟอสโฟลิพิดชั้นนอกกับชั้นในชิดกันเกิดเป็นผนังสองชั้นของไลโปโซม จึงได้ไลโปโซมชนิดผนังชั้นเดียวการเก็บกักสารที่ละลายน้ำด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง



รูปที่ 2.7 กลไกการเกิดไลโปโซมสองชั้นแบบ ($W_1/O/W_2$) โดยอิมัลชันแรกเริ่มมีส่วนของวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันที่ฟอสโฟลิพิดกระจายอยู่ (A) เกิด primary emulsions เรียกว่า W_1/O (B) จากนั้น primary emulsions เปลี่ยนเป็น double emulsions ($W_1/O/W_2$) (C)
ที่มา : Wang และคณะ (2006)

2.3.4.2 การเตรียมไลโปโซมด้วยวิธีทางกายภาพ (physical method)

เป็นการกระจายโมเลกุลของฟอสโฟลิพิดในน้ำ โดยอาศัยพลังงานกลช่วยในการเพื่อให้เกิดการรวมตัวเป็น bilayer โดยละลายฟอสโฟลิพิดในตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นระเหยเอาตัวทำละลายออกไปจนได้แผ่นฟิล์มบางๆเคลือบอยู่ จากนั้นเติมวัฏภาคน้ำที่มี

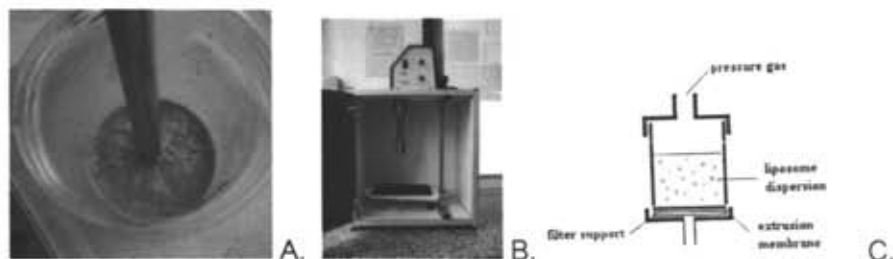
สารต้องการกักเก็บละลายอยู่ แผ่นฟิล์มเกิดไฮเดรชันและพองตัว เนื่องจากโมเลกุลของน้ำล้อมรอบส่วนหัวที่มีขั้วของไขมัน จากนั้นแผ่นฟิล์มลอกออกมาแล้วม้วนตัวเป็นแผ่นประสานกันเป็นอนุภาคไลโปโซม ได้ไลโปโซมที่มีผนังหลายชั้น (MLV) และเก็บกักสารที่เป็นแกนได้น้อยเพียงร้อยละ 5-10 เท่านั้น เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการเตรียมไลโปโซม ดังนั้น จึงต้องนำไลโปโซมที่เตรียมได้ไปผ่านวิธีอื่นเพื่อให้ได้ไลโปโซมที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ พร้อมเก็บกักตัวยาคำเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถทำได้โดยวิธีต่อไปนี้

2.3.4.2.1 การตีปั่นด้วยแรงสูง (high pressure homogenization) โดยใช้ไลโปโซมที่เตรียมขึ้นก่อนด้วยวิธีเบื้องต้นมาผ่านเครื่องตีปั่น (homogenizer) จนได้ไลโปโซมขนาดเล็กที่สม่ำเสมอตามต้องการ แต่ข้อเสียคือได้ไลโปโซมที่มีขนาดเล็กมากที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียว (SUV) ทำให้กักเก็บได้ต่ำและระบบมีปัญหาเรื่องความร้อนร่วมด้วย อาจทำให้ฟอสโฟลิพิดหรือสารกักเก็บละลายตัวได้

2.3.4.2.2 เทคนิคการเตรียมโดยใช้คลื่นความถี่สูง (sonication) เป็นเทคนิคที่ใช้พลังงานคลื่นเหนือเสียง (ultrasonic) ในการย่อยไลโปโซมที่มีผนังหลายชั้น (MLV) ให้เล็กลงเป็นผนังชั้นเดียว (SUV) และสม่ำเสมอ โดยคลื่นเสียงทำให้ไลโปโซมที่เตรียมได้แตกออกแล้วกลับมาเรียงตัวกันใหม่ โดยต้องควบคุมระยะเวลาที่ให้คลื่นความถี่สูงในระหว่างการเตรียมให้เหมาะสม แบ่งเป็น (1) Probe sonication โดยจุ่มโพรบลงไปในสารแขวนตะกอนของไลโปโซม ข้อดีคือเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ เพราะมีราคาถูก โดยขนาดและอนุภาคของไลโปโซมที่ได้ขึ้นกับอัตราเร็วของคลื่นความถี่และระยะเวลาที่ไลโปโซมสัมผัสกับโพรบ (2) Bath sonication เหมาะสำหรับการเตรียมไลโปโซมในปริมาณมาก แต่ใช้เวลานาน

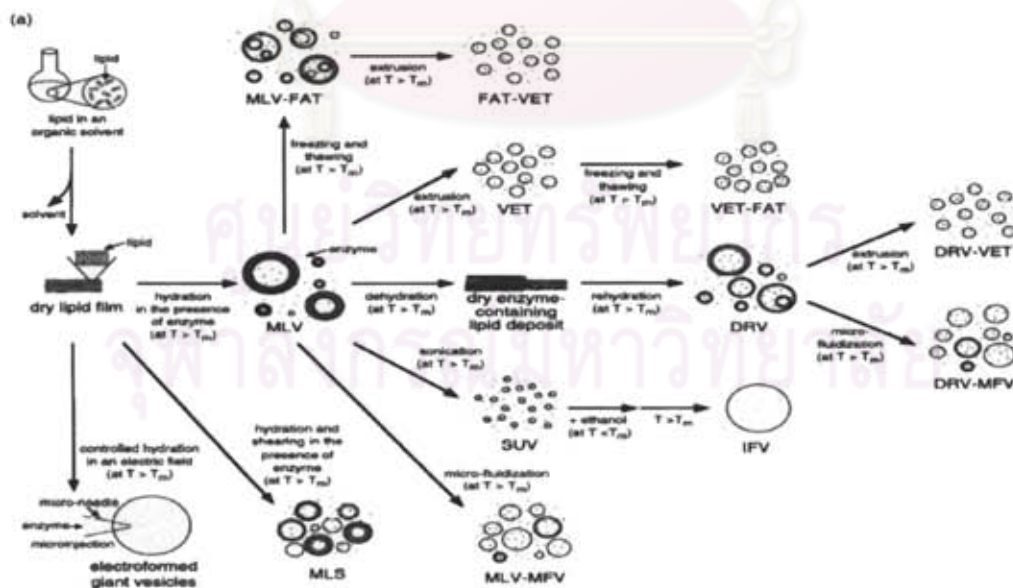
2.3.4.2.3 เทคนิคการเตรียมไลโปโซมโดยอัดผ่านแผ่นเมมเบรน (membrane extrusion method) เป็นเทคนิคลดขนาดไลโปโซมโดยการอัดผ่านเมมเบรนพอลิคาร์บอนเนตที่มีขนาดรูแน่นอน ทำให้ MLV ออกมามีขนาดเล็กโดยมีขนาดใกล้เคียงกับขนาดรูเมมเบรน ใช้ความดันต่ำในการอัดผ่าน ทำให้สามารถอัดผ่านได้หลายครั้ง ไลโปโซมที่ขนาดใหญ่กว่ารูเปิดไม่สามารถผ่านออกมาได้ โดยเมื่ออัดผ่านเมมเบรนจะแตกออกแล้วรวมตัวกันใหม่ได้ขนาดที่เล็กลงและสามารถเก็บกักยาได้เพิ่มขึ้น

นอกจากนั้น ยังมีเทคนิคอื่นๆ อีก เช่น French Pressure Cell Liposome microfluidizer calcium-induced fusion freeze-dried method freeze-thaw method pH gradient method



รูปที่ 2.8 เทคนิคการบดด้วยความดันสูง (A) เทคนิคการเตรียมโดยใช้คลื่นความถี่สูง (B) และเทคนิคการเตรียมไลโปโซมโดยอัดผ่านแผ่นเมมเบรน (C)
 ที่มา : (A) และ (B) จากการทดลอง (C) อรัญญา มโนสร้อยและจිරเดช มโนสร้อย (2545)

2.3.4.3 การเตรียมไลโปโซมโดยใช้เทคนิค detergent removal dialysis เป็นการใช้สารลดแรงตึงผิวประเภทดีเทอร์เจนต์ เช่น Triton X-100 ช่วยละลายฟอสโฟลิพิดในน้ำ เกิดเป็น Mixed micelles ระหว่างดีเทอร์เจนต์กับฟอสโฟลิพิด จากนั้นสารดีเทอร์เจนต์ถูกแยกออกจากระบบโดยกระบวนการ dialysis หรือ gel permeation chromatography เมื่อดีเทอร์เจนต์ถูกดึงออกไป โมเลกุลฟอสโฟลิพิดเรียงตัวกันใหม่ เกิดเป็น bilayer ไลโปโซมที่ได้มีหลายขนาด เช่น SUV LUV ที่มีขนาดระหว่าง 30-180 นาโนเมตร เทคนิคนี้มีข้อจำกัดคือ สารที่กักเก็บต้องมีความคงตัวต่อดีเทอร์เจนต์ ฟอสโฟลิพิดต้องไม่ซึมผ่านเมมเบรนออกมาพร้อมกับดีเทอร์เจนต์ในขั้นตอน dialysis



รูปที่ 2.9 วิธีการเตรียมไลโปโซมจาก dried film lipid ให้ลักษณะไลโปโซมที่หลากหลาย
 ที่มา: Walde และ Ichikawa (2001)

Wang และคณะ (2006) ศึกษาการเตรียมไลโปโซมแบบผนังชั้นเดียว (unilamellar liposome) ขนาด submicron โดยใช้ freeze-drying double emulsion และใช้เทคนิค freeze-drying พบว่าไลโปโซมทั้งหมดเป็นไลโปโซมแบบผนังชั้นเดียว โดยมีค่า encapsulation efficiency ที่สูง คือ calcein (water phase) ร้อยละ 87 5-fluorouracil (water phase) ร้อยละ 19 และ flurbiprofen (oil phase) ร้อยละ 93 ไลโปโซมที่ผ่านการ rehydration แล้ว เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และปราศจากแสง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเอนแคปซูเลชันและขนาดของไลโปโซมเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Liolios และคณะ (2009) ศึกษาไลโปโซมที่ห่อหุ้ม cavacrol และ thymol ที่สกัดจากน้ำมันหอมระเหยของ *Origanum dictamnus* L. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มากกว่าสารสกัดที่ไม่ได้ห่อหุ้ม โดยให้ค่าวงใสในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *E. coli* ATCC 25922 ของ thymol และ cavacrol หลังห่อหุ้มด้วยไลโปโซมเพิ่มขึ้น 1-4 มิลลิเมตร

2.3.5 การทดสอบความคงตัวของไลโปโซม

การทดสอบความคงตัวของไลโปโซม (stability) เป็นเครื่องชี้ว่า รูปแบบไลโปโซมมีอายุการเก็บ (shelf-life) ได้มากน้อยเพียงใด โดยนำไปเก็บไว้ในภาวะต่างๆที่นำไปใช้งานจริง เช่น ทดสอบความคงตัวที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 เดือน และมีการประเมินผลจากการส่องกล้องจุลทรรศน์ การวัดขนาดอนุภาค การแยกชั้นของสาร การวัดความหนืด (rheology) ความคงตัวทางเคมี การรั่วของสารที่เก็บกักในไลโปโซม (extent of leakage) เป็นต้น (อรัญญามโนสร้อย และจිරเดช มโนสร้อย, 2545) ในระหว่างการเก็บรักษา ไลโปโซมเริ่มมีขนาดที่ไม่สม่ำเสมอ (heterogenous) มากขึ้น จากนั้นเริ่มหลอมรวมกัน (fuse) แล้วมีขนาดใหญ่ ทำให้สารที่ถูกเก็บกักรั่วออกจากไลโปโซม รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของฟอสโฟลิพิดที่อาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและไฮโดรไลซิสที่เป็นสาเหตุที่ทำให้การซึมผ่านเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลอื่นที่มีผลต่อความคงตัวของไลโปโซม เช่น ปัจจัยที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตไลโปโซม (ค่า pH ชนิดของบัฟเฟอร์ การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ionic strength) ปัจจัยแวดล้อมระหว่างการเก็บรักษา (อุณหภูมิ แสง ออกซิเจน การปนเปื้อนโลหะหนักที่เป็นสาเหตุการเร่งปฏิกิริยาทางกายภาพและเคมี) (Vemuri and Rhodes, 1995; Edwards and Baumner, 2006)

2.4 फिल्मและสารเคลือบที่บริโภคได้

2.4.1 คำจำกัดความ

ฟิล์มบริโภคได้ หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่รับประทานได้ นำมาใช้กับอาหารด้วยวิธีต่างๆ เช่น การห่อหุ้ม (enrobing) การจุ่ม (dipping) การแปรง (brushing) หรือการพ่นฝอย (spraying) มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นภาชนะบรรจุอาหาร เพื่อป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหารจากปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ชะลอการเข้าออกของแก๊ส ไอน้ำ ไอระเหย สารละลาย จุลินทรีย์ หรือสารอื่นๆ จากอาหาร โดยทั่วไปคำว่าฟิล์มหรือสารเคลือบไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่ในที่นี้การเคลือบเป็นการนำเอาสารดังกล่าวในลักษณะที่เป็นของเหลวมาเคลือบกับผิวของผลิตภัณฑ์โดยตรง แต่การใช้ฟิล์มต้องมีการผลิตเป็นแผ่นฟิล์มขึ้นก่อนแล้วจึงมาใช้กับผลิตภัณฑ์ (Guilbert, 1986)

2.4.2 ข้อดีของฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้ (Robertson, 1993; Debeaufort, Quezada-Gallo and Voilley, 1998)

ฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้มีข้อดีที่เหนือกว่าฟิล์มพลาสติก ดังนี้

1. บริโภคฟิล์มได้พร้อมกับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ เนื่องจากสามารถเข้ากับร่างกายได้ดี (compatibility)
2. ในกรณีที่ไม่มีบริโภคฟิล์ม ฟิล์มที่ทิ้งไปสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย ซึ่งเป็นการช่วยลดปัญหามลพิษ
3. เพิ่มคุณค่าทางประสาทสัมผัส ชวนให้น่ารับประทานผลิตภัณฑ์มากขึ้น เมื่อใช้ฟิล์มประเภทนี้
4. ไม่มีความเป็นพิษและราคาต่ำ
5. ใช้หุ้มอาหารโดยแยกเป็นแต่ละชิ้นได้ เช่น ถั่ว เป็นต้น
6. ใช้เป็นแผ่นกั้นระหว่างอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกันเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ เนื่องจากการถ่ายเทความชื้นและไขมันในเนื้ออาหารที่แตกต่างกัน เช่น พืชชา พาย เป็นต้น
7. ทำหน้าที่เป็นสารป้องกันจุลินทรีย์ และสารกันหืน ตลอดจนควบคุมอัตราการซึมของสารกันเสียจากฟิล์มเข้าสู่เนื้ออาหาร

8. สามารถทำฟิล์มให้เป็นเม็ดแคปซูลเพื่อควบคุมการเติมสารที่ใส่ในอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ
9. สามารถใช้ร่วมกับฟิล์มพลาสติกโดยให้ฟิล์มที่บริโภคนำไปใช้สัมผัสกับอาหารโดยตรง

Gennadios, Hanna และ Kurth (1997) ได้รวบรวมการประยุกต์ใช้ฟิล์มเคลือบบริโภคนำไปใช้กับเนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์ปีก และอาหารทะเล พบว่า ฟิล์มเคลือบบริโภคนำไปใช้กับเนื้อสัตว์มีประโยชน์ ดังนี้ (1) ช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการสูญเสียความชื้นระหว่างการขนส่งของเนื้อสดหรือเนื้อแช่แข็ง (2) ช่วยรักษาความชุ่มชื้น (juices) ในเนื้อสดและเนื้อสัตว์ปีกตัดแต่งเมื่อมีการแยกบรรจุลงในภาชนะพลาสติกเพื่อขายปลีก (3) ลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืนและลดการเกิด browning ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของ myoglobin (4) ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคและทำให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ และเจริญบนผิวหนังของเนื้อสัตว์ (5) ลดการสูญเสียกลิ่นรสที่ระเหยได้ง่ายและลดการเร่งในการเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ (foreign odour)

2.4.2 ชนิดของฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคนำไปใช้

2.4.2.1 ฟิล์มพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide film)

ฟิล์มที่ได้จากพอลิแซคคาไรด์สามารถนำมาใช้ผลิตฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคนำไปใช้ ฟิล์มที่ได้มีความแข็ง (hardness) กรอบ (crispness) แน่น (compactness) แต่เนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้ชอบน้ำ (hydrophilic) จึงป้องกันความชื้นได้ยาก อย่างไรก็ตาม ฟิล์มที่ได้ที่ใช้ในการเคลือบอาหารบางชนิดมีลักษณะเหมือนวุ้น จะลดการสูญเสียความชื้นของอาหารบางอย่างได้ในช่วงอายุการเก็บสั้นๆ นอกจากนี้ฟิล์มพอลิแซคคาไรด์บางชนิดยังช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ของลิพิดและองค์ประกอบอื่นๆ ในอาหารได้อีกด้วย และมีสมบัติในการซึมผ่านของก๊าซได้ดี ตัวอย่างฟิล์มพอลิแซคคาไรด์ ได้แก่ ฟิล์มจากแอลจีเนต ฟิล์มจากคาราจีแนน ฟิล์มจากเซลลูโลส ฟิล์มจากเพกติน เป็นต้น (Cutter, 2006)

Labell (1991) พบว่า มีการใช้ฟิล์มพอลิแซคคาไรด์ห่อหุ้มเนื้อสัตว์ในเชิงอุตสาหกรรมในประเทศญี่ปุ่น ใช้การพันหุ้ม (warping) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เมื่อนำไปรมควันหรืออบด้วยไอน้ำ ฟิล์มพอลิแซคคาไรด์จะละลายหุ้มผิวหนังผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยเนื้อสัตว์ที่ผ่านกระบวนการนี้ให้ค่าการผลิตที่สูง (yield) ช่วยปรับปรุงโครงสร้างและเนื้อสัมผัสของเนื้อ และลด

การสูญเสียความชื้นได้

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด (2535) พบว่า ฟิล์มพอลิแซคคาไรด์มีการเคลือบส่วนใหญ่ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยช่วยลดการสูญเสียน้ำ ลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อ รักษาสีแดงของเนื้อ ป้องกันการออกซิเดชันของลิพิด และช่วยให้ลักษณะสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น

2.4.2.2 ฟิล์มลิพิด (lipid film)

ฟิล์มชนิดนี้ไม่นิยมขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มแต่ใช้เป็นสารเคลือบเนื่องจากมีสมบัติในการป้องกันออกซิเจนและความชื้นได้ รวมทั้งยังลดการเสียดสีได้ เช่น ลดการเสียดสีของผิวผลไม้ระหว่างการขนส่งหรือป้องกันการเกิดสีน้ำตาล สารประกอบลิพิดหลายชนิดรวมทั้ง แอซีทิลโมโนกลีเซอไรด์ ไชธรรมาชาติ และสารลดแรงตึงผิว (surfactants) สามารถนำมาใช้เป็นสารเคลือบได้ แต่อย่างไรก็ตาม ฟิล์มลิพิดมักเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แตกร้าวง่าย (cracking) เป็นขุย (flaking) ดูดซับและเก็บกลิ่นไม่พึงประสงค์ และให้รสขมเมื่อรับประทาน (Cutter, 2006) ตัวอย่างฟิล์มลิพิด ได้แก่ ฟิล์มจากไข (carnauba beewax paraffin) ฟิล์มจากน้ำมัน และฟิล์มจากสารลดแรงตึงผิว เป็นต้น (Cutter and Sumner, 2002)

2.4.2.3 ฟิล์มโปรตีน (protein film)

ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงและมีสมบัติกันการซึมผ่านของแก๊สได้ดี แต่ไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ ฟิล์มชนิดนี้ไม่นิยมนำมาใช้ในการห่อหุ้มอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ เนื่องจาก เอนไซม์ที่อยู่ภายในเนื้อสัตว์มีความสามารถที่ย่อยฟิล์มโปรตีนได้ (Gennadios *et al.*, 1997) และการนำฟิล์มโปรตีนไปใช้ในอาหารมักก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพ เนื่องมาจากการแพ้อาหารที่มีองค์ประกอบของ นม ไข่ ถั่วลิสง ถั่วเหลือง หรือ โปรตีนจากข้าว (Cutter and Sumner, 2002) ตัวอย่างฟิล์มโปรตีน ได้แก่ ฟิล์มจากเวย์โปรตีน ฟิล์มจากเจลาติน ฟิล์มจากโปรตีนไข่ขาว ฟิล์มจากโปรตีนข้าวสาลี ฟิล์มจากโปรตีนนม เป็นต้น (Ben and Kurth, 1995; Cutter, 2006)

2.4.3 การขึ้นรูปฟิล์ม

ฟิล์มเกิดจากโครงสร้างของพอลิเมอร์ที่อาศัยสองแรง คือ แรงโคฮีชัน (cohesion) เป็นแรงระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยตัวเอง เกิดขึ้นระหว่างการเกิดฟิล์มทำให้เกิดการเชื่อมตัวของผิววัตถุเดียวกัน หากแรงโคฮีชันมีค่ามากทำให้ฟิล์มยึดหยุ่น ความมีรูพรุน การแพร่ผ่านของก๊าซ และสารละลายลดลง ระดับของแรงโคฮีชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างและสมบัติ

ทางเคมีของพอลิเมอร์ทำฟิล์ม การละลายในการเตรียมฟิล์ม และสภาวะในการเตรียมฟิล์ม ส่วนแรงอีกแรงหนึ่ง คือ แรงแอดฮีชัน (adhesion) เป็นแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับสารอื่นๆ ที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มทำให้เกิดโครงร่างของฟิล์มได้ เช่น แรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับพลาสติกไซเซอรซึ่งมีผลต่อสมบัติต่างๆของฟิล์มเช่นกัน (Banker, 1966)

2.4.4 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริเวณได้ มีดังนี้

2.4.4.1 ความหนา (thickness) คือ ระยะตั้งฉากระหว่างผิวหน้าทั้งสองของฟิล์ม มีหน่วยเป็นไมโครเมตรหรือมิลลิเมตร ความหนามีความสัมพันธ์กับสมบัติอื่นๆ เช่น แรงต้านทานแรงดึง ความต้านทานการซึมผ่านไอน้ำ เป็นต้น (Guilbert, 1986)

2.4.4.2 ค่าความต้านทานแรงดึง (tensile strength) คือความเครียดที่ใช้ในการดึงฟิล์มที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของแผ่นทดสอบที่มีความกว้างคงที่จนแผ่นฟิล์มนั้นขาดภายใต้สภาวะการทดสอบที่กำหนด (ปลายอีกด้านหนึ่งยึดอยู่กับที่) มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร หรือ เมกกะปาสคาล (MPa) ค่านี้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงระหว่างสายพอลิเมอร์มากกว่าความแข็งแรงภายในสายโซ่พอลิเมอร์ เนื่องจากเมื่อออกแรงดึงฟิล์มจะเป็นการทำลายปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพอลิเมอร์ก่อน แล้วจึงทำลายสายโซ่พอลิเมอร์ในช่วงต่อมาของการดึง (Guilbert, 1986)

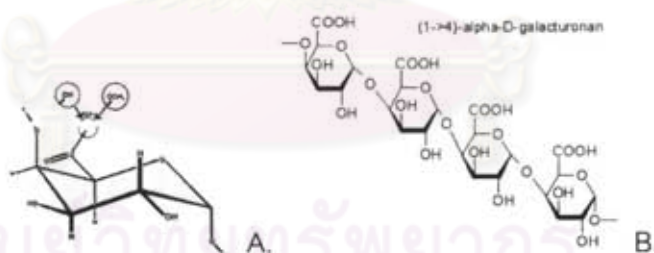
2.4.4.3 ร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาด (% elongation at break) คือ ร้อยละของระยะทางที่ฟิล์มยืดออกด้วยแรงดึงขาดต่อความยาวเดิม ความยืดตัวของฟิล์มขึ้นอยู่กับระยะทางระหว่างจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล (junction zone) ถ้าระยะห่างของจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลสั้น ร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดจะมีค่าน้อย (Guilbert, 1986)

2.4.4.4 การซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability) คือ ปริมาณไอน้ำเป็นกรัมที่ซึมผ่านจากผิวหน้าด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ผิวต่อหนึ่งหน่วยความหนาของฟิล์มในระยะเวลาที่กำหนดและภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ มีหน่วยเป็นกรัมต่อเมตรต่อวินาทีต่อหน่วยความดันปาสคาล (g.m.s.Pa) (Guilbert, 1986)

2.5 เพกติน

เพกตินเป็นสารให้โครงสร้างตาข่ายของฟิล์ม เพกตินเป็นสารช่วยขึ้นรูปฟิล์ม โดยสารประกอบเพกตินเป็นกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์จัดอยู่ในกลุ่มที่เป็น general recognized as safe (GRAS) และไม่จำกัดปริมาณในการนำไปใช้ (Nussinovitch, 1997)

เพกตินพบอยู่ใน middle lamellae ของผนังเซลล์พืชโดยรวมอยู่กับเซลลูโลส ทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์พืชให้ติดกัน สารประกอบเพกตินเป็นพอลิเมอร์สายยาวของกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) หรือ α -D-galactopyranosyluronic acid) ต่อกันที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง $\beta(1 \rightarrow 4)$ โดยหมู่คาร์บอกซิล (COOH) ในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิกบางส่วนจะถูกเอสเทอร์ไฟด์ด้วยหมู่เมธิลที่เป็นเมทอกซิลเอสเทอร์และมีบางส่วนเหลือเป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระ นอกจากนั้นหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 อาจถูก acetylated ได้ โดยเพกตินเป็น gelling agent ที่ดี สมบัติในการเกิดเจลของเพกตินขึ้นอยู่กับความยาวของสายพอลิเมอร์และ degree of methoxylation และเกิดเจลได้ในภาวะที่มีกรดและน้ำตาล โครงสร้างโมเลกุลของเพกตินเป็นเกลียว (coiled) มากกว่าสายตรง และมีพันธะไฮโดรเจนน้อยกว่าพอลิเมอร์สายยาว เช่น เซลลูโลส และรูปร่างของสาย คือ หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ตำแหน่ง 2 และ 3 ซึ่งมีประจุ ไม่เกิดแรงดึงดูดกันกับหมู่ OH และ CH_3 และประจุที่เกิดจากการแตกตัวของหมู่คาร์บอกซิล (นิธิยา รัตนานนท์, 2549; Mohnen, 2008)

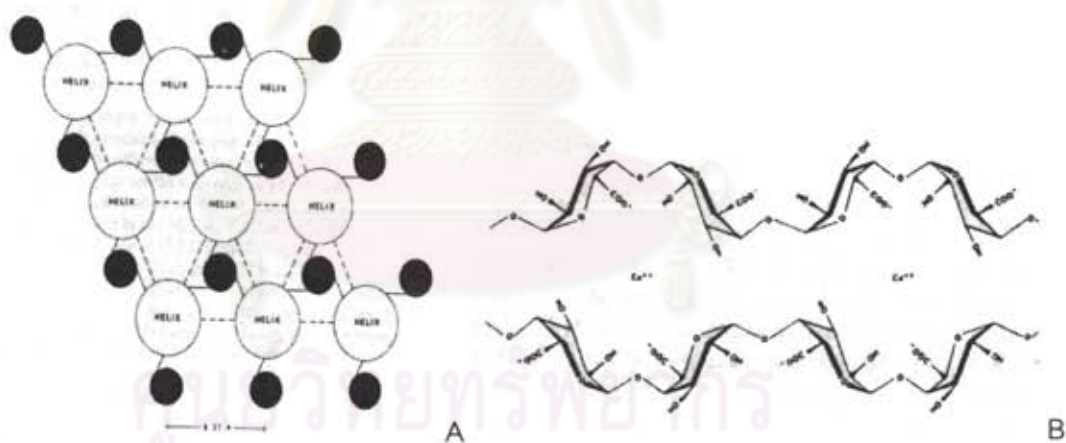


รูปที่ 2.10 หน่วยย่อยของ D-galacturonic acid (A) โครงสร้างพอลิเมอร์ของโมเลกุลเพกติน (B) ที่มา : Mohnen, 2008

2.5.1 การเกิดเจลของเพกติน

เพกตินที่มีเมทอกซีสูง (high methoxy pectin, HMP) คือมี degree of methoxylation สูงกว่าร้อยละ 50 การเกิดเจลของเพกตินชนิดนี้จำเป็นต้องใช้สารช่วยคูดน้ำออกจากโมเลกุล (dehydrating agent) เช่น น้ำตาล ช่วยลดการละลายของเพกตินให้น้อยลง และมี

กรดในปริมาณที่เหมาะสม โดยไฮโดรเจนไอออน (H^+) จากกรดช่วยลดจำนวนประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลให้น้อยลง ทำให้ลดการผลักรันระหว่างประจุลบที่หมู่คาร์บอกซิล ทำให้สายโมเลกุลเข้ามาใกล้กันได้และเกาะตัวกันเป็นตาข่าย ส่วนเพกตินที่มีค่า degree of methoxylation ต่ำ หรือทางการค้าเรียกว่าเพกตินที่มีเมทอกซีต่ำ (low methoxy pectin, LMP) กลไกการเกิดเจลจำเป็น ต้องอาศัยสารที่มีประจุเป็นสองบวก (divalent cations) นิยมใช้แคลเซียม โดยเกิดจากการ cross-link ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลอิสระกับแคลเซียม โดยเป็นการจับกันระหว่างโมเลกุลของประจุ ในลักษณะ egg-box ทำให้เกิด junction zone ระหว่างสายเพกตินสองสาย โดยพันธะของ อะตอมออกซิเจนของสาย galacturonan ถูกสร้างขึ้นโดยประจุแคลเซียมจะเชื่อมอยู่ในช่องว่าง ของโครงสร้างพอลิเมอร์ ความสามารถในการเกิดเจลจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อค่า degree of methylation ต่ำลง เจลที่เกิดขึ้นจากเพกตินชนิดนี้ไม่จำเป็นต้องมีน้ำตาล และเกิดเจลได้ในช่วง ความเป็นกรด-ด่างที่กว้างกว่าพวกที่มีค่า degree of methoxylation สูง เจลที่ได้จะเป็นชนิด thermoreversible ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลจะมีความอ่อนนุ่มและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จาก เพกตินชนิดเมทอกซิลสูง (วรรณ ตูลย์ธัญ, 2549; Nussinovitch, 1997; Park and Zhao, 2006)



รูปที่ 2.11 การเกิด junction zone ของ HM-เพกติน (A) และการเกิด junction zone ของ LM-เพกติน (B)

ที่มา : Nussinovitch (1997)

2.6 พลาสติไซเซอร์

Banker (1966) ได้อธิบายถึงความหมายของพลาสติไซเซอร์ ดังนี้ พลาสติไซเซอร์ หมายถึง สารที่เข้าไปรวมอยู่กับพลาสติกหรือ elastomer แล้วช่วยเพิ่มความอ่อนตัว ลดความเปราะ (brittleness) มีความคงทนต่อการใช้งานหรือความเหนียว (toughness) และการยืดตัว (flexibility) แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.6.1. พลาสติไซเซอร์ภายนอก (external plasticizer) เป็นสารที่เติมลงไปในการสร้างพอลิเมอร์แล้ว ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนหรือการจับกลุ่มของโมเลกุลเนื่องจากพลาสติไซเซอร์ไปจับยึดกับพอลิเมอร์ด้วยพันธะทุติยภูมิ ทำให้แรงระหว่างโมเลกุลสายพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันอ่อนลง เกิดโครงสร้างที่อ่อนตัว

2.6.2. พลาสติไซเซอร์ภายใน (internal plasticizer) เป็นสารที่เติมลงไปแล้วทำหน้าที่สารช่วยในการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพอลิเมอร์

ฟิล์มที่ใช้ไม่ว่าจะเป็นฟิล์มโปรตีน โพลีแซคคาไรด์และไขมัน จากสัตว์ ผัก และผลไม้ เป็นองค์ประกอบหลักของการขึ้นรูปฟิล์ม แต่ฟิล์มที่ได้มีความเปราะจึงต้องเติมสารพลาสติไซเซอร์ ซึ่งพลาสติไซเซอร์ที่ดีที่สุดคือสารประกอบพวกเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ และมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) อยู่ในโมเลกุล เช่น กลีเซอรอล (glycerol) ไกลคอล (glycol) ซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อช่วยเพิ่มความอ่อนตัว ความคงทนต่อการใช้งาน และการยืดตัว

2.6.1 พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ในการผลิตฟิล์มบริเวณส่วนใหญ่ คือ

พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ในการผลิตฟิล์มบริเวณส่วนใหญ่ คือ

2.6.1.1 mono- di- และ oligosaccharide ที่มีความสำคัญ ได้แก่ กลูโคส (glucose) ฟรุคโตส (fructose) ไชรัป (syrops) และน้ำผึ้ง

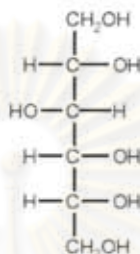
2.6.1.2 พอลิฮอล (polyols) ที่มีความสำคัญ ได้แก่ กลีเซอรอล (glycerol) อนุพันธ์กลีเซอรอล โพลีเอทิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol) และ ซอร์บิทอล (sorbitol)

2.6.1.3 ไขมันและอนุพันธ์ไขมัน ที่มีความสำคัญ ได้แก่ กรดไขมัน (fatty acid) โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) อนุพันธ์เอสเทอร์ ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และสารลดแรงตึงผิว

สำหรับงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกพลาสติกไซเซอรที่นิยมนำมาใช้มี 2 ชนิด ได้แก่ ซอร์บิทอล และกลีเซอรอล

2.6.2.1 ซอร์บิทอล

เป็นโพลีออลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ชุ่ม มีน้ำหนักโมเลกุล 182 พิล์มที่เติมซอร์บิทอลมีค่าการยับยั้งแรงดึงสูงกว่า พิล์มที่เติมกลีเซอรอล

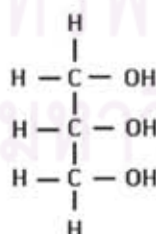


รูปที่ 2.12 โครงสร้างโมเลกุลของซอร์บิทอล

ที่มา : Voet และ Vote (1995)

2.6.2.2 กลีเซอรอล

เป็นโพลีออลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม มีสูตรโครงสร้าง $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 92 เป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตสบู่และกรดไขมัน มีสมบัติที่เป็นของเหลวและมีความหนืด ผสมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและเอทานอลได้ดี ดูดความชื้นจากอากาศได้ปานกลาง กลีเซอรอลทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น ทำให้ฟิล์มอ่อน ไม่เปราะแตกง่าย และมีค่าการซึมผ่านไอน้ำสูงกว่าซอร์บิทอล



รูปที่ 2.13 โครงสร้างโมเลกุลของกลีเซอรอล

ที่มา : Voet และ Vote (1995)

Guilbert และ Biquet (1996) พบว่า การเติมพลาสติกไซเซอรในการผลิตฟิล์มบริโภคได้ โดยทั่วไป เติมในปริมาณร้อยละ 10-60 (dry basis) ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์ที่นำมาทำฟิล์ม โดยอาศัยหลักที่ว่า พอลิเมอร์ที่มีสายยาวให้ฟิล์มที่มีความยืดหยุ่นดีกว่าพอลิเมอร์สายสั้นๆ

2.6.2 บทบาทของพลาสติกไซเซอรต่อฟิล์มบริโภคได้

การเติมพลาสติกไซเซอรในระหว่างการเตรียมฟิล์มนั้นใช้วิธีละลาย โดยทั้งพลาสติกไซเซอรและพอลิเมอร์ละลายในตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แล้วจึงนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม การใช้พลาสติกไซเซอรลักษณะนี้เป็นแบบภายนอก ทำให้แรงระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันอ่อนลง ซึ่งมีสาเหตุมาจากในระหว่างการเตรียมสารละลายฟิล์ม ทำให้พลาสติกไซเซอรสามารถแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์ง่ายขึ้น และทำให้พันธะไฮโดรเจนหรือพันธะอื่นๆระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ถูกหักล้างไป เนื่องจากแรงดึงดูดที่แข็งแรงระหว่างพอลิเมอร์กับพลาสติกไซเซอร ทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ไม่สามารถจับกันเองได้ รวมทั้งส่งเสริมลักษณะของฟิล์มได้ การเติมพลาสติกไซเซอรทำให้สมบัติของฟิล์มเปลี่ยนแปลงไปสรุปได้ (Donhowe and Fennema, 1994) ดังต่อไปนี้

2.6.2.1 ลดค่าความต้านทานแรงดึง ซึ่งการเติมพลาสติกไซเซอรในโครงร่างตาข่ายไปลดปฏิกิริยาระหว่างพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ โดยพลาสติกไซเซอรจับกับพอลิเมอร์ด้วยพันธะทุติยภูมิทำให้ความแข็งแรงระหว่างสายโซ่โมเลกุลลดลง ซึ่งมีผลทำให้ความต้านทานแรงดึงลดลง

2.6.2.2 เพิ่มร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาด ซึ่งการเติมพลาสติกไซเซอรในโครงร่างตาข่ายทำให้ความแข็งแรงพันธะระหว่างสายโซ่โมเลกุลลดลงและสายโซ่พอลิเมอร์เคลื่อนที่ได้มากขึ้น มีผลทำให้การยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น

2.6.2.3 เพิ่มการซึมผ่านของไอน้ำ โดยพลังงานที่กระตุ้นการแพร่ของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์ม (energy of activation for diffusion, E_d) สัมพันธ์กับพลังงานในการแยกสายพอลิเมอร์เมื่อเติมพลาสติกไซเซอรในโครงร่างตาข่ายจะไปแยกสายพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันออก ดังนั้นเมื่อแรงดึงดูดระหว่างสายโซ่ลดลงเป็นผลให้ค่า E_d ลดลง การซึมผ่านของแก๊สและไอน้ำผ่านฟิล์มจึงเพิ่มขึ้น

Shaw และคณะ (2002) ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเวียโปรตีนที่เสริมพลาสติกไซเซอรด้วย กลีเซอรอล ไซลิทอล หรือซอร์บิทอล พบว่า การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอล

ทำให้ค่าความชื้น ค่าการซึมผ่านไอน้ำ ค่าร้อยละการยึดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น แต่ค่าความต้านทานแรงดึงขาด elastic modulus และค่า glass transition temperatures ของฟิล์มลดลง โดยสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันตามชนิดและความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ ที่มีผลจากค่าการรับความชื้น (hygroscopic) และ crystalline properties ของพลาสติกไซเซออร์

ผลของการเติมพลาสติกไซเซออร์ลงในแผ่นฟิล์มชนิดต่างๆ ที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม โดยเพิ่มค่าร้อยละการยึดตัวของฟิล์มมากขึ้นและลดค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มลง ดังตาราง

ตารางที่ 2.3 สมบัติเชิงกลของฟิล์มบรีโคได้ชนิดต่างๆ

ชนิดของฟิล์ม	ร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ (% RH)	ชนิดของพลาสติกไซเซออร์	ความเข้มข้น (g plasticizer/g polymer)	ค่าต้านทานแรงดึงขาด (MPa)	ค่าร้อยละการยึดตัวของฟิล์ม (%)	อ้างอิง
Alginate-calcium	56	Sorbitol	0.4	65.9	2.5	Olivas and Barbosa-Ca'novas (2008)
Alginate-calcium	56	Glycerol	0.4	64.7	2.8	Olivas and Barbosa-Ca'novas (2008)
Alginate-calcium	50	Glycerol	0.5	85.9	3.8	Rhim (2004)
HCMS	50	Sorbitol	0.3	10.2	2.8	Kim <i>et al.</i> , 2002
HCMS	50	Glycerol	0.3	9.7	7.7	Kim <i>et al.</i> , 2002
β -Lactoglobulin	50	Sorbitol	—	2.7–10.6	24.7–65.8	Sothornvit and Krochta (2001)
β -Lactoglobulin	50	Glycerol	—	4.9–16.0	11.3–76.4	Sothornvit and Krochta (2001)
HPS-gelatin	—	Glycerol	0.3	53.8	52.6	Arvanitoyannis <i>et al.</i> , 1998
HPS-gelatin	—	Glycerol	0.3	55.0	38.5	Arvanitoyannis <i>et al.</i> , 1998
Alginate	—	Sorbitol	0.43	21.4	1.09	Parris <i>et al.</i> , 1995
Alginate	—	Glycerol	0.43	27	4.86	Parris <i>et al.</i> , 1995
WPI	50	Sorbitol	0.43	14	1.6	McHugh and Krochta (1994)
WPI	50	Glycerol	0.43	13.9	30.8	McHugh and Krochta (1994)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Olivas and Barbosa-Ca'novas (2008)

Park และ Zhao (2006) ศึกษาสมบัติของฟิล์มบรีโคได้ที่ผลิตจากสารสกัดจากกากแครนเบอร์รี่ โดยศึกษาผลของการเติมเพกตินชนิด LMP หรือ HMP ร้อยละ 0.50 หรือ 0.75 โดย

น้ำหนักและสารพลาสติกไซเซอร์ ได้แก่ ซอร์บิทอล หรือ กลีเซอรอลร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักลงใน สารละลายฟิล์ม พบว่า การใช้เพกตินที่ความเข้มข้นสูงชันทำให้ค่า TS ของฟิล์มเพิ่มขึ้นแต่ทำให้ ค่า EL ลดลง และฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลทำให้โครงสร้างของฟิล์มมีความหนาแน่นและมีสีเข้มกว่า ฟิล์มที่เติมกลีเซอรอล โดยฟิล์มที่เติมเพกตินชนิด LM และซอร์บิทอลมีค่าความต้านทานแรงดึง- ชาติ(TS) เพิ่มขึ้น แต่การยืดตัวของฟิล์ม (EL) และค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มลดลง ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สมบัติการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มบริโภคได้ชนิดต่างๆ

Films	WVP (g mm / m ² d Pa)	WVP test conditions	References
Pomace extract:LMP:G (5.6:3:1)	73.2	25 °C, 100%/50% RH	Park and Zhao (2006)
Pomace extract:LMP:S (5.6:3:1)	68.5	25 °C, 100%/50% RH	Park and Zhao (2006)
WPI:G (1.7:1)	119.8	25 °C, 65.1%/0% RH	McHugh <i>et al.</i> , 1994
WPI:S (1.7:1)	61.9	25 °C, 79.4%/0% RH	McHugh <i>et al.</i> , 1994
WPI:G (2:1)	116	23 °C, 100%/50% RH	Shaw <i>et al.</i> , 2002
WPI:S (2:1)	84	23 °C, 100%/50% RH	Shaw <i>et al.</i> , 2002
WG:G (3:1)	370	23 °C, 50%/0% RH	Hernández-Muñoz <i>et al.</i> , 2004
WG:S (3:1)	52	23 °C, 50%/0% RH	Hernández-Muñoz <i>et al.</i> , 2004
Gelatin:G (4:1)	16.9	25 °C, 100%/0% RH	Thomazine <i>et al.</i> , 2005
Gelatin:S (4:1)	12.9	25 °C, 100%/0% RH	Thomazine <i>et al.</i> , 2005
Chitosan:G (4:1)	177	25 °C, 100%/50% RH	Park and Zhao(2004)
Calcium sodium pectinate	52.6	25 °C, 81%/31% RH	Schultz <i>et al.</i> , 1949

G = glycerol; LMP = low methoxyl pectin; S = sorbitol; WPI = whey protein isolate.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Park และ Zhao (2006)

2.7 บรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

2.7.1 คำจำกัดความ

บรรจุภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญ หรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการ เสื่อมเสียของอาหาร หรือจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ หรือการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์ (Han, 2003) หรือการใช้

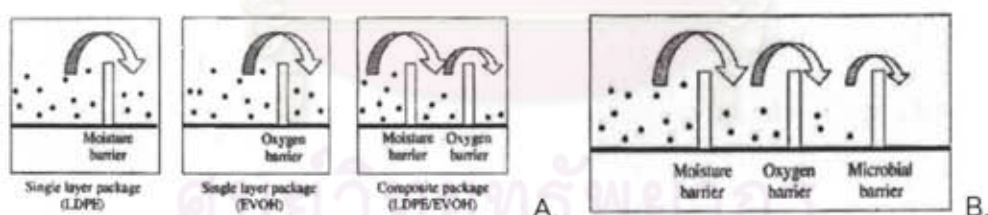
สารประกอบพอลิเมอร์ผสมร่วมกับสารต้านจุลินทรีย์ช่วยควบคุมการปลดปล่อยสารเพื่อให้คงประสิทธิภาพตลอดช่วงอายุการเก็บรักษาอาหาร (Cagri, Ustunol and Ryser, 2001)

Cooksey (2001) ได้รวบรวมสารที่มีสมบัติเป็นบรรจุภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่า พอลิเมอร์ยับยั้งจุลินทรีย์ควรมีสมบัติ ดังนี้

- ก. มีการรวมกันระหว่างสารต้านจุลินทรีย์กับบรรจุภัณฑ์ โดยสารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถปลดปล่อยออกมาได้ ระหว่างการเก็บรักษา
- ข. การผสมรวมสารต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มที่เป็นบรรจุภัณฑ์โดยตรง โดยผ่านการขึ้นรูปด้วยความร้อน จำเป็นต้องคำนึงถึงความสามารถในการทนความร้อนและแรงเฉือนของสารต้านจุลินทรีย์
- ค. การเคลือบบนบรรจุภัณฑ์ด้วยสารต้านจุลินทรีย์ ทำให้สารต้านจุลินทรีย์ไม่ถูกทำลายด้วยความร้อนและแรงเฉือน
- ง. สมบัติของฟิล์มเองที่ความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

2.7.2 เป้าหมายในการนำไปใช้

เพื่อความปลอดภัยของอาหาร รักษาคุณภาพของอาหาร และยืดอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานยิ่งขึ้น (Mauriello และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.14 สมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไป (A) และบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (B)
ที่มา : Han (2003)

2.7.3 รูปแบบการทำงานของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

Han (2003) แบ่งการทำงานของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 รูปแบบ คือ

2.7.3.1 ระบบปลดปล่อย (releasing system)

เป็นระบบที่เกิดจากการเคลื่อนย้าย (migration) ของสารต้านจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์สู่อาหาร บรรจุภัณฑ์ต่อยับยั้งจุลินทรีย์ในระบบนี้อยู่ในรูปแบบของฟิล์มเคลือบต่อยับยั้งสารจุลินทรีย์ (antimicrobial coated film) ฟิล์มแต่งเติมสารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial incorporated film) หรือฟิล์มดูดซับสารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial absorbed film) โดยอาจเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงไปในตัวฟิล์มโดยตรง ในขณะที่ฟิล์มอยู่ในช่วงหลอม ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกที่สุด แต่จำเป็นต้องคำนึงถึงความสามารถในการทนความร้อนของสารต้านจุลินทรีย์ด้วย ใช้ในกรณีสารต้านจุลินทรีย์นั้นไม่ทนร้อน มักใช้การเคลือบ (coating) หรือการดูดซับสารต้านจุลินทรีย์บนผิวหน้าฟิล์มแทน

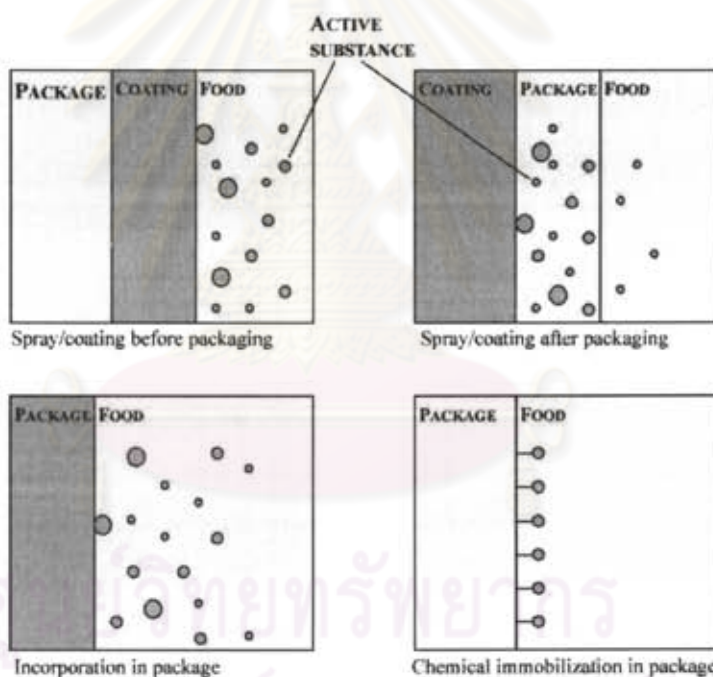
Siragusa และคณะ (1999) ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มพอลิเอทิลีนเติมไนซิน ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.1 โดยน้ำหนักขึ้นรูปด้วยกระบวนการอัดรีด ในการยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus helveticus* และ *Brochothrix thermosphata* ATCC 11509 บนเนื้อวัว โดยห่อเนื้อด้วยฟิล์มเอทิลีนเติมไนซิน จากนั้นบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อทดสอบหาปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ปริมาณการเจริญของเชื้อลดลง 2 log cycle ในสองวันแรกของการทดลอง และในวันที่ 20 ของการทดลอง ขึ้นเนื้อที่ห่อฟิล์มมีเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5.8 log CFU/cm² ต่ำกว่าจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างควบคุม (7.2 log CFU/cm²) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.7.3.2 ระบบดูดซับ (absorbing or scavenging system)

มีลักษณะการทำงานโดยเข้าไปกำจัดปัจจัยต่างๆที่มีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ระบบดูดซับออกซิเจน (oxygen absorbing system) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันและลดปริมาณออกซิเจนซึ่งมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ระบบดูดซับความชื้น (moisture absorbing system) จะลดค่า water activity มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อหรือสัตว์ปีกตัดแต่ง โดยดูดซับน้ำที่ซึมออกมาจากเนื้อ (Appendini and Hotchkiss, 2002)

2.7.3.3 ระบบการตรึง (immobilised systems)

เป็นการนำสารต้านจุลินทรีย์ตรึงบนพื้นผิวของบรรจุภัณฑ์อาหาร เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวสัมผัสของบรรจุภัณฑ์กับอาหาร โดยไม่มีการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ออกจากบรรจุภัณฑ์ สารต้านจุลินทรีย์ตรึงบนบรรจุภัณฑ์ โดยอาศัยพันธะโควาเลนต์ โดยจำเป็นที่สารต้านจุลินทรีย์และตัวพอลิเมอร์ต้องมีหมู่ฟังก์ชันอยู่ด้วย เช่น สารต้านจุลินทรีย์ คือ peptide polyamine enzyme organic acid ส่วนพอลิเมอร์ คือ Ionomer nylon แต่การตรึงสารต้องมีการพิจารณาอย่างดีเนื่องจากอาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร ทำให้ความสามารถลดลง (Appendini and Hotchkiss, 2002) ระบบนี้อาจมีประสิทธิภาพลดลงหากนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นของแข็งเนื่องจากมีพื้นที่บริเวณผิวสัมผัสน้อยระหว่างอาหารกับบรรจุภัณฑ์ นอกจากนั้นระบบนี้ใช้ในกรณีที่สารต้านจุลินทรีย์ไม่ได้รับอนุญาตทางกฎหมายให้มีการเคลื่อนย้ายสู่อาหาร (ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, 2547)



รูปที่ 2.15 การเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ของรูปแบบการทำงานของบรรจุภัณฑ์ยับยั้ง

จุลินทรีย์ต่างๆกัน

ที่มา : Han (2000)

2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

Han (2003) อธิบายปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ ดังนี้ ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ต่อยับยั้งจุลินทรีย์ ปัจจัยต่างๆที่ควรนำมาพิจารณา เช่น ลักษณะของสารต้านจุลินทรีย์ กระบวนการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในวัสดุบรรจุ การซึมผ่านและการระเหยของสารต้านจุลินทรีย์ กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านจุลินทรีย์กับวัสดุบรรจุ ความต้านทานของจุลินทรีย์ กลไกและอัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและสารต้านจุลินทรีย์ สภาพวะการเก็บรักษาและการขนส่ง สภาพวะการขึ้นรูปฟิล์มสมบัติทางฟิสิกส์และสมบัติทางกลของวัสดุบรรจุที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ต่อยับยั้งจุลินทรีย์ ความเป็นพิษและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค และข้อกฎหมายที่มีผลบังคับใช้

สารต้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีสมบัติเฉพาะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงต้องเลือกสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการ และมีอัตราการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ที่สัมพันธ์กับอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุบรรจุในอัตราที่เร็วกว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะถูกทำลายหรือสูญเสียประสิทธิภาพไปก่อนเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์ของจุลินทรีย์ แต่หากอัตราการปลดปล่อยของสารต้านจุลินทรีย์ช้าเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตก่อนที่สารต้านจุลินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมา เมื่อนำไปใช้สารต้านจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์จะย้ายที่ลงสู่อาหารและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของอาหารในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาและการขนส่ง อย่างไรก็ตามการเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ลงสู่อาหารทำให้ปริมาณความเข้มข้นของสารดังกล่าวลดลงและลดประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้น การที่จะทำให้บรรจุภัณฑ์ต่อยับยั้งจุลินทรีย์แสดงประสิทธิภาพได้ดีนั้นจะต้องควบคุมระดับการเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์บนพื้นผิวของอาหารให้มีค่ามากกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

บรรจุภัณฑ์ทางอาหารที่มีความสามารถป้องกันจุลินทรีย์กำลังเป็นที่สนใจของอุตสาหกรรม เนื่องจากตัวบรรจุภัณฑ์มีความสามารถในการรักษาคุณภาพอาหารพร้อมทั้งสามารถป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ โดยกระบวนการเอนแคปซูเลชันในการตรึงสารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งจัดเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ทางอาหารที่มีความสามารถป้องกันจุลินทรีย์ เทคนิคนี้สามารถช่วยให้สารต้านจุลินทรีย์เคลือบติดกับฟิล์มหรือ rigid container ได้หลังจากการเอนแคปซูเลชันแล้ว รวมทั้งยังช่วยรักษาสารให้คงทนต่อ

สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิสูง หรือกระบวนการผลิตต่างๆ และยังสามารถใช้สารต้านจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิดร่วมกันได้อีกด้วย นอกจากนี้ในอนาคตอาจมีความต้องการสารต้านจุลินทรีย์ใหม่ๆ ที่มีความสามารถหลากหลาย และมีความเป็นพิษน้อยอีกด้วย (Appendini and Hotchkiss, 2002)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุประสงค์ เชื้อจุลินทรีย์ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัตถุประสงค์

1. น้ำมันกานพลูทางการค้า (บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด, กรุงเทพ)
2. น้ำมันกระเทียมทางการค้า (บริษัท เครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, กรุงเทพ)
3. สารสกัดจากเปลือกทับทิม ด้วยตัวทำละลาย (hexane, ethyl acetate, Chloroform, ethanol และน้ำ)
4. L- α -เลซิทิน (phosphotidyl choline \geq ร้อยละ 96.4, Merck, Germany)
5. LM-Pectin (Poly-D-galacturonic acid methyl ester, Himedia, India)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

Escherichia coli ATCC 25922 *Escherichia coli* ATCC 8739

Salmonella Typhimurium ATCC 23564 *Salmonella* Choleraesuis ATCC 25923

Pseudomonas sp. ATCC 25619 ได้จัดหาจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (นนทบุรี)

Lactobacillus sp. TISTR 539 และ *Lactobacillus sake* TISTR 890 ได้จัดหาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ปทุมธานี)

3.1.3 สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ/วัสดุ

1. ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 99 (Merck, Germany)
2. Tetracycline (Becton, Dickson and Company, USA)
3. Chloramphenical (Benex Limited, USA)
4. lactobacilli MRS broth (Himedia , India)
5. lactobacilli MRS agar (Himedia , India)
6. nutrient broth (Himedia , India)
7. nutrient agar (Himedia , India)

8. Calcium chloride (Calcium chloride dehydrate, Ajax Finechem, Australia)
9. Sorbitol (Ajax Finechem, Australia)
10. Glycerol (Ajax Finechem, Australia)
11. Magnesium nitrate (Ajax Finechem, Australia)
12. Plate count agar (Britania, Argentina)
13. Pseudomonas agar base (Oxoid, England)
14. Pseudomonas C-F-C Supplement (Oxoid, England)
15. Salmonella – Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
16. Peptone from casein ((Merck, Germany)
17. E.coli/Coliform Count Plate (Petrifilm[®], 3M, USA)
18. Gaspak Anaerobic system (Merck, USA)
19. Antibiotica-Testblattchen paper disc (Duran, USA)

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. เครื่องตีผสมแรงดันสูง (Homogenizer, Ystral X10/25, Ballrechten-Dottingen, Netherlands)
2. เครื่องกำเนิดความถี่เหนือเสียงแบบหัวโพรบ (Ultrasonication probe, Dr.hielscher Up400s, Germany)
3. เครื่องวัดแรงตึงผิว (Goniometer FTA 100, First Ten Angstroms, Portsmouth, Wirginia, USA)
4. เครื่องกำเนิดความถี่เหนือเสียงแบบอ่าง (Bath sonicate, Ultrasonik, Fisher scientific worldwide, Germany)
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, DH-60-110, Sentific promotion co.th , Thailand)
6. เครื่องเคลือบฟิล์ม (Film coater PI-1210, Japan)
7. เครื่องอบแห้ง (17200 Tutingen, Wtc binder, Germany)
8. Micrometer (Dial Thinckness Gauge 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan; 0.01 μm limit)
9. Texture Analyzer (Intron 5565, USA)
10. Desiccator

11. แม่พิมพ์สำหรับขึ้นรูปฟิล์ม ทำจากแผ่นพลาสติก acrylic ใส
12. เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter model CR-400, Osaka, Japan)
13. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (V-530PC, Japan)
14. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-5410 LV, Japan)
15. Anaerobic jar (Oxoid, England)
16. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (A&D company รุ่น HR-200)
17. ตู้ควบคุมความชื้น
18. Stomacher (รุ่น 400 circular, England)
19. ถุงพลาสติกชนิด low density polyethylene

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลู กระเทียมและเปลือกทับทิม

3.2.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 *E. coli* ATCC 8739 *Salmonella* Typhimurium *Salmonella* Choleraesuis *Pseudomonas* sp. ใน NB broth ซึ่งจะใช้เป็น standardized culture และเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus* sp. TISTR 539 และ *Lactobacillus sake* TISTR 890 ใน MRS broth เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ได้เข้าสู่ stationary phase มีจำนวนเซลล์ประมาณ 10^7 CFU/ml เป็นปริมาณทำให้เนื้อเสื่อมเสียได้ (Ouattara *et al.*, 1997)

3.2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิม โดยวิธี disc diffusion

นำเซลล์จาก standardized culture มาบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB broth และ MRS broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ sterile cotton swab จุ่มเชื้อที่ใช้ทดสอบ แล้วนำไปเกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำอาหาร nutrient agar (NA) และ MRS agar นำ sterile paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร) จุ่มลงในน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ (hexane, ethyl acetate,

chloroform, ethanol และน้ำ) นำ paper disc ที่จุ่มสารดังกล่าวแล้วมาวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ swab เชื้อไว้ข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ในกรณีเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus sp.* และ *Lactobacillus sake* ทดสอบ 2 ชั่วโมง ผลในการประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) (Ahmad *et al.*, 1998)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.2 การศึกษาสัดส่วนระหว่างสารละลายเลซิทินและสารสกัดด้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชันและประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของไลโปโซมเอนแคปซูลชั้นของสารสกัด โดยวิธี disc diffusion

3.2.2.1 การวิเคราะห์ค่า critical micelle concentration (CMC) ของสารละลายเลซิทิน

เตรียม stock solution จาก L- α -เลซิทินความบริสุทธิ์ \geq ร้อยละ 94 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก ผสมสารละลายเลซิทิน 25 กรัมกับน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่อง homogenizer ที่อัตราความเร็วรอบ 22,000 rpm/นาที เป็นเวลา 10 นาทีให้เป็นเนื้อเดียวกัน (emulsified) เพื่อให้ได้อิมัลชันเบื้องต้น จากนั้นนำไป sonicate (0.5 cycle 60% Amplitude 400 W 15 นาที) โดย Ultra sonication probe จนกระทั่งสารผสมรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะเป็นสารละลายใสและไม่แยกชั้นเมื่อทิ้งไว้ 30 นาทีภายหลัง sonication จากนั้นเจือจางสารตั้งต้นให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-20 โดยน้ำหนัก ปริมาณตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร โดยเตรียมสารละลายแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่อง homogenizer ที่อัตราความเร็วรอบ 22,000 rpm/นาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้สารเป็นเนื้อเดียวกันและไม่แยกชั้น ปิดฝาปิดภายใต้แก๊สไนโตรเจน ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายอิมัลชัน จากนั้นนำไปวัดค่าแรงตึงผิว (surface tension) โดยใช้เครื่องวัดแรงตึงผิว (goniometer) วัดด้วยวิธี pendant drop โดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร ดูดสารที่ต้องการวัด แล้วใส่เข็มฉีดยาหัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.483 mm ติดตั้งกระบอกฉีดยานี้บนเครื่องวัดแรงตึงผิววัดก้านลูกสูบโดยควบคุมอัตราเร็วในการกดที่ 4.5 μ l/s เพื่อให้ของเหลวหยดออกจากปลายเข็ม บันทึกรูปของหยด \leq 10 หยด ต่อ 1 ครั้ง

ทดลอง 2 ซ้ำทุกตัวอย่าง โปรแกรมคอมพิวเตอร์ของเครื่องคำนวณค่าแรงตึงผิวของของเหลวที่วัดจากรูปทรงของหยดที่บันทึกรูปไว้ แล้วหาค่าเฉลี่ยของแรงตึงผิวของสารละลายเลซิติน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-20 โดยนำนักสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างแรงตึงผิวของสารละลายอิมัลชันกับความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน เพื่อหาค่า CMC ของตัวทำอิมัลชันในตัวทำละลาย

3.2.2.2 การศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารละลายเลซิติน และสารสกัดด้านเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชัน

เอนแคปซูลเลซิตินสารสกัดจากธรรมชาติทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล โดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชัน หรือ $W_1/O/W_2$ ซึ่งดัดแปลงจาก Wang และคณะ (2006) โดยเตรียมสารละลายเลซิตินในเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 99 ให้ความเข้มข้นร้อยละ 12 14 และ 16 โดยน้ำหนัก เตรียมวัฏภาคน้ำมัน (oil phase-O) โดยผสมสารละลายเลซิติน (ที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 14 และ 16 โดยน้ำหนัก) กับน้ำมันผสม (ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันกานพลูและน้ำมันกระเทียม ในสัดส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก) ให้ความเข้มข้นโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อน้ำมันผสมเท่ากับ 1:2 1:4 และ 1:6 ส่วนวัฏภาคน้ำ (water phase- W1) คือสารละลายน้ำของสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล ที่ความเข้มข้นร้อยละ 13.3 16.0 และ 17.2 โดยน้ำหนักในขั้นแรกทำอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (W_1/O) สัดส่วนของวัฏภาคน้ำมันต่อวัฏภาคน้ำเท่ากับ 2:1 ทำให้วัฏภาคน้ำเกิดเป็นอนุภาคกระจายในวัฏภาคน้ำมัน โดยปั่นด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไป sonicate โดยใช้เครื่อง ultrasonic ที่ 60 Hz และ amplitude 400 W เป็นเวลา 30 นาที โดยทำขั้นตอนกระจายน้ำในน้ำมันนี้ 2 รอบ แล้วนำอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่เตรียมได้นี้ไปผสมกับวัฏภาคน้ำ (W_2 ซึ่งในการวิจัยนี้ W_2 เป็นสารละลายเดียวกันกับ W_1) ในสัดส่วน 3:4 จากนั้นนำอิมัลชันผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 100 นาโนเมตร 3 รอบ ควบคุมอุณหภูมิตลอดการเตรียมอิมัลชันให้ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส โดยการหล่อด้วยน้ำผสมน้ำแข็ง ในการเตรียมแปรความเข้มข้นของเลซิติน สัดส่วนของสารละลายเลซิตินกับความเข้มข้นของน้ำมันผสม และสารละลายสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล เพื่อให้ได้สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารสกัดทั้งสามชนิดรวมกัน (น้ำมันกระเทียม น้ำมันกานพลูและสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอลที่มีปริมาณเท่าๆกัน) เท่ากับ 1:3 1:6 และ 1:9 ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปริมาณขององค์ประกอบอิมัลชัน ($W_1/O/W_2$)

องค์ประกอบของอิมัลชัน	สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม		
	1:3	1:6	1:9
	ปริมาณขององค์ประกอบอิมัลชัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		
สารละลายเลซิติน	9.43	5.71	4.09
น้ำมันกานพลู	9.43	11.4	12.3
น้ำมันกระเทียม	9.43	11.4	12.3
สารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล	9.43	11.4	12.3
น้ำ	62.3	60.0	59.2

3.2.2.3 การศึกษาความคงตัวของอิมัลชัน

เก็บอิมัลชันที่เตรียมได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการแยกชั้นของอิมัลชันภายหลังการเตรียมเป็นเวลา 7 วัน (Edwards and Baeumner, 2006) จากนั้นเปรียบเทียบการแยกชั้นของอิมัลชัน โดยเทียบกับความสูงทั้งหมด หาค่าสัดส่วนของสารละลายเลซิตินและสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่มากที่สุดที่ไม่เกิดการแยกชั้นของสารสกัดและความคงตัวของกายภาพของไลโปโซม ทดลอง 3 ซ้ำ

วางแผนการทดลองแบบ symmetric factorial CRD ขนาด 3 x 3 ทดลอง 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเลซิตินและความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ผสม วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.2.4 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของอิมัลชันของสารสกัด โดยวิธี disc diffusion

ขั้นตอนการตรวจสอบเช่นเดียวกับ 3.2.1.2 โดยวัดขนาดของวงไซรอปแผ่น paper disc ที่ซุบอิมัลชันที่ศึกษา (อิมัลชันเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน กรณีเกิดการแยกชั้น เลือกเฉพาะส่วนที่ยังคงเป็นครีมอิมัลชันมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์) และ สารละลายเลซีตินที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 14 และ 16 โดยน้ำหนักใช้เป็น negative control

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.3 การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ พลาสติไซเซอร์ และสารสกัดในรูปไลโปโซมสำหรับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกติน

3.2.3.1 การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกติน และแคลเซียมคลอไรด์ สำหรับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกติน

ทดลองขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกตินในสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกติน และ แคลเซียมคลอไรด์ (ดัดแปลงจาก Kang *et al.*, 2005) โดยนำผงเพกตินมาละลายใน deionized water (DI water) (240 ml) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จนได้ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 3 3.5 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นผสมให้ละลายเป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (ความเข้มข้นร้อยละ 3 5 7 และ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อปริมาตรสารละลายเพกติน 30 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที นำไปใส่ฟองอากาศออก โดย sonicating ด้วยเครื่อง bath sonicate เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำฟองอากาศออก จากนั้น sonicate ต่อ เป็นเวลา 25 นาที สารละลายที่ได้ปรับอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส โดยใช้เครื่องเคลือบฟิล์ม นำแผ่นฟิล์มขึ้นรูปไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งฟิล์มแห้ง ลอกแผ่นฟิล์มออกแล้วนำไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้น โดยควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 ด้วยสารละลาย magnesium nitrate อิมัตัว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปตรวจสอบสมบัติต่างๆต่อไป ในข้อ 3.2.3.2

วางแผนการทดลองแบบ symmetric factorial CRD ขนาด 4×4 มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.3.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มเพกติน

ตรวจสอบสมบัติของฟิล์มเพกตินที่ผลิตได้ในขั้นตอน 3.2.3.1 ดังนี้

1. การวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (Film thickness) วัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (3 x15 เซนติเมตร) ใช้เครื่อง micrometer วัดแผ่นฟิล์มละเก้าตำแหน่ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.1)
2. วัดค่าความต้านทานแรงดึงและร้อยละการยืดตัวของฟิล์มโดยการใช้อุปกรณ์ Texture Analyzer (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.2)
3. การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม (Water Vapor Permeability) โดยทดสอบตามวิธีมาตรฐาน ASTM E 96-95 (1999) (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.3)
4. การวัดค่าความแตกต่างสี โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter model CR-400 (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.4)
5. วัดค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.4)
6. ลักษณะโครงสร้างของฟิล์มเพกติน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.5)

3.2.3.3 การศึกษาผลของชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของฟิล์มเพกติน

ผลิตฟิล์มจากเพกตินเช่นเดียวกับวิธีการผลิตในข้อ 3.2.3.1 โดยคัดเลือกฟิล์มที่ผลิตได้ในข้อ 3.2.3.1 เลือกฟิล์มที่ใส แข็งแรง มีความยืดหยุ่นไม่ขาดง่าย มีค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ คัดเลือกไว้ 3 สภาวะ ปรับภาวะในการผลิต (ปริมาณเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์) เช่นเดียวกับตัวอย่างที่คัดเลือกได้ 3 สภาวะ ใช้พลาสติกไซเซอร์ 2 ชนิด คือ ซอร์บิทอล

(SOR) และกลีเซอรอล (GLY) แปรปริมาณพลาสติกไซเซออร์ 3 ระดับได้แก่ ร้อยละ 40 50 และ 60 ของน้ำหนักของเพกตินที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์ม (Choi and Han, 2001) ผสมกับ film forming solution จากนั้นวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มเช่นเดียวกับข้อ 3.2.3.2

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.3.4 การศึกษาผลความเข้มข้นของสารสกัดในรูปไลโปโซมในฟิล์มเพกติน

ผลิตฟิล์มจากเพกตินเช่นเดียวกับวิธีการผลิตในข้อ 3.2.3.1 โดยคัดเลือกฟิล์มที่ผลิตได้ในข้อ 3.2.3.3 เลือกฟิล์มที่ใส แข็งแรง มีความยืดหยุ่นไม่ขาดง่าย มีค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ ปรับภาวะในการผลิต (ปริมาณเพกติน แคลเซียมคลอไรด์และชนิดกับปริมาณพลาสติกไซเซออร์) เช่นเดียวกับตัวอย่างที่สามารถคัดเลือกได้ จากนั้นแปรความเข้มข้นของไลโปโซมที่ต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนักใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มโดยผสมกับ film forming solution เป็นเวลา 10 นาที ตามวิธีของ Del Nobile และคณะ (2008) จากนั้นนำไปใส่ฟองอากาศออก แล้วนำไปขึ้นรูปฟิล์ม นำแต่ละตัวอย่างนำไปวิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม เช่นเดียวกับข้อ 3.2.3.2 และประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกติน โดยวิธี disc diffusion โดยตัดฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเป็นวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร แบ่งฟิล์มที่ลอกได้จากแม่พิมพ์เป็นสามส่วน จากนั้นสุ่มส่วนละ 3 แผ่นมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แบบเดียวกับวิธี 3.2.1.2 เปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมกับฟิล์มเพกตินที่ผสมน้ำมันกานพลู ฟิล์มเพกตินที่ผสมน้ำมันกระเทียม และฟิล์มเพกตินที่ผสมสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล ที่สัดส่วนเดียวกันกับความเข้มข้นของ ไลโปโซม(ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.4 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่มีไลโปโซม ห่อหุ้มสารสกัดจากกานพลู กระเทียมและเปลือกทับทิม เมื่อใช้กับเนื้อสัตว์ ตัดแต่งระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เลือกแผ่นฟิล์มเพกตินที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดจากขั้นตอนที่
3.2.3.4 มาใช้ร่วมกับเนื้อวัวและเนื้อหมูตัดแต่งจากส่วนของสันนอกของสัตว์ในลักษณะ steak
piece ที่มีขนาด 10 x 6 x 1 เซนติเมตร (น้ำหนักประมาณ 60 กรัม) ใช้แผ่นฟิล์มเพกตินหุ้มทั้ง
ด้านบนและล่างของเนื้อตัดแต่ง บรรจุบนถาดโฟมและหุ้มด้วยฟิล์มห่ออาหาร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ
4±1 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพทุกๆ 2 วัน ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ เป็นเวลา 16
วัน ตรวจวัด aerobic plate count (APC) lactic acid bacteria *Escherichia coli* coliform
และ *Pseudomonas* sp. (ภาคผนวก ข)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ
นำผลที่ตรวจสอบได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้
วิธี t-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 13.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลู กระเทียม และเปลือกทับทิม

การทดลองนี้คัดเลือกสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรที่ใช้กันแพร่หลายในประเทศไทยและใช้ในการประกอบอาหาร และมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ คือ น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ คือ *Pseudomonas sp.*, *E. coli*, *Salmonella sp.* และ *Lactobacillus sp.* โดยใช้เทคนิค disc diffusion method คัดเลือกโดยพิจารณาจากวงใส (inhibition zone) (Ahmad *et al.*, 1998) ใช้ยาปฏิชีวนะ คือ tetracycline และ chloramphenical เป็นตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 4.1 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานทดลอง พบว่า น้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทุกชนิดในงานทดลองมากที่สุด โดยเฉพาะในการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus sake* ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสมากที่สุดคือ 4.75 เซนติเมตร และเมื่อเปรียบเทียบน้ำมันกานพลูกับยาปฏิชีวนะพื้นฐาน พบว่าน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เทียบเท่าหรือมากกว่ายาปฏิชีวนะพื้นฐาน โดยเฉพาะ *Salmonella Typhimurium* รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเฮทานอลให้ค่าการยับยั้งที่สูงกว่าตัวทำละลายอื่นๆ เห็นได้ว่าตัวทำละลายเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน และน้ำมันกระเทียมให้ค่าการยับยั้งน้อยที่สุด ซึ่งขนาดของวงใสของสารสกัดจากธรรมชาติทั้งสามชนิด (น้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเฮทานอล) มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสในการยับยั้งมากกว่า 0.8 เซนติเมตร แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์นั้นมีความไวต่อ สารต้านจุลินทรีย์นั้น (Ponce *et al.*, 2003) ดังนั้น จึงเลือกใช้น้ำมันกานพลู สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเฮทานอลและน้ำมันกระเทียมมาศึกษาต่อไปเพื่อขึ้นรูปเป็นไลโปโซมต่อไป

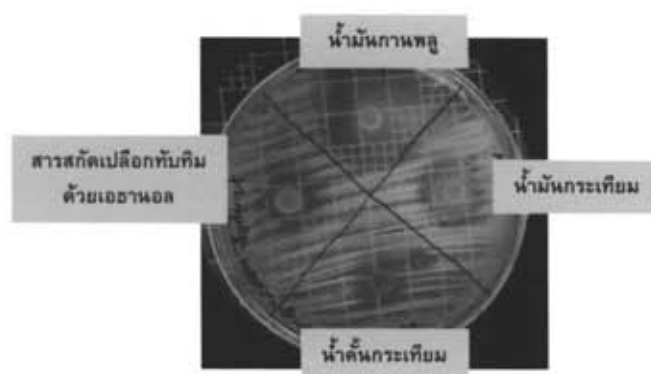
ตารางที่ 4.1 เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดโดยตัวทำละลายต่างๆ และยาปฏิชีวนะพื้นฐาน โดยวิธี disc diffusion (เส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc คือ 0.6 เซนติเมตร)

เชื้อจุลินทรีย์	ขนาดเฉลี่ยของวงใส (เซนติเมตร) ^{1,2}									
	น้ำมัน กานพลู	น้ำมัน กระเทียม	สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วย						tetracycline	chloramphenical
			Hexane	Ethanol	Ethyl acetate	DMSO	chloroform	water		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2.25±0.07 ^b	0.95±0.07 ^f	-	1.48±0.39 ^c	1.05±0.08 ^e	-	-	1.38±0.04 ^d	2.2±0.12 ^b	2.5±0.06 ^a
<i>E. coli</i> ATCC 8739	2.05±0.07 ^b	1.1±0.05 ^e	-	1.48±0.18 ^c	1.08±0.04 ^e	-	-	1.35±0.07 ^d	2.0±0.07 ^b	2.5±0.11 ^a
<i>Salmonella</i> Typhimurium	3.0±0.21 ^a	1.5±0.12 ^d	-	1.33±0.24 ^e	1.05±0.07 ^e	-	-	1.18±0.18 ^d	2.2±0.07 ^c	2.6±0.05 ^b
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	2.75±0.35 ^b	1.20±0.14 ^e	-	1.73±0.6 ^d	1.15±0.28 ^e	-	-	1.20±0.12 ^e	2.4±0.13 ^c	2.9±0.09 ^a
<i>Pseudomonas</i> sp.	2.33±0.21 ^a	1.1±0.14 ^d	-	1.8±0.08 ^b	1.48±0.04 ^c	-	-	2.38±0.04 ^a	N/A	N/A
<i>Lactobacillus</i> sp.	3.38±0.17 ^a	1.46±0.07 ^c	-	1.56±0.05 ^b	1.16±0.06 ^d	-	-	1.04±0.06 ^e	N/A	N/A
<i>Lactobacillus</i> sake	4.75±0.21 ^a	1.50±0.15 ^d	-	2.13±0.08 ^b	1.20±0.14 ^e	-	-	1.80±0.04 ^c	N/A	N/A

-: ไม่มีวงใสเกิดขึ้น; N/A: ไม่มีการทดลอง

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการยับยั้งแบคทีเรีย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



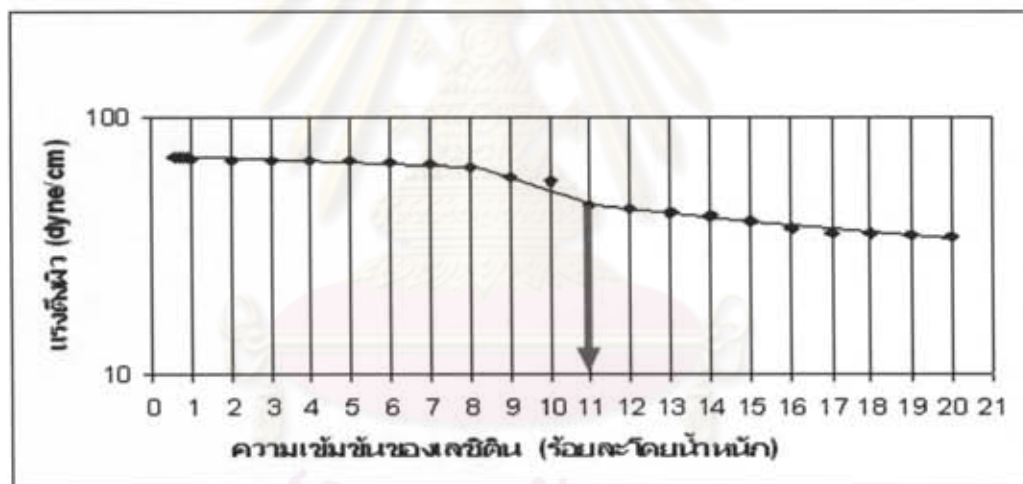
รูปที่ 4.1 วงไลในการยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus sp.* โดยวิธี disc diffusion method (แสดงการเกิดวงไลของน้ำมันทานพลู น้ำคั้นกระเทียม น้ำมันกระเทียม และสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยแอลกอฮอล์)

สารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำมันทานพลู คือ eugenol โดย Ouattara และคณะ (1997) รายงานว่า eugenol ในน้ำมันทานพลูมีประมาณร้อยละ 93-95 ของน้ำมันทานพลู มีกลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ eugenol มีผลต่อ phospholipids bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งไปเปลี่ยนแปลง lipid-protein interaction ทำให้การซึมผ่านและเกิดการรั่วของเยื่อหุ้มเซลล์มากขึ้น หรือทำปฏิกิริยากับระบบเอนไซม์ เช่น ATPase (Burt, 2004) ในกรณีของสารสกัดจากเปลือกทับทิม Voravuthikunchai และคณะ (2004) พบว่าสารที่มีอยู่ในเปลือกทับทิมคือ flavonoids tannins phenol sterols และ triterpenes และพบว่าสารเหล่านี้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. Coli* O157:H7 สายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกทับทิมให้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ahmad และคณะ (1998) และ ตริชฎา ศิริรักษ์และคณะ (2548) พบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอทานอลให้ค่าการยับยั้งที่สูงกว่าตัวทำละลายอื่นๆ คือ hexane ethyl acetate chloroform n-butanol และน้ำ สารออกฤทธิ์ในกระเทียม คือ allicin (diallyl thiosulfinate) กลไกการทำงานของ allicin คือ ยับยั้งปฏิกิริยาทางเคมีของกลุ่ม thiol ของเอนไซม์หลายชนิดในจุลินทรีย์ โดยเป็นสารไวต่อปฏิกิริยา thiosulfinate เช่น alcohol dehydrogenase, thioredoxin reductase, RNA polymerase, cysteine proteinase ซึ่งสามารถถูกยับยั้งได้ (Ankri and Mirelman, 1999)

4.2 การศึกษาสัดส่วนระหว่างสารละลายเลซิดิน และสารสกัดด้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชันและประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของไลโปโซมเอนแคปซูเลชันของสารสกัด โดยวิธี disc diffusion

4.2.1 การวิเคราะห์ค่า critical micelle concentration (CMC) ของสารละลายเลซิดิน

ค่า critical micelle concentration (CMC) เป็นความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่ำสุดที่เกิดไมเซลล์ในสารละลาย เพื่อที่จะสามารถกระจายส่วนที่ไม่ละลายในน้ำให้สามารถกระจายในน้ำได้ หาได้จากความสัมพันธ์ระหว่างแรงตึงผิวของสารละลายตัวทำอิมัลชันกับความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน โดยวัดค่าแรงตึงผิวของสารละลายเจือจางของสารเลซิดินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-20 โดยน้ำหนัก ใช้เครื่องวัดแรงตึงผิว (goniometer) ใช้การวัดด้วยวิธี pendant drop



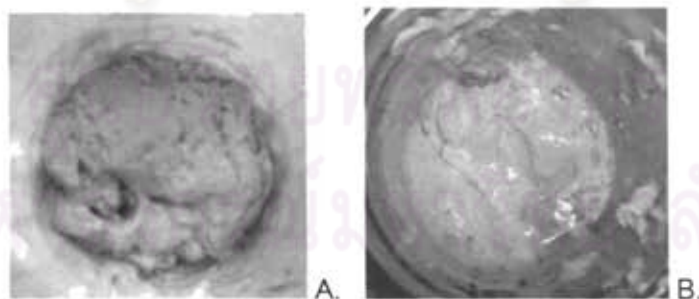
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างแรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารละลายเลซิดินที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-20 โดยน้ำหนัก

ผลิตภัณฑ์สารด้านจุลินทรีย์ ที่พัฒนาขึ้นประกอบด้วยสารสกัดต่างๆที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำ การใช้สารทำอิมัลชันหุ้มสารสกัดที่ไม่ละลายในน้ำเพื่อให้การกระจายของสารสกัดนี้ในน้ำสม่ำเสมอ ช่วยในการนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น ในการทำอิมัลชันนี้เพื่อห่อหุ้มสารสกัด ต้องใช้ความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมสารละลายไลโปโซมสูงกว่าความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่ำสุดที่เกิดการหุ้มในสารละลาย ค่าความเข้มข้นต่ำสุดเรียกว่า critical micelle

concentration (CMC) หาได้จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของแรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน โดย CMC คือความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันที่ค่าแรงตึงผิวเริ่มคงที่และไม่ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน (Hiemenz, 1977) จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า log แรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินที่ระดับร้อยละ 0.1-20 โดยน้ำหนัก ในรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าช่วงความเข้มข้นที่เท่ากับหรือสูงกว่า CMC คือร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก เมื่อนำไปผลิตไลโปโซม โดยใช้สารสกัดจากเปลือกหอยทิมละลายในวัฏภูภาคน้ำ คาดว่าค่า CMC ไม่มีเปลี่ยนแปลงเนื่องจาก สารสกัดจากเปลือกหอยทิมที่ผสมลงไปในวัฏภูภาคน้ำมีปริมาณน้อย ดังนั้นจึงเลือกใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 14 และ 16 โดยน้ำหนักเตรียมอิมัลชันของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดเอธานอลจากเปลือกหอยทิมในสารละลายเลซิติน โดยทดลองศึกษาหาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารละลายเลซิตินและสารสกัดด้านเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการผลิตไลโปโซม โดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชัน

2.7.1 การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารละลายเลซิติน และสารสกัดยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับการผลิตไลโปโซมโดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชัน

ในการทดลองนี้แปรสัดส่วนระหว่างสารเลซิตินกับสารสกัดยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเอนแคปซูเลชัน โดยแปรความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินเป็นร้อยละ 12 14 และ 16 โดยน้ำหนัก ส่วนสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารด้านจุลินทรีย์รวมทั้ง 3 ชนิดในอิมัลชัน 3 ระดับ คือ 1:3 1:6 และ 1:9 ใช้เทคนิคดับเบิลอิมัลชัน ($W_1/O/W_2$) พบว่าทุกระดับสามารถเกิดเป็นไลโปโซมได้



รูปที่ 4.3 ลักษณะของอิมัลชันที่เกิดขึ้น โดยมีลักษณะครีมขุ่น (A) และลักษณะครีมเหลือง (B)

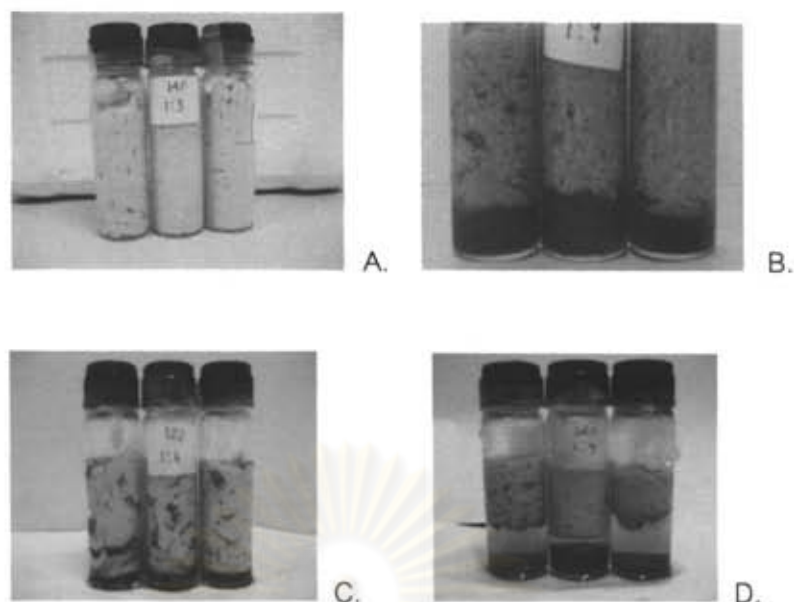
ตารางที่ 4.2 ลักษณะของอิมัลชันที่ความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินและสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของสารละลายเลซิติน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม	ลักษณะของอิมัลชัน
12	1 : 3	ครีมชั้น เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
	1 : 6	ครีมเหลว เนื้อละเอียด พบการแยกชั้นเล็กน้อย
	1 : 9	ครีมเหลว พบการแยกชั้น
14	1 : 3	ครีมชั้นสีเหลือง เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
	1 : 6	ครีมชั้นสีเหลือง เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
	1 : 9	ครีมเหลว เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
16	1 : 3	ครีมชั้นสีเหลือง เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
	1 : 6	ครีมชั้นสีเหลือง เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น
	1 : 9	ครีมเหลว เนื้อละเอียด ไม่พบการแยกชั้น

ทุกสัดส่วนโดยน้ำหนักระหว่างสารเลซิตินกับสารสกัดยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเอนแคปซูลชัน โดยใช้เทคนิคดับเบิลอิมัลชัน ($W_1/O/W_2$) พบว่าทุกระดับสามารถเกิดเป็นไลโพโซมได้แตกต่างกันที่ความหนืดและความเร็วในการเกิดครีม โดยครีมอิมัลชันที่เกิดจากสารละลายเลซิตินที่ร้อยละ 16 โดยน้ำหนัก มีความหนืดสูงสุด และเกิดอิมัลชันได้เร็วที่สุด ดังนั้น การเกิดอิมัลชันง่ายขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเลซิตินเพิ่มขึ้น และปริมาณสารสกัดลดลง

2.7.2 ความคงตัวของอิมัลชัน

อิมัลชันที่เตรียมได้เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า มีการแยกชั้น ซึ่งมีทั้งที่แยกออกเป็น 2 ชั้น คือชั้นน้ำและชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชัน หรือชั้นน้ำมันและชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชัน และที่แยกออกเป็น 3 ชั้น คือชั้นน้ำ ชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชันและชั้นน้ำมัน (รูปที่ 4.4) เปรียบเทียบร้อยละความสูงของชั้นน้ำหรือชั้นน้ำมันที่แยกออกมากับความสูงทั้งหมดของตัวอย่าง



รูปที่ 4.4 ลักษณะการแยกชั้นของอิมัลชัน โดยแบ่งเป็น ชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชันไม่มีการแยกชั้น (A) ชั้นน้ำและชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชัน (B) หรือชั้นน้ำมันและชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชัน (C) และที่แยกออกเป็น 3 ชั้น คือชั้นน้ำ ชั้นที่ยังคงเป็นอิมัลชันและชั้นน้ำมัน (D)

ตารางที่ 4.3 การแยกชั้นน้ำของอิมัลชันที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิตินและสัดส่วนของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมต่างกัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายเลซิติน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม	ความสูงของชั้นน้ำต่อความสูงทั้งหมด (ร้อยละ)						
		1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน
12	1:3	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:6	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:9	27.84	43.902	51.282	56.828	55.98	56.828	58.524 ^{cd}
14	1:3	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:6	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:9	13.599	16.260	18.67	25.833	27.728	32.478	37.898 ^{bc}
16	1:3	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:6	-	-	-	-	-	-	- ^a
	1:9	-	-	-	-	-	-	- ^a

หมายเหตุ -: ไม่มีการแยกชั้น

a,b,c,d แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งเฉพาะวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.4 การแยกชั้นน้ำมันของของอิมัลชันที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิตินและสัดส่วนของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมต่างกัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายเลซิติน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม	ความสูงของชั้นน้ำมันต่อความสูงทั้งหมด (ร้อยละ)						
		1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน
12	1 : 3	-	0.758	1.515	2.273	2.273	3.788	4.545 ^{ab}
	1 : 6	-	0.82	4.098	4.917	6.557	6.557	7.317 ^{abc}
	1 : 9	-	16.26	17.073	17.5	17.645	17.948	18.087 ^c
14	1 : 3	-	-	-.*	-.*	-.*	2.207	5.48 ^{ab}
	1 : 6	-	0.52	3.215	4.123	4.557	5.624	6.521 ^{abc}
	1 : 9	-	8.13	9.925	10.256	11.874	11.874	11.874 ^c
16	1 : 3	-	-	-	0.68	1.361	2.749	2.773 ^a
	1 : 6	-	-	-	0.653	3.401	4.0833	4.451 ^{ab}
	1 : 9	-	-	-	2.014	2.014	3.148	4.641 ^{ab}

หมายเหตุ * มีน้ำมันซึมออกมา แต่ยังไม่ตกลงมาแยกชั้น

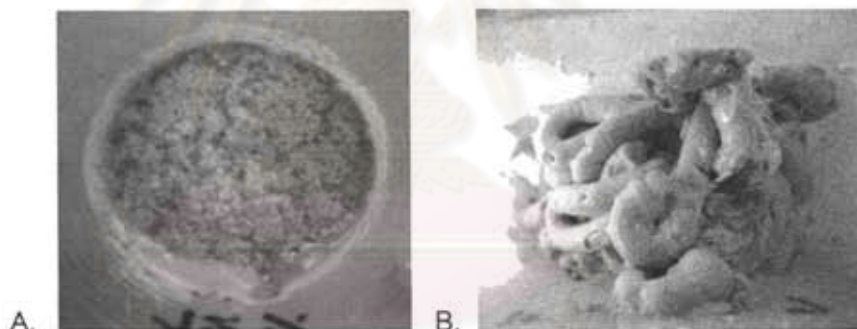
a,b,c,d,e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งเฉพาะวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.3 และ 4.4 พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินช่วยชะลอการแยกชั้นของอิมัลชัน ขณะที่การเพิ่มสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมเร่งการแยกชั้น โดยส่วนสารละลายเลซิตินที่ร้อยละ 16 โดยน้ำหนักมีการแยกชั้นของน้ำและน้ำมันน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยเมื่อเปรียบเทียบที่สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารต้านจุลินทรีย์ 1:3 1:6 และ 1:9 พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นการแยกของชั้นน้ำและน้ำมันเพิ่มขึ้น โดยพบการแยกชั้นเร็วและมากที่สุดเมื่อความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์สูงสุด ดังนั้นที่สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารต้านจุลินทรีย์ 1:3 มีแนวโน้มในการเกิดอิมัลชันได้ดีที่สุด เนื่องจากพบการแยกชั้นของน้ำและน้ำมันน้อยที่สุดทั้งก่อนและหลังการอัดรีด (extrusion) ในขณะที่ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์มากขึ้นทำให้เกิดการแยกชั้นมากขึ้น อาจเนื่องมาจากความสามารถในการหุ้มสารต้านจุลินทรีย์ไว้ไม่หมด จึงเกิดการแยกชั้นขึ้น โดยเฉพาะที่สัดส่วน 1:9

ภายหลังอัดรีด พบว่า ครีมที่ผลิตได้มีความเนียนขึ้น (รูปที่ 4.5) เนื่องจากการอัดรีดผ่านเยื่อกรองทำให้ขนาดของไลโปโซมลดลงและมีขนาดใกล้เคียงสม่ำเสมอ จึงเกิดความเนียนขึ้น (Liang, Davies and Toth, 2007) แต่ภายหลังอัดรีด ทำให้เกิดแรงอัดและความร้อนขึ้นที่ผิวของ

เยื่อกรองทำให้ไลโปโซมบางส่วนแตกออก จึงมีการปลดปล่อยสารที่ห่อหุ้มออกมาทำให้เกิดการแยกชั้นของครีมไลโปโซมเกิดขึ้นหลังการอัดรีด (Walde and Ichikawa, 2001) และเมื่อนำส่วนที่เป็นครีมไลโปโซมมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อทดสอบการแยกชั้นน้ำและชั้นน้ำมันระหว่างการเก็บ พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นการแยกของชั้นน้ำและน้ำมันเพิ่มขึ้น โดยพบการแยกชั้นเร็วและมากที่สุดเมื่อความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์สูงสุดและที่ความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินต่ำสุด ในระหว่างการเก็บรักษา ไลโปโซมมีขนาดที่ไม่สม่ำเสมอ (heterogenous) มากขึ้น จากนั้นมีแนวโน้มจับตัวกัน (aggregation) แล้วหลอมรวมกัน (fusion) แล้วมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้สารที่ถูกเก็บกักรั่วออกจากไลโปโซม รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของฟอสโฟลิพิดที่อาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและไฮโดรไลซิส เป็นสาเหตุที่ทำให้การซึมผ่านเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนั้นอิทธิพลอื่นที่มีผลต่อความคงตัวของไลโปโซม เช่น ปัจจัยที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตไลโปโซม ปัจจัยแวดล้อมระหว่างการเก็บรักษา (Vemuri and Rhodes, 1995; Edwards and Baeumner, 2006)

จากการทดลองพบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการแยกชั้น คือ (1) เวลาในการเก็บรักษา (2) ความเข้มข้นของสารละลายเลซิติน (3) ความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์



รูปที่ 4.5 ไลโปโซมที่ผลิตได้ก่อนการ extrusion (A) และภายหลังการ extrusion (B) ของสารละลายเลซิตินร้อยละ 12 โดยน้ำหนักที่สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารต้านจุลินทรีย์ 1:6

2.7.3 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของอิมัลชันของสารสกัดโดยวิธี disc diffusion

เมื่อนำอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และไม่แยกชั้นหลังการเตรียม 7 วัน และในกรณีที่มีการแยกชั้นหลังการเตรียม 7 วัน นำเฉพาะชั้นที่ยังมีลักษณะของอิมัลชันอยู่ (ยังคงมี

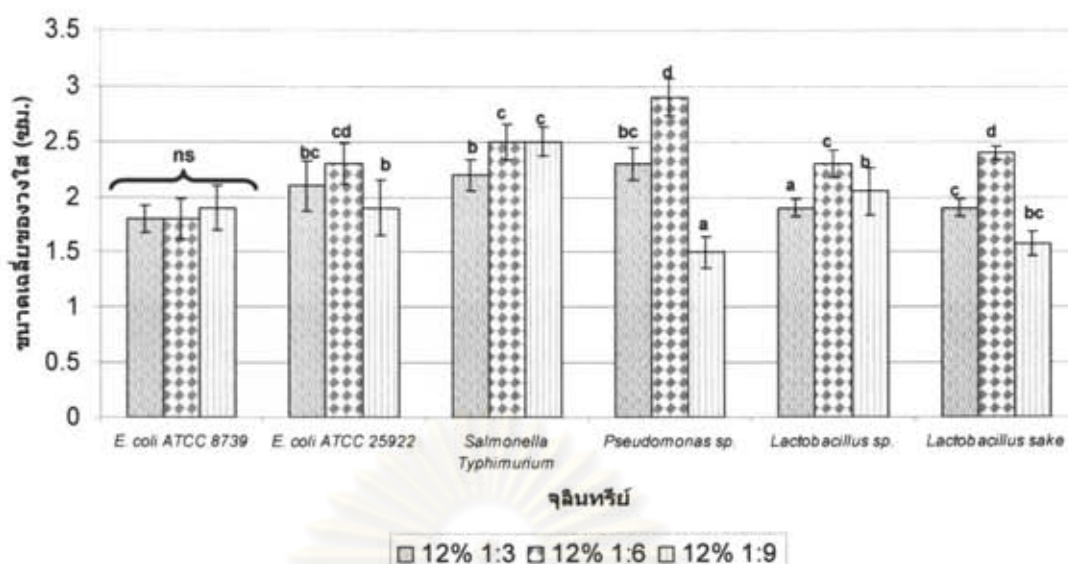
ลักษณะเป็นครีมชั้น) มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหาร พบว่าทุกตัวอย่างแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบ และพิจารณาเฉพาะช่วงความเข้มข้นของสารละลายเลซิทินที่สัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ผสมต่างกัน

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของอิมัลชันของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion

ความเข้มข้นของสารละลายเลซิทิน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	สัดส่วนของสารละลายเลซิทินต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสม	ขนาดเฉลี่ยของวงใส (เซนติเมตร)					
		<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>E.Coli</i> ATCC 8739	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Lactobacillus sake</i>
12	1 : 3	2.1±0.07 ^{bc}	1.8±0.15 ^{ns}	2.2±0.05 ^b	2.3±0.11 ^{bc}	1.9±0.05 ^a	1.9±0.05 ^c
	1 : 6	2.3±0.08 ^{cd}	1.8±0.07 ^{ns}	2.5±0.12 ^c	2.9±0.08 ^d	2.3±0.15 ^c	2.4±0.05 ^d
	1: 9	1.9±0.2 ^b	1.9±0.2 ^{ns}	2.5±0.09 ^c	1.5±0.07 ^a	2.05±0.07 ^b	1.58±0.12 ^{bc}
14	1 : 3	2.3±0.13 ^{cd}	1.9±0.11 ^{ns}	1.7±0.07 ^a	2.0±0.05 ^{ab}	2.0±0.11 ^{ab}	1.7±0.09 ^{bc}
	1 : 6	2.2±0.07 ^{cd}	1.6±0.2 ^{ns}	2.2±0.2 ^b	3.0±0.13 ^d	2.2±0.14 ^c	2.1±0.17 ^c
	1: 9	2.2±0.2 ^{cd}	1.7±0.1 ^{ns}	2.2±0.14 ^b	1.8±0.2 ^{ab}	1.8±0.1 ^a	1.5±0.05 ^b
16	1 : 3	2.7±0.12 ^e	1.9±0.23 ^{ns}	2.8±0.14 ^d	2.8±0.15 ^{cd}	2.2±0.08 ^c	1.17±0.08 ^a
	1 : 6	2.7±0.18 ^e	1.8±0.18 ^{ns}	2.8±0.16 ^d	3±0.17 ^d	2.7±0.12 ^d	1.5±0.06 ^b
	1: 9	2.4±0.2 ^{cd}	1.6±0.25 ^{ns}	2.6±0.13 ^{cd}	2.7±0.14 ^{cd}	2.7±0.21 ^d	1.33±0.11 ^{ab}

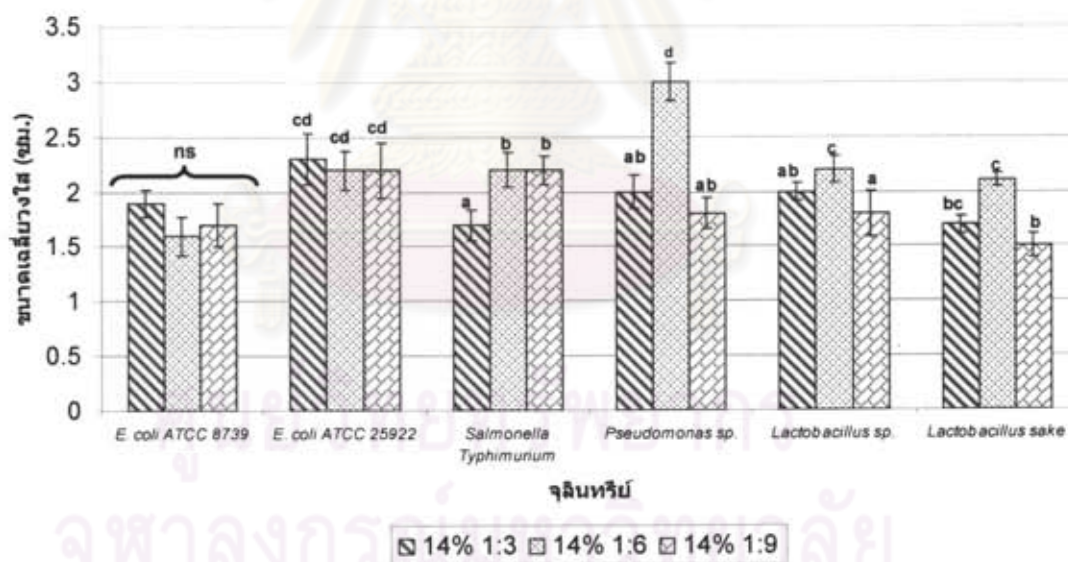
a,b,c,d,e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติในแนวดิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



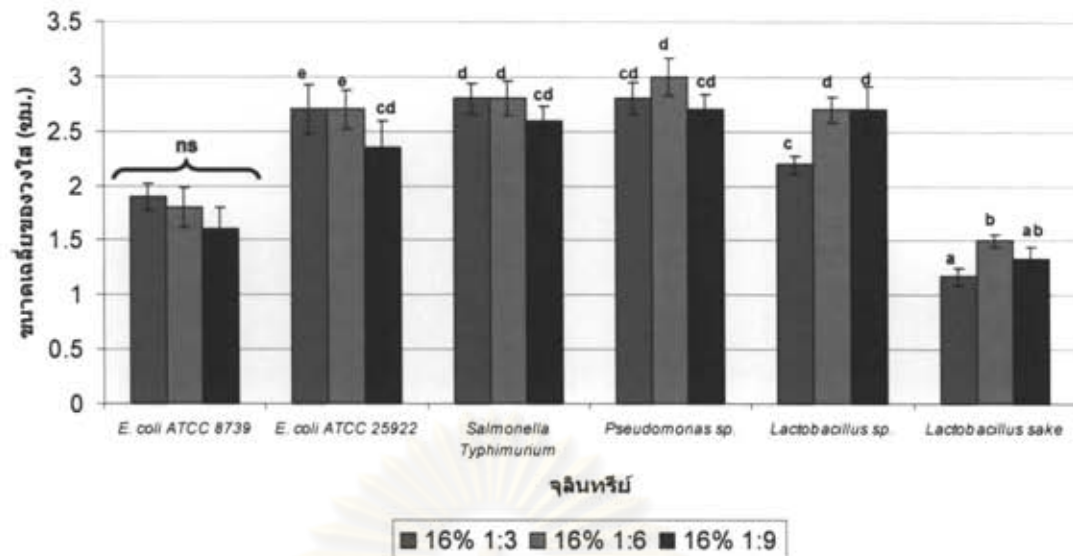
รูปที่ 4.6 ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิทิน ร้อยละ 12 โดยน้ำหนักต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.7 ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิทิน ร้อยละ 14 โดยน้ำหนักต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.8 ขนาดเฉลี่ยวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ (เซนติเมตร) ที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิติน ร้อยละ 16 โดยน้ำหนักต่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ต่างกัน

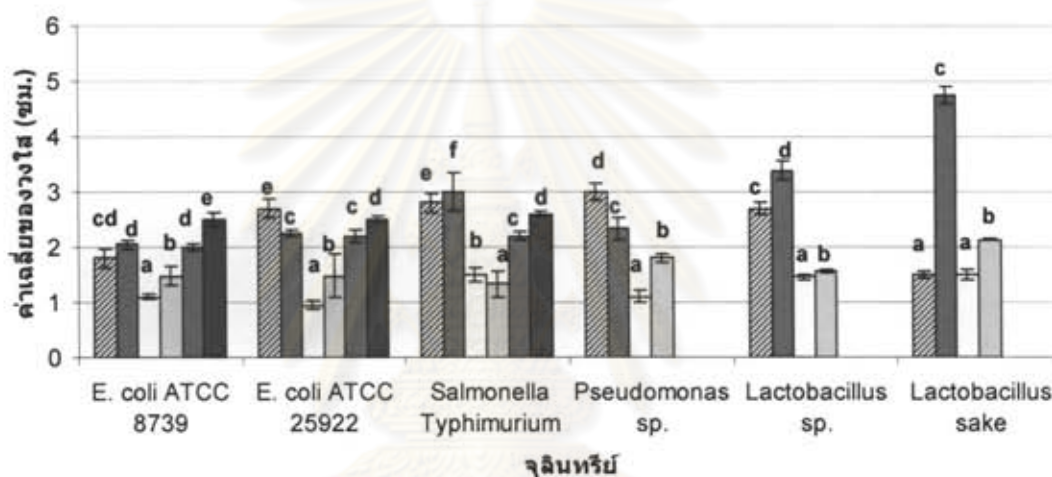
a,b,c,d,e ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.9 วงใสแสดงตัวอย่างการยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus sp.* ของอิมัลชันของ สารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion method

จากตารางที่ 4.5 พบว่า ทุกสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมมีค่าวงใสในการยับยั้งมากกว่า 0.8 เซนติเมตร แสดงว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Ponce *et al.*, 2003) โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงสุดที่สัดส่วนโดยน้ำหนักสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ โดยแนวโน้มในการยับยั้งเพิ่มขึ้นเมื่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์มากขึ้น ยกเว้นที่สัดส่วน 1:9 (รูปที่ 4.6 4.7 และ 4.8) เมื่อร้อยละความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินมีค่าต่ำ อาจเนื่องมาจากที่สัดส่วน 1:9 มีการแยกชั้นของน้ำมันและน้ำมากกว่าสัดส่วนอื่นๆ ทำให้ความสามารถในการกักเก็บสารต้านจุลินทรีย์ในไลโปโซมน้อยกว่าที่สัดส่วนอื่น และเมื่อร้อยละความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินมากขึ้น แนวโน้มในการยับยั้ง

จุลินทรีย์เพิ่มขึ้น เมื่อสัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์มากขึ้น รวมถึงสัดส่วน 1:9 เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายเลซิทินเพิ่มมากขึ้น ทำให้ความคงตัวของอิมัลชันมากขึ้น เป็นผลให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ที่สัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์สูง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเทียบฤทธิ์การยับยั้งของอิมัลชันแต่ละชนิด พบว่าฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกันเกินหนึ่งเซนติเมตรในทุกสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิทินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม แสดงว่าฤทธิ์ในการยับยั้งไม่แตกต่างกันมาก (Burt, 2004) ยกเว้นรูปที่ 4.6 ที่ความเข้มข้นเลซิทินร้อยละ 12 โดยน้ำหนักสัดส่วนสารละลายเลซิทินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:9 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง *Pseudomonas sp.* ต่ำกว่าสัดส่วนสารละลายเลซิทินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:3 และ 1:9 อย่างเห็นได้ชัด



รูปที่ 4.10 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของอิมัลชันของสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ความเข้มข้นสารละลายเลซิทินร้อยละ 16 โดยน้ำหนักที่สัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6 กับสารสกัดจากธรรมชาติ โดยวิธี disc diffusion โดย คือสารละลายเลซิทินร้อยละ 16 ที่สัดส่วนสารละลายเลซิทินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6; คือน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100; คือน้ำมันกระเทียมที่ความเข้มข้นร้อยละ 100; คือสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 100; คือ ยาปฏิชีวนะ tetracycline; คือ ยาปฏิชีวนะ chloramphenicol

a,b,c,d,e ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากรูปที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหลังจากไลโพโซมเอนแคปซูลุเลชันให้ฤทธิ์ในการยับยั้งได้มากกว่าการใช้สารสกัดจากธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ คือ น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล และน้ำมันกานพลูในกรณีของ *E. coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas sp.* แม้ว่าองค์ประกอบของอิมัลชันที่ความเข้มข้นเลซิทิน

ร้อยละ 16 โดยน้ำหนักที่สกัดส่วนสารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6 จะมีส่วนประกอบของสารต้านจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 11.4 โดยน้ำหนักเท่านั้นเมื่อเทียบกับสารสกัดจากธรรมชาติที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยน้ำหนักซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าประมาณ 10 เท่า เมื่อเทียบฤทธิ์อิมัลชันที่ทดสอบกับยาปฏิชีวนะสองชนิด คือ tetracycline และ chloramphenicol พบว่า อิมัลชันที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *E. coli* ATCC 25922 และ *Salmonella* Typhimurium ได้มากกว่ายาปฏิชีวนะทั้งสองชนิด แสดงว่าสารสกัดทั้งสามชนิดให้ฤทธิ์เสริมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น โดยสัดส่วนที่ให้ฤทธิ์การยับยั้งสูงสุด คือ ความเข้มข้นเลซิตินร้อยละ 16 โดยน้ำหนักที่สารละลายเลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6 ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp. และ *E. coli* ATCC 25922 มากกว่าสารสกัดจากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เมื่อเทียบกับฤทธิ์ในการยับยั้งของสารสกัดจากสมุนไพรในการทดลองครั้งแรก คือ น้ำมันกานพลู สารสกัดจากเปลือกทับทิมสกัดด้วยเอธานอล และน้ำมันกระเทียม โดยอิมัลชันให้ค่าเฉลี่ยวงใส 3.0 ± 0.17 เซนติเมตร และ 2.8 ± 0.16 เซนติเมตรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ตามลำดับ ขณะที่น้ำมันกานพลู สารสกัดจากเปลือกทับทิมสกัดด้วยเอธานอล และน้ำมันกระเทียม มีขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp. ให้ค่าเฉลี่ย 2.33 ± 0.21 1.8 ± 0.08 และ 1.1 ± 0.14 เซนติเมตร ตามลำดับและเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 มีค่าเฉลี่ย 2.25 ± 0.07 1.48 ± 0.39 และ 0.95 ± 0.07 เซนติเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Liolios และคณะ (2009) ได้ศึกษาไลโปโซมที่ห่อหุ้ม cavacrol และ thymol ที่สกัดจากน้ำมันหอมระเหยของ *Origanum dictamnus* L. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าไลโปโซมที่มีสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มากกว่าสารสกัดที่ไม่ได้ห่อหุ้ม โดยให้ค่าวงใสในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* *S. epidermidis* *Pseudomonas* sp. และ *E. coli* ของ thymol และ cavacrol หลังห่อหุ้มด้วยไลโปโซมเพิ่มขึ้น 1-4 มม. โดยฤทธิ์การยับยั้งของไลโปโซมขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีระเคมีของไลโปโซม (ส่วนประกอบ, ขนาด และประจุ) รวมถึงส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ มีกลไกการยับยั้งโดยไลโปโซมสามารถทำปฏิกิริยากับเซลล์จุลินทรีย์ได้หลายทิศทาง เช่น แทรกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ (inter-membrane transfer) ปลดปล่อยอย่างใกล้ชิด (contact release) หรือใช้การดูดซับ (absorption) หรือรวมตัว (fusion) หรือการโอบล้อม (phagocytosis) โดยไลโปโซมที่ขึ้นรูปอย่างเหมาะสมช่วยให้สารออกฤทธิ์สามารถขนส่งระหว่างเซลล์ (cellular transport) ได้ดีขึ้น แล้วจึงปลดปล่อยสารออกฤทธิ์นี้ภายในเซลล์จุลินทรีย์ (Shoji and Nakashima, 2004) Rukholm และคณะ (2006) ได้ศึกษาค่ากิจกรรมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity) ของไลโปโซมเจนทาไมซิน (liposomal gentamicin) ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยศึกษากราฟ time-kill พบว่า ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของไลโปโซมเจนทาไมซินมีค่าต่ำกว่ากับเจนทาไมซินที่ไม่ผ่านการกักเก็บ

ในไลโพโซม และไลโพโซมที่มีการกักเก็บมีค่า time-kill ที่ดีกว่าการใช้เจนาทาไมซินที่ไม่ผ่านการกักเก็บ

จากผลการทดลองผลิตไลโพโซมและการประเมินความสามารถของไลโพโซมเอนแคปซูลชั้นของสารสกัดยับยั้งจุลินทรีย์ สามารถคัดเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมได้ คือ ความเข้มข้นของสารละลายเลซิตินร้อยละ 12 โดยน้ำหนักที่สัดส่วนสารต้านจุลินทรีย์ 1:6 เนื่องจาก ไม่มีการแยกชั้นของน้ำและมีความคงตัว มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในเกณฑ์ดี และใช้ปริมาณเลซิตินในปริมาณน้อย

4.3 การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ พลาสติไซเซอร์ และสารสกัดในรูปไลโพโซมสำหรับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกติน

4.3.1 การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของเพกติน และแคลเซียมคลอไรด์ สำหรับขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกติน

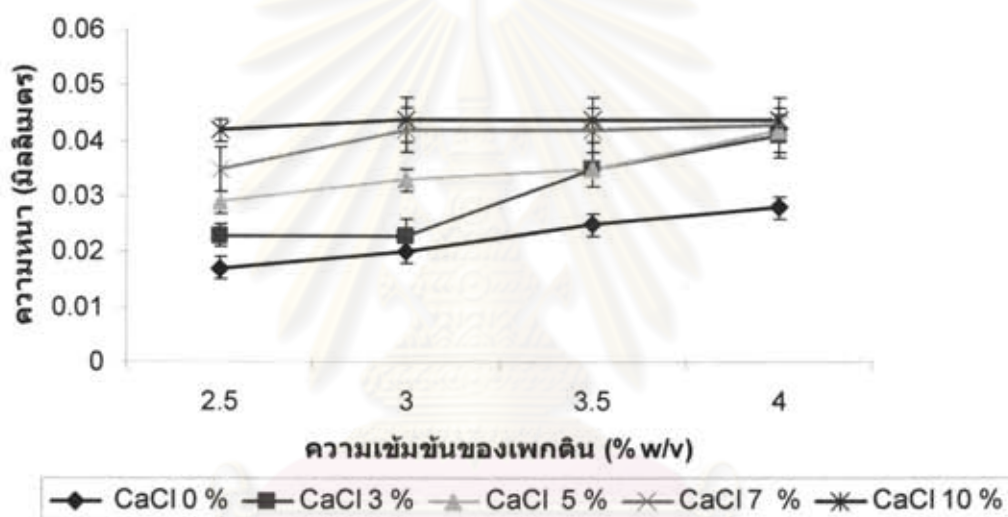
จากการทดลองศึกษาผลของความเข้มข้นของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ โดยแปรสัดส่วนความเข้มข้นเพกตินเป็น 3 ระดับ คือร้อยละ 2.5 3 3.5 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและแคลเซียมคลอไรด์เป็น 4 ระดับ คือร้อยละ 3 5 7 และ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ได้แผ่นฟิล์ม ที่มีลักษณะมีความใส แข็งแรงและมีความยืดหยุ่นเล็กน้อย



รูปที่ 4.11 ลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปได้ คือ ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มหลังจากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B)

4.3.1.1 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มเพกติน

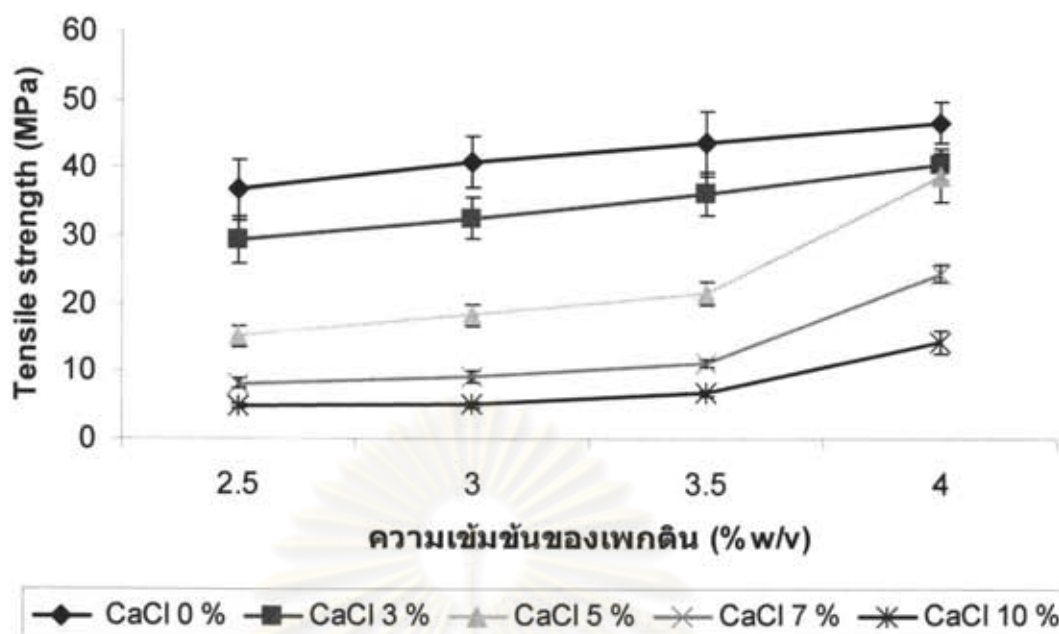
สมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์ม แสดงถึงความแข็งแรง ความสามารถในการยึดตัวก่อนแตกหักและความสามารถต่างๆของแผ่นฟิล์ม ซึ่งเป็นสมบัติที่มีความสำคัญในการบ่งบอกลักษณะของวัสดุในบรรจุภัณฑ์ (Pranoto *et al.*, 2005a) การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มเพกตินที่ผลิตได้จากการแปรค่าความเข้มข้นของเพกติน (ร้อยละ 2.5 3 3.5 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละ 3 5 7 และ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในด้านความหนา ค่าความต้านทานแรงดึงขาด ค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาด และความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ



รูปที่ 4.12 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความหนาของแผ่นฟิล์ม

ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ๑1

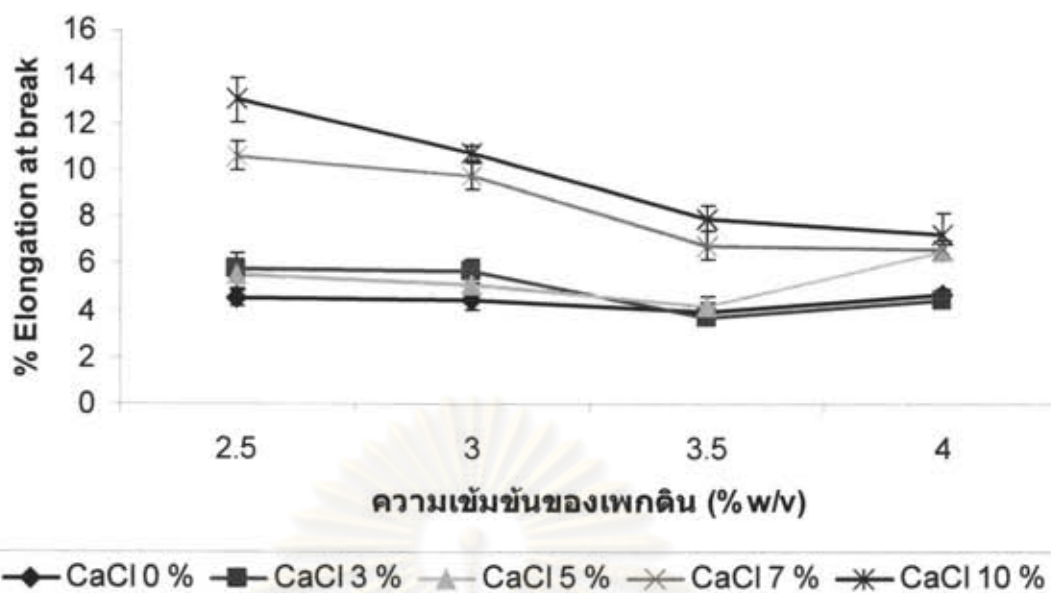
จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์มอยู่ระหว่าง 0.02-0.045 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.12) ซึ่งความหนาของฟิล์มก็ขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย film-forming solution (Cuq *et al.*, 1997) ซึ่งในที่นี้คือ เพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อปริมาณเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นทำให้ค่า storage moduli (G') มีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งมาจากการเกิดจำนวนของ junction zone มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการก่อเจลที่เร็วขึ้น ทำให้สารละลายมีความหนืดมากขึ้น (Norziah *et al.*, 2001) เมื่อขึ้นรูปฟิล์มได้ปริมาณสารที่มากกว่าเป็นผลให้ฟิล์มที่ได้มีความหนามากขึ้น



รูปที่ 4.13 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์ม

ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ค1

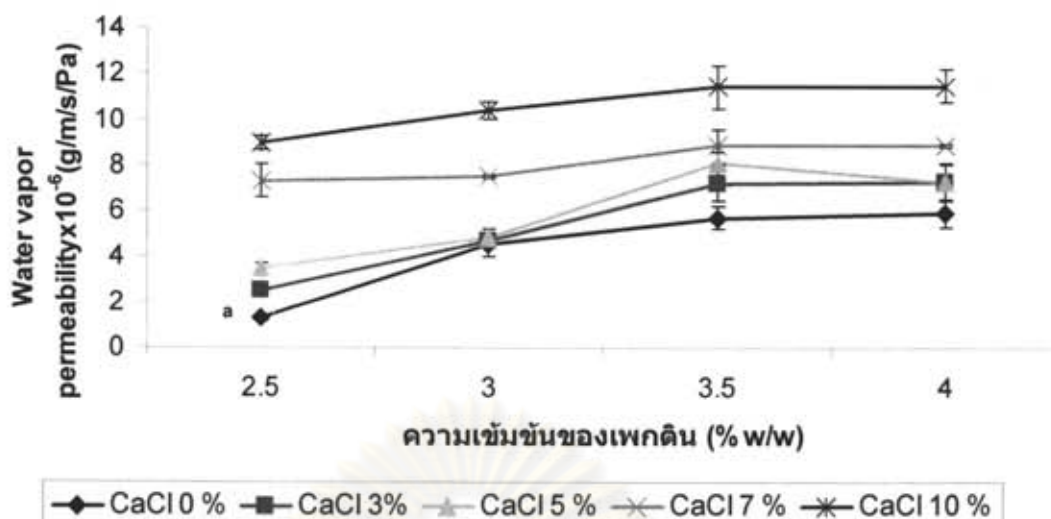
จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยแรงการต้านทานการดึงอยู่ระหว่าง 4.93 – 46.875 MPa เมื่อเพิ่มปริมาณเพกตินในส่วนผสมของสารละลายที่ใช้ขึ้นรูปฟิล์มทำให้ค่าต้านทานแรงดึงของแผ่นฟิล์มมากขึ้น แต่การเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ทำให้ค่าความต้านทานแรงการดึงขาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.13) เนื่องจากเพกตินเป็น gelling agent (McHugh and Senesi, 2000) เมื่อเพิ่มปริมาณเพกตินจึงเป็นผลให้พันธะระหว่างสายโมเลกุลเชื่อมจับกันได้ดีขึ้น ดังนั้นฟิล์มจึงมีความแข็งแรงมากขึ้น และเมื่อพิจารณาจากรูปตัดขวางของโครงสร้างฟิล์มที่ผลิตได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (รูปที่ 4.18 – 4.37) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้น พบว่าฟิล์มที่ผลิตได้มีรอยแตกอยู่ทั่วไปของแผ่นฟิล์ม เนื่องจากเกิดการจับกันของ junction zone มากเกินไป ลักษณะของฟิล์มที่ได้เกิดมีรู (pin hole) เกิดขึ้น ทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงลดลง นอกจากนี้การเติมเกลือแคลเซียมมีมากเกินไป ทำให้เกิดการแทรกแซงขนาดของ cross-link calcium ซึ่งอาจเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงกลของฟิล์มได้ (Sriamornsak and Kennedy, 2006) โดยค่าความต้านทานแรงดึงขาด (Tensile strength) คือความความเครียดที่ใช้ในการดึงฟิล์มจนแผ่นฟิล์มนั้นขาด โดยค่านี้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงระหว่างสายพอลิเมอร์มากกว่าความแข็งแรงภายในสายโซ่ พอลิเมอร์ เมื่อออกแรงดึงฟิล์มจะเป็นการทำลายปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพอลิเมอร์ก่อน แล้วจึงทำลายสายโซ่พอลิเมอร์ในช่วงต่อมาของการดึง (Guilbert, 1986)



รูปที่ 4.14 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม

ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ค1

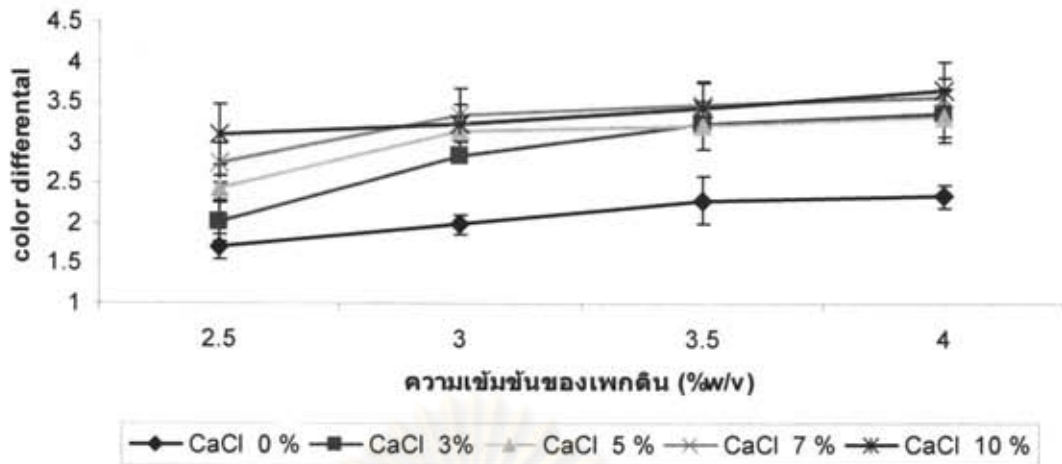
จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยร้อยละการยืดตัวของฟิล์มอยู่ระหว่าง 3.74 - 12.99 เมื่อความเข้มข้นของเพกตินต่ำลงและค่าความเข้มข้นของแคลเซียมสูงขึ้น ทำให้ค่าร้อยละการยืดตัวสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.14) เนื่องมาจากการเพิ่มปริมาณแคลเซียมจะเพิ่มจำนวนของ elastically active chain (Norziah *et al.*, 2001) ทำให้ร้อยละการยืดตัวสูงขึ้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากรูปตัดขวางของโครงสร้างฟิล์มที่ผลิตได้ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (รูปที่ 4.18 - 4.37) พบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมมากขึ้น โครงสร้างของฟิล์มมีลักษณะที่โปร่งพรุนมากกว่า โดยค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาด (% Elongation at break) คือ ร้อยละของระยะทางที่ฟิล์มยืดออกด้วยแรงดึงขาดต่อความยาวเดิม ความยืดตัวของฟิล์มขึ้นอยู่กับระยะทางระหว่างจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล (junction zone) ถ้าระยะห่างของจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลสั้น ร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดจะมีค่าน้อย ฟิล์มมีลักษณะเปราะและไม่ยืดหยุ่น (Guilbert, 1986) โดยทั่วไปแล้ว ค่าความแข็งและความยืดหยุ่นของฟิล์มจากคาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีนมีความสัมพันธ์ผกผันกันระหว่างค่าแรงการต้านทานการดึงและค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์ม (Kang *et al.*, 2005) ซึ่งค่าความต้านทานแรงดึงขึ้นอยู่กับความแข็งแรงระหว่างสายพอลิ-เมอร์ ถ้าค่าความต้านทานแรงดึงมีค่าสูง แสดงว่าความแข็งแรงระหว่างสายพอลิ-เมอร์มีมากขึ้น เพราะเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล (junction zone) มากขึ้น ทำให้ระยะห่างของจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์นั้นสั้น เป็นผลให้ร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง



รูปที่ 4.15 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ค1

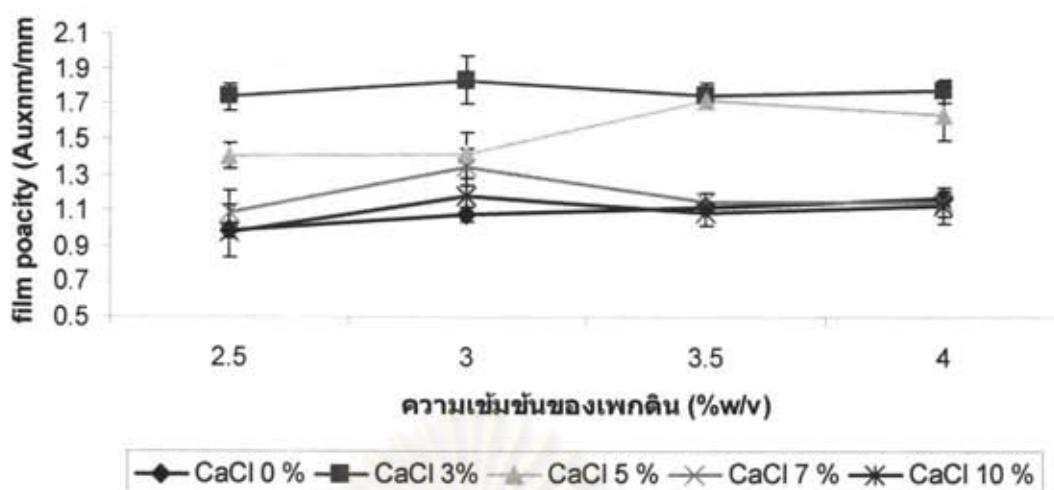
จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยการซึมผ่านของไอน้ำอยู่ระหว่าง 1.256 – 11.458 $\mu\text{g}/\text{m}\cdot\text{s}$ Pa และเมื่อปริมาณเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้น ค่าการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.14) เนื่องจากเพกตินเป็นพวก hydrophilic จึงมีการซึมผ่านของไอน้ำได้สูง (Guilbert, 1986) เมื่อพิจารณาจากรูปตัดขวางของโครงสร้างฟิล์มที่ผลิตได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (รูปที่ 4.18 – 4.37) พบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมมากขึ้น โครงสร้างของฟิล์มมีลักษณะที่โปร่งพรุนมากกว่า และมีรอยแตกในแผ่นฟิล์ม ส่งผลให้ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้มากขึ้น เช่นเดียวกับ โดย Mali และคณะ (2004) ศึกษาสมบัติทางกล ค่าความขุ่น การขวางกั้น (barrier) ของฟิล์มจากแป้งมันแกว พบว่า ฟิล์มมีค่าความสามารถการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้น เมื่อปริมาณแป้งมากขึ้น เนื่องจาก ฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์มีส่วนชอบน้ำ (hydrophilic) สัมพันธ์กับการที่มีหมู่ hydroxyl อิสระในโครงสร้างที่มาก ทำให้เพิ่มการจับกับน้ำมากขึ้น เป็นผลให้ไอน้ำชอบซึมผ่านฟิล์ม โดยค่าความสามารถการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability) คือปริมาณไอน้ำเป็นกรัมที่ซึมผ่านจากผิวหน้าด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ผิวต่อหนึ่งหน่วยความหนาของฟิล์มในระยะเวลาที่กำหนดและภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (Guilbert, 1986) ถ้าฟิล์มมีค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มต่ำ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันความชื้นได้ (Rivero, Gariá and Pinotti, 2009)



รูปที่ 4.16 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าของความต่างของสี (ΔE) ของแผ่นฟิล์ม

ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ค1

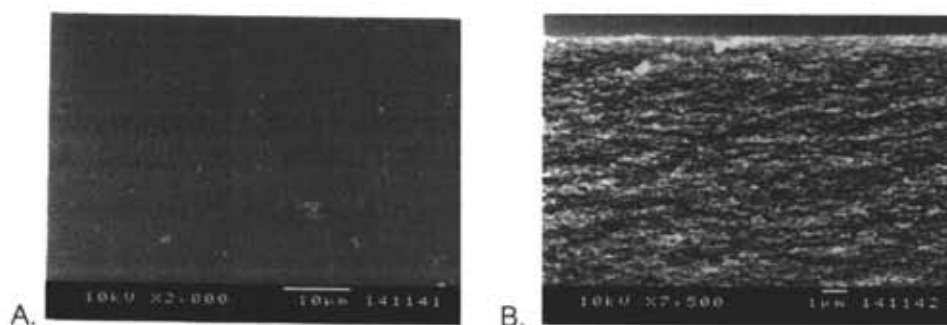
จากการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยความต่างของสี (ΔE) อยู่ระหว่าง 0.017 – 0.045 ฟิล์มมีความแตกต่างของสีเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้น โดยไม่มีความแตกต่างกันที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 7 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรโดยความเข้มข้นของของเพกตินไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.15) โดยค่าสีของฟิล์มที่มีความสำคัญ คือ ค่า L^* ซึ่งแสดงความสว่างของสี และค่า b^* แสดงระดับสีเหลือง-น้ำเงิน เมื่อค่า b^* เป็นค่าบวกแสดงลักษณะสีเหลือง ส่วนค่า a^* แสดงระดับสีแดง-เขียว โดย a^* เป็นค่าบวกแสดงลักษณะสีแดง โดยในทุกสภาวะ(แสดงในภาคผนวก ค) มีค่า L^* (95.033 – 96.09) ที่สูง แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างมากหรือมีความใสมาก มีค่า a^* (0.027 – 0.45) และ b^* (3.01 – 5) อยู่ในช่วงที่ต่ำ และค่า b^* มีค่าสูงกว่าค่า a^* ค่อนข้างมาก แสดงว่า แผ่นฟิล์มมีสีออกเหลืองอ่อนทุกสภาวะการผลิต โดยค่าสีของฟิล์มย่อมมีอิทธิพลต่อการยอมรับของผู้บริโภคต่อบรรจุภัณฑ์หรือวัสดุอื่นๆ (Kunte *et al.*, 1997) ค่าความแตกต่างของสี ถ้ามีค่าน้อยกว่า 3.0 ทำให้ไม่สามารถแยกความต่างของสีโดยสายตามนุษย์ได้ (Francis, 1983) และการที่ค่าความแตกต่างของสีมีค่าที่ต่ำ เป็นข้อดีในการนำไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีความใส (clear packaging) ซึ่งมีความจำเป็นที่ต้องใช้วัสดุที่ไม่มีสี (Lee *et al.*, 2008) เมื่อเปรียบเทียบค่าความต่างของกับฟิล์มชนิดอื่น เช่น ฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองมีค่าความแตกต่างของสี 8.5-11.6 (Kunte *et al.*, 1997) ฟิล์มจากโปรตีนไข่ขาวมีค่าความแตกต่างของสี 1.7-2.3 (Genadios *et al.*, 1996) ฟิล์มผสม HPMC (chitosan/ hydroxypropyl methylcellulose) มีค่าความแตกต่างของสี 0.52-1.18 (Rotta *et al.*, 2009)



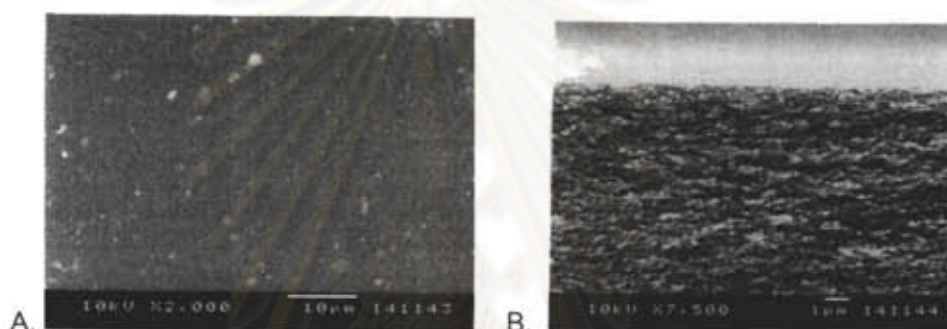
รูปที่ 4.17 ผลของความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม
ค่าความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ ค1

จากการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.921 – 2.99 Au x nm/ μ m ค่าความขุ่นลดลงเมื่อและแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.17) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มทางการค้า เช่น low-density polyethylene (3.05 A600/mm) หรือ oriented polypropylene (1.67 A600/ mm) (Zhang and Han, 2006) พบว่าฟิล์มที่ผลิตได้มีค่าใกล้เคียงกับฟิล์มทางการค้าทั้งสองชนิด ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ โดยค่าความขุ่นของฟิล์มเป็นค่าที่มีความสำคัญ (critical property) ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่น่าไปประยุกต์ใช้กับบรรจุภัณฑ์ โดยเฉพาะถ้าแผ่นฟิล์มถูกใช้ในการเคลือบผิวหน้าอาหารหรือเพื่อการปรับปรุงลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ (Rivero *et al.*, 2009) และเนื่องจากปัจจุบันมีความต้องการวัสดุที่มีความขุ่นต่ำและมีความใสเพื่อนำมาใช้บรรจุภัณฑ์ที่ต้องการความใส (clear packaging) เพื่อที่จะได้มองเห็นตัวผลิตภัณฑ์หรือสินค้าได้ง่าย (Lee *et al.*, 2008)

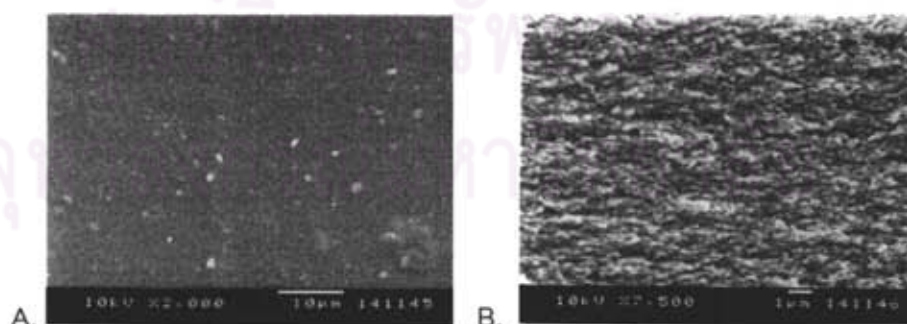
จากนั้นนำฟิล์มที่ได้จากแต่ละสภาวะมาการตรวจสอบลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของฟิล์มเพกติน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของฟิล์มเพกติน



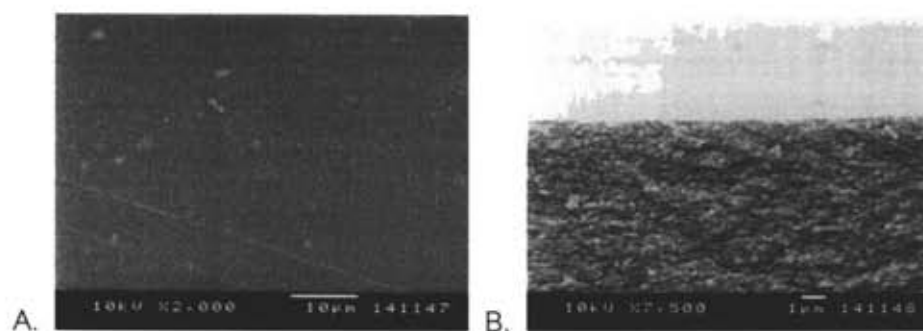
รูปที่ 4.18 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ)



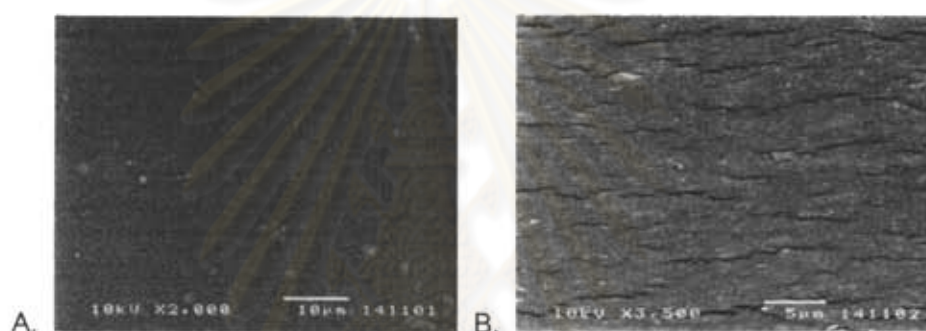
รูปที่ 4.19 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ)



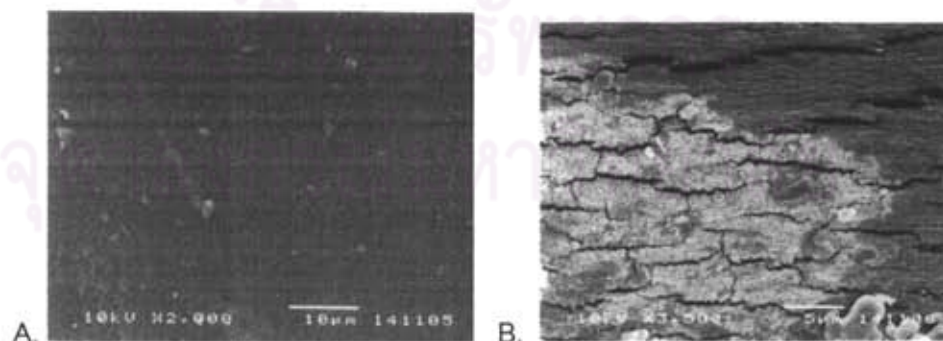
รูปที่ 4.20 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ)



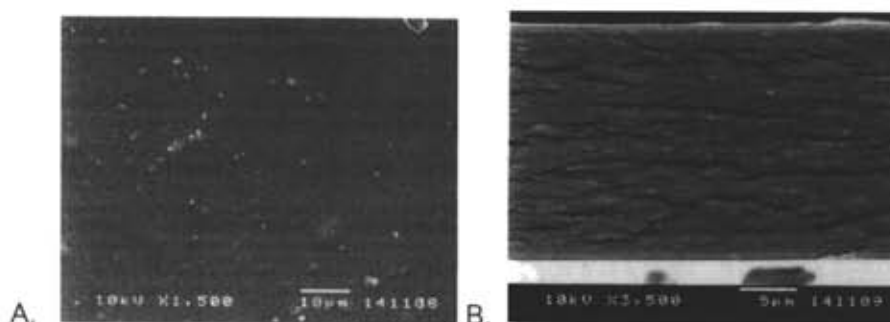
รูปที่ 4.21 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 7,500 เท่าตามลำดับ)



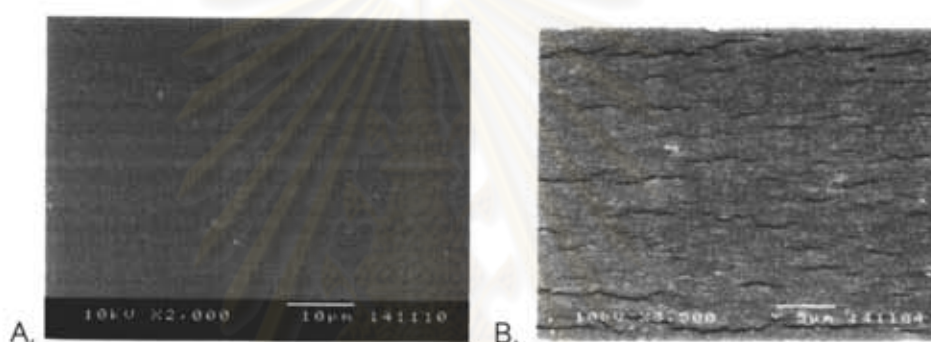
รูปที่ 4.22 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



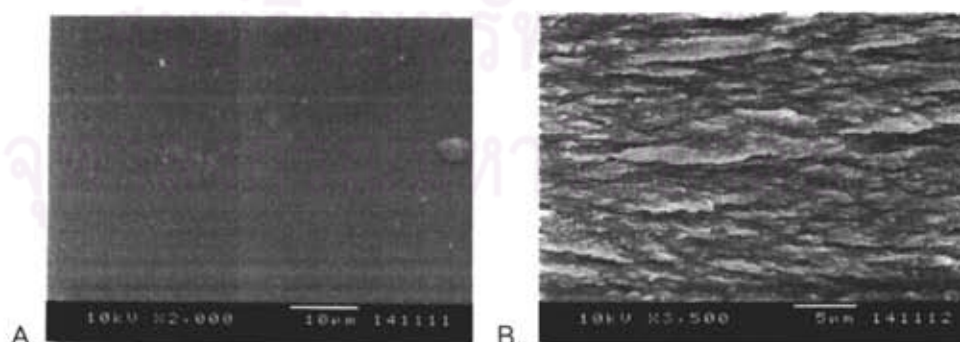
รูปที่ 4.23 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



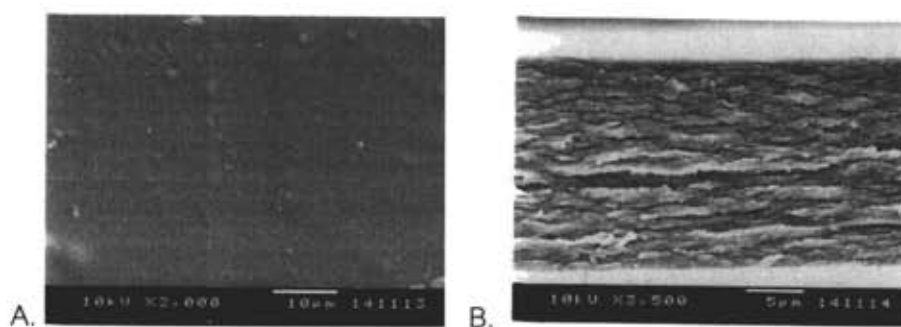
รูปที่ 4.24 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 1,500 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



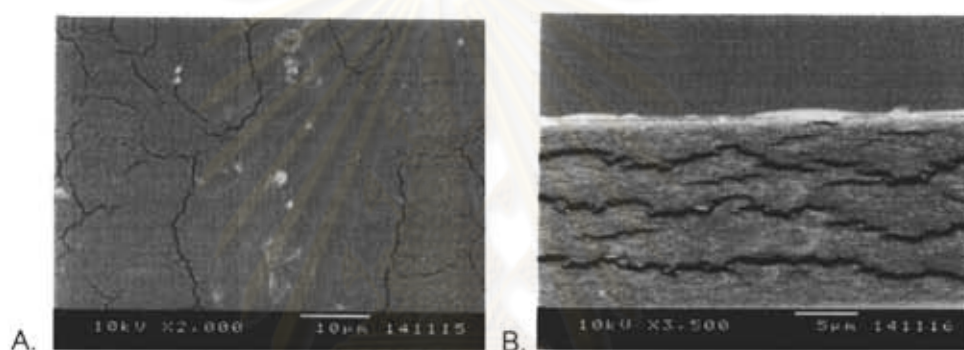
รูปที่ 4.25 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



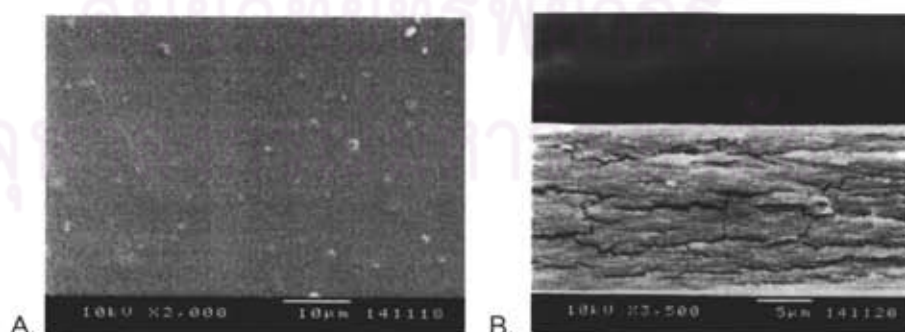
รูปที่ 4.26 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



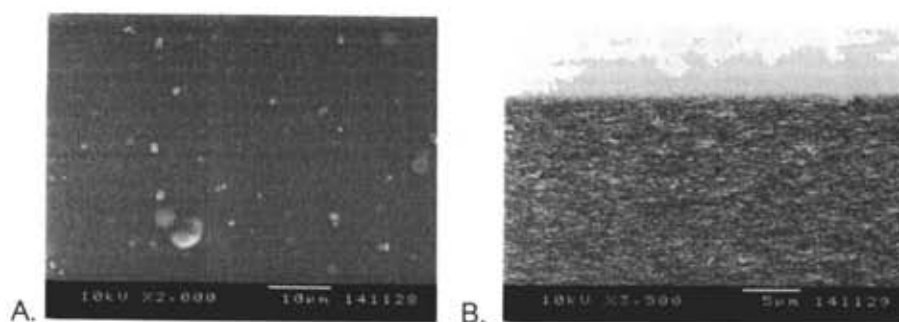
รูปที่ 4.27 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



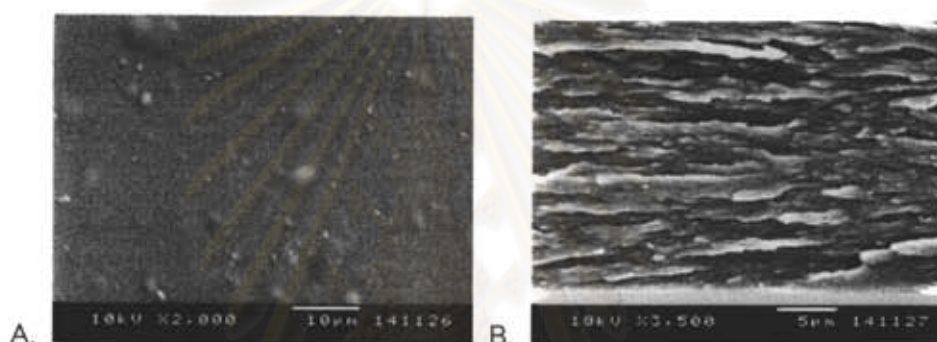
รูปที่ 4.28 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



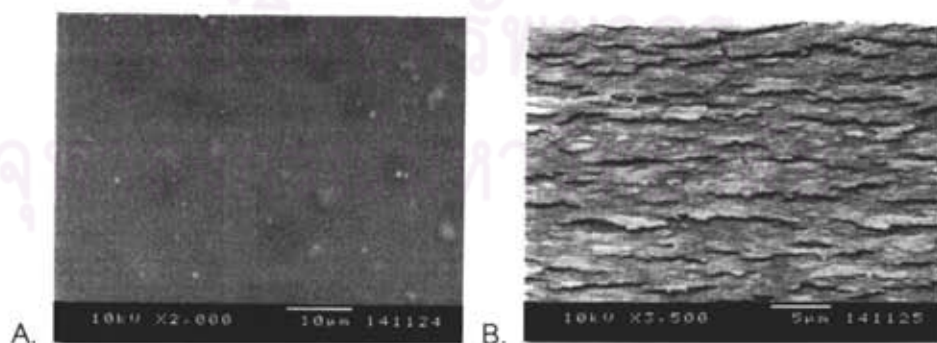
รูปที่ 4.29 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



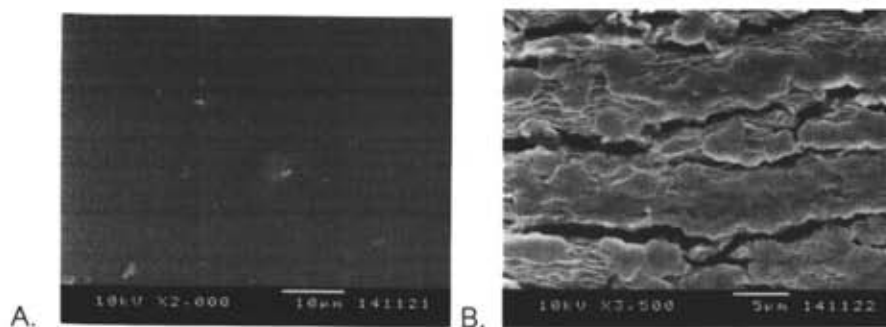
รูปที่ 4.30 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



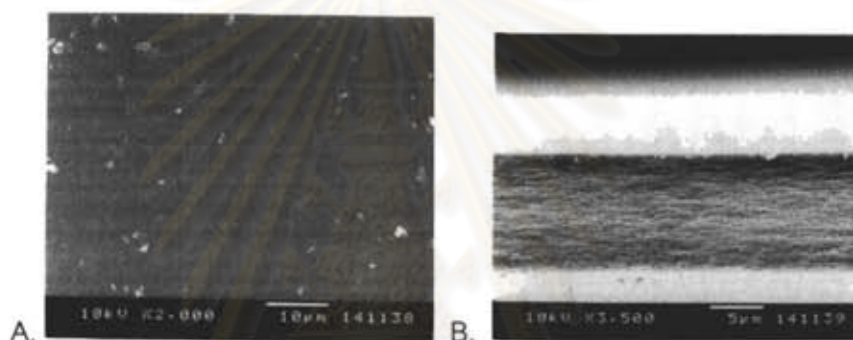
รูปที่ 4.31 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



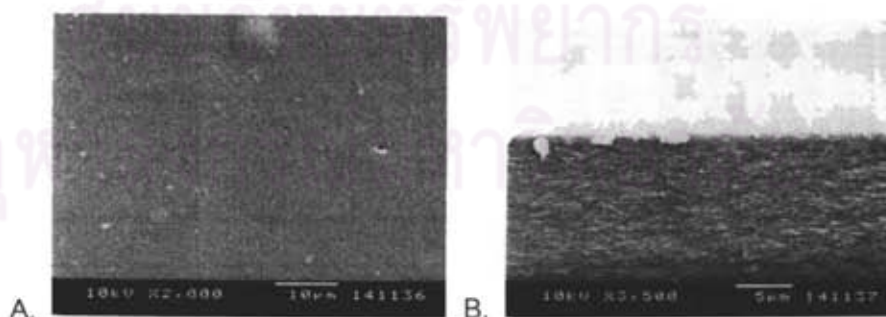
รูปที่ 4.32 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



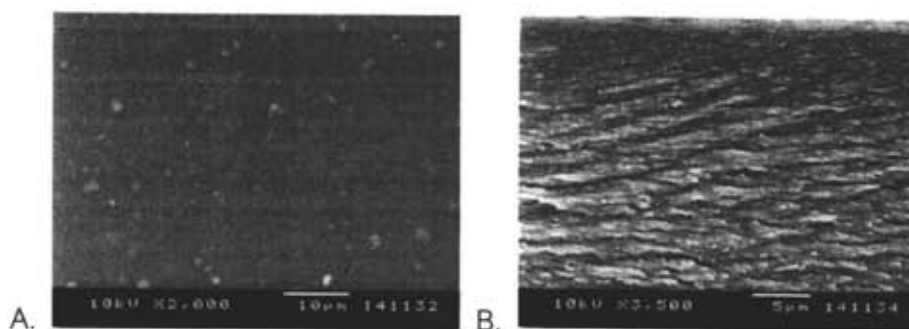
รูปที่ 4.33 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



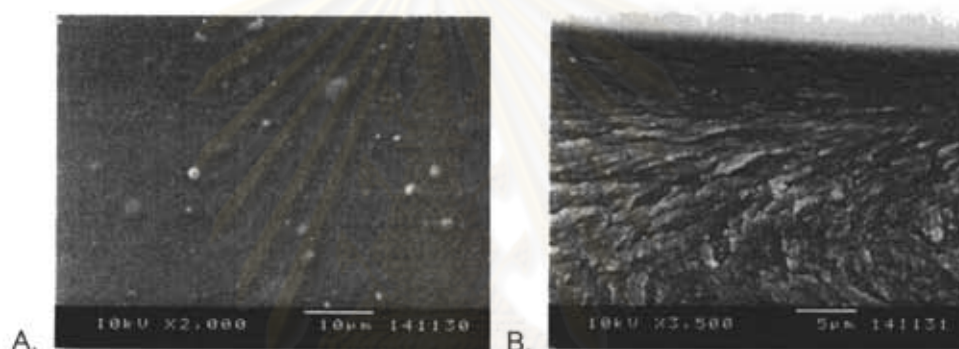
รูปที่ 4.34 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.35 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.36 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.37 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร(ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)

จากรูปถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.18 – 4.37) พบว่า ลักษณะของฟิล์มที่ผลิตได้มีผิวที่เรียบดี และเมื่อพิจารณารูปตัดขวางพบว่า เนื้อฟิล์มมีความต่อเนื่อง สม่ำเสมอ และมีความพรุนน้อย สังเกตได้ว่าพบรอยแตกมีอยู่ทั่วไปในเนื้อฟิล์ม โดยรอยแตกมีมากขึ้น และโครงสร้างฟิล์มหลวมขึ้นเมื่อปริมาณความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์มากขึ้น และเมื่อปริมาณความเข้มข้นเพกตินมากขึ้น รอยแตกของฟิล์มมีน้อยลงและโครงสร้างฟิล์มแน่นขึ้น

Guilbert และคณะ (1996) รวบรวมการศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารที่เสื่อมเสียได้ง่าย โดยใช้ฟิล์มชีวภาพย่อยสลายได้ (biodegradable film) พบว่า สมบัติทางกลของฟิล์มขึ้นอยู่กับชนิดของสารก่อฟิล์ม และแรงโคฮีชัน (แรงระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วย

กันเอง เกิดขึ้นระหว่างการเกิดฟิล์มทำให้เกิดการเชื่อมตัวของผิววัตถุเดียวกัน) ระดับของแรงโคฮีชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างและสมบัติทางเคมีของพอลิเมอร์ เช่น น้ำหนักโมเลกุล โดยทั่วไปฟิล์มที่ดีต้องมีความทนทานต่อการแตกและการสึกกร่อนหรือการขูดขีด (โครงสร้างที่แข็งแรงสำหรับการบรรจุอาหารหรือป้องกันอาหาร) และมีความยืดหยุ่น (เพื่อปรับใช้กับการบรรจุอาหารโดยไม่แตกหัก)

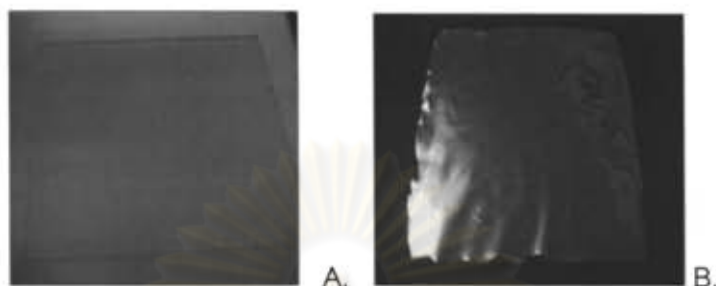
สภาวะฟิล์มที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้ที่สภาวะ คือ ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ และความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากมีค่าต้านทานแรงดึงขาดและค่าร้อยละการยืดตัวที่สูง ค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ และให้ค่าความแตกต่างของสีและค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์มในเกณฑ์ยอมรับได้

4.3.2 การศึกษาผลของชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆ ของฟิล์มเพกติน

4.3.2.1 การผลิตฟิล์มจากเพกตินโดยใช้ชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอร์ต่างกัน

จากการทดลองศึกษาผลของความเข้มข้นของเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ โดยไม่มีการเติมพลาสติกไซเซอร์ สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ แต่ฟิล์มที่ผลิตได้มีความเปราะ ไม่มีความสามารถในการยืดตัว ดังนั้นการเติมพลาสติกไซเซอร์ช่วยให้สมบัติของฟิล์มดีขึ้น โดยสภาวะฟิล์มที่คัดเลือกได้ คือ ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ และความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นอย่างละ 3 ระดับ คือร้อยละ 40 50 และ 60 โดยน้ำหนักของเพกตินที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มต่อสมบัติของแผ่นฟิล์ม (Choi and Han, 2001) พลาสติกไซเซอร์ทำให้แรงระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันอ่อนลง โดยพลาสติกไซเซอร์จะแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์ทำให้พันธะไฮโดรเจนหรือพันธะอื่นๆระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ถูกหักล้างไป ทำให้

ความแข็งแรงพันธะระหว่างสายโซ่โมเลกุลลดลงและสายโซ่พอลิเมอร์เคลื่อนที่ได้มากขึ้น (Donhowe and Fennema, 1994) จากการทดลอง พบว่า แผ่นฟิล์มมีลักษณะทั่วไปคือ เป็นแผ่นที่มีพื้นผิวต่อเนื่องตลอดทั้งแผ่น ไม่มีรูพรุนหรือรอยแยกที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โปร่งแสง ลักษณะเนื้อสัมผัสอ่อน ยืดหยุ่นพอสมควร ลอกออกจากแม่พิมพ์ได้ง่าย

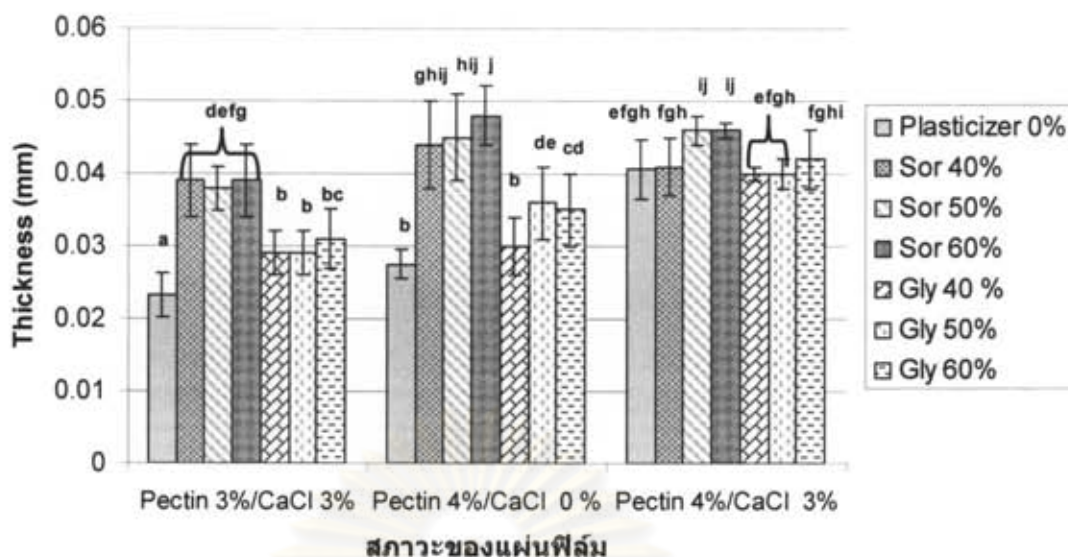


รูปที่ 4.38 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเพกตินที่เติมพลาสติกไซเซอรที่ขึ้นรูปได้ คือ ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มภายหลังจากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B)

4.3.2.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มเพกตินเพกติน โดยใช้ชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอรต่างกัน

วิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มเพกตินในสภาวะที่คัดเลือกได้ และแปรปริมาณ พลาสติกไซเซอร คือ ซอร์บิทอลและกลีเซอรอล ที่ปริมาณร้อยละ 40-60 โดยน้ำหนักของเพกตินที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์ม ในด้านความหนา ค่าความต้านทานแรงดึงขาด ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาด ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ค่าความแตกต่างของสี และค่าความขุ่น ดังแสดงในรูปที่ 4.39-4.44

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

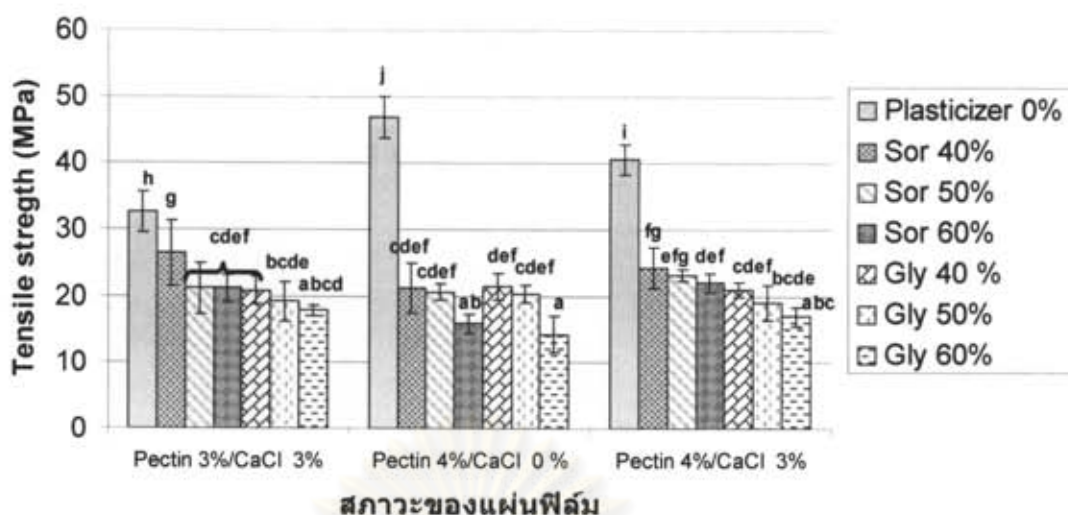


รูปที่ 4.39 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าความหนาของแผ่นฟิล์ม

a,b,c,d,e,f,g,h,i,j ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.39 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์มจากสัดส่วนต่างกันอยู่ระหว่าง 0.03-0.048 มิลลิเมตร ซึ่งฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลให้ค่าความหนาที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าความหนาของแผ่นฟิล์มเพกตินที่เติม พลาสติกไซเซอร์มีความหนามากกว่าแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้เติมพลาสติกไซเซอร์เล็กน้อย ทำให้ลอกออกจากพิมพ์ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากความหนาของฟิล์มขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำทั้งหมดที่ใช้ผลิตแผ่นฟิล์ม ซึ่งในที่นี้คือ เพกติน แคลเซียมคลอไรด์ และพลาสติกไซเซอร์ที่ใช้ (Cuq *et al.*, 1997) นอกจากนี้ทั้งกลีเซอรอลและซอร์บิทอลมีสมบัติในการอุ้มน้ำและจับกับน้ำได้ดีทำให้แผ่นฟิล์มมีความหนามากขึ้น (Shaw *et al.*, 2002)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

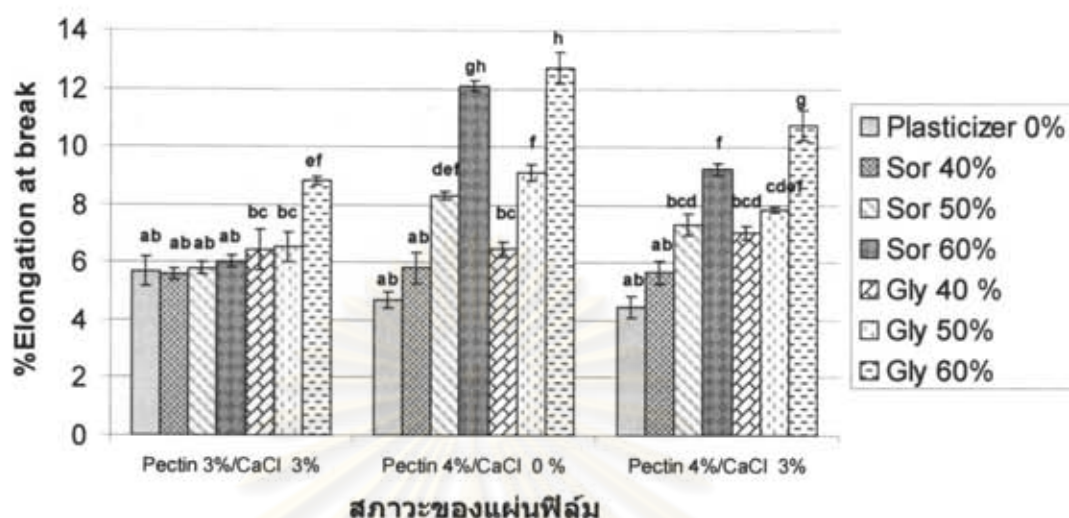


รูปที่ 4.40 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าความต้านทานแรงดึง-
ขาดของแผ่นฟิล์ม

a,b,c,d,e,f,g,h,i,j ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.40 แสดงค่าเฉลี่ยความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) จากสัดส่วนต่างกัน มีค่าอยู่ระหว่าง 14.29 – 26.44 MPa ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มเพกตินที่เติมพลาสติกไซเซอร์มีน้อยกว่าแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้เติมพลาสติกไซเซอร์และเมื่อเพิ่มปริมาณ พลาสติกไซเซอร์มากขึ้นทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ โดยฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลให้ค่าความต้านทานการดึงขาดที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากการทำงานของพลาสติกไซเซอร์ที่เข้าไปแทรกระหว่างสายเพกติน ทำให้ลดการเกิด polymer interaction (Shaw *et al.*, 2002) หรือการที่พลาสติกไซเซอร์ที่เป็น polyol มีสายโซ่เปิด (open chain) ที่เป็น OH group ไปแย่งจับกับแคลเซียมคลอไรด์ ลดการเกิดของปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล (junction zone) เป็นผลให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดลดลง (Fu and Rao, 1999) เนื่องจากค่านี้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงระหว่างสายพอลิเมอร์ (polymer – polymer interaction) (Guilbert, 1986) ดังนั้นถ้าลดการเกิดของปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล (junction zone) ทำให้ polymer – polymer interaction ลดลง ปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มลดลง เนื่องจากพลาสติกไซเซอร์ที่มีปริมาณมากขึ้นที่เข้าไปแทรกระหว่างสายเพกตินทำให้ polymer - polymer interaction ต่ำลงเรื่อยๆ ค่าความต้านทานแรงดึงขาดจึงลดลงอีก (Donhowe and Fennema, 1994) และฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลให้ค่าความต้านทานการดึงขาดที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน เนื่องมาจากน้ำหนักโมเลกุลของซอร์บิทอล (น้ำหนักโมเลกุล 182) มีมากกว่าน้ำหนักโมเลกุลของกลีเซอรอล (น้ำหนักโมเลกุล 92) เกือบสองเท่า

โดยพลาสติกไซเซอรที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าทำให้ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอรที่ต่ำกว่าน้ำหนักโมเลกุลที่สูงกว่า (Cuq *et al.*, 1997)

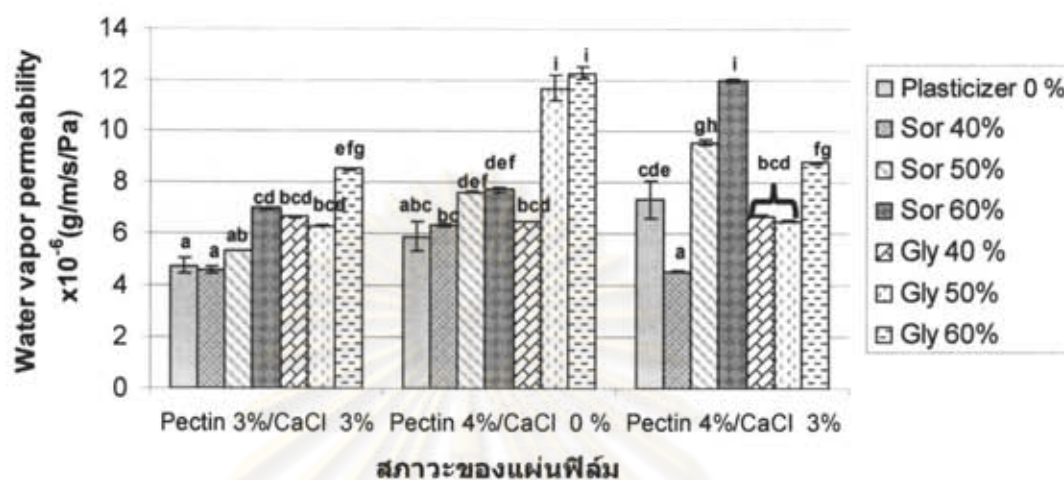


รูปที่ 4.41 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าร้อยละการยืดตัวของแผ่นฟิล์ม

a,b,c,d,e,f ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.41 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการยืดตัวของฟิล์มจากสัดส่วนต่างก็มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 5.6 - 12.69 ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มเพกตินที่เติมพลาสติกไซเซอรมีค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มมากกว่าแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้เติมพลาสติกไซเซอร และเมื่อเติมปริมาณพลาสติกไซเซอรมากขึ้น ทำให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากการทำงานของพลาสติกไซเซอรที่เข้าไปแทรกระหว่างสายเพกติน ทำให้ลดการเกิด polymer interaction โดยโมเลกุลของพลาสติกไซเซอรไปจับกับน้ำทำหน้าที่กันสายพอลิเมอร์ออกจากกัน ทำให้ระยะทางระหว่างสายพอลิเมอร์แยกออกจากกัน เกิด free volume และการเคลื่อนที่ของสายพอลิเมอร์ (chain mobility) มากขึ้น ทำให้ฟิล์มยืดตัวได้มากขึ้นด้วย เป็นผลให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มจึงมากขึ้น ซึ่งฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน เนื่องจากกลีเซอรอลมีสมบัติในการจุ่มน้ำได้ดีกว่าซอร์บิทอล เป็นผลให้มีการดูดซับน้ำไว้ใน film matrix และทำให้เกิด free volume การเคลื่อนที่ของสายพอลิเมอร์ (chain mobility) มากขึ้นกว่า ดังนั้นค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มจึงเพิ่มขึ้น (Mali *et al.*, 2005)

จากตารางที่ 2.3 แสดงให้เห็นว่าการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ทำให้ค่าร้อยละการยึดตัวของแผ่นฟิล์มมีมากกว่าฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอล ในขณะที่เดียวกันการใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มเพิ่มมากขึ้น

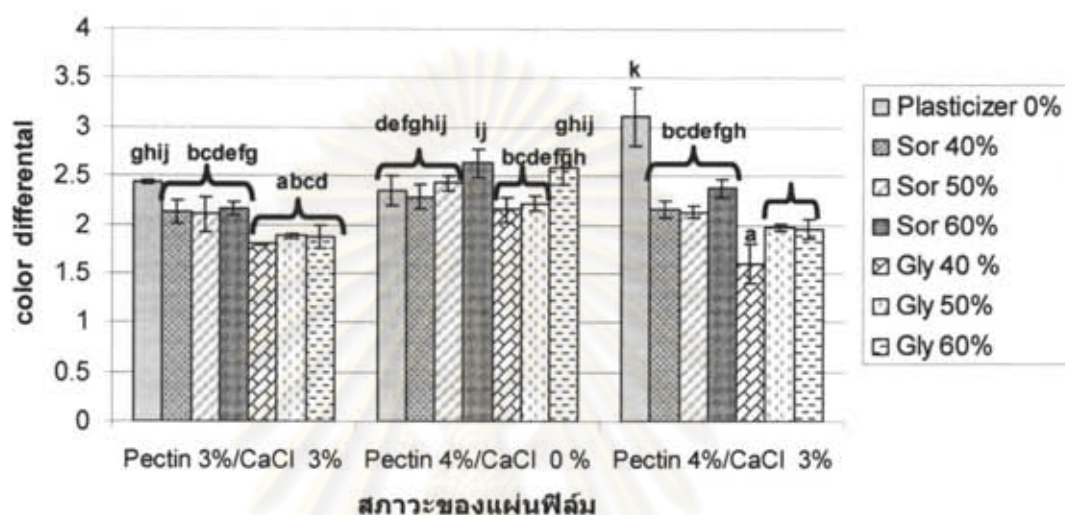


รูปที่ 4.42 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

a,b,c,d,e,f,g,h,i ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.42 แสดงค่าเฉลี่ยความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มจากสัดส่วนต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 4.58 – 12.3 $\mu\text{g}/\text{ms Pa}$ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าเมื่อเติมปริมาณพลาสติกไซเซอร์มากขึ้น ทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ และฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากพลาสติกไซเซอร์ไปเพิ่ม intermolecular spacing และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านสูงขึ้น (Mchugh, Aujard and Krochta, 1994; Talja *et al.*, 2007) รวมถึงพลาสติกไซเซอร์ที่เป็น polyol ที่อุ้มน้ำและยังคงลักษณะนั้นไว้ในฟิล์ม ฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มที่มากกว่าฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน เนื่องมาจากกลีเซอรอลมีสมบัติการชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้ชอบในการดูดซับความชื้นได้มากกว่าซอร์บิทอล (Gontard *et al.*, 1993) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากรูปตัดขวางของโครงสร้างฟิล์มที่ผลิตได้ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (รูปที่ 4.45 – 4.62) พบว่า ฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้โครงสร้างฟิล์มที่โปร่งกว่าฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลที่มีลักษณะของโครงสร้างของฟิล์มที่แน่นและทึบกว่า มีผลให้ทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำน้อยกว่าฟิล์ม (Park

and Zhao, 2006) นอกจากนี้ Talja และคณะ (2007) พบว่าค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มยังขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลของพลาสติกไซเซอร์ ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มลดลง เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของพลาสติกไซเซอร์สูงขึ้น โดยน้ำหนักโมเลกุลของซอร์บิทอล (น้ำหนักโมเลกุล 182) มีมากกว่าน้ำหนักโมเลกุลของกลีเซอรอล (น้ำหนักโมเลกุล 92) เป็นผลให้ฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มที่มากกว่าซอร์บิทอล

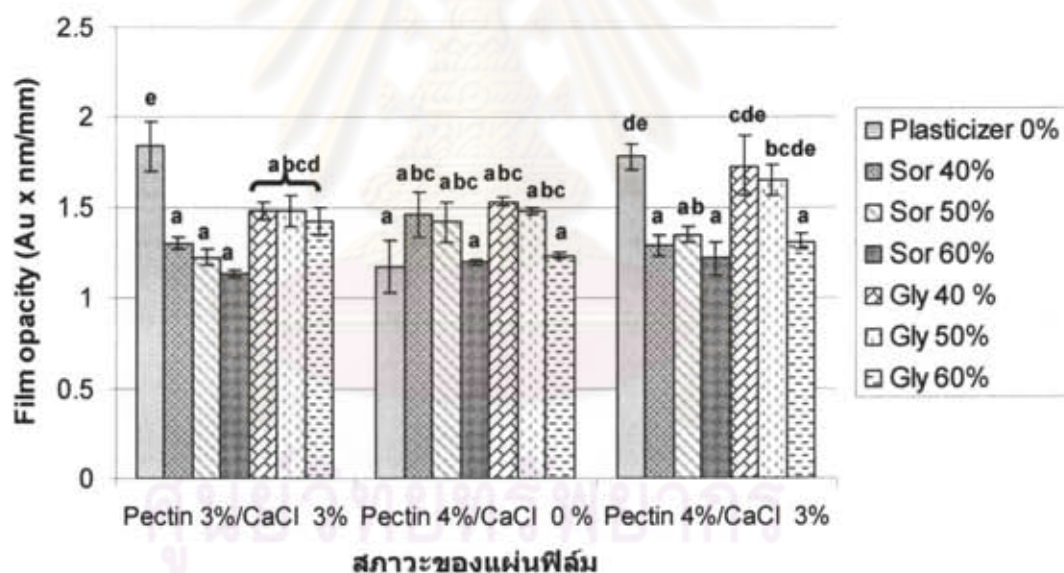


รูปที่ 4.43 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าของความต่างของสี (ΔE) ของแผ่นฟิล์ม

a,b,c,d,e,f,g,h,i,j ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.43 แสดงค่าเฉลี่ยความต่างของสี (ΔE) ของแผ่นฟิล์มจากสัดส่วนต่างกันอยู่ระหว่าง 1.59 – 2.76 ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าฟิล์มที่เติมพลาสติกไซเซอร์มีค่าความต่างของสีที่น้อยกว่าฟิล์มที่ไม่เติมพลาสติกไซเซอร์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ในกรณีของฟิล์มที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลหรือกลีเซอรอลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ โดยในทุกสถานะฟิล์ม (แสดงในภาคผนวก ค) ให้ค่า L^* สูง (ฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลอยู่ระหว่าง 95.751 – 96.374 และฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลอยู่ระหว่าง 95.921 – 96.603) ค่า a^* (ฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลอยู่ระหว่าง 0.0102 - 0.0482 และฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลอยู่ระหว่าง 0.0126 – 0.0413) และค่า b^* (ฟิล์มที่ผสมซอร์บิทอลอยู่ระหว่าง 3.122 - 4.244 และฟิล์มที่ผสมกลีเซอรอลอยู่ระหว่าง 3.363 – 4.371) โดยค่า L^* ซึ่งแสดงความสว่างของสี และค่า b^* แสดงระดับสีเหลือง- น้ำเงิน เมื่อค่า b^* เป็นค่าบวกแสดงลักษณะสีเหลือง ส่วนค่า a^* แสดง

ระดับสีแดง-เขียว โดย a^* เป็นค่าบวกลักษณะสีแดง โดยในทุกสภาวะมีค่า L^* สูง แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างมาก หรือมีความใสมาก มีค่า a^* และค่า b^* อยู่ในช่วงที่ต่ำ ซึ่งค่า b^* มีค่าสูงกว่าค่า a^* ค่อนข้างมาก แสดงว่าฟิล์มมีสีออกเหลืองอ่อนทุกสภาวะในการผลิต ที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ค่าความต่างของสีมากกว่าฟิล์มที่เติมพลาสติกไซเซอร์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากพลาสติกไซเซอร์ที่ผสมลงไปมีความใส และขาว จึงสามารถช่วยลดค่าความต่างของสีลงได้ นอกจากนี้ Rotta และคณะ (2009) ศึกษาปัจจัยของค่าสี ค่าความขุ่น การละลายน้ำของฟิล์มไคโตซานและไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (HPMC) ที่มีซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ พบว่า ค่าสีแสดงถึงการให้ความสำคัญกับผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้ร่วมกับฟิล์ม ถ้าค่าความต่างของสีมีค่าต่ำ แสดงว่าฟิล์มที่ได้ไม่มีสี (discolored film) อาจเนื่องมาจากการขาด polymer – polymer interaction เป็นผลให้ฟิล์มมีความสว่างและโปร่งแสงมาก และค่า L^* ที่สูง แสดงว่าฟิล์มมีความสว่าง สมบัติในการเปล่งแสง (luminosity) และมีความโปร่งใสที่สูง

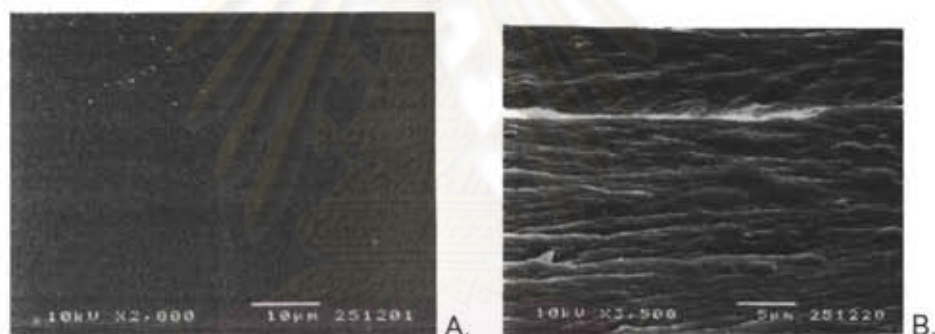


รูปที่ 4.44 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซอร์บิทอลและกลีเซอรอลกับค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม
a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.44 แสดงค่าเฉลี่ยความขุ่นของแผ่นฟิล์มจากสัดส่วนต่างกัน ให้ค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 1.22 – 1.73 Au x nm/ μ m ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ฟิล์มที่เติมพลาสติกไซเซอร์มีค่าความขุ่นน้อยกว่าฟิล์มที่ไม่เติมพลาสติกไซเซอร์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ในกรณีของฟิล์มที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 3 และ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3

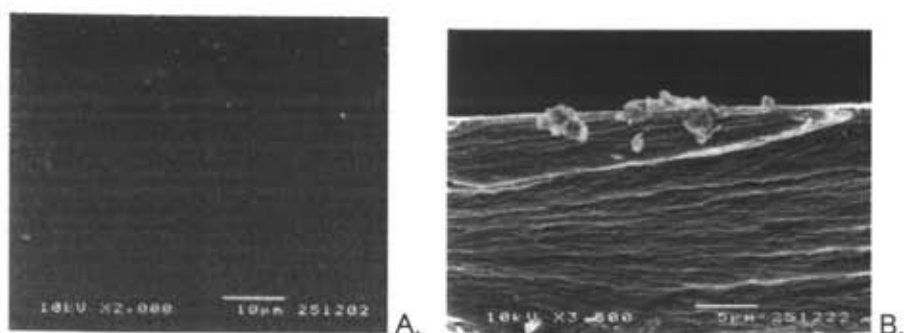
โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลหรือกลีเซอรอลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ซึ่งค่าความซุ่นเป็นสมบัติที่สำคัญในการพิจารณา หากฟิล์มนำไปใช้ห่อหุ้มหรือเคลือบอาหาร ถ้าค่าความซุ่นมีค่าต่ำ แสดงว่า ฟิล์มที่ได้มีความโปร่งใส (Mali *et al.*, 2004)

เมื่อศึกษาวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของฟิล์มเพกติน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยมีลักษณะของฟิล์ม คือ เพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ และเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรโดยศึกษาผลของความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 50 และ 60 โดยน้ำหนักของเพกตินที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์ม พบลักษณะพื้นผิวและโครงสร้าง ดังแสดงในรูปที่ 4.45-4.62

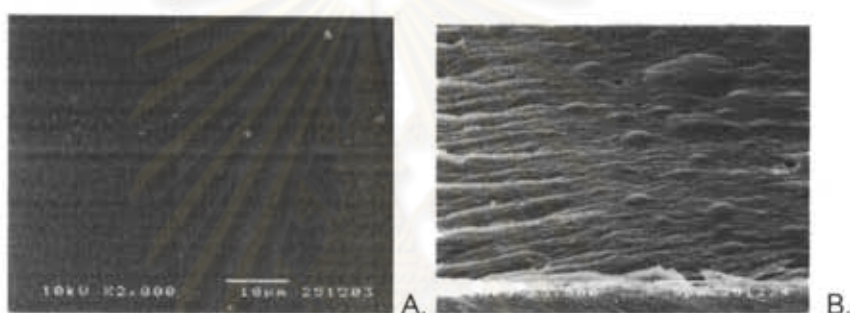


รูปที่ 4.45 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)

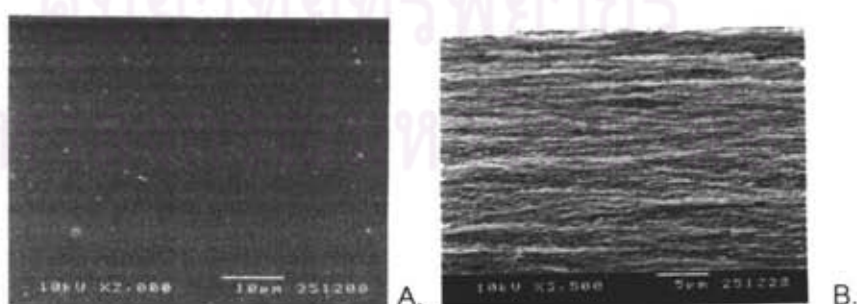
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



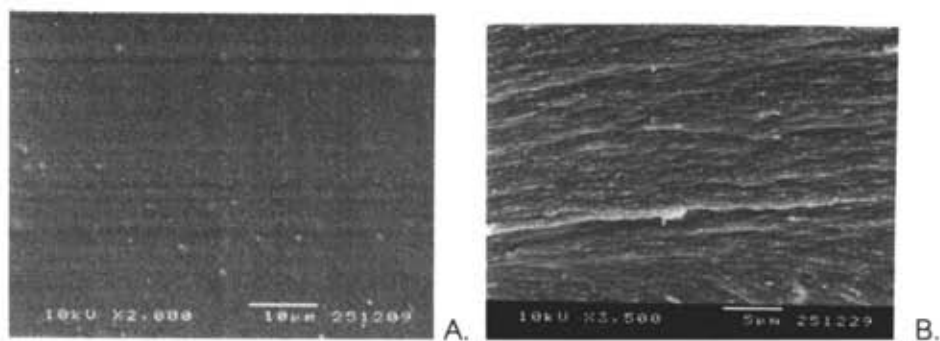
รูปที่ 4.46 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)



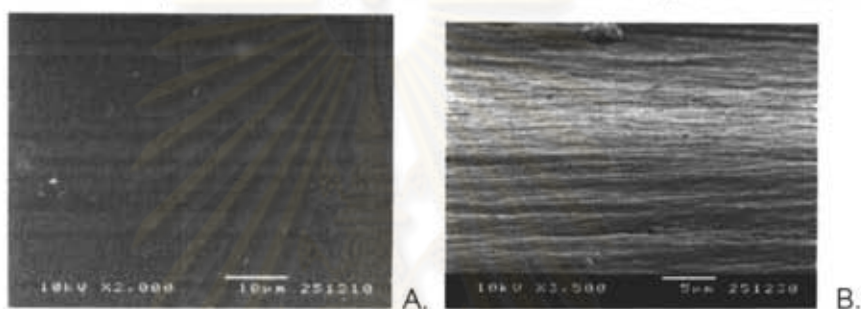
รูปที่ 4.47 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)



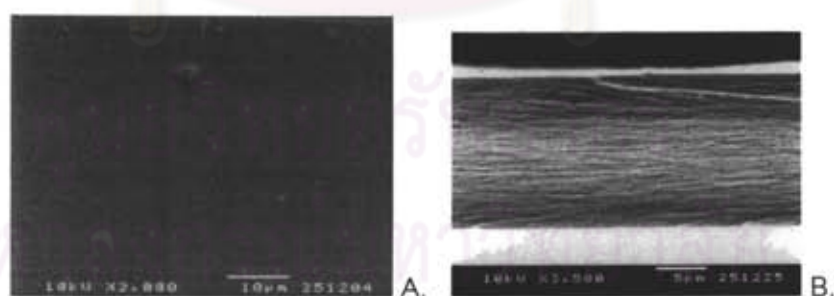
รูปที่ 4.48 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)



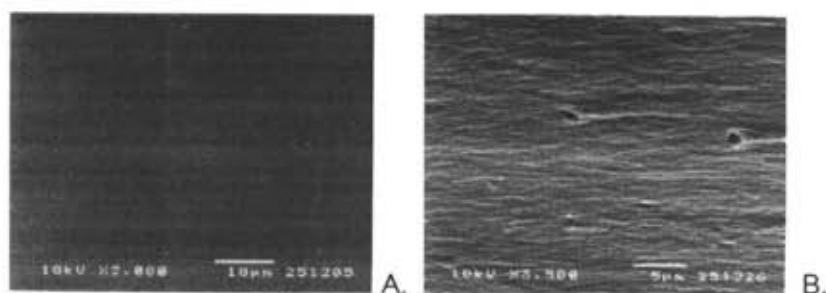
รูปที่ 4.49 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



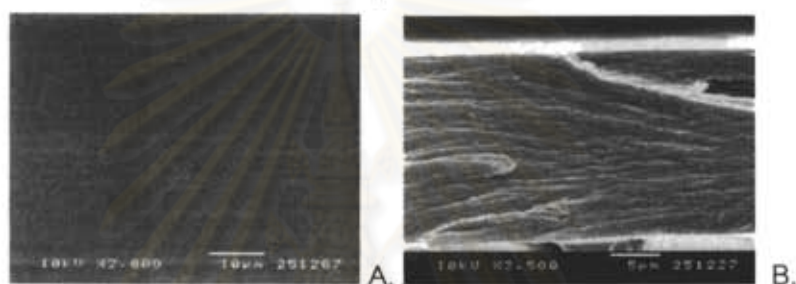
รูปที่ 4.50 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกติน 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ที่ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



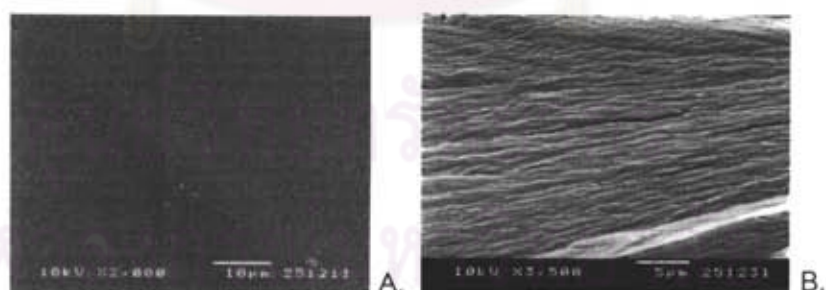
รูปที่ 4.51 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 1,500 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



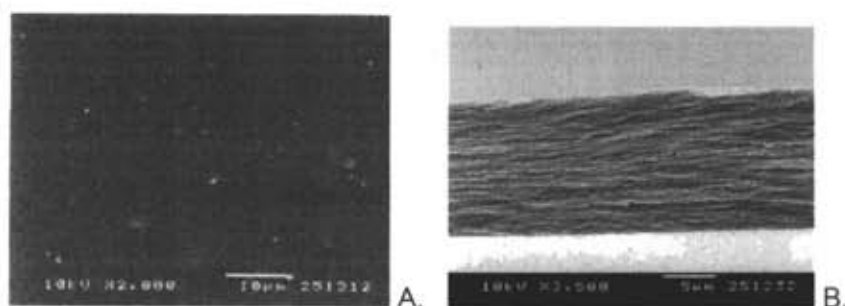
รูปที่ 4.52 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



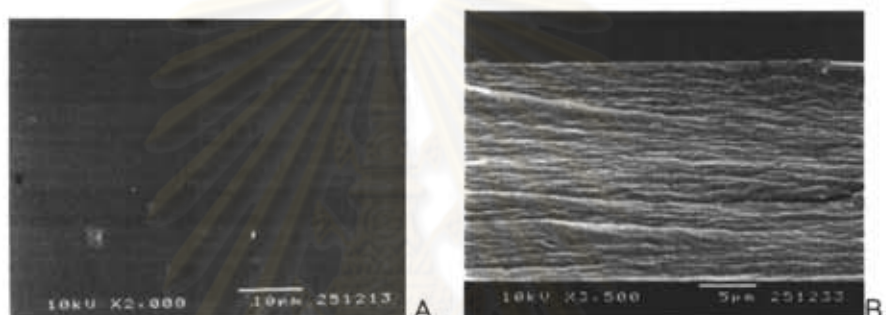
รูปที่ 4.53 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ใช้ซอร์บิทอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



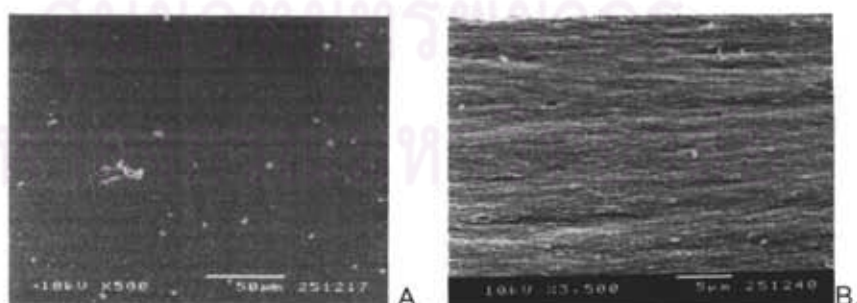
รูปที่ 4.54 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้กลีเซอรอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



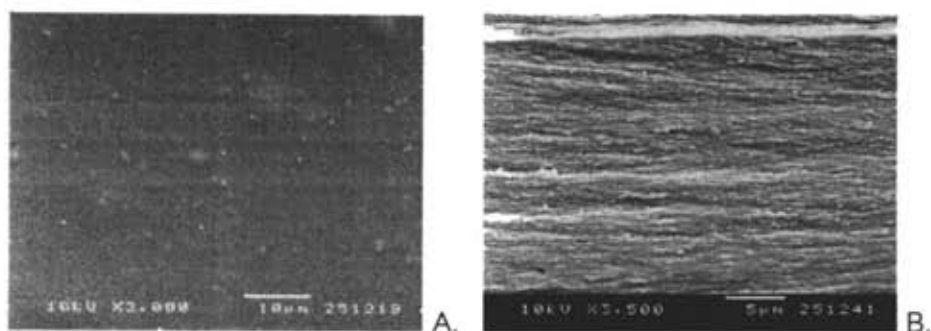
รูปที่ 4.55 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



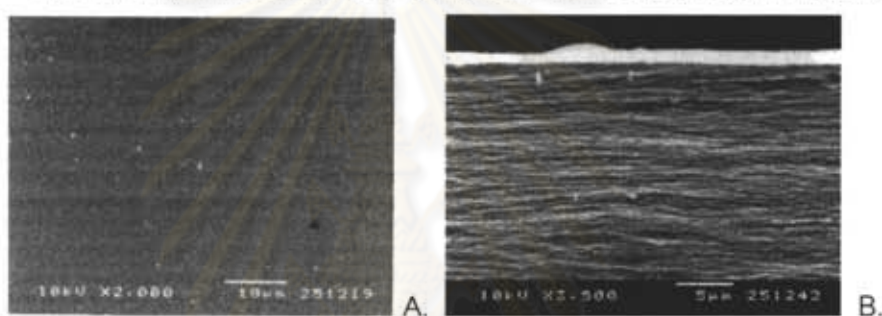
รูปที่ 4.56 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้กลีเซอรอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



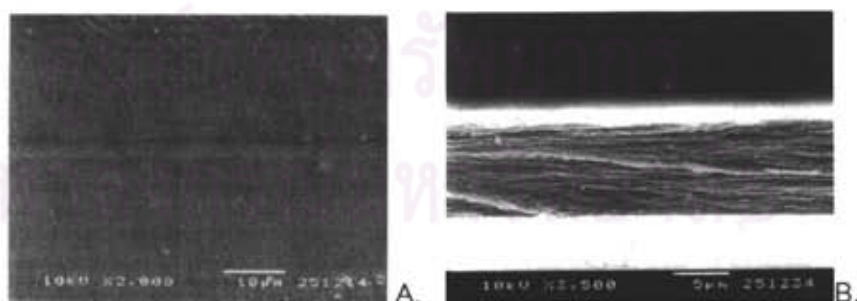
รูปที่ 4.57 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



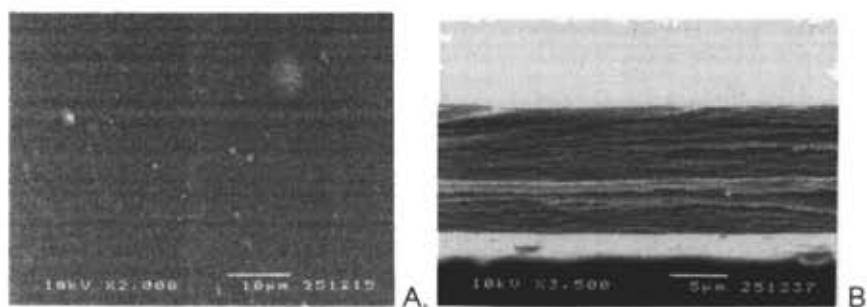
รูปที่ 4.58 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



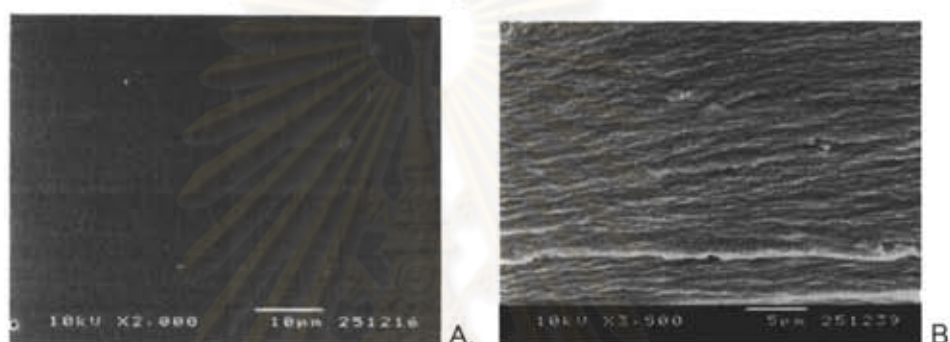
รูปที่ 4.59 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไม่ผสมแคลเซียมคลอไรด์ ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.60 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 40 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.61 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)



รูปที่ 4.62 รูปถ่ายพื้นผิว (A) และรูปตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใช้กลีเซอรอลร้อยละ 60 โดยน้ำหนักของเพกติน (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามลำดับ)

จากรูปถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.45 – 4.62) พบว่า ลักษณะของฟิล์มที่ผลิตได้มีพื้นผิวที่เรียบดี และเมื่อพิจารณารูปตัดขวาง พบว่า เนื้อฟิล์มมีความต่อเนื่อง สม่ำเสมอ โดยฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ มีความแน่นและทึบมากกว่าฟิล์มที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ ลักษณะเช่นนี้ทำให้ฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์มีค่าความต้านทานแรงดึงที่สูงกว่า ค่าร้อยละการยืดตัวและการซึมผ่านของไอน้ำน้อยกว่า เนื่องจากเนื้อฟิล์มทึบและมีความต่อเนื่องมากกว่า (Park and Zhao, 2006) และฟิล์มที่พบสังเกตเห็นรูพรุน (pore) มีอยู่ทั่วไปในเนื้อฟิล์ม

จากการศึกษาชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซออร์ที่มีผลต่อสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์ม ดังที่กล่าวมาจึงเลือกฟิล์มเพกตินที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับ

แคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของ เพกติน เป็นพลาสติกไซเซอร์มาศึกษาการผสมไลโปโซมในแผ่นฟิล์มเพกติน เนื่องจากฟิล์มที่ผลิต โดยใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน เป็นพลาสติกไซเซอร์ มีค่าความต้านทานแรง ดึงขาด ค่าร้อยละการยึดตัวในเกณฑ์ดี และมีการซึมผ่านของไอน้ำที่น้อย และมีสมบัติอื่นไม่ด้อย มากนัก

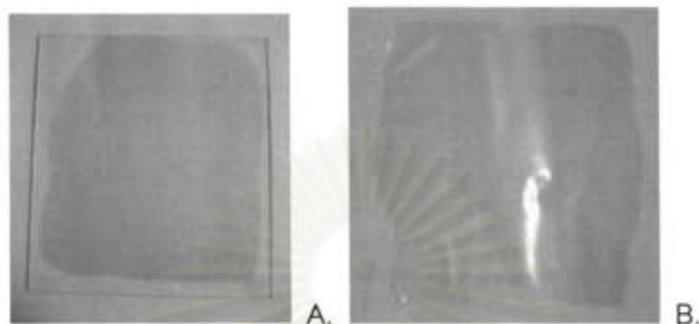
สมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มเพกตินผสมพลาสติกไซเซอร์ที่ได้จากการทดลองมีค่าในลักษณะ แนวทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Park และ Zhao (2006) ศึกษาการพัฒนาและสมบัติของฟิล์ม จากสารสกัดจากกากแครนเบอร์รี่ โดยใช้เพกตินเป็นสารขึ้นรูปฟิล์มและใช้กลีเซอรอลและ ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ พบว่า ฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลให้ฟิล์มที่หนาแน่น มีค่าต้านทานแรง ดึงขาดของแผ่นฟิล์ม และสีเข้มมากกว่าการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ แต่ให้การซึมผ่านของ ไอน้ำของแผ่นฟิล์มและค่าร้อยละการยึดตัวของแผ่นฟิล์มต่ำกว่ากลีเซอรอล Talja และคณะ (2007) ศึกษาผลของ polyol ต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มจากแป้งมันฝรั่ง พบว่า ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่า ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มและค่าร้อยละการยึดตัวของแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น แต่ค่าต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มลดลง เมื่อปริมาณพลาสติกไซเซอร์มากขึ้น โดยกลีเซอรอล ให้ผลในการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงกายภาพและเชิงกลของฟิล์มที่มากกว่าซอร์บิทอลซึ่งให้ผล การเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด Silva, Bierhazle และ Kieckbusch (2009) ศึกษาฟิล์มจากแอลจินेट และเพกตินที่ผสมกับแคลเซียม โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ คือ กลีเซอรอล พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอล ทำให้ฟิล์มมีความสามารถในการยืดหยุ่น (flexibility) การละลายน้ำ ค่าความชื้น การบวมของฟิล์มมากขึ้น แต่ลดค่าต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์ม ได้ปานกลาง แต่เพิ่มค่าร้อยละการยึดตัวให้สูงขึ้น

4.3.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นไลโปโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์ที่มีต่อสมบัติ ด้านต่างๆของฟิล์มเพกติน

4.3.3.1 การผลิตฟิล์มจากเพกตินโดยการผสมไลโปโซม

นำฟิล์มเพกติน (film forming solution) ที่สภาวะการผลิตจากเพกติน ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกตินเป็นพลาสติกไซเซอร์ มาแปรไลโปโซมที่กักเก็บสาร ต้านจุลินทรีย์จากการทดลองขั้นต้น (ความเข้มข้นเลซิทินที่ร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ที่สัดส่วนโดย

น้ำหนักรละลายเลชิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6) ผลิตฟิล์ม แปรความเข้มข้นของไลโปโซม 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก พบว่า แผ่นฟิล์มมีลักษณะทั่วไป คือเป็นแผ่นที่มีพื้นผิวต่อเนื่องตลอดทั้งแผ่น มีสีเหลืองอ่อน โปร่งแสง ลักษณะเนื้อสัมผัสอ่อนและลื่นมือ ยืดหยุ่นพอสมควร ลอกออกจากแม่พิมพ์ได้ง่าย มีกลิ่นของน้ำมันกระเทียม

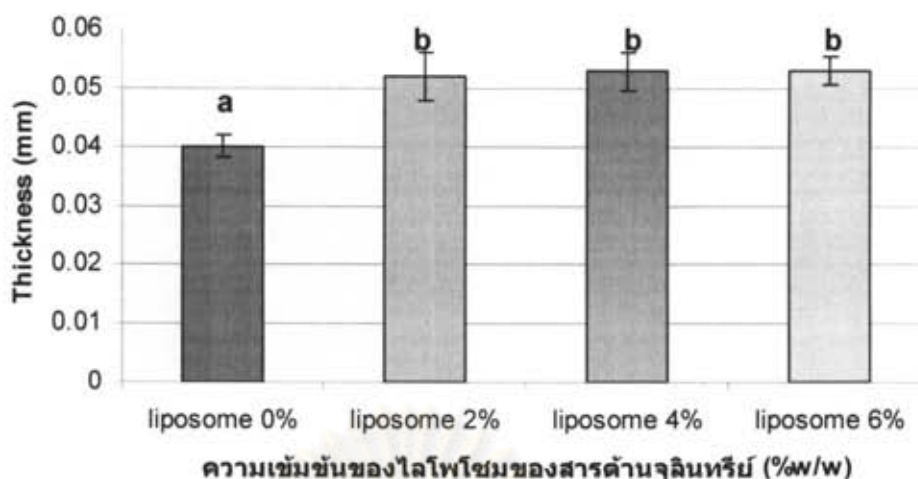


รูปที่ 4.63 ลักษณะของแผ่นฟิล์มผสมไลโปโซมที่ขึ้นรูปได้ ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ขึ้นรูปฟิล์มบนแผ่น acrylic ใส (A) และลักษณะฟิล์มภายหลังจากการแกะออกจากแม่พิมพ์แล้ว (B)

4.3.3.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมที่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

ในการทดลองนี้วิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์โดยใช้เพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกตินเป็นพลาสติกไซเซออร์ และแปรความเข้มข้นไลโปโซมสามระดับ ได้แก่ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มในด้านความหนา ค่าความต้านทานแรงดึงขาด ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาด ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ค่าความแตกต่างของสี และค่าความขุ่น ดังแสดงในรูปที่ 4.64-4.69

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

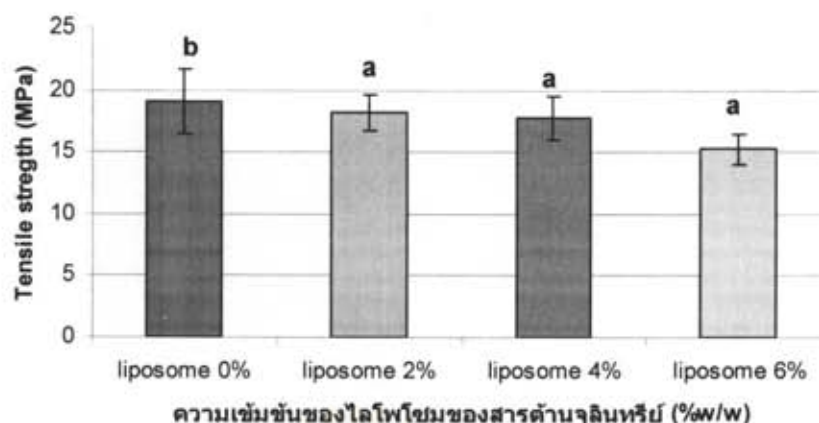


รูปที่ 4.64 ค่าความหนาของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.64 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์มที่ผสมไลโปโซมอยู่ระหว่าง 0.052-0.053 มิลลิเมตร แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะมีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ แต่มีความหนามากกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่ได้ผสมกับไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งความหนาของฟิล์มขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย film-forming solution (Cuq *et al.*, 1996) ซึ่งในที่นี้คือ เพกติน แคลเซียมคลอไรด์ กลีเซอรอลและไลโปโซม โดยความหนาของฟิล์มที่ผลิตได้เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากการที่ไลโปโซมมีส่วนที่เป็น hydrophilic อยู่ภายนอก เกิดจับกันระหว่างส่วนที่เป็น hydrophilic ของเพกติน ก่อให้เกิดร่างแห (clusters) ในสารละลายฟิล์ม ทำให้ความหนาของแผ่นฟิล์มมีมากขึ้น (Sivarooan, Hettiarach และ Johnson, 2008)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

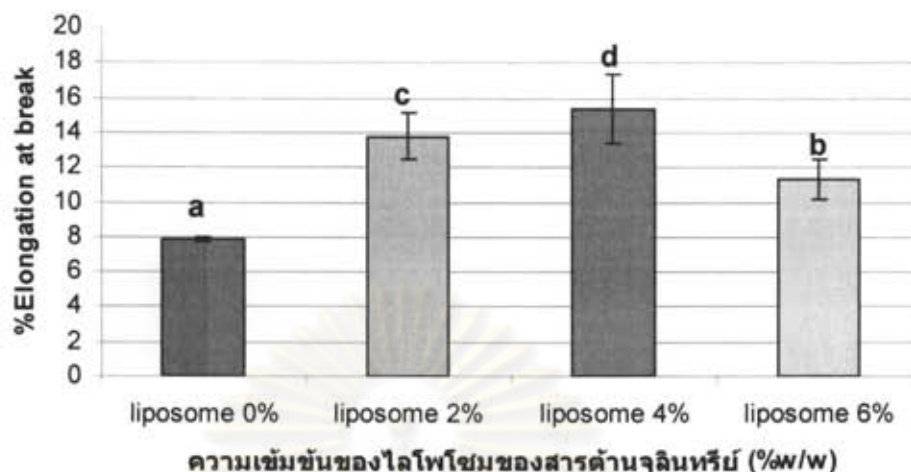


รูปที่ 4.65 ค่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.65 แสดงค่าเฉลี่ยความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มผสมไลโปโซมจากสภาวะการผลิตมีค่าอยู่ระหว่าง 15.521 – 18.18 MPa จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นไลโปโซมที่แตกต่างกัน แต่ค่าความต้านทานแรงดึงขาดน้อยกว่าแผ่นฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการผสมไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากการผสมไลโปโซมลงไปในแผ่นฟิล์ม ส่วนของน้ำมันในไลโปโซมอาจขัดขวาง หรือรบกวนไฮออนของแคลเซียมที่ช่วยในการก่อรูปของฟิล์ม (Pranoto, Rakshit and Salokhe, 2005b) หรือไลโปโซมอาจลดความแข็งแรงของ polymer-polymer interaction (Sivarooban *et al.*, 2008) ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดลดลง โดยทั่วไปแล้วการเติมสารอื่นๆ (additives) ลงไปในการขึ้นรูปฟิล์มมากกว่าสารก่อก่อฟิล์ม (cross linking agent) ทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดลดลง (Cagri, Ustunol and Ryser, 2001) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cha และคณะ (2002) ศึกษาผลการเติมสารสกัดจากเมล็ดองุ่นความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ลงในฟิล์มโซเดียมแอลจีเนตและโพลีเอทิลีนคาร์บาจีแนน พบว่า ค่าความต้านทานแรงดึงขาดน้อยกว่าฟิล์มควบคุม เนื่องมาจากการแยกตัวของโครงสร้างข่ายของฟิล์มเมื่อมีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงไปในฟิล์มควบคุม นอกจากนี้ลักษณะของโครงสร้างฟิล์มที่มองเห็นจากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ฟิล์มที่ผสมไลโปโซมลงไป มีลักษณะโครงสร้างที่หลวมและมีรูพรุน (porous structure) มากกว่าฟิล์มควบคุม (รูปที่ 4.70-4.72) ลักษณะนี้พบในงานวิจัยของ Gemili, Yemenicioglu และ Altinkaya (2009) เช่นเดียวกันที่พบว่าโครงสร้างของฟิล์มที่แน่น ไม่มีรูพรุน ให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดที่สูงมากกว่าฟิล์มที่โปร่งและมีรูพรุน อย่างไรก็ตาม ในทางวัสดุศาสตร์ถือว่าความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยึดตัวที่

แตกต่างกันในช่วง 5-10 หน่วย หรือประมาณ ร้อยละ 20 ไม่มีความแตกต่างกัน (ปณิธิ ทิพยธรรม, 2550)

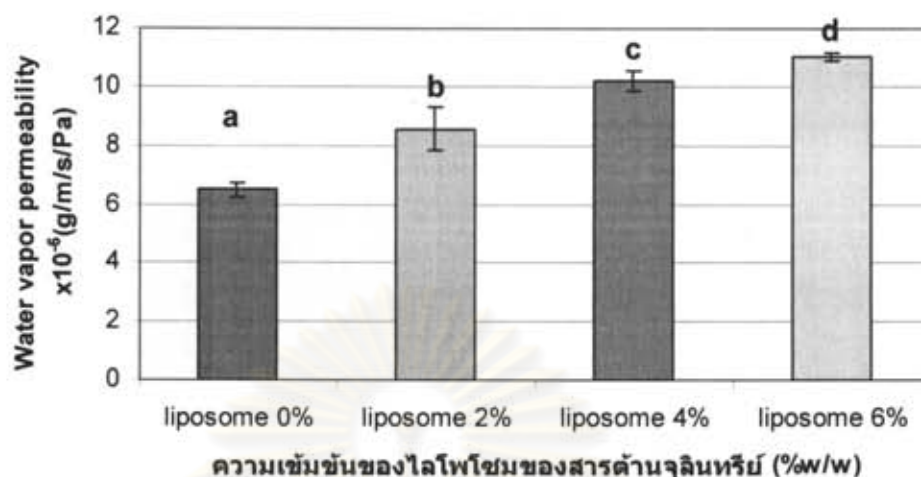


รูปที่ 4.66 ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.66 แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มผสมไลโปโซมอยู่ระหว่างร้อยละ 11.29 – 15.4 ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มมากกว่าแผ่นฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการผสมไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ และเมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมเพิ่มมากขึ้น ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ยกเว้นฟิล์มที่มีความเข้มข้นไลโปโซมร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก เนื่องจากการกระจายตัวที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันของไลโปโซมใน film forming solution ตรงกับงานวิจัยของ Gemili และคณะ (2009) ที่พบว่า การลดลงของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเกิดจากการกระจายตัวไม่เป็นเนื้อเดียวกันของ lysozyme ในสารละลายพอลิเมอร์ ทำให้ lysozyme รวมกันเป็นกลุ่มในโครงสร้างฟิล์ม และพบว่าการทดลองนี้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มที่มีไลโปโซมมีค่ามากกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการผสมไลโปโซมเกือบสองเท่า บ่งได้ว่าไลโปโซมเป็นเสมือนพลาสติกไซเซอร์ ตรงกับงานวิจัยของ Pranoto และคณะ (2005b) และ Rojas-Grau และคณะ (2007) พบว่าการเติมน้ำมันกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยลงไปในฟิล์ม ทำให้ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้น เนื่องจากไขมัน เข้าไปแทรกตัวระหว่างสายโมเลกุลจึงเกิดการสั่นไหวของสายโมเลกุลได้ดีขึ้น (Gennadios *et al.*, 1998) ลักษณะของโครงสร้างฟิล์มที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.70-4.72) พบว่า แผ่นฟิล์มที่ผสมไลโปโซมลงไปมีลักษณะหลวมและมีรูพรุน (porous structure) มากกว่าฟิล์มที่ไม่มีการผสมไลโปโซม ซึ่งมีลักษณะของ

โครงสร้างฟิล์มที่แน่นกว่า(dense structure) ซึ่งลักษณะโครงสร้างฟิล์มที่หวมและมีรูพรุนอาจเป็นผลให้ค่าร้อยละการยึด-ตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น



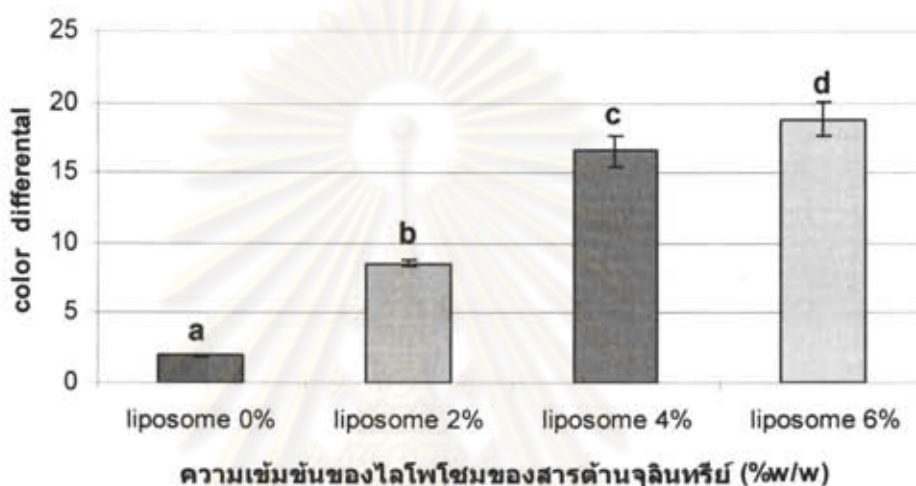
รูปที่ 4.67 ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

รูปที่ 4.67 แสดงค่าเฉลี่ยความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มผสมไลโปโซมอยู่ระหว่าง 8.55 – 11 $\mu\text{g/ms Pa}$ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มมากกว่าแผ่นฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการผสมไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ และเมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมเพิ่มมากขึ้น ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มมีค่ามากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์สามารถขยาย intermolecular interaction และทำให้โครงสร้างของฟิล์มหวมขึ้น จึงช่วยให้ความชื้นสามารถผ่านเข้าออกได้ง่าย (Pranoto *et al.*, 2005a) โดยไลโปโซมจะหันส่วนหัวที่มีขั้ว (polar) ของตัวทำอิมัลชันที่ชอบน้ำออกสู่ภายนอก ทำให้มีความเป็น hydrophilic ที่มาก ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มส่วนมากขึ้นกับส่วนที่เป็น hydrophilic และขึ้นกับสัดส่วน hydrophilic:hydrophobic ของส่วนประกอบของฟิล์ม (Hernandez, 1994) ผลการทดลองตรงกับงานวิจัยของ Kristo, Koutsoumanis และ Billaderis (2008) ศึกษาสมบัติเชิงกลและสมบัติการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มโพรเทอีนเคลือบที่ผสมสารยับยั้ง จุลินทรีย์ (โพรเทอีนแลคโตส โพรเทอีนซีรัม ซอร์เบต และไนซิน) โดยใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติไซเซอร์ พบว่า การเติมสารต้านจุลินทรีย์เหล่านี้ที่มีความมีขั้วลงไปในฟิล์ม ส่งผลให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ลักษณะของโครงสร้างฟิล์มที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 4.69-4.71) พบว่าฟิล์มมีลักษณะที่หวมและมีรูพรุน (porous structure) ทำให้เป็นค่าความสามารถใน

การซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม แผ่นฟิล์มที่สามารถผลิตได้ให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มน้อยกว่าฟิล์มชนิดอื่นๆ ดังตารางที่ 2.4

จากตารางที่ 2.4 เห็นได้ว่าฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ แม้ให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำที่สูง คือ 8.55 – 11 $\mu\text{g}/\text{m s Pa}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มชนิดอื่นๆ ในตารางแล้ว พบว่า ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำน้อยกว่าฟิล์มชนิดอื่นๆ ซึ่งถ้าฟิล์มมีค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มต่ำ ก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันความชื้นได้ (Rivero *et al.*, 2009)

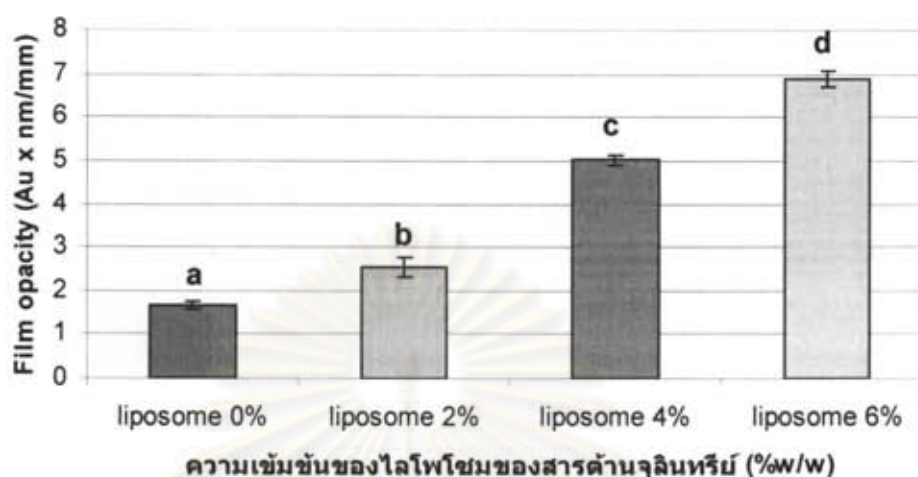


รูปที่ 4.68 ค่าของความต่างของสีของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่าความต่างของสี (ΔE) ของแผ่นฟิล์มผสมไลโปโซมอยู่ระหว่าง 8.57– 18.81 (รูปที่ 4.68) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ค่าของความต่างของสีของแผ่นฟิล์มมากกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่มีไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ และความเข้มข้นไลโปโซมเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าของความต่างของสีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ซึ่งฟิล์มควบคุมที่ไม่มีไลโปโซมมีความใส (clear) แต่เมื่อผสมไลโปโซมลงไปทำให้ค่าของความต่างของสี (แสดงในภาคผนวก ค) เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากค่า b^* แสดงระดับสีเหลือง-น้ำเงินที่เพิ่มมากขึ้น (ฟิล์มควบคุมให้ค่า b^* 3.44 และฟิล์มที่มีไลโปโซมที่สัดส่วนต่างๆกันให้ค่า b^* 9.34-19.47) และค่า L^* ซึ่งแสดงความสว่างของสีมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับฟิล์มควบคุม (ฟิล์มควบคุมให้ค่า L^* 96.47 และฟิล์มที่มีไลโปโซมที่สัดส่วนต่างๆกันให้ค่า L^* 87.37-92.032) เนื่องจากไลโปโซมให้สีเหลืองจากน้ำมันกระเทียมและสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล เป็นผลให้ฟิล์มที่ได้มีสีที่เข้มขึ้นเมื่อความเข้มข้นไลโปโซมเพิ่มขึ้น พบลักษณะเช่นนี้เช่นเดียวกันในงานวิจัยของ Pranoto และคณะ (2005b) ที่ศึกษาสมบัติกายภาพของฟิล์มอัลจินเตผสมน้ำมันกระเทียม พบว่า เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันกระเทียมเพิ่มขึ้นเป็นผลให้ค่าความต่างของสีเพิ่มขึ้น และงานวิจัยของ Sivarooban และคณะ (2008) พบว่า เมื่อ

เพิ่มปริมาณของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง สีของฟิล์มเข้มขึ้น โดยลดค่า L^* และเพิ่มค่า a^* b^* มากกว่าฟิล์มควบคุม

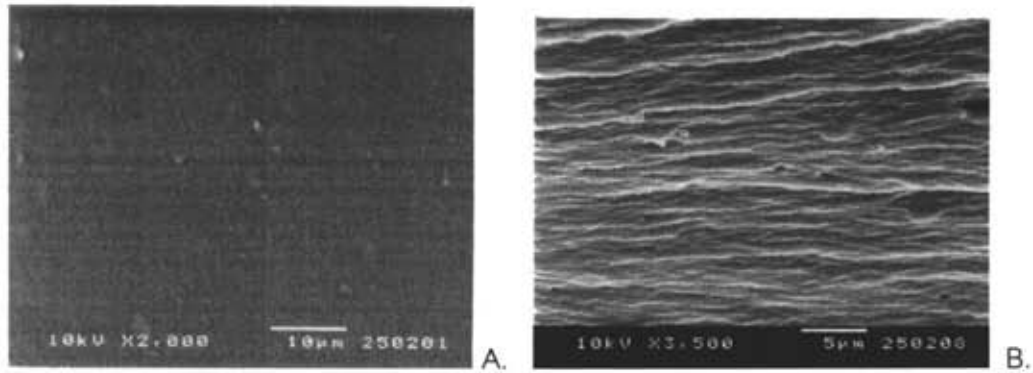


รูปที่ 4.69 ค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์มที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน

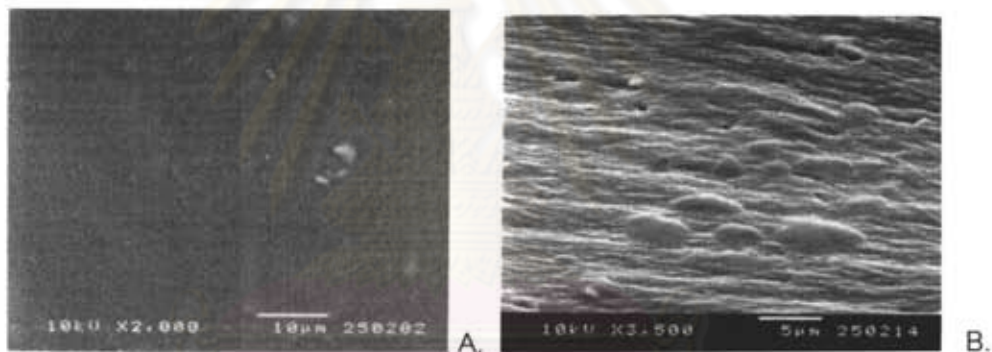
a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยความขุ่นของฟิล์มของแผ่นฟิล์มอยู่ระหว่าง 2.55 – 6.89 Au x nm/ μ m (รูปที่ 4.66) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าค่าความขุ่นมากกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่มีไลโปโซมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ และค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เมื่อความเข้มข้นของไลโปโซมเพิ่มมากขึ้น โดยความใสและความโปร่งแสงของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อมีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงไป (Pranoto *et al.*, 2005b; Zivanovic, Chi and Draughon, 2005) โดยค่าความขุ่น เป็นค่าบอกลักษณะการรวมตัวกันเป็นเนื้อเดียวกันของสารที่ผสมลงไปในฟิล์มกับพอลิเมอร์ที่ใช้ในการขึ้นรูปฟิล์ม (Li *et al.*, 2006)

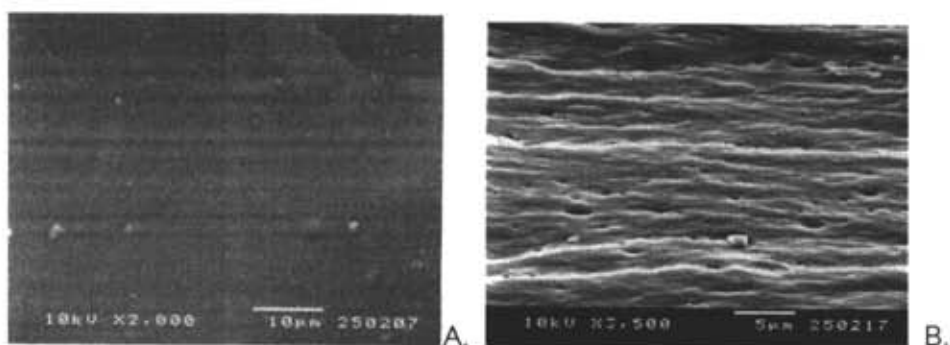
ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของฟิล์มเพกตินที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกตินเป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระดับไลโปโซมสามระดับ ได้แก่ ร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงในรูปที่ 4.70-4.72



ภาพที่ 4.70 ภาพถ่ายพื้นผิว (A) และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)



ภาพที่ 4.71 ภาพถ่ายพื้นผิว (A) และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)



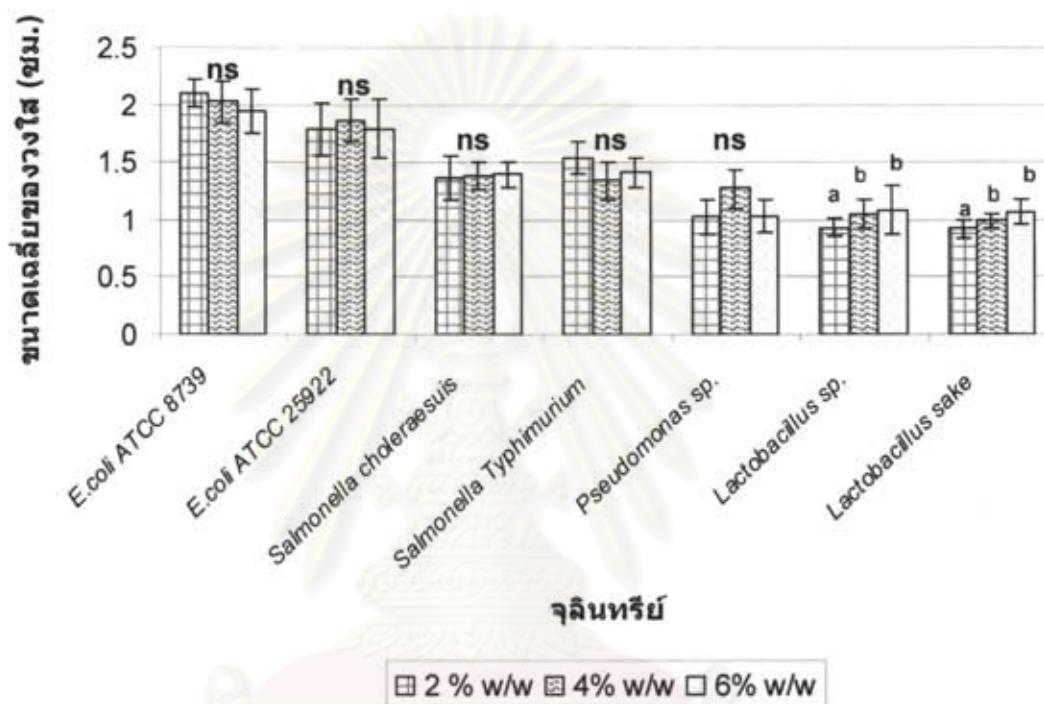
ภาพที่ 4.72 ภาพถ่ายพื้นผิว (A) และภาพตัดขวาง (B) ของฟิล์มที่ความเข้มข้นเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน และแปรความเข้มข้นไลโปโซมที่ร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก (ที่กำลังขยาย 2,000 เท่าและที่กำลังขยาย 3,500 เท่าตามลำดับ)

จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ลักษณะของฟิล์มที่ผลิตได้มีพื้นผิวที่เรียบดี และเมื่อพิจารณาภาพตัดขวางพบว่า เนื้อฟิล์มมีความมีความโปร่งและรูพรุนมากขึ้น เมื่อฟิล์มมีความเข้มข้นไลโปโซมเพิ่มมากขึ้น การเกิดรู (micro-void) อาจเนื่องมาจากในการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม สารต้านจุลินทรีย์ที่เสริมลงไปไม่ได้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) กับฟิล์ม (Del Nobile *et al.*, 2008)

จากการศึกษาสมบัติต่างๆของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นไลโปโซมต่างๆกัน โดยใช้ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกตินเป็นพลาสติกไซเซอร์ และที่ระดับไลโปโซมร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์ม สรุปได้ว่า ฟิล์มเพกตินที่ความเข้มข้นไลโปโซมร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก มีค่าร้อยละการยึดตัวที่ดีที่สุด และมีค่าความต้านทานแรงดึงขาด ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ความแตกต่างของสี ค่าความชื้นอยู่ในเกณฑ์ดี

4.3.3.3 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของไลโปโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ตรึงลงในฟิล์มเพกติน

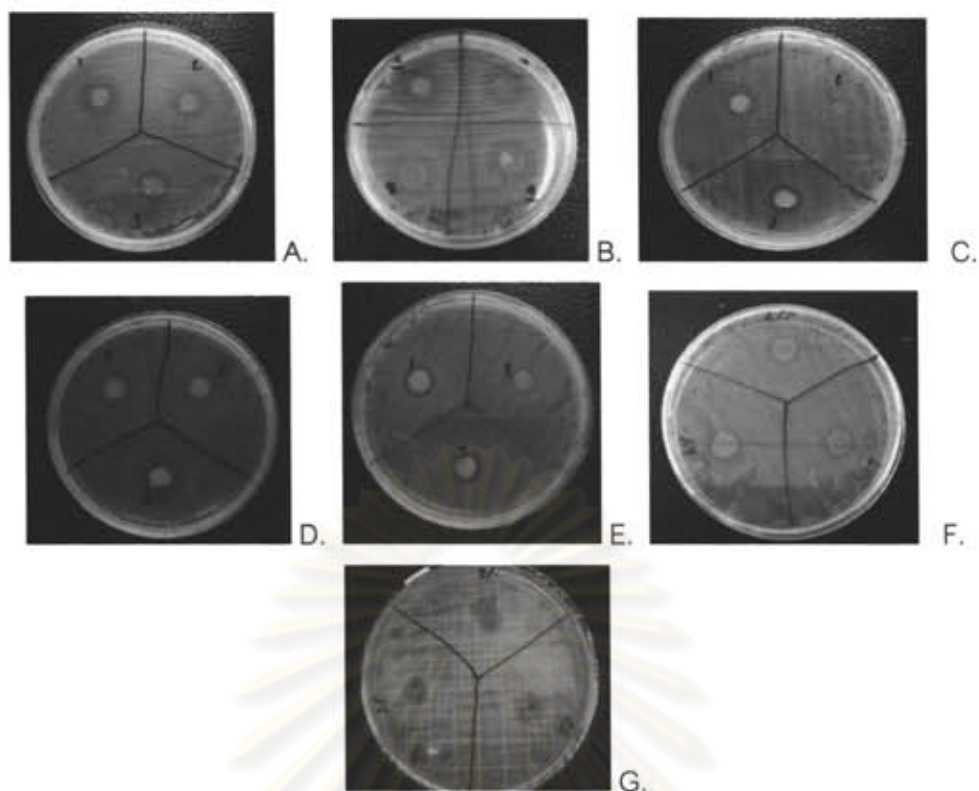
นำแผ่นฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 4 และ 6 โดยน้ำหนัก ตัดเป็นวงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร แล้วทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในอาหาร



รูปที่ 4.73 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.74 ลักษณะวงใสในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซม

ของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 8739 (A) *E. coli* ATCC 25922 (B)

Salmonella Choleraesuis (C) *Salmonella Typhimurium* (D) *Pseudomonas sp.*

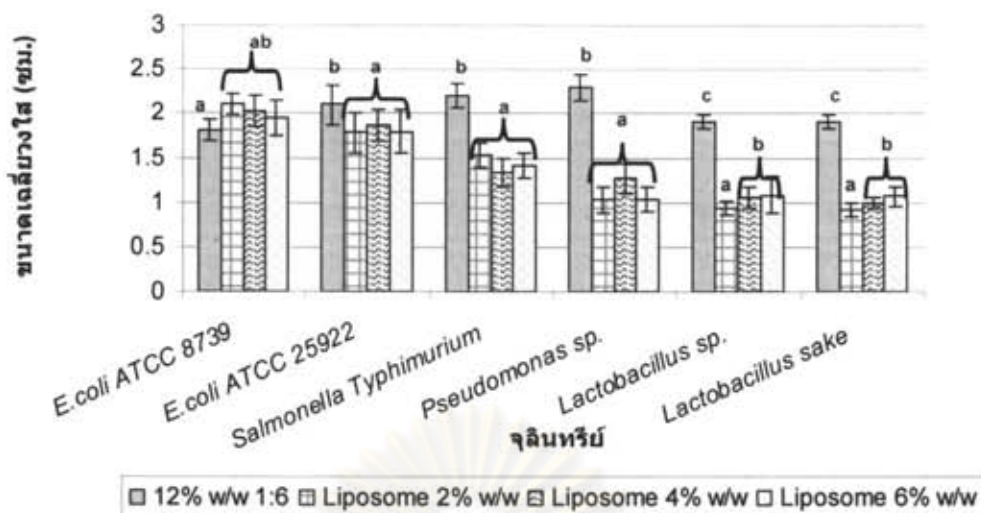
(E) *Lactobacillus sp.* (F) และ *Lactobacillus sake* (G)

ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของฟิล์มเพกตินที่ตรึงไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสมต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินอาหารและที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อ เช่น *E. coli* ATCC 25922 *E. coli* ATCC 8739 *S. Typhimurium* *S. Choleraesuis* *Pseudomonas sp.* *Lactobacillus sp.* TISTR 539 และ *Lactobacillus sake* TISTR 890 พบว่าฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกันเกินหนึ่งเซนติเมตรในทุกความเข้มข้นของไลโปโซม โดยขนาดวงใสเฉลี่ยในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 1–2.1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดวงใสเฉลี่ยในระดับที่จุลินทรีย์มีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์มากถึงมากที่สุด (Ponce *et al.*, 2003) แผ่นฟิล์มแสดงฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุดต่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* รองลงมาคือกลุ่ม *Salmonella sp.* อย่างมีนัยสำคัญ แม้ความเข้มข้นของไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสมเพิ่มขึ้น แต่ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 *E. coli* ATCC 8739 *Salmonella Typhimurium* *Salmonella Choleraesuis* *Pseudomonas sp.* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ ยกเว้นเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus sp.* และ

Lactobacillus sake พบว่าความเข้มข้นของไลโปโซมมีผลในการยับยั้ง จุลินทรีย์ โดยแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้นของไลโปโซมที่ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก กับร้อยละ 4 และ 6 โดยน้ำหนัก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Pranoto และคณะ (2005a) พบว่า แม้เพิ่มความเข้มข้นของ น้ำมันกระเทียมในฟิล์มโคโตซาน แต่ไม่พบการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจาก ความสามารถในการกักเก็บสูงสุดของพอลิเมอร์ที่ตรึงสารต้านจุลินทรีย์ หรือการเกิดปฏิสัมพันธ์ ระหว่าง functional group ของฟิล์มกับสารต้านจุลินทรีย์ ทำให้สารต้านจุลินทรีย์บางส่วนไม่ถูก ปลดปล่อยออกมาได้ โดยปกติแล้วเมื่อความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ที่มากขึ้น ย่อมส่งผลให้ฤทธิ์ ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น แสดงถึงการเพิ่มสารต้านจุลินทรีย์หรือมีการกระจายตัวของ สารต้านจุลินทรีย์ที่ดี (Seydim and Sarikus, 2006)

Seydim และ Sarikus (2006) Pranoto และคณะ (2005a) และ Cooksey (2001) ได้ อธิบายการทำงานร่วมกันของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์ม ว่าเมื่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมร่วมกับ สารละลายพอลิเมอร์ โดยสายพอลิเมอร์เกิดการปฏิสัมพันธ์กันจนเกิด cross-link ระหว่างสาย พอลิเมอร์ จากนั้นสารต้านจุลินทรีย์ถูกตรึงในโครงร่างแห หรือสารต้านจุลินทรีย์ถูกตรึงอยู่ใน ช่องว่างระหว่างโครงร่างแห จึงค่อยถูกปลดปล่อยออกมายังผิวหน้าอาหาร สารต้านจุลินทรีย์จึง ยังคงความเข้มข้นอยู่ได้ที่ผิวหน้าอาหาร แม้เวลาผ่านไป เป็นผลให้สามารถยืดอายุการเก็บของ อาหารได้นานขึ้น

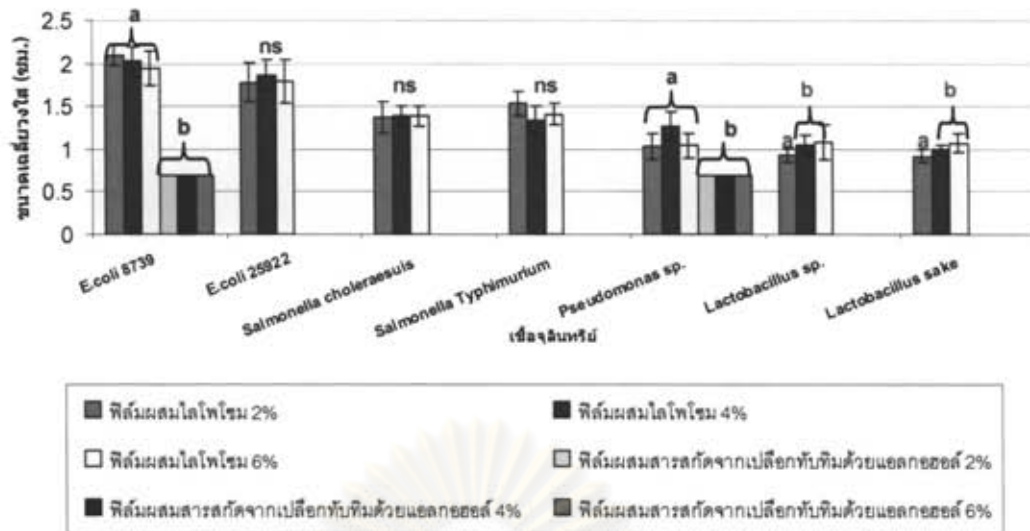
เมื่อนำผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของฟิล์มผสมไลโปโซมมาเปรียบเทียบกับฤทธิ์ การยับยั้งจุลินทรีย์ของไลโปโซมที่ความเข้มข้นเลซิตินร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก สัดส่วนสารละลาย เลซิตินต่อสารต้านจุลินทรีย์ผสม 1:6 พบว่า อิมัลชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งมากกว่าฟิล์มที่ผสม ไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (รูปที่ 4.75) ยกเว้นจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 8739 ที่ฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกับอิมัลชัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pranoto และคณะ (2005b) พบว่า การใช้น้ำมันกระเทียมมีฤทธิ์ในการ ยับยั้ง *E. coli* *S. aureus* *Salmonella* Typhimurium และ *B. cereus* ที่ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ 2.28, 4.31, 1.24 และ 5.61 log cycle ตามลำดับ และเมื่อนำน้ำมัน กระเทียมมาผสมลงในฟิล์ม พบว่า น้ำมันกระเทียมที่ร้อยละ 0.3 โดยปริมาตร เป็นความเข้มข้น ต่ำสุดที่เริ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 4 สายพันธุ์ เนื่องจาก สารออกฤทธิ์ในน้ำมันกระเทียม อาจตรึงอยู่ในฟิล์มอัลจินตและไม่สามารถปลดปล่อยออกมาได้



รูปที่ 4.75ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมเทียบกับอิมัลชันของสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่สัดส่วน 1:6 โดยใช้เลชิตินความเข้มข้นร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ด้วยวิธี disc diffusion

a,b,c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแห่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์กับแผ่นฟิล์มที่ผสมน้ำมันกานพลู หรือน้ำมันกระเทียม หรือสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล พบว่า ฟิล์มที่ผสมน้ำมันกานพลูและฟิล์มที่ผสมน้ำมันกระเทียมไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในบริเวณใต้สัมผัสและบริเวณที่ยับยั้งรอบแผ่นฟิล์ม ในขณะที่ฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยเอธานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 8739 และ *Pseudomonas sp.* โดยมีขนาดวงใสเฉลี่ย 0.7 เซนติเมตร (รูปที่ 4.76) ซึ่งเป็นขนาดวงใสเฉลี่ยในระดับที่จุลินทรีย์ไม่มีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์นั้น (Ponce *et al.*, 2003) ดังนั้น ฟิล์มที่ผสมสารต้านจุลินทรีย์โดยไม่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยกว่าเมื่อผสมลงไปในฟิล์ม เนื่องจากเกิดการสูญเสียของสารดังกล่าวในระหว่างกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มหรือกระบวนการทำแห้ง (Zivanovic *et al.*, 2005) โดยเฉพาะในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยที่ผสมลงในฟิล์ม มักเกิดการระเหยระหว่างกระบวนการอบแห้ง เนื่องจากอุณหภูมิในการอบแห้ง (Ponce *et al.*, 2008) ซึ่งแก้ไขได้ 2 วิธี คือ การเพิ่มความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์มหรือเพิ่มความหนาของฟิล์มเพื่อให้มีความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มทดสอบมากขึ้น (Kim *et al.*, 2002)



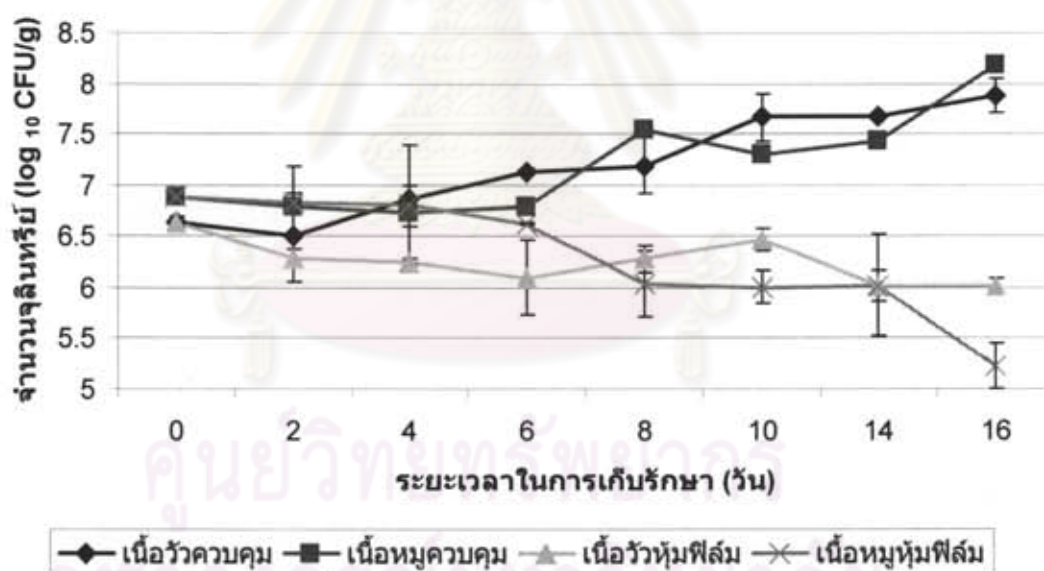
รูปที่ 4.76ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมกับฟิล์มที่ผสมสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล โดยวิธี disc diffusion

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแท่งกราฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการทดลองทั้งหมดเพื่อศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของแผ่นฟิล์มเพกตินต่อไลโปโซมที่บรรจุสารต้านจุลินทรีย์ สำหรับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำแผ่นฟิล์มในแต่ละตัวอย่างมาทดสอบสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม ได้แก่ การวัดสี ความแข็งแรงและยืดหยุ่น การซึมผ่านได้ของไอน้ำ พบว่าการผสมไลโปโซมลงในแผ่นฟิล์มส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม และเมื่อนำมาประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่า จุลินทรีย์มีความไวต่อไลโปโซมมากถึงมากที่สุด และพบว่าการใช้ฟิล์มเพกตินที่ผสมไลโปโซมที่มีสารต้านจุลินทรีย์ที่ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก มีความเหมาะสมที่นำไปประยุกต์ใช้กับอาหารได้ เนื่องจากมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ให้ขนาดวงใสในการยับยั้งที่มีขนาดใหญ่และมีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญในจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก และมีสมบัติทางกายภาพที่ต้องการในการนำไปใช้ได้

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์ตัดแต่งเมื่อใช้ร่วมกับฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมที่ตรงสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ผสมระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมที่ตรงสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ความเข้มข้นไลโปโซมร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก นำมาใช้ร่วมกับเนื้อวัวและเนื้อหมูตัดแต่งจากส่วนของสันนอกของสัตว์ในลักษณะ steak piece ที่มีขนาด 10 x 6 x 1 เซนติเมตร (น้ำหนักประมาณ 60 กรัม/ชิ้น) โดยหุ้มเนื้อสัตว์ด้วยแผ่นฟิล์มเพกติน (ที่ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรผสมกับแคลเซียม-คลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกตินเป็นพลาสติกไซเซอร์ และที่ระดับไลโปโซมร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก) ทั้งด้านบนและล่างของชิ้นเนื้อตัดแต่ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพทุก 2 วัน เป็นเวลา 16 วัน คุณภาพที่ตรวจวัด ได้แก่ aerobic plate count (APC) (รูปที่ 4.77) Total lactic acid bacteria (รูปที่ 4.78) *Pseudomonas sp.* (รูปที่ 4.79) *Escherichia coli* (รูปที่ 4.80) และ coliform (รูปที่ 4.81)



รูปที่ 4.77 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count) ระหว่างชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

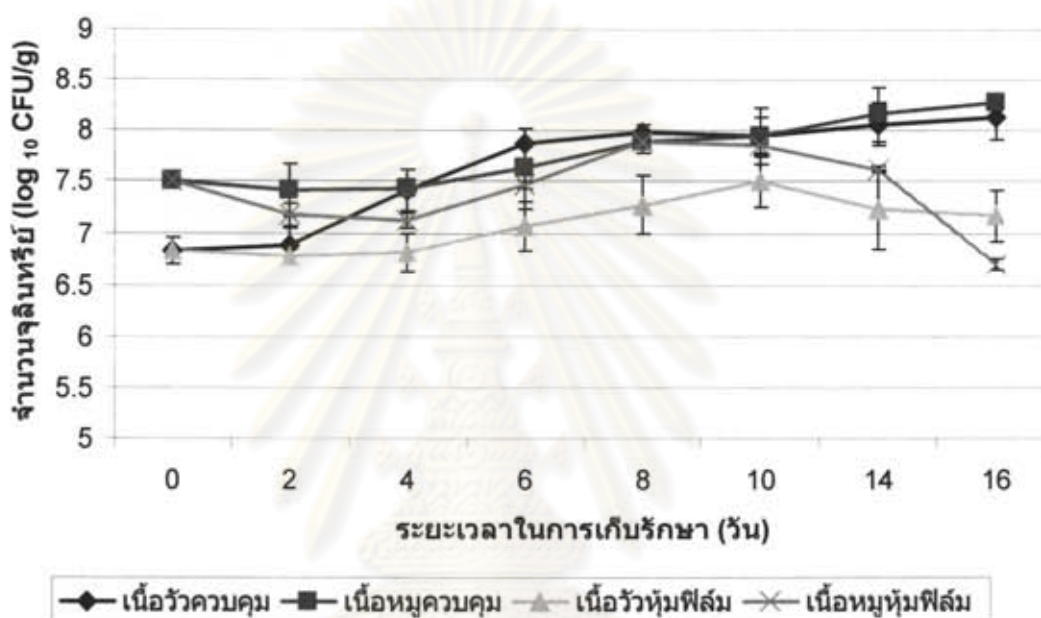
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์ม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน แสดงในรูปที่ 4.77 ในชิ้นเนื้อวัวควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6.64 เป็น 7.9 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ในชิ้น

เนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 6.024 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ซึ่งฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.86 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของชิ้นเนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 4 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

ในกรณีของชิ้นเนื้อหมูควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6.9 เป็น 8.2 log CFU/g ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ในชิ้นเนื้อที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 5.23 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 2.95 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของชิ้นเนื้อหมูที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 8 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา จากมาตรฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติประเภทเนื้อสุกร ระบุการเก็บรักษาเนื้อสุกรว่าหากบรรจุในบรรจุภัณฑ์แล้ว ควรเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิภายในของเนื้อไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส แต่ต้องไม่เกิน 7 วัน โดยมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ต้องไม่เกิน 5.7 log CFU/g (5×10^5 CFU/g) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547) ซึ่งในงานทดลองสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ในมาตรฐานนี้คือในเนื้อหมูมีจำนวนจุลินทรีย์ในชิ้นเนื้อที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมี 5.23 log CFU/g ในวันที่ 16 ของการเก็บรักษา น้อยกว่าที่มาตรฐานกำหนดไว้ และจากงานวิจัยของ Ercolini และคณะ (2006) พบว่าหากมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่า 7 log CFU/g ทำให้เนื้อเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ (off-odors) ไม่เป็นที่ยอมรับด้านประสาทสัมผัส (sensory) จากผู้บริโภค สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ได้ ซึ่งจากการทดลองพบว่า เมื่อเก็บเนื้อวัวและเนื้อหมูเป็นเวลา 16 วัน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ จึงกล่าวได้ว่าเนื้อวัวสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 6 วัน และในเนื้อหมูเก็บรักษาได้มากกว่า 8 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมเช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Zinoviadou, Koutsoumanis และ Biliaderis (2009) ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของฟิล์มเวย์โปรตีนผสมน้ำมันออริกาโน (ร้อยละ 0.5-1.5 โดยน้ำหนัก) ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในเนื้อวัวสด พบว่า เมื่อนำเนื้อวัวไปหุ้มฟิล์มเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน จำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ 3 log CFU/cm² และในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือ 3.3 log CFU/cm² ที่ความเข้มข้นของน้ำมันออริกาโนร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ในกลุ่ม Aerobic plate count มีจำนวนจุลินทรีย์ประมาณ 7 log CFU/g ภายหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิตู้เย็น (Ercolini *et al.*, 2006) Lee,

Choi และ Yoon (2003) เก็บรักษาเนื้อสันของหมู ที่อุณหภูมิ 0 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 55 ± 10 พบว่า aerobic plate count มีจำนวนเชื้อเริ่มต้น $5.5 \log \text{CFU/cm}^2$ และจำนวนไม่เปลี่ยนแปลงจนถึงวันที่ 7 แต่อย่างไรก็ตามภายหลังจาก 14 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งในส่วนที่ห่อด้วยฟิล์ม micro-perated polypropylene เนื่องจากการห่อหุ้มอาหารด้วยฟิล์มพลาสติกที่มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำได้ต่ำ ทำให้เกิดการควบแน่นของไอน้ำภายในบรรจุภัณฑ์ ทำให้เร่งการเจริญของจุลินทรีย์ให้เร็วขึ้น ทำให้เนื้อสัตว์ไม่สามารถเก็บได้เกิน 9 วัน (Marriot et al., 1977)



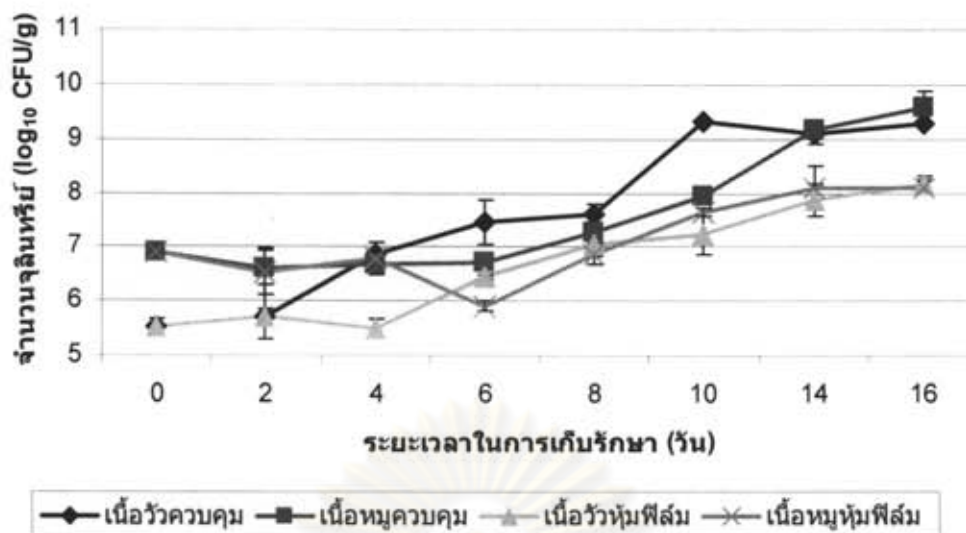
รูปที่ 4.78 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (Total lactic acid bacteria) ระหว่างขึ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและขึ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

จากรูปที่ 4.78 แสดงจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกทั้งหมดระหว่างขึ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและขึ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์ม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน พบว่า ในขึ้นเนื้อวัวควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6.82 เป็น $8.13 \log \text{CFU/g}$ ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่เนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ $7.17 \log \text{CFU/g}$ ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ซึ่งสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ $0.96 \log \text{CFU/g}$ โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกทั้งหมดของขึ้นเนื้อวัวที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 6 ถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษา

ในชั้นเนื้อหุ้มควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกทั้งหมดเริ่มต้น 7.5 เพิ่มเป็น 8.28 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่ชั้นเนื้อที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 6.69 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.6 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกทั้งหมดของชั้นเนื้อหุ้มที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 2 และวันที่ 16 ของการเก็บรักษา ได้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sagoo, Board และ Roller (2002) ศึกษาการใช้ฟิล์มโคโตซาน (ร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนัก) ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มแลคติกในเนื้อหุ้มสดเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 วัน พบว่าฟิล์มโคโตซานสามารถลดการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกได้ โดยมีเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ 6 log CFU/g และในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ 1 log CFU/g

จากการทดลองจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกมีฤทธิ์การยับยั้งน้อย อาจเนื่องจากมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในประมาณมากเกินไปสารต้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้งได้ ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เจริญมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายหลังจากการเก็บรักษา 7 วัน (Ercolini *et al.*, 2006) หรือเนื่องจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ยังคงกระจายตัวในฟิล์มไม่เคลื่อนย้ายออกมา (migrate) ดังนั้นจุลินทรีย์จึงไม่ได้สัมผัสกับสารต้านจุลินทรีย์ การแก้ไขสามารถทำได้คือ การล้างวัตถุดิบเริ่มต้นที่นำมาใช้สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ (ต่ำกว่า 6 log CFU/cm²) ร่วมกับการใช้สารต้านจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลต่อรสชาติสัมผัสของอาหาร (Ponce *et al.*, 2008) อย่างไรก็ตาม แม้เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถยับยั้งหรือทำลายได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจากมีผนังเซลล์ที่บางกว่า แต่เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกถูกจัดว่าเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีความต้านทานมากที่สุด (most resistant) ในบรรดาจุลินทรีย์แกรมบวกด้วยกัน (Holley and Patel, 2005)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

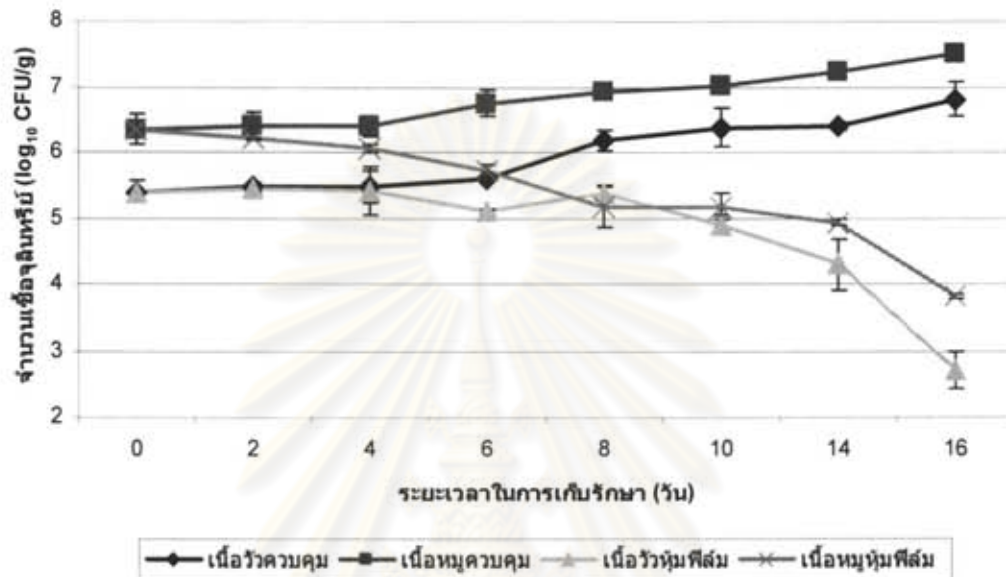


รูปที่ 4.79 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* ระหว่างชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

รูปที่ 4.79 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.* ระหว่างชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์ม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน พบว่า ในชิ้นเนื้อวัวควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 5.51 เพิ่มเป็น 9.28 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่ชิ้นเนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 8.17 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.11 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* ของชิ้นเนื้อวัวที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 10 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Zinoviadou และคณะ (2009) ศึกษาฟิล์มเวียโปรตีนผสมน้ำมันออริกาโน (ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก) พบว่า เมื่อนำเนื้อวัวไปห่อหุ้มฟิล์มเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน พบว่า จำนวนของ *Pseudomonas sp.* มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 2 log CFU/cm² สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ 1.7 CFU/cm² ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

ในชิ้นเนื้อหมูควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 6.89 log CFU/g และเพิ่มเป็น 9.59 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ขณะที่ชิ้นเนื้อหมูที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 8.1 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.49 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* ของชิ้นเนื้อที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมในวันที่

6 และ 14 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* สามารถจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นกลุ่มหลักในการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในบรรจุภัณฑ์ที่มีออกซิเจน (Koutsoumanis *et al.*, 2004) เพราะเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียโดยการย่อยโปรตีน (proteolysis spoilage bacteria) (Lee *et al.*, 2003)

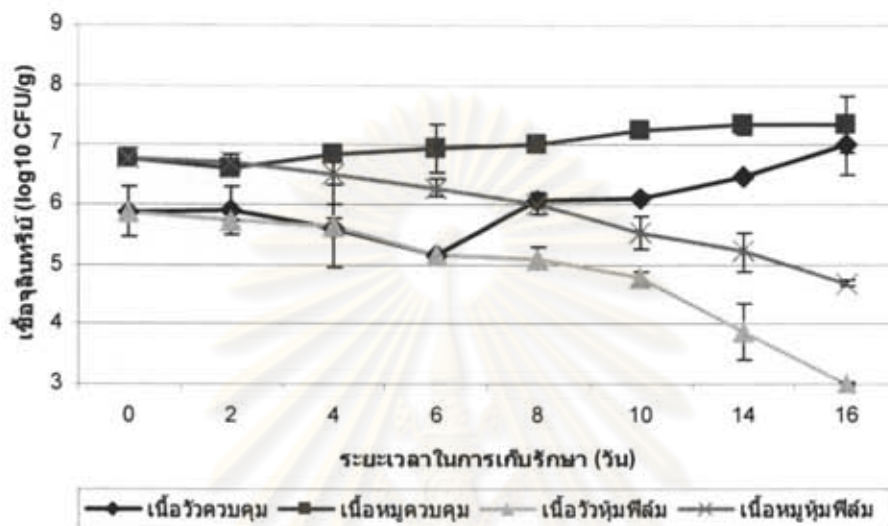


รูปที่ 4.80 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* ระหว่างชั้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและชั้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

รูปที่ 4.80 แสดงจำนวนของจุลินทรีย์ *E. coli* ในชั้นเนื้อวัวควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 5.4 เพิ่มขึ้นเป็น 7.01 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ในชั้นเนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเป็น 2.7 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 4.11 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* ของชั้นเนื้อวัวที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมเมื่อวันที่ 6 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

ในขณะที่ชั้นเนื้อหมูควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6.35 เป็น 7.5 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา และจำนวนจุลินทรีย์ในชั้นเนื้อหมูที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 3.81 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 3.69 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* ของชั้นเนื้อที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมเมื่อวันที่ 6 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Chouliara และคณะ (2007) พบว่า เนื้ออกไก่สับ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วันในบรรจุภัณฑ์ร่วมกับน้ำมันออริกาน (ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก) โดยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteriaceae ลดลงจากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 2.3 log CFU/g สามารถลดจำนวนได้ 1.43 log CFU/g



รูปที่ 4.81 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* ระหว่างขึ้นเนื้อตัดแต่งควบคุมและขึ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

รูปที่ 4.81 แสดงจำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* ในขึ้นเนื้อวัวควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 5.88 เป็น 7.01 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ในขึ้นเนื้อวัวที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์มีจำนวนเชื้อ 3 log CFU/cm² ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 4.01 log CFU/cm² โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* ของขึ้นเนื้อวัวที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมเมื่อวันที่ 2 และ 8 จนถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษา จากมาตรฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติประเภทเนื้อโค ระบุการเก็บรักษาเนื้อโคว่าหากบรรจุในบรรจุภัณฑ์แล้ว ควรเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิภายในของเนื้อไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส แต่ต้องไม่เกิน 7 วัน โดยมีจำนวนโคลิฟอร์ม (Coliform organisms) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ต้องไม่เกิน 3.7 log CFU/g (5×10^3 CFU/g) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547) ซึ่งในงาน

ทดลองสามารถลดจำนวนโคลิฟอร์มได้ในมาตรฐานนี้คือในเนื้อวัวมีจำนวนจุลินทรีย์ในชั้นเนื้อที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินมี 3 log CFU/g ในวันที่ 16 ของการเก็บรักษา น้อยกว่าที่มาตรฐานกำหนดไว้

ในชั้นเนื้อหุ้มควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* เพิ่มขึ้นจาก 6.78 เป็น 7.34 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่ชั้นเนื้อหมูที่หุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมมีจำนวนเชื้อ 4.7 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 2.65 log CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* ของชั้นเนื้อหมูที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ กับตัวอย่างควบคุมเมื่อวันที่ 4 จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ตัดแต่งมีผลสอดคล้องกับการยับยั้งของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม กล่าวคือมีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงสุดในจุลินทรีย์กลุ่มของ *E. coli* รองลงมา คือ จุลินทรีย์กลุ่ม *coliform* โดยให้ผลในการยับยั้งที่ใกล้เคียงกันระหว่าง *Pseudomonas sp.* และ *Lactobacillus sp.* แผ่นฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ โดยลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 0.96 – 4.11 log CFU/g และเมื่อพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจสอบในชั้นเนื้อตัดแต่งที่หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา พบว่าฟิล์มเพกติน ผสมไลโปโซมสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ในเนื้อหมูตัดแต่งในกลุ่มของ Aerobic plate count *Pseudomonas sp.* และ *Lactobacillus sp.* ดีกว่าเนื้อวัว อาจเนื่องมาจาก เนื้อวัวมีความฉ่ำน้ำมากกว่าเนื้อหมู ทำให้ค่า a_w (water activity) สูง ส่งผลให้จุลินทรีย์จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่า (Lee et al., 2003) ในขณะที่ฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ในเนื้อวัวตัดแต่งดีกว่าเนื้อหมูที่ห่อหุ้มฟิล์มในกลุ่มของ *E. coli* *coliform* อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจาก ในส่วนของเนื้อวัวมีส่วนของไขมันแทรกมากกว่าในเนื้อหมูเป็นผลให้น้ำมันหอมระเหย (น้ำมันกานพลูและน้ำมันกระเทียม) ที่ถูกเก็บกักไว้ในไลโปโซมซึ่งสามารถละลายได้ดีในชั้นไขมันของอาหาร (Burt, 2004) พร้อมทั้งจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มนี้เป็นจุลินทรีย์แกรมลบซึ่งมีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่หนาและมีโครงสร้างซับซ้อนกว่าแบคทีเรียแกรมบวก คือผนังเซลล์ที่เป็น lipopolysaccharide (Lambert et al., 2001) แต่เมื่อสารที่เก็บกักถูกปลดปล่อยออกมานั้นไม่มีขั้วละลายได้ดีในชั้นไขมันในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้สามารถแพร่ผ่านและเข้าไปทำลายผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ เป็นผลให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ถูกยับยั้งการเจริญหรือถูกทำลาย (ปณิธิ ทิพยธรรม, 2550; Oussalah et al., 2004) และเมื่อพิจารณาจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count) ที่สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ได้ พบว่า เมื่อเก็บเนื้อวัวและเนื้อหมูเป็นเวลา 16 วัน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ จึงกล่าวได้ว่าเนื้อวัวสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 6

วัน และในเนื้อหมูเก็บรักษาได้มากกว่า 8 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยกลไกการปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ผสมที่ถูกเก็บกักภายในไลโปโซมแล้วถูกตรึงลงในฟิล์มเพกตินนั้นเริ่มจากเมื่อแผ่นฟิล์มสัมผัสกับตัวเนื้อสัตว์โดยตรง ส่งผลให้ความชื้นจากเนื้อสัตว์ซึมเข้าสู่แผ่นฟิล์ม ทำให้การปลดปล่อย (release) หรือการเคลื่อนย้าย (migration) ของไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสมลงสู่ผิวหน้าของเนื้อสัตว์ ความชื้นสูงที่ผิวหน้าของเนื้อสัตว์ทำให้ค่า CMC (critical micelle concentration) ลดต่ำลง ส่งผลให้ไลโปโซมค่อยๆ ปลดปล่อยสารต้านจุลินทรีย์ที่เก็บกักไว้ในลงสู่ผิวหน้าของเนื้อสัตว์ ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผิวหน้าของเนื้อสัตว์ได้

Guilbert และคณะ (1996) รายงานว่า การเจริญของจุลินทรีย์บนผิวหน้าของอาหารในบรรจุภัณฑ์มีผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร โดยอาหารที่แช่เย็น (refrigerated foods) หากมีเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ทำให้เกิดการควบแน่นของน้ำภายในบรรจุภัณฑ์ ส่งผลให้ความชื้นที่ผิวหน้าของอาหารเพิ่มมากขึ้น เป็นการเร่งการเสื่อมเสียได้เร็วขึ้น การใช้ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ทำให้ผิวหน้าของอาหารถูกป้องกันจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำไปสู่การเสื่อมเสีย โดยปัจจัยหลักของฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ คือ การเคลื่อนย้าย (migration) ของสารต้านจุลินทรีย์จากฟิล์มสู่อาหาร ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ และการรักษาคุณภาพอาหาร

Hoffman, Han และ Dawson (2001) พบว่าฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ในช่วงยาว (long-term) ในขณะที่เดียวกันการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงไปในอาหารโดยตรงมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ปานกลาง และเป็นการยับยั้งในช่วงระยะเวลาสั้น ในขณะที่ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารออกไปได้ภายหลังการบรรจุ

แต่อย่างไรก็ตามในผลการทดลอง พบว่าฟิล์มที่ผลิตได้ในงานทดลองยังคงมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีเพียงบางกลุ่ม ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการผสมสารต้านจุลินทรีย์โดยตรงลงในบรรจุภัณฑ์โดยตรงอาจมีผลในการยับยั้งที่ไม่มีประสิทธิภาพ เนื่องจาก องค์ประกอบของอาหารไปสร้างผนังป้องกัน (protection layer) ล้อมรอบแบคทีเรีย หรืออาจไปดูดซับสารต้านจุลินทรีย์เอาไว้ ทำให้ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ลดลง ทำให้มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่จำกัด (Holley and Patel, 2005; Coma, 2008) หรือการที่ผลยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อมักมีการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มากกว่าเมื่อนำไปใช้กับอาหาร เนื่องจากในตัวอาหารมีสารอาหารที่สูง ซึ่งสามารถทำให้จุลินทรีย์ที่บาดเจ็บจากสารต้านจุลินทรีย์สามารถซ่อมแซมตนเองได้ และกลับมาเพิ่มจำนวนได้อีก (Gutierrez, Barry-Ryan และ Bourke, 2008) หรืออาจเกิดจากการปลดปล่อย (release) หรือการเคลื่อนย้าย (migration) ของสารต้านจุลินทรีย์ลงสู่อาหารซึ่งมีปัจจัยหลากหลาย โดย Guilbert และคณะ (1996) ศึกษาการเคลื่อนย้าย (migration) ของโพแทสเซียมซอร์เบตและ กรดซอร์บิกจากฟิล์มผสมระหว่างเพกตินและกลูเตนใน model food system พบว่า

ปัจจัยในการเคลื่อนย้ายของสาร คือ รูปแบบการนำไปใช้กับอาหาร ชนิดของอาหาร การสัมผัสกันระหว่างอาหารกับฟิล์ม และความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารต้านจุลินทรีย์ต่ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างสูง และอุณหภูมิต่ำ ทำให้สัมประสิทธิ์การซึมผ่านลดลง และอีกทั้งการเติมส่วนผสมที่เป็นไขมัน มีผลให้ลดการซึมผ่านลงร้อยละ 50 ทำให้การเคลื่อนย้ายลดลง



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบเบื้องต้นของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียม และสารสกัดจากเปลือกทับทิม ด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดในการทดลอง คือ *Pseudomonas sp.*, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Choleraesuis*, *Lactobacillus sp.* และ *Lactobacillus sake* โดยน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ยับยั้งที่มากที่สุด ตามด้วย สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเอทานอล และ น้ำมันกระเทียม ความเข้มข้นที่เกิดไมเซลล์ของสารละลายเลซิทีนในเอทานอล คือ ร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปไลโปโซม พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายเลซิทีนร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ที่สัดส่วนระหว่างสารละลายเลซิทีนและสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสม 1:6 เป็นสภาวะที่มีความคงตัวดี และยับยั้งจุลินทรีย์ในเกณฑ์ที่ดี และปัจจัยที่ส่งผลต่อการแยกชั้นหรือความคงตัวของอิมัลชัน คือ เวลาในการเก็บรักษา ความเข้มข้นของสารละลายเลซิทีน และ ความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ เมื่อนำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพกตินโดยแปรสัดส่วนของเพกติน แคลเซียมคลอไรด์ และพลาสติกไซเซอร์ พบว่ากลีเซอรอลให้ฟิล์มที่มีค่าร้อยละการยึดตัวที่ดีและให้ฟิล์มที่ค่าต้านทานแรงดึงขาดในเกณฑ์ดี สภาวะในการทำฟิล์มเพกตินที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้กลีเซอรอลร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน เมื่อผสมไลโปโซมลงไปที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 โดยน้ำหนัก พบว่าไม่มี ความแตกต่างกันของฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกติน ยกเว้นความเข้มข้นไลโปโซมที่ ร้อยละ 4 และ 6 โดยน้ำหนัก ที่ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญในจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก เมื่อนำไปใช้ร่วมกับเนื้อสัตว์ตัดแต่ง (เนื้อวัวและเนื้อหมู) โดยห่อขึ้นเนื้อด้านบนและล่าง เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า แผ่นฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ โดยลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 0.96 – 4.11 log CFU/g ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งสูงสุดในจุลินทรีย์กลุ่มของ *E. coli* รองลงมาคือกลุ่ม coliform และให้ผลในการยับยั้งที่ใกล้เคียงกันระหว่าง *Pseudomonas sp.* และ *Lactobacillus sp.* จากการทดลองเก็บรักษาเนื้อตัดแต่งเป็นเวลา 16 วัน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ จึงกล่าวได้ว่าเนื้อวัวที่หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 6 วัน และในเนื้อหมู

ที่หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมเก็บรักษาได้มากกว่า 8 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม ซึ่งปัจจัยที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มที่ผลิตได้ คือ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น องค์ประกอบของอาหาร ระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา การเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ลงสู่ผิวหน้าอาหาร ดังนั้นกระบวนการเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในไลโปโซม โดยใช้เทคนิคดับเบิลอิมัลชันสามารถป้องกันการเสื่อมสภาพของสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากสมุนไพรได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการนำสารสกัดจากธรรมชาติชนิดอื่นๆที่มีฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้โดยใช้เทคนิคไลโปโซมเอนแคปซูเลชันเช่นกัน โดยอาจมีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของไขมันและเทคนิคหรือวิธีการเตรียมไลโปโซม ซึ่งทำให้ได้ไลโปโซมที่มีขนาดอนุภาคและประจุบนผิวแตกต่างกันได้มากมาย เพื่อเพิ่มความคงตัวและเหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารที่หลากหลาย
2. สารสกัดจากธรรมชาติที่นำมาใช้ เช่น น้ำมันกระเทียม ยังคงมีปัญหาในเรื่องกลิ่นที่แรงและกลิ่นติดภาชนะบรรจุ ทำให้ยากต่อการนำไปใช้ อาจมีการเปลี่ยนแปลงสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อให้สามารถเข้ากับกลิ่นรสของอาหารได้ เช่น น้ำมันสาระแน
3. ฟิล์มเพกตินที่ผลิตได้ ยังคงมีสมบัติบางข้อที่ยังด้อยอยู่ เช่น ค่าการซึมผ่านไอน้ำยังคงมีค่าสูง อาจต้องพัฒนาและเสริมสมบัติของฟิล์มต่อไป
4. ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ ยังคงมีจำกัด โดยเฉพาะในการยับยั้ง *Pseudomonas sp.* ที่เป็นจุลินทรีย์หลักที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ ดังนั้นอาจมีการพัฒนาหรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติของฟิล์มเพื่อเพิ่มการเคลื่อนย้ายของสารต้านจุลินทรีย์ หาสารสกัดจากธรรมชาติชนิดอื่นๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ตรีชฎา ศิริรักษ์, ถนอมจิต สุภาวิตา, กานดา ปานทอง และศุภยงค์ วรวิมลคุณชัย. 2548.ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิม (*Punica granatum* L.) ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคกลุ่ม Gram-negative bacilli. *วารสารสงขลานครินทร์* 27(2): 535-544.
- ปณิธี ทิพย์ธรรม. 2550. การพัฒนาฟิล์มต่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พยอม ดันดีวัฒน์. 2527. เครื่องเทศ. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิมพ์ใจ อมรศิริรัตนกุล. 2543. ไมโครเอนแคปซูเลชันของฟ้าทะลายโจร *Andrographis paniculata* โดยใช้พอลิเมอร์ชีวภาพชนิดละลายน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พรเพ็ญ คงเยี่ยมพิธี. 2550. ความคงตัวของสารสกัดมะขามป้อมในลิโพโซม. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ภานุวัฒน์ สรรพกุล. 2547. การบรรจุอาหารแบบต่อยับยั้งจุลินทรีย์. *วารสารบรรจุภัณฑ์ไทย* ตุลาคม-ธันวาคม: 33-39.
- มณฑาทิพย์ ยูนฉลาด. 2535. ฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้. *อาหาร* 22(1): 42-48.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2549. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- ธวัชชัย แพชมัด. 2547. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยและนำส่งยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. นครปฐม: ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- สุขใจ ชูจันทร์. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ โครงการตำราสถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: จามจุรีโปรดักท์.

- สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. 2538. สมุนไพรที่ใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2547. มาตรฐานเนื้อโค. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2547. มาตรฐานเนื้อสุกร. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- วรรณภา ตูลย์ธัญ. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง และ สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา. 2548. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร โครงการตำราสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อรัญญา มโนสร้อย และ จีระเดช มโนสร้อย. 2545. ไลโปโพรตีนและเครื่องสำอาง. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ภาษาอังกฤษ

- Ahmad, I., Mehmood, Z., and Mohammad, F. 1998. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. Journal of Ethnopharmacology 62: 183–193.
- Alanis, A. D., Calzada, F., Cervantes, J. A, Torres, J. and Ceballos, G. M. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. Journal of Ethnopharmacology 100: 153-157.
- Ankri, S. and Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection 2: 125-129.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis of The Association of Official Agricultural Chemistry International. vol 2, 17th ed. Gaithersburg: The Association of Official Agricultural Chemistry (AOAC) International.
- Appendini, P. and Hotchkiss, J. H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technology 3: 113-126.

- Arora, D. S. and Kaur, J. 1999. Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobial agents 12: 257-262.
- Arvanitoyannis, I., Nakayama, A. and Aiba, S. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: State diagrams, mechanical and permeation properties. Carbohydrate Polymers 37: 371-382.
- ASTM. 1999. Annual book of ASTM standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Aymerich, T., Picouet, P. A. and Monfort, J. M. 2008. Decontamination technologies for meat products. Meat Science 78: 114 – 129.
- Banker, G. S. 1966. Film coating theory and practice. Journal of Pharmaceutical Science 55(1): 81-89.
- Bakan, J. A. 1994. Encyclopedia of Pharmaceutology. Volume 9. New York: Marcel Dekker
- Barenholz, Y. 2003. Relevancy of drug loading to liposomal formulation therapeutic efficacy. Journal of Liposome Research 13(1): 1-8.
- Barenholz, Y., Gibbes, D., Litman, B. J., Goll, J., Thompson, T. E. and Carlson, R. D. 1977. A simple method for the preparation of homoeneous phospholipid vesicles. Biochemistry 16: 2806-2810.
- Ben, A. and Kurth, L. B. 1995. Edible film coatings for meat cuts and primal. The Australian Meat Industry Research Conference, pp. 167-174. Australian: CSIRO.
- Branan, B., Butcher, J. T. and Olsen, L. R. 2007. The Ozonolysis of Eugenol. Journal of Chemical Education 19:79-86.
- Buffo, R. A. and Holley, R. A. 2005. Innovations in Food Packaging Amsterdam: Elsevier.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods— a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223-253.
- Cagri, A., Ustunol, Z. and Ryser, E. T. 2001. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein based-edible film containing *p*-aminobenzoic or sorbic acid. Journal of Food Science 66(6): 865-870.

- Cao, N., Yang, X. and Fu, Y. 2009. Effect of various plasticizer on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. Food Hydrocolloids 23: 729-735.
- Cha, D. S., Choi, J. H., Chinnan, M. S. and Park, H. J. 2002. Antimicrobial film based on Na-alginate and K-carrageenan. Lebensmittele-Wissenschaft und-Technologie 36: 715-719.
- Chacon, P. A., Buffo, R. A., and Holley, R. A. 2006. Inhibitory effects of microencapsulated allyl isothiocyanate (AIT) against *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated, nitrogen packed, finely chopped beef. International Journal of Food Microbiology 107: 231-237.
- Choi, S. W. and Han, H. J. 2001. Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible film. Journal of Food Science 66(2): 319-322.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N. and Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. Food Microbiology 24: 607-617.
- Coma, V. 2008. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. Meat Science 78: 90-103.
- Cooksey, K. 2001. Antimicrobial food packaging material. Additives for Polymer 22: 6-10.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Review 12(4): 564-582.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizer. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 622-626.
- Cutter, C. N. 2006. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. Meat Science 74: 131-142.
- Cutter, C. N. and Sumner, S. S. 2002. Application of edible coating on muscle foods. In A. Gennadios (Ed.), Protein-based films and coatings, pp. 467-484. Florida: CRC Press.

- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A. and Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. Critical Reviews in Food Science 38(4): 299–313.
- Del Nobile, M. A., Conte, A., Incoronato, A. L. and Panza, O. 2008. Antimicrobial efficacy and release kinetics of thymol from zein films. Journal of Food Engineering 89: 57-63.
- Devlieghere, F., Vermeriren, L. and Debevere, J. 2004. New preservation technologies: Possibilities and limitations. International Dairy Journal 14: 273 – 285.
- Donhowe, G. I., and Fennema, O. R. 1994. Edible film and coating: Characteristics, formation, definitions, and testing methods. In Krochta, M.J., Baldwin, A. E., and Nisperos-Carriedo, O.M. (eds.), Edible coating and film to improve food quality Pennsylvania: Technomic Company
- Dorman, H. J. D. and Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agent from plant: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308-316.
- Edwards, K. A. and Baumner, A. J. 2006. Analysis of liposome. Talanta 68: 1432-1441.
- Ercolini, D., Ruso, F., Torrieri, E., Masi, P. and Villani, F. 2006. Changes in the spoilage -related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. Applied and Environmental Microbiology 72: 4663–4671.
- Finch, C. A. 1993. Encapsulation and control release. Cambridge: The royal society of chemistry.
- Fielding, R. M. 1991. Liposome drug delivery. Clinical Pharmacokinetic 21(3): 155-164.
- Francis, F. J., 1983. Colorimetry of foods. In: Peleg, M., Bagley, E.B.(Eds.), Physical Properties of Foods. Westport, CT: AVI Publishing.
- Fu, J. T. and Rao, M. A. 1999. The influence of sucrose and sorbitol on gel–sol transition of low-methoxyl pectin + Ca²⁺ gels. Food Hydrocolloids 13: 371–380.
- Gemili, S., Yemenicioglu, A. and Altinkaya, S. A. 2009. Development of cellulose acetate based antimicrobial food packaging materials for controlled release of lysozyme. Journal of Food Engineering 90: 453-462.

- Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A. and Froning, G. W. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumin films. Journal of Food Science 61: 585-591.
- Gennadios, A., Hanna, M. A. and Kurth, L.B. 1997. Application of edible film coating on meat, poultry and seafoods: a review. Lebensmittele-Wissenschaft und-Technologie 30: 337-350.
- Gennadios, A., Rhim, J. W., Handa, A., Weller, C. L. and Hanna, M. A. 1998. Ultraviolet radiation affect physical and molecular properties of soy protein films. Journal of Food Science 63: 225-228.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I. and Mulligan. 1999. Encapsulation in food industry: a review. International Journal of Food Science and Nutrition 55(3): 213-224.
- Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J. L. 1993. Water and glycol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of edible wheat gluten film. Journal of Food Science 58(1): 206-211.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible film. In M. Mathlouthi (ed.), Food packaging and preservation theory and practice. London: Elsevier Applied Science Publisher.
- Guilbert, S. and Biquet, B. 1996. Edible film and coatings. In Bureau, G., and Multon. Food Packaging Technology, pp.162-173. New York: Wiley-VCH.
- Guilbert, S., Gontard, N. and Gorris, L. G. M. 1996. Prolongation of shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coating. Lebensmittele-Wissenschaft und-Technologie 29: 10-17.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. and Bourke, R. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. International Journal of Food Microbiology 124: 91-97.
- Han, J. H. 2000. Antimicrobial food packaging. Food Technology 54: 56-65.
- Han, J. H. 2003. Antimicrobial food packaging. In Novel Food Packgeing Technologies, pp. 50-70. Florida: CRC Press.
- Han, J. H. 2005. Antimicrobial packaging system. Innovation in food packaging. London: Elsevier.

- Hao, Y. Y., Brackett, R. E. and Doyle, M. P. 1998. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated beef. Journal of Food Protection 61: 307-312.
- Hernández-Muñoz, P., López-Rubio, A., Del-Valle, V., Almenar, E. and Gavara, R. 2004. Mechanical and water barrier properties of glutenin films influenced by storage time. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 79-83.
- Hiemenz, P. C. 1977. Principles of Colloids and Surface Chemistry. Marcel Dekker: Inc. N.Y.
- Hernandez, E. 1994. Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, P.A.: Technomic Publishing Co.
- Hill, K., Kaszuba, M., Creeth, J. and Jone, M. 1997. Reactive liposome encapsulation a glucose oxidase-peroxidase system with antibacterial activity. Biochimica et Biophysica Acta 1326: 37-46.
- Hoffman, K. L., Han, I. Y. and Dawson, P. L. 2001. Antimicrobial effect of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid, and EDTA. Journal of Food Protection 67: 885-889.
- Holley, R. A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobial. Food Microbiology 22: 273-292.
- Jeyamkondan, W., Jayas, D. S. and Holley, R. A. 2000. Review of centralized packaging system for distribution of retail-ready meat. Journal of Food Proteins 63: 796-804.
- Kang, H. J., Jo, C., Lee, N. Y., Kwon., J. H. and Byun, M. W. 2005. A combination of gamma irradiation and CaCl₂ immersion for a pectin-based biodegradable film. Carbohydrate Polymers 60: 547-551.
- Kester, J. J. and Fennema, O. 1989. An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. Journal of Food Science 54: 1383-1389.
- Kim, Y. D., An, D., Park, H., Park, J. and Lee, D. S. 2002. Properties of nisin incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging material. Packaging Technology and Science 15: 247-254.

- Koutsoumanis, K. P., Ashton, L. V., Geornaras, I., Belk, K. E., Scanga, J. A. and Kendall, P. A. 2004. Effect of single or sequential hot water and lactic acid decontamination treatments on the survival and growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage microflora during aerobic storage of fresh beef at 4, 10, and 25 °C. Journal of Food Protection 67: 2703–2711.
- Kristo, E., Koutsoumanis, K. P. and Biliaderis, C. G. 2008. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. Food Hydrocolloids 22: 373–386.
- Kunte, L. A., Gennadios, A., Cuppett, S. L., Hanna, M. A. and Weller, C. L. 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. Cereal Chemistry 74: 115-118.
- Labell, F. 1991. Edible packaging. Food Processing 24: 52-64.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J. and Nychas, G. J. E. 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, K. T., Choi, W. S. and Yoon, C. S. 2003. Effect of micro-perforated film on quality and shelf life improvements of pork loins during chilled storage. Meat Science 66: 77-82.
- Lee, J. W., Son, S. M. and Hong, H. I. 2008. Characterization of protein-coated polypropylene films as a novel composite structure for active food packaging application. Journal of Food Engineering 86: 484–493.
- Li, B., Kennedy, J. F., Peng, J. L., Yie, X., Xie, B. J. 2006. Preparation and performance evaluation of glucomannan-chitosan-nisin ternary antimicrobial blend film. Carbohydrate polymers 65: 488-494.
- Liang, M. T., Davies, N. M. and Toth, I. 2005. Encapsulation of lipopeptides within liposomes: Effect of number of lipid chains, chain length and method of liposome preparation. International Journal of Pharmaceutical 301: 247–254.
- Liolios, C. C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J. and Chinou, I. 2009. Liposome incorporation of cavacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and *in vitro* antimicrobial activity. Food Chemistry 112: 77-83.

- Mahmound, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shik, S., Suk, C. D. and Suzuki, T. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compound. Food Microbiology 21: 657-666.
- Mali, S., Grossman, M. V. E., Garcia, M. A., Martino, M. N. and Zaritzky, N. E. 2004. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydrate Polymers 56: 129-135.
- Mali, S., Sakanaka, L.S., Yamashita, F. and Grossman, M. V. E. 2005. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. Carbohydrate Polymers 60: 283-289.
- Mathiowitz, E., Kreitz, M. and Peppas, B. Encyclopedia of controlled drug delivery. Volume 2. New York: John Wiley and sons.
- Marriott, N. G., Smith, G. C., Hoke, K. E. and Carpenter, Z. L. 1977. Short-term transoceanic shipments of fresh beef. Journal of Food Science 42: 321-325.
- Mauriello, G., Luca, E. D., Storia, A. L., Villani, F. and Ercolini. 2005. Antimicrobial activity of a nisin activated plastic film for food packaging. Letters in Applied Microbiology 41: 464-469.
- McHugh, T. H., Aujard, F. J., and Krochata, M. J. 1994. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. Journal of Food Science 59(2): 416-429.
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M. 1994. Sorbitol- vs. glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural Food Chemistry 42: 841-845.
- McHugh, T.H. and Senesi, E. 2000. Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. Journal of Food Science 65: 480-485.
- Mohnen, D. 2008. Pectin structure and biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology 11: 266-277.
- Norziah, M. H., Kong, S. S., Abd Karim, A. and Seow, C. C. 2001. Pectin-sucrose-Ca²⁺ interactions: effects on rheological properties. Food Hydrocolloids 15:491-498.

- Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N. and Tassou C. C. 2003. Antimicrobials from herbs and spices. In Roller S. (ed.), Natural antimicrobial for the minimal processing of foods, pp. 125-167. Cambridge: Woodhead Publishing limited.
- Nussinovitch, A. 1997. Hydrocolloids applications : gum technology in the food and other industries. London: Blackie Academic & Professiona.
- Olivas, G. I. and Barbosa-Ca'novas, G. V. 2008. Alginate-calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. Lebensmittele-Wissenschaft und-Technolgie 41: 359-366.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P. and Begin, A. 1997. Antibacterial activity of elected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. International Journal of Food Microbiology 37: 155– 162.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L., and Lacroix, M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 5598–5605.
- Quintavalla, S. and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science 62: 373-380.
- Park, S. I. and Zhao, Y. 2004. Incorporation of high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. Journal Agricultural and Food Chemistry 52: 1933–1939.
- Park, S. I. and Zhao, Y. 2006. Development and characterization of edible films from cranberry pomace extracts. Journal of Food Science 71:95-101.
- Parris, N., Coffin, D. R., Joubran, R. F. and Pessen, H. 1995. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43: 1432–1435.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K. and Salokhe, V. M. 2005a. Enchancing antimicrobial activity of chitosan film by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. Lebensmittele-Wissenschaft und-Technolgie 38: 859–865.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K. and Salokhe, V. M. 2005b. Physical and antimicrobial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food Research International 38: 267-272.

- Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C. and Roura, S. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 36: 679–684.
- Ponce, A. G., Roura, S. I., Del Valle, C. E. and Moreira, M. R. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. Postharvest Biology and Technology 49: 294-300.
- Pourkavoos, N. 1992. Antimicrobial activity of cephaloridine in presence of crude and purified preparations of bacterial β -lactamases before and after liposome encapsulation. International Journal of Pharmaceutical 82: 53-60.
- Purohit V. S. and Balasubramanian S. V. 2006. Interaction of Dicaproyl Phosphatidylserine With Recombinant Factor VIII and Its Impact on Immunogenicity. American Association of Pharmaceutical Scientists Journal 8(2): 362-370.
- Redelmeier, T. 2001. Liposome: formulation, method of manufacture, and evaluation. Oxford: Oxford University Press.
- Rhim, J. W. 2004. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 37: 323–330.
- Rivero, S., Gariá, M. A. and Pinotti, A. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. Journal of Food Engineering 90:531-539.
- Robertson, G. L. 1993. Food packaging principle and practice. New York: Marcel Dekker.
- Rojas-Grau, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H. and Martin-Belloso, O. 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.
- Rotta, J., Oz'orio, R. A., Kehrwald, A. M., Mariz de Oliveria Barra, G., Dias de Melo Castanho Amboni, R. and Barreto, P. L. M. 2009. Parameter of color, transparency, water solubility, wettability and surface free energy of chitosan/hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) films plasticized with sorbitol. Material Science and Engineering Control 29: 619-623.

- Rukholm, G., Mugeba, C., Azghani A. and Omri, A. 2006. Antibacterial activity of liposome gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa* : a time-kill study. International Journal of Antimicrobial Agents 27: 247-252.
- Sagoo, S., Board, R. and Roller, S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. Food Microbiology 19: 175-182.
- Santiago-Silva, P., Soares, N. F. F., Nobrega, J. E., Junior, M. A. W., Barbosa, K. B. F., Volp, A. C. P., Zerdas, E. R. M. A. and Wurlitzer, N. J. 2009. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA[®] 2351) on preservation of sliced ham. Food Control 20: 85-89.
- Seydim, A. C. and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International 39: 639-644.
- Schultz T. H., Miers, J. C., Owens. H. S. and Maclay, W. D. 1949. Permeability of pectinate films to water vapor. Journal of Physical Colloids Chemistry 53: 1320-1330.
- Shaw, N. B., Monahan, E. J., O'Riordan, E. D. and O'Sullivan, M. 2002. Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. Journal of Food Science 67: 164-167.
- Shoji, Y. and Nakashima, H. 2004. Nutraceuticals and delivery systems. Journal of Drug Targeting 12(6): 385-391.
- Silva, M. A., Bierhalz, A. C. K. and Kieckbusch, T. G. 2009. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: effect of the plasticizer concentration. Carbohydrate Polymers In press.
- Siragusa, G. R., Cutter, C. N. and Willet, J. L. 1999. Incorporation of bacteriocin in plastic retains activity and inhibits surface growth on meat. Food Microbiology 16: 229-235.
- Siripongvutikorn, S., Thummaratwasikb, P. and Huangc, Y.W. 2005. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. Lebensmittelwissenschaft und-Technologie 38 : 347-352.

- Sivarooban, T., Hettiarachchy, N. S. and Johnson, M. G. 2008. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein films. Food Research International 41:781-785.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against important food-borne pathogen. Letter in Applied Microbiology 26: 118-122.
- Sothornvit, R. and Krochta, J. M. 2001. Plasticizer effect on mechanical properties of beta-lactoglobulin films. Journal of Food Engineering 50: 149-155.
- Sriamornsak, P and Kennedy, R. A. 2006. A novel gel formation method, microstructure and mechanical properties of calcium polysaccharide gel film. International Journal of Pharmaceutical 323: 72-80.
- Talja, R. A., Hele'n, H., Roos, Y. H. and Jouppila, K. 2007. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. Carbohydrate Polymers 67: 288-295.
- Thomazine, M., Carvalho, R. A. and Sobral, J. A. 2005. Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. Journal of Food Science 70: 172-176.
- Vemuri, S. and Rhodes, C. T. 1995. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. Pharmaceutica Acta Helveticae 70: 95-111.
- Voet, D. and Voet, G. J. 1995. Biochemistry. 2nd ed. New York: John Wiley and son.
- Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T.,Phongpaichit, S. and Supawita, T. 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Ethnopharmacology 94: 49-54.
- Walde, P. and Ichikawa, S. 2001. Enzymes inside lipid vesicles: preparation, reactivity and Applications. Biomolecular Engineering 18: 143-177.
- Wang, T., Deng, Y., Geng, Y., Gao, Z., Zou, J. and Wang, Z. 2006. Preparation of submicron unilamellar liposome by freeze-drying double emulsions. Biochimica et Biophysica Acta 1758: 222-231.
- Young, S., Sarda, X. and Rosenberg, M. 1993. Microencapsulating properties of whey protein. Journal of Dairy Science 76: 2878-2885.

- Zhang, Y. and Han, J. H. 2006. Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. Journal of Food Science 71: 253–261.
- Zivanovic, S., Chi, S. and Draughon, A. F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan film enriched with essential oils. Journal of Food Science 70: 45-51.
- Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P. and Biliaderis, C. G. 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. Meat Science In press.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีการทดสอบสมบัติต่างๆของฟิล์ม

ก.1 การวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (Film thickness)

วัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (3 x 15 เซนติเมตร) ก่อนนำไปทดสอบค่าความต้านทานแรงดึงและร้อยละการยืดตัวของฟิล์มโดยใช้เครื่อง micrometer (Dial Thickness Gauge 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan; 0.01 μm limit) วัดฟิล์มละเก้าตำแหน่ง จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

ก.2 การตรวจสอบค่าความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดตัวของฟิล์ม (Tensile strength and elongation)

วัดค่าความต้านทานแรงดึงและร้อยละการยืดตัวของฟิล์มโดยใช้เครื่อง Intron Texture Analyzer (Intron 5565, USA) หัววัด tensile grip ซึ่งประกอบด้วยหัวทดสอบที่มีลักษณะเป็นหัวหนีบ 2 หัว ตั้งระยะห่างกัน 5 เซนติเมตร โดยใช้ขึ้นตัวอย่างที่มีขอบเรียบจำนวน 10 ชิ้นให้มีความกว้าง 3 เซนติเมตรและยาว 15 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างที่ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ เครื่องทดสอบอ่านค่าแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างออกมาในหน่วยของ gram force (gf) และระยะทางที่สามารถดึงฟิล์มยืดออกไปได้ในหน่วยมิลลิเมตร จากนั้นนำค่าแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างมาเปลี่ยนเป็นหน่วยนิวตันแล้วมาคำนวณและรายงานค่าการต้านทานแรงดึงในหน่วยนิวตันต่อตารางเมตรหรือเมกกะปาสคาล (MPa) และค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์ม ตามลำดับ

$$\text{การต้านทานแรงดึงขาด (MPa)} = \frac{\text{ค่าแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่าง (N)}}{\text{ความกว้าง (m)} \times \text{ความหนา (m)}}$$

$$\text{ค่าร้อยละการยืดตัว (\%)} = \frac{\text{ระยะยืดตัวของขึ้นทดสอบ} \times 100}{\text{ความยาวเดิมของขึ้นตัวอย่างระหว่างหัวทดสอบ}}$$

ก.3 การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม (Water Vapor Permeability)

ทดสอบตามวิธีมาตรฐาน ASTM E 96-95 (1999) โดยมีการดัดแปลงเล็กน้อย ดังนี้ นำชิ้นตัวอย่างแผ่นฟิล์มขนาด 5 x 5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 4 ชิ้น โดยตัวอย่างต้องปราศจากรอยขีดข่วน รอยพับ และรูรั่วที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เก็บตัวอย่างที่ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 50 ± 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ โดยการทดสอบใช้ซิลิกาเจลที่ผ่านการอบแห้ง(น้ำหนักซิลิกาเจลประมาณ 10.6 ± 1.00 กรัม) ลงในถ้วยทดสอบ ทาซิลิโคน กรีส บริเวณปากให้ทั่ว แล้วนำฟิล์มตัวอย่างมาวางปิดปากด้วย รััดด้วยแผ่นพาราฟิน ซึ่งน้ำหนักอย่างละเย็ด วางขวดทดสอบลงใน Desiccator ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บที่อุณหภูมิห้องโดยเฉลี่ย 30 ± 3 องศาเซลเซียส จากนั้นชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปของขวดทดสอบทุก 1 ชั่วโมงเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาคำนวณค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

$$\text{ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม} = \frac{w \times L}{[A \times t \times (\Delta p)]}$$

โดย w คือ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (g)

L คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (m)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ศึกษา (m²)

t คือ เวลาที่แตกต่างของน้ำหนักขวดคงที่ (s)

Δp คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ทั้งสองด้านของแผ่นฟิล์ม (Pa)



รูปที่ ก.1 ชุดทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำประกอบด้วย ถ้วยทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำ (A) และเดซิเคเตอร์ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน (B)

ก.4 การวัดค่าสีและค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม (Film color and film opacity)

ทดสอบตามวิธีของ Rivero และคณะ (2009) ดังนี้ นำชิ้นตัวอย่างแผ่นฟิล์มขนาด 5 x 5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น เก็บตัวอย่างที่ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter model CR-300 (Osaka, Japan) โดยตั้งค่าแหล่งแสงแบบ C หรือแสงธรรมชาติในการวัด โดยวางแผ่นฟิล์มตัวอย่างลงบนแผ่นมาตรฐานสีขาว (L_0^* : 93.2 ; a_0^* : 0.3133; b_0^* : 0.3192) แล้วใช้เครื่องวัดสีในระบบ Lab โดยวัดแผ่นฟิล์มละสี่ตำแหน่ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยในหนึ่งแผ่น คำนวณค่าที่ได้ในค่าของความต่างของสี (color differences; ΔE)

$$\text{ค่าของความต่างของสี (color differences ; } \Delta E) = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

โดยค่า $\Delta L^* = L^* - L_0^*$; $\Delta a^* = a^* - a_0^*$; $\Delta b^* = b^* - b_0^*$ ซึ่งค่า L_0^* , a_0^* , b_0^* คือ ค่าสีที่วัดได้จากแผ่นมาตรฐานสีขาว และค่า L^* , a^* , b^* คือ ค่าสีที่วัดได้จากแผ่นฟิล์มตัวอย่าง

วัดความขุ่นของแผ่นฟิล์ม ดังนี้ นำชิ้นตัวอย่างแผ่นฟิล์มขนาด 5 x 5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น เก็บตัวอย่างที่ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ ตัดเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า (1 x 5 เซนติเมตร) วางลงใน quartz spectrophotometer cell จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (V-530PC, Japan) วัดแผ่นฟิล์มละห้าซ้ำ จากนั้นจึงคำนวณค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม

$$\text{ค่าความขุ่นของแผ่นฟิล์ม (opacity)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm} \times \text{ความยาวของคลื่น (nm)}}{\text{ความหนาของแผ่นฟิล์ม (}\mu\text{m)}}$$

ก.5 การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและรูปตัดขวางของฟิล์มโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นำชิ้นตัวอย่างแผ่นฟิล์มขนาด 5 x 5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น เก็บตัวอย่างที่ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ วางตัวอย่างแผ่นฟิล์มบนแท่งทองเหลืองที่ติดเทปกาวสองหน้า เพื่อส่องดูพื้นผิวหน้าเรียบ และติดตัวอย่างแผ่นฟิล์มใน

ลักษณะตั้งจากบนแท่งสำหรับวางตัวอย่างเพื่อส่องดูรูปตัดขวาง โดยใช้วิธีฉีกแผ่นฟิล์มแทนการตัดด้วยกรรไกร แล้วนำไปฉาบทองด้วยเครื่องฉาบทอง แล้วจึงนำตัวอย่างแผ่นฟิล์มมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-5410 LV , Japan)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ข

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การตรวจวัดจุลินทรีย์

ข.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อตัดแต่ง

นำเนื้อวัวและหมูตัดแต่งที่หุ้มและไม่หุ้มด้วยฟิล์มที่มีสารต้านจุลินทรีย์ในรูปไลโปโซม เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษาที่ต่างกัน มาเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ดังนี้

1. ใช้ปากคีบจุ่มเอธานอลแล้วลนไฟฆ่าเชื้อ คีบตัวอย่างแล้วใช้กรรไกรที่ลนไฟฆ่าเชื้อ แล้วตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็กๆ โดยสุ่มตัดตัวอย่างที่ตำแหน่งต่างๆให้ทั่วถึง
2. ตักหรือคีบตัวอย่างที่ตัดไว้แล้วลงในถุงพลาสติกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อจนได้น้ำหนักตัวอย่าง 25 กรัม
3. ใส่น้ำยาสำหรับเจือจาง (0.1 % peptone) 225 มิลลิลิตร ลงในถุงที่ซั้งตัวอย่างใส่ไว้แล้ว
4. นำถุงพลาสติกเข้าเครื่อง stomacher นาน 30 วินาที ได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางเป็น 1:10 หรือ 10^1
5. เจือจางตัวอย่างตามลำดับ โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดน้ำยาสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex mixer) ได้ตัวอย่างที่มีระดับการเจือจาง 1:100 หรือ 10^2
6. เจือจางทำนองเดียวกันได้ตัวอย่างที่เจือจางเป็นลำดับ ลำดับละ 10 เท่า

ข.2 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ aerobic plate count (APC) โดยวิธี viable plate count

โดยใช้วิธีการตรวจนับโดยวิธี Spread plate ดังนี้

1. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ข้ามคืนหรือจนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งสนิท
2. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเนื้อตัดแต่งที่เจือจางแล้ว แต่ละระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 0.1 มิลลิลิตร สองซ้ำ

3. ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมจุ่มเอธานอลเผาไฟฆ่าเชื้อ แล้วเกลี่ยตัวอย่างอาหารให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ
4. คั่วจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง
5. ตรวจนับจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี จากนั้นจึงคำนวณโคโลนีต่อกรัม ตัวอย่าง (CFU/g) โดยคูณกลับด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ

๓.3 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Lactic acid bacteria*

โดยใช้วิธีการตรวจนับโดยวิธี Pour plate ดังนี้

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเนื้อตัดแต่งที่เจือจางแล้ว แต่ระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร สองซ้ำ
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ lactobacilli MRS agar ที่หลอมแล้วอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ทับลงบนตัวอย่างอาหารในจานเพาะเชื้อ โดยควรเทอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 10 นาที หลังจากดูดตัวอย่างใส่จานเพาะเชื้อเพื่อกันไม่ให้ตัวอย่างในจานเพาะเชื้อแห้ง ซึ่งทำให้เชื้อเจริญติดกันเป็นกลุ่ม เป็นผลให้นับจำนวนโคโลนีไม่ได้
3. ใช้มือเขย่าจานเพาะเชื้อหมุนวน ช้าสลับขวาเพื่อให้เชื้อกระจายตัว จากนั้นทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
4. คั่วจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง ใน anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจนออก
5. ตรวจนับจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี จากนั้นจึงคำนวณโคโลนีต่อกรัม ตัวอย่าง (CFU/g) โดยคูณกลับด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ

๓.4 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ coliform

โดยใช้แผ่นตรวจวิเคราะห์เชื้อ *E.coli/Coliform* Count Plate (3M Petrifilm, USA) โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเนื้อตัดแต่งที่เจือจางแล้ว แต่ระดับความเจือจางลงในแผ่นตรวจวิเคราะห์เชื้อ แผ่นละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละสองแผ่น ใส่ตัวอย่างให้อยู่ตรงกลางของแผ่นตรวจวิเคราะห์เชื้อ ใช้แผ่นกดให้ตัวอย่างอาหารกระจายทั่วแผ่นตรวจวิเคราะห์เชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสนาน 24 ± 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงตรวจนับจำนวนโคโลนี โดยโคโลนีที่เจริญให้สีน้ำเงินและเกิดฟองแก๊ส คือ *Escherichia coli* ส่วนโคโลนีที่เป็นสี

แดงและเกิดฟองแก๊ส คือ แบคทีเรียกลุ่ม coliform จากนั้นจึงคำนวณโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g) โดยคูณกลับด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ

๒.5 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.* (Oxoid manual, 2001)

โดยใช้วิธีการตรวจนับโดยวิธี Spread plate ดังนี้ โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas* agar base ที่ผสม *Pseudomonas* C-F-C Supplement ลงในจานเพาะเชื้อ ที่ใส่ไข่ต้มหรือจนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งสนิท ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเนื้อตัดแต่งที่เจือจางแล้ว แต่ระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 0.5 มิลลิลิตร สองซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมจุ่มเอธานอลเผาไฟฆ่าเชื้อ แล้วเกลี่ยตัวอย่างอาหารให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ คั่วจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปป่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมงตรวจนับจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี จากนั้นจึงคำนวณโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g) โดยคูณกลับด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ค

ผลการทดสอบสมบัติต่างๆของฟิล์มเพกตินและผลการประเมินฤทธิ์
ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค1 ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่ความเข้มข้นเพกตินและแคลเซียมคลอไรด์ต่างๆกัน

สภาวะของฟิล์ม	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	Thickness (mm)	TS (MPa)	EAB (%)	WVP ($\times 10^{-6} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)	L*	a*	b*	ΔE	Film opacity ($\text{Au} \times \text{nm/mm}$)
Pectin 2.5 %	0.0171±0.002 ^a	36.787 ±4.42 ^k	4.55 ±0.34 ^{abc}	1.256 ±0.093 ^a	96.09±0.19	0.10±0.01	3.01±0.32	1.707±0.15 ^a	0.993 ±0.24 ^a
Pectin 2.5 % / Ca 3 %	0.0291±0.002 ^{bc}	29.467 ±3.43 ⁱ	5.79 ±0.62 ^{cde}	2.497 ±0.24 ^{ab}	95.9±0.14	0.11±0.01	3.34±0.28	2.016±0.24 ^{ab}	1.739 ±0.08 ^{ef}
Pectin 2.5 % / Ca 5 %	0.029±0.002 ^a	15.211 ±1.52 ^{ef}	5.55 ±0.57 ^{bode}	3.528 ±0.23 ^b	95.53±0.2	0.11±0.01	4.01±0.21	2.435±0.15 ^{cde}	1.406 ±0.07 ^{bode}
Pectin 2.5 % / Ca 7 %	0.0347±0.002 ⁱ	8.208 ±0.77 ^{abc}	10.57 ±0.61 ^g	7.342 ±0.73 ^e	95.23±0.2	0.09±0.01	4.4±0.2	2.748±0.25 ^{efg}	1.097 ±0.12 ^{ab}
Pectin 2.5 % / Ca 10 %	0.0417±0.004 ^{gh}	4.935 ±0.27 ^a	12.993 ±0.95 ^h	8.991 ±0.32 ^{fg}	95.353±0.33	0.11±0.01	4.63±0.29	3.11±0.38 ^{fg}	0.982 ±0.15 ^a
Pectin 3 %	0.02±0.002 ^b	40.914 ±3.67 ^{lm}	4.45 ±0.42 ^{abc}	4.533 ±0.48 ^c	95.95±0.41	0.10±0.01	3.17±0.13	1.989±0.12 ^{ab}	1.085 ±0.15 ^{ef}
Pectin 3 % / Ca 3 %	0.0232±0.003 ^c	32.68 ±3.06 ^j	5.683 ±0.5 ^{cde}	4.705 ±0.3 ^{cd}	95.84±0.11	0.15±0.01	3.83±0.085	2.841±0.02 ^{abcde}	1.838 ±0.14 ⁱ
Pectin 3 % / Ca 5 %	0.0333±0.002 ⁱ	18.319 ±1.53 ^{fg}	5.138 ±0.57 ^{abcd}	4.862 ±0.41 ^{cd}	95.46±0.25	0.08±0.01	4.42±0.25	3.143±0.34 ^{defg}	1.414 ±0.13 ^{bode}
Pectin 3 % / Ca 7 %	0.0417±0.004 ^{gh}	9.181 ±0.85 ^{bc}	9.73 ±0.57 ^g	7.563 ±0.069 ^{fg}	95.55±0.17	0.10±0.01	4.61±0.3	3.343±0.33 ^{efg}	1.345 ±0.1 ^{abcde}
Pectin 3 % / Ca 10 %	0.0445±0.004 ^h	5.067 ±0.32 ^a	10.71 ±0.34 ^g	10.444 ±0.39 ^h	95.51±0.26	0.05±0.01	4.68±0.32	3.273±0.09 ^{fg}	1.186 ±0.1 ^{abc}
Pectin 3.5 %	0.0251±0.002 ^{cd}	43.755 ±4.70 ^{mn}	3.96 ±0.39 ^{ab}	5.743 ±0.48 ^d	95.75±0.2	0.23±0.01	3.4±0.25	2.295±0.29 ^{abc}	1.125 ±0.13 ^{abc}
Pectin 3.5 % / Ca 3 %	0.0347±0.003 ⁱ	36.234 ±3.18 ^k	3.738 ±0.3 ^a	7.222 ±0.77 ^e	96.06±0.16	0.04±0.01	4.30±0.25	3.233±0.3 ^{bode}	1.759 ±0.07 ^{ef}
Pectin 3.5 % / Ca 5 %	0.0353±0.003 ⁱ	21.589 ±1.77 ^{gh}	4.183 ±0.45 ^{abc}	8.121 ±0.48 ^{ef}	95.31±0.23	0.04±0.01	4.62±0.35	3.22±0.3 ^{fg}	1.72 ±0.03 ^{def}
Pectin 3.5 % / Ca 7 %	0.0423±0.004 ^{gh}	11.153 ±0.6 ^{cd}	6.773 ±0.62 ^{def}	8.877 ±0.72 ^{fg}	95.033±0.22	0.08±0.01	4.6±0.34	3.476±0.3 ^{fg}	1.155 ±0.05 ^{abc}
Pectin 3.5 % / Ca 10 %	0.0437±0.004 ^{gh}	6.787 ±0.47 ^{bc}	7.955 ±0.54 ^f	11.458 ±0.95 ^h	95.58±0.13	0.043±0.01	5±0.33	3.44±0.31 ^{fg}	1.087 ±0.07 ^{abc}
Pectin 4 %	0.0275±0.002 ^{de}	46.875 ±3.04 ⁿ	4.693 ±0.29 ^{abc}	5.9 ±0.59 ^d	95.65±0.08	0.073±0.01	3.66±0.14	2.344±0.15 ^{abcd}	1.173 ±0.14 ^{abc}
Pectin 4 % / Ca 3 %	0.0406±0.004 ^g	40.668 ±2.28 ^{lm}	4.458 ±0.37 ^{abc}	7.304 ±0.73 ^e	95.89±0.29	0.027±0.01	4.56±0.54	3.372±0.3 ^{defg}	1.781 ±0.07 ^{ef}
Pectin 4 % / Ca 5 %	0.0416±0.004 ^{gh}	38.851 ±3.6 ^{kl}	6.513 ±0.33 ^{def}	7.308 ±0.82 ^e	95.42±0.23	0.45±0.01	4.36±0.46	3.44±0.32 ^{efg}	1.641 ±0.14 ^{cdef}
Pectin 4 % / Ca 7 %	0.0429±0.004 ^{gh}	24.591±1.35 ^h	6.558 ±0.43 ^{def}	8.925 ±0.075 ^{gh}	95.13±0.54	0.2±0.01	4.57±0.32	3.573±0.25 ^{fg}	1.155 ±0.08 ^{abc}
Pectin 4 % / Ca 10 %	0.0443±0.003 ^h	14.430 ±1.62 ^{de}	7.23 ±0.95 ^{ef}	11.52 ±0.75 ^h	95.19±0.17	0.1±0.01	4.79±0.3	3.67±0.34 ^g	1.134 ±0.1 ^{abc}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค2 ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่แปรปริมาณของพลาสติกไซเซอร์ คือ ซอร์บิทอลและกลีเซอรอล

สภาวะของฟิล์ม	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	Thickness (mm)	TS (MPa)	EAB (%)	WVP ($\times 10^{-6} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)	L*	a*	b*	ΔE	Film opacity (Au x nm/mm)
Pectin 3 % / Ca 3 %	0.0232±0.003 ^a	32.68 ±3.06 ^h	5.683 ±0.5 ^{ab}	4.75 ±0.3 ^a	95.84±0.11	0.15±0.01	3.83±0.085	2.127±0.123 ^{bcdelg}	1.302 ±0.032 ^a
Sorbial 40	0.039±0.005 ^{defg}	26.442 ±4.924 ^g	5.595 ±0.2 ^{ab}	4.58 ±0.135 ^a	96.29±0.11	0.01±0.001	3.41±0.18	2.105±0.175 ^{bcdelg}	1.226±0.046 ^a
Sorbial 50	0.038±0.003 ^{defg}	21.148 ±3.84 ^{cddef}	5.798±0.23 ^{ab}	5.32 ±0.035 ^{bd}	96.37±0.21	0.01±0.001	3.43±0.29	2.163±0.066 ^{bcdelg}	1.139 ±0.02 ^a
Sorbial 60	0.039±0.005 ^{defgh}	21.159±2.07 ^{cddef}	6.035 ±0.2 ^{ab}	6.97 ±0.04 ^{cd}	96.22±0.33	0.02±0.001	3.56±0.33	1.797±0.009 ^{abcd}	1.48 ±0.047 ^{abcd}
Glycerol 40	0.029±0.003 ^b	20.891 ±2.01 ^{cddef}	6.428 ±0.69 ^{bc}	6.66 ±0.029 ^{bcd}	96.39±0.1	0.01±0.001	3.36±0.12	1.883±0.027 ^{abcd}	1.475 ±0.085 ^{abcd}
Glycerol 50	0.029±0.003 ^b	19.201±2.956 ^{bcdde}	6.538 ±0.53 ^{bc}	6.63 ±0.064 ^{bcd}	96.36±0.12	0.02±0.001	3.61±0.16	1.867±0.122 ^{abcd}	1.422 ±0.075 ^{abcd}
Glycerol 60	0.031±0.004 ^{bc}	17.891 ±0.709 ^{abcd}	8.823 ±0.14 ^{ef}	8.52±0.022 ^{efg}	96.32±0.16	0.04±0.001	3.49±0.14	3.11±0.34 ^k	1.781 ±0.07 ^{de}
Pectin 4 % / Ca 3 %	0.0406±0.004 ^{efgh}	40.668 ±2.28 ⁱ	4.458 ±0.37 ^{ab}	7.304 ±0.73 ^{cdde}	95.89±0.29	0.027±0.01	4.56±0.54	2.167±0.083 ^{bcdelgh}	1.287 ±0.056 ^a
Sorbial 40	0.041±0.004 ^{efgh}	24.347 ±3.1 ^g	5.668 ±0.41 ^{ab}	4.56 ±0.035 ^a	96.05±0.14	0.03±0.001	3.87±0.18	2.132±0.062 ^{bcdelgh}	1.346 ±0.047 ^{ab}
Sorbial 50	0.046±0.002 ⁱ	23.186 ±0.938 ^{efg}	7.338 ±0.37 ^{bcd}	9.55 ±0.094 ^{gh}	96.31±0.18	0.02±0.001	3.39±0.19	2.379±0.098 ^{bcdelgh}	1.22 ±0.09 ^a
Sorbial 60	0.046±0.001 ⁱ	22.035 ±1.45 ^{def}	9.235 ±0.214 ⁱ	12 ±0.094 ⁱ	96.12±0.15	0.04±0.002	3.61±0.18	1.597±0.023 ^a	1.731 ±0.169 ^{cdde}
Glycerol 40	0.04±0.001 ^{efgh}	20.958 ±1.121 ^{cddef}	7.055 ±0.24 ^{bcd}	6.68 ±0.031 ^{bcd}	96.60±0.14	0.04±0.001	3.08±0.13	1.979±0.038 ^{abcdelgh}	1.653±0.089 ^{bcdde}
Glycerol 50	0.04±0.002 ^{efgh}	19.09±2.65 ^{bcdde}	7.853 ±0.1 ^{cddef}	6.49 ±0.023 ^{bcd}	96.47±0.14	0.01±0.001	3.44±0.1	1.965±0.103 ^{abcdelgh}	1.305 ±0.042 ^a
Glycerol 60	0.042±0.004 ^{efgh}	17.035 ±1.422 ^{abc}	10.745 ±0.52 ^g	8.78 ±0.022 ^{fg}	96.35±0.22	0.02±0.001	3.35±0.02	2.344±0.15 ^{defghij}	1.173 ±0.14 ^a
Pectin 4 %	0.0275±0.002 ^b	46.875 ±3.04 ⁱ	4.693 ±0.29 ^{ab}	5.9 ±0.59 ^{abc}	95.65±0.08	0.073±0.01	3.66±0.14	2.283±0.129 ^{cdelghij}	1.465 ±0.127 ^{abc}
Sorbial 40	0.044±0.006 ^{efgh}	21.174 ±3.74 ^{cddef}	5.805 ±0.54 ^{ab}	6.32 ±0.08 ^{bc}	96.18±0.09	0.02±0.001	3.51±0.06	2.43±0.08 ^{cdelghij}	1.42 ±0.11 ^{abc}
Sorbial 50	0.045±0.006 ^{efgh}	20.628 ±1.24 ^{cddef}	8.313±0.139 ^{def}	7.63 ±0.039 ^{def}	96.57±0.16	0.05±0.001	3.12±0.22	2.631±0.146 ⁱ	1.198 ±0.013 ^a
Sorbial 60	0.048±0.004 ⁱ	15.916 ±1.396 ^{ab}	12.088 ±0.16 ^{gh}	7.72 ±0.092 ^{def}	95.75±0.28	0.02±0.001	4.24±0.06	2.156±0.128 ^{bcdelgh}	1.53 ±0.022 ^{abc}
Glycerol 40	0.03±0.004 ^b	21.41 ±1.99 ^{def}	6.478 ±0.26 ^{bc}	6.46 ±0.01 ^{bcd}	95.92±0.11	0.04±0.002	4.37±0.21	2.219±0.077 ^{bcdelgh}	1.48 ±0.017 ^{abc}
Glycerol 50	0.036±0.005 ^{de}	20.414±1.35 ^{cddef}	9.097 ±0.28 ^f	11.7 ±0.52 ⁱ	96.06±0.29	0.03±0.002	3.98±0.17	2.595±0.178 ^{ghij}	1.235 ±0.017 ^a
Glycerol 60	0.035±0.005 ^{cd}	14.288 ±2.74 ^a	12.69 ±0.54 ^h	12.3 ±0.244 ⁱ	96.23±0.05	0.03±0.001	3.52±0.05	2.127±0.123 ^{bcdelgh}	1.302 ±0.032 ^a

ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค3 ค่าสมบัติเชิงกลต่างๆของฟิล์มเพกตินที่แปรความเข้มข้นไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม

สภาวะของแผ่นฟิล์ม	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	Thickness (mm)	TS (MPa)	EAB (%)	WVP ($\times 10^{-6} \text{ gm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)	L*	a*	b*	ΔE	Film opacity (Au x nm/mm)
Pectin 3 % / Ca 3 % / Glycerol 50%	0.04±0.002 ^a	19.09±2.65 ^b	7.853 ±0.1 ^a	6.49 ±0.023 ^a	96.47±0.14	0.01±0.001	3.44±0.1	1.979 ±0.038 ^a	1.653±0.089 ^a
Liposome 2 % (w/w)	0.052±0.004 ^b	18.18 ±1.45 ^a	13.81 ±1.34 ^c	8.55 ±0.073 ^b	92.03±0.44	0.49±1.26	9.34±0.52	8.569 ±0.2 ^b	2.548 ±0.22 ^b
Liposome 4% (w/w)	0.053±0.003 ^b	17.78 ±1.72 ^a	15.403±1.97 ^d	10.2 ±0.036 ^c	88.09±0.76	2.12±0.26	16.93±1.04	16.554±1.03 ^c	5.02 ±0.13 ^c
Liposome 6% (w/w)	0.053 ±0.002 ^b	15.251±1.21 ^a	11.285±1.16 ^b	11±0.014 ^d	87.37±1.13	2.19±0.27	19.46±1.21	18.811±1.22 ^d	6.89±0.2 ^d

a,b,c,d แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค4 เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของฟิล์มเพกตินที่ตรึงไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม โดยวิธี disc diffusion (เส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc คือ 0.6 เซนติเมตร)

เชื้อจุลินทรีย์	ขนาดเฉลี่ยของวงใส (เซนติเมตร) ^{1,2}		
	Pectin 3 % / Ca 3 % / Glycerol 50% ผสมไลโปโซมร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก	Pectin 3 % / Ca 3 % / Glycerol 50% ผสมไลโปโซมร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก	Pectin 3 % / Ca 3 % / Glycerol 50% ผสมไลโปโซมร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1.78±0.23 ^{ns}	1.86±0.18 ^{ns}	1.79±0.25 ^{ns}
<i>E.coli</i> ATCC 8739	2.1±0.12 ^{ns}	2.02±0.18 ^{ns}	1.94±0.2 ^{ns}
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1.53±0.14 ^{ns}	1.34±0.16 ^{ns}	1.41±0.13 ^{ns}
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	1.37±0.19 ^{ns}	1.38±0.12 ^{ns}	1.39±0.12 ^{ns}
<i>Pseudomonas</i> sp.	1.03±0.15 ^{ns}	1.27±0.17 ^{ns}	1.04±0.14 ^{ns}
<i>Lactobacillus</i> sp.	0.93±0.08 ^a	1.05±0.12 ^b	1.08±0.21 ^b
<i>Lactobacillus</i> sake	0.92±0.08 ^a	0.99±0.06 ^b	1.07±0.11 ^b

¹ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการยับยั้งแบคทีเรีย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

² ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns : ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ค5 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count) ในชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

อายุในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/cm ²) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	เนื้อวัวตัดแต่ง		เนื้อหมูตัดแต่ง	
	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม
0	6.643 ± 0.05 ^a	6.643 ± 0.05 ^a	6.891 ± 0.03 ^a	6.891 ± 0.03 ^a
2	6.505 ± 0.29 ^a	6.278 ± 0.23 ^a	6.779 ± 0.4 ^a	6.818 ± 0.1 ^a
4	6.854 ± 0.14 ^b	6.25 ± 0.28 ^a	6.736 ± 0.13 ^a	6.81 ± 0.58 ^a
6	7.135 ± 0.03 ^b	6.1 ± 0.37 ^a	6.779 ± 0.04 ^a	6.621 ± 0.01 ^a
8	7.186 ± 0.27 ^b	6.28 ± 0.13 ^a	7.531 ± 0.04 ^b	6.03 ± 0.32 ^a
10	7.663 ± 0.23 ^b	6.468 ± 0.12 ^a	7.302 ± 0.05 ^b	6.004 ± 0.16 ^a
14	7.667 ± 0.02 ^b	6.011 ± 0.15 ^a	7.434 ± 0.01 ^b	6.02 ± 0.5 ^a
16	7.886 ± 0.17 ^b	6.024 ± 0.06 ^a	8.179 ± 0.01 ^b	5.229 ± 0.23 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อตัดแต่งชนิดเดียวกัน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค6 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (*Lactobacillus sp.*) ในชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

อายุในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/cm ²) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	เนื้อวัวตัดแต่ง		เนื้อหมูตัดแต่ง	
	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม
0	6.821±0.13 ^a	6.821±0.13 ^a	7.502±0.04 ^a	7.502±0.04 ^a
2	6.884±0.17 ^a	6.773±0.07 ^a	7.415±0.26 ^b	7.182±0.11 ^a
4	7.415±0.21 ^a	6.81±0.18 ^a	7.434±0.02 ^a	7.12±0.07 ^a
6	7.878±0.02 ^b	7.072±0.24 ^a	7.628±0.39 ^a	7.471±0.04 ^a
8	7.989±0.07 ^b	7.275±0.29 ^a	7.892±0.01 ^a	7.888±0.1 ^a
10	7.949±0.28 ^b	7.498±0.24 ^a	7.949±0.19 ^a	7.857±0.08 ^a
14	8.068±0.22 ^b	7.234±0.39 ^a	8.163±0.26 ^a	7.626±0.03 ^a
16	8.125±0.22 ^b	7.17±0.25 ^a	8.283±0.02 ^b	6.692±0.06 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อตัดแต่งชนิดเดียวกัน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค7 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* ในชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

อายุในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/cm ²) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	เนื้อวัวตัดแต่ง		เนื้อหมูตัดแต่ง	
	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซม
0	5.505±0.17 ^a	5.505±0.17 ^a	6.889±0.03 ^a	6.889±0.03 ^a
2	5.699±0.41 ^a	5.701±0.15 ^a	6.606±0.32 ^a	6.538±0.43 ^a
4	6.851±0.24 ^a	5.498±0.16 ^a	6.69±0.19 ^a	6.785±0.13 ^a
6	7.477±0.41 ^a	6.443±0.03 ^a	6.712±0.08 ^b	5.906±0.09 ^a
8	7.623±0.18 ^a	7.043±0.2 ^a	7.275±0.01 ^a	6.875±0.2 ^a
10	9.313±0.04 ^b	7.221±0.35 ^a	7.942±0.03 ^a	7.647±0.06 ^a
14	9.09±0.16 ^b	7.863±0.31 ^a	9.179±0.12 ^b	8.108±0.41 ^a
16	9.279±0.01 ^b	8.168±0.15 ^a	9.593±0.28 ^b	8.096±0.13 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อตัดแต่งชนิดเดียวกัน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค8 จำนวนของจุลินทรีย์ *E.coli* ในชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

อายุในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/cm ²) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	เนื้อวัวตัดแต่ง		เนื้อหมูตัดแต่ง	
	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม
0	5.398±0.42 ^a	5.398±0.42 ^a	6.352±0.15 ^a	6.352±0.15 ^a
2	5.477±0.41 ^a	5.439±0.01 ^a	6.401±0.05 ^a	6.204±0.12 ^a
4	5.477±0.15 ^a	5.413±0.7 ^a	6.401±0.04 ^a	6.068±0.48 ^a
6	5.602±0.07 ^b	5.097±0.73 ^a	6.74±0.41 ^b	5.736±0.15 ^a
8	6.176±0.11 ^b	5.371±0.18 ^a	6.91±0.06 ^b	5.176±0.18 ^a
10	6.38±0.05 ^b	4.903±0.12 ^a	7.02±0.1 ^b	5.176±0.28 ^a
14	6.4±0.02 ^b	4.301±0.47 ^a	7.24±0.15 ^b	4.929±0.32 ^a
16	6.813±0.5 ^b	2.699±0.047 ^a	7.5±0.48 ^b	3.813±0.06 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อตัดแต่งชนิดเดียวกัน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ค9 จำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม coliform ในชิ้นเนื้อตัดแต่งควบคุม และชิ้นเนื้อตัดแต่งหุ้มฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์ผสม ในระหว่างการเก็บรักษา 16 วัน

อายุในการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/cm ²) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	เนื้อวัวตัดแต่ง		เนื้อหมูตัดแต่ง	
	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม	ควบคุม	หุ้มฟิล์มเพกตินผสม ไลโปโซม
0	5.875±0.12 ^a	5.875±0.12 ^a	6.775±0.03 ^a	6.775±0.03 ^a
2	5.903±0.32 ^b	5.734±0.29 ^a	6.602±0.14 ^a	6.712±0.12 ^a
4	5.602±0.1 ^a	5.643±0.07 ^a	6.845±0.51 ^b	6.491±0.68 ^a
6	5.146±0.05 ^a	5.146±0.21 ^a	6.954±0.12 ^b	6.281±0.33 ^a
8	6.079±0.12 ^b	5.097±0.01 ^a	7.012±0.07 ^b	6±0.48 ^a
10	6.114±0.07 ^b	4.778±0.41 ^a	7.255±0.15 ^b	5.531±0.12 ^a
14	6.477±0.08 ^b	3.875±0.02 ^a	7.342±0.03 ^b	5.217±0.02 ^a
16	7.013±0.15 ^b	3±0.04 ^a	7.342±0.05 ^b	4.695±0.46 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติ เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อตัดแต่งชนิดเดียวกัน ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอรชร เมฆเกิดชู เกิดวันพฤหัสบดีที่ 12 มกราคม พ.ศ. 2527 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (เทคโนโลยีชีวภาพ) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2548 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2549 และได้นำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง โลโฟโซม เอนแคปซูเลชันของสารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร ในงานการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 10 ณ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย