สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทย และการใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

นางสาวณัฐยา เปี่ยมนพคุณ
นางสาวดุสิตา อติการบดี
นางสาวเมธาวี รัตนสุวรรณ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....67309.....
วัน,เดือน,ปี.....22 พ.ย. 2549

.b.....1166 3339.....
.i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา ๒๕๔๘

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Inhibition of Fungal Growth by Thai Medicinal Plant Extracts and Application in Bakery Product

Nattaya Piumnoppakun

Dusita Atikanbodee

Metavee Rattanasuwan

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทย และการใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่
นักศึกษา	นางสาวณัฐยา เปี่ยมนพคุณ
	นางสาวดุสิตา อดิการบดี
	นางสาวเมธาวี รัตนสุวรรณ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
กรรมการ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล	

.....

(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทย และการใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่
นักศึกษา	นางสาวณัฐยา เปี่ยมนพคุณ
	นางสาวดุสิตา อติการบดี
	นางสาวเมธาวี รัตนสุวรรณ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาในครั้งนี้ได้ทดลองหาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* โดยใช้น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเปลือกอบเชย ผิวมะกรูด ผิวส้มโอ และโพแทสเซียมซอร์เบท (positive control) ด้วยวิธี Agar dilution พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เป็น 20 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ตามด้วยโพแทสเซียมซอร์เบท น้ำมันส้มโอ น้ำมันมะกรูด จากนั้นได้ศึกษาผลของน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ ความเข้มข้นที่ 0, 20, 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* บนอาหาร Bread Model Agar (BMA) ที่มีค่า a_w ต่างกัน 4 ระดับ (a_w 0.87, 0.90, 0.93 และ0.97) ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 30 °C พบว่าที่ 5 °C ไม่มีการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดในทุกทรีตเมนท์ตลอดการเก็บรักษา 21 วัน ส่วนที่ 30 °C การลดค่า a_w ร่วมกับการใช้น้ำมันอบเชยมีผลเสริมฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดี และการใช้น้ำมันอบเชยในประมาณที่มากขึ้น มีผลทำให้การยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีขึ้น โดยการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ถูกยับยั้งบนอาหาร BMA (a_w 0.87) ที่ไม่เติมน้ำมันอบเชยตลอดระยะเวลาการบ่ม 21 วัน สำหรับที่ a_w 0.90 การเติมน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. stolonifer* บนอาหาร BMA แต่เมื่อเพิ่มค่า a_w ที่ระดับ 0.93 และ 0.97 ต้องใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของ *R. stolonifer* สำหรับ *A. flavus* พบว่าการลดค่า a_w ที่ระดับ 0.87 บนอาหาร BMA ที่ไม่เติมน้ำมันอบเชยไม่มีผลยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* แต่การเติมน้ำมันอบเชยที่ทุกระดับความเข้มข้นมีผลยับยั้ง *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ตลอดระยะเวลาการบ่ม 21 วัน ส่วนที่ระดับ a_w 0.90, 0.93 และ 0.97 การเติมน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญของ *A. flavus* จากนั้นได้มีการประยุกต์ใช้ผงอบเชยเป็นส่วนผสมของขนมปัง โดยได้ศึกษาผลของผงอบเชย (ความเข้มข้นร้อยละ 0.16, 0.32, 0.65 และ 1.30) ต่อการยับยั้งการเจริญของ *R. stolonifer* และ *A. flavus* บนขนมปังที่เก็บในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และร้อยละ 90 พบว่าการเก็บขนมปังที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (ร้อยละ 75) สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ได้ดีกว่าการเก็บรักษาในสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูง (ร้อยละ 90) นอกจากนี้การเติมผงอบเชยปริมาณมากขึ้นมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดบนขนมปังได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project Title Inhibition of Fungal Growth by Thai Medicinal Plant Extracts and Application in Bakery Product

Name Miss Nattya Piumnoppakun

Miss Dusita Atikanbodee

Miss Metavee Rattanasuwan

Department Applied Biology

Program Industrial Microbiology

Academic year 2005

Special project Advisor Assistant Professor Dr. Suree Nanasombat

Abstract

This study examined the antifungal activity of essential oils of cinnamon bark, *Citrus grandis* peel, kaffir lime peel and potassium sorbate (positive control) against *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus flavus* using agar dilution method. Cinnamon oil showed the highest antifungal action to *R. stolonifer* and *A. flavus* with the minimum inhibitory concentration (MIC) of 20 and 80 µg/ml respectively, followed by potassium sorbate *Citrus grandis* oil and kaffir lime oil. Effect of cinnamon oil at concentration of 0, 5, 10 and 20 µg/ml on growth inhibition of *R. stolonifer* and at concentration of 0, 20, 40 and 80 µg/ml on growth inhibition of *A. flavus* on Bread Model Agar (BMA) at four different water activity levels (a_w 0.87, 0.90, 0.93 and 0.97) at 5°C and 30°C was investigated. No fungal growth in all treatments was observed at 5°C throughout the 21-day incubation. At 30°C, reduced a_w in combination with addition of cinnamon oil in BMA resulted in synergistic effect on growth inhibition of these fungal species. The higher concentration of cinnamon oil added in BMA affected the greater inhibition of these fungal species. The growth of *R. stolonifer* was inhibited throughout 21-day incubation on BMA (a_w 0.87) without cinnamon oil added. At a_w 0.90, addition of cinnamon oil at concentration of 10 µg/ml was able to inhibit the growth of *R. stolonifer*, but increasing of a_w to 0.93 and 0.97 needed the cinnamon oil concentration of 20 µl/ml to inhibit this fungal growth. For *A. flavus*, reduction of a_w level to 0.87 on BMA without addition of cinnamon oil did not inhibit growth of *A. flavus*, but addition of cinnamon oil at every concentration tested resulted in complete growth inhibition throughout 21-day inhibition. At a_w 0.90, 0.93 and 0.97, cinnamon oil concentration at 40 µg/ml was needed to

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibit *A. flavus* growth. Cinnamon powder was then applied as bread ingredient. The effect of cinnamon powder (0.16%, 0.32%, 0.65% and 1.30%) on growth inhibition of *R. stolonifer* and *A. flavus* on bread stored at controlled relative humidity of 75% and 90% was studied. Storage of bread at lower relative humidity condition (75%) resulted in slow growth of these two fungal species than storage at higher relative humidity condition (90%). In addition, higher concentration of cinnamon powder added in bread affected greater inhibition of these two fungal species on bread.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง และ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทาง รวมทั้งแก้ไขปัญหาและเอาใจใส่คณะผู้จัดทำตลอดการดำเนินงานโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ให้ความกรุณาช่วยถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ทั้งในและนอกวิชาเรียนแก่ลูกศิษย์ รวมทั้งคุณอนิทัต ทองจันทร์ และคุณพงศักดิ์ ประสานศักดิ์ รวมทั้งนักวิทยาศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง พี่กัญญารัตน์ และพี่ปิยมาศ ที่ให้คำแนะนำในการทำโครงงานพิเศษ

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ของคณะผู้จัดทำ ที่ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ทั้งกำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์มาโดยตลอด รวมทั้งเพื่อนๆ ทุกคนที่มีส่วนร่วมให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาวณัฐยา เปี่ยมนพคุณ
นางสาวดุสิตา อติการบดี
นางสาวเมธาวี รัตนสุวรรณ
มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	39
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	43
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	52
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่	18
2. ค่า water activity (a_w) ของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่	19
3. ส่วนของพืชที่ใช้เป็นพืช	25
4. ค่าความเข้มต่ำสุด (MIC) องน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus*	43
5. การเปลี่ยนแปลงค่า a_w ขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90	50
6. การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90	51
7. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 1)	66
8. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 2)	66
9. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่3)	67
10. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บน อาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 1)	67
11. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 2)	68
12. ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง (ครั้งที่ 3)	68
13. การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลองที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C	69
14. การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลองที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ หน้า

15. การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง ที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C 71

16. การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง ที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C 72

17. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C 72

18. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C 73

19. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C 74

20. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C 74

21. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชยที่อุณหภูมิ 30°C 75

22. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชยที่อุณหภูมิ 30°C 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. โครงสร้างกรดเบนโซอิก	10
2. โครงสร้างกรดซอร์บิก	10
3. ส้มโอ	21
4. มะกรูด	22
5. อบเชย	23
6. ตัวอย่างสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นไซยาว	33
7. ตัวอย่างสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นสารโมโนเทอร์พีน	34
8. ผลของความเข้มข้นน้ำมันอบเชยและค่า a_w ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* ที่ a_w 0.97, 0.93, 0.90 และ 0.87 บนอาหาร Bread Model Agar ที่อุณหภูมิ 30°C	47
9. ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงาน

การเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เกิดจากการเจริญของเชื้อราในขณะเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (Earle และ Putt, 1984) เนื่องจากในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่มีส่วนผสมและมีค่า a_w ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่มีส่วนผสมของแป้งสาลี ไขมันจากเนย ไข่ นมสด ส่วนประกอบอื่นๆ และขนมปังส่วนใหญ่มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.75 – 0.96 ซึ่งเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ประเภท " xerophilic moulds " (Guynot และคณะ, 2003) จึงเป็นสาเหตุให้อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่สั้น เมื่อเก็บในสภาพปกติ เชื้อราที่พบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ได้แก่ *Penicillium citrinum, Penicillium corylophilum, Rhizopus oligosporus, Eurotium repens, Eurotium rubrum, Eurotium amstelodami, Aspergillus flavus* และ *Aspergillus niger* การยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่โดยการเติมสารเคมี เช่น สารกันบูด สารกันหืน หรือแม้แต่สารกันเชื้อรา อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยแล้วสารเคมีที่เป็นที่ยอมรับกันในการใช้ป้องกันการเจริญของเชื้อราบนอาหารนั้น ได้แก่ โซเดียมหรือแคลเซียมโพรพิโอเนต (sodium or calcium propionate) ปริมาณร้อยละ 0.1- 0.32 ของน้ำหนักแป้งทำขนมปัง โพรพิโอเนตหรือกรดซอร์บิก (sorbic acid) ปริมาณร้อยละ 0.3 ของน้ำหนักแป้ง ถึงแม้ว่าปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในการถนอมอาหารเหล่านี้จะต้องอยู่ในระดับมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับได้ แต่อาหารที่ไม่มีการเติมสารเคมีใดๆ ลงไปนั้นมักจะเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคพึงประสงค์มากกว่า ปัจจุบันได้มีการนำสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มาใช้เติมลงในอาหารแทนการใช้สารเคมีกันมาก เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการหรือเสริมสร้างสรรพคุณทางยาแก่ผลิตภัณฑ์อาหาร (นพัต และ เจษฎา, 2004)

สมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดย Cobley และ Leslies (1963) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยของอบเชยมีสารสำคัญที่ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ได้คือ ซินนามิกอัลดีไฮด์ (cinnamic aldehyde) และมีผู้ทดลองใช้สารซินนามิกอัลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้น 150 ppm พบว่าสารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเติบโต และการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของ *A. parasiticus* (Bullerman และคณะ, 1977) เช่นเดียวกัน ในพริก สมุนไพร และผลไม้หลายชนิดมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Zaika, 1988) ส่วนในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จาก ผิวส้ม ผิวมะนาว และฝรั่งกี่สามารถการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการผลิตอะฟลาท็อกซิน (Alderman, 1976) นอกจากนี้ยังมีผู้พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ ไพนีน (pinene) ลินาลูล (linalool) และเจอลานิออล (gerraniol) ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Lawrence และคณะ, 1970)

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* โดยน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชย ผิวส้มโอ และผิวมะกรูด เพื่อคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ได้ดีที่สุดและนำมาศึกษาผลของค่า water activity ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวและนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมปัง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* จากน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชย ผิวส้มโอ และผิวมะกรูด

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของค่า water activity ต่อการเจริญของเชื้อราในอาหารขนมปังจำลองที่มีน้ำมันหอมระเหย ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus*

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการคัดเลือก ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ในผลิตภัณฑ์ขนมปัง ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* โดยการใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย ส้มโอ และมะกรูด โดยจะทำการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมปังได้ดีที่สุดเพื่อใช้ในการศึกษาต่อในขั้นต่อไป

1.4. ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินการ

1.4.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เชื้อราที่ใช้ มี 2 ชนิด ได้แก่ *R. stolonifer* และ *A. flavus* โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มโอ เปลือกอบเชย และผิวมะกรูด รวมทั้งคัดเลือกน้ำมันหอมระเหย

1.4.2 ศึกษาน้ำมันหอมระเหยชนิดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ได้ดีที่สุด ในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 5 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.3 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ในผลิตภัณฑ์ขนมปังในสภาวะควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ90 แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ใช้เป็นวัตถุกันเสียทางชีวภาพแทนที่การใช้วัตถุกันเสียที่สังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีเพื่อช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขนมปัง

1.5.2 เพิ่มความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ขนมปัง

1.5.3 เป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการหรือสรรพคุณทางยาแก่ผลิตภัณฑ์ขนมปังส่งผลให้ผู้บริโภคมีสุขภาพที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะการเสียของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

ลักษณะการเสียของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อาจจะมีการเสื่อมเสียได้หลายสาเหตุเนื่องจากผลิตภัณฑ์เบเกอรี่มีลักษณะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายประเภท และการเก็บรักษาที่เร่งให้เกิดการเน่าเสียได้ดียิ่งขึ้น

2.1.1 การเสื่อมเสียที่เกิดจากเชื้อรา

อาหารหลายชนิดที่เน่าเสียเนื่องจากเชื้อรา การเสื่อมเสียดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการเก็บรักษาไม่ดีพอลักษณะของการเน่าเสียดังกล่าวจะเห็นได้ชัดเจนคือ เห็นมีการขึ้นของเชื้อราอยู่ขนมปังก็เช่นเดียวกับอาหารอื่นๆ ซึ่งเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้และผู้ที่ประกอบการเกี่ยวกับขนมปังจะประสบปัญหาเกี่ยวกับเชื้อรานี้เป็นประจำถ้าหากสุขลักษณะภายในโรงงานไม่ดีพอ เชื้อรานอกจากจะให้โทษแล้วคือทำให้อาหารเสื่อมเสียแล้วยังมีเชื้อราอีกหลายชนิดที่ก่อให้เกิดประโยชน์ เช่น ใช้ทำยาปฏิชีวนะ ได้แก่ เพนนิซิลลินหรืออาจจะใช้อุตสาหกรรมหมักดอง ได้แก่ เนยแข็ง เป็นต้น

เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ในที่ที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งปริมาณความชื้นดังกล่าวจะทำให้พวกแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่เชื้อราก็ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีความเป็นกรดขนมปังมีลักษณะที่เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดี เมื่อใดก็ตามที่ขนมปังสัมผัสกับบรรยากาศและถ้าหากความชื้นภายในบรรยากาศมีสูงเชื้อราก็จะเจริญเติบโตเร็วยิ่งขึ้น แต่ถ้าหากความชื้นภายในบรรยากาศต่ำเชื้อราก็ไม่สามารถจะเจริญเติบโตได้ แต่สปอร์ก็อาจจะเกาะอยู่บนผิวของก้อนขนมปังดังนั้นขนมปังที่เก็บรักษาไว้ในสภาพที่แห้งและสะอาดก็จะสามารถป้องกันการเสื่อมเสียที่เกิดจากเชื้อรา บางท่านอาจจะสงสัยว่าภายในเป้งซึ่งเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการทำขนมปังมีสปอร์ของเชื่อราอยู่เป็นจำนวนมากอาจเป็นตัวทำให้ขนมปังเกิดการเน่าเสียได้ สาเหตุจากวัตถุดิบที่จะทำขนมปังเกิดจากการเน่าเสียมีน้อยเนื่องจากวัตถุดิบดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการหลายขั้นตอน นอกจากนั้นในขั้นตอนสุดท้ายยังต้องผ่านเตาอบซึ่งมีอุณหภูมิสูงไม่มีเชื้อราใดๆ สามารถทนทานได้ และเชื้อราได้ตายหมดแล้ว

ดังนั้นปัญหาต่างๆ ที่จะต้องคำนึงถึง คือ

- สถานที่เก็บรักษาขนมปังควรจะสะอาดมีการระบายอากาศได้ดี และถ้าสถานที่เก็บขนมปังมีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิของบรรยากาศด้วยยิ่งดีมากขึ้น ข้อสำคัญอากาศที่ระบายถ่ายเทนั้นควรจะปราศจากฝุ่นผงและอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องหั่นเศษขนมปัง ใบมีดของเครื่องหั่นขนมปังควรทำความสะอาดบ่อยๆ โดยใช้แอลกอฮอล์เช็ดให้สะอาด เพราะว่าโอกาสที่สปอร์ของเชื้อราหรืออาจจะมีสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียติดอยู่กับใบมีดจะทำให้เนื้อภายในขนมปังมีโอกาสติดเชื้อดังกล่าวทำให้ขนมปังเน่าเสียได้

- วัสดุหีบห่อโดยทั่วไปควรจะเป็นกระดาษไขหรือพลาสติกชนิดใสห่อหุ้มขนมปัง เมื่อขนมปังห่อเสร็จเรียบร้อยแล้วภายในห่อนั้นโดยทั่วๆ ไปจะมีความชื้นสะสมอยู่สูง ดังนั้นถ้าหากมีสปอร์ของเชื้อราหรือแบคทีเรียปะปนอยู่ก็จะทำให้ขนมปังเน่าเสียเร็วขึ้น

วิธีการป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากเชื้อราที่ทำกันทั่วไปก็คือ การระมัดระวังเกี่ยวกับสุขลักษณะโรงงาน ความสะอาด สภาพที่เก็บควรจะมีอุณหภูมิต่ำ และที่สำคัญคือควรทำให้ก้อนขนมปังเย็นลงอย่างรวดเร็วภายหลังที่ขนมปังออกจากเตาอบ นอกจากวิธีการป้องกันดังกล่าวอาจใช้สารเคมีบางอย่าง โดยใช้ในปริมาณที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และสารเคมีดังกล่าวที่ใส่ลงไปนั้นไม่ได้ไปทำลายหรือฆ่าเชื้อรา เพียงแต่เป็นตัวชะลอการเน่าเสียของขนมปังได้ประมาณ 2-3 วัน สารเคมีดังกล่าวจะให้ผลดีถ้าหากโดที่ผสมแล้วมีความเป็นกรด ความเป็นกรดของโดสามารถจะเพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ลงไปประมาณ 30 กรัม เกลือดังกล่าวมีประโยชน์ 2 ประการ คือประการที่ 1 เป็นอาหารของเชื้อ (ยีสต์) ให้เจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น ประการที่ 2 เพิ่มความเป็นกรดในโด ส่วนสารเคมีที่นิยมใช้กันและเป็นที่ยอมรับกันคือ กรดโปรปีออนิก แคลเซียมโปรปีออเนต และโซเดียมโปรปีออเนต สีของเชื้อราที่ขึ้นบนขนมปังมีหลายสี เช่น สีน้ำตาล แดง ส้ม เหลือง เขียว น้ำเงิน ชมพู ขาว และสีดำ เป็นต้น

2.1.2 การเสื่อมเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย

การเน่าเสียของขนมปังซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ที่พบทั่วๆ ไปเรียกว่า โรบ (Rope) การเน่าเสียนี้จะเห็นได้ชัดคือ ภายในเนื้อของขนมปังจะมีลักษณะเหนียว และสีจะเปลี่ยนไปจากเดิมนอกจากนั้นกลิ่นยังมีลักษณะคล้ายกับสับปะรดเน่า การเน่าเสียดังกล่าวเกิดขึ้นเนื่องจากขนมปังมีเชื้อแบคทีเรียปะปนอยู่และสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถทนทานต่อความร้อนภายในเตาอบได้ ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียจะเจริญเติบโตภายในขนมปังจะทำลายพวกสารโปรตีนและสตาร์ชภายในขนมปัง ทำให้เนื้อของขนมปังเปลี่ยนสีและมีกลิ่นเน่า ระยะเวลาหลังจากขนมปังออกจากเตาอบก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวประมาณ 12-36 ชั่วโมง ทั้งนี้ก็ย่อมขึ้นอยู่กับปริมาณของสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่ปะปนอยู่แบคทีเรียดังกล่าวส่วนใหญ่จะอยู่ในดินและในบรรยากาศ ดังนั้นสาเหตุของการเน่าเสียดังกล่าวส่วนใหญ่จะเกิดกับวัตถุดิบที่ไม่สะอาด ลักษณะทางกายภาพ (Physical characteristics) ที่แสดงให้ทราบว่าขนมปังนั้นเกิดเน่าเสียมีลักษณะ ได้แก่ มีกลิ่นและรสผิดปกติคล้ายๆ กับสับปะรดที่สุกเกินไป เนื้อภายในขนมปังจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำหรือสีดำ เนื้อภายในขนมปังจะมีลักษณะเหนียวสีของเปลือกนอกของขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีสีแดง ในปัจจุบันเป็นที่น่ายินดีที่ว่าลักษณะการเน่าเสียดังกล่าวไม่ค่อยพบแต่ถ้าหากเกิดขึ้นสามารถจะป้องกันได้ดังนี้

- เพิ่มความเป็นกรดในโดโดยทั่วๆ ไปใช้สารละลายของกรดน้ำส้ม ซึ่งมีความเข้มข้นร้อยละ 12 ½ (ใช้ 1 กิโลกรัม ต่อแป้ง 100 กิโลกรัม) หรืออาจจะใช้โซเดียมไดแอซีเทตประมาณ 110 กรัมต่อแป้ง 100 กิโลกรัมก็ได้
- ในขณะผสมแป้งกับส่วนประกอบอื่นๆ ให้ลดปริมาณน้ำลงเล็กน้อย เพื่อให้โดมีลักษณะแข็งขึ้น
- ลดปริมาณน้ำตาลที่ใช้ลงเล็กน้อย
- ใช้โดที่หมักแล้วผสมลงไปเล็กน้อยเพื่อเพิ่มความเป็นกรดในโดที่ผสมใหม่ๆ
- ลดอุณหภูมิในเตาอบลงเล็กน้อยและใช้เวลาในการอบให้นานขึ้นอีกเล็กน้อย
- ขนมปังหลังจากออกจากเตาอบควรทำให้เย็นลงให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ ก่อนที่จะทำการบรรจุหีบห่อ

นอกจากนั้นก็ควรระมัดระวังรักษาความสะอาดของเครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ ตลอดจนคนงานและทำความสะอาดพื้นโรงงานอยู่เสมอ การทำความสะอาดเครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ และพื้นโรงงานทำได้โดยใช้สารละลายเจือจางของน้ำส้ม

2.1.3 การแห้งของขนมปัง

ขนมปังจะมีคุณภาพดีที่สุดหลังจากที่นำออกจากเตาอบประมาณ 2-3 ชั่วโมง ซึ่งมีลักษณะสดและนิ่ม แต่เป็นไปไม่ได้ที่ทุกคนจะซื้อหาขนมปังใหม่ๆ ได้ นอกจากผู้ที่อยู่ใกล้กับร้านหรือโรงงานทำขนมปังเท่านั้น ดังนั้นผู้บริโภคขนมปังส่วนใหญ่จะต้องซื้อขนมปังที่มีอายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 1 วัน เมื่อเป็นเช่นนี้ ผู้ประกอบกิจการในด้านนี้จะต้องคำนึงถึงคุณภาพของขนมปังเมื่อถึงมือผู้บริโภค ขนมปังทุกชนิดจะมีลักษณะแห้งหรืออาจจะมีเชื้อจุลินทรีย์ปะปน ทำให้ขนมปังเกิดการเน่าเสียได้เป็นความจริงที่ว่าขนมปังจะเกิดการแห้งอย่างรวดเร็ว และไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเหตุผลนี้เองทำให้ผู้ประกอบการให้ด้านนี้จะต้องคำนึงถึงเป็นหลักการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการยืดอายุการเก็บของขนมปังได้ทำกันมานานแล้วแต่ก็ยังเก็บได้ไม่นานพอ เช่น การใช้วัสดุห่อหรือการใส่สารเคมีบางอย่างลงไปในขนมปัง แต่ก็มีอายุการเก็บได้เพียง 3-4 วันเท่านั้น ด้วยเหตุผลอันนี้เองร้านหรือโรงงานทำขนม-ปังส่วนใหญ่จึงผลิตขนมปังตั้งแต่เช้าตรู่เพื่อขายให้หมดภายใน 1 วัน หรือในวันรุ่งขึ้นปริมาณของขนมปังที่เหลือเนื่องจากแห้งและผู้บริโภคไม่ต้องการต้องส่งคืนร้านหรือโรงงานมีประมาณร้อยละ 3 และอีกหลายร้อยละที่เดียวที่ผู้บริโภคซื้อไปแล้วไม่ได้รับประทานเนื่องจากขนมปังแห้งต้องโยนทิ้งหรือให้สัตว์เลี้ยงกิน อย่างไรก็ตามขนมปังที่ส่งคืนไปนี้ทำให้ผู้ประกอบการจะต้องคิดหรือคำนึงเป็นอย่างมากเนื่องจากเหตุผลทางเศรษฐกิจ เพราะถ้าหากมีการส่งคืนขนมปังมากอาจจะทำให้ดำเนินกิจการต่อไปไม่ได้เนื่องจากขาดทุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นการป้องกันการเสียหายเนื่องจากขนมปังเกิดแห้งนี้จะต้องทำอย่างระมัดระวัง วิธีการทดสอบว่าขนมปังแห้งหรือไม่นั้นทำได้ง่ายโดยการหั่นขนมปังออก แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือกดเบาถ้าหากขนมปังนิ่มแสดงว่าขนมปังไม่แห้งและถ้าหากกดลงไปเล็กน้อยแสดงว่าขนมปังแห้งส่วนการใช้เครื่องมือต่างๆ ทดสอบการแห้งของขนมปังนั้น ไม่ค่อยได้ใช้กันแต่การค้นคว้าทดลองเกี่ยวกับการป้องกันการแห้งนั้นยังได้ทำกันอย่างไม่หยุดยั้ง สำหรับสาเหตุที่ทำให้ขนมปังแห้งนั้นมีอยู่ 2 ประการด้วยกันคือ ประการที่ 1 การสูญเสียความชื้นภายในก้อนขนมปัง สารทุกชนิดเมื่อวางอยู่ในบรรยากาศจะเกิดการสูญเสียความชื้นหรือได้รับความชื้นในบรรยากาศจนกระทั่งถึงจุดสมดุลซึ่งเรียกว่า ความชื้นสมดุลและที่จุดนี้เองจะทำให้ปริมาณความชื้นทั้งหมดของสารนี้ซึ่งระเหยออกไปสู่บรรยากาศจะเท่ากับปริมาณน้ำในบรรยากาศกลั่นตัวลงบนสารนั้น สารบางอย่างก็สามารถดูดซึมน้ำในบรรยากาศได้มาก สารบางอย่างดูดซึมได้น้อยอย่างไรก็ตามสิ่งสำคัญที่มีอิทธิพลต่อสารนั้นๆ ก็คือปริมาณความชื้นในบรรยากาศซึ่งเรารู้จักกันทั่วไปว่า "ความชื้นสัมพัทธ์" โดยทั่วๆ ไปแล้วขนมปังที่อยู่ในสภาพดีนั้นจะมีความชื้นอย่างต่ำร้อยละ 30 แต่ขนมปังที่ออกจากโรงงานจะมีความชื้นประมาณร้อยละ 40-45 ขนมปังสามารถจะดูดซึมน้ำในบรรยากาศได้ถ้าหากบรรยากาศมีความชื้นสัมพัทธ์เกินร้อยละ 70 และขนมปังจะสูญเสียความชื้นไปถ้าหากในบรรยากาศมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่าร้อยละ 70 ดังนั้นขนมปังมีโอกาสที่จะสูญเสียความชื้นไปมากผิดกับคุกกี้หรือบิสกิตซึ่งมีความชื้นประมาณร้อยละ 2-3 ซึ่งมีโอกาสที่จะดูดความชื้นในบรรยากาศได้มาก ขนมปังที่มีความชื้นสูงในตอนแรกโดยเฉพาะในเนื้อขนมปังนั้น สามารถจะเก็บได้หลายวันแต่ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่าความชื้นในก้อนขนมปังนั้นสูงเพราะถ้าหากเป็นเช่นนี้แล้วจะเกิดการเน่าเสียได้เร็วขึ้นโดยเฉพาะเกิดจากเชื้อรา ประการ 2 การแห้งเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีภายในก้อนขนมปัง ในปัจจุบันก็ยังไม่เป็นที่เข้าใจกันดีนักแต่เชื่อกันว่าการแห้งของขนมปังเกิดจากการเปลี่ยนแปลงภายในขนมปังโดยเฉพาะส่วนประกอบของแป้งเราทราบกันแล้วว่าในการอบแป้งปังขนมทั้งหมดจะเกิดเจลาติไนซ์คือ การเป็นเจลและคุณสมบัติเจลจะไม่เปลี่ยนแปลงถ้าหากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียสแต่ถ้าหากเก็บขนมปังต่ำกว่าอุณหภูมิดังกล่าวเจลจะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติแข็งขึ้นเมื่อเจลแข็งขึ้นจะมีการขับน้ำออกจากเจลการพบสภาพดังกล่าวจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วขึ้นกับอุณหภูมิที่นำไปเก็บรักษา (จิตธนาและอรนงค์, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การยืดอายุและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

2.2.1 วัตถุเจือปนอาหาร

คณะกรรมาธิการพิจารณาร่างมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศสาขาวัตถุเจือปนอาหารและสารปนเปื้อน (codex committee on Food Additives and Contaminants ; CCFAC , 1972) และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ได้ให้คำจำกัดความว่า วัตถุเจือปนอาหารหมายถึงสารใดๆ ซึ่งปกติไม่ได้ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบหลักของอาหารอาจมีคุณค่าทางโภชนาการหรือไม่ก็ได้เป็นสารที่ตั้งใจเติมลงในอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ทางด้านเทคโนโลยีการผลิตการเตรียมวัตถุดิบและการแปรรูป การบรรจุ การขนส่ง การเก็บรักษาอาหาร และมีผลหรืออาจมีผลทางตรงหรือทางอ้อมทำให้สารนั้นหรือผลิตผลพลอยได้ของสารนั้นกลายเป็นส่วนประกอบของอาหารนั้นหรือมีผลต่อคุณลักษณะของอาหารนั้นแต่ไม่รวมถึงสารปนเปื้อน หรือสารที่เติมลงไปเพื่อปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของอาหารโดยที่การใช้วัตถุเจือปนอาหารต้องมิได้มีเจตนาหลอกลวงผู้บริโภค หรือมีการปิดบังการใช้วัตถุดิบที่ไม่ดีไม่มีคุณภาพ หรือการผลิตที่มีการสุขาภิบาลที่ไม่ถูกต้องส่งผลให้คุณค่าทางอาหารลดลง และคุณสมบัติทั่วไปของวัตถุเจือปนได้แก่ การไม่เป็นพิษใช้จำนวนเล็กน้อยก็ได้ผลและไม่ทำให้สี กลิ่น รส ลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไปในทางที่เสื่อมคุณภาพ และต้องเป็นชนิดที่ผ่านการทดสอบและอนุญาตให้ใช้เติมลงในอาหารได้ สาเหตุที่ต้องใช้วัตถุเจือปนอาหารเพื่อการดำรงชีวิตของคนไม่ว่ายุคสมัยใดก็ยังคงใช้เป็นอาหารเครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค และที่อยู่อาศัย เช่นเดิมเพียงแต่มีการพัฒนาปัจจัยต่างๆ ให้ก้าวหน้าทันสมัย อำนวยความสะดวก ความสุข และความพอใจให้มนุษย์เรามากขึ้น ในเรื่องอาหารก็เช่นเดียวกัน ในระยะแรกก็กินอาหารพืชผักตามธรรมชาติต่อมาก็มีการเพาะปลูกเลี้ยงสัตว์เป็นอาหาร และพัฒนาเรื่อยมารู้จักการเก็บถนอมอาหารไว้บริโภคในยามขาดแคลน หรือบริโภคนอกฤดูกาล ประกอบกับวิถีชีวิตอันเร่งรีบในสังคมเมือง และความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีอาหารจะทำให้มีการผลิตอาหารสำเร็จรูปกึ่งสำเร็จรูป อาหารพร้อมบริโภค การใช้วัตเจือปนอาหารก็เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้ผลิตอาหารได้ตามความต้องการวัตถุประสงค์ในการใช้วัตถุเจือปนอาหารมีหลายประการ ได้แก่

- เพื่อเก็บการถนอมหรือยืดอายุการเก็บของอาหารไว้ตัวอย่างเช่นในระยะที่มีผลผลิตทางการเกษตรมากเกินไปในฤดูโดยเฉพาะประเทศไทยมีอุณหภูมิ และความชื้นค่อนข้างสูงจะเป็นการเร่งสภาวะการเสียของอาหาร เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีและปฏิกิริยาจุลินทรีย์จึงจำเป็นต้องใช้วัตถุเจือปนอาหารเพื่อป้อง กันการ เสื่อมคุณ ภาพของอาหาร
- เพื่อปรุงแต่งลักษณะสี กลิ่น รส ให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ
- เพื่อช่วยในกระบวนการผลิต เช่น การใช้วัตถุกันเสียป้องกันการเกิดฟองที่มากเกินไปในกระบวนการผลิต น้ำมันพืช น้ำเชื่อมเข้มข้น เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ๆ ขึ้นมาส่งผลให้มีอาหารหลากหลายชนิด วัตถุเจือปนที่ใช้ในอาหารแบ่งเป็นหลายกลุ่ม ตามวัตถุประสงค์การใช้ที่แตกต่างกันดังนี้

วัตถุกันเสีย หมายถึง สารที่เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสียของอาหาร ซึ่งสารนี้จะไปควบคุมการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของอาหาร วัตถุกันเสียที่ใช้กันอย่างแพร่หลายได้แก่กรดและเกลือของกรดต่าง ๆ เช่น กรดน้ำส้ม กรดเบนโซอิค กรดซอร์บิก กรดโพรพิออนิค สารประกอบไนไตรท์ สารนี้มักเติมลงในอาหารเนื้อสัตว์เพื่อให้เนื้อสัตว์มีสีชมพูต่อแดง ที่คงที่และเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium botulinum* ซึ่งสามารถผลิตสารพิษบูทูลินัม (botulinum toxin) ที่เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตโดยอาหารที่มักพบว่าใส่สารประกอบไนเตรตและไนไตรท์ ได้แก่ เนื้อเค็ม เนื้อแดดเดียว ปลาแดดเดียว ไส้กรอก หมูแฮม เบคอน เกลือซัลไฟท์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์สารนี้เมื่อรวมตัวกับน้ำจะเปลี่ยนเป็นกรดซัลฟูรัสซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายหรือชะงักการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ใช้ป้องกันการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในอาหารพวกผัก ผลไม้แห้ง น้ำหวานต่างๆ ไวน์ วุ้นเส้นแห้ง เส้นก๋วยเตี๋ยวแห้ง เส้นหมี่แห้ง ผลิตภัณฑ์มันฝรั่ง และผลไม้บรรจุกระป๋อง ตัวอย่างของวัตถุกันเสียได้แก่

2.2.1.1 กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท (Benzoic acid and Benzoate) กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท ถูกใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากเป็นเวลาช้านาน โซเดียมเบนโซเอทมีความเสถียร ไม่มีสี เม็ดสีขาว หรือเป็นผงผลึกละลายได้ดี ในน้ำและเอทธานอล เหตุนี้จึงนิยมใช้โซเดียมเบนโซเอทในอาหารหลายชนิด เช่น เครื่องดื่มคาร์บอเนต และเครื่องดื่มกลั่น ของดอง ซ๊อสถั่วเหลือง แยม เยลลี่ เป็นต้น กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทมีประวัติการใช้เพื่อการถนอมอาหารมาเป็นเวลายาวนาน โดยพบว่ามีความปลอดภัย U.S.FDA ได้อนุญาตให้ใช้เป็นสารถนอมอาหาร ส่วนเบนโซเอทได้การรับรองจาก GAS ว่าเป็นสารถนอมอาหารที่ใช้ได้สูงสุดร้อยละ 0.1 แต่ในปัจจุบันให้ใช้ได้มากถึงร้อยละ 0.15 – 0.25 ส่วนความเป็นพิษ FAO/WHO ได้เสนอว่า โซเดียมเบนโซเอท มีความเป็นพิษในคน และสัตว์ น้อยมาก พบว่าถ้าฉีดเข้าใต้ผิวหนัง 6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว จะมีพิษแต่ถ้ากินโซเดียมเบนโซเอท 5-10 กรัม เป็นเวลาหลายวัน ไม่พบความเป็นพิษ ทั้งนี้เพราะนม detoxication mechanism กล่าวคือ เบนโซเอทจะเกาะเกี่ยวกับไกลซีนในตับเกิดเป็นกรดฮิปพูริก (hippo ric acid) แล้วสกัดออกทางปัสสาวะ

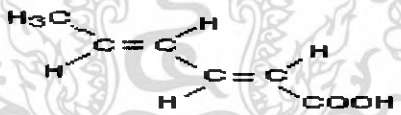
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1 โครงสร้างกรดเบนโซอิก

ที่มา: Luck และ Jager (1996)

กลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดเบนโซอิก กรดเบนโซอิกและเกลือโซเดียมเบนโซเอตสามารถป้องกันการเน่าเสียในอาหารจากจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากกรดเบนโซอิกเข้าไปขัดขวางระบบการขนส่งสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้การขนส่งไม่สามารถดำเนินไปตามปรกติ โดยโมเลกุลของกรดเบนโซอิกที่ไม่แตกตัว (undissociated) แพร่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของจุลินทรีย์และเมื่อแตกตัวทำให้สภาพภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการขนส่งของกรดอะมิโนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ *Bacillus subtilis, penicillium* spp. *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Chipley, 1993) นอกจากนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตอนภายในเซลล์และไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์บางชนิดเช่น เอนไซม์ที่ควบคุมแทบอลีซึมของกรดแอซิตริก (acetic acid metabolism) เอนไซม์ที่ควบคุมกระ บวนการ oxidative phosphorylation และควบคุมวงจรกรดซิตริก (citric acid cycle) โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α-ketoglutaric acid และ succinic acid dehydro genase (Luck และ Jager, 1996)

2.2.1.2 กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบท (Sorbic acid and Sorbates)



รูปที่ 2 โครงสร้างกรดซอร์บิก

ที่มา: Luck และ Jager (1996)

กรดซอร์บิกและเกลือโปแตสเซียม แคลเซียมหรือโซเดียมของกรดซอร์บิก หรือที่เรียกว่า เกลือซอร์เบท นิยมใช้เป็นสารป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารอย่างแพร่หลายเช่นเดียวกับ กรดเบนโซอิกในปี ค.ศ. 1945 องค์การสิทธิบัตรอเมริกันให้รางวัลบริษัท C.M.Gooding and Best Food Inc ที่ค้นพบว่ากรดซอร์บิกเป็น fungistatic agent ที่มีประสิทธิภาพสูงจากนั้นเกลือซอร์เบทถูกนำมาใช้กับอาหารเพื่อยับยั้งเชื้อราทั่วไป และพวกที่สร้างไมโคท็อกซินมีการนำซอร์เบตไปใช้ในอาหารหลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง เช่นผลิตภัณฑ์นม เบเกอรี่ ผักและผลไม้ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลา ผลิตภัณฑ์น้ำตาล และ ผลิตภัณฑ์นมหวาน เพื่อป้องกันการเจริญของยีสต์และรา ปริมาณของซอร์เบตที่นิยมใช้ในอาหารอยู่ในช่วงร้อยละ 0.02-0.05 ซึ่งปริมาณดังกล่าวไม่มีผลต่อคุณภาพอาหาร (Chipley, 1993) Chipley (1993) กล่าวว่า ผลิตภัณฑ์ผลไม้ที่นิยมใช้ซอร์เบตเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาได้แก่ ผลไม้ทำแห้ง น้ำผลไม้ แยม เยลลี่ น้ำเชื่อม เครื่องดื่ม และผลไม้รวมบรรจุในน้ำเชื่อมโดยการใช้ซอร์เบทที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.02-0.05 มีประสิทธิภาพในการยืดอายุของผลไม้ทำแห้งที่มีความชื้นสูง เช่น พรุน ลูกเกด และ มะเดื่อ

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดซอร์บิก กรดซอร์บิกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เนื่องจากกรดซอร์บิกเข้าไปยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ carbohydrate metabolism ในเซลล์จุลินทรีย์ เช่น enolase lactase dehydrogenase นอกจากนี้สามารถยับยั้งเอนไซม์ ใน citric acid cycle โดยไปยับยั้งเอนไซม์ malate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase α- ketoglutarate dehydrogenase, succinate dehydrogenase และ fumarase ตำแหน่งที่กรดซอร์บิกไปยับยั้งนั้นแตกต่างกันในจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Luck and Jager, 1996) Deshpande และคณะ (1995) กล่าวว่าโมเลกุลของกรดซอร์บิกไม่แตกตัวมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของยีสต์ รา และแบคทีเรีย ซึ่งเป็นจุลินทรีย์อันตรายต่อมนุษย์ทั้งสิ้น ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของกรดซอร์บิกจึงขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดเบส ค่าความเป็นกรดเบสสูงสุดที่ทำให้กรดซอร์บิกมีประสิทธิภาพในการทำงานเท่ากับ 6.5 และประสิทธิภาพการทำงานเพิ่มเมื่อค่าความเป็นกรดเบสของอาหารลด

2.2.1.3 ไนไตรท์ (Nitrites) โดยเกลือไนไตรท์ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อสร้างสีในเนื้อบ่มสร้างกลิ่นรสและยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. botulinum* หยุดยั้งการสร้างสารพิษทำลายประสาท (neurotoxin) และยับยั้งการเกิดกลิ่นเหม็นหืนผลิตภัณฑ์เนื้อที่อาจต้องเติมไนไตรท์ ได้แก่ เบ คอน แฮม นอกจากนี้ยังใช้กับผลิตภัณฑ์ปลา และสัตว์ปีก โดยสถานภาพทางกฎหมายปี ค.ศ. 1973 U.S.FDA ได้สร้างกฎเกณฑ์การใช้ไนเตรท ไนไตรท์ และไนโตรซามีน ดังนี้

1). ให้ยุติการใช้ไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และสัตว์ปีก ยกเว้นในเนื้อบ่มแห้ง

2). กำหนดระดับการใช้ไนไตรท์สำหรับการเนื้อโดยจำกัดที่ 150 ไมโครกรัมต่อกรัมโดยกำหนดให้ไนไตรท์ที่หลงเหลือในเนื้อจาก 200 ไปเป็น 100 ไมโครกรัมต่อกรัม 125 ไมโครกรัมต่อกรัม ใน canned และ pickle-cured products และ 50 ไมโครกรัมต่อกรัม ใน canned sterile product สำหรับความเป็นพิษ NAS/NRC และ IFT ได้พยายามศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับปฏิกิริยาระหว่าง Secondary amine กับไนไตรท์ได้ product เป็นไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคมะเร็งในสัตว์ทดลองหลายชนิด จากการศึกษาระบบ Epidemiological Studies ได้มีข้อบ่งชี้ว่ามีความเชื่อโยงกันไม่ว่าคนหรือสัตว์ได้รับไนไตรท์ปริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาณมากๆ จะเป็นสาเหตุให้เกิดโรคมะเร็งในกระเพาะและหลอดทางเดินอาหาร แต่ก็ไม่พบว่าคนที่เป็นโรคมะเร็งในอวัยวะดังกล่าว มีส่วนเกี่ยวข้องกับการได้รับไนไตรท์หรือ N-nitrosamine compound

2.2.1.4 พาราเบน (Parabens) เป็นสารประกอบไม่มีสี กลิ่น และรส ไม่ดูดน้ำและไม่ระเหยง่ายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษของ *C. botulinum* ในระดับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยับยั้งการสร้างเอนไซม์โปติเอสของ *Aeromonas hydrophila* ที่ระดับ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการใช้ประโยชน์เมทธิล และโปรปิลพาราเบน (3 : 1) ที่ระดับร้อยละ 0.03 – 0.06 ถูกใช้เพื่อเพิ่มอายุการเก็บของเค้กผลไม้ ตลอดจนผลไม้ เยลลี่ และครีม เมทธิลและโปรปิลพาราเบน (2 : 1) ที่ระดับร้อยละ 0.03 – 0.05 ใช้กับเครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์ เอสเทอร์รวมของพาราเบนที่ร้อยละ 0.03 – 0.06 ถูกแนะนำให้ใช้กับผลิตภัณฑ์ปลารมควันหรือวุ้นเคลือบที่ระดับร้อยละ 0.05 - 0.1 เป็นต้น สถานภาพทางกฎหมาย USFDA ได้ตีตราเมทธิลกับโปรปิลพาราเบนว่าปลอดภัย โดยจำกัดร้อยละ 0.1 อนุญาตให้ใช้เมทธิลและโปรปิล สำหรับต่อต้านเชื้อราในวัสดุเพื่อการบรรจุอาหาร เฮปทิลพาราเบนถูกอนุญาตให้ใช้กับเบียร์เครื่องดื่มไม่มีคาร์บอเนต และเครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ พาราเบนมีความเป็น พิษน้อยมาก เพราะมันถูกไฮโดรไลซ์ แล้วไปจับกับโมเลกุลอื่นๆ ในที่สุดถูกสกัดออกทางปัสสาวะและพบว่าพาราเบนเป็นยาหยุดประสาทหรือยาชาเฉพาะที่ ประสิทธิภาพการหยุดประสาทเพิ่มขึ้น ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมของอัลคิลกรุ๊ปร้อยละ 0.1 ในสารละลายเมทธิลพาราเบน มีประสิทธิภาพเท่ากับ สารละลายโปรเคนร้อยละ 0.05

2.2.1.5 ซัลไฟท์ (Sulfites) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ได้จากการเผากำมะถัน และเกลือของกรดซัลฟิวรัสถูกใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ และเพื่อป้องกันการเกิดการเปลี่ยนสีโดยเอนไซม์และ non-enzymatic ในอาหารชนิดต่างๆ แก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ ผลไม้ เนื้อนุ่ม น้ำผลไม้ ไวน์ ไส้กรอก กุ้งสด ใช้รมผลไม้ก่อน การทำผลไม้แห้ง ในการทำผักแห้ง เราใช้สารละลายซัลไฟท์ผสมกับสารละลายไบซัลไฟท์ ทำให้เป็นกลางฉีดพ่นในระหว่างการทำแช่น้ำเกลือและก่อนทำให้แห้ง ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และเกลือของมัน ช่วยเพิ่มอายุการเก็บ รักษาสีและกลิ่นรส ตลอดจนรักษาไวตามินซี และแคโรทีน สารละลายซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ใช้สำหรับฆ่าเชื้อหรือสุขาภิบาลเครื่องมือเครื่องใช้ในการแปรรูปอาหารและใช้เติมในน้ำอาบเพื่อยับยั้งเชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ไม่พึงประสงค์เพื่อใช้ในการผลิตไวน์ที่มีคุณภาพสูงแล้วถนอมสตรอเบอรี่ ราสเบอรี่ ในขณะเก็บเพื่อการผลิตแยม สถานภาพทางกฎหมาย U.S.FDA ยอมรับซัลเฟอร์ไดออกไซด์และเกลือของมันหลายชนิดว่าเป็น GRAS แต่มีข้อแม้ว่า ห้ามใช้กับ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นแหล่งไวตามินบี 1 ไธอามีน หรือผลไม้สดผักสดอนุญาตให้ใช้กับน้ำผลไม้ไสหรือเข้มข้นผลไม้แห้ง และผักแห้งสำหรับพิษของซัลเฟอร์ไดออกไซด์สำหรับคนจะแปรผันไปตามความแข็งแรงของคน ถ้าคนหายใจเอาแก๊สซัลเฟอร์ได

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกไซด์เข้าไปเข้มข้น 33 ไมโครกรัมต่อลิตรของอากาศจะทำให้ตายได้เพราะปอดหยุดทำงานแก๊สซัลไฟท์สามารถจับกับนิวคลีโอไทด์บางชนิดทำให้เกิดการผ่าเหล่าใน *E. coli* และทำลายไธอามีน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดภูมิแพ้แก่คนที่จำเป็นต้องกินยา หรืออาหารประเภทสเตอรอยด์เพราะเกี่ยวข้องกับโรคหอบหืดจึงมีบางประเทศห้ามใช้กับผักผลไม้ที่กินสดๆ (สุทธิ กมรสุมิตร, 2544) ดังนั้นจึงมีการหลีกเลี่ยงการถนอมอาหารโดยใช้สารเคมีผสมลงในอาหารแล้วหันมาใช้สมุนไพรต่างๆ แทนการใช้สารเคมีในอาหารแทนการใช้สารเคมี เนื่องจากสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จึงสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารพร้อมกับเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ หรือเสริมสร้างสรรพคุณทางยาแก่ผลิตภัณฑ์อาหารอันส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพที่ดีขึ้นของผู้บริโภค (นพัต และ เจษฎา, 2004) โซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นสารประกอบคลอรีนชนิดหนึ่งซึ่งมีสูตรทางเคมี คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 74.44 โซเดียมไฮโปคลอไรท์อยู่ในรูปสารละลาย ซึ่งสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และคลอรีนในน้ำโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นสารประกอบคลอรีนที่นิยมใช้กับอาหารมากที่สุดเนื่องจากความเป็นพิษต่ำจะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วและมีคุณสมบัติในการฟอกสีแต่มีข้อเสียคือจะกัดกร่อนโลหะบางชนิดประสิทธิภาพโซเดียมไฮโปคลอไรท์ลดลงเมื่อมีสารอินทรีย์ปะปนในสารละลายโดยเฉพาะเมื่อสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์มีความเข้มข้นต่ำ (Macrae และคณะ, 1993)

กลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เกิดขึ้นโดยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นสารออกซิไดส์ที่รุนแรงดังนั้นกลไลการยับยั้งจุลิทรีย์ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์จึงเกิดขึ้นโดยเกิดปฏิกิริยาออกซิไดส์หมู่ sulhydyl (-SH) ของเอนไซม์เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่สามารถผันกลับได้รวมทั้งสามารถป้องกันการคืนกิจกรรมของเอน ไซม์ (enzyme regerneration) (Green และ Stumpf, 1946)

2.2.1.6 สีผสมอาหารการใช้สีผสมอาหารเพื่อแต่งสีให้กับอาหารนั้นทำให้อาหารมีสีคล้ายกับธรรมชาติหรือเพื่อให้มีสีสม่ำเสมอและอาจใช้เพื่อจำแนกกลิ่นรสของอาหารก็ได้สีที่ใช้ผสมอาหารมี 2 จำพวก ได้แก่ สีที่ได้จากธรรมชาติ เช่น จากใบเตย กระเจี๊ยบ ใบย่านาง ดอกอัญชัน ลูกตาล สีน้ำตาลเคี่ยวไหม้ กับสีที่สังเคราะห์ขึ้นสร้างจากสารเคมี สีสังเคราะห์มีความคงตัวดีกว่าสีธรรมชาติแต่ต้องใช้เฉพาะชนิดที่อนุญาตให้ใช้และปริมาณที่กำหนดเท่านั้น รายชื่ออาหารที่ไม่ให้ใช้สีทุกชนิด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 พ.ศ. 2525 ได้แก่ อาหารทารก อาหารเสริมสำหรับเด็ก นมดัดแปลงสำหรับทารก ผลไม้สด ผลไม้ดอง ผักดอง และเนื้อสัตว์สดทุกชนิด (เว้นแต่สีจากขมิ้นและผงกะหรี่สำหรับไก่สด) เนื้อสัตว์ทุกชนิดที่ปรุงแต่ง เช่น ปลาเค็ม กุ้งเค็ม เนื้อเค็ม กุ้งหวาน ปลาหวาน ไก่ย่าง หมูย่าง เนื้อย่าง (ยกเว้นสีจากขมิ้น และผงกะหรี่) แหนม กุนเชียง ทอดมัน กะปิ ข้าวเกรียบต่างๆ บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เส้นบะหมี่ แผ่นเกี๊ยว หมี่ซั่ว สปาเก็ตตี มักกะโรนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิษภัยของวัตถุเจือปนอาหาร วัตถุเจือปนอาหารจะมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอาหารช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายชนิด ซึ่งคุณภาพได้มาตรฐานในทางตรงกันข้ามถ้าหากใช้ไม่ถูกต้องก็จะเป็นสาเหตุให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคได้เช่นกัน ปัญหาพิษภัยที่เกิดจากวัตถุเจือปนอาหารอาจเกิดได้หลายรูปแบบใช้ผิดประเภทได้แก่ การนำวัตถุเจือปนที่ห้ามใช้ในอาหารเช่น ใช้กรดซาลิไซลิคซึ่งห้ามใช้ในอาหารมาใช้เป็นสารกันบูด กรดซาลิไซลิคทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารได้หรือการใช้บอแรกซ์ ซึ่งเป็นวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหารเช่นกัน บอแรกซ์หรือโซเดียมบอเรต หรือผงกรอบ น้ำประสานทอง หรือเพ่งแซ เป็นสารเคมีที่ไม่มีกลิ่นผลึกละเอียดสีขาวละลายน้ำได้ดี ใช้ในอุตสาหกรรมทำแก้วและเป็นสารประสานทองแต่ผู้ผลิตบางรายนำมาใช้เติมในอาหารพวกลูกชิ้น หมูยอ ทอดมัน ไส้กรอก ผักกาดดองเค็ม มะม่วงดอง แป้งกรุบ ลอดช่อง ทับทิมกรอบ เนื้อบดปรุงรสต่างๆ ไก่บด เนื้อปลาขูด ทำให้อาหารเหล่านี้มีความหยุ่นเหนียวกรอบแต่สารนี้มีอันตรายทำให้กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ อักเสบ การทำงานของไตล้มเหลว อาจมีปัสสาวะออกน้อยหรือไม่ออกปริมาณที่เป็นพิษในผู้ใหญ่ 5 - 10 กรัม ถ้าได้รับ 15 - 30 กรัมอาจตายได้ภายใน 2-3 วัน ส่วนในเด็กนั้นถ้าได้รับ 4.5-14 กรัม ทำให้เกิดอาการพิษและตายได้ใช้ปริมาณมากกว่าที่กฎหมายอนุญาต เช่น สารประกอบไนเตรต ไนไตรท์ ซึ่งกฎหมายอนุญาตให้ใช้ได้ในรูปไนไตรท์ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน (125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และไนเตรต 500 ส่วนในล้านส่วน (500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ถ้าใช้สองชนิดร่วมกันให้ใช้ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมหรือการใช้วัตถุกันเสียในเครื่องดื่มมีการกำหนดว่าให้ใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมกรดเบนโซอิค หรือกรดซอร์บิคใช้ได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสีผสมอาหารในใช้ได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น การใช้ในปริมาณมากเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้โดยที่ผู้บริโภครู้เท่ากันไม่การณ์หรือจงใจเพื่อต้องการยืดอายุการเก็บให้นานกว่าปกติหรือคุณภาพดีขึ้น หรืออาจใช้วัตถุเจือปนอาหารที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานมาใช้เพราะมีราคาถูกกว่า ผู้บริโภคควรเลือกบริโภคอาหารที่ผ่านการแปรรูปน้อยที่สุดเลือกบริโภคแต่อาหารที่ผลิตได้มาตรฐานเพื่อป้องกันพิษภัยจากการใช้วัตถุเจือปนอาหาร

2.2.2 สารถนอมอาหารทางชีวภาพ

2.2.2.1 Citric acid เป็นกรดอินทรีย์หลักของผลไม้ตระกูลส้ม สตรอเบอรี่ มะเดื่อ และในผัก เช่น มะเขือเทศ ถั่ว วัตถุประสงค์ของการใช้กรดซิตริกในอาหารเพื่อเป็นสารป้องกันการเน่าเสียปรับค่าความเป็นกรดเบส (acidulant) ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้กระป๋อง ให้กลิ่นรส (flavouring agent) ในอาหารและเครื่องดื่มและป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ โดยกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นตัวดักจับโลหะ (chealator) ไปจับกับคอปเปอร์ในเอนไซม์ PPO (Paos และ Petracek, 1997) และดักจับโลหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้น กรดซิตริกจึงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ได้ (Beuchat และ Golden, 1989)

2.2.2.2 Organic acid ในกระบวนการหมักของแบคทีเรียแลคติกนั้นจะมี 2 แบบคือ homofermentative และ heterofermentative โดยกรดแลคติกเป็นสารหลักที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ homofermentative โดยกรดแลคติกนั้นจะมีผลทำให้พีเอชของอาหารลดลง ซึ่งก็มีผลให้เชื้อจุลินทรีย์อื่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เพราะ H+ อิออนจะซึมผ่าน cell membrane เข้าสู่กายในเซลล์ของเชื้อราทำให้ cytoplasm มีสภาพเป็นกรดสูงซึ่งส่งผลให้ electrochemical proton gradient ภายในเซลล์จุลินทรีย์เสียไปด้วย สำหรับกระบวนการหมักแบบ hetero-fermentative ของแลคติกแอซิแบคทีเรียจะได้กรดแลคติกเป็นสารหลัก และการผลิตกรดโพพิโนอิกในปริมาณเล็กน้อยแต่กรดทั้งสองชนิดจะมีค่าการแตกตัวที่สูงมากกว่ากรดแลคติก โดยกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก็จะเหมือนกับของกรดแลคติกคือจะมีผลต่อ electrochemical proton gradient และไปยับยั้งกรดอะมิโนภายในเซลล์ของเชื้อรา โดยฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราจะให้ผลดีที่พีเอชต่ำกว่า 4.5 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้กรดแลคติกร่วมกับกรดแลคติกและกรดโพพิโนอิกจะสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ดีกว่าการใช้กรดเพียงชนิดเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ในการยับยั้งเชื้อรา นอกจากกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวน การหมักแล้วยังมีผลผลิตอื่นที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และ ไดอะซิทิว (diacetyl) แบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่จะมี enzyme flavoprotein oxidase ทำให้สามารถผลิต hydrogen peroxide ได้โดย hydrogen peroxide นี้ก็มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ โดยจะทำให้เกิด oxidizing effect ภายในเซลล์และจะไปทำลายโครงสร้างโมเลกุลของเส้นใยโปรตีนสำหรับไดอะซิทิวซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นที่ได้จากการทำเนยโดยแบคทีเรียแลคติกก็มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราได้ แต่อย่าง ไรก็ตามพบว่าการใช้ ไดอะซิทิวสำหรับเป็นสารยับยั้งเชื้อรานั้นต้องใช้ในปริมาณสูงจึงจะเห็นผล (200 มิลลิกรัม) ซึ่งก็จะมีผลต่อรสและกลิ่นของผลิตภัณฑ์

2.2.2.3 Proteinaceous compounds ไรโบโซม (ribosome) ของแบคทีเรียแลคติก จะสามารถสังเคราะห์เปปไทด์ หรือโปรตีนได้ จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อราของแบคทีเรียแลคติกจะสูญเสียไปเมื่อมีการ treat ด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติก (proteolytic enzyme) ซึ่งต่อมาพบว่าสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเป็นพวก proteinaceous compounds โดยจากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ของ *Lactobacillus casei* พบว่าฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเชื้อราของแบคทีเรียแลคติกจะลดลงเมื่อใส่ทริปซินหรือเปปซินลงในอาหารเลี้ยงเชื้อและจากการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* spp. ในหญ้าหมัก (silage) พบว่ามีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและฤทธิ์ยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินต่อเชื้อรา *A. flavus* โดย สารที่มีฤทธิ์นี้เป็นสารกลุ่ม peptide (น้อยกว่า 1 กิโลดาตัน) มีฤทธิ์ฤทธิ์ยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเจริญของเชื้อราได้กว้าง ทนความร้อน และออกฤทธิ์ได้ดีที่พีเอช 3-6 แต่จะถูกทำลายได้ด้วยเอนไซม์โปรติเนส (proteinase) (Magnusson และคณะ, 2003)

2.2.2.4 Reuterin เป็นสารต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์กว้าง (broad-spectrum) พบครั้งแรกจากเชื้อ *Lacto bacillus reuteri* โดยรูเทอร์ริน (reuterin) เป็นสารที่ได้จากการออกซิเดชันกลีเซอรอลโดยแบคทีเรียแลคติกในสภาพไม่มีอากาศโดยทั่วไปแบคทีเรียแลคติกจะไม่มี oxidative pathway สำหรับกลีเซอรอลหรือกลีเซอรอลไม่สามารถถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเดี่ยวได้ ดังนั้นวิธีการเดียวที่จะใช้กลีเซอรอลของแบคทีเรียแลคติกได้ คือ การทำให้แบคทีเรียแลคติกเข้าสู่ intermediate state ของ 3-hydroxypropionaldehyde (รูเทอร์ริน, 3-HPD) พบว่ารูเทอร์รินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และราโดยพบฤทธิ์ต้านเชื้อต่อ *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* และ *Fusarium* spp. และพบว่าการเติมกลีเซอรอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus coryniformsis* จะช่วยเพิ่มฤทธิ์ของสารต้านเชื้อราได้

2.2.2.5 Fatty acid จากการแยกสารที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14 ในอาหารเหลว พบว่ามีกรดไขมันคือ 3-hydroxylated fatty acid ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้โดยฤทธิ์ต้านเชื้อราจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่า caprylic (C8) acid และสายที่ยาวกว่านี้จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงสุด ซึ่งมีรายงานการทดสอบฤทธิ์ของกรดไขมันและโมโนกลีเซอไรด์ต่อการเจริญของ *Candida albicans* พบว่าที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมของกรดไขมันมีเพียง capric (C10) acid และ lauric (C12) acid ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์นี้ได้นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมันจะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ดีกว่าเชื้อราโดยค่าความเข้มข้นต่ำสุด (minimu minhibitory concen tration (MIC)) ของ hydroxylated fatty acid ต่อเชื้อราและยีสต์จะอยู่ในช่วง 10-100 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับ amphotericin B ซึ่งมีค่า MIC อยู่ในช่วงกรัมต่อมิลลิลิตรเช่นกัน

2.2.2.6 Phenyllactic acid จากการเพาะเลี้ยง *Lactobacillus plantarum* 21 B ในอาหารเหลวพบว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถผลิตกรดฟีนิลแลคติก (phenyllactic acid) และ 4-hydroxy-phenyllactic acid ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราเส้นใยหลายสายพันธุ์โดยกรดฟีนิลแลคติกมีค่า MIC อยู่ในช่วงมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรได้มีการนำเชื้อ *L. plantarum* มาเป็นแป้งสำหรับการผลิตขนมปังร่วมกับ *Saccharo myces cerevisiae* พบว่าช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและป้องกันเชื้อราบนขนมปังได้สำหรับการทดลองในอาหารสัตว์โดยนำเชื้อ *L. plantarum* เลี้ยงในหญ้าหมักพบว่าจะช่วยเพิ่ม aerobic stability และลดปริมาณยีสต์และเชื้อราได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากรดฟีนิลแลคติกจะช่วยเสริมการออกฤทธิ์ของสารต้านเชื้อราอื่นๆ ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกด้วย

67309

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า สารต้านเชื้อราจากแบคทีเรียแลคติกนั้นมีหลายกลุ่มด้วยกัน โดยส่วนใหญ่สารเหล่านี้จะเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน ถ้ามีการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์อื่นๆ และกลไกในการออกฤทธิ์รวมทั้งความปลอดภัยในการนำสารต้านเชื้อราจากแบคทีเรียแลคติกมาใช้ทดแทนสารเคมีซึ่งเป็นสารกันเสียก็จะเป็นประโยชน์ต่อไปในอนาคต (Schnurer และคณะ, 2005)

2.3 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ส่วนใหญ่ที่ไม่ปลอดภัยจะมีช่วงพีเอชมากกว่า 4.5 และค่า a_w มากกว่า 0.84 โดยเราจะสามารถแบ่งประเภทของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ได้ตามค่าของพีเอชคือกลุ่มที่ 1 จะเป็นผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีปริมาณกรดสูงผลิตภัณฑ์จะมีพีเอชต่ำกว่า 4.6 กลุ่มที่ 2 คือผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่ที่มีปริมาณกรดต่ำคือมีพีเอชสูงกว่า 4.6 แต่จะน้อยกว่า 7 และกลุ่มที่ 3 คือกลุ่มที่ไม่เป็นกรดหรือผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่ที่เป็นด่างจะมีค่าพีเอชมากกว่า 7 ดังจะเห็นได้จากผลิตภัณฑ์ต่างๆที่มีการจัดแยกตามค่าพีเอชได้จากตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่	ค่าพีเอช
<u>กรดสูง</u>	
ขนมปังซาวโด	4.2-4.6
พายแอปเปิ้ล	4.2
<u>กรดต่ำ</u>	
ขนมปังขาว	5.7
ขนมปังโฮลวีต	5.6
ขนมปังถั่วผสมช็อกโกแลต	6.2-6.6
ขนมปังผสมถั่วและลูกเกด	6.1-6.7
<u>ด่าง</u>	
ขนมปังจืด	6.0-8.0
ขนมปังถั่วผสมกล้วย	7.2-7.9

ที่มา: Smith และSimpson (1995)

ส่วนค่า a_w ของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เป็นดัชนีบ่งชี้ที่สำคัญที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ Smith และSimpson (1995) ได้จัดประเภทของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ตามค่า a_w ได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีความชื้นต่ำจะมีค่า a_w น้อยกว่า 0.6 กลุ่มที่ 2 ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่กึ่งแห้งจะมีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.6-0.85 และกลุ่มที่ 3 ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีความชื้นสูงจะมีค่า a_w มากกว่า 0.85 และโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 0.95-0.99 ดังตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีการจัดแยกตามค่า a_w ตามแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า water activity (a_w) ของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่	ค่า a_w
<u>ความชื้นต่ำ</u>	
คุ้กกี้	0.2-0.3
แครกเกอร์	0.2-0.3
<u>กึ่งแห้ง</u>	
เค้กจำพวกโดนัท	0.85-0.87
ช็อกโกแลตโดนัท	0.82-0.83
เดนนิสเพสตรี้	0.82-0.83
เค้กครีม	0.78-0.81
คุกกี้ชนิดอ่อน	0.5-0.78
<u>ความชื้นสูง</u>	
ขนมปัง	0.96-0.98
โดนัทยีสต์	0.96-0.98
พายผลไม้	0.95-0.98
เค้กแครอท	0.94-0.96
คัสตาร์ดเค้ก	0.92-0.94
ชีสเค้ก	0.91-0.95
เค้กเนย	0.9
ขอบพิซซ่า	0.94-0.95
พิซซ่า	0.99

ที่มา: Smith และSimpson (1995)

ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่หลายชนิดและส่วนผสมที่ใช้จะมีค่าpHและระดับ a_w ที่จำกัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ยกตัวอย่างเช่น ค่าพีเอชของคัสตาร์ดที่ใช้เป็นไส้ขนมเบเกอรี่มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.8-6.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella* (Bryan, 1976) ทั้งค่าพีเอชและค่า a_w อาจมีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา ยกตัวอย่างเช่น น้ำตาลไอซิ่งที่มีค่า a_w ต่ำมักไม่มีปัญหาจากการเจริญของจุลินทรีย์อย่างไรก็ตามที่ผิวสัมผัสระหว่างเค้กกับน้ำตาลไอซิ่งอาจจะมีค่า a_w ที่สูงขึ้นซึ่งจะสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ Silliker และMchugh (1967) ได้รายงานการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่บริเวณระหว่างผิวสัมผัสของเค้กและน้ำตาลไอซิ่ง

2.3.1 สภาพการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ส่วนใหญ่ยกเว้นผลิตภัณฑ์ที่มีไส้ครีม คัสตาร์ด และเนื้อสัตว์สามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องโดยยังคงมีคุณภาพในการเก็บรักษาที่ดี อย่างไรก็ตามสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนั้นอาจจะส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นและอาจไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยิ่งไปกว่านั้นผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่จะมีการทำให้สุก และการเก็บไว้โดยไม่มีการให้ความร้อนก่อนการบริโภคดังนั้นจึงอาจไม่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังจากการอบโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ไส้ครีม ไส้เนื้อสัตว์ และไส้เนยแข็งอาจเป็นพาหะของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยชะลอการเจริญของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีไส้เหล่านี้

2.3.2 เชื้อที่สร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

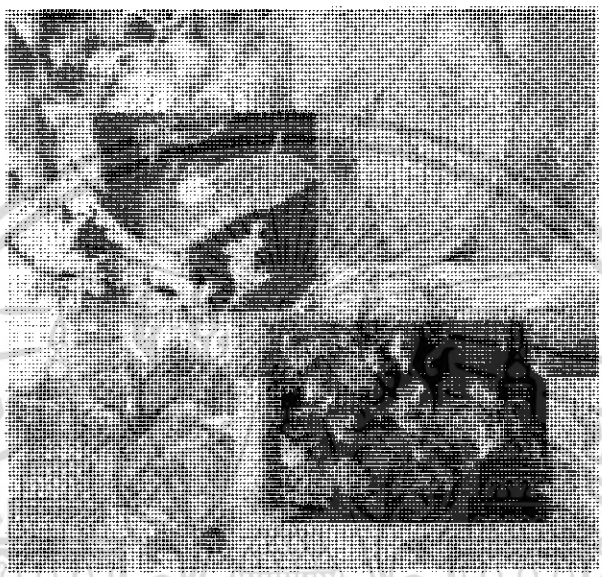
ถึงแม้ว่าโดยส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอาหารเป็นพิษแต่เชื้อราก็มักเป็นจุลินทรีย์ที่จำกัดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีความชื้นสูง และความชื้นปานกลางนั้นเชื้อราอาจสร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่โดยไม่แสดงลักษณะการเสียเชื้อราบางชนิดเช่น *Alternaria, Aspergillus, Fusarium* และ *Penicillium* spp. อาจจะมีสารพิษมากกว่าหนึ่งชนิดอาจก่อให้เกิดมะเร็ง (Tabibi และ Salehian, 1974) สารพิษจากเชื้อราสามารถพบได้ในอาหารหลายประเภทได้แก่ ธัญพืชและผลิตภัณฑ์ที่ผสมเมล็ดธัญพืช เมล็ด ถั่ว ผลไม้ ผักและผลิตภัณฑ์นม (Malloy และ Marr, 1997) ตรวจพบเชื้อ *A. flavus* ในแป้งสาลีเชื้อรา *A. flavus* ที่แยกได้ร้อยละ 93.3 สามารถสร้างสารพิษการเพิ่มปริมาณสารพิษจากเชื้อราในธัญพืชเกี่ยวข้องกับสภาพภูมิอากาศ (แห้งแล้ง ฝนตก) และในสภาพการเก็บที่ไม่เหมาะสม Abouzied และคณะ, 1991ได้มีการสำรวจเมล็ดธัญพืชมา 92 ชนิดที่เก็บไว้ขายปลีกพบอะฟาท็อกซินบี1 (alflatoxin B1), zear alenone และ deoxynivalenol (DON[vomitoxin]) โดยพบแป้งข้าวสาลี 1 ตัวอย่าง มีอะฟาท็อกซินบีและ zearalenone จะพบในร้อยละ 26 ของตัวอย่างที่สุ่มมาตรวจสอบและอีกร้อยละ 50 ของตัวอย่างพบสารพิษ DON เกินกำหนดของ FDA (เกิน 1 ppm) ยิ่งกว่านั้นร้อยละ 88 ของตัวอย่างธัญพืชแป้ง ขนมปัง มัฟฟิน และข้าวทดสอบมีสารพิษ DON (Aboou zied และคณะ, 1991) การควบคุมการเกิดสารพิษทำได้โดยเก็บเมล็ดข้าวสาลีอย่างเหมาะสมเพื่อเลี่ยงการได้รับความชื้นและการสูญเสียความชื้นออก อย่างไรก็ตามการเกิดโรคระบาดจากสารพิษจากเชื้อราเกิดจากแป้งที่ถูกความชื้นจากการเกิดฝนตกทำลายข้าวสาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Bhat และคณะ1989) การใช้สารยับยั้งเชื้อรา เช่น โพพิโอเนต และซอร์เบท สามารถลดความเสี่ยงจากการเติบโตของเชื้อราและการสร้างสารพิษในขนมปัง (Lennox และ McElroy, 1984)

2.4 ผลไม้และสมุนไพรที่ใช้ยับยั้งเชื้อรา

2.4.1 ส้มโอ



รูปที่ 3 ส้มโอ

ที่มา http://www. plantpro.doae.go.th/plantclinic/clinic/plant/pummelo/index.html

ส้มโอ: Pomelo or Grapefruit

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Citrus maxima*

วงศ์:Rutaceae

ส้มโอ: เป็นพืชตระกูลเดียวกับมะนาว ส้ม และมีวิตามินซีสูงซึ่งป้องกันการติดเชื้อใช้ในการบำบัดต่างๆ เช่น สิว รอยแผลเป็น ช่วยปรับสภาพผิว เหมาะกับผิวมัน กระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นผม นอกจากนี้ยังช่วยในการ ลดไขมันใต้ผิวหนัง และผ่อนคลายกล้ามเนื้อ น้ำมันหอมระเหยจากส้มโอ ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำสบู่ เครื่องสำอาง น้ำหอม และใช้ในการทำขนม เครื่องดื่มจำพวกแอลกอฮอล์ ทั้งให้ความหอมและเป็นการเพิ่มรสชาติ

ส่วนที่ใช้: ราก

กลิ่น: ไอดิน และรากไม้

อารมณ์: อบอุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบทางเคมี: กรดเบนโซอิก (benzoic acid) วีติควอรอล (vetiverol) และเฟอฟูรอล (furfurol)
คุณสมบัติ: ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ฆ่าเชื้อโรค ผ่อนคลายความเครียด
สรรพคุณ: ใช้เป็นยาใบ แก้ปวดข้อ ท้องอืดแน่น แก้ปวดหัว ดอก แก้ปวดกระเพาะอาหาร แก้ปวดกระบังลม ขับเสมหะ และขับลม ผล แก้เมาสุรา ขับลมในกระเพาะอาหาร ช่วยเจริญอาหาร เปลือกผล ขับลม ช่วยขับเสมหะ แน่นหน้าอก ไอ ปวดท้องน้อย ไส้เลื่อน หรือต้มน้ำอาบแก้ คัน และตำพอกฝี เมล็ดแก้ไส้เลื่อน แก้ปวด ท้อง ราก แก้หวัด แก้ไอ แก้ปวดกระเพาะ อาหาร และไส้เลื่อน
ระบบกล้ามเนื้อและข้อต่อ: บรรเทาอาการข้อต่ออักเสบ
จิตใจต่ออารมณ์: บรรเทาอาการอ่อนเพลีย ช่วยให้นอนหลับง่าย ผ่อนคลายความตึงเครียด
ผิวหนัง: สิว ริ้วรอยที่เกิดจากวัย
ประโยชน์: ใช้เป็นอาหาร เปลือกผลสีขาว เชื่อมเป็นอาหารหวาน เนื้อผล รับประทานเป็นผลไม้ ทำยำส้มโอ ใส่ข้าวยำ ทำเมี่ยงส้มโอ และน้ำผลไม้ คุณค่าทาง โภชนาการ ผิวผลนอกสุด มีน้ำมันหอมระเหย เปลือก ผลสีขาว มีสารเพคตินสูง ธาตุฟอสฟอรัส แคลเซียม และอื่นๆ เนื้อผล มีกรดอินทรีย์ วิตามินซี เอ และบี มีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และสารอื่น
ข้อพึงระวัง: ไม่เป็นพิษ เหมาะสำหรับผู้ที่มีผิวบอบบางและแพ้ง่าย

2.4.2 มะกรูด

รูปที่ 4 มะกรูด

ที่มาhttp:// www.samunpai.com/samunpai/show.php?cat=7&id=21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อสามัญ: Porcupine Orange, Kiffir lime, Leech lime, Bergamot

ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Citrus hystrix* DC

ชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่น ภาคกลางเรียก มะกรูด ภาคเหนือเรียก มะกูด มะขูด หมากกูด กะเหรี่ยงแม่ฮ่องสอนเรียก มะขู ภาคอีสานเรียก บักกูด บักหูด หมักหูด มะขูด มะหูด หมากกูด ภาคใต้เรียก ส้มกรูด ส้มมั่วผี เขมรเรียก โกรัยเซียด

ส่วนที่นำมาใช้: ใบ ผล และผิวของผล

สารเคมีที่พบ เมื่อนำมากลั่นด้วยไอน้ำ จะพบน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.08 ชื่อน้ำมันหอมระเหยที่พบส่วนใหญ่ประกอบด้วย ซิโทรเนลลา (citronellal) คาดินีน cadinene) เบต้า- ไพนีน ซาบินีน (beta-pinene sabinene) ไอโซโพลีกอล (isopolegol) ลินาลู (linalool)

สารที่มีประโยชน์: กรดซิตริคอยู่ในน้ำของผลมะกรูดซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ น้ำมันหอมระเหย (Citronell al) ที่พบในผิวของผล

สรรพคุณที่ใช้เป็นยา:

1). น้ำมะกรูดช่วยให้เจริญอาหารแก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ และใช้ดองยาเพื่อนำมาใช้เป็นยาบำรุงโลหิตสตรีและฟอกเลือด

2). สระผมด้วยน้ำมะกรูดจะทำให้เส้นผมลื่นเป็นมัน ไม่แห้งกรอบ ไม่หงอกเร็ว ไม่ร่วง ช่วยบำรุงรากผมและหนังศีรษะไม่ให้เป็นรังแค ทำให้เส้นผมดกดำเป็นเงางาม โดยนำผลมะกรูดไม่ปอกเปลือกผ่าเป็นสองซีกนวดผมให้ทั่วศีรษะ

3). ช่วยขับและละลายเสมหะบรรเทาอาการไอโดยจิบน้ำมะกรูดผสมเกลือเล็กน้อยทุก 5-15 นาที แล้วจึงจิบทุกหนึ่งชั่วโมงเมื่อมีอาการดีขึ้น

4). ใบมะกรูดช่วยรักษาอาการจุดเสียดและขับลมในลำไส้ ส่วนเนื้อมะกรูดใช้เป็นยาแก้อาการปวดศีรษะ

5). ใช้เป็นยาขับลม แก้อาการปวดท้องในเด็กเล็กโดยนำมาหิงคุ์ใส่ในผลมะกรูดที่นำไส้หรือเนื้อออกแล้ว ทาที่ท้องเด็ก เว้นที่สะดือ

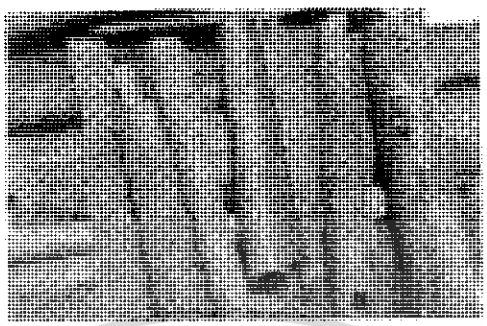
ข้อควรระวัง

1). หลังจากการจิบน้ำมะกรูดแล้วควรบ้วนปากทุกครั้ง เพราะน้ำมะกรูดมีความเป็นกรด สามารถทำลายผิวเคลือบฟันได้

2). ก่อนสระผมด้วยมะกรูดควรชะโลมผมให้เปียกเสียก่อน เพื่อให้มะกรูดออกฤทธิ์เป็นกรดน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 อบเชย



รูปที่ 5 อบเชย

ที่มา http://www.baanjiomyut.com.

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cinnamomum cassia*

ชื่อวงศ์: Lauraceae

ชื่อสามัญ: Cassia bark, Chinese cassia, Indian bark

ข้อมูลทางพฤษศาสตร์: เป็นไม้ต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงถึง 40 เมตร เปลือกต้นมีสีน้ำตาลแกมเทา กิ่งอ่อนมีขนสีน้ำตาล ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามหรือเยื้องกัน รูปขอบขนาน รูปวงรีแกมขอบขนาน รูปขอบขนานแกมรูปไข่หรือรูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3 - 4 เซนติเมตร ยาว 8 – 15 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบกลม ขอบใบเรียบ มีเส้นใบ 3 เส้น ออกจากโคนใบไปจรดปลายใบ ผิวใบด้านบนเกลี้ยงเป็นมัน ด้านล่างมีขนเล็กน้อย ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร ดอกช่อแยกแขนงออกที่ปลายกิ่งและซอกใบ กลีบรวม 6 กลีบ รูปขอบขนานแกมรูปไข่ สีขาวหรือขาวแกมเหลือง ผลสดรูปวงรี ยาว 10 - 13 มิลลิเมตร เมื่อสุกสีม่วงดำ ผิวเกลี้ยง เมล็ดแข็ง

สารเคมีที่พบ: เบนเซลดีไฮด์ (Benzaldehyde) บอร์นีออล (borneol) แคมฟีน (camphene) แคมฟอร์ (camphor) ซินนามิกอัลดีไฮด์ กรดซินนามิก (cinnamic acid) ซินนามิก แอลกอฮอล์ (cinnamic alcohol) ยูจีนอล ฟีนอล

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: ต้านการอักเสบ ยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน จับอนุมูลอิสระ ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา เพิ่มภูมิคุ้มกัน ต้านมะเร็ง (นันทวันและอรนุช, 2543)

2.5 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) หมายถึง น้ำมันที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ เก็บไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น กลีบ ดอก ใบ ผิวของผล เกสร ราก หรือเปลือกของลำต้น อนุภาคเล็กๆ ของน้ำมันหอมระเหยเหล่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้จะระเหยออกมาเป็นกลุ่มไอรอบๆ เมื่อได้รับความร้อนทำให้เราได้กลิ่นหอมอบอวลทั่วไป นอกจากนี้ยังช่วยดึงดูดแมลงให้มาผสมเกสรดอกไม้ปกป้องการรุกรานจากศัตรูและรักษาความชุ่มชื้นให้กับพืชสำหรับประโยชน์ต่อมนุษย์นั้น น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการอักเสบหรือลดบวม คลายเครียด หรือ กระตุ้นให้สดชื่น ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด (พิมพร, 2545)

ลักษณะทั่วไปเป็นของเหลวใสไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวที่ระเหยได้ง่ายเมื่อมีอุณหภูมิปกติเมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น น้ำมันตะไคร้หอม ประกอบด้วยเจอรานิออล ซิโทรเนลล่า (citronella) และบอร์นีออล (borneol) ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติในการไล่แมลง หรือน้ำมันตะไคร้ ประกอบด้วย ซิทอล (citral) ลินาลู และเจอรานิออล ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติช่วยในการขับลม แก้จุกเสียด เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตอตุสาหกรรม, 2545)
ส่วนประกอบของพืชที่ใช้นำมาทำเป็นน้ำมันหอมระเหย

ตารางที่3 ส่วนของพืชที่ใช้เป็นพืชสมุนไพร

ส่วนของพืชที่ใช้เป็นพืชสมุนไพร	พืชสมุนไพร
ราก	กระชาย ชะเอม ระย่อม โสม
เปลือกไม้	อบเชย ควินิน โมก
เนื้อไม้	กฤษณา การบูร
ลำต้นใต้ดิน	ขิง ข่า ไพล
ลำต้นบนดิน	ตะไคร้ หญ้าหนวดแมว
ดอก	กานพลู คำฝอย
เมล็ด	ลูกจันทร์ ละหุ่ง
ผล	พริกไทย สับปะรด ฝรั่ง
ใช้ทุกส่วนของพืช	ผักชี

ที่มา: รุ่งรัตน์ (2540)

2.5.1 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย

วิธีการผลิตน้ำมันหอมมีอยู่ 3 แบบ คือ การสกัดด้วยสารที่เป็นตัวทำละลาย การบีบคั้น และการกลั่น วิธีการสกัดโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายเป็นวิธีการที่พัฒนามาจาก วิธีการแบบดั้งเดิมที่ผสมดอกไม้ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่นหอมกับกรดไขมันเพื่อสกัดกลิ่นหอมดังกล่าวนำไปสู่การพัฒนาวิธีการที่เรียกว่า เอ็นฟลูเรจ (enfleurage) สามารถสกัดน้ำมันหอมจากดอกไม้ที่มีความละเอียดอ่อนซึ่งมีการผลิตสารที่มีกลิ่นหอม การสกัดด้วยสารที่เป็นตัวทำละลายเป็นกระบวนการที่ใช้ในอุตสาหกรรมที่มีสารระเหยไฮโดรคาร์บอนที่มีความบริสุทธิ์มากเป็นตัวทำละลายสารที่ให้ความหอมจากส่วนของพืชก่อนที่จะนำไปกลั่นเพื่อแยกเอาสารที่เป็นตัวทำละลายออกการบีบและคั้นเป็นวิธีการที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมจากเปลือกส้มในระยะเริ่มแรกเป็นเพียงอุตสาหกรรมในครัวเรือนที่ใช้อุปกรณ์ง่ายๆ แต่ที่ถูกแทนที่โดยกระบวนการที่ใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ การผลิตน้ำมันผิวส้มส่วนใหญ่เป็นเพียงผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันมีเพียง *Citrus bergamia* Risso & Poiteau และ *Citrus aurantium* บางพันธุ์ที่มีการปลูกเพื่อผลิตน้ำมันผิวส้มโดยเฉพาะ วิธีการกลั่นน้ำหอมมีหลายรูปแบบที่สำคัญได้แก่ การต้ม การกลั่นด้วยไอน้ำ การกลั่นที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำต่ำ การต้ม การกลั่น ความดันไอน้ำต่ำ เป็นวิธีการผลิตน้ำมันหอมระเหยแบบโบราณที่ผ่านการปรับปรุงมานานนับศตวรรษ อุปกรณ์ในการต้มแบบพื้นบ้านขนาดเล็กยังคงมีการใช้พร้อมๆ กับอุปกรณ์ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เช่นในเมาริเชียสที่มีการปลูก *Pelargonium* เป็นแปลงขนาดเล็กในพื้นที่ที่เข้าถึงได้ยาก ในสภาพดังกล่าวการสกัดโดยใช้อุปกรณ์ขนาดเล็กและเคลื่อน ย้ายได้ง่าย มีความเหมาะสมในเชิงเศรษฐกิจมากกว่าการขนวัตถุดิบซึ่งมีปริมาณมากมายังโรงงานในส่วน กลาง คุณภาพของน้ำมันหอมจากเมาริเชียสถูกควบคุมโดยผู้ค้าซึ่งทำการผสมน้ำมันหอมจากแหล่งผลิตต่างๆ เข้าด้วยกันเพื่อให้ได้มาตรฐานที่กำหนด การสกัดโดยใช้ไอน้ำเป็นวิธีการคล้ายคลึงกัน เป็นเพียงการผ่านไอน้ำที่มีความร้อนไปยังชิ้นส่วนของพืชเพื่อสกัดน้ำมันหอม ระบบการสกัดขนาดใหญ่ในอุตสาหกรรม เช่น ระบบการกลั่นแบบต่อเนื่องและการใช้ภาชนะบรรจุในการเก็บเกี่ยวเป็นภาชนะที่ใช้ในการกลั่นได้ ด้วยมีการพัฒนาระบบการกลั่นแบบพื้นบ้านขนาดเล็กไฮโดรดิฟฟิวชัน (Hydrodiffusion) ซึ่งเป็นวิธีการสกัดแบบใหม่ที่ใช้อุณหภูมิต่ำและความดันไอน้ำต่ำในการสกัดน้ำมันหอม

2.5.1.1 การใช้ไขมันเป็นตัวดูดซับไขมัน เทคนิคอย่างหนึ่งที่ใช้ในการดักจับกลิ่นหอมที่แท้จริงของดอกไม้ที่มีความละเอียดอ่อนได้ แก้วิธีการทีเรียกว่า เอ็นฟลูเรจ เทคนิคนี้มีจุดกำเนิดในเอเชียซึ่งเป็นวิธีการปฏิบัติทั่วไปในครัวเรือนในการใส่ดอกไม้สดในไขมันหรือน้ำมันเพื่อดักจับความหอม ในตอนกลางคริสต์ศตวรรษที่ 18 มีการพัฒนาไปเป็นการผลิตเป็นการค้าขนาดใหญ่ในฝรั่งเศส (Grasse) ที่ซึ่งในยุครุ่งเรืองมีการจ้างแรงงานสตรีนับพันคนในโรงงานเอ็นฟลูเรจขนาดใหญ่ วิธีการเอ็นฟลูเรจส่วนใหญ่ใช้ได้ผลดีกับดอกไม้ที่มีการผลิตสารที่ให้กลิ่นหอมหลายวันติดต่อกันหลังจากเก็บเกี่ยว ยกตัวอย่างเช่น ดอกมะลิที่ให้ผลผลิตน้ำมันผลผลิตน้ำมันหอมเพิ่มมากขึ้น 4-5 เท่าตัวเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่มีในดอกสดในแต่ละช่วงเวลาในทิวเบอโรสมีเพิ่มมากขึ้นถึง 12 เท่าตัว โดยวิธีการเอ็นฟลูเรจผลผลิตน้ำมันหอมที่ได้จากดอกไม้เหล่านี้มีสูงกว่าเมื่อสกัดโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายหรือการกลั่น ในปัจจุบันวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนี้แทบจะไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์เพราะมีค่าจ้างแรงงานสูงมาก มีเพียงเฉพาะในการผลิตน้ำมันทิวเบอโรสที่มีคุณภาพสูงสุดในบางครั้งแต่ก็เป็นเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้นใน "เอ็นฟลูเรจ" มีการวางดอกไม้ในถาดหนา 1 ชั้น ที่มีการเคลือบไขไว้บางๆ ทำหน้าดูดซับสารระเหยจากดอก มีการใช้ผ้าฝ้ายชุ่มน้ำมันวางบนตะแกรงเหล็กแทนการใช้กระจกแก้วเคลือบไขการดูดซับใช้เวลานาน 1-3 วันก่อนที่จะนำดอกไม้ชุดใหม่มาวางแทนจนกว่าไขจะอิ่มตัวผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่าปอมเมด (pomade) สามารถนำ ไปใช้ประโยชน์โดยตรงในการผลิตเครื่องสำอาง แต่ส่วนมากกับนำไปล้างด้วยแอลกอฮอล์ของเหลวที่ได้เรียกว่า "extrait" หรือ "absolute de pomade" มีการใช้เอ็นฟลูเรจเพื่อถนอมกลิ่นหอมที่แท้จริงของดอกไม้ที่มีความละเอียดอ่อน เช่น ดอกแคสซี่ (*Acacia farnesiana*) เฮลิโอทรอป (*Heliotropium peru vianum*) ดอกสถาน (*Jasminum grandiflorum*) jonquil (*Narcissus jonquilla* L.) ดอกส้ม (*Citrus aurantium*) ทิวเบอโรส (*Polianthes tuberosa*) และไวโอเล็ท (*Viola odorata*) ใน "hot enfleurage" มีการใส่ดอกไม้ในถุงผ้าลินินก่อนนำไปใส่ในไขมันที่ละลายน้ำมันพืชหรือ mineral oil ให้ความร้อน 50-60 องศาเซลเซียส หลังจากใช้เวลานานสูงสุด 12 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนดอกไม้ในถุงเมื่อน้ำมันอิ่มตัวทำการบีบน้ำมันออกจากถุง ทั้งนี้ปอมเมดที่มีคุณภาพสูงได้จากการผลิตที่ให้ดอกไม้สัมผัสกับสารดูดซับเป็นเวลานานที่สุด (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544) ความพยายามในการสกัดกลิ่นที่แท้จริงของดอกไม้ล่าสุดมีการพัฒนาเทคนิคใหม่ที่เรียกว่า headspace analysis วิธีการนี้ใช้สำหรับดอกไม้ที่มีกลิ่นหอมดึงดูดใจมาและมีปริมาณน้ำมันหอมน้อยเกินกว่าที่จะทำการสกัดให้ได้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ เช่น lily of the valley และกล้วยไม้หลายชนิด วิธีการนี้เป็นการนำดอกไม้สดที่ติดอยู่กับต้นใส่ไปในโถแก้ว ในเวลาต่อมาอากาศในโถแก้วอิ่มตัวด้วยสารที่ระเหยออกมาจากดอกมีการต่อท่อนำเอาอากาศไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบโดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่ทันสมัย หรือทำให้สารระเหยมีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นโดยทำการควบแน่นหรือการดูดซับ เทคนิคที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีความไวมากจนสามารถบันทึกความแปรปรวนของลักษณะและปริมาณของกลิ่น เนื่องจากปริมาณสารระเหยที่ผลิตจากดอกไม้เหล่านี้มีปริมาณน้อยมากการวิเคราะห์มีวัตถุประสงค์ของการศึกษาข้อมูลที่เที่ยงตรงของกลิ่น ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรุงแต่งกลิ่นเหล่านี้ขึ้นมา อย่างไรก็ตามแม้ว่าจมูกของคนยังคงมีความไวต่อกลิ่นมากกว่าเครื่องมือวิเคราะห์สมัยใหม่ประมาณ 1,000 เท่าตัวยังคงไม่สามารถดักจับกลิ่นหอมที่มีอยู่ทั้งหมดในสารหอม มีการใช้เทคนิคในการค้นหาสารเคมีมีกลิ่นหอมชนิดใหม่ๆ มีการค้นพบสารเคมีที่ให้กลิ่นหอมชนิดใหม่ไม่เคยมีการค้นพบมาก่อนเป็นจำนวนมากและส่วนหนึ่งสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

2.5.1.2 การสกัดโดยใช้สารเป็นตัวทำละลายจะมีการพัฒนาวิธีการสกัดสารที่ให้ความหอมจากพืชโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายในตอนกลางคริสต์ศตวรรษที่ 19 แตกต่างไปจากเอ็นฟลูเรจแบบร้อนมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองสกัดน้ำมันหอมทีละมากๆ โดยนักทดลองหลายคนบุคคลหนึ่งในจำนวนนั้น ได้แก่ Garnier ซึ่งได้จดทะเบียนเครื่องสกัดต้นแบบมีการนำไปใช้อย่างกว้างขวางในระยะแรกๆ ในฝรั่งเศสและต่อมามีการนำไปใช้ทั่วโลกแทนที่วิธีการสกัดแบบเอ็นฟลูเรจหลักการพื้นฐานของการสกัดโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายไม่ซับซ้อนนำชิ้นส่วนสดของพืชที่จะสกัดเช่นดอกหรือใบที่หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กใส่ในหม้อที่ใช้สกัดเติมสารระเหยบริสุทธิ์อย่างระมัดระวังด้านบนของหม้อให้ซึ่งซับไปทั่วทุกส่วนของพืช และละลายสารที่ให้ความหอมออกมารวมทั้งไขอัลบูมินและสารต่างๆ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำภายใต้ความดันบางส่วน ส่วนที่เหลืออยู่เรียกว่าคอนกรีต (concrete) นำไปล้างด้วยแอลกอฮอล์หลายครั้งเพื่อล้างเอาส่วนที่เป็นไขและสารเจือปนอื่นออก ส่วนที่ได้เรียกว่าแอบโซลูท (adsolute) วิธีการสกัดดังกล่าวนี้ทำซ้ำกันหลายครั้งจนกว่าสกัดสารให้ความหอมออกมาได้หมดในกรณีของเครื่องเทศใช้วิธีการคล้ายๆ กันสารสกัดที่ได้มีสารหอม ไข เรซิน และสารสีรวมกันเรียกว่าโอลีโอเรซิน (oleoresins) สารที่นำมาให้เป็นตัวทำละลายต้องมีการคัดเลือกอย่างระมัดระวัง ควรเป็นสารที่ละลายสารที่มีกลิ่นหอมอย่างรวดเร็วและสารละลายสารเจือปน เช่น ไข สารสี และอัลบูเมน ออกมาน้อยที่สุดต้องไม่ดูดซับน้ำเพราะว่ายากต่อการเอาออกจากส่วนที่สกัดได้ สารที่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเธอร์ (เป็นส่วนผสมส่วนใหญ่ของเพนเทน (pentane) และเฮกเซน (hexane) ที่ได้จากกระบวนการกลั่นแยกส่วนของน้ำมันดิบ) เบนซีน และแอลกอฮอล์ สารสกัดเครื่องเทศนิยมใช้เฮกเซนและไดคลอโรมีเทน สารที่เป็นตัวทำละลายที่ได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบันได้แก่คาร์บอนไดออกไซด์เหลวหรือที่อยู่ในรูป supercritical form การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เสียค่าใช้จ่ายสูงแต่มีข้อดีหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้สารที่เป็นตัวทำละลายอย่างอื่นโดยเป็นสารที่ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสและไม่เป็นพิษ รวมทั้งไม่ติดไฟ มีความหนืดต่ำ ทำให้แทรกซึมไปในส่วนของพืชได้ดีและการมีอุณหภูมิเดือดต่ำทำให้แยกออกภายหลังได้ง่ายในการสกัดที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์สามารถควบคุมการเลือกการละลายโดยการควบคุมอุณหภูมิและความดัน โดยทั่วไปการสกัดโดยใช้สารที่เป็นตัวทำละลายจัดว่าเสียค่าใช้จ่ายสูง เมื่อเปรียบเทียบกับนำสกัดโดยการต้มด้วยน้ำหรือสกัดด้วยไอน้ำไม่เหมาะสำหรับนำมาปรับใช้ในการสกัดแบบขนาดเล็กแบบง่ายๆ แต่เหมาะสำหรับโรงงานขนาดใหญ่สารที่เป็นตัวทำละลายหลายชนิดติดไฟได้ง่ายและเสียค่าใช้จ่ายสูงในการทำให้บริสุทธิ์และควรใช้ความระมัดระวังในการนำกลับมาใช้ใหม่เพื่อป้องกันการเกิดมลภาวะน้ำมันหอมที่สกัดจากดอกตามปกติจะมีสีเข้มกว่าและสามารถละลายในแอลกอฮอล์ได้ยากกว่าที่ได้จากการกลั่น ข้อดีของการสกัดด้วยสารที่เป็นตัวทำละลาย ได้แก่ มีความเที่ยงตรงในแต่ละขั้นตอนและโดนทั่วไปคอนกรีต และแอบโซลูทที่ได้ใกล้เคียงกับกลิ่นหอมที่แท้จริงของพืช (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปล่อยน้ำมันออกมาจากต่อมน้ำมัน มีน้ำล้าง น้ำมันและกากในถังมีลักษณะเป็นน้ำและน้ำมันรวมกันในขณะเดียวกันน้ำและน้ำมันที่ติดอยู่ที่ผลถูกดูดซับโดยถูกกลิ้งพิเศษในเครื่องทำแห้ง ของเหลวที่รวบรวมได้จากถังและจากเครื่องทำแห้งผ่านการกรองนำไปแยกโดยใช้แรงเหวี่ยงจาก "sfumatrice" วิธีทดสอบมีการปรับปรุงขึ้นไปอีกเป็น "F.M.C. in line extractor" ของ Food Machinery and Chemical Co. เป็นระบบทำงานอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันมากกว่าครึ่งหนึ่งของน้ำมันผิวส้มจะมีการใช้ระบบดังกล่าวนี้จะคั้นน้ำจากผลส้มและน้ำมันจากเปลือกส้มทั้งผลในเวลาเดียวกัน ลักษณะการทำงานเป็นการนำผลไปวางระหว่างถ้วย 2 ใบประกอบด้วยอุปกรณ์คล้ายนิ้วมือทำด้วยโลหะส่วนเปลือกด้านล่างของผลถูกตัดออกเป็นช่องกลมขนาดเล็กส่วนถ้วยด้านบนกดลงส่วนคล้ายนิ้วมือจะประสานกัน และบีบคั้นผลคั้นเอาส่วนน้ำออกไปในขณะเดียวกันแรงอัดของการล็อคประสานของส่วนคล้ายนิ้วมือทำให้ต่อมน้ำมันในเปลือกแตกออกล้างออกด้วยการฉีดพ่นด้วยน้ำที่มีแรงดันสูงในขั้นตอนสุดท้ายทำการรวบรวมส่วนผสมของน้ำและน้ำมันนำไปแยกโดยใช้แรงเหวี่ยง (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

2.5.1.4 การกลั่น เครื่องกลั่นเก่าแก่ที่สุดมีมาตั้งแต่สมัยศตวรรษที่ 4 ใช้กระบวนการควบแน่นของไอน้ำบนฝาของหม้อหุงต้มที่คุ้นเคยทั่วไป การปรับปรุงหลักนี้ได้แก่การปรับปรุงส่วนขอบด้านในของฝาเพื่อรวบรวมและใช้ของเหลวที่กลั่นตัวได้ไหลออกมาเป็นการต้มบนเตาไปโดยตรงส่วนหนึ่งของวัสดุที่สัมผัสโดยตรงกับผนังหม้อที่ร้อนทำให้เกิดการไหม้ทำให้สารบางชนิดเกิดการสลายตัว ในคริสต์ศตวรรษที่ 11 นักฟิสิกส์ชาวอิหร่านชื่อ Abu Cina (ชื่อเรียกในยุโรป Avicenna) เพิ่มตะแกรงเข้าไปในหม้อให้ติดอยู่ในระดับเหนือผิวน้ำและวางวัสดุที่จะกลั่นลงบนตะแกรง วิธีการดังกล่าวนี้ทำให้มีเฉพาะไอน้ำที่ผ่านวัสดุผลิตผลที่ได้มีการเสื่อมสลายตัวน้อยลง จึงมีการปรับปรุงให้นำไปสู่การพัฒนาของวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำการปรับปรุงที่สำคัญครั้งสุดท้ายในคริสต์ศตวรรษที่ 12 ได้แก่ การติดเครื่องควบแน่นที่ซึ่งไอน้ำเย็นตัวลงและกลั่นตัวเป็นของเหลวอย่างรวดเร็ว เป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพของการกระบวนการกลั่นวิธีการกลั่นสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 แบบ คือ การต้ม การกลั่นด้วยไอน้ำ และการกลั่นที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำต่ำ หลักการการต้มได้แก่ การต้มส่วนของพืชที่มีกลิ่นหอมในหม้อซึ่งต้องต้มให้กลายเป็นไอเกิดการควบแน่นและรวบรวมของเหลวที่กลั่นได้ น้ำมันหอมซึ่งไม่ผสมกับน้ำสามารถแยกออกโดยหลักการของแรงโน้มถ่วงใน "Florentine flask" น้ำในหม้อต้มให้มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลาเพื่อไม่ให้ชิ้นส่วนของพืชติดกันและจมลงไปที่ก้นของหม้อต้ม ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยออกมาต่ำ ชิ้นส่วนของพืชที่เกิดการไหม้และการสลายตัวของสารประกอบบางชนิดที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความร้อนทำให้เกิดกลิ่นที่เรียกว่ากลิ่นหม้อต้ม (still odours) ยังคงมีการใช้วิธีการสกัดน้ำมันหอมโดยการต้มในเครื่องสกัดในแปลง แต่ส่วนใหญ่ใช้สกัดน้ำมันจากดอกไม้ เช่น ดอกกระดังงาไทย ดอกกุหลาบ และดอกส้ม ซึ่งจะรวมตัวเป็นก้อนเมื่อสกัดโดยวิธีอื่นๆ ข้อเสียของการต้มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำคัญได้แก่ ต้องต้มน้ำในปริมาณที่มาก ยกตัวอย่างเช่น การสกัดน้ำมันหอมจากดอกกุหลาบหนัก 400 กก. ต้องต้มน้ำ 1,600 ลิตร ในหม้อต้มขนาด 3,000 ลิตร ในอินเดียมีการต้มแบบพิเศษในการผลิตอัททาร์ (attars) จัดเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่และส่วนใหญ่เป็นอุตสาหกรรมพื้นบ้าน มีหม้อต้มขนาดบรรจุ 100-160 กิโลกรัม ใช้ในการต้มดอกไม้หรือชิ้นส่วนของพืช ข้อแตกต่างในเครื่องสกัดนี้ได้แก่ ไอน้ำที่เกิดขึ้นไม่ได้เย็นลงในเครื่องควบแน่นแต่จะผ่านไปยังภาชนะที่ใช้เก็บที่บรรจุสาร base materials ส่วนประกอบของสาร base materials สารที่ให้ความหอมและน้ำถูกทิ้งไว้ให้เย็นก่อนที่จะรินน้ำออก นำ base materials ที่ละลายสารหอมเก็บไว้ในภาชนะที่ทำด้วยหนัง การใช้หนังเพราะว่าสามารถเก็บน้ำมันได้ในขณะที่ปล่อยให้น้ำส่วนที่เหลืออยู่ระเหยออกไปในการผลิตอัททาร์ที่มีคุณภาพ สูงนิยมใช้ sandalwood oil เป็น base materials มีการใช้พาราฟินเหลวผลิตภัณฑ์ที่มีราคาถูกตามปกติอัททาร์มีสารที่สกัดมาจากพืชเพียงชนิดเดียวมีเพียง "hina attar" เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องหอมที่มีสารสกัดจากพืชหลายชนิดผสมกัน อัททาร์ที่ได้รับความนิยมแพร่หลายผลิตจาก *Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miquel, มะลิ (*Jasminum sambac*(L.) Aiton) เป็นต้น การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (บางครั้งเรียก water steam) เป็นวิธีการที่มีทั้งการต้มน้ำและไอน้ำ วิธีนี้มีการใส่ตะแกรงเหล็กเนื้อระดับน้ำสำหรับวางวัสดุที่นำมาสกัดทำให้ไม่มีการสัมผัสกับน้ำโดยตรงส่วนที่ต้มมีเพียงน้ำ ทำให้ไม่เกิดความเสียหายจากการไหม้ของวัสดุลดปัญหาการเกิดกลิ่นที่เรียกว่า "still odours" แต่ผิวหม้อกลั่นที่ร้อนจัดอาจก่อให้เกิดความเสียหายได้ และมีการใช้ในการสกัดน้ำมันหอมจากพืชหลายชนิด เช่น ลาเวนเดอร์ กะเพรา และ สะระแหน่ Cohobation เป็นวิธีการที่สามารถใช้ได้ทั้งในการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำหลังจากการแยกเอาน้ำมันหอมส่วนที่เป็นน้ำซึ่งมีสารที่ให้ความหอมละลายน้ำได้มีการนำกลับลงไปในหม้อต้มสามารถทำ ซ้ำกันหลายครั้งเมื่อความเข้มข้นของสารที่ให้ความหอมที่ต้องการทำการถ่ายน้ำออกจากหม้อต้มนำไปจำหน่ายหรือทำการสกัดสารที่ให้ความหอมของ cohobation จะเพิ่มผลผลิตของสารที่ละลายน้ำได้เป็นบางส่วนก็แต่เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำ และการสลายตัวของสารวิธีการนี้มีปฏิบัติทั่ว ไปในการกลั่นน้ำมันหอมจากดอกกุหลาบ ซึ่งน้ำที่ระเหยออกมาจัดเป็นผลผลิตที่สำคัญรวมทั้งในการผลิตอัททาร์การกลั่นด้วยไอน้ำหรือบางครั้งเรียกว่า "dry steam" distillation ส่วนกำเนิดไอน้ำอยู่แยกจากหม้อกลั่น โดยมีตะแกรงวางวัสดุที่ใช้กลั่น แต่ไม่มีการเติมน้ำมีการต่อท่อไอน้ำมายังหม้อกลั่นตามปกติใช้ไอน้ำที่มีแรงดันสูง เช่น แรงดันไอน้ำ 5-10 bar ที่อุณหภูมิ 150-200 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของไอน้ำและความยากง่ายในการแยกน้ำมันหอมออกมาจากวัสดุ ในพืชที่มีการสะสมน้ำมันหอมในต่อมขนสามารถกลั่นได้ค่อนข้างง่าย ในชนิดที่มีน้ำมันหอมอยู่ลึกลงไปจากชั้นเซลล์ผิวต้องมีการกลั่นนานขึ้น ข้อดีของการกลั่นด้วยไอน้ำได้แก่สามารถควบคุมปริมาณไอน้ำและอุณหภูมิ และจากการที่ผนังของหม้อกลั่นไม่ร้อนกว่าอุณหภูมิของไอน้ำทำให้มีปัญหาการไหม้ของวัสดุน้อยมาก วิธีการนี้เหมาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับใช้ในการสกัดน้ำมันหอมส่วนใหญ่ ยกเว้นในดอกไม้ที่มีความละเอียดอ่อน ข้อควรระมัดระวังมีเพียงในการกลั่นวัสดุที่มีใบมาก ต้องไม่เป็นชิ้นเล็กเกินไปเพราะไอน้ำอาจไม่สามารถแทรกตัวไปได้ทั่ว เกิดเป็นช่องทำให้ผลผลิตน้ำมันหอมต่ำ ในบางครั้งอาจมีการกลั่นโดยใช้แรงดันไอน้ำต่ำเพื่อลดอุณหภูมิ (Lawrence, 1995) มีการพัฒนาอุปกรณ์ช่วยในการบรรจุและขนย้ายวัสดุที่มีการกบั่นออกจากหม้อกลั่น ในช่วงทศวรรษ 1980 และ 1990 ในสหรัฐอเมริกาการผลิตน้ำมันหอมจากมินต์ (*Mentha* spp.) มีการพัฒนาอุปกรณ์ที่ใช้เก็บรวบรวมต้นมินต์หลังเก็บเกี่ยวเป็นหม้อกลั่นในโรงงาน เพื่อลดแรงงานที่ใช้ในการบรรจุและถ่ายวัตถุดิบที่ผ่านการกลั่นออก ในฝรั่งเศส โซเวียต และสหรัฐอเมริกามีการพัฒนา และติดตั้งระบบการกลั่นแบบต่อเนื่องโดยวัสดุที่นำมากลั่นมีการเคลื่อนตัวอย่างช้าๆ ผ่านเครื่องกลั่น มีการปล่อยไอน้ำให้สวนทางมีการควบคุมปริมาณไอน้ำและการใส่วัสดุและการถ่ายออกให้เหมาะสมเพื่อให้การสกัดเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและใช้ปริมาณไอน้ำน้อย มีการติดตั้งอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ชุดทำความสะอาดน้ำมัน และระบบทำให้วัสดุที่ผ่านการกลั่นแห้งเข้ากับเครื่องกลั่น การกลั่นที่อุณหภูมิและความดันไอน้ำต่ำ (hydrodiffusion) เป็นวิธีการกลั่นที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ในช่วงทศวรรษที่ 1980 ใช้แรงดันไอน้ำต่ำ (<0.1 bar) และสารระเหยถูกสกัดออกมาจากส่วนของพืชโดยการบวนการออสโมซิสเป็นส่วนใหญ่ ขั้นตอนในการกลั่นได้แก่ทำการบรรจุส่วนของพืชที่หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กในหม้อกลั่นต่อท่อให้ไอน้ำเข้าสูงถังกลั่นด้านบนและลงสู่ด้านล่างโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลกมีการส่ง ผ่านไอน้ำและสารระเหยไปยังเครื่องควบแน่นที่ติดอยู่ในส่วนของก้นถัง จากผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดแบบนี้ใช้ได้ผลดี ใช้เวลาสั้น ใช้ไอน้ำน้อย น้ำมันที่ได้มีคุณภาพสูง ผลผลิตน้ำมันสูง รวมทั้งไม่มีอุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามในการผลิตเป็นการค้ายังได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

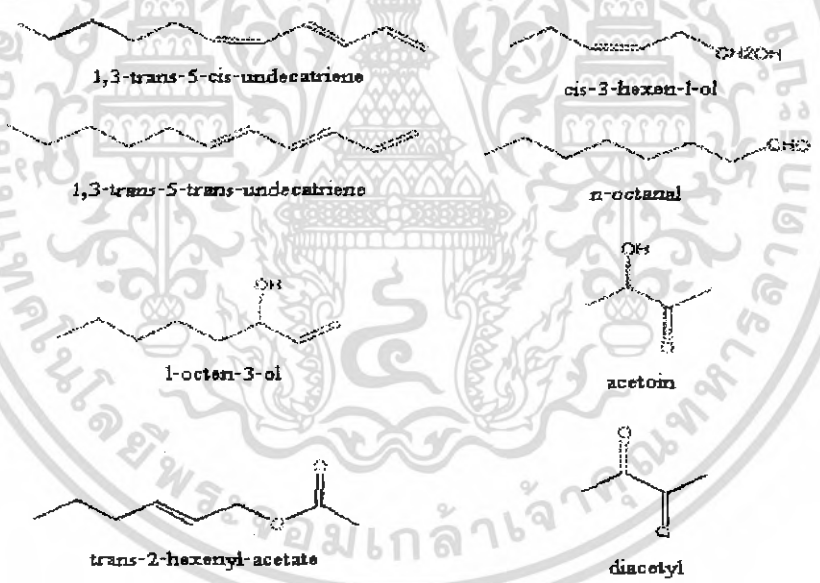
2.5.1.5 การทำให้บริสุทธิ์ หลังจากการกลั่นของเหลวที่ออกมาจากเครื่องควบแน่นรวมไว้ใน "Florentine flask" ทิ้งให้น้ำมันหอมและน้ำแยกตัวออกจากก้นภาชนะ มีช่องเปิดด้านบนและด้านล่างที่น้ำและน้ำมันสามารถไขออกได้ง่าย ในขณะเดียวกันก็มีการแยกเอาส่วนของน้ำที่ติดกับน้ำมันออกหรือทำให้บริสุทธิ์ โดยแยกสารที่ไม่ต้องการออกโดยวิธีการกลั่นแบบแยกส่วน (fractional distillation) เพื่อหลีกเลี่ยงการสลายตัวของสารที่ไม่ทนความร้อนอาจใช้การกลั่นภายใต้สุญญากาศหรือการกลั่นโมเลกุล (molecular distillation) มีการทำให้น้ำมันมีความบริสุทธิ์ในการผลิตน้ำมันผิวส้มที่ไม่มีสารเทอร์พีน น้ำมันเจอราเนียม และน้ำมันจากใบเบย์ มีการแยกสารเทอร์พีนออกจากน้ำมันเหล่านี้ เหลือสารอนุพันธ์ของเทอร์พีนที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนที่ความเข้มข้นสูงและมีกลิ่นหอมแรงกว่า การผลิตในระดับอุตสาหกรรมอาจมีการกลั่นสารบางชนิดจากน้ำมันหอม เช่น น้ำมันหอมจากตะไคร้ต้น (*Litsea cubeba* (Lour.) Persoon) และตะไคร้ เป็นแหล่งผลิตสารซิทรอลหลักและน้ำมันยูคาลิปตัสจากใบ *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.hill & L.A.S. Johnson ใช้ในการผลิตซิโทรเนลลาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันหอมที่เป็นสารผสมที่มีความซับซ้อนในบางครั้งจะประกอบไปด้วยสารเคมีนับร้อยชนิดสารประกอบเหล่านี้ส่วนมากสามารถแยกออกเป็น 2-3 ชั้นหลักแต่ก็มีองค์ประกอบของน้ำมันหอมอีกมากที่ไม่สามา รถจัดลงไว้ในชั้นเหล่านี้ ในการสำรวจทั่วๆ ไปในความสำคัญและลักษณะของสารข้างล่างนี้ มีการจำแนกสารประกอบออกได้เป็น 4 กลุ่มหลัก สารที่เรียงตัวเป็นโซ่ยาว (aliphatic compounds), สารเทอร์พีนส์และสารอนุพันธุ์ของเทอร์พีนส์ (terpene derivatives) สารอนุพันธ์ของเบนซีน (benzene deri vatives) และสารประกอบอื่นๆ

2.5.2.1 สารที่เรียงตัวเป็นโซ่ยาวสารที่เรียงตัวเป็นโซ่ยาวเป็นอินทรีย์สารที่สูตรโครงสร้างไม่เรียงตัวเป็นวงคาร์บอนอะตอมในสารเหล่านี้เรียงตัวเป็นห่วงโซ่ยาว อาจมีลักษณะตรงหรือแตกกิ่งและการเชื่อมต่อของคาร์บอนอะตอมบางจุดอาจจะไม่อิ่มตัว สารไฮโดรคาร์บอนที่เรียงตัวเป็นโซ่ยาวมีมากในอาหาร เช่น ผลไม้ แต่มีกลิ่นเพียงเล็กน้อย สารไฮโดรคาร์บอนที่มีลักษณะไม่อิ่มตัวสูงจำพวก 1,3 – trans-5-cis-undecatriene และ 1,3-trans-5-trans-undecatriene มีผลต่อกลิ่นของ เจอบรานัม (galbanum oil) มาก



รูปที่6 ตัวอย่างสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นโซ่ยาว

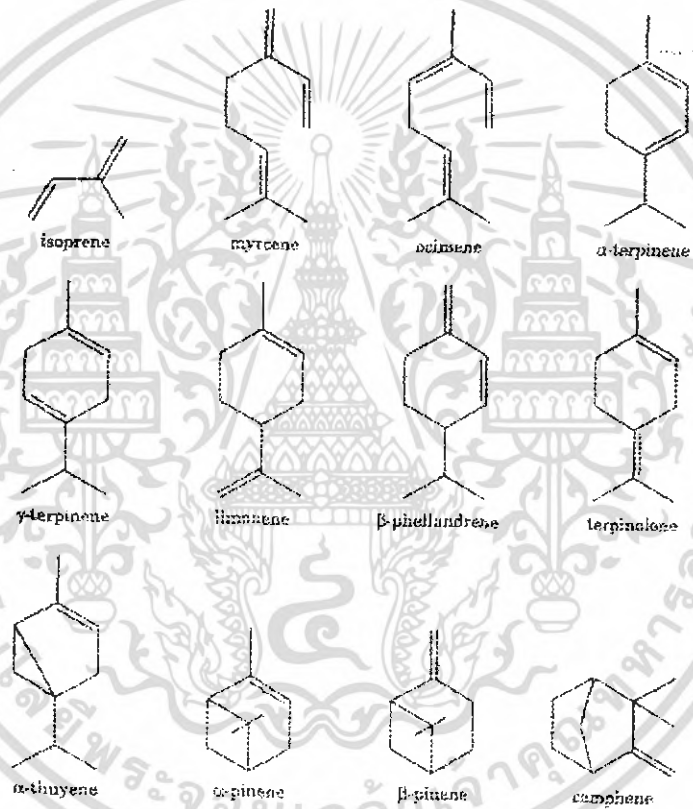
ที่มา : พีรศักดิ์ และคณะ (2544)

2.5.2.2 สารเทอร์พีนและสารอนุพันธ์ของเทอร์พีน

เทอร์พีนเป็นองค์ประกอบของสารหลายกลุ่ม มีสูตรโครงสร้างแตกต่างกันอย่างกว้างขวางแต่มีส่วนของโครงสร้างที่เหมือนกันคือ มีไอโซเพอร์พีน (C_5H_8) *units* 2 ชุด (โมโนเทอร์พีน) 3 ชุด (เซสควิเทอร์พีน) หรือมากกว่า ไอโซพรีนเป็นสารประกอบพื้นฐานในชีวเคมีของสัตว์และพืชใช้ในการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์ สเตียรอยด์และน้ำยาง เป็นสารที่เกิดจากอะซิติวโคเอ ซึ่งมีบทบาทในการสังเคราะห์และออกซิเดชั่นของน้ำตาล สารเทอร์พีนไฮโดรคาร์บอนมีผลต่อรสชาติ และกลิ่นของน้ำมันหอมเล็กน้อย แต่ในรูปแบบของสารอนุพันธ์ที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจัดเป็นสารให้กลิ่นที่สำคัญชนิดหนึ่ง สารโมโนเทอร์พีนส์มีสูตรโมเลกุล $C_{10}H_{16}$ อาจอยู่ในรูปของ acyclic, monocyclic หรือไบไซลิก (bicyclic) มีที่อยู่ในรูปของ tricyclic 2-3 ชนิดได้แก่ ไซโคลเฟนชีน (cyclofenchene) และ ไตรไซคลีน (tricyclene) สารอะไซลิค มอนอเทอร์พีน (acyclic monoterpenes) ค่อนข้างไม่คงตัวและบางชนิดมีกลิ่นแรงเนื่องจากมีสูตรโครงสร้างไม่อิ่มตัว (unsaturated stucture) ตัวอย่างของสารอะไซลิค มอนอเทอร์พีน ได้แก่ ไมร์ซีน (myrcene) และโอซิมีน (ocimene)



รูปที่7 ตัวอย่างสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นสารโมโนเทอร์พีน

ที่มา : พีรศักดิ์ และคณะ (2544)

2.6 มาตรฐานไทยที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันหอมระเหย

ในปัจจุบันได้มีการนำพืชสมุนไพรไทยบางชนิดมากลั่นน้ำมันหอมระเหยและนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเคมี และด้านเภสัชกรรม ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยให้มีคุณภาพดีและเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมจึงมีการกำหนดมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรฐานของน้ำมันหอมระเหยจะขึ้นกับคณะกรรมการวิชาการคณะที่ 861 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหยได้กำหนดมาตรฐานแล้ว 7 เรื่อง ดังนี้

1). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันไพล (PhlaiOil) มาตรฐานเลขที่มอก. 1679-2541

2). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันดอกกานพลู (Clove Bud Oil) มาตรฐานเลขที่มอก. 1680-2541

3). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้ (Lemongrass Oil) มาตรฐานเลขที่มอก. 1681-2541

4). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันตะไคร้หอม (Citronella Oil) มาตรฐานเลขที่มอก. 1682-2541

5). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันผิวมะกรูด (Makrut Peel Oil) มาตรฐานเลขที่มอก. 2078-2544

6). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันใบมะกรูด (Makrut Leaf Oil) มาตรฐานเลขที่มอก. 2079-2544

7). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันโหระพา (BasilOil Thai type) มาตรฐานเลขที่มอก. 2080-2544

มาตรฐานข้างต้นกำหนดขึ้นโดยผู้แทนจากหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่เกี่ยวข้อง และได้ใช้ข้อมูลการศึกษาวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย องค์การเภสัชกรรม กรมวิชาการเกษตร กรมวิทยาศาสตร์บริการ และบริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทยจีนจำกัด รวมทั้งข้อมูลจากเอกสารมาตรฐานระหว่างประเทศ (ISO) เป็นแนวทางกำหนดมาตรฐาน ซึ่งมาตรฐานน้ำมันหอมระเหยแต่ละเรื่องล้วนมีขอบข่ายกำหนดคุณภาพไว้ประกอบด้วย บทนิยาม ชื่อทางพฤกษศาสตร์ คุณลักษณะที่ต้องการ ซึ่งครอบคลุมตั้งแต่ลักษณะทั่วไปที่ต้องเป็นของเหลวใสระบุสีที่ปรากฏต้องไม่มีตะกอนและสารแขวน ลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำมัน โดยมีกลิ่นเฉพาะตัว และกำหนดคุณ ลักษณะทางฟิสิกส์ เช่นการละลายในเอทานอล ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ออปทิคอลโรเทชัน ดัชนี หักเห เป็นต้น ตลอดจนกำหนดองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรต่างๆ มีคุณภาพดีเหมาะสมกับการนำไปใช้โดยทั้งหมดนี้ต้องมีค่าตามเกณฑ์กำหนดในมาตรฐาน นอกจากนี้ยังมีการกำหนดในเรื่องการบรรจุซึ่งควบคุมด้านภาชนะบรรจุที่ต้องแห้งสะอาดปิดสนิท และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำมันหอมระเหยหากใช้ภาชนะที่ทำด้วยแก้วต้องกันแสงได้ และต้องมีที่ว่างเหลือในภาชนะบรรจุร้อยละ 5-10 ของความจุน้ำหนักสุทธิต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ในฉลากและต้องแสดงเครื่องหมายและฉลากต้องเห็นได้ง่ายอ่านได้ชัดเจน ที่สำคัญต้องให้รายละเอียดตามที่มาตรฐานกำหนด โดยมาตรฐานทั้ง 7 เรื่องได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้รายละเอียดการชักตัวอย่างและเกณฑ์การตัดสินรวมไปถึงวิธีทดสอบตามมาตรฐานไว้อย่างชัดเจน (สำนักงานมาตรฐานผลิตอตุสาหกรรม, 2545)

2.7 ผลการยับยั้งของสมุนไพรและผลไม้

รุ่งระวี และคณะ (2537) จากการศึกษาพบว่าผิวผลของพืชตระกูลส้มส่วนใหญ่มีน้ำมันหอมระเหย และสารจำพวก flavonoids ซึ่งมีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus หลายสายพันธุ์ สารสกัด bioflavonoids ที่ได้จากผิวส้ม และสัมโอมีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส และลดอัตราตายในกระต่ายและหนูถีบจักรที่ติดเชื้อไวรัสเมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ น้ำมันหอมระเหยจากผลของมะนาวที่มีฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ *Kloeckera apiculata* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อยีสต์อื่นๆ เช่น *Candida lipolytica, Saccharomyces cerevisiae* เป็นต้น น้ำมันผิวส้ม และน้ำมันมะนาว ฝรั่ง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus parasiticus* และยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในด้านฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ ได้มีผู้พบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีคุณสมบัติดังกล่าว

สิริพร และคณะ (2539) ได้ทดสอบความสามารถของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ *Listerria monocytogenes* , *E. coil* O157:H7 และ*Yersinia enterocolitica* พบกานพลูมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ สารสกัดใบพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *E. coil* O157:H7 ได้ดีที่สุด ในขณะสารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Listerria monocytogenes* ได้ดี สำหรับประสิทธิภาพกานพลูในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Listerria monocytogenes* จะขึ้นกับอุณหภูมิพบว่าที่อุณหภูมิ35 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตจะดีกว่าที่ 4 องศาเซลเซียสและประสิทธิภาพจะดีขึ้นถ้าเพิ่มความเข้มข้น

Fabian และคณะ (1939) ได้ศึกษาพบว่า ความต้านทานของจุลินทรีย์แต่ละชนิดของเครื่องเทศชนิดเดียวแต่จะไม่เท่ากันและในทำนองเดียวกันเครื่องเทศที่ต่างชนิดกันสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันได้ไม่เท่ากัน และยังพบว่าอบเชยผง และกานพลูเป็นเครื่องเทศที่เมื่อใช้ความเข้มข้นในปริมาณต่ำๆ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของบัตเตรีได้ และเมื่อใช้ nutrient agar เป็นอาหารที่ใช้ทดสอบ พบว่าพริกไทยป่น และเครื่องเทศประเภท allspices เข้มข้นร้อยละ 1 มัสตาร์ด ดอกจันทร์ ลูกจันทน์ และขิงเข้มข้นที่ร้อยละ 5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของบัตเตรีได้และสรุปได้ว่าเครื่องเทศที่มีน้ำมันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของบัตเตรีได้ดีกว่าเครื่องเทศที่เป็นผง

Blum และ Fabian (1943) ได้ศึกษาเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศและองค์ประกอบอื่นๆ อีก 7 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนผิวหน้าอาหาร คือ *Acetobacter aceti*และ *Mycoderma*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

viono และยับยั้งการเจริญของอาหารที่หมักดอง เช่น *Sacharomyces cerevisiae* และ *Sacharomyces ellipsoids* พบว่าในน้ำมันหอมระเหยของมัสตาร์ดยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ อบเชย กานพลู และ cassia ก็พบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไม่ได้ขึ้นกับความตึงของผิวอาหารแต่ขึ้นกับชนิดของเครื่องเทศและชนิดของจุลินทรีย์

Bullerman และคณะ (1977) ได้ทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยของอบเชย กานพลู สารบริสุทธิ์ cinnamic aldehyde และ euenol ที่มีต่อการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซิน พบว่าน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลูเข้มข้น 200-250 ppm และสารบริสุทธิ์ซินนามิกอัลดีไฮล์ และยูจีนอลเข้มข้น 150 และ 125 ppm ตามลำดับสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตสารสารอะฟลาทอกซินของ *Aspergillus* parasiticus เป็นองค์ประกอบหลักของกานพลูและอบเชย จึงสรุปได้ว่าสารประกอบทั้งสองชนิดเป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Aspergillus parasiticus* นอกจากนี้ Montews-Belmont และ Carvajal (1998) ได้ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยชนิด 11 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Aspergillus flavus* ปนเปื้อนเมล็ดข้าวโพด พบว่ามีน้ำมันหอมระเหย Cinnamon zeylanicum (cinnamon), Mentha piperita (peppenrmint), Ocimum basilicum (basil), Origanom vulgare (oreganum), Teloxys ambrosisoides (epazygium), Teloxys ambrosioides (epazote), Syzygium aromaticum (clove), และThymus vulgaris (thyme) สามารถยับยั้งการเป็นราเมล็ดข้าวโพด

Hitokoto และคณะ (1987) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 13 ชนิด และเครื่องเทศ 7 ชนิดที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา *Aspergillus* พบว่าจากตัวอย่างพืชที่ใช้ทดสอบ 20 ตัวอย่าง ของเปลือกต้นอบเชย (cinnamon bark) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus, A. paraciticus, A. ochaceus* และ *A. vericolor* ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่พืชทดสอบอื่นๆ ยับยั้งการสร้างสารพิษเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดสารที่มีผลต่อการเจริญของรา *Aspergillus* นั้นสามารถทำได้โดยใช้น้ำร้อน คลอโรฟอร์ม (chloroform) หรือเอทธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย

Azzouz (1982) ได้นำพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ 16 ชนิด สารเคมีป้องกันกำจัดรา 3 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา พบว่ากานพลู อบเชย มัสตาด พริกหอม กระเทียม และออริกาโน (oregano) ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ppm มีผลยับยั้งการเจริญของรา *A. flvus, A. parasiticus* และ*A. ochraceus* ได้ ซึ่งจากการวิเคราะห์สารเคมีในมัสตาดขาวพบว่าสารอะลีลิโซไซยาเนต (allylisothiocyanate) เป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของราได้สำหรับประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดรานั้น พบว่า โพแทสเซียม ซอร์เบต ที่ระดับ 3,000 ppm ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ โซเดียมเบนโซเอต และแคลเซียมโพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รพิโอเนต ส่วนพืชสมุนไพรและเครื่องเทศอื่นๆ ที่ใช้ทดลองไม่มีผลในการยับยั้งหรือยับยั้งการเจริญได้เพียงเล็กน้อย

Mabrouk และ El-Shayeb (1982b) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศ 6 ชนิดได้แก่ กานพลู อบเชย ขิง พริกไทยดำ มิ้นท์ (mint) และคูมิ้นท์ (cumin) ที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *A. flavus* พบว่ากานพลูที่ระดับมากกว่า 1,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างอะฟลาท็อกซินได้อย่างสมบูรณ์ สำหรับ มิ้นท์ คูมิ้นท์ (ที่ระดับ 50,000 และ 100,000 ppm) ขิง และพริกไทยดำ (ที่ระดับ 100,000 ppm) สามารถยับยั้งการสร้างสารพิษของราได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าอบเชยที่ทุกระดับความเข้มข้น เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาท็อกซินบางชนิดได้ และจะกระตุ้นการเจริญของเส้นใยของราที่ระดับ 1,000-100,000 ppm ส่วนพริกไทยดำสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของราได้ทุกระดับความเข้มข้น

Azzouz และ Bullerman (1982) รายงานว่ากานพลู อบเชย พริกหอม และกระเทียม ที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus, A. parasiticus* และ *A. ochraceus* ได้อย่างสมบูรณ์ ต่อมา Reiss (1982) ได้นำสาร ซินนามอน น้ำมันซินนามอน ยูจีนอล และ กรดซินนามิก ที่สกัดได้จากเปลือกของต้นอบเชย (cinnamon bark) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของรา *Aspergillus* โดยนำสารเหล่านี้ผสมลงในแป้งสาลีที่ใช้ทำขนมปังเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อรา พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100-10,00 ppm ของสารที่นำมาทดสอบมีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อรา *A. flvus, A. parasiticus* และ *A. ochraceus* โดยที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆจะกระตุ้นการเจริญของรา แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงๆจะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสารพิษนั้น พบว่าน้ำมันซินนามอนมีความเฉาะเจาะจงในการยับยั้งการสร้างอะฟลาท็อกซิน sterigmatocys tin และ ochatoxin A ในขณะที่ยูจีนอลยับยั้งการสร้างอะฟลาท็อกซินบี 1 sterigmatocystin และ ochrtoxin A

Tiwari และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากขิง อบเชย ดอกจันทน์กะเพรา ยูคาลิมตัส (eucalyptus) โรสแมรี่ (rosemary) อะไนส์ (anise) และ ออเรนจ์บิทเทอร์ (orange bitter) ที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาท็อกซินบี1 ของรา *A. parasiticus* พบว่าน้ำมันจากพืชที่ใช้ทดสอบทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษจากราได้ ที่ระดับความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm น้ำมันจากอบเชย และอะไนส์มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้ดีที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300ppm จะสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่น้ำมันจากพืชอื่นๆ มีผลยับยั้งการสร้างอะฟลาท็อกซินบี1 ได้เพียงร้อยละ 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผิวส้มโอ (*Citrus grandis osb.*) ผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) และเปลือกอบเชย (*Cinnamomum cassia*)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Aspergillus flavus* TISTR3041, *Rhizopus stolonifer* TISTR3199

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA, Scharlau, พีเอช 5.6±0.2) และBread Model Agar (MBA) ซึ่งประกอบด้วย PDA ที่ผสมแป้งสาลีร้อยละ 2 ปรับพีเอชให้ได้ 5.5

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethysulfoxide, DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ทวีน80 (Tween 80) โซเดียมคอร์ไรด์ Barium chloride ($BaCl_2.2H_20$) โพแทสเซียมซอร์เบท (Potassium sorbate) กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) กลีเซอรอล(Glycerol)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องสกัดไอน้ำ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องชั่งสาร แท่งแก้วงอ ฮีมมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) และห่วงเขี่ยเชื้อ

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มโอ ผิวมะกรูด และเปลือกของอบเชยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Rhizopus stolonifer*

3.2.1.1 การเตรียมมันหอมระเหย

นำชิ้นส่วนของสมุนไพรและผลไม้ที่จะใช้แต่ละชนิดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆนำมาชั่งน้ำหนักให้ได้ 300 กรัม ใส่ในขวดกลั่นขนาด 2 ลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 1 ลิตร ทำการกลั่นจนกระทั่งได้ปริมาตรของน้ำมันคงที่ เก็บน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ร้อยละ100 ในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งใช้ในการทดลอง

3.2.1.2 การเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราในหลอดอาหารทดลอง PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันจากนั้นเติมสารละลายทวีน 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ห่วงเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อจากนั้นนำมาขูดเชื้อราที่ผิวหน้าเพื่อให้เชื้อราหลุดออกมา และทำการปรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของสปอร์ในสารแขวนลอยให้ได้ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ฮีมมาไซโตมิเตอร์เพื่อนับสปอร์ของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.2.1.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยวิธี Agar dilution

การศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยทำโดยวิธี Agar dilution ของส้มโอ อบเชย และมะกรูด (Nguefack และคณะ, 2004., Collins และคณะ, 2001) เตรียมน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดให้ได้ความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 0.6-5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (5000, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25 และ0.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% DMSO) จากนั้นทำการเติมสารละลายของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อด้วยปริมาตรที่เหมาะสมลงไป (ภาคผนวก ก) ในจานเพาะเชื้อเปล่าที่ปราศจากเชื้อ (ปริมาตรน้ำมันหอมระเหยและน้ำกลั่นรวมกันได้ 1 มิลลิลิตร) จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อBMAที่ยังหลอมเหลวอยู่ซึ่งมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสปริมาตร 19 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อนั้นทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารแข็งตัวจึงเติมสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราที่จะใช้ทดลองซึ่งมีความเข้มข้นของสปอร์ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรลงไปบนกึ่งกลางของผิวหน้าอาหารในจานเพาะเชื้อที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมไว้โดยเติมลงไปปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อจาน หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 14 วันโดยทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราทุก 3 วันจนกระทั่งครบ 21 วัน สำหรับ Negative control ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำมันหอมระเหย ส่วน Positive control ใช้โพแทสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้นในระดับเดียวกับน้ำมันหอมระเหยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ถ้าไม่มีการเจริญของเชื้อราแสดงถึงการยับยั้งโดยสมบูรณ์ ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Minimum inhibition concentration, MIC) ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยสมบูรณ์

3.2.2 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยและค่า water activity ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* บนอาหาร BMA

3.2.2.1 การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา

ทำการเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ให้ได้ความเข้มข้นของสปอร์สุดท้ายเป็น 10^6 CFU/ml ตามวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.2.2.2 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย และค่าwater activity ต่อการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus*

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ได้ดีที่สุด ซึ่งคัดเลือกได้จากข้อ 3.2.1.3 บนอาหาร BMA ที่ปรับค่า a_w ให้ได้ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับ ได้แก่ 0.87, 0.90, 0.93 และ 0.97 โดยใช้กลีเซอรอล ทำการเตรียมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ *R. stolonifer* และความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ *A. flavus* ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3 เทสารละลายของน้ำมันหอมระเหยและน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นจึงเทอาหาร BMA ปริมาตร 19 มิลลิลิตร ลงไป ทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารแข็งตัว ปิเปตสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* และ *R. stolonifer* ความเข้มข้นที่ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่ได้เตรียมไว้ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนกึ่งกลางของอาหารในจานเพาะเชื้อที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆหลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 5 และ 30 องศาเซลเซียส โดยจะทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเจริญของเส้นใยราที่เจริญจากจุดศูนย์กลางทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งครบ 21 วัน

3.2.2.3 การศึกษาผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Rhizopus stolonifer* ในขนมปังผงอบเชย

- การเตรียมขนมปังผสมผงอบเชย

ทำการผลิตขนมปังอบเชยจะมีสูตรดังนี้คือ แป้งขนมปังตราห่าน ร้อยละ 100 น้ำร้อยละ 62 น้ำตาลทรายร้อยละ 5 เกลือร้อยละ 1.5 เนยขาวร้อยละ 5 และ ยีสต์ร้อยละ 1 โดยทำการเติมผงอบเชยในปริมาณต่างกัน 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0.16, 0.32, 0.65 และ 1.30 ของน้ำหนักโด (วิธีการเตรียมแสดงดังภาคผนวก ก) เมื่ออบขนมปังจนสุก ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์ที่ปราศจากเชื้อ นำออกจากเตาอบมาไว้ในตู้ปลอดเชื้อ นำอะลูมิเนียมฟอยด์ที่ห่อขนมปังออก วางขนมปังบนตะแกรงโลหะที่ปราศจากเชื้อซึ่งตั้งไว้ในตู้ปลอดเชื้อ ทิ้งไว้จนขนมปังเย็น จากนั้นหั่นขนมปังให้ได้ขนาด 7 × 8 ตารางเซนติเมตร เตรียมไว้สำหรับขั้นตอนต่อไป และนำขนมปังที่ได้ไปวัดค่า a_w และพีเอชเริ่มต้น

- การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์

ทำการเตรียมสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราทั้ง 2 ชนิดตามข้อ 3.2.1.2

- การเติมสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราลงบนขนมปังผสมอบเชยและการเก็บรักษา

ทำการปิเปตสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* และ *R. stolonifer* ความเข้มข้นที่ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 ไมโครลิตรลงบนกึ่งกลางของแผ่นขนมปังอบเชย จากนั้นนำแผ่นขนมปังอบเชยที่ใส่สารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราแล้วนำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนที่ปราศจากเชื้อ นำขนมปังอบเชยไปเก็บในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 90 ใช้สารละลายแบเรียมคลอไรด์อิ่มตัวในการปรับค่าความชื้นสัมพัทธ์และที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 75 ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวในการปรับค่าความชื้นสัมพัทธ์จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยจะทำการวัดเส้นผ่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์กลางของการเจริญของเส้นใยราที่เจริญจากจุดศูนย์กลางค่า a_w และพีเอช ที่เวลา 0, 3, 6, 10, 14, 18 และ 21 วัน

3.2.3การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การทดลองในข้อ 3.2.2.2 และข้อ 3.2.2.3 วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Desing) และนำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* โดยวิธี agar dilution

ในการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* โดยวิธี Agar dilution โดยใช้น้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ที่ได้จากผิวส้มโอ ผิวมะกรูด เปลือกอบเชย และ โพแทสเซียมซอร์เบท (positive control) ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.6 - 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการวัดผลการยับยั้งการเจริญโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางบนอาหาร PDA ที่เติมแป้งสาลีที่ใช้ทำขนมปัง ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 3 พบว่าน้ำมันอบเชยมีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดซึ่งจะเห็นได้จากค่า MIC ที่ต่ำสุดในการยับยั้ง *R. stolonifer* และ *A. flavus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 20 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ รองมาได้แก่ โพแทสเซียมซอร์เบท น้ำมันส้มโอ และน้ำมันมะกรูดตามลำดับ สังเกตได้ว่าเชื้อรา *A. flavus* มีความต้านทานการยับยั้งของน้ำมันอบเชย น้ำมันมะกรูด และโพแทสเซียมซอร์เบทได้ดีกว่าเชื้อรา *R. stolonifer* ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สามารถต้านทานการยับยั้งของน้ำมันส้มโอได้ดีกว่า *A. flavus*

ตารางที่ 4 ค่าความเข้มต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus*

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	Rhizopus stolonifer	*Aspergillus flavus*
น้ำมันส้มโอ	5,000	2,560
มะกรูด	5,000	>5,000
อบเชย	20	80
โพแทสเซียมซอร์เบท	640	2,560

การทดลองนี้ที่พบว่าน้ำมันอบเชยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และ *R. stolonifer* ได้ดีที่สุด คาดว่าน่าจะมาจากส่วนประกอบหลักที่มีฤทธิ์ยับยั้งในน้ำมันอบเชยคือ ซินนามิกอัลดีไฮด์ร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

65-75, ยูจีนอลร้อยละ 8 (Wright, 1991; Farrell 1985; Bullerman, 1977) เนื่องจากเคยมีผู้ทดลองใช้ซินนามิกอัลดีไฮล์ความเข้มข้น 150 ppm และ ยูจีนอลบริสุทธิ์ ความเข้มข้น 125 ppm พบว่าสารทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของ *A. parasiticus* (Bullerman และคณะ, 1977) จากผลการทดลองนี้สอดคล้องการทดลองของ Guynol และคณะ (2003) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ขนมอบของน้ำมันหอมระเหยพบว่า น้ำมันหอมระเหย 5 ชนิด คือ อบเชย ตะไคร้ เบย์ (bay) กานพลู และกะเพรา สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Eurotium amstelodami, E. herbariorum, E. repens, E. rubrum, A. flavus, A. niger* และ *Penicillium corylophilum* นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Juglal และคณะ (2002) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย 9 ชนิด ที่มีผลต่อเชื้อรา *A. parasiticus* และ *Fusarium moniliforme* พบว่าน้ำมันกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสองชนิดได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ น้ำมันอบเชย น้ำมันโอริกาโน่ และน้ำมันดอกจันทน์เทศน์ เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Montes-Bulmont และ Carvajal (1998) ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 11 ชนิดในการยับยั้งการเติบโตของ *A. flavus* ที่ปนเปื้อนเมล็ดข้าวโพดพบว่ามีน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดได้คือ น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย สะระแหน่ กานพลู และกะเพรา ส่วนน้ำมันส้มโอก็สามารถยับยั้งเชื้อราได้ คาดว่าน่าจะมาจากส่วนประกอบหลักที่มีฤทธิ์ยับยั้งในน้ำมันส้มโอคือ กรดเบนโซอิก (benzoic acid) วีติเวอรอล (vetiverol) และเฟอฟูรอล (furfurol) เนื่องจากรายงานของนฤมล (2543) พบว่า กรดเบนโซอิกจะมีคุณสมบัติไปรบกวนกลไกทางเคมีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของพีเอชแล้วส่งผลให้โครงสร้างเซลล์ฉุลินทรีย์เสียไป และในน้ำมันมะกรูดก็สามารถยับยั้งเชื้อราได้คาดว่าน่าจะมาจากส่วนประกอบหลักที่มีฤทธิ์ยับยั้งในน้ำมันมะกรูด คือ ไพนีน ลินาลูง และเจอรานิออล (Lawrence และคณะ, 1970) เนื่องจาก Mah mound (1994) ทดลองใช้สารเจอรานิออล และ ไทมอล ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อราได้

4.2 ผลของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยจากค่า water activity ต่อการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* ในบนอาหาร BMA

ในการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่ระดับความเข้มข้นที่ 0, 5, 10 และ 20ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารขนมปังจำลองที่ค่า a_w ระดับต่างๆ กันคือ 0.87, 0.90, 0.93 และ 0.97 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* โดยวัดจากเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มของเส้นใยที่เจริญออกจากจุดศูนย์กลาง ซึ่งแสดงดังรูปที่ 8 พบว่าที่ระดับ a_w 0.93 และ 0.97 การเติมน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นที่ 0, 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยังคงทำให้มีการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer*ได้ยกเว้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ได้อย่างสมบูรณ์ตลอดระยะเวลา 21วัน ส่วนที่ระดับ a_w 0.90 เชื้อรา *R. stolonifer* ไม่สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไปส่วนที่ระดับ a_w 0.87 เชื้อรา *R. stolonifer* ไม่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่ไม่มีน้ำมันอบเชยและสภาพที่มีน้ำมันอบเชยที่ทุกระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตลอดระยะเวลาการบ่มแสดงให้เห็นว่าการที่ลดค่า a_w จนถึง 0.87 อย่างเดียวก็เพียงพอที่ระยับยั้งการเจริญของ *R. stolonifer* นอกจากนี้ยังพบว่าการลดลงของค่า a_w มีผลเสริมฤทธิ์กับน้ำมันอบเชยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ซึ่งจะเห็นได้ว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยจะลดลงตามระดับค่า a_w ที่ลดลงดังเช่นที่ระดับ a_w 0.90, 0.93 และ 0.97 โดยตั้งแต่วันที่ 0-9 เมื่อระดับค่า a_w ลดลงความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *R. stolonifer* ลดลงที่ทุกระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่เติม ตัวอย่างเช่น ในวันที่ 6 ของการบ่มในสภาพที่มีน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ค่า a_w 0.97 ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *R. stolonifer* เท่ากับ 6 เซนติเมตร แต่ที่ระดับ a_w 0.93 มีความยาวเท่ากับ 5.20 เซนติเมตร ซึ่งระดับ a_w 0.97 จะน้อยกว่าระดับ a_w 0.93 เป็น 0.11 เท่าในสภาพที่มีน้ำมันอบเชยเท่ากัน (รูปที่8.1a และ 8.1b) แต่ในทางสถิติความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *R. stolonifer* ที่ระดับ a_w 0.97 และ 0.93 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จะเห็นว่าค่า a_w มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และยังมีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์น้ำมันอบเชยให้ยับยั้งเชื้อรา *R. stolonifer* ได้ดีขึ้น

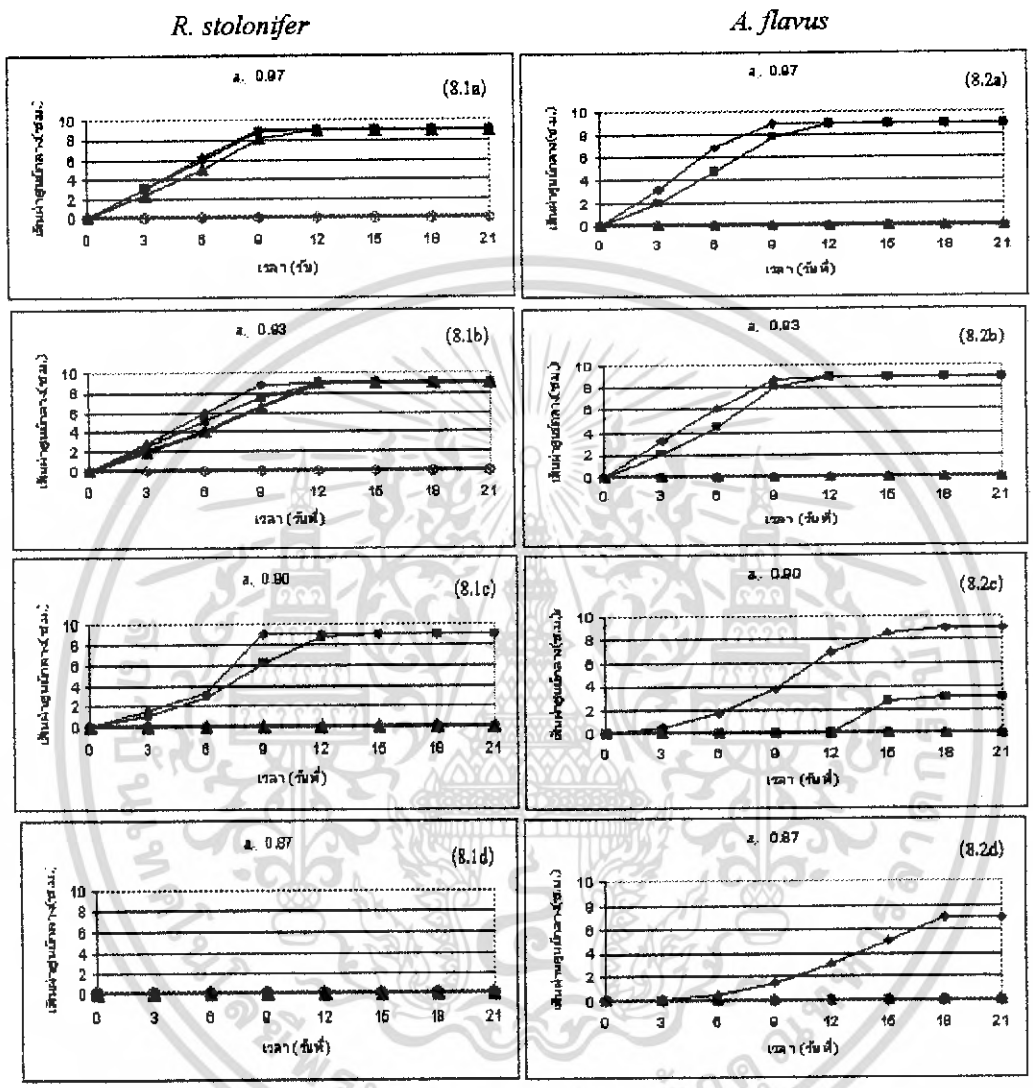
สำหรับผลของน้ำมันหอมระเหยและค่า a_w ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ในอาหาร BMA ที่เติมน้ำมันหอมอบเชยที่ความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 80 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่า a_w ระดับต่างๆ กัน คือ 0.87, 0.90, 0.93 และ 0.97 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้เช่นเดียวกับ *R. stolonifer* จากผลการทดลองพบว่าที่ระดับ a_w ที่ 0.90, 0.93 และ0.97 การเติมน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ตลอดระยะเวลาการบ่ม ส่วนที่ระดับ a_w 0.87 การเติมน้ำมันอบเชยที่ทุกระดับความเข้มข้นมีผลยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ตลอดระยะเวลาการบ่ม แต่ในสภาพที่ไม่มีน้ำมันอบเชยไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้เนื่องจากระดับ a_w 0.87 ไม่ต่ำพอที่จะสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. flavus* เพราะค่าต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* เป็น a_w 0.80 Hocking (1997) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า a_wที่ลดลงจะมีผลเสริมฤทธิ์กับน้ำมันอบเชยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งจะเห็นได้ว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยจะลดลงตามระดับค่า a_wที่ลดลงดังเช่นที่ระดับ a_w 0.87–0.97 โดยตั้งแต่วันที่ 0–9 เมื่อระดับ a_w ลดลงความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกลุ่มเส้นใยรา a_w ลดลงที่ทุกระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยที่เติมยกตัวอย่างเช่น วันที่ 3 ของการบ่ม ในสภาพที่น้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่า a_w 0.90 ไม่พบการเจริญของเส้นใยรา *A. flavus* ซึ่งน้อยกว่าที่ค่า a_w0.93 มีความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *A. flavus* เป็น 2.1 เท่า แสดงว่าค่า a_w 0.90 น้อยกว่าค่า a_w 0.93 เป็น 2.1 เท่าส่วนที่ระดับ a_w 0.97 ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *A. flavus* มีค่าใกล้เคียงกันกับที่ค่า a_w 0.93 (รูปที่ 8.2a –8.2c) และเมื่อทำการวัดความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรา *A. flavus* จะพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ค่า a_w 0.90 และ 0.93 ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แสดงว่าค่า a_w จะมีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และยังคงมีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์กับน้ำมันอบเชยให้ยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ได้ดีขึ้นเช่นเดียวกับเชื้อรา *R. stolonifer* และเมื่อทำการเปรียบเทียบความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ในสภาวะเดียวกันจะเห็นว่าเชื้อรา *A. flavus* มีเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยรายาวกว่า *R. stolonifer* ยกตัวอย่างเช่น ในรูปที่ 8.1a และ 8.2a ที่ระดับความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 6 พบว่าเชื้อรา *A. flavus* มีเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยราเป็น 4.2 เซนติเมตร ส่วน *R. stolonifer* จะไม่พบการเจริญของกลุ่มเส้นใยรา ดังนั้นแสดงว่าเชื้อรา *A. flavus* สามารถทนต่อฤทธิ์ของน้ำมันอบเชยได้ดีกว่าเชื้อรา *R. stolonifer* เมื่ออยู่ในสภาวะเดียวกัน การที่เชื้อรา *A. flavus* ยังคงเจริญได้ในอาหารขนมปังจำลองในสภาพที่ไม่มีน้ำมันอบเชยนั้น อาจเป็นเพราะว่าค่า a_w ที่ระดับ 0.87 ยังไม่ใช่ค่า a_w ที่ต่ำสุดสำหรับการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* นอกจากนี้จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสที่ระดับความเข้มข้นและค่า a_w เช่นเดียวกับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะไม่พบการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ที่ทุกระดับความเข้มข้น เนื่องจาก Ayerst (1969) ได้กล่าวว่าค่า a_w ที่ต่ำที่สุดของ *A. flavus* เป็น 0.80 ถึง 0.82 ถึง 0.83 ส่วน *R. stolonifer* มีค่า a_w ต่ำที่สุดของการเจริญเป็น 0.93 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Guynot และคณะ (2003) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันอบเชยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ พบว่าที่ค่า a_w 0.80 จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้ แต่ถ้าเพิ่มค่า a_w เป็น 0.87 จะต้องใช้น้ำมันช่วยเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ดังนั้นจากการทดลองถ้าต้องการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* จะต้องเติมน้ำมันอบเชยช่วยเสริมฤทธิ์ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป จะมีผลทำให้ *A. flavus* ไม่สามารถเจริญในอาหารขนมปังจำลอง แต่ในกรณีที่ขนมปังมีค่า a_w สูงในระดับ a_w 0.90 – 0.97 ควรเติมน้ำมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อบเชยในระดับความเข้มข้นที่ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้



รูปที่ 8

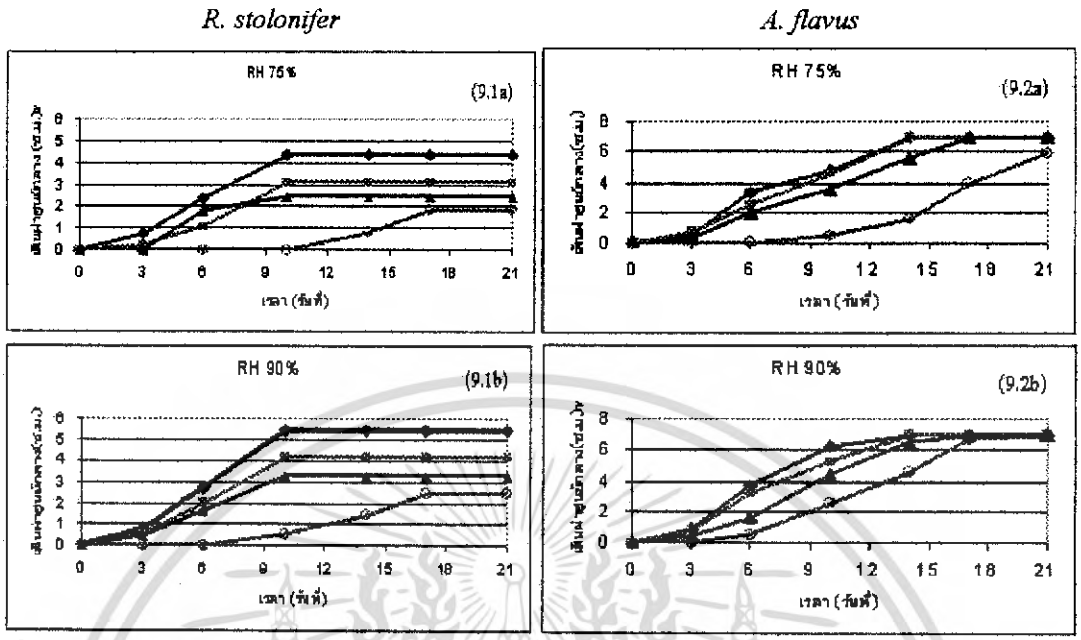
ผลของความเข้มข้นน้ำมันอบเชยและค่า a_w ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* **และ** *Aspergillus flavus* **ที่ a_w 0.97, 0.93, 0.90 และ 0.87 บนอาหาร Bread Model Agar ที่อุณหภูมิ 30°C (ภาพซ้าย (8.1)** *R. stolonifer* **ภาพขวา (8.2):** *A. flavus* **ภาพ a: a_w0.97, ภาพ b: a_w 0.93 และ ภาพ d: a_w 0.87 สัญลักษณ์:***R. stolonifer* **: —◆—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 0 µg/ml;—■—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 5 µg/ml; —▲—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 10 µg/ml; —○—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 20 µg/ml :** *A. flavus* **: —◆—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 0 µg/ml;—■—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 20 µg/ml; —▲—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 40 µg/ml; —○—, ความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย 80 µg/ml**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* ในขนมปังอบเชยที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และร้อยละ 90

จากการศึกษาผลของการเติมผงอบเชยในขนมปังอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันคือ ร้อยละ 0.16, 0.32, 0.65 และ 1.30 ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และร้อยละ 90 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางกลุ่มของเส้นใยที่เจริญออกจากจุดศูนย์กลางซึ่งแสดงดังรูปที่ 9 พบว่าปริมาณผงอบเชยที่เติมลงไปในขนมปังนั้นจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเติมผงอบเชยปริมาณมากขึ้นมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีขึ้น เนื่องจากเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยของเชื้อราทั้งสองชนิดลดลงบนแผ่นขนมปังทั้ง 2 ระดับความชื้นสัมพัทธ์ นอกจากนั้นที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่เก็บรักษาขนมปังก็มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา ดังเช่น ที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (ร้อยละ 75) จะมีผลทำให้เชื้อราทั้งสองชนิดนี้เจริญได้ไม่ดีเท่ากับที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์สูง (ร้อยละ 90) จะเห็นได้จากขนมปังที่ผสมผงอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (ร้อยละ 0.16) ซึ่งเติมเชื้อรา *R. stolonifer* และเก็บในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกลุ่มของเส้นใยที่เจริญออกจากจุดศูนย์กลางเท่ากับ 4.33 เซนติเมตรหลังการเก็บรักษานาน 10 วัน ในขณะที่ขนมปังที่เติมผงอบเชยปริมาณเท่ากันแต่เก็บที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 มีการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรามากกว่า คือ ขนาดเท่ากับ 5.45 เซนติเมตร และยังพบว่าการเติมผงอบเชยในปริมาณมากขึ้นในขนมปังมีผลทำให้การเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้นของผงอบเชยสูงสุด คือ ร้อยละ 1.30 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด เช่นการเก็บขนมปังที่เติมผงอบเชยร้อยละ 1.30 ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ได้นานถึง 10 วันหลังจากนั้นเชื้อราชนิดนี้จะเจริญได้ตามปกติ ขณะที่การเก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ทำให้เชื้อชนิดนี้เจริญได้เร็วกว่าโดยการเจริญขึ้นบนขนมปังหลังจากการเก็บรักษานานเพียง 6 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* บนขนมปังที่เติมผงอบเชยพบว่าเชื้อรา *A. flavus* จะเจริญได้เร็วกว่าเชื้อรา *R. stolonifer* โดยเชื้อรา *A. flavus* บนขนมปังที่เติมผงอบเชยร้อยละ 1.30 และเก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 จะเจริญขึ้นบนขนมปังหลังจากเก็บรักษานาน 6 วัน ขณะที่เชื้อรา *A. flavus* บนขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เจริญได้เร็วกว่า ซึ่งสังเกตได้จากการเจริญของเส้นใยที่เกิดขึ้นหลังเก็บรักษานาน 3 วัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่การเก็บรักษาเดียวกันเชื้อรา *A. flavus* จะเจริญได้ดีกว่าเชื้อรา *R. stolonifer* กล่าวคือเชื้อรา *A. flavus* สามารถทนต่อสภาพเครียดจากความชื้นสัมพัทธ์ได้ดีกว่ารวมทั้งทนต่อการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยได้ดีกว่าเชื้อรา*R. stolonifer*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9

ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* และ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C (ภาพซ้าย (9.1): *R. stolonifer* ภาพขวา (9.2): *A. flavus* ภาพ a: ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ภาพ b:ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 สัญญาลักษณ์: —◆— , ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.16; —■—, ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.32; —▲— , ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.65; —○— , ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1.30)

จากนั้นในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาของขนมปังอบเชยที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ที่มีเชื้อรา *R. stolonifer* พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของผงอบเชยร้อยละ 1.30 ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยรามีความแตกต่างกับที่ร้อยละ 0.32 และ 0.16 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับทีความเข้มข้นร้อยละ 0.65 แต่เมื่อเก็บในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 90 นั้นพบว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยราที่ระดับความเข้มข้นของผงอบเชยร้อยละ 0.16, 0.32, 0.65 และ 1.30 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับขนมปังอบเชยที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 75 ที่มีเชื้อรา *A. flavus* และถ้าเก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 90 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของผงอบเชยร้อยละ0.16 และ 0.32 มีความแตกต่างกันที่ร้อยละ0.65 และ 1.30 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ในขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์พบว่าค่า a_w ในขนมปังที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ทั้งสองระดับมีค่า a_w ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นสำหรับขนมปังที่เก็บที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 มีค่า a_w ลดลงจาก 0.925 - 0.915 ในวันที่เริ่มต้นของการเก็บรักษาเหลือ 0.905 – 0.908 ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาปริมาณผงอบเชยที่เติมลงไปไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า a_w ของขนมปังในขณะเก็บรักษาเนื่องจากค่า a_w ของขนมปังที่มีปริมาณผงอบเชยแตกต่างกัน มีค่าใกล้เคียงกันในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ 90 พบว่าปริมาณผงอบเชยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 40 และร้อยละ 80 ค่า a_w ของขนมปังทั้ง 2 มีแนวโน้มคงที่ตลอดการเก็บรักษา 10 วัน ส่วนที่ความเข้มข้นของผงอบเชยร้อยละ 20 มีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษาจนครบ 6 วัน หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาครบ 10 วัน ส่วนขนมปังที่เติมผงอบเชยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 พบว่า a_w มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาครบ 3 วัน หลังจากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 และ 10 วันตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และร้อยละ 90 พบว่าค่าพีเอชของขนมปังคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90

วันที่เก็บรักษา	ค่า a_w ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)			
	0.16	0.32	0.65	1.30
<u>ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75</u>				
0	0.933	0.943	0.951	0.925
3	0.905	0.906	0.908	0.905
6	0.905	0.906	0.908	0.905
10	0.905	0.906	0.908	0.905
14	- [c]	-	-	-
17	-	-	-	-
21	-	-	-	-
<u>ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90</u>				
0	0.921	0.951	0.934	0.950
3	0.930	0.949	0.935	0.950
6	0.902	0.903	0.936	0.951
10	0.935	0.945	0.935	0.949
14	-	-	-	-
17	-	-	-	-
21	-	-	-	-

[c] ไม่ได้ทำการวัดเนื่องจากมีการเจริญของเชื้อราเต็มแผ่นขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่เชื้อรา *A. flavus* สามารถเจริญได้ดีที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ดีกว่าการระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เนื่องจากรายงานของ Ayerst (1969) ได้กล่าวว่าระดับ a_w ที่เหมาะสมของของ *A. flavus* อยู่ระดับใกล้เคียง a_w 0.99 ส่วนการที่ a_w ขนมปังที่เก็บที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ค่อยๆ ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอาจเนื่องมาจากเกิดการแลกเปลี่ยนความชื้นของขนมปังในขณะเก็บรักษาโดย Seiler (1976) ได้ทำการศึกษาเค้กที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจะมีผลทำให้น้ำหนักหายไปส่งผลให้เค้กมีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้นซึ่งจากการทดลองที่ค่าความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 82 ในเวลา 14 วัน จะทำให้น้ำหนักหายไปร้อยละ 2 ส่งผลให้ยืดอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นร้อยละ 50

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของขนมปังที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90

วันที่เก็บรักษา	พีเอช			
	ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)			
	0.16	0.32	0.65	1.30
<u>ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75</u>				
0	5.11	5.10	5.07	5.06
3	5.11	5.10	5.07	5.06
6	5.11	5.10	5.07	5.06
10	5.11	5.10	5.07	5.06
14	-[c]	-	-	-
17	-	-	-	-
21	-	-	-	-
<u>ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90</u>				
0	5.11	5.19	5.07	5.12
3	5.11	5.19	5.07	5.12
6	5.11	5.19	5.07	5.12
10	5.11	5.19	5.07	5.12
14	-	-	-	-
17	-	-	-	-
21	-	-	-	-

[c] ไม่ได้ทำการวัดเนื่องจากมีการเจริญของเชื้อราเต็มแผ่นขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ของน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มโอ ผิวมะกรูด เปลือกอบเชย และ โพแทสเซียมซอร์เบท (positive control) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชยมีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดโดย *R. stolonifer* มีค่า MIC เท่ากับ 20 และ *A. flavus* มีค่า MIC เท่ากับ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองมาได้แก่ โพแทสเซียมซอร์เบท ส้มโอ และมะกรูด สำหรับการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ เชื้อรา *A. flavus* บนอาหาร BMA ที่ระดับ a_w 0.87, 0.90, 0.93 และ 0.97 พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยอบเชยปริมาณมากขึ้น ทำให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ได้ดีขึ้น การเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ได้ทุกค่า a_w แต่เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยเป็น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสามารถในยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* จะลดลงเหลือแค่ 2 ระดับ a_w ที่สามารถยับยั้งได้คือที่ระดับ a_w 0.87 และ 0.90 และยังพบการลดค่า a_w ร่วมกับการใช้น้ำมันหอมระเหยอบเชยจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* และ *A. flavus* ได้ดีขึ้น โดยที่ระดับ a_w 0.87 ไม่พบการเจริญของเชื้อรา *R. stolonifer* ตลอดระยะเวลา 21 วัน ถึงแม้จะไม่ได้เติมน้ำมันหอมระเหยอบเชย สำหรับเชื้อรา *A. flavus* พบว่าที่ระดับ a_w 0.87 การเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ทุกระดับความเข้มข้นมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ตลอดระยะเวลาการบ่ม แต่ในสภาพที่ไม่ได้เติมน้ำมันระเหยอบเชยไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ส่วนที่ค่า a_w ที่ระดับ a_w 0.90, 0.93 และ 0.97 จะต้องเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไปถึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้นอกจากนี้การประยุกต์นำเอาผงอบเชยมาใช้เป็นส่วนผสมขนมปัง พร้อมกับมีการเก็บรักษาควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และ ร้อยละ 90 พบว่าขนมปังที่เก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (ร้อยละ 75) จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีกว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์สูง (ร้อยละ90) และการเติมผงอบเชยปริมาณมากขึ้นก็จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีขึ้น

สำหรับการปรับปรุงงานวิจัยนี้เพื่อใช้ศึกษาต่อไปในอนาคต ผู้วิจัยคิดว่าควรจะศึกษาสารธรรมชาติที่อยู่ในสมุนไพร เพื่อใช้ยืดอายุการเก็บรักษาอาหารแทนสารเคมีพร้อมกับศึกษาสารต่อต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจในเรื่องนี้ และอาจมีการศึกษาสมุนไพรชนิดอื่นเพิ่มขึ้นเพื่อหาน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่ดีที่สุด หรืออาจจะมีการใช้สภาวะอื่นเข้ามาช่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุมให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ การปรับสภาพบรรยากาศ นอกจากนี้สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง คือ การปรับปรุงคุณภาพของของกลิ่น รส เนื้อสัมผัสที่จะเกิดขึ้นกับอาหารเพื่อลดปัญหาที่อาจจะเกิดกับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จุมพล ไทยสุชาติ. 2006. ส้มโอ. [0nline]. Available. http:www. plantpro.doae.go.th/plantclinic/clinic/plant/pummelo/index.html

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. เล่ม 3 กรุงเทพฯ คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดลและสูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

นพัต จันทรวิสูตร และเจษฎา เด่นดวงบริพันธุ์. 2547. การยับยั้งการเจริญของเชื้อราจากข่าที่ผสมในเค้ก. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์. 3 (1): 19-34

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2545. สุคนธบำบัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรีศักดิ์ วรสุนทโอสถ, สนุทร ดุริยะประพันธ์, ทักษิณ อาชอาคม, สายันต์ ตันพานิช, ชลธิชา นิวาสประพฤติ และ ปรียานันท์ ศรสุวะนัน. 2544. ทรัพยากรพืชในภูมิภาค 10 เขียตะวันออกฉียงใต้ 19 พืชที่ใช้น้ำมันหอม. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 369.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศผสมสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

วาสิน ไทยแท้. 2006. เครื่องเทศประกอบอาหาร. [0nline]. Available. http: www.baanjiomyut.com.

สุธรรม อารีกุล. 2529. มะกรูด. [0nline]. Available. http: www.samunpai.com/samunpai/show.

สุทธิ ภมรสุมิตร. 2544. เอกสารประกอบการเรียนวิชา Food Additives. มหาสารคาม: ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร และโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2545

สิริพร สธนเสาวภาคย์, พรทิพย์ เจริญธรรมวัฒน์, มาลัย บุญรัตนกรุกิจ และปทุมพร ฉิมเอนก. 2539. ผลของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงงานวิจัย.

Abouzied, M.M. 1991. Immunochemical assessment of mycotoxins in 1989 grain food: evidence for deoxyivalenol (vomitoxin) contamination. *Applied and Environmental Microbiology*. 57(3): 672-677.

Ayerst, G. 1969. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *Journal of Stored Production*. 5: 127-141.

Azzouz, M.A. 1982. The inhibitory effects of selected herbs, species and other plant materials on mycotoxigenic molds. *Food Science Technology*. 14: 11- 63.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Azzouz, M.A. and Bullerman, L.B. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, species, plant components and commercial antifungal agents. *Journal of Food Protection*. 45: 1298-1301.

Beuchat, L.R. 1982. Thermal inactivation of yeasts in fuit juices supplemented with food presratives and sucrose. *Journal of food Science*. 47: 1679-1682.

Blum, H.B. and Fabian F.W. 1943. Spice oil and their component for controlling microbial surface growth. *Journal of Fruit Production*. 22: 326.

Bryan, F.L. 1976. Public health aspects of cream–filled pastries a review. *Journal of Milk Food Technology*. 39: 289-296.

Bullerman, L.B., Lieu, F.Y., and Seirer, S.A. 1997. Inhibition of growth and aflatoxin product by cinnamon and clove oil, cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*. 42(4): 1107-1109, 1116.

Cakir, A., Kordal, S., Kilic, H. and Kaya, E. 2005. Antifungal properties of essential oil and crude ex tracts of *Hypericum linarioides* Bosse. 33: 245-256. *Journal of Food Science*. 60: 1100-1111

.Campbell, H. 2000. Mycotoxins in barley and oat samples from Eastern Canada. *Can. Journal of Plant Science*. 80: 977-980.

Chipley, J.R. 1993. Sodium benzoate and benzoic acid. *In*: P.M. Davidson and A.L. Branen (eds.). An ticrobials in Food. Marcel Dekker: New York: 11-48.

Cobley, L.M. and Leslies, B.F. 1963. An Introduction to the Botany of tropical Crops. London: Longmans Green: 352.

Collins, C.H., Lyne, P.M. and Grange, J.M. 2001. Collins and Lyne's Microbiological Methods. New York: Oxford University.

Davidse, L.C. 1976. Antimitotic activity of methyl benzimidazole 2-yl carbamate (MBC) in *Asperg illus nidulans*. *Journal of Plant Pathology*. 55: 5509

Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K., and Deshpande, U.S. 1995. Food acidulants. *In* Maga, J.A., and Tu (eds). Food Additive Toxicology. New York: Marcel Dekker: 11-87

Dukes, P. D., Machnt ,W. H. and Ratcliffe, T. J. 1967. Soybean seed decays and seedlng diseases, seed and soilborne fungi. *In*: J. B. Sinclair (ed.). Fungicide and nematicide tests results of 1967. America: Phytopathology: 23: 124-126.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fabian, E.W., Krehl, C.F. and Little, N.W. 1939. The role of spices in pickled-food spilage. *Food Research*. 4: 629.

Guynot, M.E., Ramos, A.J., Seto, L., Purry , P., Sanchis, V. and Marin, S. 2003. AntiFunfal active of volatile compounds generated by essential oil aganst fungi commonly causing deterioration of bakery product. *Journal of Applied Microbiology* .95: 893-899.

Green, D.E. and Stumpf, P.K. 1946. The mode of action of chloring. Cited by Wei, C.T., Cook D.L. and Kirk, J. R. Ues of chlorine compounds in the food industry. *Journal of Food Technology*. 39(1): 107-115.

Hitokoto, E. 1977. Effect of spice on germination of *Bacillus subtilis* spore. *Journal of Food Science Technlogy*. 9: 593.

Lennox, J.E. and Mcelroy, L.J. 1984. Inhibition growth and patulin synthesis in *Penicilliumxapansum* by potassium sorbate and sodium propionate in culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 48(2): 1031-1033.

Luck, E. and Jager, M. 1996. Antimicrobial Food additives: Characteristics, Users, Effects. Springer: Revised and Envised Edition. 260.

Maerae, R.R. and Sadler, M.J. 1993. Encyclopedia of Food Technology and Nutrition. San Diego: Acad emic Press: (6): 424.

Malloy, C.D. and Marr, J.S. 1997. Mycotoxins and public health : a review. *Journal of Public Health Management Practition*. 3: 61-69.

Nguefack, J., Leth, V., Zollo, A. and Mathur S.B. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 329-334.

Silliker, J.H. and Mchugh, S.A. 1967. Factor influencing microbial stability of butter – cream – type filling. *Cereal Science Today*. 12(1): 63-65, 73-74.

Smith, J.P. and Simpson, B.K. 1995. Modified atmosphere packaging of bakery and pasta products, in principles of Modified-Atmosphere and Sous Vidc Product Products Packaging, Farber, J.M. and Dodds, K.L., Eds., Lancaster. PA: Technomic: 207-242.

Tabibi, M. and Salehian, A.A. 1974. Food poisoning in bread caused by Aspergillus flavatoxin. *Acta Medica Iranica*. 17(1-2) : 63-69.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Troller, J.A. 1987. Adaptation and Growth of Microorganisms in Environments with Reduce water Activity. *In:* Rockland, L.B, Beuchat, L.R. water Activity Theory and Applications to Food. USA: Marcel Dekker: 101.

Zaika, L.L., 1988. Spicae and herbs: their antimicrobial activity and its Determination. *Jonnal of food Saety*: 9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. วิธีตรวจนับสปอร์ของเชื้อราโดยใช้ Haemacytometer

2.1 เตรียมตัวอย่างที่จะตรวจนับ ถ้าเป็นของเหลวสามารถนับมาตรวจนับได้ทันที แต่ถ้าเป็นของแข็งให้ละลายในน้ำกลั่นในปริมาณที่ต้องการก่อน เช่น ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร (จะได้ความเจือจางเป็น 1:10) หรืออาจต้องทำการเจือจางมากขึ้นในกรณีที่มีสปอร์จำนวนมาก เช่น เจือจางเป็น *1:100 หรือ 1:1000* เท่า เป็นต้น

2.2 ปิเปตตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงใน haemacytometer (ที่ปิดด้วย cover slip แล้ว) โดยใช้ปิ-เปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อดูดตัวอย่างมา 1-2 หยด หยดลงด้านข้างของแผ่น cover slip

2.3 ตรวจนับโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ หัว objective กำลังขยาย 40 เท่า

2.4 นับจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละช่องเล็ก หรือถ้านับช่องใหญ่ให้หาค่าเฉลี่ยและนำมาคูณด้วย4×10^6 จะได้เป็นปริมาณสปอร์ต่อกรัมหรือต่อมิลลิลิตร

<u>วิธีคำนวณหาปริมาณสปอร์</u>

พื้นที่ 1 ช่องเล็กในตารางใหญ่ มีค่าเท่ากับ $0.05 \times 0.05 = 0.0025$ ตารางมิลลิเมตร

ความลึกระหว่าง Cover slip และตาราง (ผู้ผลิตจะกำหนดไว้) = 0.1 มิลลิเมตร

ดังนั้นปริมาณ 1 ช่องเล็ก จะมีค่า $0.0025 \times 0.1 = 0.00025$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

ปริมาณ 0.00025 ลูกบาศก์เซนติเมตรมีจุลินทรีย์ Z เซลล์(สปอร์)

" 1 " " $= \frac{z \times 1000}{0.00025}$

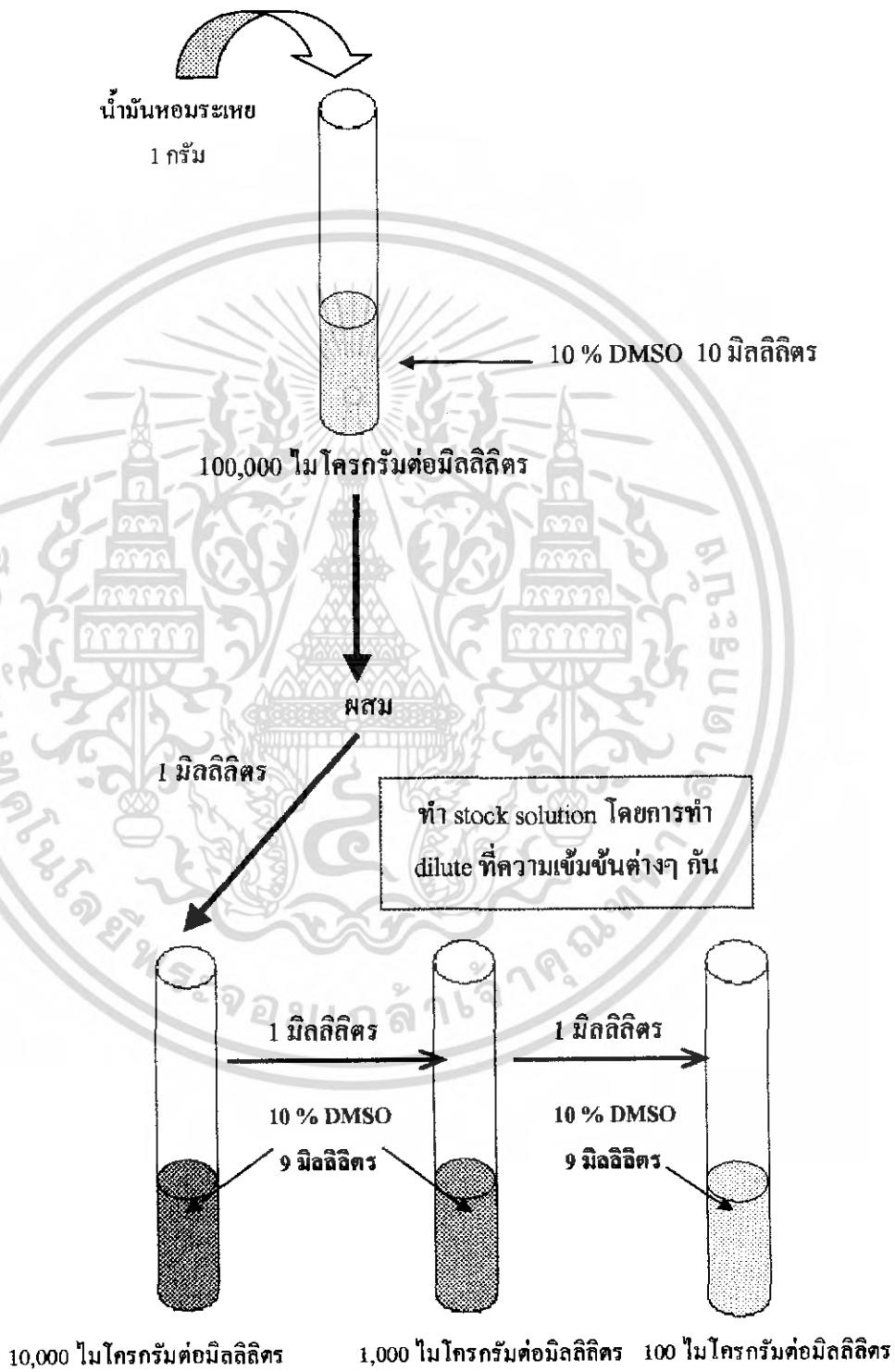
$= \underline{z \times 4 \times 10^6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรหรือเซลล์ต่อกรัม

(สปอร์ต่อมิลลิลิตรหรือสปอร์ต่อกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

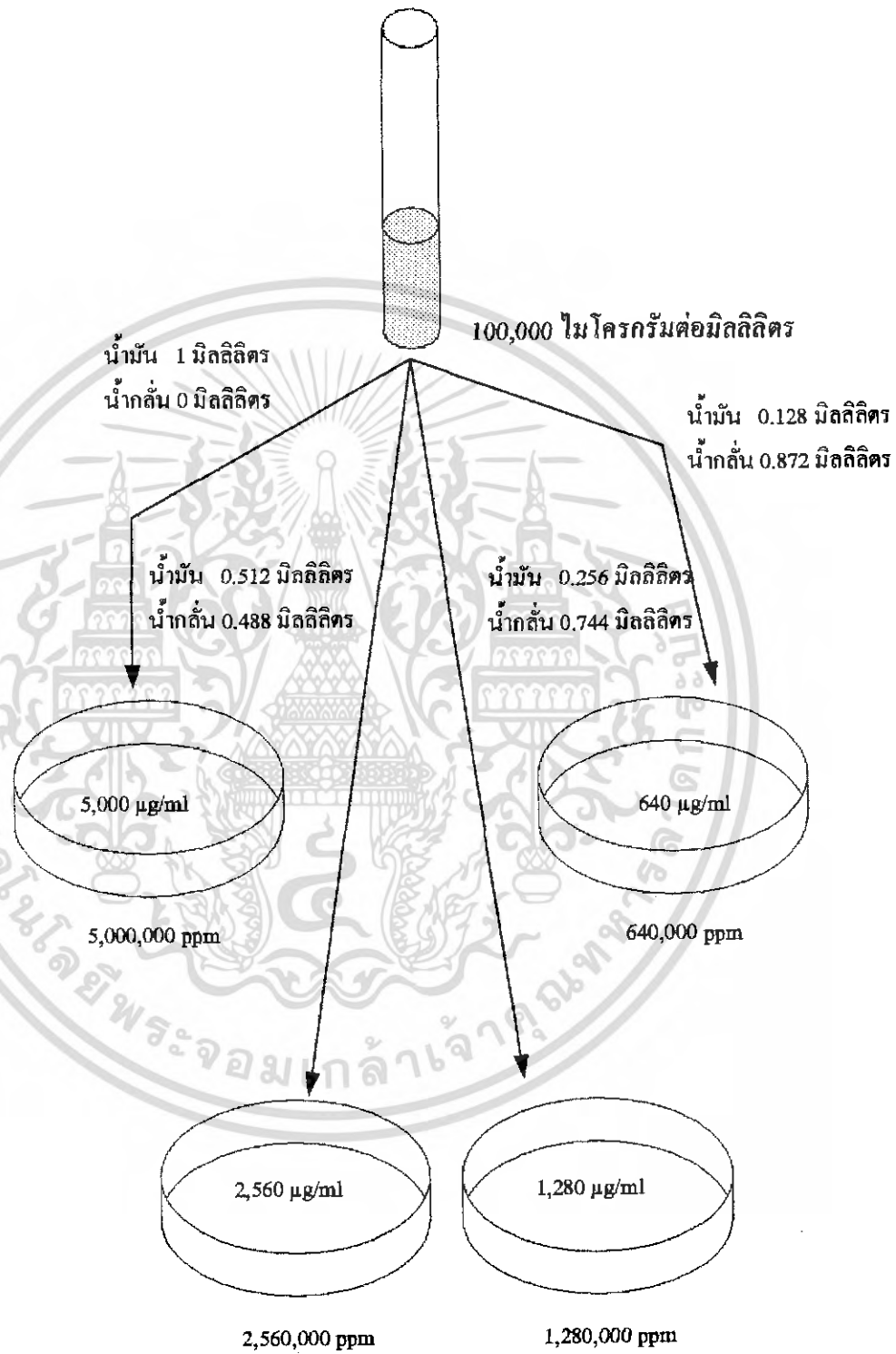
2. วิธีเตรียม agar dilution

การเตรียม Stock solution **ของน้ำมันหอมระเหย**



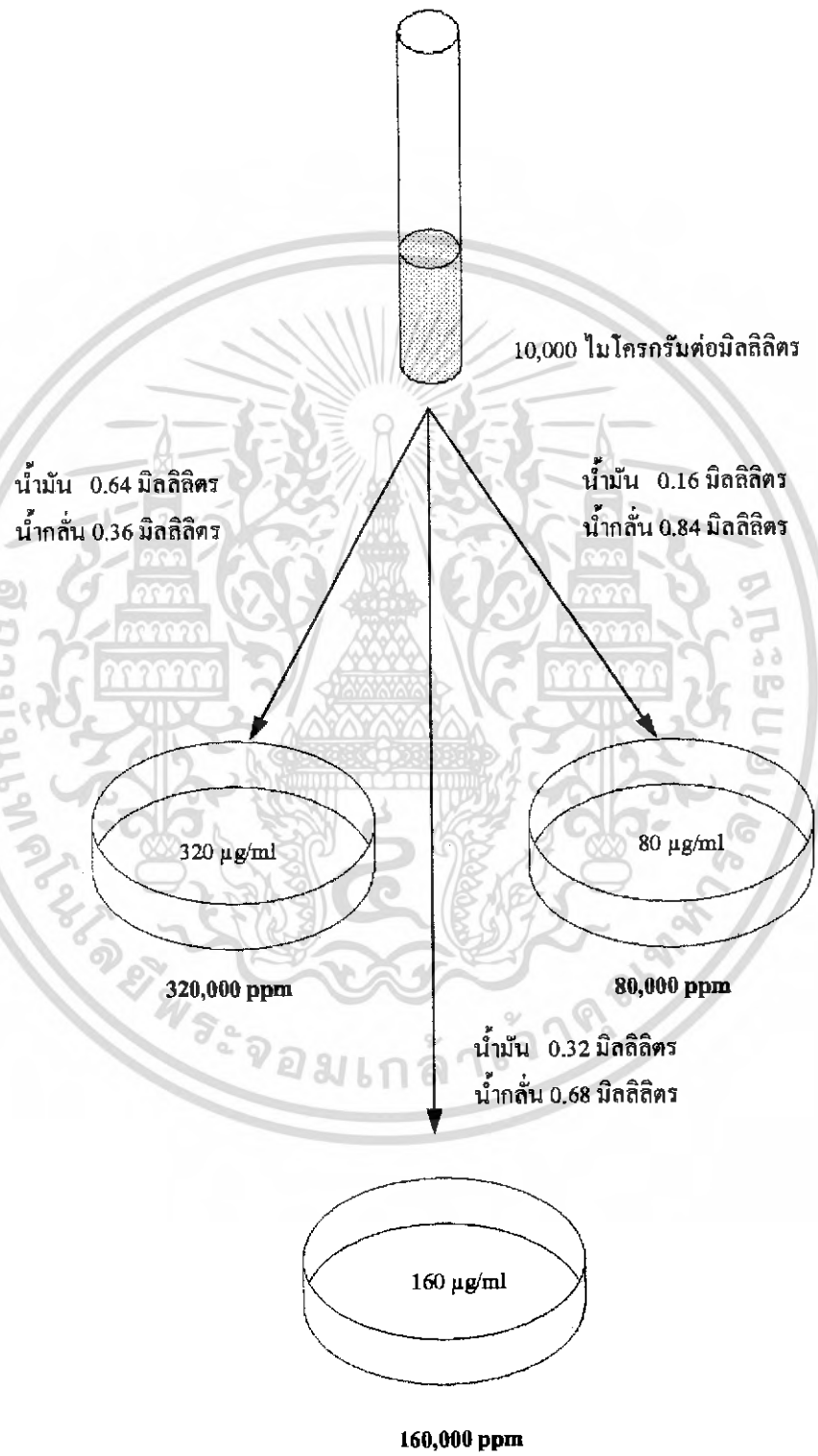
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดที่ความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



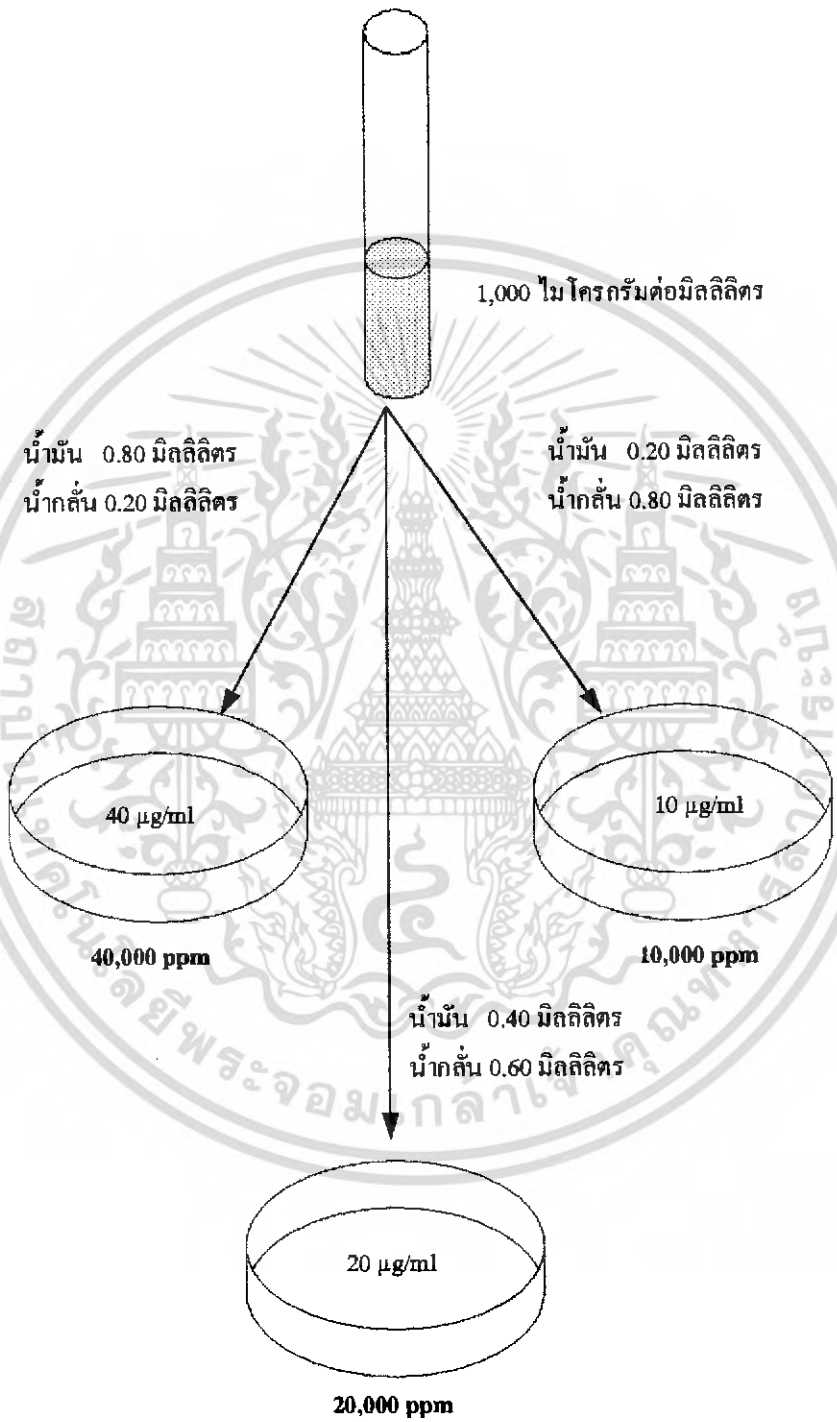
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



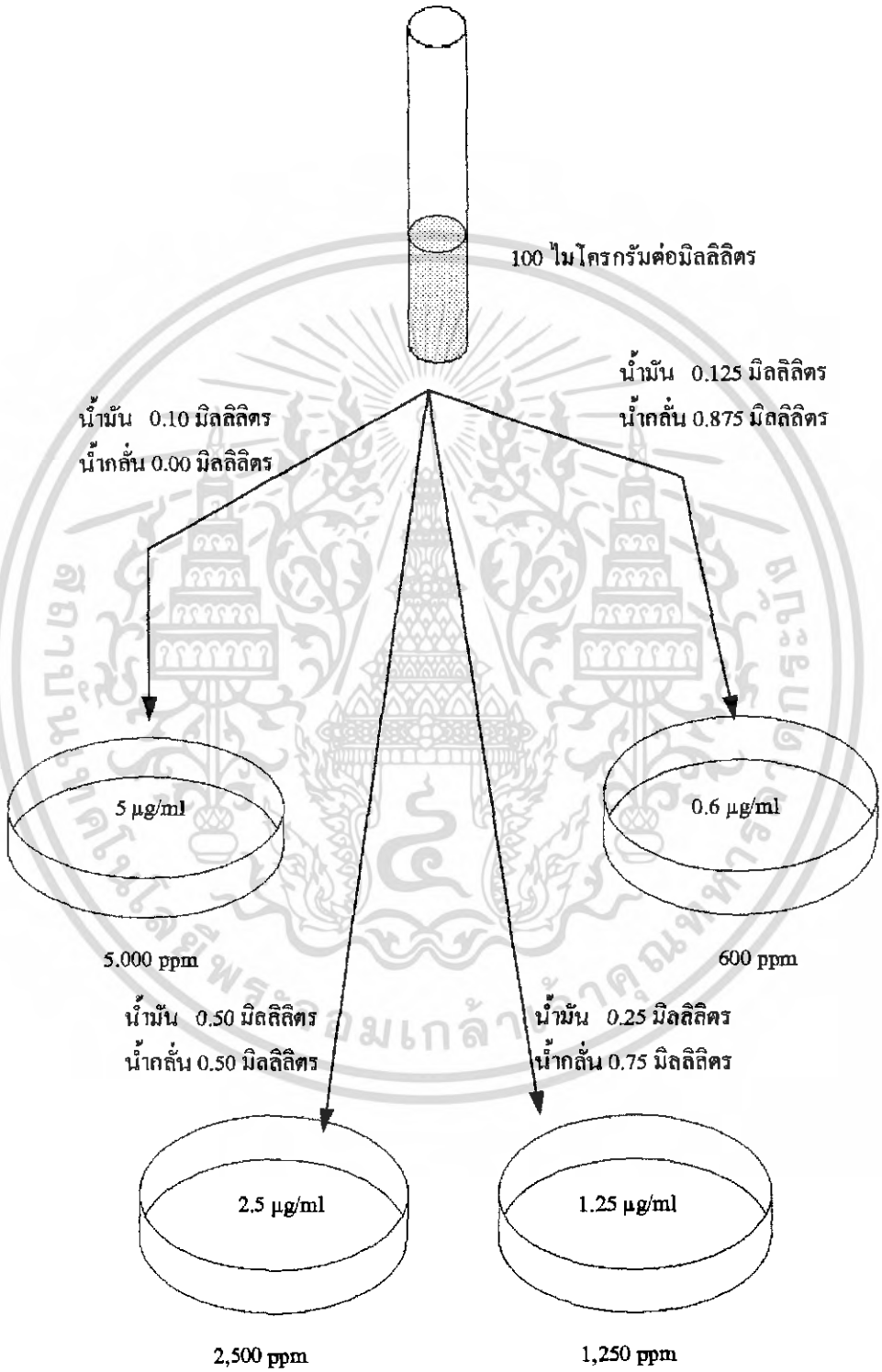
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีปรับค่า water activity ในอาหารขนมปังจำลอง (BMA)

ทำการปรับค่า water activity(a_w)โดยเติมกลีเซอรอลลงไปในอาหาร BMA ที่ยังเหลวอยู่ ซึ่งต้องการปรับค่า a_wให้มีค่าต่างๆ คือ 0.93, 0.90 และ0.87 จะต้องทำการเติมปริมาณกลีเซอรอลที่ 1500, 3000 และ 4600 ไมโครลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร

4. การเตรียมขนมปัง

4.1 สูตรและวิธีทำขนมปัง

ส่วนผสม	น้ำหนัก (กรัม)
แป้งขนมปังตราห่าน	1000
น้ำ	620
น้ำตาลทราย	50
เกลือ	15
เนยขาว	50
ยีสต์	10

วิธีทำ

1. เตรียมส่วนผสมต่างๆ โดยใช้น้ำหนักเป็น 2.5 เท่าของสูตรคำนวณหาอุณหภูมิของน้ำที่ใช้โดยกำหนดให้อุณหภูมิของโด (desired dough temperature) เท่ากับ 29-30 องศาเซลเซียส
2. ผสมแป้ง ยีสต์ เข้าด้วยกัน ใส่ในชามอ่างหรือเทลงบนโต๊ะ
3. ละลายน้ำตาล และเกลือในน้ำ
4. เทสารละลายน้ำตาลลงในส่วนผสมของแป้งและยีสต์ ผสมให้เข้ากัน เติมเนยขาวลงไป
5. ใช้มือผสมและนวดจนก้อนแป้งได้ที่
6. นำก้อนแป้งทั้งหมดมาหมัก โดยคุมด้วยผ้าหมาดหรือพลาสติก (Fermentation) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนก้อนแป้งขึ้นเป็น 2 เท่า
7. แบ่งแป้งตามน้ำหนักที่ต้องการ (450 กรัม สำหรับขนมปัง 1 ปอนด์) (Dividing)
8. คลึงก้อนแป้งให้กลมและผิวตึงและเรียบ (Rounding) พักก้อนแป้งประมาณ 10 นาที
9. Final Moulding ใช้ไม้คลึงก้อนแป้งให้เป็นแผ่น แล้วหมักก้อนแป้งเป็นท่อนกลมยาวขนาดเท่าแม่พิมพ์ ใส่ก้อนแป้งลงในพิมพ์ที่ทาเนยขาวไว้รอบด้าน
10. Final Proof นำพิมพ์ไปหมักในตู้ที่ 28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งก้อนแป้งขึ้นเต็มพิมพ์ใช้เวลาประมาณ 50-60 นาที
11. อบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ประมาณ 40-50 นาที หรือจนกระทั่งสุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิธีคำนวณการเตรียมปริมาณผงอบเชยในขนมปังอบเชย

ถ้าผงอบเชย 100 กรัมจะมีปริมาณน้ำมันอยู่ 0.61 กรัม

หากมีผงอบเชยอยู่ 100×10^6 ไมโครกรัมต่อกรัม จะมีปริมาณน้ำมันอยู่ 0.61 × ไมโครกรัมต่อกรัม ดังนั้นปริมาณน้ำมัน 0.61×10^6 ไมโครกรัมต่อกรัม จะมีผงอบเชยอยู่ 10^8 ไมโครกรัมต่อกรัม

ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อกรัม จะต้องใช้ผงอบเชย = $10^8 \times 10/0.61 \times 10^6 = 0.001625$ กรัม

ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อกรัม จะต้องใช้ผงอบเชย = $10^8 \times 20/0.61 \times 10^6 = 0.00325$ กรัม

ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อกรัม จะต้องใช้ผงอบเชย = $10^8 \times 40/0.61 \times 10^6 = 0.0065$ กรัม

ที่ความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อกรัม จะต้องใช้ผงอบเชย = $10^8 \times 80/0.61 \times 10^6 = 0.013$ กรัม

แป้งทำขนมปัง1 กิโลกรัมจะมีน้ำหนักโครวมเท่ากับ 1,745 กรัม

<u>ที่ความเข้มข้นที่ 10 ไมโครกรัมต่อกรัม</u>

ถ้าแป้ง 1 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 0.001625 กรัม

ถ้าแป้ง 1,745 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 2.83 กรัม

<u>ที่ความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อกรัม</u>

ถ้าแป้ง 1 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 0.00325 กรัม

ถ้าแป้ง 1,745 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 5.671 กรัม

<u>ที่ความเข้มข้นที่ 40 ไมโครกรัมต่อกรัม</u>

ถ้าแป้ง 1 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 0.0065 กรัม

ถ้าแป้ง 1,745 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 11.3425 กรัม

<u>ที่ความเข้มข้นที่ 80 ไมโครกรัมต่อกรัม</u>

ถ้าแป้ง 1 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 0.013 กรัม

ถ้าแป้ง 1,745 กรัมจะต้องใช้ผงอบเชย 22.685 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 7 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 1)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	7.5	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	2.5	5.0
640	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	3.2	7.0
320	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	4.3	8.0
160	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	5.3	9.0
80	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	6.5	9.0
40	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
20	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
10	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
5.0	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
2.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
1.25	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
0.6	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0

ตารางที่ 8 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 2)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	7.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
640	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
320	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
160	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
80	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
40	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
20	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
10	8.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
5.0	8.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
2.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
1.25	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
0.6	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่3)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	7.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
640	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	0.0	0.0
320	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
160	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
80	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
40	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
20	0.0	0.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
10	8.3	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
5.0	8.8	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
2.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
1.25	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
0.6	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0

ตารางที่ 10 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 1)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5	7.0	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	0.0	0.0	4.2	8.0	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	6.5	9.0	5.0	8.0	2.5	5.0
640	0.0	0.0	7.0	9.0	6.5	9.0	3.2	7.0
320	0.0	0.0	7.0	9.0	6.5	9.0	4.3	8.0
160	0.0	0.0	7.0	9.0	6.5	9.0	5.3	9.0
80	0.0	0.0	7.0	9.0	6.5	9.0	6.5	9.0
40	6.5	9.0	7.0	9.0	6.5	9.0	7.5	9.0
20	0.0	0.0	7.0	9.0	6.5	9.0	7.5	9.0
10	0.0	0.0	7.4	9.0	6.5	9.0	7.5	9.0
5.0	0.0	0.0	7.5	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
2.5	0.0	0.0	7.5	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
1.25	0.0	0.0	8.0	9.0	9.0	9.0	7.5	9.0
0.6	6.5	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0	8.0	9.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง (ซ้ำที่ 2)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	6.8	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	0.0	0.0	3.6	7.5	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	6.0	9.0	4.0	8.0	2.8	5.5
640	0.0	0.0	6.5	9.0	4.5	8.6	3.5	7.0
320	0.0	0.0	6.5	9.0	5.0	9.0	4.5	8.5
160	0.0	0.0	7.0	9.0	5.5	9.0	4.7	9.0
80	0.0	0.0	7.0	9.0	6.0	9.0	5.0	9.0
40	4.0	9.0	7.0	9.0	6.5	9.0	5.5	9.0
20	4.4	9.0	7.0	9.0	7.0	9.0	6.0	9.0
10	5.0	9.0	7.0	9.0	7.5	9.0	6.5	9.0
5.0	5.3	9.0	7.5	9.0	8.0	9.0	7.0	9.0
2.5	5.7	9.0	8.0	9.0	8.0	9.0	7.2	9.0
1.25	6.0	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0	7.2	9.0
0.6	6.0	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0	7.2	9.0

ตารางที่ 12 ค่าการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง (ครั้งที่ 3)

ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (µg/ml)	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)							
	น้ำมันอบเชย		น้ำมันส้มโอ		น้ำมันมะกรูด		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 7	วันที่ 14
5000	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	6.5	0.0	0.0
2560	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	8.0	0.0	0.0
1280	0.0	0.0	5.0	9.0	4.5	8.5	2.5	5.0
640	0.0	0.0	5.5	9.0	4.7	9.0	3.0	7.5
320	0.0	0.0	6.0	9.0	5.0	9.0	4.0	8.5
160	0.0	0.0	6.5	9.0	5.5	9.0	4.5	9.0
80	0.0	0.0	7.0	9.0	6.0	9.0	5.0	9.0
40	4.0	9.0	7.0	9.0	6.5	9.0	5.5	9.0
20	4.5	9.0	7.0	9.0	7.0	9.0	5.8	9.0
10	5.0	9.0	7.3	9.0	7.5	9.0	6.5	9.0
5.0	5.5	9.0	7.5	9.0	8.0	9.0	7.0	9.0
2.5	6.0	9.0	7.7	9.0	8.5	9.0	7.0	9.0
1.25	6.0	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0	7.0	9.0
0.6	6.0	9.0	8.0	9.0	9.0	9.0	7.0	9.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลองที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่ อุณหภูมิ 30°C

ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)													
ค่า a_w	วันที่	ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่ 1)				ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่ 2)				ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่ 3)			
		0	5	10	20	0	5	10	20	0	5	10	20
0.97	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	3.0	3.0	2.5	0.0	3.0	3.0	2.5	0.0	3.0	3.0	2.3	0.0
	6	6.2	6.0	5.0	0.0	6.2	6.0	5.0	0.0	6.5	6.0	5.0	0.0
	9	9.0	8.8	8.5	0.0	9.0	9.0	8.0	0.0	9.0	9.0	8.0	0.0
	12	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	15	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	18	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	21	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
0.93	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	2.5	2.0	1.5	0.0	3.2	3.0	2.0	0.0	2.8	2.2	2.0	0.0
	6	5.5	4.0	5.0	0.0	6.5	5.5	4.0	0.0	6.0	4.5	4.0	0.0
	9	8.5	7.0	6.0	0.0	9.0	8.0	7.0	0.0	9.0	7.3	6.5	0.0
	12	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	15	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	18	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
	21	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0	9.0	9.0	9.0	0.0
0.90	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	1.5	1.0	0.0	0.0	1.5	1.5	0.0	0.0	2.0	1.0	0.0	0.0
	6	2.5	2.0	0.0	0.0	3.5	3.0	0.0	0.0	4.0	2.8	0.0	0.0
	9	6.0	5.0	0.0	0.0	6.8	6.0	0.0	0.0	6.8	5.5	0.0	0.0
	12	9.0	8.7	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	8.9	8.9	0.0	0.0
	15	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	18	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	21	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
0.87	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	12	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	18	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลองที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C

ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)													
ค่า a_w	วันที่	ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่ 1)				ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่ 2)				ระดับความเข้มข้นของน้ำมันอบเชย (µg/ml) (ซ้ำที่3)			
		0	20	40	80	0	20	40	80	0	20	40	80
0.97	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	3.4	1.8	0.0	0.0	3.3	2.0	0.0	0.0	2.9	2.2	0.0	0.0
	6	7.3	4.2	0.0	0.0	7.0	5.0	0.0	0.0	6.2	5.0	0.0	0.0
	9	9.0	8.0	0.0	0.0	9.0	7.0	0.0	0.0	9.0	7.5	0.0	0.0
	12	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	15	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	18	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	21	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
0.93	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	2.9	2.1	0.0	0.0	3.4	2.1	0.0	0.0	3.2	2.0	0.0	0.0
	6	6.2	4.3	0.0	0.0	6.1	4.3	0.0	0.0	6.0	5.0	0.0	0.0
	9	8.5	8.0	0.0	0.0	9.0	8.0	0.0	0.0	9.0	8.0	0.0	0.0
	12	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	15	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	18	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
	21	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0	9.0	9.0	0.0	0.0
0.90	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	0.6	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0
	6	2.2	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0
	9	4.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	4.5	0.0	0.0	0.0
	12	6.4	0.0	0.0	0.0	8.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0	0.0	0.0
	15	8.5	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0
	18	9.0	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0
	21	9.0	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0
0.87	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	6	0.9	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	9	2.5	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0
	12	3.4	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0
	15	5.2	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
	18	7.0	0.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0
	21	7.0	0.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Rhizopus stolonifer* บนอาหารขนมปังจำลอง ที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C

ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)					
		ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (µg/ml) [a] ± SD			
ค่า a_w	วันที่	0	5	10	20
0.97	0	0.00±0.00A[b]	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	3.00±0.00B	3.00±1.73B	2.40±0.16B	0.00±0.00A
	6	6.30±0.17D	6.00±0.00C	5.00±0.00B	0.00±0.00A
	9	9.00±0.00C	8.9±0.00C	8.20±0.29B	0.00±0.00A
	12	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	15	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
0.93	0	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	2.80±0.35C	2.40±0.52BC	2.00±0.29B	0.00±0.00A
	6	6.00±0.50D	5.20±0.52C	4.00±0.57B	0.00±0.00A
	9	8.80±0.29D	7.40±0.51C	6.50±0.50B	0.00±0.00A
	12	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	15	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00B	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A
0.90	0	0.00±0.28B	0.00±0.50B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	1.60±0.28B	1.10±0.50B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	3.30±0.76B	2.90±0.11B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	9.00±0.00B	6.20±1.60B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	9.00±0.00B	8.80±0.15B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00B	9.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
0.87	0	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

[b] ที่วันของการเก็บรักษาเดียวกัน ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 การเปลี่ยนแปลงเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร) ของเชื้อ *Aspergillus flavus* บนอาหารขนมปังจำลอง ที่ค่า a_w 0.97 0.93 0.90 และ 0.87 ที่อุณหภูมิ 30°C

ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)					
		ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (µg/ml) [a] ± SD			
ค่า a_w	วันที่	0	20	40	80
0.97	0	0.00±0.00A[b]	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	3.20±0.26C	2.00±0.20B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	6.80±0.57C	4.70±0.46B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	9.00±0.00C	7.80±0.50B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
0.93	0	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	3.20±0.25C	2.10±0.05B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	6.10±0.10C	4.50±0.40B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	8.80±0.29C	8.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
0.90	0	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	0.50±0.15B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	1.70±0.64B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	3.80±0.28B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	7.00±0.95B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	8.60±0.36B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	9.00±0.00A	9.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
0.87	0	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	3	0.10±0.17A	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	6	0.50±0.46B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	9	1.50±0.76B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	12	3.10±1.21B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	15	5.10±0.16B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	18	7.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A
	21	7.00±0.00B	0.00±0.00A	0.00±0.00A	0.00±0.00A

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

[b] ที่วันของการเก็บรักษาเดียวกัน ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C

วันที่	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm) ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)											
	0.16			0.32			0.65			1.30		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	0.5,0.4	0.6,0.4	0.3,0.4	0.4,0.2	0.3,0.2	0.2,0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6	2.4,2.4	2.5,2.2	2.4,2.5	1.0,1.2	1.0,1.2	0.9,1.2	0.5,0.7	0.6,0.8	0.8,0.9	0.0	0.0	0.0
10	4.5,4.6	4.2,4.0	4.4,4.3	3.0,3.2	3.0,3.2	3.0,3.2	2.2,2.4	2.5,2.5	2.6,2.7	0.0	0.0	0.0
14	4.5,4.6	4.2,4.0	4.4,4.3	3.0,3.2	3.0,3.2	3.0,3.2	2.2,2.4	2.5,2.5	1.6,1.7	0.7,0.8	0.9,0.7	0.8,0.9
17	4.5,4.6	4.2,4.0	4.4,4.3	3.0,3.2	3.0,3.2	3.0,3.2	2.2,2.4	2.5,2.5	2.6,2.7	1.7,1.9	1.9,1.7	1.9,2.0
21	4.5,4.6	4.2,4.0	4.4,4.3	3.0,3.2	3.0,3.2	3.0,3.2	2.2,2.4	2.5,2.5	2.6,2.7	1.7,1.9	1.9,1.7	1.9,2.0

ตารางที่ 18 ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus stolonifer* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C

วันที่	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm) ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)											
	0.16			0.32			0.65			1.30		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	0.7,0.8	0.9,1.0	0.6,0.8	0.5,0.5	0.5,0.6	0.5,0.5	0.2,0.2	0.2,0.2	0.2,0.3	0.0	0.0	0.0
6	2.5,2.6	3.0,2.7	2.8,2.9	2.1,2.0	2.0,1.9	2.0,1.9	1.5,1.7	1.8,1.6	1.5,1.7	0.0	0.0	0.0
10	5.0,5.2	5.7,5.6	5.5,5.7	4.2,4.0	4.3,4.2	4.0,4.2	3.0,3.4	3.4,3.5	3.0,3.3	0.4,0.5	0.6,0.7	0.4,0.5
14	5.0,5.2	5.7,5.6	5.5,5.7	4.2,4.0	4.3,4.2	4.0,4.2	3.0,3.4	3.4,3.5	3.0,3.3	1.2,1.4	1.5,1.6	1.5,1.5
17	5.0,5.2	5.7,5.6	5.5,5.7	4.2,4.0	4.3,4.2	4.0,4.2	3.0,3.4	3.4,3.5	3.0,3.3	2.2,2.4	2.5,2.6	2.6,2.6
21	5.0,5.2	5.7,5.6	5.5,5.7	4.2,4.0	4.3,4.2	4.0,4.2	3.0,3.4	3.4,3.5	3.0,3.3	2.2,2.4	2.5,2.6	2.6,2.6

ตารางที่ 19 ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C

วันที่	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)											
	ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)											
	0.16			0.32			0.65			1.30		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	0.5,0.5	0.2,0.4	0.5,0.8	0.5,0.6	0.5,0.6	0.4,0.7	0.2,0.4	0.3,0.2	0.4,0.2	0.0	0.0	0.0
6	3.3,3.4	3.4,3.5	3.0,3.5	2.5,2.6	2.7,2.5	2.4,2.7	1.9,2.0	2.0,1.8	2.4,2.0	0.0	0.0	0.0
10	5.5,5.6	5.7,6.0	5.5,5.7	4.5,4.7	4.6,4.8	4.4,4.8	3.8,3.9	3.6,3.8	3.4,3.0	0.5,0.6	0.4,0.3	0.4,0.5
14	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	5.8,5.9	5.6,5.8	5.4,5.2	1.5,1.7	1.5,1.6	1.5,1.7
17	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	3.9,3.8	3.9,3.9	4.0,4.5
21	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	5.6,5.7	5.9,5.9	6.1,6.2

ตารางที่ 20 ผลของผงอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เก็บรักษาในสภาพควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 บนขนมปังอบเชย ที่อุณหภูมิ 30°C

วันที่	ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm)											
	ระดับความเข้มข้นของผงอบเชย (ร้อยละของน้ำหนักโด)											
	0.16			0.32			0.65			1.30		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	1.0,1.0	0.7,0.9	1.0,1.0	1.0,1.8	0.7,0.8	0.9,1.0	0.5,0.5	0.4,0.2	0.5,0.4	0.0	0.0	0.0
6	3.5,3.4	3.7,3.9	3.9,3.8	3.0,3.1	3.2,3.3	3.2,3.4	2.5,2.6	2.4,2.2	2.5,2.4	0.3,0.5	0.6,0.8	0.4,0.7
10	5.7,5.9	6.2,6.4	6.5,6.6	5.0,5.2	5.2,5.3	5.2,5.4	4.5,4.6	4.2,4.3	4.6,4.4	2.5,2.7	2.6,2.9	2.2,2.8
14	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	6.5,6.9	6.7,6.5	6.4,6.4	4.0,4.3	4.9,4.9	4.8,4.8
17	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	6.9,6.8	6.7,6.8	7.0,7.0
21	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0	7.0,7.0