การพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยที่ต้านทานจุลินทรีย์ด้วยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM BANANA FLOUR INCORPORATED WITH HOLY BASIL ESSENTIAL OIL AND CASSIA ESSENTIAL OIL

นุชนันท์ ทองเขาอ่อน
NUTCHANUN THONGKOUWON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-054-322

การพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยที่ต้านทานจุลินทรีย์ด้วยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM BANANA FLOUR INCORPORATED WITH HOLY BASIL ESSENTIAL OIL AND CASSIA ESSENTIAL OIL

นุชนันท์ ทองเขาอ่อน

NUTCHANUN THONGKOUWON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-054-322

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM BANANA FLOUR INCORPORATED WITH HOLY BASIL ESSENTIAL OIL AND CASSIA ESSENTIAL OIL

NUTCHANUN THONGKOUWON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2018

KMITL-2018-AI-M-054-322

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2018

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยที่ต้านทานจุลินทรีย์ด้วยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM BANANA FLOUR INCORPORATED WITH HOLY BASIL ESSENTIAL OIL AND CASSIA ESSENTIAL OIL)

ชื่อนักศึกษา นางสาวนุชนันท์ ทองเขาอ่อน

รหัสประจำตัว 58608027

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา การจัดการความปลอดภัยอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	**ลายมือชื่อ**
ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	
ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
ดร.ปนัดดา นนทนำ	
รศ.สพญ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 14 ธันวาคม 2561 เวลา 09.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง D 213 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่...17...เดือน...ธค...พ.ศ...2561...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยที่ต้านทานจุลินทรีย์ด้วยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน
นักศึกษา	นางสาวนุชนันท์ ทองเขาอ่อน
รหัสประจำตัว	58608027
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราหรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนจะส่งผลให้ฟิล์มมีความสามารถในการต้านทานแรงดึงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ความหนาของฟิล์ม การซึมผ่านไอน้ำ และการซึมผ่านออกซิเจนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) ที่แสดงให้เห็นพื้นผิวที่ขรุขระและมีรูพรุนของฟิล์ม นอกจากนี้ฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา โดยฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์แกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella* Anatum ผลการทดสอบพบว่าฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด จึงนำฟิล์มชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้ในการห่อหุ้มผลิตภัณฑ์แหนมโดยวิธีการดั้งเดิม และวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ในแหนมกลุ่มห่อหุ้มและไม่ห่อหุ้ม (กลุ่มควบคุม) ฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก พบว่าแหนมที่ถูกห่อหุ้มด้วยฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนไม่พบ *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานแหนม (มผช. 145 - 2546) นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนมีจำนวนมากกว่าในแหนมกลุ่มควบคุม ที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน

คำสำคัญ: ฟิล์มบริโภคได้ ฟิล์มแป้งกล้วย น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Development of antimicrobial edible film from banana flour incorporated with holy basil essential oil and cassia essential oil
Student	Miss Nutchanun Thongkouwon
Student ID.	58608027
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2018
Thesis Advisor	Dr. Wiramsri Sriphochanart

ABSTRACT

The study aimed to develop edible film from banana flour incorporated with holy basil essential oil (HBO) and cassia essential oil (CO) at the concentration of 1, 2, 3 and 4% (w/w). The results showed that the increase of HBO and CO concentrations in banana flour films caused a significant decrease ($p \leq 0.05$) in tensile strength. The thickness, water vapor permeability (WVP) and oxygen permeability (OP) of banana films containing HBO and CO increased as the concentration of oil increased ($p \leq 0.05$). The properties of the banana films were related to their microstructure observed by scanning electron microscopy (SEM). The SEM images showed the rough surfaces and porous structures of the banana films which were influenced by the inclusion of the essential oils. The CO in banana film showed a higher antimicrobial activity than the HBO. The films were generally more effective against gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* than gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* and *Salmonella* Anatum.The banana film incorporated with 4% of CO revealed the highest antimicrobial activity. Therefore, it was applied as the inner-layer packaging film for Nham, the traditional Thai fermented pork sausage. Microorganism profiles of Nham with and without the banana film incorporated with 4% of CO were evaluated. The results were found that the *Salmonella* spp. was not detected in Nham packed with the edible film and the amount of *Salmonella* spp**.**, *Clostridium perfringens*, *S. aureus* and *E. coli* found in Nham with the edible film met the standard of Nham (Community Product Standards 145 - 2003). Lactic acid bacteria obtained from Nham with the edible film was higher than Nham without the edible film storaged 0, 3 and 7 days.

KEYWORDS: Edible film, Banana flour film, Holy basil essential oil, Cassia essential oil

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ในหัวข้อเรื่อง “การพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยที่ต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน” สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ รวมไปถึงการแก้ปัญหาต่าง ๆ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ ซึ่งให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและกรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าเพื่อแนะนำ อีกทั้งชี้แนะแนวทางการแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้น เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ดร. ปนัดดา นนทนำ กรรมการการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนชี้แนะชี้แนะแนวทางการแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้น จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ รศ.สพญ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ให้เกียรติเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2560

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการ และเพื่อน ๆ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ และ

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดา มารดา สามี และบุตร ซึ่งเป็นที่รักยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประศาสตร์วิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

นุชนันท์ ทองเขาอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II
กิตติกรรมประกาศ III
สารบัญ IV
สารบัญตาราง VII
สารบัญภาพ VIII
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ฟิล์มบริโภคได้ 4
2.2 การเกิดฟิล์ม 4
2.3 สมบัติของแป้งต่อการเกิดฟิล์ม 5
2.3.1 การพองตัวและการละลาย (Swelling and solubility) 5
2.3.2 การเกิดเจลาตินไนเซชัน (Gelatinization) 6
2.3.3 การคืนตัวของแป้งสุก (Retrogradation) 7
2.4 แป้งกล้วย 8
2.5 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) 9
2.6 น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 9
2.7 น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 11
2.8 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย 13
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 17
3.1 เครื่องมืออุปกรณ์ 17
3.2 วัตถุดิบ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ 18
3.3 เชื้อจุลินทรีย์ 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 วิธีการทดสอบ และวิเคราะห์ผล 19
3.4.1 เตรียมแป้งกล้วยเพื่อนำมาเตรียมฟิล์มบริโภคได้ 19
3.4.2 เตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 19
3.4.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 20
3.4.3.1 วัดความหนา 20
3.4.3.2 ทดสอบค่าความต้านทานแรงดึง 20
3.4.3.3 ทดสอบการซึมผ่านไอน้ำ 21
3.4.3.4 ทดสอบการซึมผ่านออกซิเจน 21
3.4.3.5 ทดสอบพื้นผิวของฟิล์ม บริโภคได้จากแป้งกล้วย 22
3.4.4 ศึกษาสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Disk diffusion test 22
3.4.4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 22
3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 22
3.4.4.3 การศึกษาสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 22
3.4.5 ศึกษาการนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์แหนมดั้งเดิม 23
3.4.5.1 ขั้นตอนการผลิตแหนมห่อใบตอง 23
3.4.5.2 ทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์แหนมห่อใบตอง 25
3.4.5.2.1 ทดสอบปริมาณ Lactic acid bacteria (LAB) 25
3.4.5.2.2 ทดสอบปริมาณ *S. aureus* 25
3.4.5.2.3 ทดสอบปริมาณ *E. coli* 27
3.4.5.2.4 ทดสอบปริมาณ *Salmonella* spp. 28
3.4.5.2.5 ทดสอบปริมาณ *C. perfringens* 29
3.4.5.2.6 ตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count; TVC) 30
3.4.6 วิเคราะห์ผลเชิงสถิติ 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล 34

4.1 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา และฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 34

4.1.1 ความหนาของฟิล์ม 34

4.1.2 ความต้านทานแรงดึง 35

4.1.3 ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำ 35

4.1.4 ความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจน 36

4.1.5 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม 38

4.2 ความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย 41

4.3 การนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย จากชนิดและความเข้มข้นที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในการห่อหุ้มแหนมโดยวิธีการดั้งเดิม 44

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ 47

5.1 สรุปผลการทดลอง 47

5.2 ข้อเสนอแนะ 48

บรรณานุกรม 49

ภาคผนวก 57

ภาคผนวก ก 58

ภาคผนวก ข 59

ภาคผนวก ค 62

ภาคผนวก ง 66

ภาคผนวก จ 67

ประวัติผู้เขียน 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 37
4.2 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 38
4.3 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 41
4.4 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 42
4.5 ผลการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน 45
ข.1 การคำนวณความสามารถในการต้านทานแรงดึงของฟิล์ม (Tensile strength; TS) 59
ข.2 การคำนวณการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม (Water vapor permeability; WVP) 60
ข.3 การคำนวณการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์ม (Oxygen permeability; OP) 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กลไกการต่านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย 14
3.1 ขั้นตอนการผลิตแหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบ 24
4.1 พื้นผิวฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 500X 40
ก.1 ฟิล์มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % 58
ก.2 ฟิล์มน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % 58
ค.1 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 62
ค.2 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย 62
ค.3 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Sal.* Anatum ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 63
ค.4 วงใสจากต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Sal.* Anatum ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 63
ค.5 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 64
ค.6 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 64
ค.7 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *B. cereus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 65
ค.8 วงใสจากการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *B. cereus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 65
ง.1 ขั้นตอนการห่อแหนมห่อใบตองทดสอบ 66
ง.2 ขั้นตอนการห่อแหนมห่อใบตองควบคุม 66
จ.1 แหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 3 วัน 67
จ.2 แหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 7 วัน 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

คนไทยในสมัยโบราณนิยมนำใบตองมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ห่อหุ้มอาหารทั้งคาวและหวาน เช่น แหนม หมูยอ ห่อหมก บ๊ะจ่าง ขนมตาล ขนมกล้วย ข้าวต้มมัด เป็นต้น ซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่ในการห่อหุ้มแล้ว ใบตองยังให้กลิ่นรสต่ออาหารที่ห่อหุ้มอีกด้วย อย่างไรก็ตามใบตองนั้นเป็นวัสดุจากธรรมชาติมีความเปราะ และแตกง่าย จึงทำให้อาหารที่ถูกห่อหุ้มมีโอกาสสัมผัสกับอากาศและจุลินทรีย์ปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมได้

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียเร็ว อาหารมีอายุการเก็บรักษาสั้นและเพิ่มความอันตรายยิ่งขึ้นหากอาหารมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตออกวางจำหน่าย การบรรจุอาหารในบรรจุภัณฑ์จึงเป็นหนึ่งในวิธีป้องกันผลิตภัณฑ์อาหารจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมได้ การผลิตบรรจุภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้ง่าย เช่น ฟิล์มบริโภคได้ได้รับความสนใจมาอย่างช้านาน เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ประเภทพลาสติกนั้นย่อยสลายยากและทำให้เกิดภาวะเรือนกระจก รวมทั้งมลภาวะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยปัจจุบันมีการศึกษาถึงบรรจุภัณฑ์บริโภคได้ที่เสริมฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Rooney, 2005) สามารถช่วยลดจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร

น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนซึ่งเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียได้ โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่น ๆ ภายในเซลล์เสียสภาพ เกิดการบาดเจ็บที่เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลทำให้สารต่าง ๆ ภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก จึงเป็นผลให้น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในฟิล์มสามารถแพร่ออกจากบรรจุภัณฑ์ไปสู่ผิวหน้าของอาหารที่สัมผัสกับบรรจุภัณฑ์โดยตรง และจะไปมีผลต่อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ที่บริเวณผิวอาหาร (Burt, 2004) ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์จะแพร่ออกจากบรรจุภัณฑ์ที่ห่ออาหารตลอดระยะเวลาของการวางจำหน่าย โดยจะส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบริเวณผิวด้านนอกของอาหารบาดเจ็บและตายได้ ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนลดลง (Han, 2003) โดยกล้วยน้ำว้าเป็นพืชพื้นบ้านของไทยที่มีการเพาะปลูกเป็นจำนวนมาก เพราะเป็นพืชที่ปลูกง่ายและใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย แต่มีข้อเสียคือเป็นผลไม้ที่เน่าเสียได้ง่ายและมักมีปริมาณล้นตลาดหรือมีตำหนิไม่ได้มาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะผลิตฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยและเติมน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และนำไปประยุกต์ใช้ในการห่อหุ้มอาหารเพื่อเป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นในสำหรับอาหารที่มักมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารและชะลอการเพิ่มจำนวนในระหว่างการวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหาร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

1.2.2 เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

1.2.3 เพื่อศึกษาการนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในการห่อผลิตภัณฑ์แหนมดั้งเดิม

1.3 ขอบเขตการวิจัย

วิทยานิพนธ์นี้ศึกษาการเตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยนำฟิล์มบริโภคได้ที่เตรียมไปศึกษาเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา ความต้านทานแรงดึง อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ อัตราการซึมผ่านของออกซิเจน และลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม และศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อ *Escherichia coli* DMST 4212, *Staphylococcus aureus* subsp. aureus TISTR 1840, *Bacillus cereus* TISTR 1395 และ *Salmonella* Anatum DMST 7108 ระหว่างฟิล์มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรากับฟิล์มน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน โดยวิธี Disk diffusion method หลังจากทราบผลวิเคราะห์ทางสถิติไปศึกษาการประยุกต์ใช้ในการห่อผลิตภัณฑ์แหนมดั้งเดิม จากนั้นทำการทดสอบปริมาณ Total viable count (TVC), *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, Lactic acid bacteria (LAB), *S. aureus* และ *E. coli* ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถผลิตฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและมีสมบัติทางกายภาพที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2 นำไปเป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นในที่สามารถบริโภคได้ของผลิตภัณฑ์แหนม (ห่อทับด้วยใบตอง) ทดแทนการห่อด้วยถุงพลาสติกใส

1.4.3 เป็นข้อมูลให้กับผู้ประกอบการและนักวิจัยที่ต้องการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยวิธีที่ปราศจากอันตรายทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ฟิล์มบริโภคได้

ฟิล์มบริโภคได้ หมายถึง วัตถุแผ่นบางที่บริโภคได้และนำมาใช้กับอาหาร โดยจะนำมาเคลือบผิวของอาหารโดยตรง หรือเป็นเตรียมแผ่นฟิล์มขึ้นมาก่อนแล้วจึงนำมาใช้กับอาหาร มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันหรือชะลอการผ่านเข้าออกของก๊าซ ไอน้ำ จุลินทรีย์ หรือสารอื่น ๆ จากสิ่งแวดล้อม โดยฟิล์มที่เตรียมขึ้นอาจใช้สารชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกัน นำคุณลักษณะเด่นของสารแต่ละชนิดมาใช้ประโยชน์ (Guilbert, 1986)

สมบัติและลักษณะของฟิล์มที่ทำการผลิต จะพิจารณาจากชนิดและสภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก จำเป็นต้องใช้ฟิล์มที่มีความต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนสูง เป็นต้น ทั้งนี้ฟิล์มบริโภคได้จึงมีข้อดีเหนือกว่าฟิล์มพลาสติก ดังนี้

2.1.1 บริโภคได้พร้อมกับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ ซึ่งเป็นการช่วยลดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อม

2.1.2 กรณีที่ผู้บริโภคเลือกที่จะไม่บริโภคฟิล์ม ฟิล์มที่ทิ้งไปสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้โดยง่าย เป็นการลดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อมเช่นกัน

2.1.3 เพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัส ชวนให้ผลิตภัณฑ์น่ารับประทานมากขึ้น และเข้าได้ดีกับสารประกอบที่ให้กลิ่นรสและความหวาน เป็นต้น

2.1.4 เสริมคุณค่าอาหาร

2.1.5 สามารถทำฟิล์มให้เป็นเม็ดแคปซูล บรรจุสารให้กลิ่นรส และสารทำให้ขึ้นฟูได้ เพื่อควบคุมการเติมสารที่ใส่ในอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ

2.2 การเกิดฟิล์ม

ฟิล์มบริโภคได้หรือที่ย่อยสลายได้ เกิดขึ้นจากการละลายหรือกระจายตัวสารที่สามารถเกิดฟิล์มได้ แล้วใช้วิธีต่าง ๆ ในการแยกสารนั้นออกจากตัวทำละลาย เช่น การทำให้ตัวทำละลายระเหยไป การเติมอิเล็กโทรไลต์เพื่อให้เกิดพันธะข้าม การปรับกรด-ด่าง ซึ่งเรียกว่า โคแอกเซอแวชั่น (Coacervation) หรือโดยการทำให้สารที่เกิดฟิล์มซึ่งหลอมเหลวเกิดการแข็งตัว (Solidification) โดยฟิล์มบริโภคได้มีองค์ประกอบหลักคือ พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ส่งผลให้มีสมบัติการเกิดฟิล์ม รวมทั้งตัวทำละลายและสารเจือปนซึ่งอาจมีการเติมลงไปเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม (Kester และ Fennema, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการเตรียมฟิล์มจะมีแรง 2 ชนิดที่เข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ แรงโคฮีชัน (Cohesion) ซึ่งเป็นแรงระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยกันเอง ที่ทำให้เกิดการเชื่อมต่อของผิววัตถุเดียวกันสร้างพันธะที่แข็งแรง ซึ่งจะช่วยป้องกันหรือต้านทานการแยกพอลิเมอร์ออกจากกัน ปัจจัยที่มีผลต่อแรงโคฮีชันได้แก่ โครงสร้างและสมบัติทางเคมีของพอลิเมอร์ ระบบการละลาย และสภาวะในการเตรียมฟิล์ม โดยแรงโคฮีชันมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุล ความสม่ำเสมอของโครงสร้างสายโซ่ การแผ่กิ่งก้านสาขา และการกระจายของกลุ่มเคมีที่มีขั้วบนสายพอลิเมอร์ โดยสายพอลิเมอร์ที่ยาวจะทำให้เกิดการยึดเกาะกันได้ดี การกระจายของกลุ่มขั้วอย่างมีระเบียบในสายพอลิเมอร์จะช่วยให้เกิดพันธะไฮโดรเจนและพันธะไอออนิกระหว่างสายโซ่ที่จะก่อให้เกิดฟิล์มมีความแข็งแรง นอกจากนี้การละลายของพอลิเมอร์ในการเตรียมฟิล์มยังมีผลต่อแรงโคฮีชันคือ หากโมเลกุลของพอลิเมอร์ละลายหรือคลายตัวได้มากที่สุด จะทำให้เกิดโครงสร้างซึ่งเชื่อมกันด้วยแรงโคฮีชันที่มาก ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรง สำหรับสภาวะในการเตรียมฟิล์มนั้น ควรเตรียมฟิล์มโดยใช้สารละลายอุ่น และทำให้ฟิล์มแห้งโดยใช้ความร้อนที่เหมาะสม เพราะหากใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้อัตราการระเหยตัวทำละลายเร็วเกินไป ส่งผลให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ถูกตรึงก่อนที่จะเชื่อมกันอย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะทำให้เกิดรูเข็ม (Pinholes) หรือทำให้ฟิล์มมีความหนาแน่นไม่สม่ำเสมอ ซึ่งทำให้การซึมผ่านของฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยระดับของแรงโคฮีชันมีผลต่อสมบัติต่าง ๆ ของฟิล์ม ได้แก่ ความหนาแน่น ความอัดแน่น (Compaciness) ความโปร่งเป็นรูพรุน (Porosity) ความสามารถในการซึมผ่าน (Permeability) ความยืนหยุ่น (Flexibility) และความเปราะ เป็นต้น ส่วนแรงอีกชนิดหนึ่งคือแรงแอดฮีชัน (Adhesion) ซึ่งเป็นแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับสารอื่นที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมฟิล์มที่ทำให้เกิดโครงร่างของฟิล์มได้ เช่น แรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับพลาสติกไซเซอร์ (Plasticizer) ซึ่งจะมีผลต่อสมบัติต่าง ๆ ของฟิล์มได้เช่นกัน (Banker, 1966)

Graham (1977) อธิบายการเกิดฟิล์มที่เตรียมจากเพคตินว่า เมื่อละลายเพคตินในตัวทำละลายจะเกิดขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ เกิดการพองตัว เนื่องจากมีโมเลกุลของตัวทำละลายเข้าไปแทรกอยู่ในพอลิเมอร์ของเพคติน ในขณะเดียวกันความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ต่อมาพันธะระหว่างสายพอลิเมอร์จะถูกทำลาย ทำให้สายโซ่ของพอลิเมอร์เริ่มกระจายตัว ความหนืดของสารละลายลดลง และคงที่เมื่อการกระจายของพอลิเมอร์เกิดอย่างสมบูรณ์ระหว่างการระเหยของตัวทำละลาย สายโซ่ของพอลิเมอร์จะเชื่อมต่อกันใหม่ได้เป็นแผ่นฟิล์มที่มีสมบัติในการยืดหยุ่น และยืดขยายดีขึ้น

2.3 สมบัติของแป้งต่อการเกิดฟิล์ม

2.3.1 การพองตัวและการละลาย (Swelling and solubility)

แป้งไม่ละลายในน้ำเย็นแต่จะดูดซึมน้ำไว้ได้ประมาณ 25 - 30 % และพองตัวน้อยมากจนไม่สามารถสังเกตเห็นได้ เนื่องจากการจัดเรียงตัวกันระหว่างโมเลกุลของอะไมโลส (Amylose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอะไมโลเพคติน (Amylopectin) ภายในเม็ดแป้งในส่วนจุลผลึก (Crystallite) โมเลกุลอยู่กันอย่างหนาแน่นและเป็นระเบียบช่วยป้องกันการกระจายตัวและทำให้ไม่ละลายในน้ำเย็น ส่วนของอสันฐาน (Amorphous) ซึ่งเป็นส่วนที่เกาะเกี่ยวกันอย่างหลวม ๆ ไม่เป็นระเบียบและมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) อิสระมาก จะสามารถเกิดปฏิกิริยาการรับน้ำ (Hydration) ได้บ้างแม้ในน้ำเย็น เมื่อให้ความร้อนกับน้ำแป้งจนมีอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป ส่วนอสันฐานจับกับน้ำได้มากขึ้นและการจับกันของโมเลกุลในส่วนจุลผลึกเริ่มคลายความหนาแน่นลง โมเลกุลส่วนที่เริ่มคลายตัวออกจากกันจะจับกับน้ำทำให้เม็ดแป้งพองตัวเพิ่มขึ้น โมเลกุลในส่วนจุลผลึกที่เหลืออยู่เกิดสภาพคล้ายร่างแหเรียกว่า Micelle network ที่ยึดเหนี่ยวกันไว้ทำให้เม็ดแป้งยังคงสภาพอยู่ได้ แต่อาจมีโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินซึ่งมีขนาดเล็กและอิสระกระจายตัวออกจากเม็ดแป้ง เมื่อทำให้อุณหภูมิน้ำแป้งสูงขึ้นไปอีก ส่วนจุลผลึกที่เหลืออยู่นี้จะคลายตัวออกทำให้เม็ดแป้งพองมากขึ้นและโมเลกุลแป้งอยู่ในสภาพสารละลายมากขึ้น (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2543)

2.3.2 การเกิดเจลาติไนเซชัน (Gelatinization)

เมื่อนำแป้งใส่ในน้ำเย็น เม็ดแป้งดูดซับน้ำได้ในปริมาณจำกัดปริมาณหนึ่ง แต่จะยังไม่พองตัวหรือพองตัวได้จำกัดมากและสังเกตได้ยาก (Collison, 1968) จากการสังเกตการพองตัวของเม็ดแป้งสาลีในน้ำที่อุณหภูมิห้องพบว่าแป้งที่พองตัวมีเส้นผ่าศูนย์กลางเพิ่มขึ้น 10 % และปรากฏการณ์นี้สามารถผันกลับได้ โดยเมื่อนำไปอบแห้งก็จะได้แป้งที่มีลักษณะและคุณสมบัติดังเดิม ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในส่วนที่เป็นจุลผลึก ซึ่งจับตัวกันอย่างหนาแน่นแข็งแรง แต่น้ำอาจจะซึมเข้าไปในส่วนของเม็ดแป้งที่มีโมเลกุลจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบและมีกลุ่มไฮดรอกซิลอิสระได้บ้าง แต่เมื่อให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิหนึ่งประมาณ 60-75 องศาเซลเซียส หรือใช้สารเคมี เช่นให้ความร้อน 60 องศาเซลเซียส แก่แป้งสาลีจะมีผลทำให้การจับยึดกันระหว่างโมเลกุลของแป้งในส่วนจุลผลึกลดลง เกิดปฏิกิริยาการรับน้ำและการพองตัวของเม็ดแป้งซึ่งไม่สามารถผันกลับได้ และทำให้สารละลายแป้งมีความหนืดและความใสเพิ่มขึ้น กระบวนการนี้เรียกว่า "เจลาติไนเซชัน" ซึ่งเมื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่สำคัญขึ้นคือ มีการพองตัวของเม็ดแป้งและเครื่องหมายกากบาท (Maltese cross) ภายในเม็ดแป้งหายไป อุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของแป้ง เนื่องจากแป้งแต่ละชนิดมีโครงสร้างส่วนจุลผลึกที่แตกต่างกัน ทั้งระดับการจับกัน (Degree of association) และความสม่ำเสมอของการเกิดเจลาติไนซ์ไม่พร้อมกันทุกเม็ดแม้แต่ในแป้งชนิดเดียวกันจากแหล่งเดียวกัน ก็อาจมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชันที่ห่างกันถึง 8-10 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปเม็ดแป้งขนาดใหญ่จะเกิดเจลาติไนซ์ได้ก่อนขนาดเล็ก (Morrison และ Laignelet, 1983 : Collison, 1968) ทั้งนี้แป้งอาจเกิดเจลาติไนซ์ได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการละลายในตัวทำละลาย เช่น อัลคาไลน์ แอมโมเนียเหลว DMSO สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เป็นต้น โดยเม็ดแป้งมีลำดับการแตกตัวดังนี้

2.3.2.1 เริ่มมีการพองตัวในส่วนที่เป็นระเบียบน้อยที่สุดคือในส่วนอสันฐาน โดยการพองตัวจะทำให้เกิดแรงตึง (Tension) ต่อจุลผลึกที่อยู่ข้างเคียงทำให้โครงสร้างเสียหาย

2.3.2.2 การให้ความร้อนต่อไปจะทำให้เกิดการคลายเกลียว (Uncoiling) หรือการแตกตัวของโครงสร้างสายโซ่ที่พันกันอยู่ของโมเลกุลแป้ง (Double helical region) เกิดการแตกตัว (Break up) ของโครงสร้างผลึกโซ่กิ่ง (Side chain) ของอะไมโลเพคตินที่แยกตัวออกมารับน้ำ (Hydrate) และมีการพองตัวไปในแนวรอบๆ ดังนั้นจะเกิดความตึง (Stress) ต่อโครงสร้างผลึกที่ยังเหลืออยู่

2.3.2.3 การรับน้ำต่อไปจะเพิ่มการเคลื่อนที่ (Mobility) ของโมเลกุลทำให้เกิดการกระจายตัวของโมเลกุล

2.3.2.4 โมเลกุลของอะไมโลสซึ่งมีขนาดเล็กจะแพร่ออกมาจากเม็ดแป้งที่พองตัว (Swollen granule)

2.3.2.5 การให้ความร้อนต่อไปจะทำให้เม็ดแป้ง (Granule) แตกออกมากขึ้นจนในที่สุดได้เป็นสารละลาย

2.3.3 การคืนตัวของแป้งสุก (Retrogradation)

การคืนตัวของแป้งสุกเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อน้ำแป้งสุกที่ร้อนมีอุณหภูมิลดต่ำลง โดยในขณะที่อุณหภูมิลดลง โมเลกุลอิสระของอะไมโลสซึ่งอยู่ใกล้กันจะเคลื่อนที่เข้าหากัน และจับตัวกันด้วยพันธะไฮโดรเจนทำให้เกิดสภาพการจัดเรียงตัวของโมเลกุลขึ้นมาใหม่ โดยเปลี่ยนจากลักษณะโมเลกุลที่กระจายตัวมาเป็นส่วนที่เป็นจุลผลึก ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้เครื่อง X - ray diffraction (Collison, 1968) ถ้าน้ำแป้งสุกมีความเข้มข้นต่ำ การจัดเรียงตัวของโมเลกุลเหล่านี้จะทำให้เกิดลักษณะตะกอนขุ่นขาว แต่ถ้าน้ำแป้งสุกมีความเข้มข้นสูง เช่น แป้งข้าวโพดความเข้มข้น 7 % โดยน้ำหนัก จำนวนโมเลกุลที่มาจัดเรียงตัวกันใหม่มีมาก และระหว่างการเคลื่อนที่เข้ามาจับกันโมเลกุลจะสามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ ทำให้สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น จนในที่สุดเกิดลักษณะเจลที่อ่อนนุ่ม การคืนตัวของน้ำแป้งโดยทั่วไปจะเกิดได้ดีเมื่อน้ำแป้งมีความเข้มข้นสูง และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ แป้งแต่ละชนิดมีอัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกแตกต่างกันโดยทั่วไปแป้งจากราก หัว มีอัตราการคืนตัวช้ากว่าแป้งจากธัญพืช ทั้งนี้เป็นเพราะแป้งจากราก หรือหัว เมื่อได้รับความร้อนจะพองตัวมากและเร็ว และเม็ดแป้งแตกง่าย ทำให้โมเลกุลแป้งทั้งหมดกระจายอยู่ทั่วไปในน้ำแป้ง โมเลกุลอะไมโลสจะมาจัดเรียงตัวกันได้ใหม่ยาก แต่แป้งจากธัญพืชเมื่อได้รับความร้อนจะพองตัวน้อยกว่า เม็ดแป้งแตกน้อย โมเลกุลที่คลายตัวยังอยู่ใกล้ชิดกันจึงเคลื่อนที่จับกันใหม่ได้ง่าย ซึ่งอาจจับตัวกันระหว่างเม็ดแป้งที่พองตัวซึ่งอยู่ใกล้กัน หรือระหว่างชิ้นส่วนของเม็ดแป้งหรือโมเลกุลอะไมโลสอิสระที่หลุดออกมา ทำให้เกิดสภาพเป็น Matrix ซึ่งยึดอยู่ด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและสามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ การมีอะไมโลเพคตินอยู่ด้วยทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกช้าลง เนื่องจากโมเลกุลของอะไมโลเพคตินมีกิ่งก้านสาขาทำให้เกะกะ ยากที่โมเลกุลจะเคลื่อนที่เข้ามาจับกันใหม่ได้ จึงพบว่าแป้งประเภทเหนียวหนืดเนื่องจากไม่มีอะไมโลส (Waxy) มีอัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกน้อยกว่าแป้งชนิดอื่น ขนาดโมเลกุลของอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดมีผลในการเกิดการคืนตัวของน้ำแป้งสุกด้วย โมเลกุลอะไมโลสที่มีขนาดพอเหมาะในการเคลื่อนที่มาจับกัน คือ ในช่วง 100-200 หน่วยกลูโคส ถ้าโมเลกุลใหญ่ เช่น แป้งมันฝรั่งมีอะไมโลสขนาดใหญ่ประมาณ 1,000-6,000 หน่วยกลูโคส จะเคลื่อนที่เข้ามาจับกันได้ยาก และถ้าโมเลกุลสั้นเกินไปจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา (Brownian movement) ทำให้จับกันยากเช่นกัน

2.4 แป้งกล้วย

แป้งกล้วยมีคุณสมบัติในการเกิดฟิล์ม เนื่องจากกล้วยดิบมีปริมาณสตาร์ช (Starch) สูงถึง 70 - 80 % โดยโมเลกุลสตาร์ชแบ่งออก เป็น 2 ชนิด คืออะไมโลสที่มีโครงสร้างเป็นกลูโคสต่อกันเป็นโซ่ตรงและอะไมโลเพคตินที่มีกลูโคสต่อกันเป็นโซ่กิ่ง โดยแป้งกล้วยมีปริมาณอะไมโลสสูงกว่ามันฝรั่ง ข้าวโพด และข้าวสาลี จึงทำให้มีคุณสมบัติในการเกิดฟิล์มที่ดีเนื่องจากโครงสร้างของอะไมโลสทำให้เกิดลักษณะของแป้งเมื่อนำไปต้มจนเกิดเจลาตินไนเซชัน แล้วทิ้งไว้จะจับตัวเป็นวุ้นและแผ่นแข็งได้ (Espinosa-solis และคณะ, 2009)

แป้งจากกล้วยดิบมีอุณหภูมิการเกิดเจลาตินไนเซชันอยู่ในช่วง 75 - 80 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีปริมาณอะไมโลสจากแป้งกล้วยแต่ละสายพันธุ์มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 11.73 % (Eggleston และคณะ, 1992)

Zhang และ Hamaker (2012) ศึกษาสมบัติของโครงสร้างและความสามารถด้านการย่อยของแป้งกล้วย พบว่าแป้งจากกล้วยมีอุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลาติไนเซชันสูงสุด และมีค่า Enthalpy สูงสุดเท่ากับ 17.5 J/g เมื่อเทียบกับแป้งมันฝรั่งและแป้งข้าวโพด ซึ่งผลด้านความร้อนจากเครื่อง DSC แสดงให้เห็นว่าเกิดการฟอร์มตัวของผลึกในช่วงรอให้เกิดเจลาติไนเซชันของแป้งกล้วย โดยในช่วงนี้แป้งกล้วยมีความคงทนต่อความร้อนสูงมากจึงเกิดการแยกตัวที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแป้งจากกล้วยต้องใช้ความร้อนและพลังงานสูงในการทำให้เกิดเจลาติไนเซชัน

จากการศึกษาการคืนตัวของแป้งสุก พบว่าแป้งกล้วยมีค่า Enthalpy หรือพลังงานที่เปลี่ยนแปลงในการเกิดการคืนตัวของแป้งสุกสูงเมื่อเทียบกับแป้งจากข้าวโพดและแป้งมันฝรั่ง แสดงให้เห็นว่าแป้งกล้วยมีสมบัติการเกิดการคืนตัวของแป้งสุกได้เนื่องจากการมีโครงสร้างอะไมโลเพคตินสายยาว การศึกษาการกระจายของสายโซ่อะไมโลเพคตินที่ถูกทำลายพันธะกิ่งของแป้งกล้วย พบว่าเมื่อพิจารณาแป้งกล้วยที่เป็นอะไมโลเพคตินสายสั้น (DP 6-12) มีปริมาณของอะไมโลเพคตินต่ำ แต่ในทางกลับกันเมื่อพิจารณาที่อะไมโลเพคตินสายยาว (DP >36) พบว่าแป้งจากกล้วยมีปริมาณของอะไมโลเพคตินสูง ดังนั้นแป้งกล้วยมีอะไมโลเพคตินสายยาวปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผลให้มีอุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลาติไนเซชันสูง เกิดการคืนตัวได้เร็ว เจลที่ได้มีความคงตัว และมีสมบัติถูกย่อยได้ช้า ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ดีสำหรับการนำไปทำฟิล์ม

2.5 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil)

น้ำมันหอมระเหยได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นเวลานานแล้ว ตั้งแต่สมัยอียิปต์ก็ได้มีการนำพืชหอม เช่น อบเชย เทียนข้าวเปลือก โหระพา และลูกผักชี มาใช้ในการเก็บรักษามัมมี่ เนื่องจากพืชหอมเหล่านี้มีน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรคได้ดีทำให้ร่างกายเน่าเปื่อยช้าลง จากนั้นชาวกรีกและโรมันได้รู้จักวิธีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการรักษาโรค และบำรุงความงาม จนกระทั่งปลายศตวรรษที่ 10 นายแพทย์ชาวอาหรับ ชื่อ อวิเซนนา ได้ค้นพบวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเป็นครั้งแรก ต่อมาชาวกรีกชื่อ พาราเซลซีส (ค.ศ. 1493-1541) เป็นผู้นำคำว่า Essential oil มาใช้เป็นคนแรก โดยหมายถึงสารหอมที่มีคุณสมบัติเป็นตัวยาหลักในการปรุงยา น้ำมันหอมระเหยในส่วนต่าง ๆ ของพืชมีผลในการป้องกันตนเองจากศัตรูภายนอกที่จะมาทำลายพืชนั้น ๆ เช่น ป้องกันแมลง ป้องกันเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรค เป็นต้น (ศิริเพ็ญ และคณะ, 2548) ซึ่งการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งการเจริญจุลิทรีย์เป็นสิ่งใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในการศึกษาพัฒนา เนื่องจากสามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ง่าย และผู้บริโภคให้การยอมรับมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารต่อต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบจำพวกเทอร์พีนส์ (Terpenes) ที่มีสูตรโครงสร้างทั่วไปคือ $(C_5H_8)_n$ ซึ่งประเภทที่พบเป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น สาร limonene พบมากในน้ำมันมะนาวและน้ำมันผิวส้ม สาร Zingiberene พบมากในน้ำมันสกัดจากพืชตระกูลขิง สาร Menthol พบมากในน้ำมันมินต์และเปปเปอร์มินต์ สาร Eugenol ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันกานพลู และสาร Methyl chavicol ในน้ำมันโหระพา ซึ่งทั้งหมดเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

2.6 น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

กะเพรา (Holy basil) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum sanctum* Linn. อยู่ในตระกูล Lamiaceae เป็นต้นไม้พื้นเมืองบริเวณเขตร้อนของเอเชียและอเมริกา มีการเพาะปลูกในประเทศอินเดีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย อเมริกากลางและใต้ เอเชียตะวันตก กะเพราที่เพาะปลูกในประเทศไทยมี 3 สายพันธุ์ คือ กะเพราแดง กะเพราขาว และกะเพราลูกผสมระหว่างกะเพราแดงและกะเพราขาว ลำต้นและใบของกะเพรามีขนอ่อน ใบมีกลิ่นหอมฉุน กะเพราแดงจะมีใบสีเขียวเข้ม ลำต้นสีม่วงแดง บริเวณขอบของใบอ่อนมีสีม่วง ขณะที่กะเพราขาวมีใบและลำต้นสีเขียวอ่อน กลิ่นของกะเพราแต่ละสายพันธุ์จะไม่เหมือนกัน บางสายพันธุ์มีกลิ่นและรสชาติของเปปเปอร์มิ้นท์ กลิ่นกานพลู ลิโคริค หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่นเลมอน กลิ่นที่คล้ายกลิ่นกานพลูมาจากปริมาณของ Eugenol ที่มีอยู่สูงในกะเพรา มีรายงานวิจัยมากมายที่อ้างอิงถึงประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค

องค์ประกอบหลักทางเคมีที่พบในกะเพราคือ Methyl eugenol เป็นสารกลุ่ม Terpenoids ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ โดยน้ำมันหอมระเหยจะเข้าไปยับยั้งการสังเคราะห์และจะเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรายังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบ และขับพยาธิ (Trombetta และคณะ, 2005)

จากการศึกษาวิจัยในโครงการวิจัยพืชหอม เพื่อจัดทำระบบฐานข้อมูลน้ำมันหอมระเหยไทย (ศิริเพ็ญ และคณะ, 2548) พบว่าใบกะเพราขาวเมื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำได้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.08-0.10 มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ Methyl eugenol 73.41 %, Caryophyllene 10.89 %, Beta-elemene 5.41 %, Germacrene D 2.97 % และ Alfa-humulene 1.29 % ส่วนใบกะเพราแดงเมื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำได้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.08-0.10 มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ Methyl eugenol 81.72 %, Beta-elemene 5.24 %, Germacrene D 4.40 % และ Alfa-humulene 1.32 %

การทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบกะเพราด้วยเอทานอล 50 % โดยให้หนูกินในขนาด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (คิดเป็น 35,714 เท่า เปรียบเทียบกับขนาดรักษาในคน) และให้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังหนู ในขนาด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตรวจไม่พบอาการเป็นพิษ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2546)

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน และพิษกึ่งเฉียบพลัน ของสารสกัด 50 % เอทานอลของใบกะเพรา โดยการศึกษาพิษเฉียบพลัน ให้หนูได้รับสารสกัดกะเพราขนาด 200, 600 และ 2000 mg/kg เพียงครั้งเดียว แล้วประเมินพฤติกรรม ปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ และอัตราการตาย ดูผลเป็นเวลานาน 14 วัน การศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลัน หนูได้รับสารสกัดกะเพราขนาด 200, 400 และ 800 mg/kg เป็นเวลา 28 วัน ประเมินค่าชีวเคมีของเลือด เนื้อเยื่อของตับ ไต ม้าม หัวใจ และระบบสืบพันธุ์ ผลการศึกษาที่ได้ พบว่าไม่เกิดพิษใด ๆ (Gautamn และ Goel, 2014)

การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง (Chronic toxicity) ทำการทดลองในหนูแรทสายพันธุ์วิสตาร์ ให้สารสกัดน้ำจากใบกะเพราขนาด 100, 500 และ 1000 mg/kg เพียงครั้งเดียว และติดตามผลต่ออีก 30 วัน บันทึกผลด้วยการวัดน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนไป วัดระดับของ Protein, Urea, Creatinine, Uric acid, Lactate Dehydrogenase (LDH) วัดระดับเอนไซม์ตับ ได้แก่ Aspartate Transaminase (AST), Alanine Transaminase (ALT) ซึ่งพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยังคงอยู่ในระดับปกติ (Uma และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จิราภรณ์ และเรือนแก้ว (2555) ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ชะพลู สะระแหน่ ฟักแม้ว โหระพา กะเพรา และเตย นำมาสกัดสารโดยใช้น้ำ เมทานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ 19.76 ± 1.06 mm. *S. aureus* ATCC 6538 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ 21.23 ± 1.59 mm. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ 30.39 ± 2.84 mm. ด้วยวิธี Disk diffusion method

ปทุม และคณะ (2550) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรที่นิยมใช้ในครัวเรือนไทย ได้แก่กะเพรา ตะไคร้ ตะไคร้หอม ผลมะกรูด ใบมะกรูด พริกไทยดำ และโหระพา โดยการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ยับยั้งด้วยวิธี Agar dilution จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Sal. typhimurium, E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแกรมบวกซึ่งได้แก่ *B. cereus*, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 0.1% ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา ตะไคร้หอม ผลมะกรูด ใบมะกรูด โหระพา และพริกไทยดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารได้ดี

วชิรญา และคณะ (2557) ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในไก่ ความคงตัวต่อความร้อนของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา พบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันคืออนุพันธ์ของฟีนอลและเทอร์พีน ซึ่งได้แก่ Methyl eugenol (42.58%), Beta-caryophyllene (26.88%) และ Eugenol (10.66%) ด้านคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในไก่ซึ่งทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion method พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง *S. typhimurium* S003, *Sal. typhimurium* TISTR 292 และ *S. aureus* 029 ในปริมาณ 10^5 CFU/ml คือ 6.06, 6.06 และ 3.03 mg/ml ตามลำดับ

2.7 น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

อบเชยจีน (Cassia oil) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum Cassia* Presl. เป็นหนึ่งในเครื่องเทศสกุล Cinnamomum ซึ่งอยู่ในสกุลเดียวกันกับเครื่องเทศซินนามอน (Cinnamon) หรืออบเชยที่นิยมใส่ในเครื่องดื่ม และขนมอบ โดยอบเชย หรือซินนามอนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum Zeylanicum* ซึ่งในต่างประเทศมีการเรียกอบเชยจีนว่า Cinnamon มากกว่าใช้คำว่า Cassia (Nguyen, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบหลักทางเคมีที่พบในอบเชยจีนคือ Cinnamaldehyde 60-75 %, ρ–Cymene 0.6-1.2 %, α–Pinene 0.2-0.6 %, Eugenol 0.8 %, Cinnamyl acetate 5.0 %, Caryophyllene 1.4-3.3 %, Benzyl benzoate 0.7-1.0 %

อบเชยจีนจัดเป็นสมุนไพรที่ค่อนข้างปลอดภัย หากรับประทานในปริมาณที่ใช้ในอาหาร อาหารเสริม หรือยาสมุนไพร แต่หากรับประทานในปริมาณมากๆ อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียง โดยเฉพาะคนที่เป็นโรคเกี่ยวกับตับ เนื่องจากในอบเชยจีนมีสารคูมาริน (Coumarin) ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดผลเสียต่อตับ

เปลือกอบเชยจีนมีคูมาริน 0.03-0.26 % หากคำนวณที่ปริมาณการใช้คูมารินเป็นยาที่ 50 มิลลิกรัม จะเทียบเท่ากับอบเชยจีนปริมาณ 19-170 กรัม องค์การความปลอดภัยของอาหารยุโรป (European Food Safety Authority) กำหนดปริมาณที่ร่างกายสามารถรับคูมารินได้ต่อวัน (Tolerable Daily Intake : TDI) คือคูมาริน 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ค่า LD_{50} ในการให้สารซินนามิกอัลดีไฮด์ทางปากหนูคือ 2,225 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ค่า LD_{50} ในการให้สารสกัดด้วยน้ำทางปากหนูถีบจักรคือ 120 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทย และแพทย์ทางเลือก, 2551)

วัชรินทร์ และคณะ (2559) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* และ *E. coli* ATCC 25922 พบว่าสารสกัดอบเชยสามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 (18.5 ± 1.4 mm.), *B. cereus* (11.5 ± 0.7 mm.), *E. coli* ATCC 25922 (11.5 ± 0.7 mm.) โดยวิธี Disk diffusion วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone

Prabuseenivasan และคณะ (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 21 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris, Proteus aeruginosa*, *E. coli* และ *Klebsiella pneumonia* โดยวิธี Agar disc diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหย 19 ชนิดแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ทำการทดสอบ โดยน้ำมันหอมระเหยอบเชย กานพลู เจอราเนียม เลมอน มะนาว ส้ม และโรสแมรี่ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากที่สุด มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.8-12.8 mg/ml

Oussalah และคณะ (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร 28 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* และ *S. aureus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์จากสเปน อบเชยจีน ออริกาโน วินเทอร์ ซาโวรี่ และส่วนเปลือกของอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบได้ดี

Gupta และคณะ (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 10 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย โดยวิธี Agar well diffusion พบว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชยและกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีที่สุด รองลงมาคือ สะระแหน่ และยูคาลิปตัส และได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอบเชยในรูปน้ำมันหอมระเหยและสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หยาบ โดยพบว่าอบเชยที่อยู่ในรูปน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบสูงว่าอบเชยที่อยู่ในรูปสารสกัดหยาบ โดยปริมาณต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 1.25 % ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ Cinnamaldehyde โดยจะไปจับกับโปรตีนป้องกันการเกิด Amino acid decarboxylation ของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

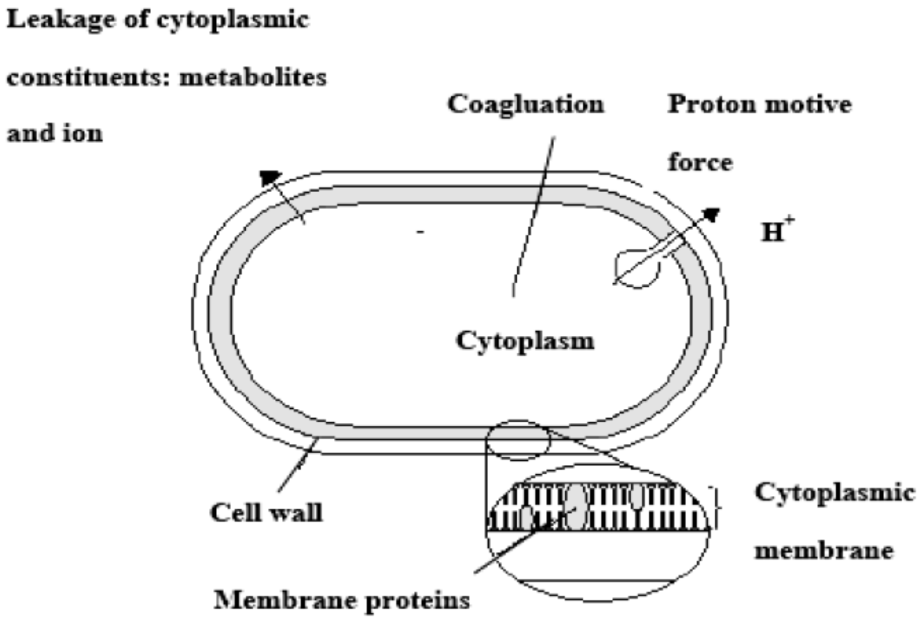
Lopez และคณะ (2005) ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ เชื้อยีสต์ และเชื้อรา ของไอน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด คือ โหระพา ขิง อบเชย กานพลู โรสแมรี่ และผักชีลาว พบว่าไอน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลูมีฤทธิ์ที่ดีในทุกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ

นงนุช (2555) น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชยจีนมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ดีที่สุด และสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*)ได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก(*S. aureus*) ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียแกรมบวกจะถูกยับยั้งโดยสารต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ แต่เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นอาจทำให้สารดังกล่าวสามารถละลายได้ดีในชั้นไขมันของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ จึงสามารถแพร่ผ่านและเข้าไปทำลายผนังเซลล์จุลินทรีย์ หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดเป็นรู จึงเกิดการสูญเสียความสามารถในการเข้าออกของสารอาหาร เอนไซม์สำคัญต่าง ๆ และยังทำให้องค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์มีการรั่วไหลออกมา จุลินทรีย์จึงตายได้

2.8 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย

สารประกอบน้ำมันหอมระเหยมีผลต่อเซลล์แบคทีเรีย เนื่องจากสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยนี้มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) ซึ่งสามารถเข้าไปร่วมอยู่กับส่วนไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์และไมโตคอนเดรียของเซลล์แบคทีเรียได้ มีผลให้การผ่านเข้าออกของสารจากเซลล์เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการรั่วของไอออน และสารประกอบที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ การรบกวนระบบ Proton motive force ทำให้เกิดการตกตะกอนของสารต่างๆในเซลล์จนทำให้เซลล์ตาย สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ภายในไซโตพลาสมิกเมมเบรน เช่น ATPases ซึ่งอยู่ในไซโตพลาสมิกเมมเบรน และอยู่ติดกับโมเลกุลไขมัน โดยส่วนวงแหวนไฮโดรคาร์บอน (Cyclic hydrocarbon) ของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยมีสมบัติชอบไขมัน (Lipophilic) จะไปทำปฏิกิริยากับ ATPases และเมื่อสะสมอยู่มาก ๆ มีผลทำให้โครงสร้างของไขมัน - โปรตีนของเซลล์เสียรูป สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยสามารถเร่งการเจริญของ Pseudomycelia ในยีสต์เป็นผลให้เซลล์ที่สร้างใหม่ไม่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้สารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยยังสามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานหรือการสังเคราะห์โครงสร้างเซลล์ (Burt, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 กลไกการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย

ที่มา : Burt (2004)

นงลักษณ์ และ ปรีชา (2550) อธิบายปฏิกิริยาของสารต่อต้านแบคทีเรียที่เกิดขึ้นที่ผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยสารดังกล่าวจะทำให้ความสามารถในการยอมให้สารต่าง ๆ ที่แทรกซึมผ่านผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เส้นทางของอาหารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียเกิดการขัดข้อง การเจริญของแบคทีเรียจึงหยุดชะงักและตายในที่สุด การทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้แบคทีเรียตายได้ เมื่อสารต่อต้านแบคทีเรียเข้าสู่ภายในเซลล์จะทำให้ไซโทพลาซึม (Cytoplasm) เกิดการตกตะกอน (Coagulate) หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกเนื่องจากสารดังกล่าวทำลายไขมันที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาดและส่วนประกอบต่างๆ เช่น โซเดียมหรือโปแตสเซียมรั่วไหลออกจากเซลล์ทำให้แบคทีเรียตายได้

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ehivet และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตฟิล์มที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์จากแป้งมันเทศ โดยเติม Origanum oil (OG) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 % (v/v) ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* Enteritidis, *E. coli* O157:H7 และ *L. monocytogenes* พบว่าฟิล์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งมันเทศที่เติม OG สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของ OG ส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

Suput และคณะ (2016) ศึกษาสมบัติของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งข้าวโพดร่วมกับน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ และน้ำมันหอมระเหยเทียนดำ พบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยลงในฟิล์มช่วยลดสมบัติการละลายน้ำของฟิล์ม และลดความต้านทานแรงดึงของฟิล์ม โดยฟิล์มน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ 2% สามารถต้านเชื้อ *Sal. typhimurium* (Inhibition zone 33 mm), *E. coli* (Inhibition zone 37 mm) และ *L. monocytogenes* (Inhibition zone 39 mm) ได้ดีที่สุด เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method

Veena และคณะ (2015) ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งข้าวโพดร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกานพลู และน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 % พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มทำให้ความหนาของฟิล์มเพิ่มมากขึ้น แต่สมบัติการละลายน้ำและความชื้นของฟิล์มลดลง

Song และคณะ (2017) ศึกษาสมบัติทางกายภาพและการต้านเชื้อของฟิล์มน้ำมันหอมระเหยเปลือกมะนาวที่ 1 และ 2 % ในแป้งข้าวโพดและแป้งข้าวสาลี พบว่าน้ำมันหอมระเหยเปลือกมะนาวช่วยลดอัตราการผ่านของออกซิเจนและความชื้นในฟิล์ม โดยฟิล์มน้ำมันหอมระเหยเปลือกมะนาว 2 % สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* (Inhibition zone 66.34±5.65 mm^2) และ *E. coli* (Inhibition zone 60.57±6.12 mm^2) ได้ดีที่สุด เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method

Ghasemlou และคณะ (2013) ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มจากแป้งข้าวโพดร่วมกับ Zataria multiflora boiss essential (ZEO) หรือ Mentha pulegium essential (MEO) ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 % พบว่า ZEO หรือ MEO ไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านทานแรงดึงออกของฟิล์ม แต่มีผลทำให้การซึมผ่านของไอน้ำในฟิล์มลดลง การซึมผ่านของออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้น โดย ZEO สามารถต้านเชื้อจุลิทรีย์ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่า MEO เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method

Jouki และคณะ (2014) ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มจาก Quince seed ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ ที่ความเข้มข้น 1, 1.5 และ 2 % พบว่าน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ทำให้ความสามารถในการต้านทานแรงดึงของฟิล์มลดลง แต่ทำให้สมบัติการซึมผ่านไอน้ำ และสมบัติการซึมผ่านออกซิเจนเพิ่มขึ้น สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *E. coli* O157 : H7, *Sal. typhimurium*, *B. cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio enterocolitica* และ *Shewanella putrefaciens* เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method

Jamro’z, Juszczak และ Kucharek (2018) ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มจากแป้งมันฝรั่งร่วมกับน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ 2 ,4 และ 6 % พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ส่งผลต่อให้ความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการต้านทานแรงดึงของฟิล์มลดลง สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method

Li และคณะ (2018) ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มจากแป้งมันฝรั่งหวานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 % พบว่าสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ เมื่อศึกษาด้วยวิธี Disk diffusion method และน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ส่งผลให้ความสามารถในการต้านทานแรงดึงและการซึมผ่านของไอน้ำในฟิล์มลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมืออุปกรณ์

3.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มิลลิลิตร

3.1.2 บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.3 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ขนาด 90 x 15 มิลลิเมตร

3.1.4 ตู้บ่มเชื้อ, Memmert, Germany

3.1.5 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer), BEC Thai, Thailand

3.1.6 เครื่องวัดความหนา (Micrometer), Mitutoyo m110 - 50, Japan

3.1.7 เครื่อง homogenizer, IKA MS 7, Germany

3.1.8 เครื่องวัดความขุ่นเชื้อจุลินทรีย์ McFarland, Grant-bio รุ่น DEN – 1,UK

3.1.9 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave), Tommy รุ่น ss-325, Japan

3.1.10 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven), Thermo Scientific, USA

3.1.11 โถปั่น (Blender), National, Thailand

3.1.12 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง, Tanita, Japan

3.1.13 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, Mettler Toledo, Germany

3.1.14 เครื่อง Texture analyser, Stable Micro System, UK

3.1.15 เครื่อง Gas permeablility tester, Illinois, USA

3.1.16 Desiccator

3.1.17 ตะแกรงร่อนขนาด 120 mesh

3.1.18 Hot plate, Thermo Fisher Scientific, USA

3.1.19 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM), Carl zeiss EVO MA 10, Germany

3.1.20 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow), Boss Tech, Thailand

3.1.21 Anaerobic jar, Merck, Germany

3.1.22 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath), Memmert, German

3.1.23 Magnetic bar

3.1.24 มีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.25 เขียง

3.1.26 กะละมัง

3.2 วัตถุดิบ สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 กล้วยดิบสีเขียวทั่วทั้งผล, สวนวัดสวนแก้ว, นนทบุรี

3.2.2 หมูเนื้อแดงบด

3.2.3 หนังหมูต้ม

3.2.4 กระเทียมโขลกละเอียด

3.2.5 เกลือป่น

3.2.6 ข้าวสุก

3.2.7 ผงชูรส

3.2.8 ใบตอง

3.2.9 ถุง Stomacher

3.2.10 น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา, อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย – จีน จำกัด, กรุงเทพฯ

3.2.11 น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน, อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย – จีน จำกัด, กรุงเทพฯ

3.2.12 กลีเซอรอล, วิทยาศรม จำกัด, กรุงเทพมหานคร

3.2.13 เพคติน, วิทยาศรม จำกัด, กรุงเทพมหานคร

3.2.14 เปปโตน, Rajasthan, India

3.2.15 EDTA, Rajasthan, India

3.2.16 Butterfield's phosphate – buffered dilution water (BF)

3.2.17 Mueller Hinton Agar (MHA), Himedia, India

3.2.18 Tryptic soy broth (TSB), Difco, USA

3.2.19 Agar, Difco, USA

3.2.20 MRS Agar, Difco, USA

3.2.21 Baird – parker medium (BP), Difco, USA

3.2.22 Brain heart infusion broth (BHI), Difco, USA

3.2.23 Lauryl sulphate trptose broth (LST), Difco, USA

3.2.24 Levine's Eosin – Methylene Blue (L-EMB) agar, Difco, USA

3.2.25 Plate count agar (PCA), Difco, USA

3.2.26 Lactose broth (LB), Difco, USA

3.2.27 Tetrathionate broth (TT), Difco, USA

3.2.28 Rappaport – vassiliadis broth (RV), Difco, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.29 Hektoen enteric agar (HE), Difco, USA

3.2.30 Xylose lysine desoxycholate agar (XLD), Difco, USA

3.2.31 Bismuth sulfite agar (BS), Difco, USA

3.2.32 Triple sugar iron agar (TSI), Difco, USA

3.2.33 Lysine iron agar (Lysine iron agar), Difco, USA

3.2.34 Mac Conkey agar, Difco, USA

3.2.35 SFP without egg yolk agar, Difco, USA

3.2.36 Lactose – gelatin media, Difco, USA

3.2.37 Thioglycollate broth, Difco, USA

3.2.38 Rapid diagnostic Kits API ID 32 A, Biomerieux, France

3.3 เชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 แบคทีเรีย *E. coli* DMST 4212 ได้รับจากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.3.2 แบคทีเรีย *S. aureus* subsp. aureus TISTR 1840 ได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี

3.3.3 แบคทีเรีย *Sal,* Anatum DMST 7108 ได้รับจากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.3.4 แบคทีเรีย *B. cereus* TI STR 1395 ได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี

3.4 วิธีการทดสอบ และวิเคราะห์ผล

3.4.1 เตรียมแป้งกล้วยเพื่อนำมาเตรียมฟิล์มบริโภคได้

ล้างทำความสะอาดและปอกเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบที่มีสีเขียวทั่วทั้งผล ตัดเนื้อกล้วยตามแนวขวางให้มีความหนาชิ้นละ 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปอบลมร้อนให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำเข้าเครื่องลดขนาดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 120 mesh จะได้แป้งกล้วยสีขาวอมเหลืองนวล

3.4.2 เตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (Sothornvit และ Pitak, 2007)

นำสารละลายแป้งกล้วย 4 % โดยน้ำหนัก ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ความร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้ Hot plate จากนั้นวางสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจนสารละลายมีอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใส่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลีเซอรอล 30 % โดยน้ำหนักแป้งกล้วย (กลีเซอรอล 30 กรัมต่อแป้งกล้วย 100 กรัม) เพคติน 1 % โดยน้ำหนัก ให้ความร้อนจนสารละลายอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที วางสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จนสารละลายมีอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เติมน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก ลงในสารละลาย ใช้ Homogenizer กำหนดความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที คนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นวางสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและตักฟองอากาศบนผิวหน้าสารละลายออก เทสารละลายหนัก 14 กรัม ลงบนแผ่นอะคีลิคขนาด 14 x 14 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำแผ่นอะคีลิคไปผึ่งให้ฟิล์มแห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มออกโดยใช้ปากคีบช่วย การเก็บรักษาแผ่นฟิล์มใช้กระดาษไขห่อฟิล์ม และเก็บไว้ในโหลควบคุมความชื้น

3.4.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

3.4.3.1 วัดความหนาของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก ทำการวัดโดยใช้วิธีมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ฟิล์มยืดหุ้มห่ออาหาร พ.ศ.2536

ตัดตัวอย่างฟิล์มบริโภคให้ตั้งฉากกับความยาวทำเป็นชิ้นทดสอบที่มีความกว้าง 200 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้น แล้ววัดความหนาของชิ้นทดสอบที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน ในแนวขนานกับหน้ากว้างของม้วน ชิ้นละ 10 ตำแหน่ง โดยใช้ไมโครมิเตอร์

3.4.3.2 ทดสอบค่าความต้านทานแรงดึง (Tensile strength; TS) ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยใช้วิธีมาตรฐาน ASTM D 882-97

ตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 2.54 x 12.00 ตารางเซนติเมตร ทำการทดสอบโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัสอาหาร (Texture analyser) นำชิ้นตัวอย่างที่เตรียมไว้สอดเข้าไปในตัวหนีบ (Tensile grip) ทั้งด้านบนและด้านล่าง แล้วหมุนตัวหนีบให้มีการยึดจับกับชิ้นตัวอย่างให้แน่น กำหนดระยะห่างระหว่างหัวหนีบเท่ากับ 50 มิลลิเมตร กำหนดความเร็วในการทดสอบ 50 มิลลิเมตรต่อนาที เริ่มทำการทดสอบโดยการให้หัวหนีบด้านบนเคลื่อนที่ และบันทึกแรงที่มากที่สุดที่ทำให้ชิ้นตัวอย่างขาดออกจากกัน

$$\text{Tensile strength (เมกกะพาสคาล)} = \frac{\text{Fmax}}{\text{A}}$$

เมื่อกำหนดให้ :

Fmax คือ แรงที่มากที่สุดที่ทำให้ตัวอย่างฟิล์มที่ทำการทดสอบขาดออกจากกัน (นิวตัน)

A คือ พื้นที่ของตัวอย่างฟิล์มที่ทำการทดสอบ (ตารางเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.3 ทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability; WVP) ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยใช้วิธีมาตรฐาน ASTM E 96-95

ตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 7.5 x 7.5 ตารางเซนติเมตร เติมน้ำกลั่น 18 มิลลิลิตร ลงในถ้วยอะลูมิเนียมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร สูง 4.2 เซนติเมตร นำฟิล์มหุ้มปากถ้วยพร้อมปิดผนึกด้วยพาราฟิน ชั่งน้ำหนักถ้วยที่ปิดผนึกฟิล์มแล้ว วางในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักถ้วยทุก ๆ 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 8 ชั่วโมง คำนวณดังสูตร

$$\text{WVTR (กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน)} = \frac{\Delta W}{A \Delta t}$$

เมื่อกำหนดให้ :

Δ W คือ น้ำหนักของความชื้นที่ถูกดูดเข้าไปในถ้วย (กรัม)

A คือ พื้นที่ของตัวอย่างฟิล์มที่ทำการทดสอบ (ตารางเมตรต่อวัน)

Δ t คือ จำนวนเวลาที่ใช้ในการทดสอบ (วัน)

$$\text{WVP} = \frac{(\text{WVTR x L})}{(\text{Pw1 - Pw2})}$$

เมื่อกำหนดให้ :

Pw1 – Pw2 คือ ผลต่างความดันไอน้ำที่ใช้ในการทดสอบ (พาสคาล)

L คือ ความหนาของฟิล์มที่ทำการทดสอบ (มิลลิเมตร)

3.4.3.4 ทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจน (Oxygen permeability; OP) ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยใช้วิธีมาตรฐาน ASTM D3985-92

ตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร ใส่ลงใน Oxygen test cell ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 โดยใช้เครื่อง Gas permeablility tester เมื่อเริ่มทำการทดสอบออกซิเจนบริสุทธิ์จะพ่นจากด้านบน ส่วนด้านล่างมีไนโตรเจนบริสุทธิ์ โดยออกซิเจนอยู่ในด้านที่ความดันสูงกว่าจึงสามารถดันออกซิเจนผ่านฟิล์มไปยังอีกด้านหนึ่งได้

$$\text{OTR (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน)} = \frac{\text{ปริมาณของออกซิเจนที่ซึมผ่าน}}{(\text{เวลา x พื้นที่})}$$

$$\text{OP} = \frac{(\text{OTR x L})}{(\text{Po1 - Po2})}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อกำหนดให้ :

Po1 - Po2 คือ ผลต่างความดันที่ใช้ในการทดสอบ (พาสคาล)

L คือ ความหนาของฟิล์มที่ทำการทดสอบ (มิลลิเมตร)

3.4.3.5 ทดสอบพื้นผิวของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)

ตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร วางแผ่นฟิล์มที่ต้องการทดสอบลงบนแท่งอลูมิเนียม จากนั้นนำไปเคลือบด้วยทองคำเพื่อช่วยให้ส่องตัวอย่างฟิล์มผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด เห็นพื้นผิวฟิล์มได้ชัดเจนขึ้น

3.4.4 ศึกษาสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Disk diffusion test (Hua และคณะ)

3.4.4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ชั่ง Mueller-Hinton agar (MHA) 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มให้เดือด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ให้ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4 ± 0.5 มิลลิเมตร รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวที่สภาวะ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนนำไปใช้จะต้องแห้งไม่มีหยดน้ำเกาะ เก็บรักษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เพาะเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* DMST 4212, *S. aureus* subsp. aureus TISTR 1840, *Sal.* Anatum DMST 7108 และ *B. cereus* TI STR 1395 ด้วยวิธี Growth method โดยใช้ลูปเลือกเขี่ยเชื้อที่โคโลนีเดี่ยว ๆ ลงในหลอดที่บรรจุ Tryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 4-5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง ปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard โดยใช้เครื่อง McFarland ปรับเทียบความขุ่นภายในระยะเวลา 15 นาที ใช้สารละลายน้ำเกลือเป็นสารละลายสำหรับเจือจาง จะได้ปริมาณจุลินทรีย์ 1.5 x 10^8 CFU/ml จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยปิเปตจุลินทรีย์ 1.5 x 10^8 CFU/ml จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำเกลือจำนวน 9 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงให้เข้ากัน จะได้ปริมาณจุลินทรีย์ 1.5 x 10^7 CFU/ml จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยปิเปตจุลินทรีย์ 1.5 x 10^7 CFU/ml จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำเกลือจำนวน 9 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงให้เข้ากัน จะได้ปริมาณจุลินทรีย์ 1.5 x 10^6 CFU/ml ซึ่งเป็นปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อของฟิล์มน้ำมันหอมระเหย

3.4.4.3 การศึกษาสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Disk diffusion method

ปิเปตจุลินทรีย์ 1.5 x 10^6 CFU/ml ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ทำการ Spread plate จนทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ปากคีบคีบฟิล์มบริโภคจากแป้งกล้วยร่วมกับ

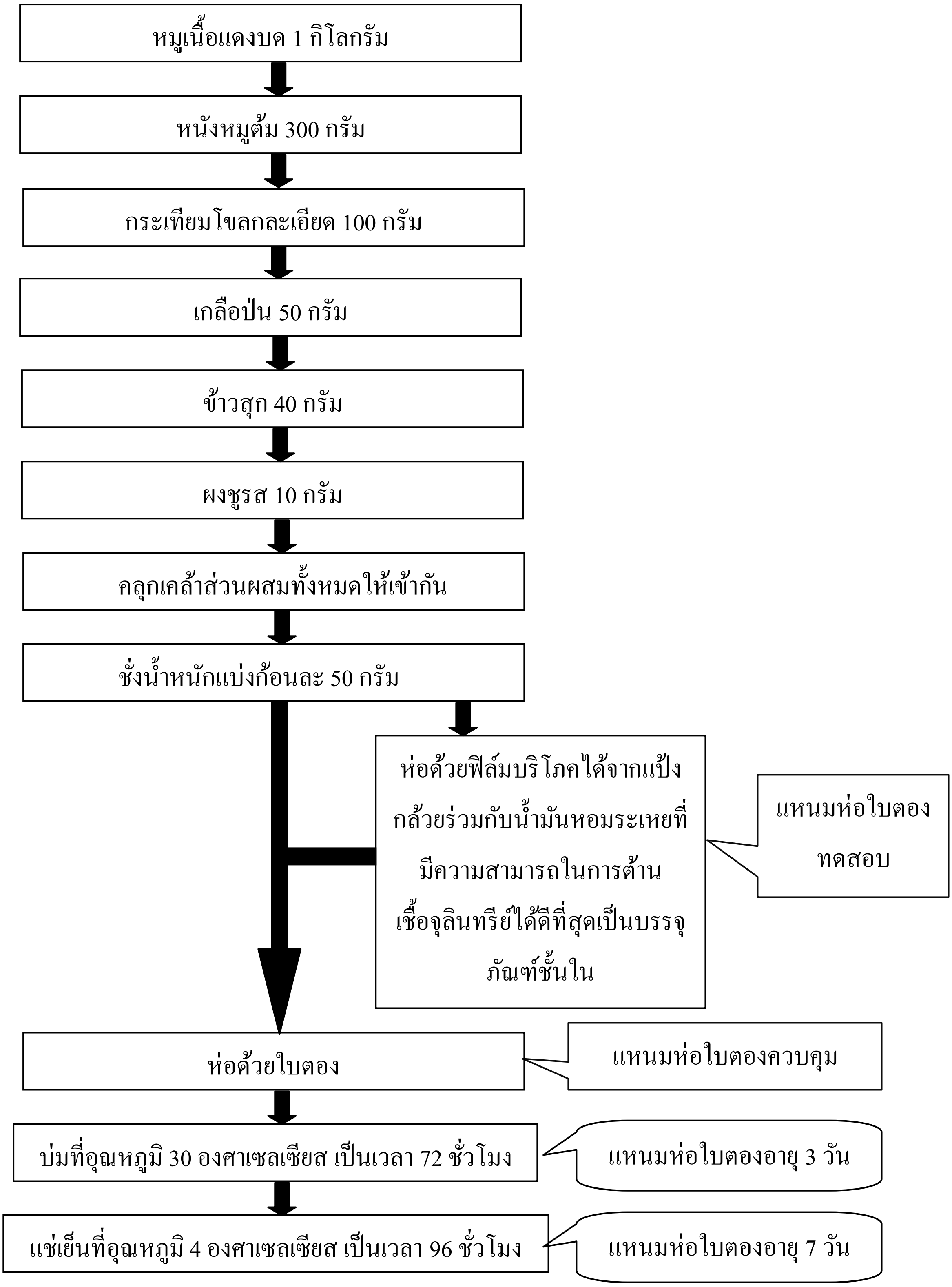
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันหอมระเหยกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ลงบน MHA และกดเบา ๆ ภายในระยะเวลา 15 นาทีหลังปรับเทียบความขุ่น จากนั้นนำไปบ่มภายในระยะเวลา 15 นาทีหลังจากวางแผ่นฟิล์มลงบน MHA ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาด Inhibitory zone โดยไม้บรรทัดวัดในหน่วย มิลลิเมตร

3.4.5 ศึกษาการนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์แหนมดั้งเดิม

3.4.5.1 ขั้นตอนการผลิตแหนมห่อใบตอง แสดงดังภาพที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตแหนมห่อใบตองควบคุม (แหนมสูตรดั้งเดิม) และแหนมห่อใบตองทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.2 ทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์แหนมห่อใบตองซึ่งห่อด้วยฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดเป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นใน (จากผลการทดสอบฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยที่มีสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดคือฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 4 %) เปรียบเทียบกับแหนมห่อใบตองสูตรดั้งเดิม

กำหนดให้ :

แหนมห่อใบตองควบคุมคือ แหนมห่อใบตองสูตรดั้งเดิม

แหนมห่อใบตองทดสอบคือ แหนมห่อใบตองซึ่งห่อด้วยฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดเป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นใน

3.4.5.2.1 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ LAB ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน ISO 15214 : 1998

ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม ละลายใน 225 มิลลิลิตรของสารละลาย 0.1% peptone ทำ serial 10-fold dilution แยกเชื้อ LAB ด้วยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ดัดแปลงด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำเข้าบ่มในสภาวะ anaerobic ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่สร้างกรดโดยเกิดวงใสรอบโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ 30-300 โคโลนี คำนวณปริมาณของเชื้อโดยนำจำนวนโคโลนีคูณกับ dilution factor ต่อหน่วยน้ำหนัก (colony forming unit per gram (CFU/g))

3.4.5.2.2 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. aureus* ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2016 (Chapter 12)

3.4.5.2.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างแหนม 50 กรัม ใส่ในถุง stomacher เติม Butterfield’s phosphate-buffered dilution water (BF) 450 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่างเป็นเวลา 1 นาที สารละลายตัวอย่างที่ได้ถือว่ามีระดับความเจือจาง 10^{-1} (ตัวอย่างถูกเจือจาง 10 เท่า) เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเพิ่มขึ้น 100 และ 1,000 เท่า (นั่นคือตัวอย่างมีระดับความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ) หรือระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยปิเปตตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มี BF 90 มิลลิลิตร จะได้ระดับความเจือจาง 10^{-2} นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งขวด ส่วนที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} ก็เตรียมได้ในลักษณะเดียวกัน

3.4.5.2.2.2 การตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Direct Plate Count

ปิเปตสารละลายตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-parker medium (BP) จำนวน 3 ถาดเลี้ยงเชื้อ ถาดเลี้ยงเชื้อละ 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร จากนั้นเกลี่ยให้เชื้อกระจายโดยใช้แท่งแก้ว ทิ้งให้สารละลายของเชื้อซึมผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ (ประมาณ 10 นาที) นำถาดเลี้ยงเชื้อไปบ่มโดยกลับถาดเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง (แต่ถ้าสารละลายยังไม่ซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อให้นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อโดยไม่ต้องกลับถาดเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนกลับถาดเลี้ยงเชื้อ) เลือกถาดเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 20-200 โคโลนี มาตรวจนับโคโลนีลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* โคโลนีกลม เรียบโค้งนูน มีความชุ่มชื้น ไม่แห้ง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร โคโลนีมีสีเทาถึงดำ อาจมีขอบใสหรือไม่ก็ได้ มีโซนทึบ (Opaqne zone) รอบๆ โคโลนี และมีโซนใส (Clear zone) รอบนอกโคโลนี หรือไม่ก็ได้ เมื่อใช้ needle เขี่ยจะยืดเหนียว (ในบางครั้งอาจพบโคโลนีในลักษณะคล้ายกันแต่ไม่พบ Opaqne zone และ Clear zone รอบโคโลนีแสดงว่าไม่ใช่ *S. aureus*) ถ้าตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เก็บไว้นาน หรือตัวอย่างแห้ง อาจพบว่าเชื้อนี้อาจให้ลักษณะโคโลนีสีดำจางและโคโลนีมีลักษณะแห้ง การนับจำนวนโคโลนี ถ้ามีโคโลนีหลายๆ ลักษณะ นับจำนวนโคโลนีแต่ละลักษณะและบันทึกจำนวนแยกแต่ละลักษณะ คำนวณปริมาณของเชื้อโดยนำจำนวนของ *S. aureus* ที่นับได้คูณระดับความเจือจาง รายงานผลในหน่วย CFU/g ตัวอย่าง กรณีที่ในระดับความเจือจางต่ำสุดจำนวนโคโลนีที่นับได้มีน้อยกว่า 20 โคโลนี ให้ใช้ค่าที่นับได้นี้ นำไปทดสอบ Coagulase test และรายงานผลได้ แต่ถ้าในถาดเลี้ยงเชื้อมีจำนวนโคโลนีมากกว่า 200 โคโลนี และไม่มีลักษณะเด่นของ *S.aureus* ในระดับความเจือจางสูงกว่านี้ ให้นับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะเด่นของ *S.aureus* จากนั้นเลือกโคโลนีในแต่ละลักษณะมามากกว่า 1 โคโลนีต่อความเข้มข้น เพื่อทดสอบ Coagulase Test ต่อไป

3.4.5.2.2.3 Coagulase test

เลือกโคโลนีมากกว่า 1 โคโลนี ในแต่ลักษณะจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อ BP ถ่ายเชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI) ปิเปตเชื้อจากหลอด BHI broth ปริมาตร 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติม coagulase plasma ที่มีส่วนผสมของ EDTA ลงไป 0.5 มิลลิลิตร เขย่าหลอดให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส สังเกต การจับตัวทุกๆ ชั่วโมงในระยะเวลา 4 ชั่วโมงแรก หากไม่เกิดการจับตัวภายในระยะเวลาดังกล่าวให้ทำการบ่มต่ออีกจนครบ 24 ชั่วโมง แล้วทำการอ่านผล (BD BBL Coagulase Plasma)ระดับของการจับตัวกันของเชื้อและ Coagulase Plasma ระดับของการจับตัว ลักษณะที่ปรากฏ

0 ไม่เกิดการจับตัว

1+ จับตัวเป็นก้อนน้อย ไม่รวมกลุ่ม

2+ จับตัวเป็นก้อนน้อย รวมกลุ่ม

3+ จับตัวเป็นก้อนใหญ่

4+ จับตัวเป็นก้อนหมดทั้งหลอด และไม่ขยับเมื่อคว่ำหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรายงานผล Coagulase test นับจำนวนหลอดที่ให้ผลเป็นบวกของแต่ละระดับความเจือจาง บันทึกผลเป็นบวกเมื่อลักษณะการจับตัวอยู่ในระดับ 4+ ในกรณีที่ผลการทดสอบ Coagulase test ให้ผลการทดสอบน้อยกว่าระดับ 4+ ให้นำไปทดสอบ Ancillary test

3.4.5.2.2.4 Ancillary test โดยวิธี Catalase test

ถ่ายเชื้อจากใน BHI ลงใน Tryptic soy agar (TSA) slant ใช้ loop แตะเชื้อจาก TSA slant ลงบนสไลด์จากนั้นหยดสารทดสอบ 3 % H_2O_2 ลงบนโคโลนี สังเกตการสร้างฟองแก๊ส O_2 โดย *S.aureus* จะให้ผล Catalase test เป็นบวก คือมีการสร้างฟองแก๊ส O_2

3.4.5.2.3 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2017 (Chapter 4)

3.4.5.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างแหนม 50.0 ± 0.1 กรัม ใส่ในถุง stomacher เติม Butterfield's phosphate - buffered dilution water (BF) 450 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่าง เป็นเวลา 2 นาที (สารละลายที่ได้มีความเจือจาง 10^{-1}) เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นให้ทำ 3-tube MPN โดยใช้ series 3:3:3

3.4.5.2.3.2 MPN - Presumptive test for coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli*

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ในแต่ละระดับความเจือจางของ 3 tube MPN อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate trptose broth (LST) ที่มีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ ความเจือจางละ 3 หลอด รวม 9 หลอด (ให้สังเกตด้วยว่าไม่มีฟองอากาศอยู่ในหลอดดักแก๊ส) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เริ่มคัดหลอดที่เกิดแก๊สที่เวลา 24ชั่วโมง สำหรับหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้บ่มต่อไปอีก ให้ครบเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สนำไปอ่านค่าจากตาราง MPN ค่าที่ได้เป็น Presumptive coliforms รายงานผลเป็น MPN/g ตัวอย่าง

3.4.5.2.3.3 MPN - Completed test for *Escherichia coli*

ถ่ายเชื้อหลอดที่เกิดแก๊สใน LST ลงใน EC broth ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก EC broth ที่เกิดแก๊สมา Streak บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Levine's Eosin – Methylene Blue (L-EMB) agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. coli* บน L-EMB agar จะมีลักษณะสีม่วงหรือดำ ตรงกลางโคโลนีมีสีดำ อาจมีหรือไม่มีลักษณะมันวาวคล้ายโลหะ (Metallic sheen) เลือกโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าวมา Streak บน Plate count agar (PCA) Slant จำนวน 5 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป (Lactose test)

3.4.5.2.3.4 การทดสอบการสร้างแก๊สจากน้ำตาล Lactose (Lactose test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในหลอด LST นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ้าเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สอ่านผลเป็นบวกคือคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *E. coli*

3.4.5.2.4 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* spp. ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2016 (Chapter 5)

3.4.5.2.4.1 Pre-enrichment

ชั่งตัวอย่างแหนม 125 กรัม ใส่ในถุง Stomacher เติม Lactose broth (LB) 1,125 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่าง เป็นเวลา 2 นาที มัดปากถุงหลวม ๆแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที เขย่าถุงเบาๆ ให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน แล้ววัดค่าpH ให้อยู่ในช่วง 6.8 หากค่า pH ไม่อยู่ในช่วงที่กำหนดให้ปรับด้วย กรดหรือด่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปบ่มต่อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.5.2.4.2 Selective Enrichment

นำถุงตัวอย่างที่บ่มครบตามเวลาที่กำหนดเขย่าถุงเบาๆ ก่อนปิเปตตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อลงใน Tetrathionate broth (TT) 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส และดูดมา 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อลงใน Rappaport – vassiliadis broth (RV) 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.5.2.4.3 Selective plating

3.4.5.2.4.3.1 เมื่อบ่มครบตามกำหนดแล้ว ให้เขย่าเชื้อก่อนจะ streak เชื้อจากหลอด TT และ RV ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ Hektoen enteric agar (HE), Bismuth sulfite agar (BS) และ Xylose lysine desoxycholate agar (XLD) (BS ต้องเตรียมก่อนการ streak 1 วัน โดยเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะ streak) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พลิกให้จานอาหารเลี้ยงเชื้อด้านที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบน บ่มนาน 24 ชั่วโมง ในกรณีที่ไม่มีเชื้อขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ BS ให้บ่มต่อไปจนครบ 48 ชั่วโมง

3.4.5.2.4.3.2 ลักษณะ Typical colony ของ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีดังนี้

- HE : โคโลนีกลม สีเขียวน้ำเงิน จนถึงสีน้ำเงิน อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงมีสีเขียว แต่อาจพบโคโลนีขนาดใหญ่ที่มีจุดดำแวววาวตรงกลาง หรืออาจดำทั้งโคโลนี

- XLD : โคโลนีกลม สีชมพูใส อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลาง อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีชมพู แต่อาจพบโคโลนีขนาดใหญ่ที่มีจุดดำแวววาวตรงกลางหรืออาจดำทั้งโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- BS : โคโลนีกลม สีน้ำตาล , เทาหรือดำ อาจมี Metallic sheen หรือไม่มีก็ได้อาหารเลี้ยงเชื้อ รอบ ๆโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในช่วงแรกและเปลี่ยนเป็นสีดำ เมื่อบ่มนานขึ้น และอาจจะมีลักษณะบุ๋มตรงกลางที่เรียกว่า Halo effect

3.4.5.2.4.3.3 ลักษณะ Atypical colony ของ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีดังนี้

- HE และ XLD : โคโลนีกลม สีเหลือง อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลางโคโลนี

- BS : โคโลนีกลม สีเขียว อาหารเลี้ยงเชื้อรอบ ๆ โคโลนีอาจเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือไม่เปลี่ยนก็ได้

3.4.5.2.4.3.4 เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง หากมีเชื้อที่ให้ลักษณะ Typical colony บน HE หรือ XLD ให้ทำการเลือกมา 2 โคโลนี หรือมากกว่า กรณีที่ไม่มี Typical ให้เลือก Atypical colony มา 2โคโลนี หรือมากกว่า จากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมาทดสอบทาง Biochem ต่อไป ส่วน BS เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ถ้ายังไม่ได้ลักษณะของ Typical colony ให้บ่มเชื้อต่อไปอีก 24 ชั่วโมงก่อนเลือก Typical colony โดยเลือกมาจำนวน 2 โคโลนีหรือมากกว่า กรณีที่ไม่มี Typical ให้เลือก Atypical colony มา 2 โคโลนี หรือมากกว่า นำมาทดสอบทาง Biochem ต่อไป

3.4.5.2.4.4 Biochemical Screening โดย การทดสอบการใช้น้ำตาลใน Triple sugar iron agar (TSI)

นำเชื้อที่ให้ลักษณะ Typical colony หรือลักษณะ Atypical colony ตามต้องการมาทดสอบคุณสมบัติทาง Biochem โดยเขี่ยเชื้อจากจุดตรงกลางโคโลนีเดียวกัน และจะต้องเขี่ยเชื้อเพียงครั้งเดียวแล้วถ่ายลงอาหารทดสอบให้ครบชุด โดยใช้ Needle ถ่ายเชื้อลงใน TSI ทำการ Streak บน Slant และแทงลงในส่วนของ Butt ในลักษณะแนวดิ่งตรง ปิดฝาหลวม ๆ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา24 ชั่วโมง เชื้อ Typical colony ของ *Salmonella* spp. สามารถใช้ Glucose ได้เพียงอย่างเดียวจึงให้ผลใน TSI มีลักษณะเกิดแก๊ส และอาจจะสร้างหรือไม่สร้าง H_2S

3.4.5.2.4.5 การแยกเชื้อ *Salmonella* โดยใช้ Mac Conkey agar

ใช้ Needle เขี่ยเชื้อที่ทดสอบคุณสมบัติทาง Biochem จาก TSI ว่ามีลักษณะของเชื้อ *Salmonella* spp มาทดสอบบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey agar 1 เส้นจากนั้นใช้ Loop ทำการ Streak เชื้อบนผิวหน้าอาหารที่ใช้ Needle ขีดไว้ แล้วนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยพิจารณาโคโลนี Mac Conkey agar จะมีลักษณะของโคโลนีใสไม่มีสี สามารถมองทะลุผ่านได้ แสดงว่าพบเชื้อ *Salmonella* spp.ในตัวอย่างอาหาร 125 กรัม

3.4.5.2.5 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *Clostridium perfringen*s ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2001 (Chapter 16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.2.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม เติม Peptone dilution fluid (PDF) จำนวน 225 มิลลิลิตรปั่นตัวอย่างด้วยเครื่องตีปั่น ความเร็วรอบต่ำ เวลา 1 - 2 นาที จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ระดับการเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-6} โดยปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวด PDF 90 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจาง 10^{-2} เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วทั้งขวด เขย่า 90 มิลลิลิตร ส่วนที่ความเจือจาง10^{-3},10^{-4},10^{-5} และ 10^{-6} ให้เตรียมในลักษณะเดียวกัน แต่ใช้ตัวอย่างที่มีความเจือจางจากขวด 10^{-2},10^{-3},10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ

3.4.5.2.5.2 การทดสอบโดยวิธี Pour plate

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ SFP without egg yolk agar โดยเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 6 มิลลิลิตร ตั้งไว้ให้แข็งตัว ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 1 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ระดับความเจือจางละ 2 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ) เทอาหาร SFP without egg yolk (ซึ่งอุ่นไว้ใน Water bath อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส) ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการหมุนจานอาหารเลี่ยงเชื้อเบา ๆ ตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว หงายจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปใส่ใน Anaerobic jar บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะโคโลนี สีดำ ขนาด 2 -4 มิลลิเมตร มีโซนใสขาวรอบโคโลนี ช่วง 20-200 โคโลนี

3.4.5.2.5.3 Complete confirmation

Stap เชื้อบริสุทธิ์จาก Fluid thioglycollate medium culture ด้วย Loop ขนาด 2 มิลลิลิตร ปริมาณ 1 Loop ลงใน Lactose - gelatin media (ทำการล้าง Loop ลง beaker น้ำอุ่น ก่อนเผา Loop เพื่อป้องกันการกระเด็น) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลืองเนื่องจากเกิดแก๊ส ให้นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาอ่านผลการย่อย Gelatin หากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว อ่านผลการย่อย Gelatin เป็นบวก หากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเป็น Gel ให้บ่มต่อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบ Gelatin liquefaction หากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ผลการย่อย Gelatin เป็นบวก แสดงว่ามีเชื้อ *C. perfringens* นำเชื้อมาทดสอบด้วย Rapid Diagnostic Kits API ID32A โดยนำเชื้อจาก Thioglycollate broth มา Streak บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ SFP โดยไม่ต้องเททับ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน (ใน Anaerobic jar) ก่อนนำมาทดสอบด้วย API ID 32A รายงานผลปริมาณเชื้อ *C. perfringens* ในหน่วย CFU/g

3.4.5.2.6 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count; TVC)ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 0, 3 และ 7 วัน โดยใช้วิธีมาตรฐาน FDA BAM Online, 2001 (Chapter 3)

3.4.5.2.6.1 การเตรียมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งตัวอย่างแหนม 50 กรัม ใส่ในถุงใส่ตัวอย่าง เติม Butterfield,s phosphate - buffered dilution water (BF) 450 มิลลิลิตร ตีปั่นให้ตัวอย่างกระจายทั่วโดยใช้เครื่อง Stomacher เป็นเวลา 1นาที สารละลายตัวอย่างที่ได้ถือว่ามีความเจือจาง 10^{-1} (ตัวอย่างถูกเจือจาง 10 เท่า) เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้น 100, 1,000 และ 10,000 เท่า (นั่นคือตัวอย่างมีความเข้มข้น 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ) หรือระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยปิเปตตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มี BF 90 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจาง 10^{-2} เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งขวด เขย่า 25 ครั้ง เป็นวงกลม เส้นรอบวง 30 เซนติเมตร ภายในเวลา 7 วินาที ถ้าตั้งทิ้งไว้เกิน 3 นาที ให้เขย่าใหม่ในลักษณะเดิม ส่วนที่ความเจือจาง 10^{-3} และ 10^{-4} ก็เตรียมได้ในลักษณะเดียวกัน แต่ใช้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ

3.4.5.2.6.2 การทดสอบ

ปิเปตตัวอย่างความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นละ 2 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 15 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทำใน Laminar Flow วนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ตัวอย่างกระจายทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวนไปด้านขวา ด้านซ้าย ไปข้างหน้า และข้างหลัง ทิศทางละ 5 ครั้ง ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่าง จนกระทั่งเทจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย PCA ไม่ควรเกิน 15 นาที ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง กลับจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบนนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

3.4.5.2.6.3 การนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากตู้บ่มเชื้อเมื่อครบกำหนดเวลา นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ทั้งหมด และ Dilution ที่นับ คำนวณและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g) วิธีคำนวณดังรายละเอียดดังนี้

3.4.5.2.6.3.1 ในกรณีที่ทุกจานอาหารเลี้ยงเชื้อมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 25 โคโลนี ให้นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารลี้ยงเชื้อที่มีระดับการเจือจางน้อยที่สุดแล้วบันทึกจำนวนโคโลนี และรายงานผลเป็น < 25 คูณระดับการเจือจางน้อยที่สุด

3.4.5.2.6.3.2 กรณีที่ทุกจานอาหารเลี้ยงเชื้อมีจำนวนโคโลนีเกินกว่า 250 โคโลนีในทุก Dilution ให้บันทึกเป็น Too numerous to count (TNTC) หากนับได้ ให้นำ Dilution ที่เจือจางมากที่สุดที่พอจะนับได้มานับ โดยแบ่งจานอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็นหลายส่วน เลือกนับโคโลนีจาก 1 ส่วน จากนั้นคูณด้วยจำนวนส่วนที่แบ่ง จะได้เป็นจำนวนโคโลนีทั้งหมดบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น การรายงานให้นำจำนวนโคโลนีที่นับได้คูณระดับการเจือจางน้อยที่สุด และให้นำตัวอย่างที่ตัดสำรองไว้มาทำซ้ำเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่งโดยเพิ่มระดับการเจือจางให้เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.2.6.3.3 กรณีที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในทุก Dilution ให้รายงานเป็นน้อยกว่า 25 คูณจำนวน Dilution ต่ำสุด

3.4.5.2.6.3.4 กรณีที่การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะ Spread ซึ่งมี 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะแรกโคโลนีอยู่ติดกันเป็นสายไม่สามารถแยกนับเป็นโคโลนีได้ ลักษณะที่ 2 เป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ เจริญอยู่ระหว่างวุ้นและก้นจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะที่ 3 เป็นแผ่นฟิล์มเจริญที่ขอบหรือผิวหน้าวุ้น ถ้าพบว่าการ Spread เกิดขึ้นมาก (ไม่ว่าจะเป็นการ Spread ลักษณะใดก็ตาม) จนทำให้เกิดกรณีดังนี้

A) การ Spread นั้นครอบคลุมพื้นที่มากกว่า 50% ของพื้นที่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ซึ่งรวมถึงพื้นที่ทั้งหมดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อด้วย)

B) พื้นที่ที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อ (เชื้อถูกยับยั้งการเจริญ) มีมากกว่า 25% ของพื้นที่จานอาหารเลี้ยงเชื้อให้รายงานว่าเป็น Spreader ถ้าจำเป็นต้องนับโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการ Spread โดยที่การ Spread นั้นไม่ได้ทำให้เกิดกรณี A หรือ B ดังกล่าวข้างต้น ให้นับแต่ละลักษณะของการ Spread ทั้ง 3 เป็น 1 แหล่ง สำหรับการ Spread ลักษณะที่ 1 ถ้าพบเพียง 1 สาย ให้นับสายนั้นเป็น 1 โคโลนี ถ้าพบว่าแต่ละสายเกิดขึ้นจากแหล่งกำเนิดที่แยกจากกัน ให้นับแต่ละแหล่งกำเนิดเป็น 1 โคโลนีโดยห้ามนับแต่ละโคโลนีในสายเป็น 1 โคโลนี สำหรับการ Spread ลักษณะที่ 2 และ 3 โคโลนีมักจะแยกเป็นแต่ละโคโลนีอยู่แล้ว ซึ่งสามารถนับได้ตามปกติ นำผลการนับโคโลนีที่มีการ Spread และโคโลนีปกติมารวมกันเพื่อคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด

3.4.5.2.6.3.5 หลังจากบ่มตามระยะเวลาที่กำหนด ถ้าไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ภายในเวลาที่กำหนด ควรเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส) แต่ไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมง ในการรายงานผลของตัวอย่าง จะต้องตรวจสอบผลการทำ Control ควบคู่กันไปด้วย

3.4.5.2.6.3.6 การคำนวณ

- กรณีทั่ว ๆ ไป พบโคโลนีบนเพลท อยู่ในช่วง 25 - 250 โคโลนี เลือกระดับการเจือจางติดกันเพียง 2 ระดับ ให้คำนวณตามสูตร

$$\text{TVC} = \sum C / [[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d]$$

เมื่อกำหนดให้ :

$\sum C$ คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถนับจำนวนได้

n_1 คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

n_2 คือ จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางมากขึ้น

d คือ ระดับการเจือจางของสารละลายตัวแรก (n_1)

- กรณีที่พบว่าโคโลนีบนเพลทอยู่ในช่วง 25 - 250 โคโลนี เพียง 1 ระดับการเจือจาง ให้คำนวณตามสูตร

$$TVC = \sum C / (n \times d)$$

เมื่อกำหนดให้ :

$\sum C$ คือ ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากที่สามารถนับจำนวนได้

n คือ จำนวนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่นับจำนวนโคโลนีได้

d คือ ระดับการเจือจางของสารละลายที่นับจำนวนโคโลนีได้ (n)

3.4.5.2.6.3.6 การรายงานผล

ให้รายงานเฉพาะตัวเลข 2 ลำดับแรก ดังนี้

- ถ้าตัวเลขในลำดับที่ 3 เป็นเลข 6, 7, 8 หรือ 9 ให้เพิ่มตัวเลขในลำดับที่ 2 ขึ้น

- ถ้าตัวเลขในลำดับที่ 3 เป็นเลข 1, 2, 3 หรือ 4 ให้ตัดตัวเลขในลำดับที่ 3 ออก

- ถ้าตัวเลขในลำดับที่ 3 เป็นเลข 5 ให้พิจารณาดังนี้ ถ้าตัวเลขในลำดับที่ 2 เป็นเลขคี่ ให้เพิ่มตัวเลขในลำดับที่ 2 ขึ้น ถ้าหากตัวเลขในลำดับที่ 2 เป็นเลขคู่ ให้ตัดตัวเลขในลำดับที่ 2 ออก

3.4.6 วิเคราะห์ผลเชิงสถิติ

ใช้โปรแกรม SPSS Version 17 วิเคราะห์ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพ และสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ผลการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD; Completely Randomized Design) โดยใช้ One-way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผล

ผลการศึกษาของงานวิจัยนี้แสดงถึงสมบัติทางกายภาพ และความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ระหว่างฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา และฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน รวมไปถึงการนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ที่คัดเลือกจากชนิดและระดับความเข้มข้นที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้การห่อผลิตภัณฑ์แหนม

4.1 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา และฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

เตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก จากนั้นนำฟิล์มบริโภคได้ไปศึกษาเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา ความต้านทานแรงดึง อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ อัตราการซึมผ่านของออกซิเจน และลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม

4.1.1 ความหนาของฟิล์ม

ผลการทดสอบความหนาของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ผลจากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมีค่าเพิ่มขึ้น แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้จะมีความหนาเพิ่มขึ้น โดยพบว่าค่าความหนาของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก มีความหนามากที่สุด รองลงมาคือฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 2 และ 3 % โดยน้ำหนัก และฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนัก มีความหนาน้อยที่สุด โดยฟิล์มควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยมีความหนาเพิ่มขึ้น สำหรับค่าความหนาของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนจะเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุม (ตารางที่ 4.2) จะเห็นได้ว่าความหนาของฟิล์มแปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย นั่นคือความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย Film formimg solution (Cuq และคณะ, 1997) อีกทั้งสารละลายที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความข้นหนืดมาก หรือปริมาณสารมากเป็นผลให้ฟิล์มที่ได้มีความหนามากขึ้น (Norziah และคณะ, 2001) เช่นเดียวกับ Han และ Krochta (1999) ระบุว่า ความหนาของฟิล์มขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งในสารละลายฟิล์ม ซึ่งน้ำมันหอมระเหยทำให้โครงสร้างของฟิล์มเกาะกันอย่างหลวม ๆ ส่งผลให้ความหนาของฟิล์มเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ความหนาของฟิล์มยังสัมพันธ์ความสามารถในการต้านทานแรงดึง เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยทำให้แรงยึดเหนียวระหว่างพอลิเมอร์ลดลง (Du และคณะ, 2011)

4.1.2 ค่าความต้านทานแรงดึง (Tensile strength; TS) ของฟิล์ม

ผลการทดสอบค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 โดยค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยผสมน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก มีค่าความต้านทานแรงดึงต่ำที่สุด และที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 1 % โดยน้ำหนัก มีค่าความต้านทานแรงดึงสูงที่สุด เช่นเดียวกับค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยผสมน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เตรียมจากน้ำมันหอมอบเชยจีนที่ระดับความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก มีค่าความต้านทานแรงดึงต่ำที่สุด และที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 1 % โดยน้ำหนัก มีค่าความต้านทานแรงดึงสูงที่สุด จะเห็นได้ว่าค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มจะแปรผกผันกับระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง และปรากฏในโครงสร้างของฟิล์มเป็นหยดน้ำมัน ทำให้ฟิล์มตัวอย่างมีโครงสร้างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน หรือทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอในโครงสร้างร่างแหของพอลิเมอร์แสดงให้เห็นดังภาพที่ 4.1 ความไม่ต่อเนื่องกันของพอลิเมอร์ ทำให้แรงยึดเหนียวระหว่างพอลิเมอร์ลดลง หรือเกิดจุดแตกหักมากขึ้น จึงทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงลดลง (Fabra และคณะ, 2008; Jim’nez และคณะ, 2012; Bravin และคณะ, 2004)

4.1.3 ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำ (Water vapor permeability; WVP) ของฟิล์ม

ผลการทดสอบความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยผสมน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยที่ไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย (ฟิล์มควบคุม) พบว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในทุกระดับความเข้มข้นมีค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำสูงกว่าฟิล์มควบคุม (ตารางที่ 4.1) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จะเห็นได้การเติมน้ำมันหอมระเหยจะทำให้ค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มแป้งกล้วยเปลี่ยนแปลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยทำให้โครงสร้างฟิล์มไม่สม่ำเสมอ และเกิดเป็นรู(ภาพที่ 4.1) จึงส่งผลให้ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำเพิ่มมากขึ้น (Atares และ Chiralt, 2016) ดังนั้นเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำร่วมกับพื้นผิวของฟิล์มที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) ดังแสดงในภาพที่ 4.1 พบว่าบริเวณพื้นผิวของฟิล์มที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีความขรุขระ ไม่สม่ำเสมอ และมีรูคล้ายฟองน้ำจากหยดน้ำมันหอมระเหยที่สูญหายไปในขณะทำแห้งเพื่อขึ้นรูปฟิล์ม โดย Krochta และคณะ (1994) ระบุว่าโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยอยู่ในสถานะของเหลวสามารถเคลื่อนที่ได้ทำให้สมบัติในการป้องกันการแพร่ผ่านของฟิล์มลดลง นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยยังลดแรงระหว่างโมเลกุลของสารละลายฟิล์ม ส่งผลให้โครงสร้างของฟิล์มหลวม จึงเพิ่มความสามารถในการไหลผ่านได้ในฟิล์ม (Shellhammer และ Krochta, 1997)

4.1.4 ความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจน (Oxygen permeability; OP) ในฟิล์ม

ผลการทดสอบความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ผลจากการทดลองพบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยลงในฟิล์มแป้งกล้วย จะทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์มเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก เมื่อพิจารณาร่วมกับฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยที่ไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย (ฟิล์มควบคุม) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 4 % โดยน้ำหนัก มีค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนสูงสุด ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้นของ 2 และ 3 % โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก พบว่ามีค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนสูงกว่าฟิล์มควบคุม ในทางเดียวกับค่าความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยผสมน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก มีค่าสูงกว่าฟิล์มควบคุม แต่ฟิล์มควบคุมมีค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนไม่แตกต่างกับฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนัก ฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก มีค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนสูงสุด รองลงมาคือฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 3 และ 2 % โดยน้ำหนัก จะเห็นได้ว่าค่าความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์มจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากโครงสร้างของฟิล์มมีพันธะไฮโดรเจนจำนวนมาก ซึ่งแสดงถึงส่วนที่ชอบน้ำในฟิล์ม โดยส่วนที่ชอบน้ำจะเป็นตัวกีดขวางส่วนที่ไม่มีขั้ว เช่น ออกซิเจน จึงทำให้เมื่อเพิ่มความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ส่งผลให้ความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนในฟิล์มเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ หรือไม่มีขั้ว (Miller และ Krochta, 1997) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kester และ Fenneme (1986) และ MCHugh และ Krochta (1994) ที่ระบุว่าเมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ส่งผลให้ความสามารถในการซึมผ่านออกซิเจนในฟิล์มเพิ่มขึ้น เนื่องจากออกซิเจนจะซึมผ่านส่วนที่ไม่มีขั้วของฟิล์ม

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา (%โดยน้ำหนัก)	ความหนา (mm)	ความสามารถในการต้านทานแรงดึง (MPa)	การซึมผ่านไอน้ำ ($g.mm/m^2.hkPa$)	การซึมผ่านออกซิเจน ($cm^3.\mu m/m^2.day.kPa$)
0	0.1012 ± 0.0098^c	2.21 ± 0.07^a	1.334 ± 0.098^b	1.51 ± 0.03^c
1	0.1044 ± 0.0254^c	2.20 ± 0.22^a	1.862 ± 0.263^a	1.78 ± 0.01^b
2	0.1163 ± 0.0226^b	1.29 ± 0.0^b	2.007 ± 0.156^a	1.84 ± 0.03^{ab}
3	0.1224 ± 0.0193^b	0.78 ± 0.02^c	1.763 ± 0.202^a	1.86 ± 0.00^a
4	0.1328 ± 0.0195^a	0.56 ± 0.06^d	1.633 ± 0.149^a	1.87 ± 0.05^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างของสมบัติทางกายภาพนั้น ๆ ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 สมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (% โดยน้ำหนัก)	ความหนา (mm)	ความสามารถในการต้านทานแรงดึง (MPa)	การซึมผ่านไอน้ำ (g.mm/m^2.hkPa)	การซึมผ่านออกซิเจน (cm^3.µm/m^2.day.kPa)
0	0.1012 ± 0.0098^b	2.21 ± 0.07^a	1.334 ± 0.098^d	1.51 ± 0.03^c
1	0.1054 ± 0.0172^b	1.68 ± 0.08^b	2.063 ± 0.000^c	1.61 ± 0.07^c
2	0.1142 ± 0.0160^a	1.08 ± 0.07^c	2.308 ± 0.012^{ab}	1.70 ± 0.01^b
3	0.1166 ± 0.0161^a	0.81 ± 0.11^d	2.380 ± 0.050^a	1.75 ± 0.01^b
4	0.1204 ± 0.0202^a	0.52 ± 0.02^e	2.219 ± 0.086^b	2.73 ± 0.00^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างของสมบัติทางกายภาพนั้น ๆ ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p \leq 0.05$)

4.1.5 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม

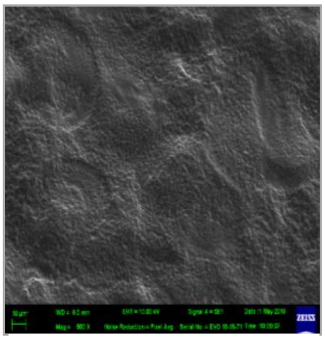
โครงสร้างพื้นผิวของฟิล์มมีผลต่อสมบัติการซึมผ่าน และสมบัติเชิงกลโดยองค์ประกอบภายในฟิล์มมีการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกันในระหว่างการทำแห้ง ซึ่งขึ้นกับธรรมชาติของไฮโดรคอลลอยด์และความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบภายในฟิล์ม (Jim'nez และคณะ, 2010)

ลักษณะพื้นผิวฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน และฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยที่ไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย (ฟิล์มควบคุม) เมื่อส่องโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) แสดงดังภาพที่ 4.1 พบว่าพื้นผิวฟิล์มมีความขรุขระ ไม่เรียบ อาจเนื่องมาจากในระหว่างขั้นตอนการเตรียมฟิล์มมีการทำให้สตาร์ชผ่านกระบวนการเจลาติไนเซชัน ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชแตกออก สายโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินแพร่ออกจากเม็ดสตาร์ช จากนั้นเมื่อมีการผ่านกระบวนการโฮโมจิไนเซชัน ซึ่งการใช้ความดัน และแรงเฉือนสูงจะทำลายพันธะโคเวเลนต์ภายในสายพอลิเมอร์ (Floury และคณะ, 2002) พันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเป็นพันธะโคเวเลนต์ที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของกลูโคสของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน จึงถูกทำลายทำให้สายโมเลกุลของอะไมโลส และอะไมโลเพกตินสั้นลง ทำให้เกิดปรากฏการณ์รีโทรกราเดชันได้เร็วขึ้น เกิดการตกผลึกใหม่ของอะไมโลสในระหว่างการทำแห้งฟิล์ม โดยการพันเกลียวของอะไมโลสจะเกิดขึ้นที่

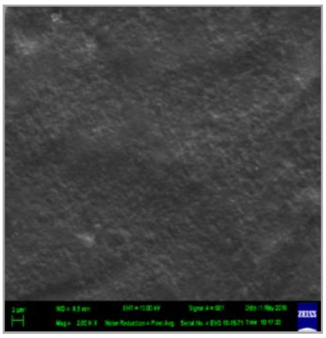
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณผิวหน้าของฟิล์มในขณะที่มีการระเหยและเย็นตัวอย่างรวดเร็ว เกลียวอะไมโลสนี้จะทำให้เกิดผลึกที่ผิวหน้าของฟิล์มมากกว่าภายในฟิล์ม ซึ่งมีการลดลงของอุณหภูมิและปริมาณน้ำช้ากว่าพื้นผิวฟิล์ม (Jime'nez และคณะ, 2012) จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มบริโภค จำนวนรูพรุนบนพื้นผิวฟิล์มจะเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยรูพรุนนี้เกิดจากหยดน้ำมันที่ถูกกักอยู่ภายในเนื้อเมทริกซ์ เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหย พบว่าปริมาณรูพรุนที่กระจายอยู่ในเนื้อเมทริกซ์เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เมทริกซ์มีความต่อเนื่องลดลง (Shen และ Kamdem, 2015) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Taqi และคณะ (2014) ระบุว่าเมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยปริมาณมากขึ้น ส่งผลให้โครงสร้างของเมทริกซ์เกิดรูพรุนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนมากขึ้น ทำให้เกิดจุดรวมแรงเค้นเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การศึกษาของ McClements (2005) ระบุว่าสารละลายฟิล์มอยู่ในรูปอิมัลชั่นชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil – in – water emulsion) จำนวนหยดน้ำมันเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เมื่อเข้าสู่กระบวนการทำแห้งฟิล์มเพื่อขึ้นรูป น้ำมันหอมระเหยจะระเหยออก เกิดเป็นรูพรุนขึ้นบริเวณผิวหน้าของฟิล์ม ซึ่งในงานวิจัยของ Ahmad และคณะ (2012) และ Sanchez – Gonzalez และคณะ (2011) ก็ให้เหตุผลไว้เช่นเดียวกัน

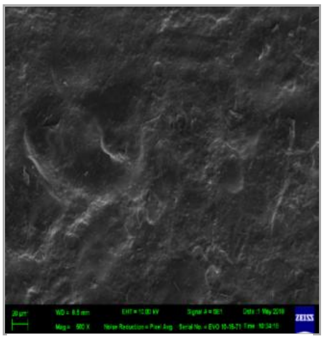
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



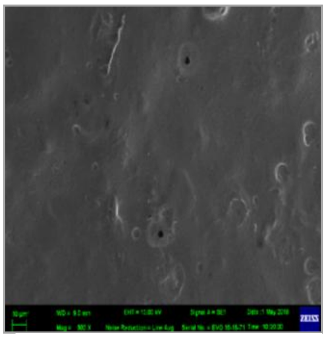
ควบคุม



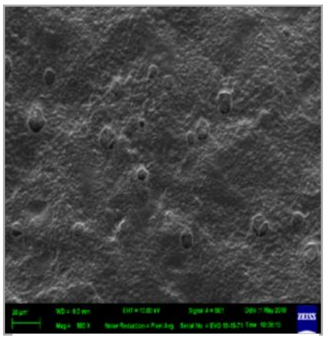
1 % ใบกะเพรา



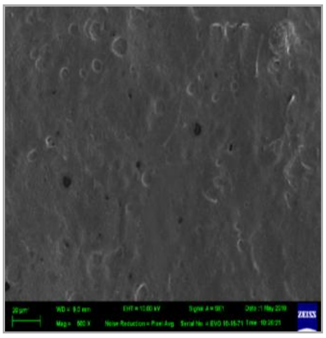
1 % อบเชยจีน



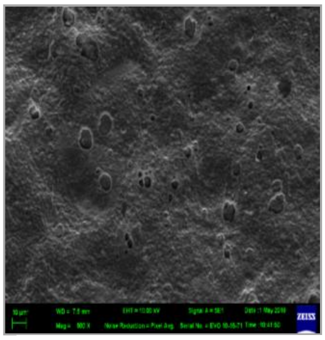
2 % ใบกะเพรา



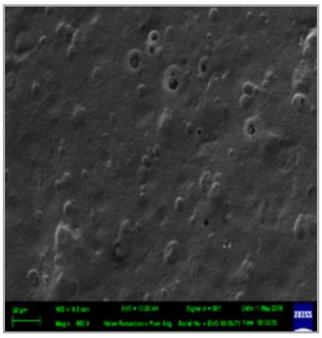
2 % อบเชยจีน



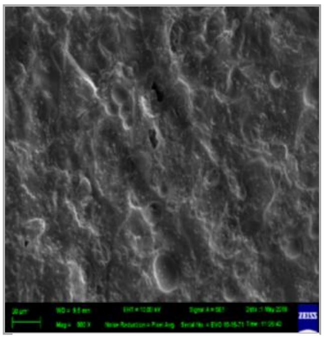
3 % ใบกะเพรา



3 % อบเชยจีน



4 % ใบกะเพรา



4 % อบเชยจีน

ภาพที่ 4.1 พื้นผิวฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 500X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย

เตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา และน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก นำไปทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* และ *Sal.* Anatum ได้ผลทดลองดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 โดย Ponce และคณะ (2003) ได้กำหนดความไวต่อสารละลายยาต้านจุลินทรีย์จำแนกตามเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส ได้แก่ สารไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Not sensitive) จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 8 มิลลิเมตร สารมีความไว (Sensitive) ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9-14 มิลลิเมตร สารมีความไวสูง (Very sensitive) ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15-19 มิลลิเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางที่มีความไวสูงมาก (Extremely sensitive) ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จะมีขนาด 20 มิลลิเมตรขึ้นไป

ตารางที่ 4.3 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา (% โดยน้ำหนัก)	ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิลิตร)			
	S. aureus	*B. cereus*	*E. coli*	*Sal.* Anatum
0	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
1	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
2	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
3	10.3 ± 0.6^{a}	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
4	10.7 ± 0.6^{a}	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างของค่าความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.3 พบว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 3 % และ 4 % โดยน้ำหนัก ที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้เฉพาะ *S. aureus* ที่ระดับไวต่อการต้านจุลินทรีย์ โดยมีค่าความยาววงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย 10.3 และ 10.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. cereus, *E. coli* และ *Sal.* Anatum ได้ ส่วนฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1 และ 2 % โดยน้ำหนัก ของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา ไม่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้

ตารางที่ 4.4 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (% โดยน้ำหนัก)	ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิลิตร)			
	S. aureus	*B. cereus*	*E. coli*	*Sal.* Anatum
0	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
1	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส	ไม่พบวงใส
2	19.3 ± 0.6^{c}	22.3 ± 1.5^{b}	11.0 ± 1.0^{c}	15.7 ± 0.6^{b}
3	27.3 ± 1.2^{b}	20.0 ± 2.0^{b}	23.3 ± 0.6^{b}	20.7 ± 1.2^{a}
4	35.3 ± 0.6^{a}	37.7 ± 1.2^{a}	26.0 ± 1.7^{a}	21.7 ± 0.6^{a}

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างของค่าความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p \leq 0.05$)

ผลการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนแสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนัก ก็ไม่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้เช่นกัน เนื่องจากฟิล์มบริโภคได้ที่ผสมสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชั่นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าเมื่อผสมลงไปในฟิล์ม ทำให้เกิดการสูญเสียของสารดังกล่าวในระหว่างกระบวนการขึ้นรูปฟิล์ม หรือกระบวนการทำแห้ง (Zivanovic และคณะ, 2005) โดยเฉพาะในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยที่ผสมลงในฟิล์ม มักเกิดการระเหยระหว่างกระบวนการอบแห้ง เนื่องจากอุณหภูมิในการอบแห้ง (Ponce และคณะ, 2003) ซึ่งแก้ไขได้ 2 วิธี คือการเพิ่มความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ในแผ่นฟิล์ม หรือเพิ่มความหนาของฟิล์มเพื่อให้มีความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มทดสอบมากขึ้น (Kim และคณะ, 2002) ส่วนฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 2, 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้ โดยฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 2, 3 และ 4% โดยน้ำหนัก มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสในการต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *E. coli* ที่ระดับไวสูงมาก รองลงมาคือฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 2 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ที่ระดับไวสูง สำหรับค่าความสามารถในการต้านเชื้อ *B. cereus* พบว่าฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 2 และ 3 % โดยน้ำหนัก มีค่าวงใสในการต้านเชื้อ *B. cereus* ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *B. cereus* ได้ที่ระดับไวสูง ส่วนที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 4 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *B. cereus* ได้ที่ระดับไวสูงมาก ส่วนค่าความสามารถในการต้านเชื้อ *Sal.* Anatum พบว่าฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 3 และ 4 % โดยน้ำหนัก มีความสามารถในการต้านเชื้อ *Sal.* Anatum ไม่แตกต่างกัน โดยสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Sal.* Anatum ได้ที่ระดับไวสูงมาก รองลงมาคือฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 2 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Sal.* Anatum ได้ในระดับไวสูง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้ดีที่สุด เนื่องจากมีความสารมารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ตัวได้ในระดับไวสูงมาก โดยจะเห็นได้ว่าที่ชนิดจุลินทรีย์เดียวกัน ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่เพิ่มขึ้นแปรผันตรงกับค่าความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสในการต้านเชื้อ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น ตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้น ย่อมส่งผลให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมากขึ้น แสดงถึงการเพิ่มสารต้านจุลินทรีย์ หรือมีการกระจายตัวของสารต้านจุลินทรีย์ที่ดี (Seydim และ Sarikus, 2006) โดย Pranoto และคณะ (2005) และ Cooksey (2001) ได้อธิบายการทำงานร่วมกันของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มว่า เมื่อสารต้านจุลินทรีย์ผสมร่วมกับสารละลายพอลิเมอร์ โดยสายพอลิเมอร์เกิดการปฏิสัมพันธ์กันจนเกิด cross-link ระหว่างสายพอลิเมอร์ จากนั้นสารต้านจุลินทรีย์ถูกตรึงอยู่ในช่องว่างระหว่างโครงร่างแห จึงค่อย ๆ ปลดปล่อยออกมายังผิวหน้าอาหาร สารต้านจุลินทรีย์จึงยังคงความเข้มข้นอยู่ได้ที่ผิวหน้าอาหาร แม้เวลาผ่านไป เป็นผลให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้นานขึ้น และเมื่อพิจารณาเพิ่มเติมจะเห็นได้ว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนมีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์แกรมลบได้แก่ *E. coli* และ *Sal.* Anatum เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างของผนังเซลล์ซับซ้อนกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ถึงแม้แกรมบวกมี Peptidoglycan ที่หนากว่า แต่ไม่มี Lipopolysaccharide ที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ Outer membrane ที่ล้อมรอบชั้น Peptidoglycan เหมือนกับแบคทีเรียแกรมลบ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สามารถสัมผัสโดยตรงกับน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดที่มีส่วนประกอบเป็น Hydrophobic ได้โดยตรง ส่งผลให้ถูกน้ำมันหอมระเหยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่า (Kalemba และ Kunicka, 2003) เช่นเดียวกับ Hossein และคณะ (2009) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abdollahi และคณะ (2012) ระบุว่า เกิดจากความแตกต่างของผนังเซลล์แบคทีเรีย โดยแบคทีเรียแกรมบวกผนังเซลล์มีโครงสร้างหลักคือ Peptidoglycan และกรด Teichoic ซึ่งผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกไม่สามารถเลือกการผ่านเข้าออกของสารได้ ส่วนแบคทีเรียแกรมลบผนังเซลล์จะมีโครงสร้างของ Peptidoglycan บางกว่าแกรมบวกแต่มีความซับซ้อนมาก และยังมีชั้นของ Lipopolysaccharide ทำหน้าที่เพิ่มความแข็งแรงและพบโปรตีนอีกหลายชนิดอยู่บนชั้น Peptidoglycan โดยโครงสร้างที่มีความซับซ้อนของแบคทีเรียแกรมลบ นำไปสู่การลดลงของประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนและทนทานต่อสารเคมีมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

นอกจากนี้ฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้ดีกว่าฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhara และ Tripathi (2013) พบว่า Cinnamaldehyde ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า Eugenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา เนื่องจากความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (MIC; Minimal inhibitory concentration) ของ Cinnamaldehyde มีค่าอยู่ในช่วง 122-245 μg/ml ส่วนความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ของ Eugenol มีค่าอยู่ในช่วง 249-999 μg/ml โดย Cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 100 % มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง 41-50 mm แต่ Eugenol ที่ความเข้มข้น 100 % มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง 11-20 mm เนื่องจากโครงสร้างของ Cinnamaldehyde มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำมากกว่า Eugenol

4.3 การนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ที่ชนิดและความเข้มข้นซึ่งมีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ในการผลิตแหนมโดยวิธีการดั้งเดิม

จากผลการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* และ *Sal.* Anatum ได้ จึงเลือกมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นในของแหนมห่อใบตอง โดยผลิตแหนมแล้วห่อด้วยฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนัก (แหนมห่อใบตองทดสอบ) จากนั้นห่อทับด้วยใบตอง โดยทดสอบปริมาณ Total viable count (TVC), *Salmonella* spp., *C. perfringens*, LAB, *S. aureus* และ *E. coli* ที่อายุการเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รักษา 0, 3 และ 7 วัน ในแหนมห่อใบตองควบคุม (แหนมสูตรดั้งเดิม) และแหนมห่อใบตองทดสอบ แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในแหนมห่อใบตองควบคุม และแหนมห่อใบตองทดสอบ ที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน

จุลินทรีย์ที่ทำการตรวจวิเคราะห์	อายุแหนมห่อใบตองควบคุม			อายุแหนมห่อใบตองทดสอบ			มาตรฐานผลิตภัณฑ์แหนม (มผช. 145-2546)
	0 วัน	3 วัน	7 วัน	0 วัน	3 วัน	7 วัน	
TVC (CFU/g)	1.2×10^{7}	1.4×10^{9}	6.6×10^{8}	1.1×10^{6}	3.9×10^{9}	2.8×10^{8}	-
Salmonella spp. (Per 25 g)	พบ	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบในตัวอย่าง 25 g.
C. perfringens (CFU/g)	< 10	< 10	25	< 10	< 10	< 10	ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 g.
LAB (CFU/g)	2.3×10^{6}	7.2×10^{9}	2.8×10^{8}	1.8×10^{7}	6.4×10^{10}	7.5×10^{9}	-
S. aureus (CFU/g)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 g.
E. coli (MPN/g)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	พบน้อยกว่า 3 MPN/g

จากตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณ LAB ในแหนมห่อใบตองทดสอบมีค่ามากกว่าในแหนมห่อใบตองควบคุมถึง 1 log cycle ที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน อาจเนื่องมาจากแหนมห่อใบตองที่หุ้มด้วยฟิล์มจากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 4 % เป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นใน ได้รับการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนมากกว่าแหนมห่อใบตองสูตรต้นตำรับ จึงทำให้ LAB เจริญเติบโตได้ดีกว่า เนื่องจาก LAB เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในสภาวะปราศจากออกซิเจน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count; TVC) ในแหนมห่อใบตองทดสอบและแหนมห่อใบตองควบคุมมีปริมาณสูงกว่าเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำหนดให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบได้ในอาหารปรุงสำเร็จต้องน้อยกว่า $1x10^6$ CFU/g ทั้งนี้ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ TVC มีค่าไปในทางเดียวกับ LAB ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Visessanguan และคณะ (2006) อาจเนื่องจาก TVC เป็นการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ ซึ่ง LAB จัดเป็นแบคทีเรียที่ตรวจพบได้ใน TVC สำหรับมาตรฐานผลิตภัณฑ์แหนม (มผช. 145-2546) พบว่า *Salmonella* spp. ถูกตรวจพบในแหนมห่อใบตองควบคุมอายุ 0 และ 3 วัน อาจเกิดการปนเปื้อนจากวัตถุดิบเนื้อหมูดิบที่นำมาผลิตแหนม และมีปริมาณ *C. perfringens* ในแหนมห่อใบตองควบคุมอายุ 7 วันเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด อาจเนื่องมาจาก *C. perfringens* เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่ใช้ในการผลิตแหนม กล่าวคือสภาวะปราศจากออกซิเจน ส่วนแหนมห่อใบตองทดสอบมีผลการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Salmonella* spp., *C. perfringens*, *S. aureus* และ *E. coli* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานแหนม (มผช. 145-2546) เนื่องจากผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม, *E. coli* พบน้อยกว่า 3 MPN/g, *C. perfringens* และ *S. aurues* ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม ที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการพัฒนาแผ่นฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน โดยการทดสอบสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน พบว่าความหนา ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และค่าความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยแปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน แต่ค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยแปรผกผันกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา หรือน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะพื้นผิวของฟิล์มที่ใช้ Scanning electron microscope (SEM) ในการทดสอบ ซึ่งพบว่าพื้นผิวของฟิล์มที่ผลิตได้มีลักษณะขรุขระ และเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ อาจเนื่องจากการเติมน้ำมันหอมระเหยเข้าไปในสารละลายฟิล์มในลักษณะอิมัลชันน้ำมันในน้ำ เมื่อทำการขึ้นรูปฟิล์มน้ำมันหอมระเหยบางส่วนระเหยกลายเป็นไอ ระหว่างการขึ้นรูปฟิล์มเกิดพื้นผิวคล้ายฟองน้ำขึ้นในฟิล์ม และส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพได้แก่ ค่าความต้านทานแรงดึง ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และค่าความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น แต่มีค่าความต้านทานแรงดึงที่ลดลง ผลจากการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* และ *Sal.* Anatum พบว่าฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 4 % มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดได้ดีที่สุด มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในระดับไวสูงมาก (Extremely sensitive) นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มบริโภคได้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus* และ *B. cereus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Sal.* Anatum) จึงนำฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน 4 % ซึ่งเป็นสูตรที่ดีที่สุดในด้านการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ชั้นในของผลิตภัณฑ์แหนมห่อใบตอง พบว่ามีปริมาณ LAB สูงกว่าแหนมห่อใบตองสูตรต้นตำรับถึง 1 log cycle เนื่องจากมีการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำกว่า และมีผลการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *S. aureus* และ *E. coli* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานแหนม (มผช. 145 - 2546) เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม *E. coli* พบน้อยกว่า 3 MPN/g *C. perfringens* และ *S. aurues* ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม ที่อายุการเก็บรักษา 0, 3 และ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จุดเด่นของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ได้แก่

5.2.1.1 ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติ จึงมั่นใจได้ว่าฟิล์มบริโภคได้ที่ผลิตขึ้นปราศจากอันตรายทางเคมี

5.2.1.2 ต้นทุนที่ใช้ในการผลิตฟิล์มต่ำ

5.2.1.3 เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากบริโภคได้ หรือหากเลือกที่จะไม่บริโภคก็สามารถย่อยสลายได้ง่าย

5.2.2 ข้อจำกัดในการใช้งานของฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน ได้แก่

5.2.2.1 ลักษณะพื้นผิวที่ขรุขระของฟิล์ม ซึ่งสามารถแก้ไขโดยใช้เทคโนโลยีเข้าช่วย เช่น ใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์แบบสุญญากาศ เพื่อลดขนาดโมโลกุลของสารละลายฟิล์ม

5.2.2.2 กลิ่นรสเฉพาะของฟิล์ม ซึ่งเกิดจากน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราและน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนทำให้ใช้ได้ในผลิตภัณฑ์จำกัดเฉพาะอาหารคาว เช่น แหนม หมูยอ ไส้กรอกอีสาน เนื้อสัตว์ต่าง ๆ เป็นต้น

5.2.3 ผลิตภัณฑ์ฟิล์มบริโภคได้จากแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย สามารถนำไปต่อยอดใช้กับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และช่วยส่งเสริมกลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์อาหารได้ เช่น น้ำมันหอมเมล็ดพริกไทยนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์หมูยอ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทย และแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. 2551. คู่มือการใช้สมุนไพรไทย-จีน. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2543. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. กระทรวงสาธารณสุข. นนทบุรี.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2546. ประมวลผลงานวิจัยด้านพิษวิทยา ของสถาบันวิจัยสมุนไพร. เล่มที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์การศาสนา.

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ. 2555. ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. ปีที่ 10: 12-22.

นงนุช อุตคุด. 2555. ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยบางชนิด วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปทุม อรุณวัชรินทร์, อาภากร สุภาพิพัฒน์ และ จิตศิริ ราชตนะพันธุ์. 2555. การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย. ปริญญานิพนธ์. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, พัชรี กัมมารเจษฎากุล และ อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2559. ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. วารสาร มฉก.วิชาการ. 19: 35-48.

วชิรญา จัตตุพร, อัครัช รอดคลองตัน และ ภคมน จิตประเสริฐ. 2557. กิจกรรมการต้านแบคทีเรียก่อโรคในไก่ และความคงตัวต่อความร้อนของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา. ปริญญา นิพนธ์. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิริเพ็ญ จริเกษม, ศิรินันท์ ทับทิมเลิศ, ธัญวรัตน์ กาจสงคราม, อุบล ฤกษ์อ่ำ และ จรัส ทิสยากร. 2548. น้ำมันหอมระเหยไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์แหนม (มผช.145-2546). กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2553. มาตรฐานถุงพลาสติกสำหรับบรรจุอาหาร เลขที่ 1027-2553. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร.

Abdollahi, M., Rezaei, M. and Farzi, G. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. International Journal of Food Science and Technology. 47: 847-853.

Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. and Agustini, T.W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids. 28: 189-199.

ASTM. 1992. Annual Book of American Standard Testing Method. Standard test method for oxygen gas transmission rate of thin plastic sheeting D 1434. Philadelphia: PA.

ASTM. 1995. Annual Book of American Standard Testing Method. Standard test method for water vapor transmission of materials E 96. Philadelphia: PA.

ASTM. 1997. Annual Book of American Standard Testing Method. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting D 882. Philadelphia: PA.

Atares, L. and Chiralt, A. 2016. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. Trends in Food Science and Technology. 48: 51-62.

Bacteriological analytical manual Online, 2001. Chapter 3, Aerobic plate count. USFDA. (http://www.cfsan.fda.gov)

Bacteriological Analytical Manual Online. 2001. Chapter 16, Clostridium perfringens. USFDA. (http://www.cfsan.fda.gov)

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001. Chapter 12, Staphylococcus aureus, USFDA. (http://www.cfsan.fda.gov)

Bacteriological Analytical Manual Online, 2002. Chapter 4, Enumeration of Escherichia coli and the coliform bacteria. USFDA. (http://www.cfsan.fda.gov)

Bacteriological Analytical Online, 2016. chapter 5, Salmonella, USFDA. (http://www.cfsan.fda.gov)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Banker, G.S., Gore A.Y. and Swarbrick J. 1966. Water vapor transmission properties of free polymer film. Journal of Pharmacology. 18: 457-466.

Burt, S.2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Journal of Food Microbiology. 94: 223-253.

Bravin, B., Peressini, D. and Sensidoni, A. 2004. Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid-based edible films. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 6448-6455.

Collison, R., 1968. Swelling and gelation of starch. In Radley, J.A. (ed.). Starch and Its Derivatives. London: Chapman and Hall Ltd.

Cooksey, K. 2001. Antimicrobial food packageing material. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.

Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L. and Guilbert, S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizer. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: 622-626.

Dhara, L. and Tripathi, A. 2013. Antimicrobial activity of eugenol and cinnamaldehyde against extended spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae by in vito and molecular docking analysis. European of Journal integrative medicine. 5: 527-536.

Du, W., Avena-Bustillos, R.J., Hua, S.S.T. and McHugh T.H. 2011. Antimicrobial volatile essential oils edible films for food safety. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. 4: 1124-1134.

Eggleston, G., Swennen, R., and Akoni, S. 1992. Physicochemical studies on starches isolated from plantain cultivars, plantain hybrids and cooking bananas. Food Science Journal. 44: 121-128.

Ehivet, F.E., Min, B., Park, M.K. and Oh, J.H. 2011. Characterization and antimicrobial activity of sweet potato starch-based edible film containing Origanum (*Thymus capitatus*) oil. Food Science Journal. 76: 178-184.

Espinosa-Solis, V., Jane, J.-l., and Bello-Perez and L. A. 2009. Physicochemical characteristics of starches from unripe fruits of mango and banana. Food Science Journal. 61: 291-299.

Fabra, M.J., Talens, P. and Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beewax mixture. Journal of Food Engineering. 85: 393-400.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Floury, J., Desrumaux, A., Axelos, M.A.V. and Legrand, J. 2002. Degradation of methylcellulose during ultra-high pressure homogenization. Food hydrocolloids. 16: 47-53.

Gautumn, M.K. and Goel, R.K. 2014. Toxicological study of ocimum sanctum leaves:hematological, biochemical and histopathological studies. Toxicology Journal. 41: 1-9.

Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. and Khaksar, R. 2013. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. Carbohydrate Polymers Journal. 98: 1117-1126.

Goering, K.J., Fritts, D.H. and Allen, K.G. 1960. A comparison of loss of birefringence with the percent gelatinization and viscosity on potato wheat rice corn cow cockle and several barley tarches. Cereal Chemical Journal. 51: 764-771.

Graham, H.D. 1977. Starch-Stark. The AVI Publishing Company, Inc. Food Colloids (Lebensmittelkolloide). Westport. Connecticut (USA).

Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible film. 371-394. In M. Mathlouthi (ed.) Food packaging and preservation theory and practice. London: Elsevier Applied Science Publisher.

Gupta, C., Garg, C.R. and Kumari, A., 2008. Antimicrobial activity of some herbal oils against common food-borne pathogens. Microbiological Journal. 2: 258-261.

Han, J.H. and Krochta, J.M. 1999. Water vapor permeability and wetting properties of whey protein coating on paper. American Society of Agricultural and Biological Engineers Journal. 42: 1375-1382.

Han, J.H. 2003. Antimicrobial Food Packaging, In Novel Food Packaging Technique. UK: Woodhead Publishing.

Hossein, M.H., Razavi, S.H. and Mousavi, M.A., 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan base films incorporated with thyme, clove and cinnamonessential oils. Journal of Food Processing and Preservation. 33: 727-743.

Hua, S.S.T., Du, W.X., Avena, R.J. and McHugh, T.H. 2011. Novel approach to inhibit the growth of Aspergiluus flavus and aflatoxin production by essential oil edible film. 21-24. General Meeting American Society for Microbiology. 111. LA.

ISO-15214. 1998. Microbiology of food animal breeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophillic Lactic Acid Bacteria-colony-count technique.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jamro'z, E., Juszczak, L. and Kucharek, M. 2018. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. International Journal of Biological Macromolecules. 114: 1094-1101.

Jim'nez, A., Fabra, M.J., Talens, P. and Chiralt, A. 2010. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. Carbohydrate Polymers. 82: 585-593.

Jim'nez, A., Fabra, M.J., Talens, P. and Chiralt, A. 2012. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. Food Hydrocolloids. 26: 302-310.

Jouki, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A. and Koocheki, A. 2014. Quince mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. Food Hydrocolloids Journal. 36: 9-19.

Kester, J.J. and O.K. Fennema. 1986. Edible films and coating – a review. Food Technology. 12: 47-59.

Kim, Y.D., An, D., Park, H., Park, J. and Lee, D.S. 2002. Properties of nisin incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging material. Packaging Technology and Science. 15: 247-254.

Li, J., Ye, F., Lei, L. and Zhao, G. 2018. Combined effects of octenylsuccination and oregano essential oil on sweet potato starch films with an emphasis on water resistance. International Journal of Biological Macromolecules. 115: 547-553.

Lopez, P., Sanchez, C., Battle, R., and Nerin., C., 2005. Solid and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. Agricultural. Food Chemistry Journal. 53: 39-46.

McHugh, T.H. and Krochta, J.M. 1994. Water vapor permeability properties of edible whey protein lipid emulsion films. Journal of the American Oil Chemist Society. 71: 307-312.

Miller, K.S. and Krochta, J.M. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. Trends in Food Science and Technology. 8: 228-237.

Morrison, W.R. and Laignelet, B. 1983. An improved colorimetric procedure for determininng apparent and total amylose in cereal and other starches. Cereal Science Journal. 1: 9-20.

Nguyen, K.M., 2003. Chinese cassia in cinnamon and cassia: the genus cinnamomum. CRC Journal. 15: 156-184.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Norziah, M.H., Kong, S.S., Abd Karim, A. and Seow, C.C. 2001. Pectin-sucrose-Ca^{2+} interactions: effects on rheological properties. Food Hydrocolloids. 15:491-498.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plantessential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control Journal. 18: 414-420.

Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C. and Roura, S. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LebensmitteleWissenschaftund-Technolgie, 36: 679-684.

Prabuseenivasan, P., Jayakumar, M. and Lgnacimuthu., S. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complement. Alternative. Medicine. 6: 39-41.

Pranoto, Y., Rakshit, S.K. and Salokhe, V.M. 2005. Physical and antimicrobial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food Research International. 38: 267-272.

Rooney, M.L. 2005. Introduction to Active Food Packaging Technologies. In Innovations in Food Packaging. USA: Elsevier Academic Press.

Seydim, A.C. and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International. 39: 639-644.

Shellhammer, T.H. and Krochta, J.M.1997.Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. Journal of Food Science. 62: 390-394.

Shen, Z. and Kamdem, D. P. 2015. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. International Journal of Biological Macromolecules. 74: 289-296.

Song, X., Zuo, G. and Chen, F. 2018. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. Biological Macromolecules Journal. 107: 1302-1309.

Sothornvit, R. and Pitak, N. 2007. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. Food Research Journal. 40: 365-370.

Suput, D., Lazic, V., Pezo, L., Markov, S., Vastag, Z. and Popovic L. 2016. Characterization of starch edible films with different essential oils addition. Food and Nutrition Science Polish Journal. 66: 277-285.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Taqi, A., Mutihac, L. and Stamatin, I. 2014. Physical and barrier properties of apple pectin/cassava starch composite films incorporating laurus nobilis Oil and oleic acid. Journal of Food Processing and Preservation. 38: 1982-1993.

Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M. and Daniele, A. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy Journal: 2474-2478.

Uma, M., Suresh, M., Thulasiraman, K., Lakshmidevi, E. and Kalaiselvia, P. 2013. Chronic toxicity studies of aqueous leaf extract of Indian traditional medicinal plant *Ocimum tenuiflorum* (L.) in rats. European Experimental Biology Journal. 3: 240-247.

Veena, D., Mallika, E.N., Reddy, G.V. and Sudheer, K. 2015. Quality of Edible Polymer Films Incorporated with Plant Essential Oils. 2: 43-47.

Visessanguan, w., Benjakul, S., Smitinont, T., Kittikun, C., Thepkasikul, P. and Panya A. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physic-chemical properties of Nham inoculated with different inoculums levels of Lactobacillus curvatus. LWT Journal. 39: 814-826.

Zhang, P. and Hamaker, B.R. 2012. Banana starch structure and digestibility. Carbohydrate Polymers Journal. 87: 1552-1558.

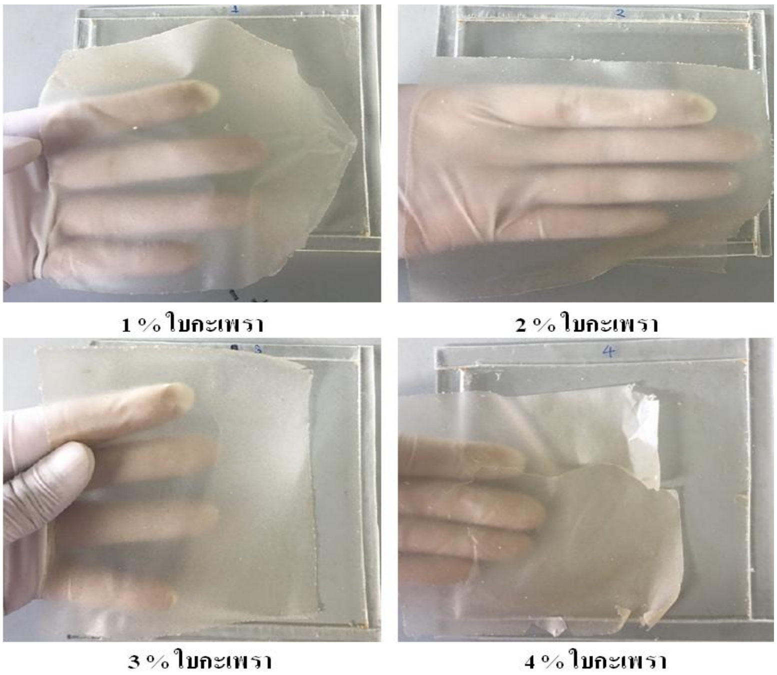
Zivanovic, S., Chi, S. and Draughon, A.F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan film enriched with essential oils. Journal of Food Science. 70: 45-51.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

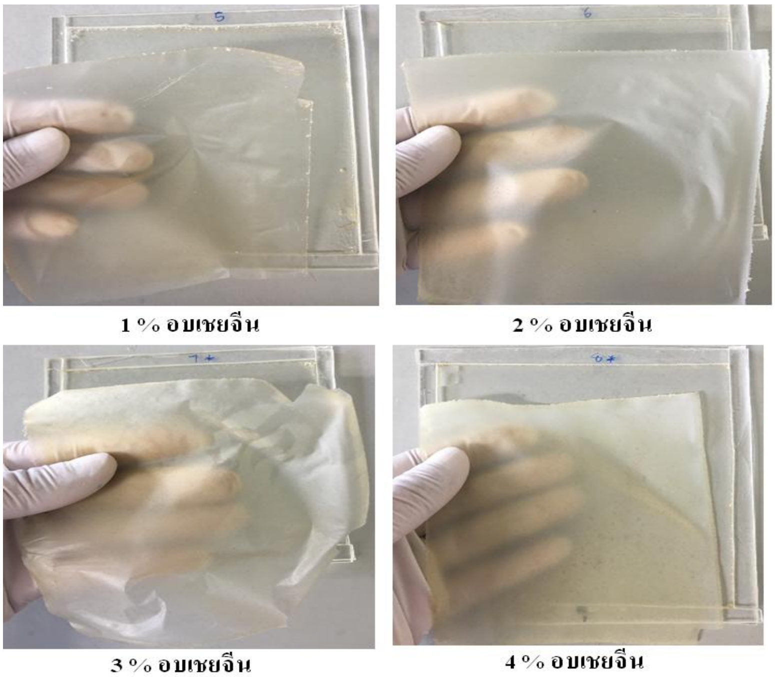
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ภาพฟิล์มน้ำมันหอมระเหยที่ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ ก.1 ฟิล์มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 %



ภาพที่ ก.2 ฟิล์มน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การคำนวณสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม

ข.1 การคำนวณความสามารถในการต้านทานแรงดึงของฟิล์ม (Tensile strength; TS)

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา (% โดยน้ำหนัก)	ค่าเฉลี่ย Fmax ที่วัดได้ (kg force)	ค่าเฉลี่ย Fmax ที่ต้องการ (N)	พื้นที่ฟิล์ม (m^2)	ความสามารถในการต้านทานแรงดึง (MPa)
0	687.3	6740.684	0.0030	2.21
1	684.3	6711.260	0.0030	2.20
2	400.7	3929.340	0.0030	1.29
3	242.0	2373.299	0.0030	0.78
4	174.0	1706.425	0.0030	0.56

น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (% โดยน้ำหนัก)	ค่าเฉลี่ย Fmax ที่วัดได้ (kg force)	ค่าเฉลี่ย Fmax ที่ต้องการ (N)	พื้นที่ฟิล์ม (m^2)	ความสามารถในการต้านทานแรงดึง (MPa)
0	687.3	6740.684	0.0030	2.21
1	521.3	5112.719269	0.0030	1.68
2	334.7	3282.077635	0.0030	1.08
3	251.3	2464.829596	0.0030	0.81
4	162.7	1595.272654	0.0030	0.52

หมายเหตุ :

ค่าเฉลี่ย Fmax ที่ต้องการ (N) = ค่าเฉลี่ย Fmax ที่วัดได้ (kg force) x 9.807

พื้นที่ฟิล์ม(m^2) = 0.0245 x 0.12

$$\text{ความสามารถในการต้านทานแรงดึง (MPa)} = \frac{[(\text{ค่าเฉลี่ย Fmax ที่ต้องการ(N)} / \text{พื้นที่ฟิล์ม}(m^2))]}{10^6}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 การคำนวณการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม (Water vapor permeability; WVP)

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา (% โดยน้ำหนัก)	ค่าเฉลี่ย WVTR ($g/m^2.day$)	ความหนาฟิล์ม (mm.)	S-ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 38 องศาเซลเซียส (mmHg)	R1-ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในโถทดสอบ (%)	R2-ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวดทดสอบ (%)	การซึมผ่านไอน้ำ ($g.mm/m^2.hkPa$)
0	1500.0	0.101	52.66	90	0	1.334
1	2029	0.1044	52.66	90	0	1.862
2	1963	0.1163	52.66	90	0	2.007
3	1638.5	0.1224	52.66	90	0	1.763
4	1398.5	0.1328	52.66	90	0	1.633

น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (% โดยน้ำหนัก)	ค่าเฉลี่ย WVTR ($g/m^2.day$)	ความหนาฟิล์ม (mm.)	S-ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 38 องศาเซลเซียส (mmHg)	R1-ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในโถทดสอบ (%)	R2-ค่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวดทดสอบ (%)	การซึมผ่านไอน้ำ ($g.mm/m^2.hkPa$)
0	1500.0	0.101	52.66	90	0	1.334
1	2226	0.1054	52.66	90	0	2.063
2	2298.5	0.1142	52.66	90	0	2.308
3	2321.5	0.1166	52.66	90	0	2.380
4	2096.5	0.1204	52.66	90	0	2.219

หมายเหตุ :

$$\text{การซึมผ่านไอน้ำ } (g.mm/m^2.hkPa) = \left[\frac{\left(\dfrac{(\text{ค่าเฉลี่ย WVTR } (g/m^2.day) \times \text{ความหนาฟิล์ม}(mm.)) \times 10^3}{\text{S-ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 38 องศาเซลเซียส } (mmHg) \times (R1 - R2)}\right)}{24}\right]$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 การคำนวณการซึมผ่านออกซิเจนของฟิล์ม (Oxygen permeability; OP)

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา (%)	ค่าเฉลี่ย OTR (cm^3/m^2.day)	ความหนาฟิล์ม (mm.)	ความดัน (kPa)	การซึมผ่านออกซิเจน (cm^3.µm/m^2.day.kPa)
0 %	1.27	0.101	101.325	1.51
1 %	1.73	0.1044	101.325	1.78
2 %	1.53	0.1163	101.325	1.84
3 %	1.42	0.1224	101.325	1.86
4 %	1.63	0.1328	101.325	1.87

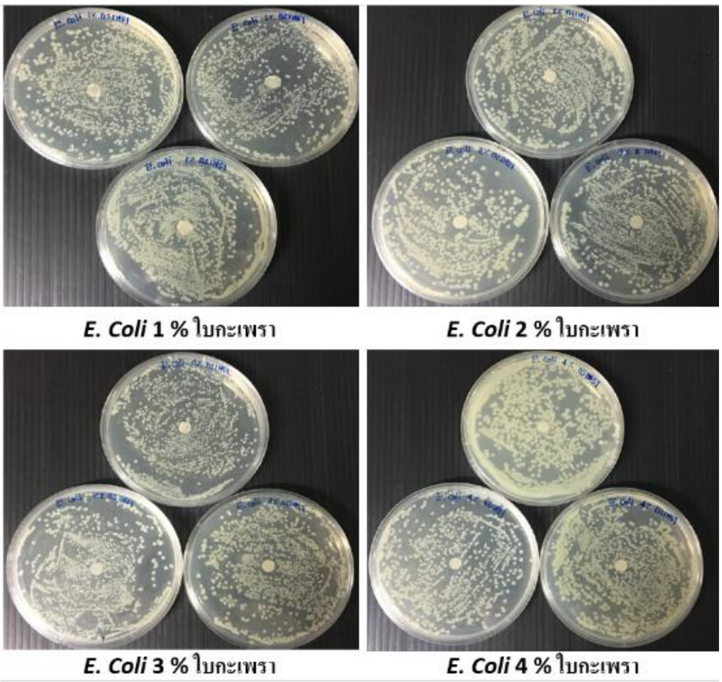
น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (%)	ค่าเฉลี่ย OTR (cm^3/m^2.day)	ความหนาฟิล์ม (mm.)	ความดัน (kPa)	การซึมผ่านออกซิเจน (cm^3.µm/m^2.day.kPa)
0%	1.27	0.101	101.325	1.51
1%	1.40	0.1054	101.325	1.61
2%	1.64	0.1142	101.325	1.70
3%	1.56	0.1166	101.325	1.75
4%	2.73	0.1204	101.325	2.73

หมายเหตุ :

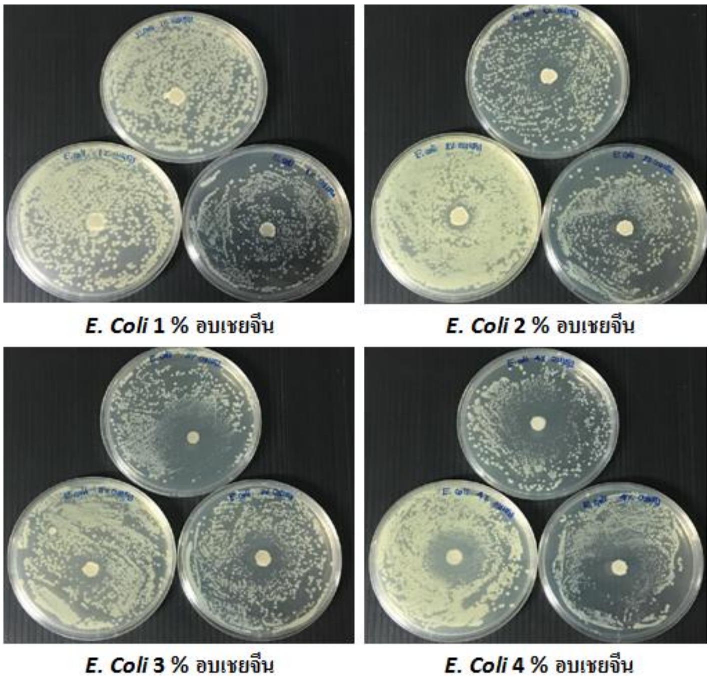
$$\text{การซึมผ่านออกซิเจน } (cm^3.\mu m/m^2.day.kPa) = \frac{\text{ค่าเฉลี่ย OTR } (cm^3/m^2.day) \times \text{ความหนาฟิล์ม } (mm.) \times 10^3}{\text{ความดัน } (kPa)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ภาพวงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของฟิล์ม

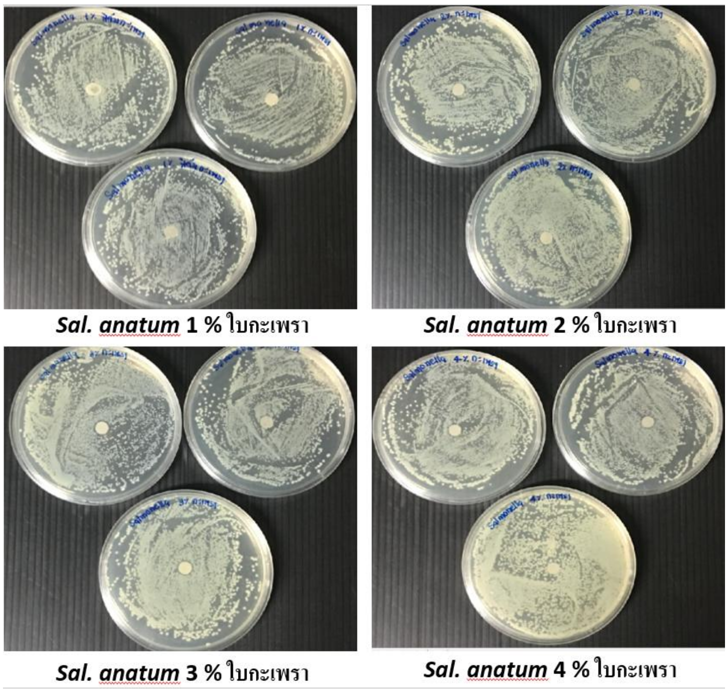


ภาพที่ ค.1 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

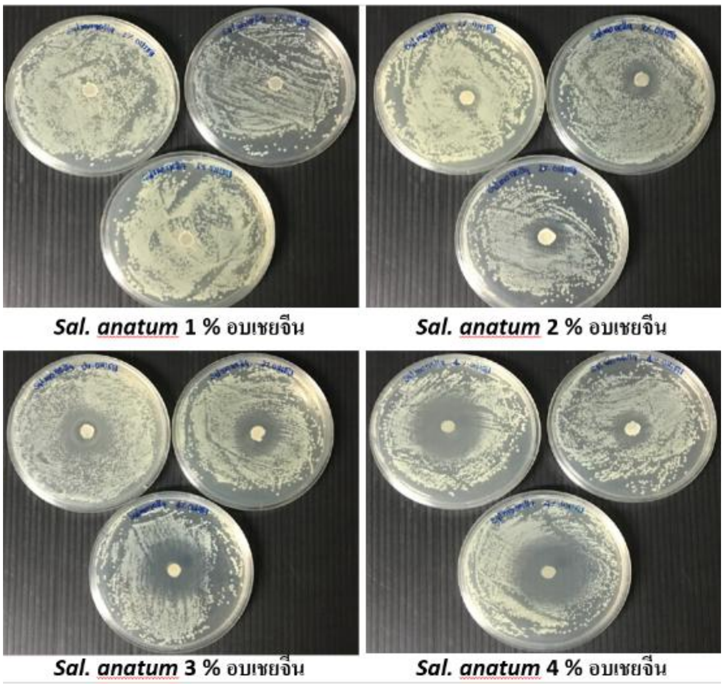


ภาพที่ ค.2 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ลงวันเวลาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

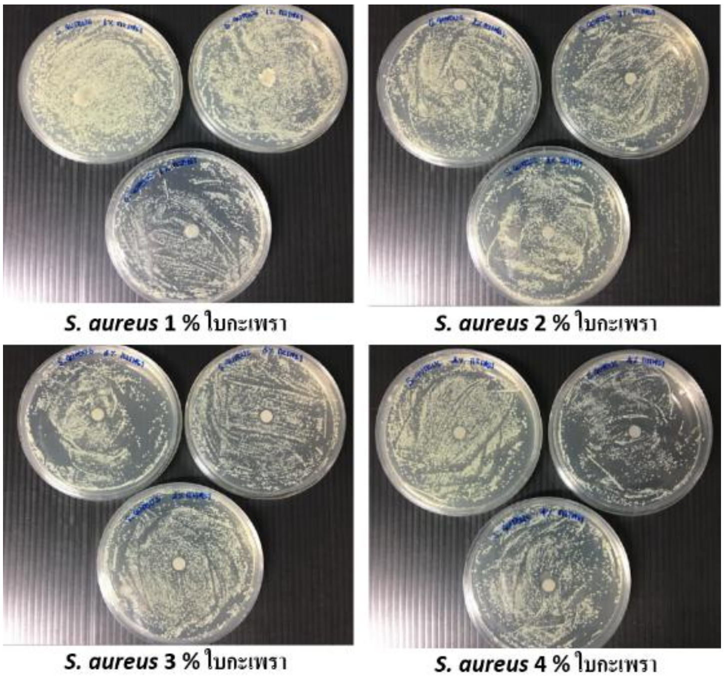


ภาพที่ ค.3 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella anatum* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

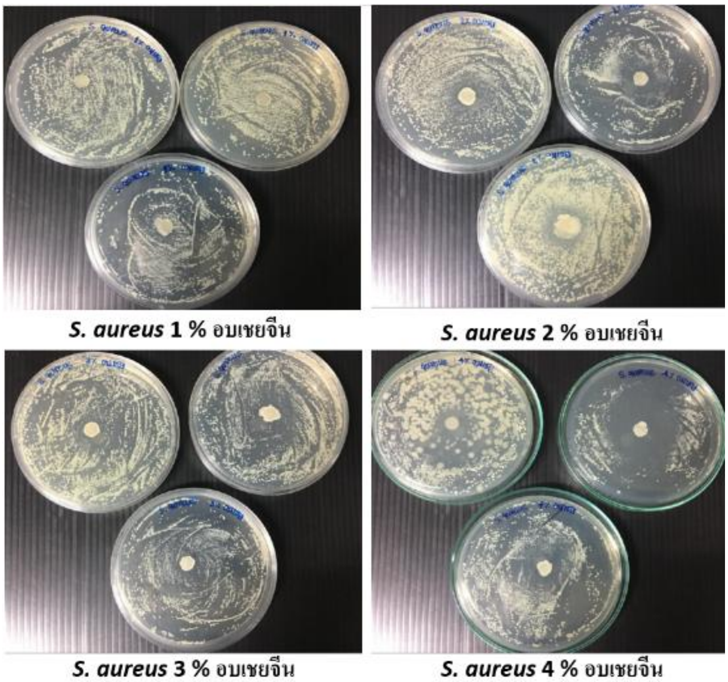


ภาพที่ ค.4 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella anatum* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

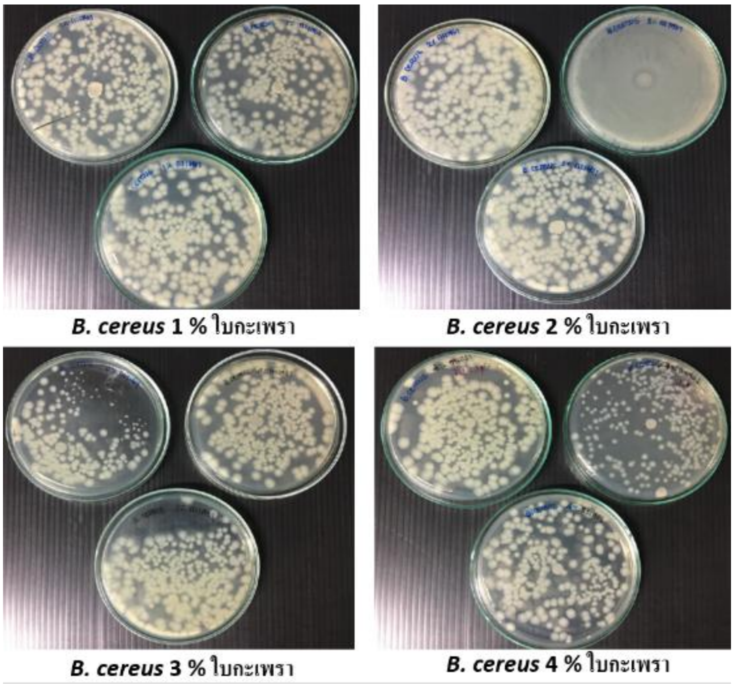


ภาพที่ ค.5 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา

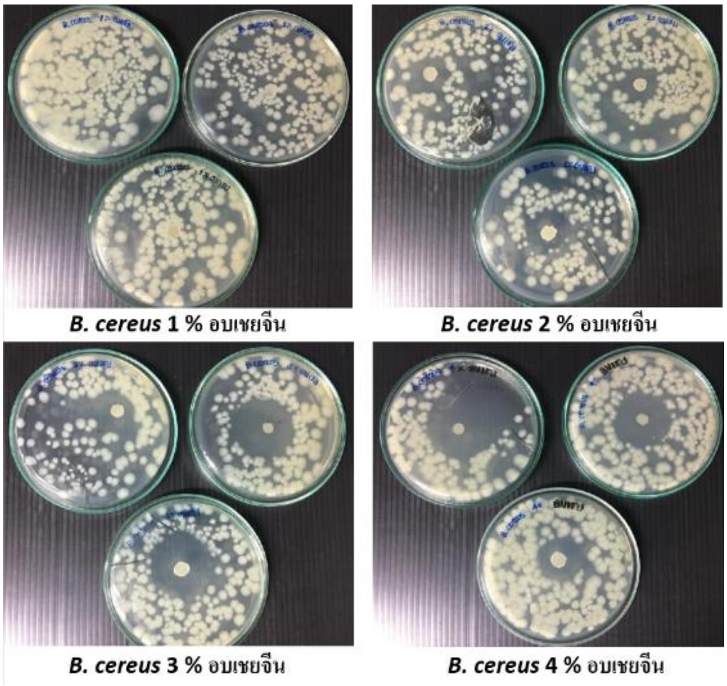


ภาพที่ ค.6 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.7 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ใบกะเพรา

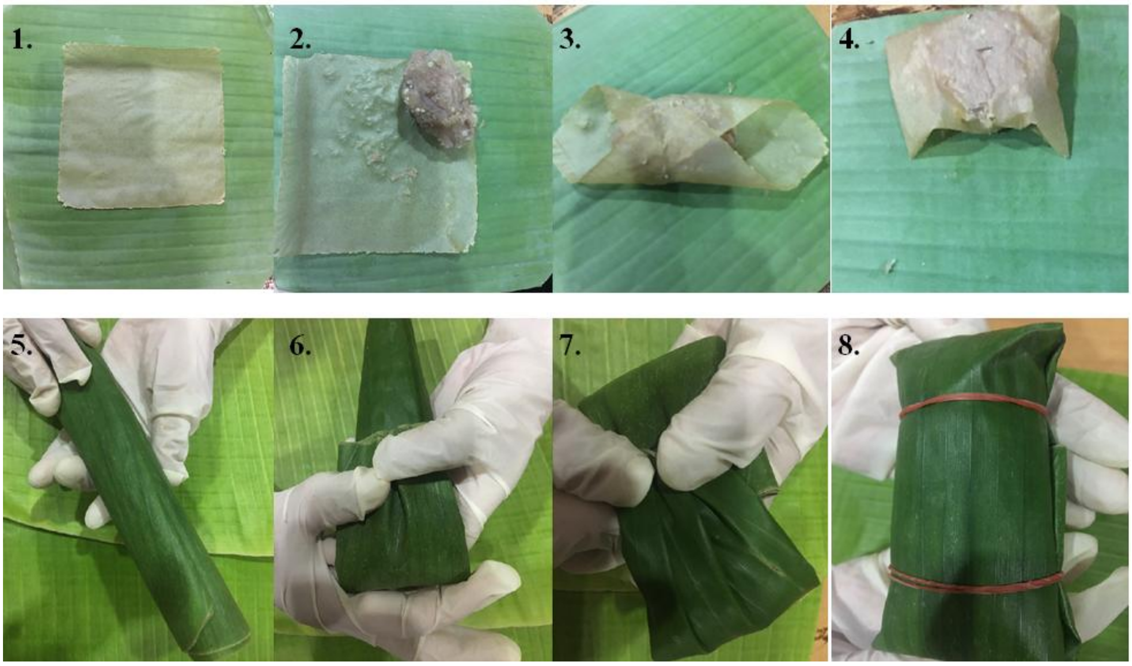


ภาพที่ ค.8 วงใสการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* ของฟิล์มแป้งกล้วยร่วมกับน้ำมันหอมระเหย อบเชยจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพขั้นตอนการห่อแหนมห่อใบตองทดสอบและแหนมห่อใบตองควบคุม



ภาพที่ ง.1 ขั้นตอนการห่อแหนมห่อใบตองทดสอบ

ภาพที่ ง.2 ขั้นตอนการห่อแหนมห่อใบตองควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ภาพแหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 3 และ 7 วัน

แหนมห่อใบตองควบคุม อายุ 3 วัน **แหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 3 วัน**

ภาพที่ จ.1 แหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 3 วัน

แหนมห่อใบตองควบคุม อายุ 7 วัน **แหนมห่อใบตองทดสอบ อายุ 7 วัน**

ภาพที่ จ.2 แหนมห่อใบตองควบคุมและแหนมห่อใบตองทดสอบที่อายุการเก็บรักษา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว นุชนันท์ ทองเขาอ่อน
วัน เดือน ปีเกิด	31 สิงหาคม 2533
ที่อยู่	88/170 หมู่ 9 หมู่บ้านซื่อตรงโคซี่ ตำบลละหาร อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี 11110
ที่อยู่อีเมล์	karakade2533@gmail.com
ประวัติการศึกษา	- ปี 2555 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ - ปี 2561 จบการศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท ซีพี ออลล์ จำกัด (มหาชน)
การนำเสนอผลงาน	นำเสนอโปสเตอร์ เรื่อง “Physical and antimicrobial properties of banana flour film incorporated with holy basil essential oil and cassia essential oil” ที่งานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ The 30th Annual Meeting of the Thai society for Biotechnology and International Conference วันที่ 23-24 พฤศจิกายน 2561 ณ โรงแรมแอมบาสเดอร์ กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้