ผลของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำส้มคั้น

EFFECT OF VANILLIN AND LEMONGRASS ESSENTIAL OIL ON INHIBITION OF YEAST IN SQUEEZED ORANGE JUICE

ชัชกีร์ ช่วยศิลป์

CHATKAEW CHUAYSILP

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL 2011-AY-M-054-118

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

EFFECT OF VANILLIN AND LEMONGRASS ESSENTIAL OIL ON INHIBITION OF YEAST IN SQUEEZED ORANGE JUICE

ฉัตรแก้ว ช่วยเกิด

CHATKAEW CHOUYKERT

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน...120092...
วัน, เดือน, ปี...3 ก.ค. 2555

b.....
l.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-054-118

EFFECT OF VANILLIN AND LEMONGRASS ESSENTIAL OIL ON INHIBITION OF YEAST IN SQUEEZED ORANGE JUICE

CHATKAEW CHOUYKERT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

FACULTY OF AGRO - INDUSTRY

KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KMITL-2011-AI-M-054-118

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF AGRO - INDUSTRY

KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น
นักศึกษา	นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด
รหัสประจำตัว	50068756
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2554
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยับยั้งเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* และ *C. krusei* ที่แยกได้จากน้ำส้มคั้น รวมทั้งผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ผลการทดลองพบว่าวานิลลินความเข้มข้น 1,000-4,000 พีพีเอ็ม และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 0.5-2.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml และวานิลลินความเข้มข้น 3,500- 4,000 พีพีเอ็ม และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 2.0-2.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดย *C. krusei* มีความทนทานต่อการยับยั้งเชื้อของสารทั้งสองชนิดได้ดีกว่า *C. tropicalis* ประสิทธิภาพของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยับยั้งเชื้อ *C. krusei* พบว่าความเข้มข้น 500+0.5 และ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+0.5 และ 1,000 +1.0 พีพีเอ็ม ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น และลักษณะปรากฏ ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ขณะที่ความเป็นกรดด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง แตกต่างกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตรวจไม่พบเชื้อยีสต์ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน และ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+0.5 และ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน นอกจากนี้ผู้บริโภคให้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+ 0.5 พีพีเอ็ม ใกล้เคียงกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of Vanillin and Lemongrass Essential Oil on Inhibition of Yeast in Squeezed Orange Juice
Student	Miss Chatkaew Chouykert
Student ID.	50068756
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2011
Thesis Advisor	Dr. Aphacha Jindaprasert

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of vanillin and lemongrass essential oil concentration of on inhibition of *Candida tropicalis* and *C. krusei*isolated as isolated from squeezed orange juice. The effects of temperatures and shelf life on physical, chemical and microbiological qualities of vanillin and lemongrass essential oil mixed squeezed orange juice were also investigated. The results showed that vanillin at concentration of 1,000-4,000 ppm and lemongrass essential oil at the concentration of 0.5-2.5 ppm could inhibit *C. tropicalis* and *C. krusei* at 2 log cfu/ml initial concentration. Vanillin at 3,500-4,000 ppm and lemongrass essential oil at 2.0-2.5 ppm could also inhibit both yeasts at 4 log cfu/ml initial concentration, when incubated at 30°C within 72 hour. *C. krusei* had more resistance on the inhibitory effect than *C. tropicalis*. When the effect of squeezed orange juice mixed with vanillin and lemongrass essential oil on inhibition of *C. krusei* were determined, it was found that vanillin and lemongrass essential oil at concentrations of 500+0.5 and 1,000+1.0 ppm exhibited the optimal inhibitory effect on *C. krusei* (2 and 4 log cfu/ml initial concentration) after incubation at 30°C for 12 and 24 hour, respectively. Physical, chemical and microbiological qualities were significant difference between squeezed orange juice mixed vanillin combined lemongrass essential oil and squeezed orange juice (control) ($p \leq 0.05$) during storage. Increase in time of storage resulted in increase in change of physical property. The pH value and acidity were decreased during storage. The yeast strain of *C. krusei* could not detect at 30°C for 1 day and 4°C for 3 days of storage, respectively. For shelf life, squeezed orange juice mixed with vanillin and lemongrass essential oil at concentration of 500+0.5 and 1,000+1.0 ppm could be stored at 30°C for 2 days and 4°C for 12 days. In addition, sensory evaluation revealed no significant difference between squeezed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

orange juice mixed with vanillin and lemongrass essential oil concentration of 500+0.5 ppm and squeezed orange juice (control) ($p>0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ในการแก้ไขปัญหา ตลอดจนให้ความช่วยเหลือดูแลเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ตรวจทานแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์ ผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอกราบขอบพระคุณ ไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ และรศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ รศ.ดร.สุเมธ ตันตระธียร ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งช่วยตรวจสอบแก้ไข รวมทั้งให้คำปรึกษาแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ต่างๆในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้องทุกคนที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้ รวมทั้งเพื่อนๆ และพี่ๆ น้องๆที่น่ารักทุกคนและบุคคลที่มิได้กล่าวมาทั้งหมด ซึ่งมีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ฉัตรแก้ว ช่วยเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....IX

สารบัญรูป.....X

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....4

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....4

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....5

2.1 น้ำส้มคั้น.....5

2.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย.....13

2.3 วานิลลิน.....15

2.4 น้ำมันหอมระเหยตะไคร้.....20

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....24

3.1 วัตถุดิบ.....24

3.2 สารเคมี.....24

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....24

3.4 อุปกรณ์.....25

3.5 เครื่องมือ.....25

3.6 วิธีการทดลอง.....25

3.6.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำส้มคั้น.....25

3.6.2 การศึกษาเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น.....26

3.6.3 การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น.....26

3.6.4 การเตรียมน้ำส้มคั้น.....27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6.5 การเตรียมวานิลลิน..... 28
3.6.6 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อยีสต์..... 28
3.6.7 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อยีสต์.....28
3.6.8 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ใน
การยับยั้งเชื้อยีสต์.....29
3.6.9 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพ
น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้.....29
3.6.10 การศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์
น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้.....30
3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....30

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....31
4.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำส้มคั้น.....31
4.2 การศึกษาเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น.....33
4.3 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อยีสต์.....35
4.4 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสม
ในการยับยั้งเชื้อยีสต์.....40
4.5 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสม
ในการยับยั้งเชื้อยีสต์.....45
4.6 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพ
น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้.....48
4.7 การศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์
น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้.....56

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม.....61

ภาคผนวก.....68

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี.....68

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์.....70

ภาคผนวก ค ผลการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์.....78

ภาคผนวก ง แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส.....95

ประวัติผู้เขียน.....97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณสารอาหารในน้ำส้มคั้นปริมาณ 250 มิลลิลิตร....6

2.2 คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของวานิลลิน....16

4.1 ความความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณกรดของน้ำส้มคั้น....32

4.2 ลักษณะการเจริญของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากน้ำส้มคั้น....34

4.3 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลิน ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง....39

4.4 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลิน ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง....40

4.5 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง....44

4.6 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง....45

4.7 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้โดยใช้ผู้ทดสอบช่วงอายุ 20 -40 ปี....57

4.8 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้โดยใช้ผู้ทดสอบช่วงอายุ 41 -60 ปี....58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างทางเคมีของวานิลลิน 16

2.2 โครงสร้างของวานิลลินเปรียบเทียบกับยูจีนอลและกรดเบนโซอิก 19

2.3 โครงสร้างทางเคมีของซิทรัล 21

3.1 ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มคั้น 27

4.1 ผลของวานิลลินที่ความเข้มข้น 0 - 4,000 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น 36

4.2 ผลของวานิลลินที่ความเข้มข้น 0 - 4,000 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น 37

4.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0 -2.5 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น 41

4.4 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0 -2.5 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น 42

4.5 ผลของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 2 และ 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น 46

4.6 ค่ากายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 49

4.7 ค่ากายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 0.5 พีพีเอ็ม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 51

4.8 ค่ากายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 53

4.9 ค่ากายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 0.5 พีพีเอ็ม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำส้มคั้นเป็นน้ำผลไม้ที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีรสชาติอร่อย สามารถดื่มได้ทุกเพศทุกวัย อุดมไปด้วยสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น แคโรทีนอยด์ เพคติน วิตามินซี ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการติดเชื้อโรค ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ลดความเสี่ยงจากโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง และโรคเบาหวาน (สรจักร ศิริบริรักษ์, 2549; Franke et al., 2004; Melendez-Martinez et al., 2007; Roussos, 2011) ผู้บริโภคจึงให้ความสนใจในการบริโภคน้ำส้มคั้นเป็นจำนวนมาก ปาริชาติ เจริญรัตน์ (2542) สำรวจความนิยมในการบริโภคน้ำผลไม้ของผู้ที่อาศัยอยู่ในเขตเมือง พบว่าน้ำส้มคั้นได้รับความนิยมในการบริโภคมากที่สุด ซึ่งจากข้อมูลการส่งออกน้ำส้มคั้นบรรจุขวดสู่ตลาดต่างประเทศในระหว่างปี พ.ศ. 2550-2553 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พบว่าน้ำส้มคั้นบรรจุขวดมีปริมาณการส่งออกเพิ่มจาก 10,815,913 กิโลกรัม เป็น 18,815,157 กิโลกรัม และมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มจาก 246,110,504 บาท เป็น 426,512,191 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554)

น้ำส้มคั้นที่จำหน่ายมากมายในท้องตลาด การผลิตใช้เงินลงทุนต่ำ ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ทันสมัย น้ำส้มคั้นที่ผลิตส่วนใหญ่บรรจุขวดพลาสติก ชนิดโพลีเอทีลีนความหนาแน่นสูง (high density polyethylene - HDPE) และชนิดโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate - PET) (ปุ่น คงเจริญเกียรติ์, 2553; สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2554) อย่างไรก็ตาม น้ำส้มคั้นมีอายุการเก็บรักษาไม่นาน มีกลิ่นและรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การเสื่อมเสียของน้ำส้มคั้นมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ และกระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม กระบวนการผลิตส่วนใหญ่มักจะไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน จึงมีโอกาสพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์สูง (นพมาศ สะพู, 2542) โดยเฉพาะการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในกลุ่มของยีสต์ ได้แก่ *Candida intermedia*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C.stellata*, *C. zeylanoides*, *Geotrichum citri-aurantii*, *Hanseniaspora uvarum*, *H. occidentalis*, *Pichia anomala*, *P. jadinii*, *P. kluyven*, *P. stipitis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Sac. crataegensis* (Arias et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบการเสื่อมสภาพทางเคมี ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล การเกิดความขม และการเสื่อมเสียทางกายภาพ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสี กลิ่นและรสชาติ ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ไม่ต้องการของผู้บริโภค (Goodner et al., 1999) จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำรวจของหน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาในปี พ.ศ. 2552 โครงการศึกษาปัญหาและแนวทางแก้ไขการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข โดยทำการสำรวจโรงอาหารและตลาดนัดของหน่วยงานต่างๆในกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 9 แห่ง มีร้านค้าทั้งหมด 52 ร้าน จุลินทรีย์ที่ทำการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ โคลิฟอร์ม, *Escherichai coli*, *Staphylococcus aureus*, ยีสต์ และรา พบว่าเครื่องดื่มในกลุ่มที่ไม่ผ่านความร้อน ได้แก่ น้ำส้มคั้น น้ำใบบัวบก น้ำแครอท มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์มากที่สุด ส่วนใหญ่เป็นการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ คิดเป็น 72.73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาเหตุการปนเปื้อนเกิดจากกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาไม่เหมาะสม (หน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร, 2552) ดังนั้นผู้ผลิตเครื่องดื่มจึงจำเป็นต้องปรับปรุง และพัฒนากระบวนการผลิต เพื่อให้เครื่องดื่มมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น วิธีที่สะดวกและเป็นที่นิยม คือ การใช้ความร้อนหรือใช้วัตถุกันเสียในการยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่ม การใช้ความร้อนในน้ำผลไม้บางชนิดอาจมีผลทำให้สูญเสียกลิ่นรสที่ดีไปโดยเฉพาะน้ำส้มคั้นสด นอกจากนี้การใช้ความร้อนสูงยังทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการด้วย (นพมาศ สะพู, 2542) ส่วนวัตถุกันเสียที่นิยมใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่ม ได้แก่ กรดหรือเกลือของกรดเบนโซเอตและกรดซอร์บิค ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งสารเคมีสังเคราะห์เหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) หากใช้ในปริมาณมากเกินไป อาจเกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำผลไม้ : น้ำส้ม (มผช.275/2547) กำหนดให้น้ำส้มสามารถใช้กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) และกรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก (คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกันต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

วานิลลิน (Vanillin) หรือ 4-hydroxyl-3-methoxybenzaldehyde เป็นสารสกัดจากเมล็ดวานิลลา (*Vanilla fragans*) มีกลิ่นหอม เป็นที่ยอมรับโดยว่ามีความปลอดภัย (Generally Regarded as Safe : GRAS) จึงนำไปใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในอาหาร ไอศกรีม เครื่องดื่ม สบู่ ยา และเครื่องสำอาง (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542) มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง (เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล และคณะ, 2548) และยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ รา และแบคทีเรีย (Onawunmi, 1989) Fitzgerald et al. (2004) ศึกษาผลของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ทำให้น้ำแอปเปิ้ลสดและน้ำอัดลมกลิ่นพีชเน่าเสีย พบว่าวานิลลินที่ความเข้มข้น 20 และ 10 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Sac. cerevisiae* และ *C. parapsilosis* และช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำแอปเปิ้ลและน้ำอัดลมกลิ่นพีช ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ Penney et al. (2004) ศึกษาผลของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ทำให้โยเกิร์ตรสผลไม้ (fruit yogurt) เน่าเสีย พบว่าวานิลลินที่ความเข้มข้น 2,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อ *Sac. cerevisiae* และ *Lactobacillus plantarum* และช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาโยเกิร์ตรสผลไม้ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำวานิลลินมาใช้ยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่ม แต่การใช้สารสกัดจากธรรมชาติเพียงชนิดเดียวอาจจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ไม่ดีเท่าที่ควร หรือต้องใส่ในปริมาณมาก ซึ่งอาจมีผลต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Cava-Roda et al., 2010)

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (Lemongrass essential oil) ได้จากการนำใบสด และใบแห้งของต้นตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) มากลั่นด้วยไอน้ำ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีลักษณะสีเหลือง เหลืองอัมพัน หรือน้ำตาลอมแดง กลิ่นส้มปนเหม็นเขียว ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในอาหารและเครื่องดื่มที่มีความปลอดภัย (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550) มีฤทธิ์ฝาดสมาน ขับลม ดับกลิ่น บำรุงจิตใจ ระงับประสาท ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ และช่วยลดความร้อนในร่างกาย นอกจากนี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา (คมสัน หุตะแพทย์, 2549) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ คือ ซิทรัล (citral) หรือ cis- and trans-3,7-dimethyl-2,6-octadienal มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ Silva et al. (2007) ศึกษาความสามารถของซิทรัลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida* spp. โดยวิธี agar diffusion พบว่าซิทรัลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 2.0 ไมโครลิตร/ดิสก์ (disc) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *C. albicans, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis* และ *C. tropicalis* นอกจากนี้ บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้ และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเอทานอล และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ที่ความเข้มข้น 40 และ 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติและมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หากนำสารทั้งสองชนิดมาใช้ร่วมกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่ม อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และทำให้ยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่มให้นานยิ่งขึ้น ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงสนใจนำวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นโดยศึกษาประสิทธิภาพของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และมีอายุการเก็บรักษานานยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้แทนการใช้วัตถุกันเสียซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ และสร้างรายได้ให้กับผู้ประกอบการอีกทางหนึ่งด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาคัดแยกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

1.2.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

1.2.4 ศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาและคัดแยกชนิด และสายพันธุ์เชื้อยีสต์ที่พบปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น รวมทั้งศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีของน้ำส้มคั้น แล้วนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ มาใช้ในการเตรียมน้ำส้มคั้นที่ใช้ในการทดสอบ จากนั้นทำการศึกษาผลของวานิลลิน น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และสารผสมทั้งสองชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ในน้ำส้มคั้น ทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกัน และนำผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ได้ มาทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำส้มคั้น

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

น้ำส้มคั้น หมายถึง น้ำส้มที่ผ่านกรรมวิธีที่ได้จากการคั้นโดยตรงจากส่วนที่บริโภคได้ของผลส้มที่แก่ สุก และสด พันธุ์ซิทรัส ซิเนนซิส ออสเบก (*Citrus sinensis* Osbeck) เช่น ส้มเกลี้ยง ส้มเช้ง หรือพันธุ์ซิทรัส เรทิคูลาตา ออสเบก (*Citrus reticulata* Blanco) เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มสีทอง ส้มผิวทอง ส้มสีทับทิมหรือพันธุ์อื่นๆที่เหมาะสม อยู่ในลักษณะพร้อมบริโภค ลักษณะทั่วไปของน้ำส้มคั้น คือ มีสี กลิ่น รสตามธรรมชาติของส้ม ไม่มีสีผิดปกติ และปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหมัก (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549)

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีและสารสำคัญ

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มคั้น ประกอบด้วย octanal, vinyl guiaicol, linalool, 3-hexen-l-ol, i-hexanol, hydroxy-ethyl-hexanoate, valencene, decanal, α - pinene, β - myrcene และ limonene (Farnworth et al., 2001) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มของแอลดีไฮด์ ฟีนอล และแอลกอฮอล์ มีประโยชน์ในการต้านแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ลดความดันเลือด ขยายหลอดเลือด ลดไข้ กระตุ้นระบบประสาท ระงับปวด (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550) นอกจากนี้มีสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด ได้แก่ (สรจักร ศิริบริรักษ์, 2549; Franke et al., 2004; Melendez-Martinez et al., 2007; Roussos, 2011)

- แคโรทีนอยด์ ประกอบด้วย แอลฟา-แคโรทีน เบต้า-แคโรทีน กลูต้า-แคโรทีน ลูทีน และซีแทนซีน ทำหน้าที่สำคัญในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการติดเชื้อโรค ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ช่วยในการมองเห็น รักษาภาวะผิดปกติเรื้อรังของหลอดเลือดดำ ต้อหิน ไข้ละอองฟาง ริดสีดวงทวาร หลอดเลือดดำโป่งพอง หลอดเลือดขอดที่ขา การไหลเวียนเลือดไม่ดี เริมที่ปาก ต้อกระจก เสริมสร้างความแข็งแรงของหลอดเลือด จึงป้องกันการตกเลือด ช่วยบรรเทาอาการฟกช้ำ และลดคอเลสเตอรอล

- เฮสเพอริดิน เป็นสารไบโอฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง มีประโยชน์บรรเทาความผิดปกติช่วงหมดประจำเดือน ยับยั้งเชื้อไวรัสที่ก่อโรคเริม หวัด โรคทางเดินหายใจบางชนิด ช่วยระงับอาการภูมิแพ้ ลดอาการบวมที่ขา และสามารถลดสารพิษก่อมะเร็งในร่างกายลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เพคติน เป็นไฟเบอร์ชนิดละลายน้ำ มีผลต่อการดูดซึมไขมันและน้ำตาล ช่วยลดความเสี่ยงจากโรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดแดงแข็ง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง และโรคเบาหวาน

- วิตามินซี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญมาก สามารถลดไขมันที่ไม่ดีในเลือด (low density lipoprotein cholesterol, LDL) และเพิ่มไขมันที่ดี (high density lipoprotein cholesterol, HDL) ลดความดันโลหิต และเสริมสร้างภูมิต้านทานของร่างกาย

น้ำส้มคั้นปริมาณ 250 มิลลิลิตร มีปริมาณสารอาหารต่างๆ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารอาหารในน้ำส้มคั้นปริมาณ 250 มิลลิลิตร

สารอาหาร	ปริมาณ
พลังงาน	45.00 กิโลแคลอรี่
โปรตีน	1.10 กรัม
ไขมัน	0.10 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	8.50 กรัม
ไฟเบอร์	1.70 กรัม
แคลเซียม	47.00 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.10 มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	150.00 มิลลิกรัม
วิตามินซี	54.00 มิลลิกรัม
วิตามินบี	0.65 มิลลิกรัม
แคโรทีน	0.028 มิลลิกรัม

ที่มา : AI-Jedah and Robinson (2002)

2.1.3 กระบวนการผลิตน้ำส้มคั้น

ส้มที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้น ได้แก่ ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulate*, Blanco) ลักษณะทั่วไป คือ ผลเมื่อแก่จัดจะมีสีเหลืองอมเขียว เนื้อผลมีสีส้ม รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย จัดอยู่ในกลุ่มของส้มเปลือกล่อน (Mandarin) ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย นิยมปลูกมากที่สุด สามารถให้ผลผลิตตลอดปี จำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป ราคาไม่แพง และมีคุณค่าทางอาหารสูง จึงเป็นที่นิยมใช้ในการผลิตน้ำส้มคั้น (เปรมปรี ณ สงขลา, 2537) กระบวนการผลิตน้ำส้มคั้น แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การผลิตระดับอุตสาหกรรม (ผู้ผลิตรายใหญ่) คือ สถานที่ผลิตที่ใช้เครื่องจักร อุปกรณ์ ก๊าซหุงต้ม เครื่องมือที่มีกำลังเทียบเท่าตั้งแต่ 5 แรงม้าขึ้นไป หรือมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คนงานตั้งแต่ 7 คนขึ้นไป และการผลิตระดับครัวเรือน (ผู้ผลิตรายเล็ก) คือ สถานที่ผลิตที่ใช้เครื่องจักร อุปกรณ์ ก๊าซหุงต้ม เครื่องมือที่มีกำลังเทียบเท่าน้อยกว่า 5 แรงม้า หรือมีคนงานน้อยกว่า 7 คน ซึ่งความแตกต่างของกระบวนการผลิตขึ้นอยู่กับสถานที่ผลิต จำนวนคน และจำนวนอุปกรณ์การผลิต (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 193, 2543) นอกจากนี้พบว่ากระบวนการผลิตน้ำส้มคั้นระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้เครื่องจักรที่ทันสมัยในการผลิต ทำให้อัตราการผลิตสูง ใช้ระยะเวลาสั้น ลดการใช้แรงงานคน แต่ต้องใช้เงินลงทุนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตน้ำส้มคั้นระดับครัวเรือน ซึ่งใช้เงินลงทุนต่ำ กรรมวิธีในการผลิตไม่ยุ่งยาก แต่อัตราการผลิตต่ำ ใช้ระยะเวลานานกว่าการผลิตน้ำส้มคั้นในระดับอุตสาหกรรม (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524; วิสิฐ จะวะสิต และคณะ, 2547)

2.1.3.1 การคัดเลือกและการล้างทำความสะอาด

การคัดเลือกส้มก่อนนำมาผลิต เพื่อคัดเลือกผลส้มที่เสียออก ซึ่งส่วนใหญ่จะมีสิ่งสกปรกปะปนมาเสมอ มักเกิดจากกรรมวิธีการเก็บเกี่ยว การบรรจุ ภาชนะบรรจุที่ใช้และการขนส่งเคลื่อนย้ายต่างๆ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องล้างส้มให้สะอาด วัตถุประสงค์ที่สำคัญ คือ ล้างสิ่งที่ปะปนและลดปริมาณจุลินทรีย์ในการผลิต โดยการล้างทั่วๆไปอาจจะแบ่งได้เป็น 3 วิธี คือ การล้างด้วยมือ การแช่น้ำและการฉีดด้วยน้ำที่มีแรงดันสูงๆ ประสิทธิภาพการล้างจะขึ้นกับปริมาณน้ำที่ใช้และความดันของน้ำที่ฉีด ซึ่งการล้างอาจจะมีการใช้สารเคมี เช่น กรดเกลือ สารละลายคลอรีน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ (ทนง ภัครัชพันธุ์ , 2524) ขั้นตอนการล้างทำความสะอาดส้มจึงมีความสำคัญในกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้นซึ่งมักจะไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน จึงมีโอกาสพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์สูงหากล้างทำความสะอาดส้มไม่ดีเพียงพอ (วิสิฐ จะวะสิต และคณะ, 2547)

2.1.3.2 การคั้น

การคั้น เป็นขั้นตอนการสกัดของเหลวออกจากชิ้นส่วนของผลไม้ การคั้นน้ำส้มคั้น แบ่งออกเป็นขั้นตอนดังนี้

1) การผ่าส้มออกเป็น 2 ซีก

การผลิตระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้วิธีการใช้ใบมีดหมุน ซึ่งทำด้วยเหล็กปลอดสนิม หมุนด้วยความเร็วประมาณ 1,500 รอบต่อนาที ผลส้มหลังจากทำความสะอาดแล้วจะถูกส่งผ่านไปถึงใบมีดหมุน โดยส้มจะไหลไปตามรางซึ่งทำเป็นทางลาด หรือวิธีการใช้สายพานซึ่งมีง่ามติดอยู่ลำเลียงส้มไปยังใบมีดหมุน ซึ่งวิธีนี้เปลืองแรงมากกว่าวิธีแรก (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524) ในการผลิตระดับครัวเรือน นิยมใช้มีดที่สะอาดผ่าผลส้มออกเป็นสองซีก (วิสิฐ จะวะสิตและคณะ, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การคั้นน้ำส้มด้วยมือ

วิธีที่นิยม คือ การคั้นซีกของส้มบน "ที่คั้น" โดยใช้แรงคน แต่ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมมีการคิดค้นวิธีการคั้นโดยใช้ที่คั้นที่หมุนได้ด้วยมือคน ผลส้มเมื่อถูกผ่าออกเป็นสองซีกแล้วจะผ่านไปยังโต๊ะสำหรับคั้น โดยการใช้สายพานยาง ซึ่งระหว่างทางจะมีที่คั้นที่หมุนได้ 2 แถว ทำด้วยเหล็กปลอดสนิม หรือแก้วหมุนด้วยความเร็ว 600-1,500 รอบต่อนาที ความเร็วของการหมุนยิ่งเร็วมากขึ้นเท่าใดก็จะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของผิวด้านในฉีกขาดมากขึ้น แต่จะมีผลเสีย คือ ทำให้น้ำส้มซึ่งคั้นออกมานั้นมีอากาศปะปนมากขึ้น ปริมาณน้ำส้มที่คั้นโดยวิธีนี้ขึ้นกับคุณภาพของผลส้ม พันธุ์ของส้มและความชำนาญของผู้คั้น การคั้นน้ำส้มโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ดีที่สุด เพราะเซลล์น้ำมันระเหยที่เปลือกส้มไม่แตก แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีราคาแพง และต้องใช้คนมาก (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524)

3) การคั้นน้ำส้มด้วยเครื่องคั้น

เครื่องคั้นน้ำส้มในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้ คือ เครื่องคั้นน้ำส้มอัตโนมัติแบบจานหมุน (rotary) โครงสร้างทำด้วยสแตนเลส มีสายพานทำหน้าที่ลำเลียงผลส้มจากถังป้อนมายังชุดคั้น ซึ่งสายพานที่ใช้ในการลำเลียงผลส้มจะมีตะขอไว้สำหรับตักผลส้มที่คั้นไปสู่ระบบการผ่าผลส้มใช้ชุดใบมีดที่ติดตั้งอยู่กับที่ โดยออกแบบให้ใบมีดเอียงทำมุมกับแนวดิ่ง 45 องศา ระบบการคั้นประกอบด้วยชุดคั้นน้ำส้มที่มีลักษณะเป็นแบบจานหมุนมีหัวคั้นทั้งหมด 16 หัว ใช้ถาดสแตนเลส รองรับน้ำส้มบริเวณด้านล่างจานหมุน สำหรับการรองรับเปลือกส้มจะมีถาดทำด้วยสแตนเลส ติดตั้งไว้บริเวณด้านล่างตรงกลางเครื่อง ซึ่งพื้นถาดออกแบบให้เป็นมุมเอียงออกมาด้านข้าง เพื่อให้เปลือกส้มไหลออกไปยังภาชนะรองรับเปลือกส้มอีกทีหนึ่ง เมื่อคั้นผลส้มขนาด 45-50 มิลลิเมตร มีความสามารถในการคั้นผลส้มเท่ากับ 225.23 กิโลกรัมต่อชั่วโมง หรืออัตราการคั้นน้ำส้มเท่ากับ 80.48 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และเมื่อคั้นผลส้มขนาด 50-55 มิลลิเมตร มีความสามารถในการคั้นผลส้มเท่ากับ 219.23 กิโลกรัม ต่อชั่วโมง หรืออัตราการคั้นน้ำส้มเท่ากับ 82.56 กิโลกรัมต่อชั่วโมง (กนกวรรณ แซ่หล่อ, 2551)

ขั้นตอนการคั้นน้ำส้ม อาจมีผลทำให้น้ำส้มคั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นและรส ซึ่งกลิ่นของน้ำส้มเกิดจากน้ำมันหอมระเหย (essential oil) จากเปลือก ซึ่งมีในปริมาณที่น้อยมาก และที่อุณหภูมิสูงๆหรือสภาพสุญญากาศ น้ำมันหอมระเหย เหล่านี้อาจระเหยไปได้ โดยเฉพาะถ้าการคั้นน้ำส้มทำโดยการใช้เครื่องบีบแล้วจะทำให้น้ำมันจากเปลือกปะปนออกมากับน้ำส้มมากเกินไป ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่ดี เกิดจากการสลายหรือการไฮโดรไลซ์ของเทอร์พีนในน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ ส่วนการเปลี่ยนแปลงรสของน้ำส้มคั้น ทำให้น้ำส้มคั้นเกิดรสขม มีสาเหตุจากสารเคมีชื่อ ลิโมนิน (limonine) ซึ่งอยู่ในเปลือกขาวในเมล็ดและที่ผิวของกลีบ ปกติสารนี้อยู่ในรูปของไกลโคซาย (glycoside)ในระหว่างการสกัดเซลล์ของเปลือกขาว (flavido) จะแตกออก เมื่อน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาสัมผัสจะเปลี่ยนลิโมนิน จากรูปของไกลโคซายไปอยู่ในรูปของแลคโตน (lactone form) ซึ่งให้รสขมเกิดขึ้น นอกจากนี้การเปลี่ยนจากรูปที่ไม่ขมมาเป็นรสขมนั้นอาจจะเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นซึ่งสัมผัสกับออกซิเจน (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524)

2.1.3.3 การกรอง

การกรอง ใช้ผ้าขาวบางสะอาดมากรองแยกเศษชิ้นเล็กๆ ออกจากน้ำส้มคั้น (รัตนา อัตตปัญโญ, 2539) ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม นิยมการกรองโดยแยกเอาชั้นหยาบๆ ออกโดยการปล่อยให้น้ำส้มผ่านไปยังตะแกรงซึ่งมีรูพรุน ขนาด 3 มิลลิเมตร เพื่อไม่ให้เม็ดส้มหรือเศษชิ้นเล็กๆปนเปื้อนลงในน้ำส้มคั้นซึ่งมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของน้ำส้มคั้น (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524)

2.1.3.4 การปรับคุณภาพ

1) การปรับคุณภาพด้านความเป็นกรด

สุ่มตัวอย่างน้ำส้มคั้นที่ได้ ไปวัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ให้มีค่าความเป็นกรดด่างตามที่ต้องการ ซึ่งหากค่าความเป็นกรดด่าง มีค่าสูงกว่าที่ต้องการ ต้องปรับความเป็นกรด โดยการเติมกรดซิตริกลงไปผสมทีละน้อย คนให้กรดซิตริกละลาย ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่างจนได้ค่าตามที่ต้องการ (รัตนา อัตตปัญโญ, 2539)

2) การปรับคุณภาพด้านความหวาน

สุ่มตัวอย่างน้ำส้มคั้นที่ปรับกรดแล้วมาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (refractometer)แล้วนำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณน้ำตาลที่จะต้องเติมลงไปให้ได้ความหวานตามที่ต้องการ (รัตนา อัตตปัญโญ, 2539)

ขั้นตอนการปรับคุณภาพ มีผลทำให้น้ำส้มคั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำส้มคั้น ซึ่งมีผลต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยทั่วไปน้ำส้มคั้นมีความเป็นกรดด่างค่อนข้างต่ำ (ประมาณ 3.0-4.0) จึงเป็นข้อจำกัดของชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถรอดชีวิตหรือเจริญเติบโต ขณะเดียวกันก็มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็นองค์ประกอบค่อนข้างสูง (ประมาณ 15 องศาบริกซ์) ดังนั้นจึงพบว่ายีสต์มักเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของน้ำส้มคั้น (Arias et al., 2002)

2.1.3.5 การบรรจุ

บรรจุน้ำส้มคั้นลงในภาชนะบรรจุที่นิยมใช้ ได้แก่ ขวดและฝาพลาสติก ที่ผ่านการทำความสะอาด โดยนำขวดมาวางเรียงในตะกร้า เทน้ำสะอาดเข้าไปในแต่ละขวด นำตะกร้าสะอาดอีกใบวางคว่ำไว้ด้านบน เขย่าขวดในตะกร้า และพลิกให้ตะกร้าด้านบนลงอยู่ด้านล่างให้ขวดอยู่ในลักษณะคว่ำ เพื่อเทน้ำในขวดทิ้ง แล้วผึ่งให้แห้ง ในส่วนฝาหากทนความร้อนได้ ให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปนึ่งในลังถึงที่มีน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หรือลวกฝาด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที หากฝาไม่ทนความร้อน ให้แช่ในสารละลายคลอรีน 100 พีพีเอ็ม แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง แล้วสะเด็ดน้ำออกก่อนจะนำมาใช้ โดยการเทน้ำส้มคั้นจากภาชนะบรรจุ ลงในขวดพลาสติกและปิดฝา (วิสิฐ จะวะสิตและคณะ, 2547)

ขั้นตอนการบรรจุ อาจมีผลทำให้น้ำส้มคั้นเกิดการเปลี่ยนสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นมักเกิดจากออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำส้มก่อนที่จะถูกบรรจุหรือออกซิเจนที่เหลืออยู่บริเวณเหนือน้ำส้มหรืออาจเกิดจากออกซิเจนเข้าไปในภาชนะบรรจุในระหว่างการเปิดฝา รวมทั้งการซึมผ่านของออกซิเจนเข้าไปในภาชนะบรรจุที่เป็นพลาสติก ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำส้ม (Ashurst, 1995)

2.1.3.6 การเก็บรักษา

น้ำส้มคั้นเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (วิสิฐ จะวะสิตและคณะ, 2547) การใช้ความเย็นเป็นกรรมวิธีที่ลดอุณหภูมิของเครื่องดื่ม เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์ และลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่ม โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสน้อยที่สุด (วิไล รังสาดทอง, 2547)

ขั้นตอนการเก็บรักษา อาจมีผลทำให้น้ำส้มคั้นเกิดการสูญเสียทางด้านความข่น ซึ่งมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เอนไซม์ที่พบในน้ำส้ม คือ เพคตินเมททิลเอสเทอเรส (pectinemethylesterase) ทำให้เกิดการตกตะกอนในน้ำส้ม โดยจะไฮโดรไลซ์พันธะเมทิลเอสเทอร์ของเพคซิน ได้เป็นกรดเพคตินและเมทานอล การไฮโดรไลซ์เพคตินเป็นกรดเพคตินในภาวะมีแคลเซียมไอออนจะเกิดการเชื่อมพันธะระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของกรดเพคติกกับแคลเซียมไอออน เกิดเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำจึงตกตะกอนลงมา (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) นอกจากนี้ ลินจง สุขลำภู (2546)พบว่าความคงตัวของความข่นของน้ำส้มคั้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งน้ำส้มคั้นเกิดการสูญเสียความข่น ที่ระยะเวลา 15 วัน โดยวัดค่าการยอมให้แสงผ่าน (transmission) ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าเกิน 36 เปอร์เซ็นต์

2.1.3.7 ข้อควรปฏิบัติทั่วไปที่จำเป็นในการผลิตน้ำส้มคั้นในระดับอุตสาหกรรมและระดับครัวเรือน มีดังนี้

1) สุขาภิบาลของผู้ปฏิบัติงาน (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 193, 2543; วิสิฐ จะวะสิตและคณะ, 2547)

- แต่งกายสะอาด สวมเสื้อมีแขน สวมผ้ากันเปื้อน สวมหมวกหรือเนทคลุมผม ไม่สวมเครื่องประดับ ไม่ทาเล็บมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ล้างมือให้สะอาดอยู่เสมอ โดยเฉพาะหลังออกจากห้องน้ำ ห้องส้วม หรือหลังจากการหยิบจับสิ่งสกปรก และก่อนปฏิบัติงานทุกครั้ง

- ไม่พูด ไอ หรือจามรดเครื่องดื่ม ขณะไอ, จาม ต้องใช้ผ้าปิดปาก ปิดจมูก ถ้าใช้มือปิดปาก ปิดจมูก ต้องล้างมือให้สะอาดทันที

2) สุขาภิบาลของอาคารสถานที่ และอุปกรณ์ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 193, 2543; วิสิฐ จะวะสิตและคณะ, 2547)

- แยกบริเวณผลิตออกเป็นสัดส่วนจากบริเวณที่อยู่อาศัย
- น้ำที่ใช้ผลิตเครื่องดื่ม หรือสัมผัสเครื่องดื่มต้องเป็นน้ำที่บริโภค
- มีการติดตั้งมุ้งลวด ป้องกันแมลงรอบอาคาร
- มีครอบพลาสติก ป้องกันหลอดไฟ
- มีส้วมที่ถูกลักษณะ แยกจากบริเวณผลิต หรือไม่เปิดสู่บริเวณผลิตโดยตรง ต้องมีจำนวนเพียงพอ และติดตั้งอ่างล้างมือและสบู่
- มีการกำจัดหนู แมลง และสัตว์พาหะอื่นๆ
- จัดให้มีภาชนะรองรับขยะที่มีฝาปิด อย่างเพียงพอ และขนขยะไปทิ้งในพื้นที่ซึ่งห่างจากบริเวณผลิต
- ทำการล้างอุปกรณ์ก่อน หลัง และในขณะทำการผลิตทุกครั้ง และเก็บรักษาให้อยู่ในสภาพที่สะอาด
- จัดให้มีทางระบายน้ำและสิ่งโสโครกอย่างมีประสิทธิภาพเหมาะสม

การจัดการสุขาภิบาลของผู้ปฏิบัติงาน อาคารสถานที่ และอุปกรณ์ เป็นสิ่งสำคัญในกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้น เพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้น Sospedra et al., (2011) ศึกษาจุลินทรีย์ที่พบในกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้นจากเครื่องคั้นน้ำส้ม พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่ม aerobic, mesophilic bacteria และ enterobacteriaceae ในน้ำส้มคั้นเกินมาตรฐาน คิดเป็น 12 และ 43 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างน้ำส้มคั้นทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากขั้นตอนการเตรียม การขนส่งและการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นไม่ถูกสุขลักษณะ รวมทั้งการทำความสะอาดภาชนะบรรจุและเครื่องคั้นน้ำส้มไม่เพียงพอ

2.1.4 มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

2.1.4.1 ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2553 (เครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เช่น เครื่องดื่มรถเข็น/ แผงลอยริมถนน/ร้านอาหาร ฯลฯ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ยีสต์ น้อยกว่า 5.0×10^3 cfu/ml
- รา น้อยกว่า 1.0×10^2 cfu/ml
- *E. coli* ไม่พบ
- *Staph. aureus* ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร
- *Salmonella* spp. ไม่พบในตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร
- *Clostridium perfringen* น้อยกว่า 1.0×10^2 cfu/ml
- *Bacillus cereus* น้อยกว่า 1.0×10^2 cfu/ml

2.1.4.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำผลไม้ : น้ำส้ม (มอก. 99 - 2549)

1) ทางด้านกายภาพ

- สีตามธรรมชาติของส้มที่ใช้ ไม่มีสีผิดปกติ
- กลิ่นตามธรรมชาติของส้มที่ใช้ และปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์
- กลิ่นรสตามธรรมชาติของส้มที่ใช้

2) ทางด้านเคมี

- สารที่ละลายน้ำ ไม่น้อยกว่า 10 องศาบริกซ์
- ห้ามใช้วัตถุกันเสีย
- ห้ามใช้สีสังเคราะห์
- สารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตะกั่ว ไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทองแดง ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สังกะสี ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เหล็ก ไม่เกิน 15.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดีบุก ไม่เกิน 250.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

3) ทางด้านจุลินทรีย์

- โคลิฟอร์ม โดยวิธี most probable number (MPN) น้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- *E. coli* ไม่พบในตัวอย่าง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- ยีสต์และราไม่พบในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- *Clostridium perfringen* ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- *Staph. aureus* ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- *Salmonella* ไม่พบในตัวอย่าง 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2.1.4.3 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำผลไม้ : น้ำส้ม (มผช. 275 / 2547)

1) ทางด้านกายภาพ

- ของเหลวขุ่น อาจมีถุงส้มปนอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สี กลิ่น และรสที่ดีตามธรรมชาติของส้ม ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

2) ทางด้านเคมี

- หากมีการใช้วัตถุกันเสีย ให้ใช้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนด ดังนี้ กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) และกรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก (คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกัน ต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

- หากมีการใช้สเตบิไลเซอร์ ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด

3) ทางด้านจุลินทรีย์

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน 1.0×10^4 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร
- *E. coli* โดยวิธี MPN น้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร
- ยีสต์และรา น้อยกว่า 100 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร
- *Staph. aureus* ไม่พบ ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

2.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย

2.2.1 ชนิดของจุลินทรีย์

2.2.1.1 ยีสต์

ยีสต์ที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย ได้แก่ ยีสต์ในกลุ่ม *Candida, Pichia* และ *Saccharomycess* โดย *Candida* ทำให้เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์เน่าเสียอย่างช้าๆ และทำให้น้ำผลไม้ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำเน่าเสียเกิดฝ้าขาว เนื่องจาก *Candida* เป็นพวกไซโครไฟล์ที่แท้จริง มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่ 11 องศาเซลเซียส และไม่ชอบอุณหภูมิสูง ดังนั้นจึงพบ *Candida* ในน้ำผลไม้ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำถึง 95 เปอร์เซ็นต์ของยีสต์ที่พบทั้งหมดหรือมากกว่า สายพันธุ์ที่พบ ได้แก่ *C. apicola, C. boidinii, C. diddensiae, C. diversa, C. fusiformata, C. inconspicue, C. intermedia, C. magnolia, C. norvegica, C. oleophila, C. parapsilosis, C. sake, C. steatolytica, C. stellate, C. tropicalis, C. vartiovaarai* และ *C. varonae* ยีสต์ในกลุ่ม *Pichia* ทำให้เกิดฝ้าบนผิวหน้าเบียร์ ไวน์ *Pichia* สายพันธุ์ที่พบในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เครื่องดื่ม และน้ำผลไม้ ได้แก่ *P. angasta, P. anomala, P. delftensis, P. fermentans, P. guilliermondii, P. membranaefaciens* และ *P. nakasei* ยีสต์ในกลุ่ม *Saccharomyces* ทำให้เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอลล์เน่าเสีย โดยเกิดการหมัก ทำให้เกิดแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์และกรด ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่นรสผิดปกติ ส่วน *Saccharomyces* เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์เน่าเสีย ได้แก่ *Sac. cerevisia* และ *Sac. uvarum* เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้น้ำส้มเข้มข้นที่มีความหวาน 63 องศาบริกซ์เน่าเสีย ได้แก่ *Sac. rouxii* (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539)

2.2.1.2 รา

ราที่ทำให้น้ำผลไม้เน่าเสีย ได้แก่ ราในกลุ่ม *Fusarium, Penicillium* และ *Aspergillus* โดย *Fusarium* สามารถสร้างสารพิษพวกไตรโคทีซีน (trichothecenes) และซีราลีโนน (zearalenone) ได้แก่ *F. tricincyum* และ *F. graminearum* ราในกลุ่มของ *Penicillium* ทำให้เกิดบนผิวหน้าของน้ำส้มคั้น ได้แก่ *Pen. glaucum* และ *Pen. ditatum* และราในกลุ่มของ *Aspergillus* สามารถสร้างสารพิษโอคราทอกซิน เอ (Ochratoxin A) ในน้ำส้มคั้น ได้แก่ *A. westerdijkiae* (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524; วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539; Marino et al., 2009)

2.2.1.3 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย ได้แก่ แบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* โดย *Lactobacillus* สร้างสารไดแอซีทิล (diacetyl) แอซีเทต (acetate) ฟอร์เมท (formate) ซักซิเนต (succinate) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และ เอทานอล (ethanol) ซึ่งไดแอซีทิล 2,3 - บิวเทนไดโอน (diacetyl 2,3 - butanedione) เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสคล้ายกลิ่นนมเนย (buttermilk) ทำให้เกิดเมือกในน้ำผลไม้ เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำองุ่น เป็นต้น *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่ทำให้น้ำผลไม้เน่าเสีย ได้แก่ *L. plantarum* และ *L. brevis* แบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม *Leuconostoc* สร้างกรดแลคติก (lactic acid) เอทานอล (ethanol) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และไดแอซีทิล (diacetyl) ทำให้เกิดเมือกในเครื่องดื่ม เช่น น้ำอ้อย ไวน์ เป็นต้น *Leuconostoc* สายพันธุ์ที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย ได้แก่ *Leu. mesenteroides* และ *Leu. dextranicum* (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539)

2.2.2 จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น

ลดาพรรณ แสงคล้าย และคณะ(2533) สำรวจคุณภาพของน้ำผลไม้หาบเร่จากแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 14 ชนิด ได้แก่ น้ำบ๊วย น้ำใบบัวบก น้ำมะพร้าว น้ำแห้วน้ำจับเลี้ยง น้ำเก๊กฮวย น้ำกระเจี๊ยบ น้ำมะนาว น้ำลูกเกด น้ำลำไย น้ำอ้อย น้ำส้ม น้ำตาลสด และน้ำระกำ พบว่าในน้ำส้มมีการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์และรา ปริมาณ 5.0×10^3 และ 2.0×10^3 cfu/ml ตามลำดับ

Arias et al. (2002) ศึกษาชนิดของเชื้อยีสต์ที่พบในน้ำส้มคั้นสด โดยศึกษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ คิดเป็น 57 เปอร์เซ็นต์ เชื้อยีสต์ที่พบโดดเด่น 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Hanseniaspora occidentalis* และ *H. uvarum* คิดเป็น 27 และ 46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรมอนามัย (2548) ศึกษาเครื่องดื่มประเภทที่ไม่มีส่วนผสมของนมในศูนย์อาหารของห้างสรรพสินค้า เขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 11 ประเภท ได้แก่ ชาดำเย็น ชามะนาว น้ำกระเจี๊ยบ น้ำมะตูม น้ำมะนาว น้ำมะพร้าว น้ำลำไย น้ำส้ม น้ำหวาน น้ำเก๊กฮวย และโอเลี้ยง จากการเก็บตัวอย่างน้ำส้ม มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliforms) *E. coli* ยีสต์ รา และ *Staph. aureus* คิดเป็น 51.4 1.4 74.4 6.7 และ 37.9 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างน้ำส้มทั้งหมด ตามลำดับ

หน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2552) ศึกษาปัญหาและแนวทางแก้ไขการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข โดยเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มในกลุ่มที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 11 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำส้มคั้นสด 4 ตัวอย่าง น้ำแครอท 1 ตัวอย่าง น้ำใบบัวบก 3 ตัวอย่าง น้ำมะนาว 1 ตัวอย่าง น้ำพันช์ผลไม้รวม 1 ตัวอย่าง และน้ำพันช์อัญชัน 1 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่าน้ำส้มมีการปนเปื้อนของเชื้อโคลิฟอร์ม, *Staph. aureus*, ยีสต์ และรา ปริมาณ 2.72 2.72 4.08 และ 2.38 log cfu/ml ตามลำดับ คิดเป็น 25 25 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างน้ำส้มทั้งหมด

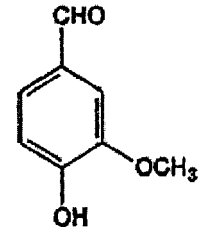
Marino et al. (2009) ศึกษาการสร้างสารพิษโอคราทอกซินเอของเชื้อ *A. westerdijkiae* ในน้ำส้มคั้นสด พบว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า 26 องศาเซลเซียส เชื้อ *A. westerdijkiae* สามารถเจริญและสร้างสารพิษได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 4 องศาเซลเซียส อัตราการเจริญของเชื้อลดลงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และไม่พบการเจริญของเชื้อ *A. westerdijkiae* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3 วานิลลิน

2.3.1 ลักษณะทั่วไป

วานิลลิน (Vanillin) หรือ 4-hydroxyl-3-methoxybenzaldehyde เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล $C_8H_8O_3$ ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ คือ อัลดีไฮด์ (aldehyde) อีเทอร์ (ether) และแอลกอฮอล์ (alcohol) (Walton et al., 2003) ลักษณะโครงสร้างทางเคมี และคุณสมบัติทางด้านกายภาพและเคมีของวานิลลิน ดังภาพที่ 2.1 และตารางที่ 2.2 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Vanillin

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของวานิลลิน

ที่มา : Walton et al. (2003)

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของวานิลลิน

สมบัติทางกายภาพและเคมี	ข้อมูล
ชื่อสามัญ	4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde; methyl-protocatechuic aldehyde; vanillic aldehyde;3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde
สูตรโมเลกุล	$C_8H_8O_3$
โครงสร้างทางเคมี	$(CH_3O)C_6H_3(OH)CHO$
ลักษณะทางกายภาพ	มีสีขาว หรือ สีหลืองอ่อน ผลึกรูปเข็ม (needles)
น้ำหนักโมเลกุล	152.15
จุดหลอมเหลว	80-81 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	285 องศาเซลเซียส
การละลายน้ำ	1 กรัม/100 มิลลิลิตร

ที่มา : Budavari et al. (1996)

2.3.2 แหล่งที่มาของวานิลลิน

วานิลลิน สามารถสกัดได้จากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ ดังนี้

2.3.2.1 วานิลลินจากธรรมชาติ

วานิลลินสามารถสกัดได้จากฝักวานิลลา (*Vanilla fragans*) ซึ่งมีรูปร่างคล้ายฝักถั่ว ภายในมีเมล็ดเล็กๆ จำนวนมาก เมื่อฝักแก่จะถูกเก็บมาผ่านกระบวนการ โดยตากแดดให้อุ่นในตอนเช้าแล้วห่อด้วยผ้าเพื่อให้เกิดการหมักตลอดทั้งวัน ทุกวันเป็นเวลาประมาณ 6 เดือน ซึ่งจะทำให้ฝักมีกลิ่นหอมซึ่งเกิดจากสารวานิลลิน ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบในฝักวานิลลา 1.5-3 เปอร์เซ็นต์ จะอยู่ในรูปของเหลวเหนียวๆ ที่ขนของชั้น endocarp และช่องว่างของฝัก พบว่ามีตกเป็นผลึกรูปเข็มอยู่ด้วยวานิลลินเป็นอัลดีไฮด์(aldehyde)ของ methyl protocatechuic acid พืชนั้นมีชีวสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

มาจากกรดเฟอรูริค (feruric acid) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นวานิลลินโดยปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยฝักวานิลลาที่ยังเขียวอยู่จะพบ glycoside glucovanillin (vanilloside) และ glucovanillic alcohol ในระหว่างการบ่มจะถูกออกซิไดซ์ (oxidise) และ ไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) ด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในฝักได้วานิลลิน (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)

2.3.2.2 วานิลลินสังเคราะห์

วานิลลินที่ได้จากธรรมชาติมีราคาแพงมาก ดังนั้นวานิลลินที่ใช้ในอุตสาหกรรมจึงได้จากการสังเคราะห์โดยการสังเคราะห์เพื่อการค้าครั้งแรกตั้งต้นจาก ยูจีนอล (eugenol) เมื่อผ่านกระบวนการไอโซเมอเรชันจะได้ไอโซยูเจนอล (isoeugenol) และตามด้วยกระบวนการออกซิเดชันจะได้วานิลลิน แต่ปัจจุบันได้จากฟอร์มิเลชัน (formylation) กัวไอเอคอล (guaiacol) หรือเรียกว่าปฏิกิริยาไรเมอร์-ไทมานน์ (Reimer-Tiemann reaction) โดยการหมักลิกนิน (lignin) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมกระดาษ นอกจากนี้ยังพบว่าวานิลลิน สามารถสังเคราะห์ได้จากขี้เลื่อย เนื้อไม้ที่เป็นขี้เลื่อยเป็นวัสดุเหลือใช้ประกอบด้วยลิกนินเป็นจำนวนมาก ลิกนินเหล่านี้เป็นสารประกอบที่เคลือบอยู่ตามผนังเซลล์ จากองค์ประกอบของลิกนินซึ่งเป็น phenyl propanoid ต่อกันอย่างไม่เป็นระบบจำนวนมาก (net work) ในจำนวน phenyl propane ที่มีอยู่มากมายนี้เอง พบว่ามีอยู่ 2 แม่แบบเท่านั้นคือ แบบ guaiacyl propane และ syringyl propane และจากการทดลองสังเคราะห์วานิลลิน ด้วยขี้เลื่อยของไม้ในกลุ่ม angiospermae พบว่าไม้เนื้ออ่อน (soft wood) จะมีลิกนินที่เป็นชนิด guaiacyl propane เพียงอย่างเดียว เมื่อทำการสังเคราะห์ก็จะได้วานิลลิน ส่วนไม้เนื้อแข็ง (hard wood) จะมีลิกนินชนิด guaiacyl propane และ syringyl propane ทั้ง 2 ชนิด ปนกันอยู่ เมื่อทำการสังเคราะห์จะได้วานิลลิน และsyringaldhyde ปนกัน ผลิตผลสูงสุดที่เคยสังเคราะห์วานิลลินได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ ในบรรยากาศที่เหมาะสมทั้งอุณหภูมิและความดันโดยใช้ alkaline nitrobenzene oxidation วานิลลินสามารถสังเคราะห์ได้จากยูจีนอล และ safrol ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมากในน้ำมันกานพลู หรืออบเชย และsassafras ซึ่งประเทศที่มีการผลิตวานิลลินจำนวนมาก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส เยอรมันตะวันตก และญี่ปุ่น (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)

2.3.3 ประโยชน์ของวานิลลิน

2.3.3.1 สารแต่งกลิ่น

วานิลลิน เป็นสารสกัดจากฝักวานิลลามีกลิ่นหอม เป็นที่ยอมรับว่ามีความปลอดภัย (Generally Regarded as Safe : GRAS) จึงนำไปใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในอาหาร ไอศกรีม เครื่องดื่ม สบู่ ยา และเครื่องสำอาง (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

120092

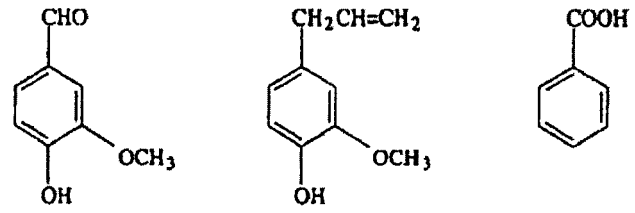
2.3.3.2 ทางเภสัชวิทยา

วานิลลินมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถต้านการเกิดลำไส้อักเสบ การหดตัวของเม็ดเลือดแดง และบรรเทาอาการปวด นอกจากนี้วานิลลินยังสามารถต้านมะเร็ง ซึ่งเกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล และคณะ (2548) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีกับคุณสมบัติต้านมะเร็งของวานิลลินและสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคล้ายกัน โดยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด พบว่าหมู่เคมีทุกหมู่ในโครงสร้างของวานิลลินมีความสำคัญต่อฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง

2.3.3.3 การยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร และเครื่องดื่ม

วานิลลินมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยอัลดีไฮด์และฟีนอล เป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ เกิดจากการยับยั้งการทำงานของผนังเซลล์จุลินทรีย์ในการส่งผ่านอิเล็คตรอน การเคลื่อนย้ายโปรตีน ตลอดจนปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่างๆ ทำให้เซลล์ถูกทำลาย (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550) Fitzgerald et al. (2003) รายงานว่าอัลดีไฮด์และฟีนอลในโครงสร้างของวานิลลิน ทำหน้าที่ยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์และรา โดยยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการสูญเสียไอออนที่ส่งผ่านเข้าออกระหว่างเซลล์ ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างเสียสมดุล ยับยั้งอัตราการหายใจของเซลล์ ศิวาพร ศิวเวชช (2535) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลิน และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากความเข้มข้นของวานิลลินที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยเพิ่มระยะเวลาในช่วง lag phase นานยิ่งขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีการเจริญในช่วงนี้จะมีความแข็งแรงน้อย ทำให้จุลินทรีย์มีโอกาสถูกทำลายได้มากขึ้น นอกจากนี้ Fitzgerald et al. (2004) พบว่าวานิลลินมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับยูจีนอล (eugenol) และกรดเบนโซอิก (benzoic acid) ดังภาพที่ 2.2 ซึ่งสารดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งยูจีนอลเป็นสารประกอบซึ่งเป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ทำหน้าที่ขัดขวางกระบวนการละลายของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนเสื่อมสภาพ เซลล์จึงถูกทำลาย (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542) ส่วนกรดเบนโซอิก (benzoic acid) มีผลต่อผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการซึมผ่านของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) จะเห็นได้ว่า วานิลลินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ จึงมีการนำไปใช้ในอาหารและเครื่องดื่ม เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Vanillin Eugenol Benzoic acid

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของวานิลลินเปรียบเทียบกับยูจีนอล และ กรดเบนโซอิก

ที่มา : Rupasinghe (2006)

2.3.4 วานิลลินกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Cerrutti and Alzamora (1996) ศึกษาผลของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยมิ้นท์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ทำให้แอปเปิ้ลเข้มข้นเน่าเสีย โดยทดสอบวานิลลินที่ความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 พีพีเอ็ม น้ำมันหอมระเหยมิ้นท์ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม และผลร่วมของสารทั้งสองชนิด พบว่าวานิลลินที่ความเข้มข้น 2,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งยีสต์ *Sac. cerevisiae, Zygosaccharomyces rouxii, Z. bailii* และ *Debaryomyces hansenni* โดยพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อน้อยกว่า 1 log cfu/ml ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วัน

Fitzgerald et al. (2004) ศึกษาผลของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ทำให้น้ำแอปเปิ้ลพาสเจอร์ไรส์และน้ำอัดลมกลิ่นพีชเน่าเสีย ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส โดยทดสอบวานิลลินที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าวานิลลินสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sac. cerevisiae* และ *C. parapsilosis* ที่ความเข้มข้น 20 และ 10 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อเก็บรักษาน้ำแอปเปิ้ลและน้ำอัดลมกลิ่นพีช ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเพิ่มมากขึ้น

Penney et al. (2004) ศึกษาผลของวานิลลินในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้โยเกิร์ตรสผลไม้เน่าเสีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 cfu/ml โดยทดสอบวานิลลินที่ความเข้มข้น 250-2,000 พีพีเอ็ม พบว่าวานิลลินที่ความเข้มข้น 2,000 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยลดจำนวนเชื้อเหลือน้อยกว่า 2 log cfu/ml และสามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาโยเกิร์ตมากกว่า 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Vasantha et al. (2006) ศึกษาผลของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียในแอปเปิ้ลสดตัดแต่ง โดยทดสอบวานิลลินที่ความเข้มข้น 1.5 3.0 6.0 12.0 และ18.0 มิลลิโมลาร์ พบว่าวานิลลินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย ได้แก่ *E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter aerogenes* และ *S.* enterica subsp. *enterica* serovar Newport, *C. albicans, Sac. cerevisiae* และ*P. expamsum* และค่า minimal inhibition concentration (MIC) ในการยับยั้งเชื้อ *L. casei* มีค่า 3.0 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cielo et al. (2008) ศึกษาผลการใช้ความร้อนต่ำ (อุณหภูมิ 52 - 61 องศาเซลเซียส) ร่วมกับวานิลลิน (ความเข้มข้น 900 - 1,100 พีพีเอ็ม) และซิทรัล (ความเข้มข้น 0 - 75 พีพีเอ็ม) ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria innocua* ในน้ำส้มพาสเจอร์ไรซ์ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 x 10^8 cfu/ml พบว่า วานิลลินที่ความเข้มข้น 900 พีพีเอ็ม และซิทรัลที่ความเข้มข้น 25 พีพีเอ็ม ร่วมกับการให้ความร้อนต่ำที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4.07 นาที หรือ อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.30 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของ *Lis. innocua* ลดลง 5 log cfu/ml

Mourtzinos et al. (2009) ศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของวานิลลิน โดยวิธี agar well diffusion พบว่าวานิลลินร่วมกับกรดวานิลลิกที่ความเข้มข้นในอัตราส่วน 100 : 0 77 : 23 53 : 47 25 : 75 และ 0 :100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *Staph. aureus*, *Staph.epidermidis*, *B.cereus*, *Ent. aerogenes*, *E. coli* 0157:H7, *Lis. monocytogenes*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *Yersinia enterocolitica* โดยค่า MIC เฉลี่ยในแต่ละความเข้มข้น มีค่า 5.0 5.5 7.8 10.5 และ 12.6 มิลลิโมลาร์

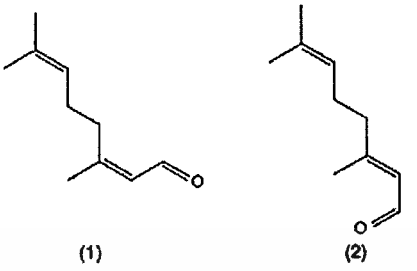
2.4 น้ำมันหอมระเหยตะไคร้

2.4.1 ลักษณะทั่วไป

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (Lemongrass essential oil) สกัดได้จากตะไคร้ (Lemongrass) ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. เป็นพืชล้มลุกที่มีลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า เป็นพืชที่มีดอกยาก นิยมปลูกในอินโดนีเซีย ศรีลังกา พม่า หมู่เกาะมาดากาสการ์ กัวเตมาลา และไทย น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ สามารถสกัดได้จากส่วนเหนือดินของต้นตะไคร้ โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด โดยการให้ไอน้ำผ่านตะไคร้ที่อยู่ในหม้อกลั่น น้ำมันหอมระเหยจะถูกสกัดออกมาพร้อมกับไอน้ำซึ่งจะผ่านไปตามท่อ และถูกทำให้เย็นตัวเป็นของเหลวเก็บไว้ในขวด น้ำมันหอมระเหยตะไคร้จะแยกตัวออกจากชั้นน้ำมีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน หรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัว มีความปลอดภัย (คมสัน หุตะแพทย์, 2549) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ประกอบด้วย ซิทรัล (citral) (65-85 เปอร์เซ็นต์)สารอื่นๆ ได้แก่ myrcene (12-20 เปอร์เซ็นต์) dipentene, methylheptenone,β-dihidropseudoionone,แอลกอฮอล์ (alcohols) หลายชนิด เช่น linalool, methylheptenol, α- terpineol, geraniol, nerol, farnesol, citronellol และ อัลดีไฮด์ (aldehyde) เช่น citronellal, decanal, farnesal กรดระเหยได้ เช่น isovaleric acid, geranic acid, caprylic acid, citronellic acid (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542) ซึ่งองค์ประกอบหลักที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ คือ ซิทรัล หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cis- and trans-3, 7-dimethyl-2, 6-octadienal เป็นสารอนุพันธ์ที่ได้จากพืชที่มีสูตรโมเลกุล $C_{10}H_{16}O$ ลักษณะโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 2.3



(1) (2)

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของซิทรัล (1) cis-3,7-dimethyl-2,6-Octadienal (2) trans-3,7-dimethyl-2,6-Octadienal

ที่มา : Lalko and Api (2008)

2.4.2 ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

2.4.2.1 สารแต่งกลิ่น

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้นำมาใช้ประโยชน์ในการทำเครื่องหอม สบู่ เครื่องสำอาง และใช้แต่งกลิ่นในอาหารหลายชนิด เครื่องดื่มชนิดที่มีแอลกอฮอล์และไม่มีแอลกอฮอล์ ขนมหวาน ขนมผิง ขนมนึ่ง และเยลลี่ อาหารคาวพวกเนื้อกระป๋อง ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องแกง (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)

2.4.2.2 ทางเภสัชวิทยา

- ฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ มีสารเคมีที่ออกฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ คือ เมนทอล (menthol)ซินิออล(cineole)การบูร (camphor) และลินาโลออล (linalool) จึงลดอาการแน่นจุกเสียด (Haginiwa et al., 1963)

- ทำลายแบคทีเรียสาเหตุอาการแน่นจุกเสียดและท้องเสีย โดยซิทรัลในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการท้องเสีย ได้แก่ *E. coli*, *Shigella flexneri* และ *B. subtilis* (Cimanga et al., 2002)

- ทำลายเชื้อรา สาเหตุของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกลื้อน โดยซิทรัลและไมซริลในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง ได้แก่ *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum* และ *Microsporum gypseum* (Wannissorn et al., 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- บรรเทาอาการปวดได้ และยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อท้องได้ ลดอาการแน่นจุกเสียด โดยเมนทอล (menthol) การบูร (camphor) และลินาโลออล (linalool) ในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (Evans et al., 1978)

2.4.2.3 การยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร และเครื่องดื่ม

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ ซิทรัล ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญประกอบด้วย อัลดีไฮด์ สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ ได้แก่ *C. albicans, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis* และ *C. tropicalis* (Silva et al., 2008) แบคทีเรีย ได้แก่ *Diplococcus pneumoniae, Enterococci, E. coli, Mycobacterium tuberculosis* และ *Staph. aureus* และเชื้อรา ได้แก่ Herpes simplex และ Influenza กลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารซิทรัล คือ ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของผนังเซลล์จุลินทรีย์ในการส่งผ่านอิเล็คตรอน การเคลื่อนย้ายโปรตีน ตลอดจนปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่างๆทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย เนื่องจากสารซิทรัลเป็นสารละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นจึงละลายได้ดีในส่วนของผนังเซลล์ของเชื้อ (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550) น้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ จึงมีการนำไปใช้ในอาหารและเครื่องดื่ม เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานยิ่งขึ้น

2.4.3 น้ำมันหอมระเหยตะไคร้กับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้ และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเอทานอล และน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ที่ความเข้มข้น 40 และ 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

อัจฉรา เหมทานนท์ และคณะ (2532) ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการต้านเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ *Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum, Trichophyton mentagrophytes* และ *T. rubrum* พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราดังกล่าวได้ โดยค่า MIC มีค่า 5 10 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Wannissorn et al. (1996) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อรา พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้สามารถยับยั้ง *Trichophyton mentagrophytes, T. rubrum, Epidermophyton floccosum* และ *Microsporum gypseum* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 122.5 135 115 และ 235 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

Belleti et al. (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบที่มีกลิ่นหอม (aroma compound) ได้แก่ เฮกซานอล (hexanal) ซิทรัล (citral) และซิตรอน (citron) ในการยับยั้งเชื้อ *Sac. cerevisiae* ในเครื่องดื่มที่ไม่ผสมแอลกอฮอล์ พบว่าการใช้สารทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้น 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

90 และ 375 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ร่วมกับการให้ความร้อนต่ำ (55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียว

Nikos and Costas (2007) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 25- 500 พีพีเอ็ม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum coccodes, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Rhizopus stolonifer* และ *A. niger* พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 25 พีพีเอ็ม ยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา 70 เปอร์เซ็นต์

Silva et al. (2008) ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และซิทรัลในการยับยั้งการเจริญของ *Candida* spp. โดยวิธี agar diffusion ที่ปริมาตร 2 4 และ 8 ไมโครลิตร/ดิสก์ (disc) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และซิทรัลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis* และ*C. tropicalis* ไม่แตกต่างกัน โดยที่ปริมาตร 8 ไมโครลิตร/ดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อได้มากที่สุด

Naik et al. (2010) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค โดยวิธี agar diffusion และ วิธี broth dilution ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, B.cereus, B.subtilis, E.coli* และ *K. pneumonia* นอกจากนี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

Shaaban et al. (2010) ศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ในการยับยั้งเชื้อราในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ โดยทดสอบน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0.05 0.10 0.30 0.50 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. flavus, A. parasiticus* และ *A. ochraceus* และยืดอายุการเก็บรักษาโยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) พันธุ์รังสิต (ตลาดไท, ปทุมธานี) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.2 น้ำส้มคั้น (ร้านค้าในกระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี)

3.1.3 น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลิตด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (สมุนไพรออนไลน์, กรุงเทพฯ)

3.1.4 วานิลลิน 99.5 เปอร์เซ็นต์ (เบเกอรี่แลนด์, กรุงเทพฯ)

3.1.5 น้ำตาลทราย (มิตรผล, กรุงเทพฯ)

3.2 สารเคมี

3.2.1 Absolute ethanol (Sigma, U.S.A.)

3.2.2 Sodium hydroxide (Merck, Germany)

3.2.3 Tartaric acid (Merck, Germany)

3.2.4 Citric acid (Sigma, U.S.A.)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 Baird parker agar (BPA) (Merck, Germany)

3.3.2 Brain heart infusion (BHI) (Diffco, Germany)

3.3.3 Brillient-green lactose bile broth (BGLB) (Merck, Germany)

3.3.4 Buffered peptone water (BPW) (Merck, Germany)

3.3.5 Potato dextrose agar (PDA) (Diffco, Germany)

3.3.6 Eosin methylene blue agar (EMB) (Merck, Germany)

3.3.7 *Escherichia coli* broth (EC broth) (Diffco, Germany)

3.3.8 Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB) (Diffco, Germany)

3.3.9 Nutrient agar (NA) (Diffco, Germany)

3.3.10 Yeast extract - Malt extract (YM) (Diffco, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อุปกรณ์

3.4.1 ขวดแก้วมีฝาปิด (duran) ขนาด 250 มิลลิลิตร (Duran, Germany)

3.4.2 ขวดพลาสติก ชนิดโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate - PET) ขนาด 150 มิลลิลิตร (สยามแม็คโคร, กรุงทพฯ)

3.4.3 อุปกรณ์คั้นน้ำส้ม (ตลาดหัวตะเข้, กรุงเทพฯ)

3.5 เครื่องมือ

3.5.1 ตู้บ่มเชื้อ (B30, Memmert, Germany)

3.5.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Mark II, Bwyer, U.S.A.)

3.5.3 ตู้อบลมร้อน (6305, Themo, Germany)

3.5.4 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (SS-245, Tomy, Japan)

3.5.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (WTW 720, Innolab, Germany)

3.5.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (EBA 20, Hettichzentrifugen, Germany)

3.5.7 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (3002, Gragon, Thailand)

3.5.8 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ATC-1E, Atago, Japan)

3.5.9 ไมโครปิเปต (Neo, Gilson, France)

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำส้มคั้นที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข

นำตัวอย่างน้ำส้มคั้นที่ซื้อมาจากร้านค้าในกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 13 ตัวอย่าง จากร้านค้าทั้งหมด 13 ร้าน ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2553 ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีทันที ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (refractometer) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (AOAC, 1990) โดยวิธีไตรเตรชั่น (ภาคผนวก ก) นำผลการทดลองที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมด เพื่อใช้เป็นข้อมูลการเตรียมน้ำส้มคั้นในการศึกษาขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 การศึกษาเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น

3.6.2.1 การคัดแยกเชื้อยีสต์จากน้ำส้มคั้นที่เน่าเสีย

นำน้ำส้มคั้นจากข้อ 3.6.1 วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการคัดแยกเชื้อยีสต์จากน้ำส้มคั้นที่เน่าเสีย ตามวิธีของ AOAC (2000) โดยทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตน (buffered peptone water) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 10^{-3} - 10^{-5} ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นนำตัวอย่างน้ำส้มคั้นที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ทำการเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่ปรับความเป็นกรดด่าง ให้มีค่า 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายทั่ว ทิ้งให้อาหารแข็งตัว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณของเชื้อยีสต์ และทำการคัดเลือกโคโลนีของเชื้อยีสต์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน แยกเชื้อยีสต์บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาทำการเก็บเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant และส่งตรวจวิเคราะห์เพื่อหาสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.6.2.2 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่แยกได้

ศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อยีสต์โดยนำเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำส้มคั้นจากข้อ 3.6.2.1 แยกเชื้อยีสต์บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract - Malt extract agar (YM agar) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตสี และลักษณะโคโลนีนำยีสต์บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาทำการเก็บเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant และส่งถ่ายภาพเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

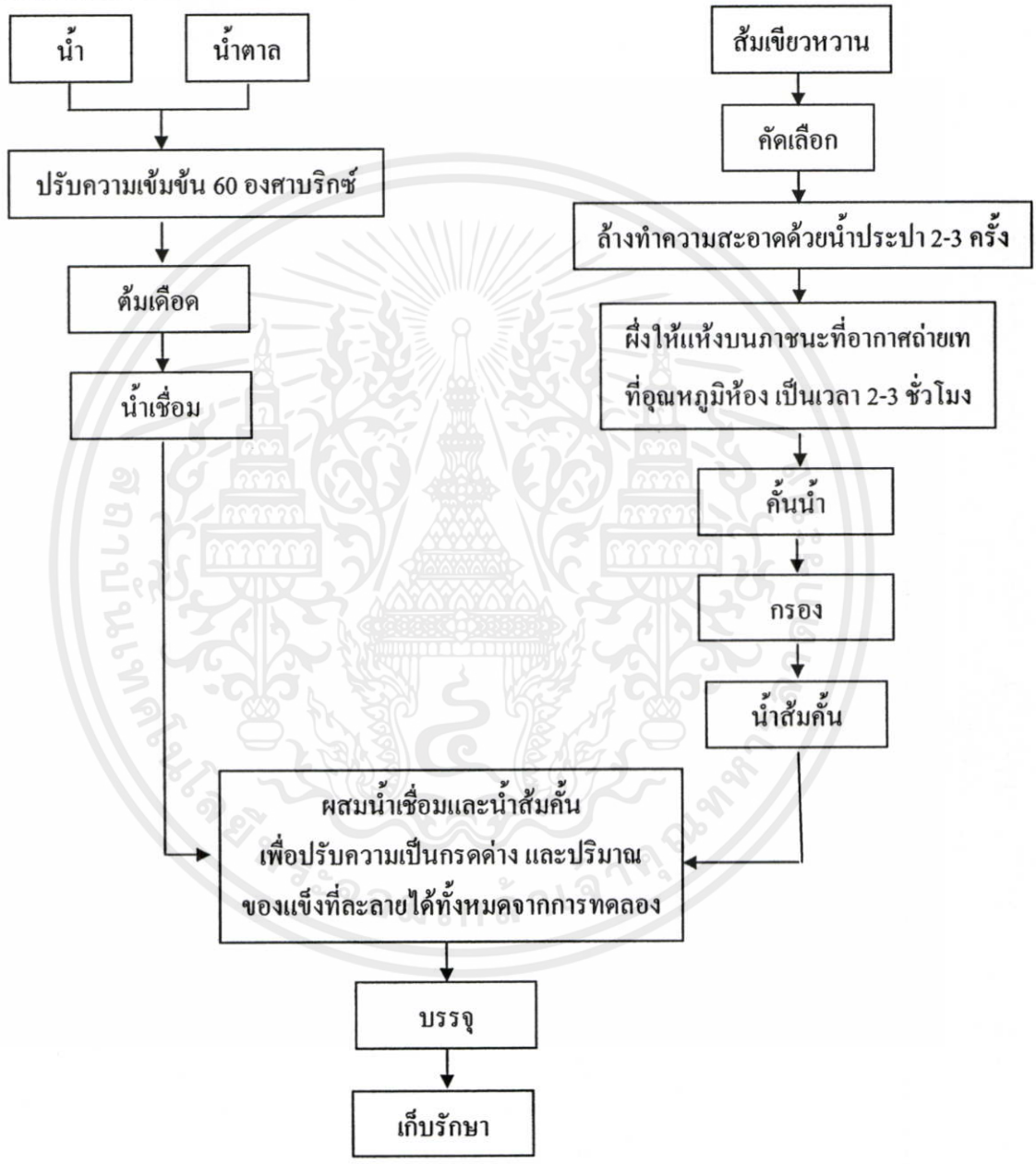
3.6.3 การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น (ดัดแปลงมาจาก Wolska - Mitaszko et al., 1981)

คัดเลือกเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้นมากที่สุด 2 สายพันธุ์ จากข้อ 3.6.2.1 เลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อยีสต์มา 1 ลูป ใส่ในอาหาร YM broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้ได้เชื้อที่ระดับความเข้มข้น 10^4 และ 10^6 cfu/ml จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย เปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 ครั้ง เพื่อให้ได้ตะกอนเซลล์ ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4 การเตรียมน้ำส้มคั้น

เตรียมน้ำส้มคั้นจากส้มเขียวหวาน ดัดแปลงจากวิธีการของวิสิฐ จะวะสิต และคณะ (2547) ดังภาพที่ 3.1 ปรับความเป็นกรดด่างด้วยกรดซิตริก (citric acid) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยน้ำเชื่อม ความเข้มข้น 60 องศาบริกซ์ ในน้ำส้มคั้นที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.6.1 เพื่อใช้เป็นน้ำส้มคั้นในการทดลองขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มคั้น

ที่มา : ดัดแปลงจากวิสิฐ จะวะสิต และคณะ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5 การเตรียมวานิลลิน

ละลายวานิลลิน 19 กรัม ในเอทานอลบริสุทธิ์ (99.7-100 เปอร์เซ็นต์) ให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายวานิลลิน 2.5 โมล (380,000 พีพีเอ็ม) ใช้เป็น stock solution เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3.6.6 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น (ดัดแปลงจากวิธีการของ Cerrutti and Alzamora, 1996)

นำน้ำส้มคั้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วมีฝาปิด(duran) ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมเชื้อยีสต์จากข้อ 3.6.3 ลงในน้ำส้มคั้น โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^2 cfu/ml และ 10^4 cfu/ml จากนั้นเติมวานิลลิน(strock solution) จากข้อ 3.6.5 ปริมาตร 0 26.3 131.6 263.2 394.7 526.3 657.9 789.5 921.1 และ 1,052.6 ไมโครลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 0 100 500 1,000 1,500 2,000 2,500 3,000 3,500 และ 4,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน เก็บรักษาน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.7 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น (ดัดแปลงจากวิธีการของ Cerrutti and Alzamora, 1996)

นำน้ำส้มคั้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วมีฝาปิด (duran) ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมเชื้อยีสต์จากข้อ 3.6.3 ลงในน้ำส้มคั้น ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^2 และ10^4 cfu/ml จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ จากข้อ 3.1.3 ปริมาตร 0 50 100 150 200 และ 250 ไมโครลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน เก็บรักษาน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.8 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

นำน้ำส้มคั้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วมีฝาปิด (duran) ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมเชื้อยีสต์จากข้อ 3.6.3 ลงในน้ำส้มคั้น ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^2 cfu/ml จากนั้นเติมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้น 0+0 500+0.5 500+1.0 500+2.0 1,000+0.5 1,000+1.0 1,000+2.0 1,500+0.5 1,500+1.0 1,500 + 2.0 2,000+0.5 2,000+1.0 และ 2,000+2.0 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml เติมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้น 0+0 1,000+1.0 1,000+2.0 2,000+1.0 2,000+2.0 3,000 + 1.0 3,000+2.0 3,500+0.5 3,500+1.0 3,500+2.0 4,000+1.0 และ 4,000+2.0 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน เก็บรักษาน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นคัดเลือกระดับความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อยีสต์ และคัดเลือกเชื้อยีสต์จากข้อ 3.6.3 ที่มีความทนทานต่อสภาวะดังกล่าวได้ดีที่สุด

3.6.9 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

นำน้ำส้มคั้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดพลาสติกชนิด PET ขนาด 150 มิลลิลิตร ที่ล้างทำความสะอาดและลวกน้ำร้อนก่อนใช้ เติมเชื้อยีสต์จากข้อ 3.6.3 ลงในน้ำส้มคั้น ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^2 และ10^4 cfu/ml จากนั้นเติมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้นเหมาะสมจากข้อ 3.6.8 ทำการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นบรรจุขวด ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ทุกๆ 72 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏ และกลิ่นของน้ำส้มคั้น และทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่องปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (refractometer)และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก โดยวิธีไตรเตรชั่น(AOAC, 1990) (ภาคผนวก ก) และคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์ รา โคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.10 ศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

นำน้ำส้มคั้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดพลาสติกชนิด PETขนาด 150 มิลลิลิตร ที่ล้างทำความสะอาดและลวกน้ำร้อนก่อนใช้ จากนั้นเติมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้นเหมาะสม จากข้อ 3.6.9 นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส (sensory evaluation) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 60 คน โดยแบ่งตามช่วงอายุ 20-40 ปี จำนวน 30 คน และ ช่วงอายุ 41-60 ปี จำนวน 30 คน ทดสอบการยอมรับทางด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ทดสอบการยอมรับแบบ nine point hedonic scale นำผลที่ได้จากการทดสอบมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วางแผนการทดลองเป็นแบบ RCBD (randomized complete block design)เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองตามวิธีการข้อ 3.6.6-3.6.9 วางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD (completely randomized design) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' s new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำส้มคั้นที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข

จากการสอบถามข้อมูลการผลิตน้ำส้มคั้นเบื้องต้นจากร้านค้าจำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 13 ตัวอย่าง รวม 13 ร้านค้า พบว่าน้ำส้มคั้นส่วนใหญ่ใช้ส้มเขียวหวานเป็นวัตถุดิบ ยกเว้นน้ำส้มคั้นตัวอย่างที่ 9 ใช้ส้มสายน้ำผึ้งเป็นวัตถุดิบ ร้านค้าจะทำการผลิตน้ำส้มคั้นทุกวันในช่วงเช้า โดยบรรจุขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate - PET) ขนาด 150 -200 มิลลิลิตร และแช่เย็นในถังน้ำแข็งก่อนการจำหน่าย เมื่อนำน้ำส้มคั้นมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมด และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมด เพื่อใช้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำส้มคั้นในการศึกษาขั้นต่อไป (ตารางที่ 4.1) พบว่าความเป็นกรดด่างของน้ำส้มคั้น มีค่าอยู่ในช่วง 3.37-3.82 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด มีค่าอยู่ในช่วง 14.80-15.60 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก มีค่าอยู่ในช่วง 0.42-1.28 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมด มีค่าอยู่ในช่วง 11.71-35.23 ตามลำดับ ซึ่งความเป็นกรดด่างของน้ำส้มคั้นในตัวอย่างที่ 9 มีค่าต่ำกว่าน้ำส้มคั้นในตัวอย่างอื่น เนื่องจากผู้ผลิตอาจมีการเติมกรดซิตริกลงไปเพื่อปรับปรุงให้น้ำส้มคั้นมีรสชาติดียิ่งขึ้น ดังนั้นจึงไม่นำผลการวิเคราะห์ทางด้านเคมีของน้ำส้มคั้นตัวอย่างนี้ มาใช้ในการคำนวณค่าเฉลี่ย จากตารางที่ 4.1 พบว่าความเป็นกรดด่างของน้ำส้มคั้น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.62±0.12 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.20 ± 0.21 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.83 ± 0.20 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.13±0.17 ตามลำดับ โดย ลินจง สุขลำภู (2546) รายงานว่าความเป็นกรดด่างของน้ำส้มคั้นอยู่ในช่วง 3.97-4.10 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 11.60-12.80 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.67-0.76 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมด มีค่าอยู่ในช่วง 15.26-19.10 จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น จึงกำหนดสภาวะที่ใช้ในการเตรียมน้ำส้มคั้นที่ใช้ในการศึกษามีความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก มีค่า 3.62 15.20 องศาบริกซ์ และ 0.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก และอัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกของน้ำส้มคั้น

ตัวอย่างน้ำส้มคั้น	ความเป็นกรดด่าง (pH)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (เปอร์เซ็นต์)	อัตราส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณกรดทั้งหมด
1	3.58±0.02	15.20±0.00	0.77±0.02	19.74±0.17
2	3.58±0.02	15.40±0.06	0.78±0.01	19.74±0.17
3	3.37±0.08	14.80±0.02	0.99±0.05	14.94±0.50
4	3.46±0.05	15.20±0.00	1.09±0.08	13.94±0.78
5	3.66±0.00	15.40±0.06	1.09±0.08	14.13±0.73
6	3.48±0.05	15.40±0.06	0.90±0.02	17.11±0.02
7	3.82±0.05	15.40±0.06	0.64±0.05	24.06±0.02
8	3.78±0.04	15.20±0.00	0.54±0.08	28.15±0.16
9	3.86±0.06	14.80±0.02	0.42±0.12	35.23±0.12
10	3.79±0.04	15.60±0.12	0.51±0.09	30.59±0.83
11	3.57±0.02	15.00±0.06	0.74±0.03	20.27±0.03
12	3.78±0.04	15.20±0.00	1.00±0.05	15.20±0.43
13	3.66±0.00	15.00±0.06	1.28±0.13	11.71±0.40
ช่วงค่า	3.37-3.82	14.80-15.60	0.42-1.28	11.71-35.23
ค่าเฉลี่ย*	3.62 ± 0.12	15.20 ± 0.21	0.83 ± 0.20	19.13± 0.17

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ยคุณภาพทางเคมีของน้ำส้มคั้น จำนวน 12 ตัวอย่าง (ยกเว้นตัวอย่างที่ 9)

4.2 การศึกษาเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น

ปริมาณเชื้อยีสต์ที่พบปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น ภายหลังวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อยีสต์ อยู่ในช่วง 3.45-4.61 log cfu/ml ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.10±0.35 log cfu/ml และตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา สอดคล้องกับหน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร (2552) พบว่าน้ำส้มคั้นสดมีการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ ปริมาณ 4.08

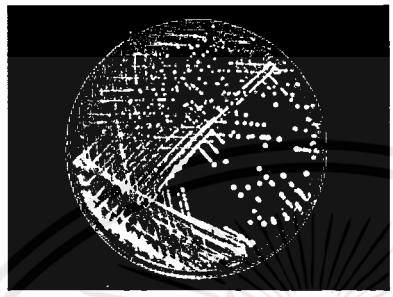
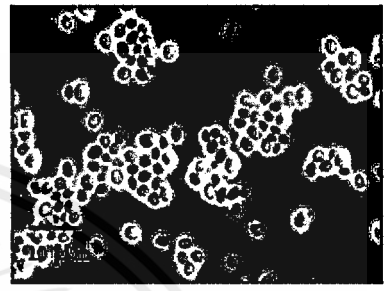
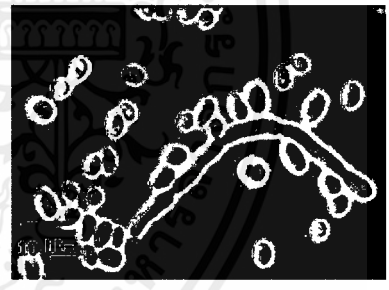
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

log cfu/ml คิดเป็น75 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างน้ำส้มทั้งหมด และ Wissanee et al. (2007) พบว่าน้ำส้มคั้นสดมีการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ ปริมาณ 4.92 log cfu/ml ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้นพบในมีปริมาณสูงเกินกว่าประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เช่น เครื่องดื่มรถเข็น/ แผงลอยริมถนน/ร้านอาหาร ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2553 กำหนดให้พบการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ น้อยกว่า 3.70 log cfu/ml เนื่องจากเชื้อยีสต์สามารถเจริญได้ในเครื่องดื่มที่ความเป็นกรดด่างต่ำ (พีเอช มีค่า 3.40-4.30) (Helal et al., 2006) จึงมักเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของน้ำส้มคั้นเป็นส่วนใหญ่ และตัวอย่างน้ำส้มคั้นมีความเป็นกรดด่างต่ำ (พีเอช มีค่า 3.37-3.82) และมีปริมาณน้ำตาลเป็นองค์ประกอบค่อนข้างสูง (14.80-15.60 องศาบริกซ์) (ตารางที่ 4.1) จึงเป็นข้อจำกัดของชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถรอดชีวิตหรือเจริญเติบโตได้ สาเหตุการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ และกระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม ซึ่งมักจะไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524; นพมาศ สุขลำภู, 2542)

ลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์ที่พบปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น จำนวน 13 ตัวอย่าง พบเชื้อยีสต์ที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน 2 ชนิด (ตารางที่ 4.2) และจากการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้น โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ระบุสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากน้ำส้มคั้น คือ *Candida tropicalis* และ *C. krusei* ซึ่งเชื้อยีสต์ในกลุ่ม *Candida* มักพบในอาหารและเครื่องดื่มแทบทุกชนิด และทำให้น้ำผลไม้ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำเน่าเสีย (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539) สอดคล้องกับ Arias et al. (2002) พบการปนเปื้อนของ *C. tropicalis* ในน้ำส้มคั้นพาสเจอไรซ์ และWarnasuriya et al. (1985) พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Candida* ในน้ำผลไม้มากที่สุด จำนวน 16 สายพันธุ์ และพบเชื้อ *C. krusei* มากที่สุด จำนวน 10 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อยีสต์ *Candida* ที่คัดแยกได้จากน้ำส้มคั้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar และลักษณะของเชื้อยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเฟสคอนทรัส (phase contrast)

สายพันธุ์	ลักษณะของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยายใกล้วัตถุ 100 เท่า)
C. tropicalis		
	โคโลนีสีขาวครีม ทึบแสง รูปร่างกลม ผิวหน้าและขอบเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 0.2 เซนติเมตร	เซลล์รูปร่างกลมรี เกาะกันเป็นกลุ่ม แตกหน่อรอบๆเซลล์
C. krusei		
	โคโลนีสีขาวครีม ทึบแสง รูปร่างกลมนูน ผิวหน้าไม่เรียบ ขอบหยักไม่สม่ำเสมอ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร	เซลล์รูปร่างกลมรีสร้างซูโดไมซีเลียม (pseudomycerium) ต่อกันเป็นสายยาว แตกหน่ออยู่บนสเตอริกมา (sterigma) ซึ่งยื่นออกจากไมซีเลียม เรียกว่า บาลลิสโทสปอร์ (blastoconidia)

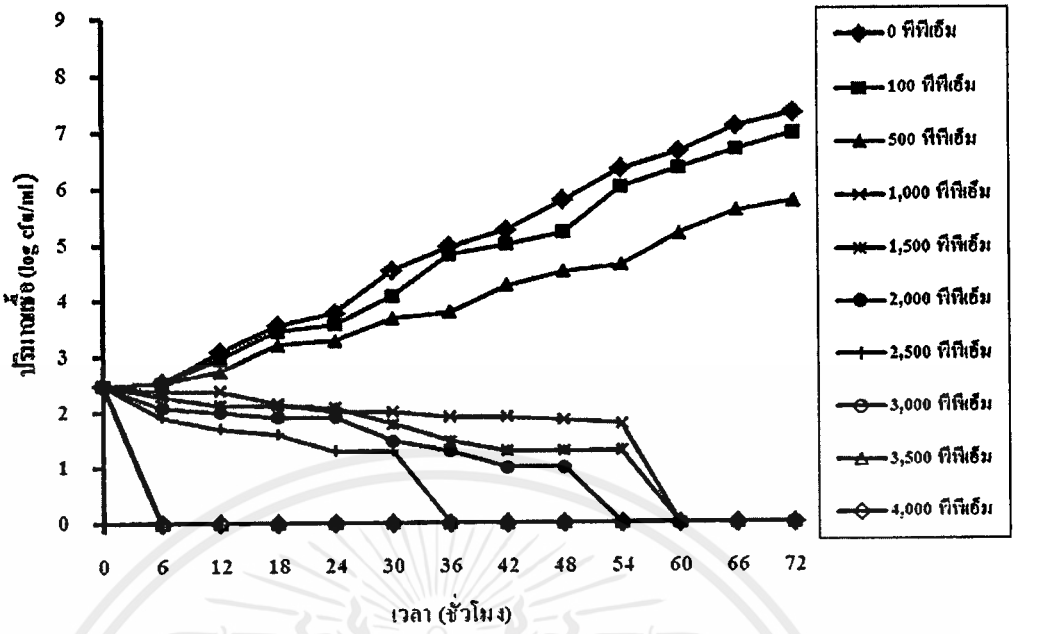
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

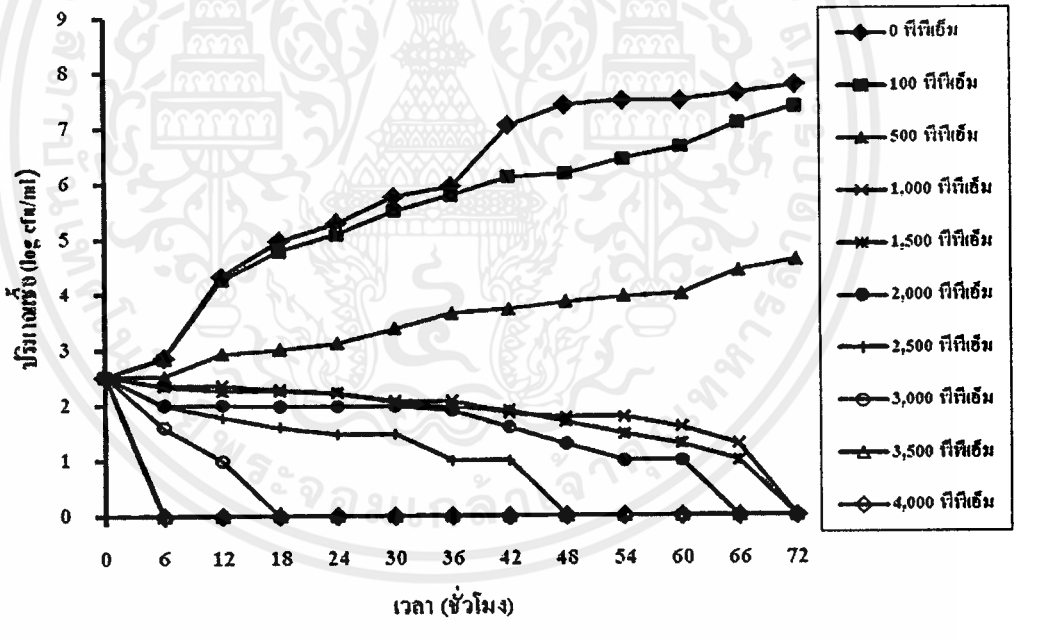
ผลการทดสอบความเข้มข้นของวานิลลินที่ความเข้มข้น 0 100 500 1,000 1,500 2,000 2,500 3,000 3,500 และ 4,000 พีพีเอ็ม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 (ภาคผนวก ค-1 - ค-4) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าวานิลลินความเข้มข้น 1,000-4,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml จนตรวจไม่พบ (ภาพที่ 4.1) และความเข้มข้น 3,500-4,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ภายใน 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.2) กลไกการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของวานิลลิน เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของวานิลลินประกอบด้วยอัลดีไฮด์และฟีนอลเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญในการยับยั้งการทำงานของผนังเซลล์ โดยยับยั้งการส่งผ่านอิเล็คตรอน การเคลื่อนย้ายโปรตีน ตลอดจนปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่างๆ ทำให้เซลล์ถูกทำลาย(ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550) นอกจากนี้ Fitzgerald et al., (2003) รายงานว่า อัลดีไฮด์และฟีนอลในโครงสร้างของวานิลลิน ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการสูญเสียไอออนที่ส่งผ่านเข้าออกระหว่างเซลล์ ทำให้ความเป็นกรดด่างเสียสมดุล และยับยั้งอัตราการหายใจของเซลล์ด้วย

ความเข้มข้นของวานิลลินมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml โดยวานิลลินช่วงความเข้มข้น 100-500 พีพีเอ็ม ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดได้ วานิลลินความเข้มข้น 1,000-1,500 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจนตรวจไม่พบ ในช่วงเวลา 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ในช่วงความเข้มข้น 2,000-2,500 พีพีเอ็ม ลดระยะเวลาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจนตรวจไม่พบได้ ที่ความเข้มข้น 3,000 พีพีเอ็ม ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 6 และ 18 ชั่วโมง และวานิลลินช่วงความเข้มข้น 3,500-4,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิด จนตรวจไม่พบ ภายใน 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.1) ขณะที่เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml พบว่าวานิลลินช่วงความเข้มข้น 0-3,000 พีพีเอ็ม ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดได้ ซึ่งเชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น 2-4 log cycle วานิลลินความเข้มข้น 3,500 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4.04 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4.17 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และวานิลลินความเข้มข้น 4,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดจนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 30 และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



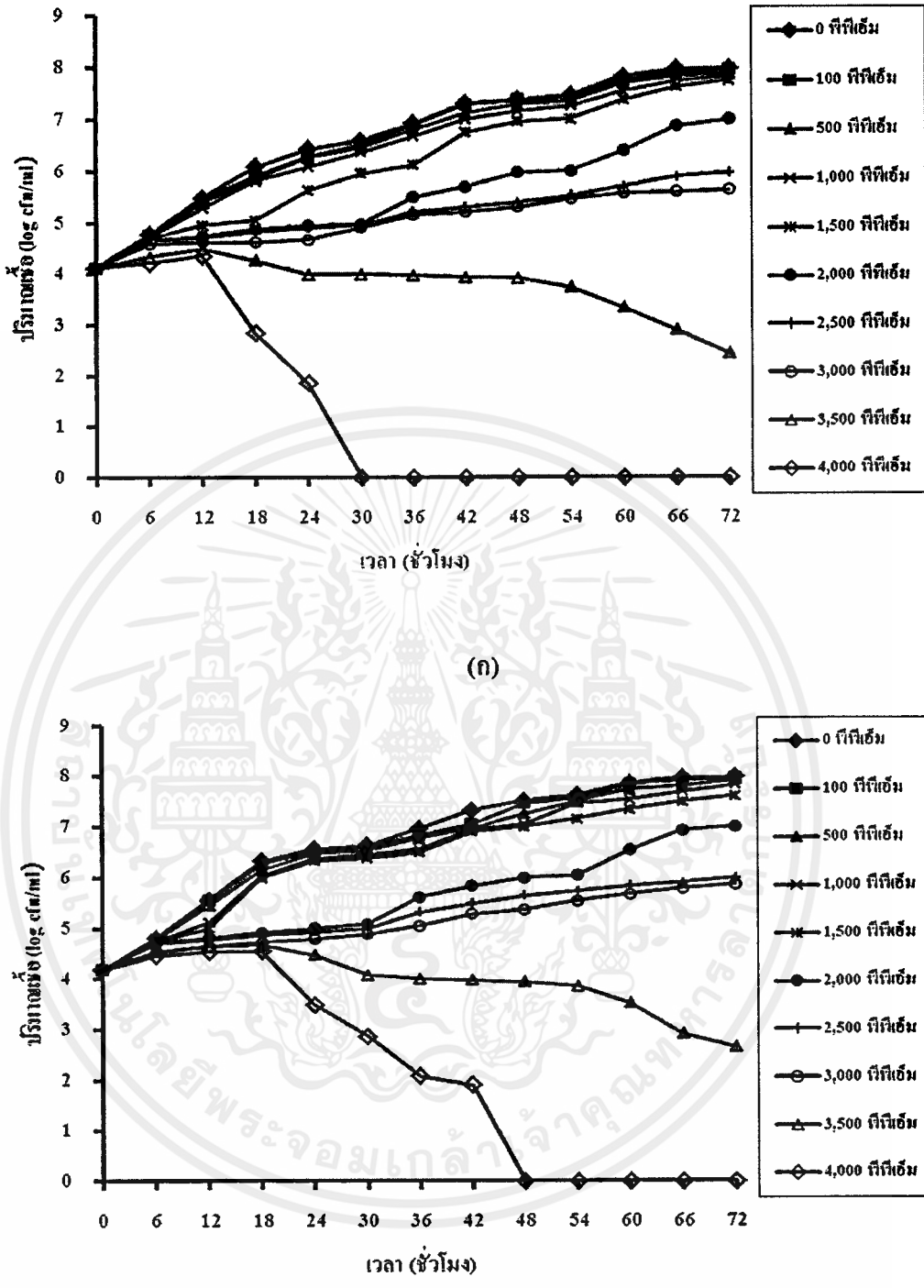
(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.1 ผลของวานิลลินที่ความเข้มข้น 0-4,000 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* (ก) และ *C. krusei* (ข) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ผลของวานิลลินที่ความเข้มข้น 0-4,000 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* (ก) และ *C. krusei* (ข) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลินมีผลต่อการเจริญและอยู่รอดของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด โดยการเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลิน มีผลทำให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อของวานิลลินเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของวานิลลินที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาการเจริญของเซลล์ในช่วง lag phase นานยิ่งขึ้น ซึ่งเซลล์ในช่วงนี้จะมีความแข็งแรงน้อย ทำให้เซลล์มีโอกาสถูกทำลายได้มากขึ้น (Fitzgerald et al., 2004) สอดคล้องกับ Rupasinghe และคณะ (2005) พบว่าวานิลลินที่ความเข้มข้น 228 456 912 1,824 และ 2,736 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* คิดเป็น 41 69 98 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการเพิ่มปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นจาก 2 log cfu/ml เป็น 4 log cfu/ml ทำให้ความเข้มข้นของวานิลลินที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ จนตรวจไม่พบ มีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Penney et al. (2004) พบว่าวานิลลิน ความเข้มข้น 2,000 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sac. cerevisiae* จนตรวจไม่พบ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log cfu/ml ในขณะที่ Fitzgerald et al. (2003) พบว่าวานิลลินความเข้มข้น 3,040 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sac. cerevisiae* จนตรวจไม่พบ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml

จากการเปรียบเทียบค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (% growth inhibition) เริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง และ 4 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml วานิลลินความเข้มข้น 1,000-1,500 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยที่ความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นของวานิลลินเริ่มต้นในการยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* คิดเป็น 17.78 และ 28.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วานิลลินความเข้มข้น 3,500-4,000 พีพีเอ็ม ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3) และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml วานิลลินความเข้มข้น 3,500-4,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ความเข้มข้น 3,500 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นของวานิลลินเริ่มต้นในการยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ และวานิลลินความเข้มข้น 4,000 พีพีเอ็ม ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4) ซึ่งแนวทางการเลือกระดับความเข้มข้นของวานิลลินที่เหมาะสมในการศึกษาปัจจัยร่วม Cava-Roda และคณะ (2010) กำหนดความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดที่จะนำไปใช้ศึกษาปัจจัยร่วม โดยใช้ความเข้มข้นที่มากกว่าและน้อยกว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อได้ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของวานิลลินที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml และ 4 log cfu/ml มีค่า 1,000 และ 3,500 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และจากการทดสอบเบื้องต้น พบว่าความเข้มข้นของวานิลลินที่เหมาะสมในการนำไปใช้ศึกษาปัจจัยร่วม คือ 500 1,000 1,500 และ 2,000 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml และความเข้มข้น 1,000 2,000 3,000 3,500 และ 4,000 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลิน ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

วานิลลิน (พีพีเอ็ม)	ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	
	C. tropicalis	*C. krusei*
0	-	-
100	-	-
500	-	-
1,000	17.78 ± 0.28^{Bc}	28.36 ± 0.51^{Ad}
1,500	28.89 ± 0.29^{Ac}	31.54 ± 0.21^{Ad}
2,000	60.00 ± 0.00^{Bb}	69.62 ± 0.53^{Abc}
2,500	75.56 ± 0.28^{Ab}	68.62 ± 0.54^{Bbc}
3,000	100.00 ± 0.00^{Aa}	87.98 ± 0.54^{Bb}
3,500	100.00 ± 0.00^{ns}	100.00 ± 0.00^{ns}
4,000	100.00 ± 0.00^{ns}	100.00 ± 0.00^{ns}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญ

ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์มีผลต่อประสิทธิภาพของวานิลลินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลิน พบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่ความเข้มข้นวานิลลิน 1,000 2,000 2,500 และ 3,000 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml วานิลลินความเข้มข้น 3,500 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (ตารางที่ 4.3 และ 4.4) โดยค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ต่ำกว่า *C. tropicalis* แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *C. krusei* มีความทนทานต่อวานิลลินได้ดีกว่า *C. tropicalis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลิน ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

วานิลลิน (พีพีเอ็ม)	ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	
	C. tropicalis	*C. krusei*
0	-	-
100	-	-
500	-	-
1,000	-	-
1,500	-	-
2,000	-	-
2,500	-	-
3,000	-	-
3,500	97.33±0.09 ^{Aa}	87.02±0.02 ^{Bb}
4,000	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00 ^{ns}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

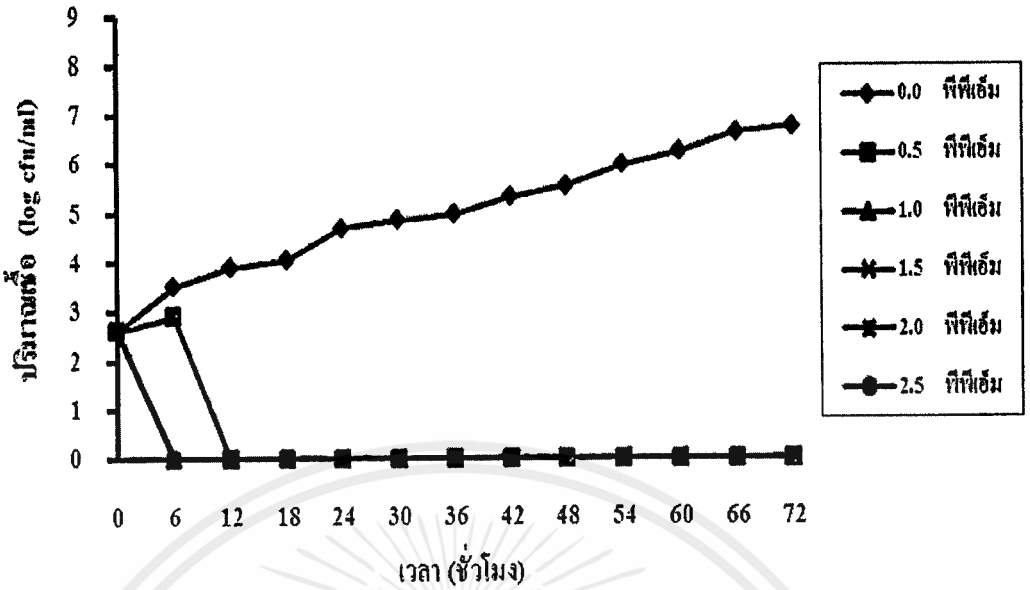
: ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

: - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญ

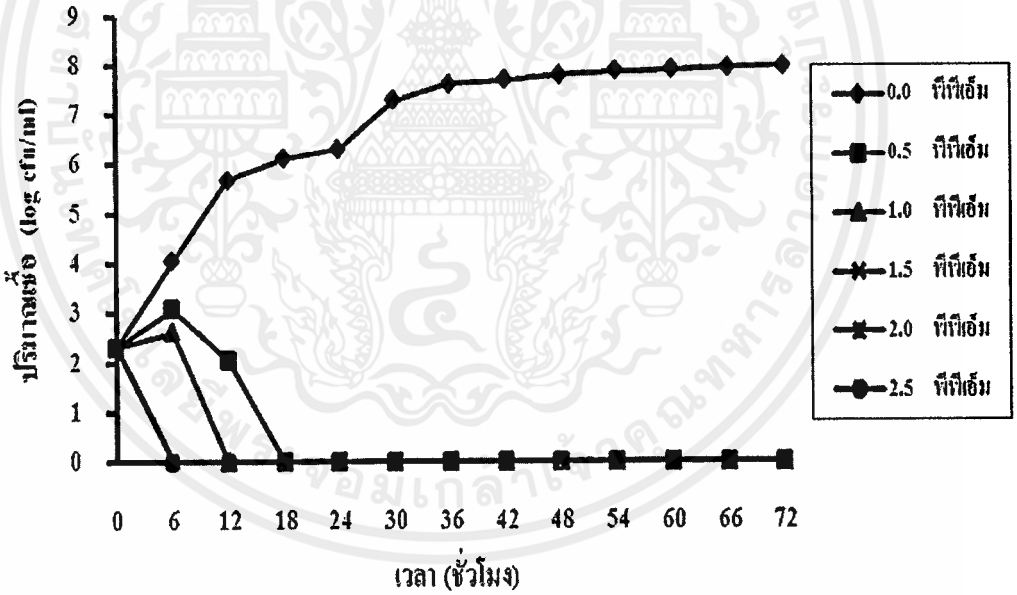
4.4 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

ผลการทดสอบความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 พีพีเอ็ม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ดังภาพที่ 4.3 และ 4.4 (ภาคผนวก ค-5 - ค-8) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 0.5-2.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml จนตรวจไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



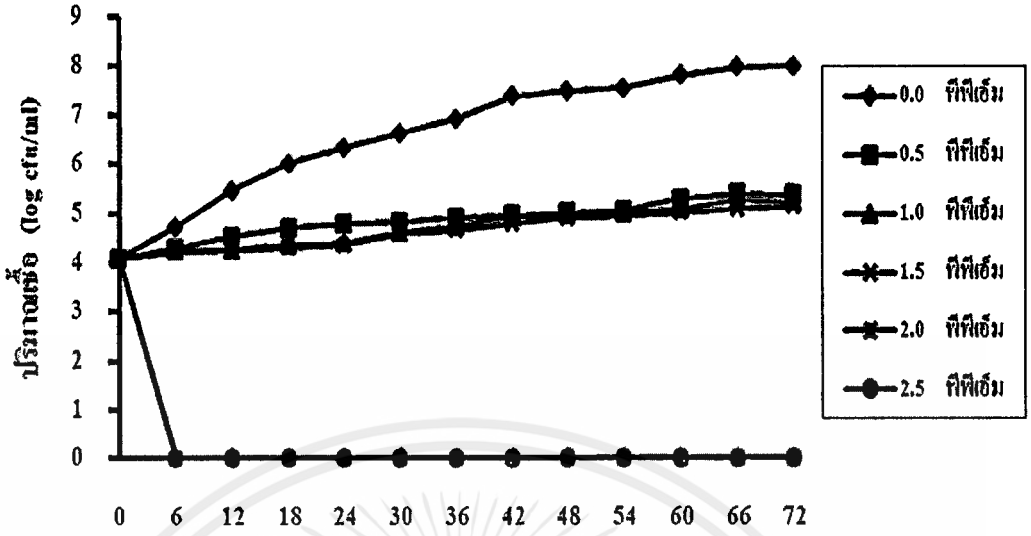
(ก)



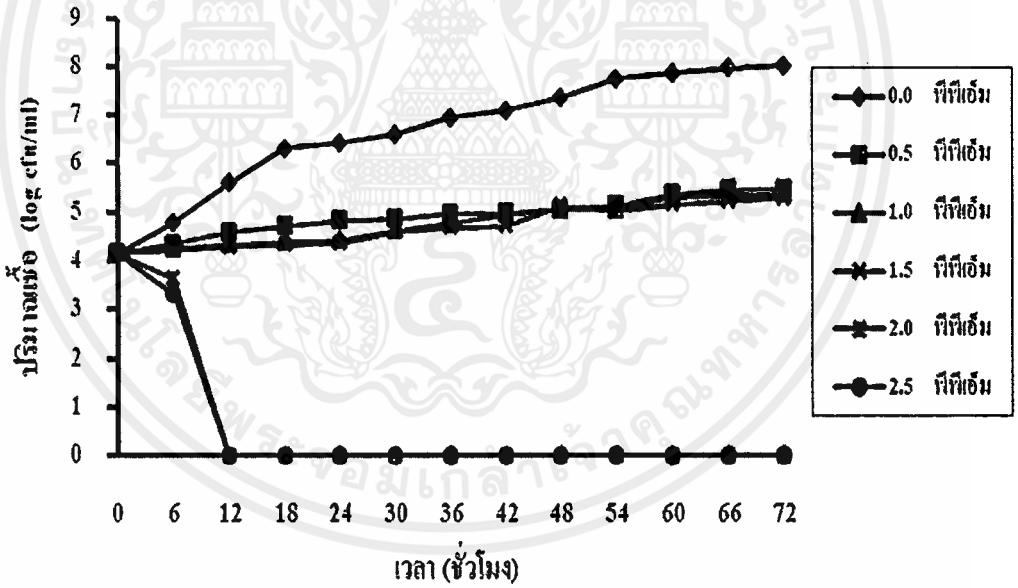
(ข)

ภาพที่ 4.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0 -2.5 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* (ก) และ *C. krusei* (ข) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.4 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 0 - 2.5 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* (ก) และ *C. krusei* (ข) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใน 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.3) และความเข้มข้น 2.0-2.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml จนตรวจไม่พบ ภายใน 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.4) กลไกการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ประกอบด้วย ซิทรัล ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของสารนี้มีหมู่ฟังก์ชั่นอัลดีไฮด์ สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ โดยรบกวนโครงสร้างของเซลล์ ยับยั้งการทำงานผนังเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการรั่วไหล และส่งผลให้เซลล์ถูกทำลาย (ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ, 2550; Silva et al., 2008)

ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 0.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด จนตรวจไม่พบ เป็นเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง ตามลำดับ ในช่วงความเข้มข้น 1.5-2.5 พีพีเอ็ม ลดระยะเวลาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ จนตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.3) ขณะที่เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ช่วงความเข้มข้น 0-1.5 พีพีเอ็ม ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดได้ เชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น 1-3 log cycle และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ช่วงความเข้มข้น 2.0-2.5 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดจนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีผลทำให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Helal et al. (2006) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Sac. cerevisiae* คิดเป็น 71 80 88 93 98 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (% growth inhibition) เริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และ 4 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 0.5 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการยับยั้งเชื้อ โดยมีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คิดเป็น 100 และ 42.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และช่วงความเข้มข้น 1.0 -2.5 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.5) และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 2.0 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คิดเป็น 100 และ 70.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 2.0 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อได้ (ตารางที่ 4.6) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml มีค่า 0.5 และ 2.0 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหมาะสมในการนำไปใช้ศึกษาปัจจัยร่วม คือ 0.5 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml และความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml

ตารางที่ 4.5 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (พีพีเอ็ม)	ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	
	C. tropicalis	*C. krusei*
0.0	-	-
0.5	100.00±0.00 ^{Aa}	42.32±0.43 ^{Bb}
1.0	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00 ^{ns}
1.5	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00 ^{ns}
2.0	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00 ^{ns}
2.5	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00 ^{ns}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

: - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญ

ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ในน้ำส้มคั้นผสมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้พบว่า ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ที่ความเข้มข้นวานิลลิน 0.5 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ที่น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 2.0 พีพีเอ็ม มีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5 และ4.6)โดยที่ค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ต่ำกว่า *C. tropicalis* แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *C. krusei* มีความทนทานต่อน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ได้ดีกว่า *C. tropicalis* สอดคล้องกับ Silva et al. (2008) พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ปริมาตร 2 4 และ 8 ไมโครลิตร/ดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. tropicalis* ได้ดีกว่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. krusei โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (inhibition zone) เชื้อ *C. tropicalis* มีค่า 12.8 19.2 และ 29.5 มิลลิเมตร และเชื้อ *C. krusei* มีค่า 12.3 14.4 19.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นผสมน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (พีพีเอ็ม)	ค่ายับยั้งการเจริญของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	
	C. tropicalis	*C. krusei*
0.0	-	-
0.5	-	-
1.0	-	-
1.5	-	-
2.0	100.00 ± 0.00^{Aa}	70.73 ± 0.21^{Bb}
2.5	100.00 ± 0.00^{ns}	100.00 ± 0.00^{ns}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

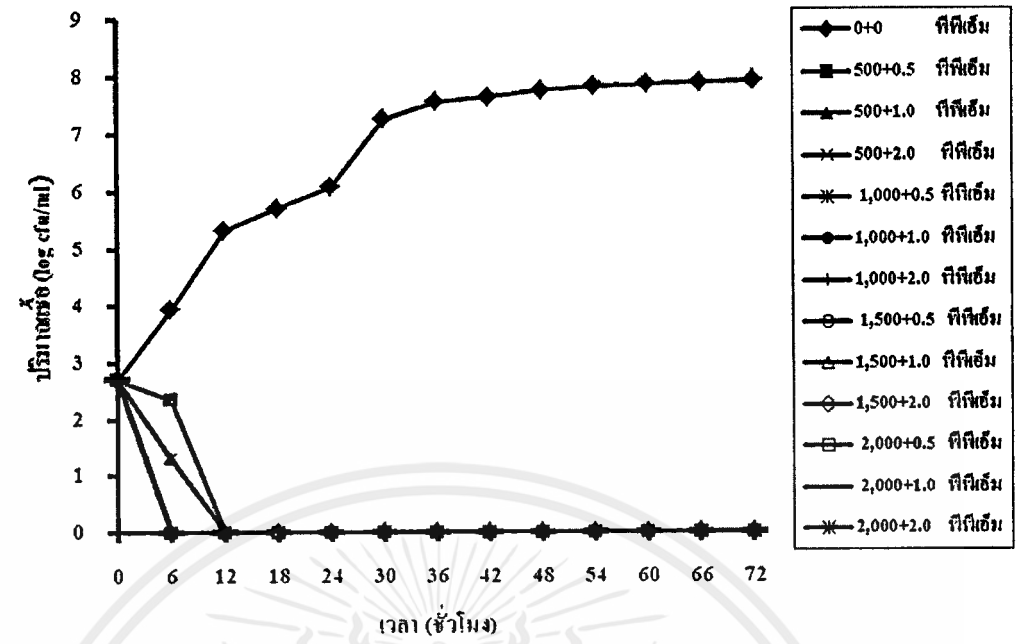
: ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญ

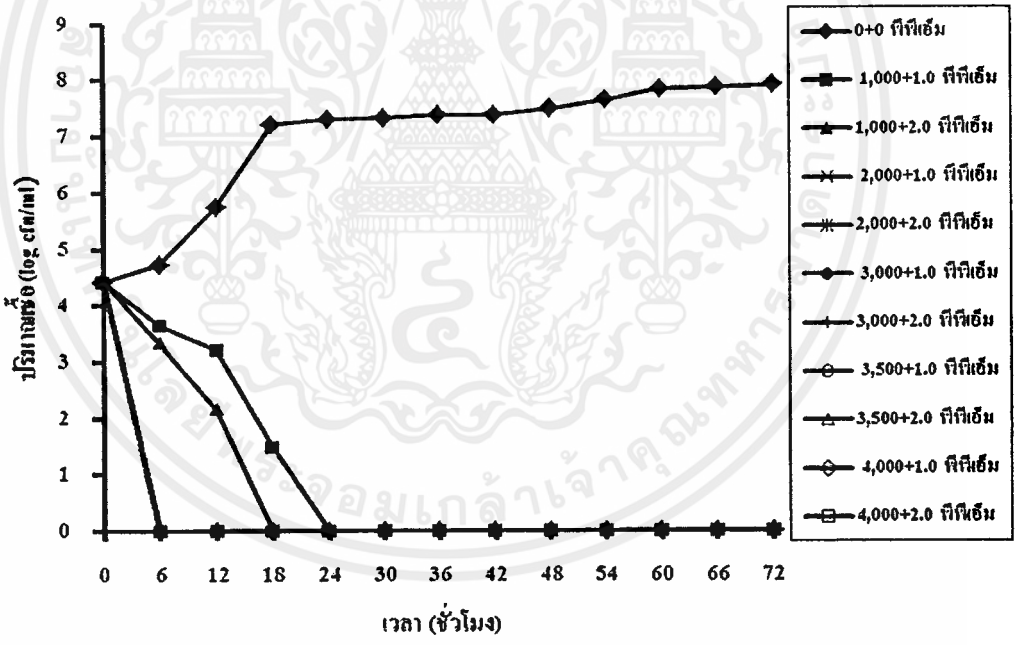
4.5 การศึกษาความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น

ผลการทดสอบความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทนทานต่อวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (จากผลการทดลองที่ 4.3 - 4.4) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อ *C. krusei* จนตรวจไม่พบ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ภายใน 72 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.5 (ภาคผนวก ค-9 - ค-10) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml วานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 500 + 0.5 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.5 ผลของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml (ก) และ 4 log cfu/ml (ข) ในน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. krusei จนตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และความเข้มข้น 1,000+0.5 1,000+1.0 1,000+2.0 1,500 + 0.5 1,500 + 1.0 และ 1,500 + 2.0 พีพีเอ็ม ลดระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ *C. krusei* จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.5 (ก)) เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml วานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 1,000 +1.0 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. krusei* จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และความเข้มข้น 2,000 + 1.0 2,000 + 2.0 3,000 + 1.0 3,000 + 2.0 3,500 + 1.0 3,500 + 2.0 4,000 + 1.0 และ 4,000 + 2.0 พีพีเอ็ม สามารถลดระยะเวลาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ จนตรวจไม่พบได้ ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.5 (ข))

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้กับสารชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวในการยับยั้งเชื้อ *C. krusei* ในน้ำส้มคั้น พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด เมื่อใช้วานิลลินเพียงชนิดเดียว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง หรือน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เพียงชนิดเดียว ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง และวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้นเริ่มต้น 500+0.5 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.1 4.3 และ 4.5 (ก) และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด เมื่อใช้วานิลลินเพียงชนิดเดียว ความเข้มข้นเริ่มต้น 4,000 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 30 ชั่วโมง หรือน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เพียงชนิดเดียว ความเข้มข้นเริ่มต้น 2.0 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 +1.0 พีพีเอ็ม ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.2 4.4 และ 4.5 (ข) จะเห็นได้การใช้วานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ได้ดีกว่าการใช้วานิลลินหรือน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เพียงชนิดเดียว แสดงว่าสารผสมอาจเพิ่มฤทธิ์ยับยั้ง (additive effect) หรือเสริมฤทธิ์กัน (synergistic) สอดคล้องกับ Rojas et al. (2007) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้(1และ1.5 เปอร์เซ็นต์ w/w) น้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ (0.1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ w/w) ร่วมกันวานิลลิน (0.3 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ w/w) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ดีกว่าสารเพียงชนิดเดียว เช่นเดียวกับ Cava et al. (2010) พบว่าวานิลลินร่วมกับอบเชยความเข้มข้น 750+500 พีพีเอ็ม และวานิลลินร่วมกับกานพลูความเข้มข้น 1,250+1,500 พีพีเอ็ม สามารถเพิ่มฤทธิ์หรือเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อ *Lis. monocytogenes* ในนม

อย่างไรก็ตาม การเลือกความเข้มข้นของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมไปใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นบรรจุขวด นอกจากจะต้องมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์แล้ว ยังต้องคำนึงถึงการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคควบคู่กันไปด้วย ซึ่งการใช้ความเข้มข้นสูงอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จากการทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เบื้องต้น พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

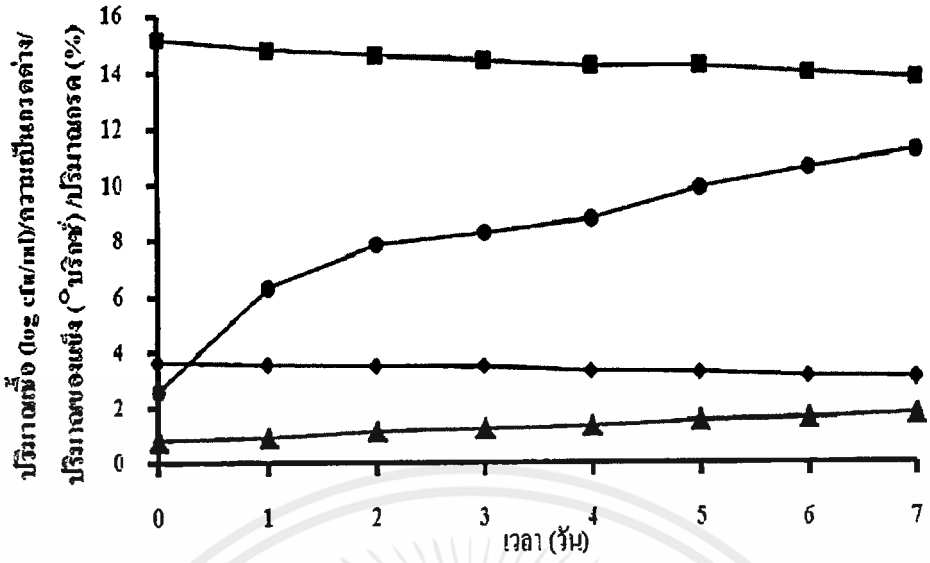
น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500+0.5 และ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500+0.5 และ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม มาใช้ในการศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพของน้ำส้มคั้นต่อไป

4.6 ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพน้ำส้มคั้น

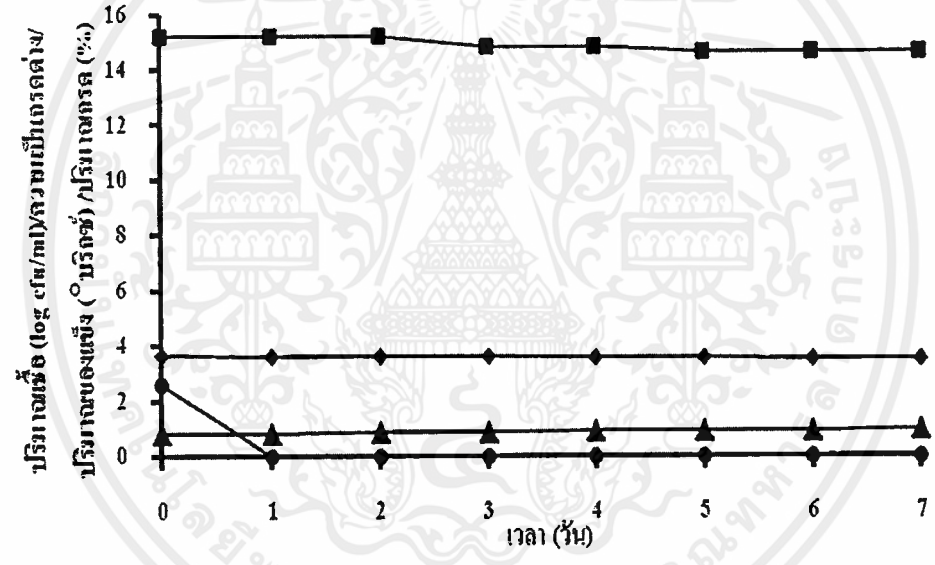
4.6.1 คุณภาพน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม บรรจุขวดชนิด PET ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณเชื้อ *C. krusei* เริ่มต้น 2 log cfu/ml เมื่อเก็บรักษาน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) เริ่มต้น มีสีส้มเข้ม ลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน มีกลิ่นส้มอ่อนๆ ขณะที่น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีกลิ่นส้มปนตะไคร้อ่อนๆ เมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลา 1 วัน พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น พบมีฟองแก๊สและกลิ่นส้มหมักเกิดขึ้น ขณะที่น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ไม่พบการเปลี่ยนแปลง ที่ระยะเวลา 3 วัน พบว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นสีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เกิดการเสื่อมเสีย (ภาคผนวก ค-11) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ในระหว่างการเก็บรักษา ดังภาพที่ 4.6 (ภาคผนวก ค-13) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น 3.50 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 14.60 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ตรวจพบเชื้อยีสต์เริ่มต้น 2.60 log cfu/ml จากนั้นมีปริมาณลดลงจนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 1 วัน และตรวจไม่พบ เชื้อราโคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* (ภาพที่ 4.6 (ข)) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) พบว่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยน้ำส้มคั้นมีปริมาณกรดทั้งหมด มากกว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ส่วนความเป็นกรดด่าง ลดลงจากพีเอช 3.65 เป็น 3.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.6 ความเป็นกรดด่าง (◆) ปริมาณกรดทั้งหมด (▲) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (■) และปริมาณเชื้อยีสต์ (●) ของน้ำส้มคั้นชุดควบคุม (ก) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม (ข) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

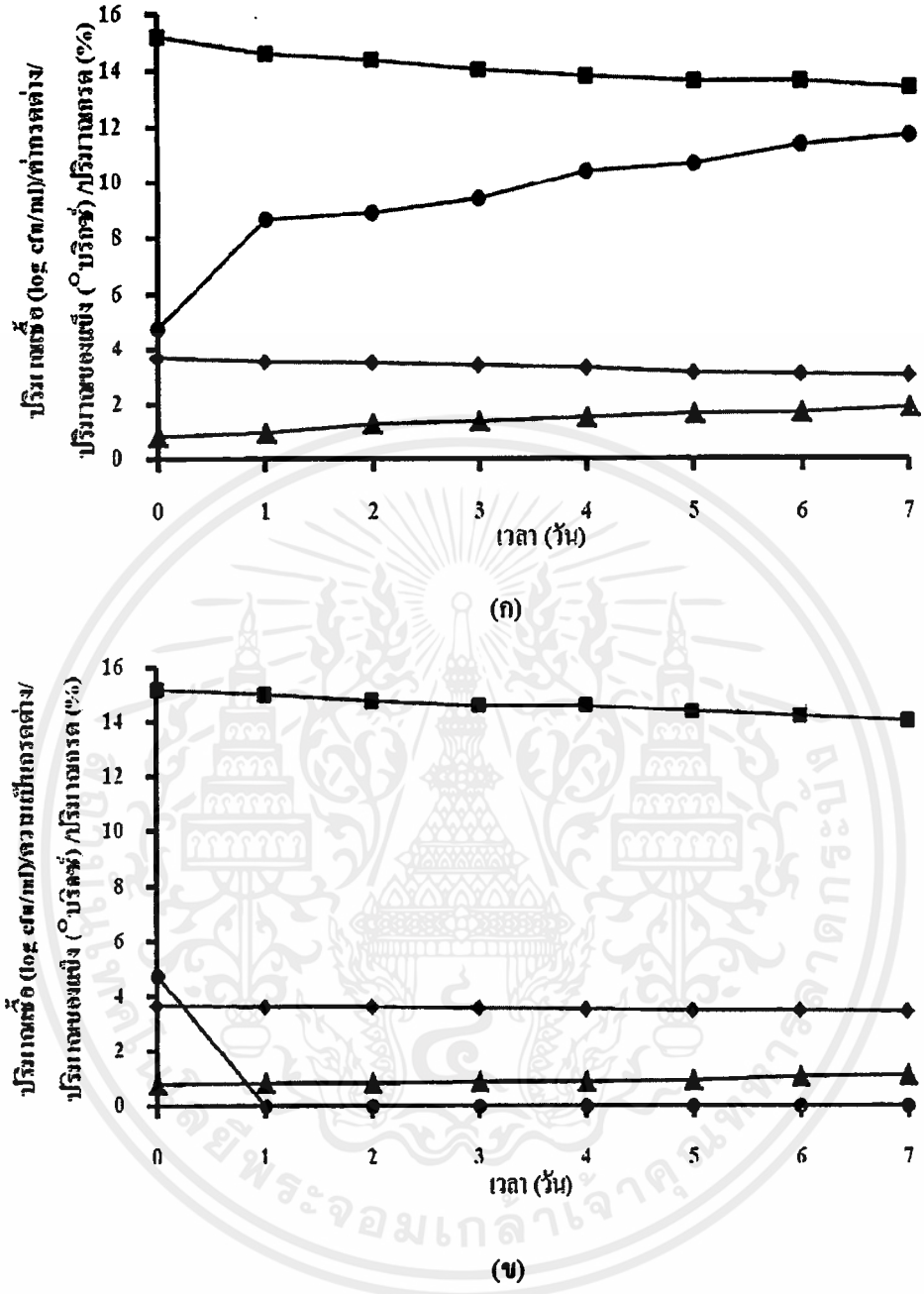
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 13.80 องศาบริกซ์ ตามลำดับ เชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น จาก 2.60 เป็น 11.21 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 7 วัน (ภาพที่ 4.6 (ก))

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มคั้นบรรจุขวดผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000+1.0 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อ *C. krusei* เริ่มต้น 4 log cfu/ml พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ ที่ระยะเวลา 1 วัน น้ำส้มคั้นมีสีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น พบมีฟองแก๊ส และกลิ่นส้มหมักเกิดขึ้น ขณะที่น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้พบการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน โดยน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีสีสีส้มอ่อน ตกตะกอนเล็กน้อย และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เกิดการเสื่อมเสีย (ภาคผนวก ค-11) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ดังภาพที่ 4.7 (ภาคผนวก ค-14) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น 3.42 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 14.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ตรวจพบเชื้อยีสต์เริ่มต้น 4.76 log cfu/ml จากนั้นมีปริมาณลดลง จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 1 วัน ขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อราโคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* (ภาพที่ 4.7 (ข)) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) พบว่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยน้ำส้มคั้นมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ส่วนความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น 3.00 และ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 13.40 องศาบริกซ์ ตามลำดับ และ เชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น จาก 4.76 เป็น 11.68 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 7 วัน (ภาพที่ 4.7 (ก))

จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml เป็นแนวโน้มเดียวกัน โดยน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีการเปลี่ยนแปลงของสีลักษณะปรากฏ และกลิ่นแตกต่างกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณเชื้อยีสต์ต่ำกว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) ส่วนความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงกว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) เนื่องจากการเจริญของเชื้อยีสต์สูงมากกว่า 10 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) มีผลให้ความเป็นกรดด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลง และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ทำให้น้ำส้มคั้นเสื่อมเสีย มีลักษณะเกิดการตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส และมีกลิ่นรสที่ไม่ดี (Baker et al., 1999) ส่วนในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์ เป็นผลมาจากการยับยั้งเชื้อยีสต์ของวานิลลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ความเป็นกรดด่าง (◆) ปริมาณกรดทั้งหมด (▲) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (■) และปริมาณเชื้อยีสต์ (●) ของน้ำส้มคั้นชุดควบคุม (ก) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000+1.0 พีพีเอ็ม (ข) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

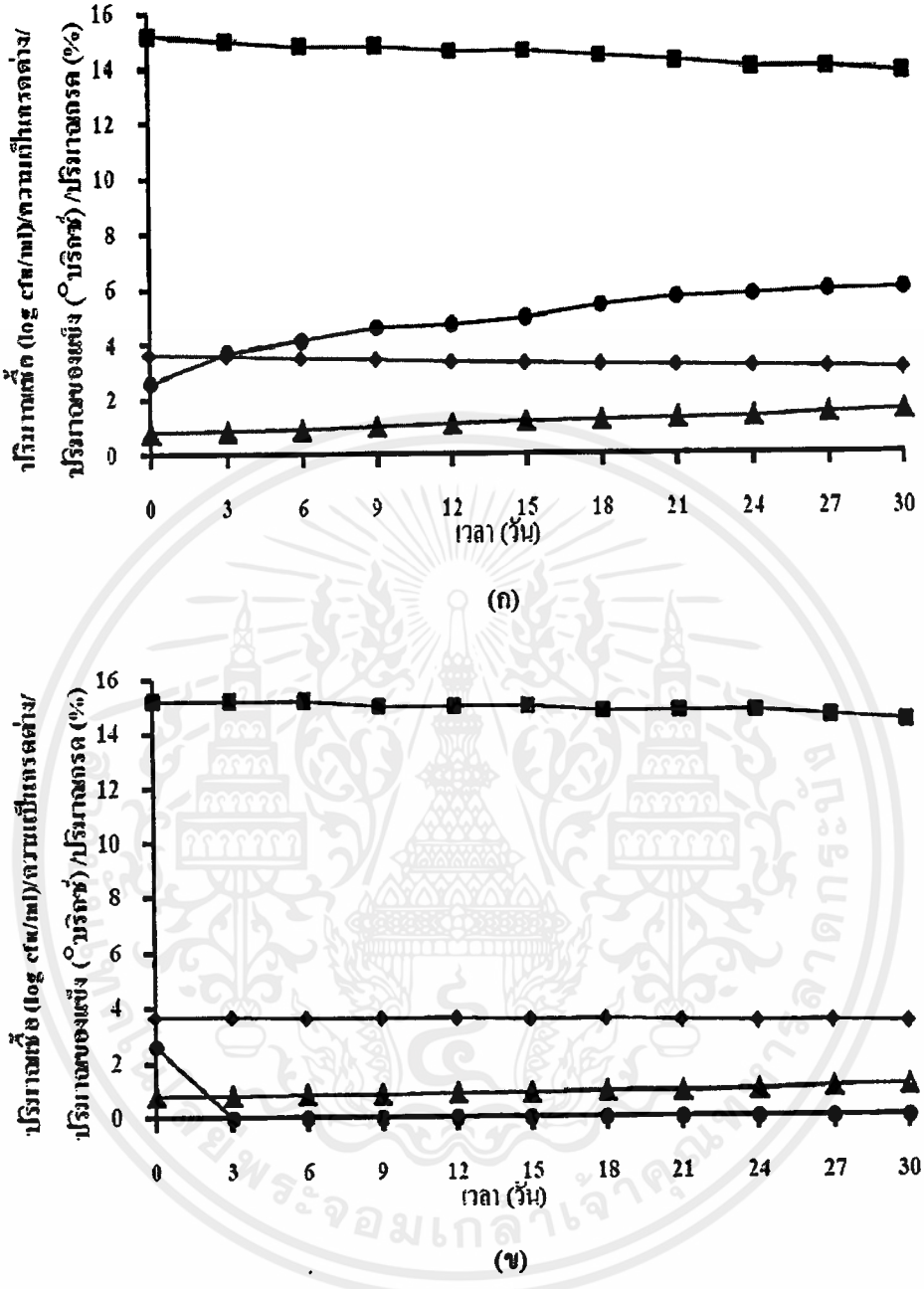
ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ 4.5 อย่างไรก็ตามน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ อาจพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถเจริญได้ที่ความเป็นกรดด่างต่ำ และสร้างกรดแลคติก (lactic acid) (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539) มีผลให้น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี ทำให้มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี ตกตะกอนแยกชั้น และกลิ่นรสที่ไม่ดี ในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและปริมาณกรดทั้งหมด เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงอายุการเก็บรักษาของน้ำส้มคั้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 0.88 และ 0.89 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ตามลำดับ ระหว่างการเก็บรักษา 3 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เริ่มต้น (0.83 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้ม ดังนั้นน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บรรจุขวด จึงสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ขณะที่น้ำส้มคั้นชุดควบคุม สามารถเก็บรักษาได้เพียง 1 วัน

4.6.2 คุณภาพน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม บรรจุขวดชนิด PET ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณเชื้อ *C. krusei* เริ่มต้น 2 log cfu/ml เมื่อเก็บรักษาน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)ที่ระยะเวลา 12 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น และกลิ่นส้มหมักเกิดขึ้น ขณะที่น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ไม่พบการเปลี่ยนแปลง ที่ระยะเวลา 15 วัน พบว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นสีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น และกลิ่นส้มหมักปนตะไคร้ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน พบว่าน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เกิดการเสื่อมเสีย (ภาคผนวก ค-12) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ในระหว่างการเก็บรักษา ดังภาพที่ 4.8 (ภาคผนวก ค-15) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น 3.43 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 14.40 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ตรวจพบเชื้อยีสต์เริ่มต้น 2.60 log cfu/ml จากนั้นมีปริมาณลดลง จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 ความเป็นกรดด่าง (◆) ปริมาณกรดทั้งหมด (▲) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (■) และปริมาณเชื้อยีสต์ (●) ของน้ำส้มคั้นชุดควบคุม(ก) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม (ข) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

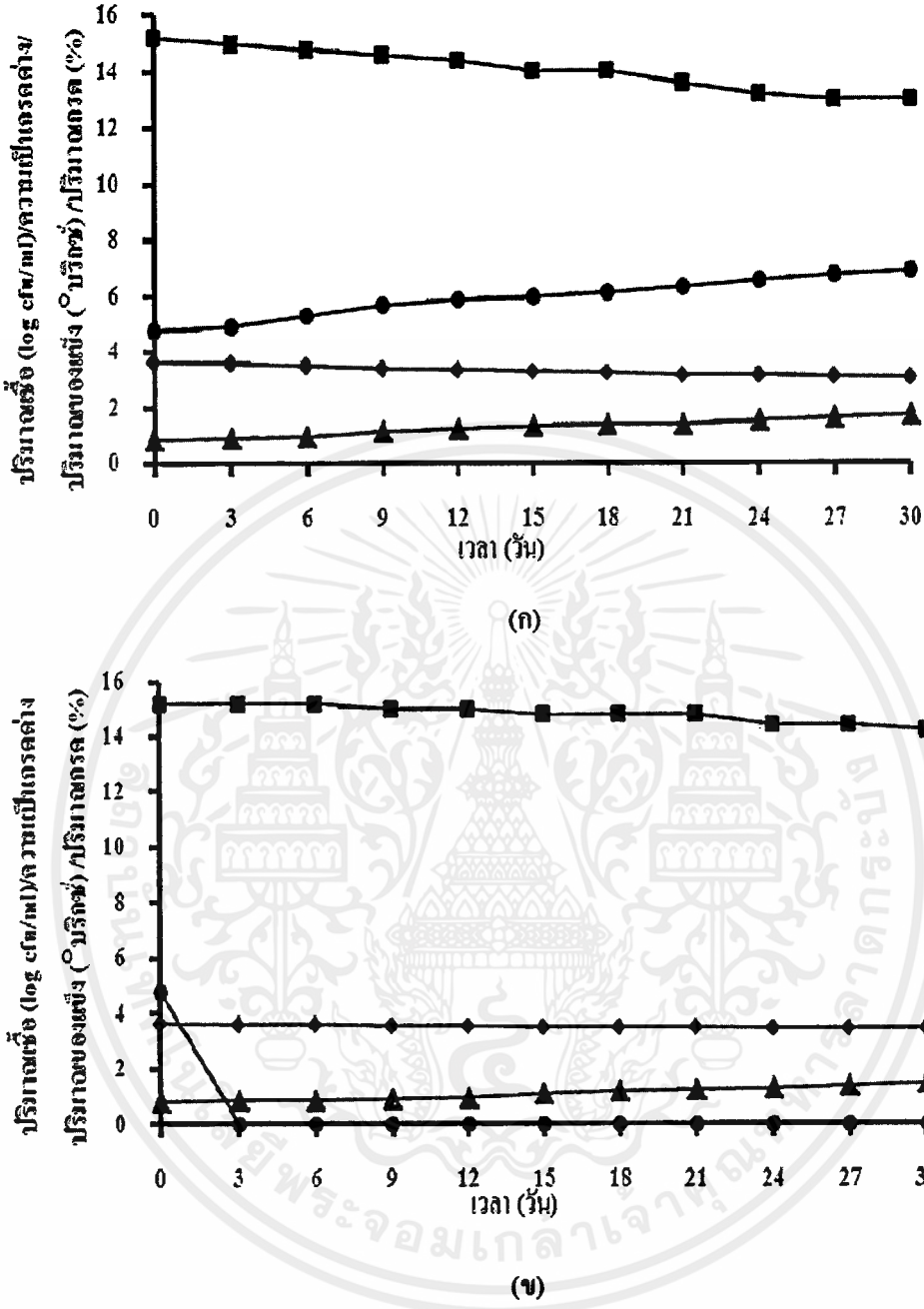
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และตรวจไม่พบ เชื้อรา โคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* (ภาพที่ 4.8 (ข)) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำส้มคั้น(ชุดควบคุม) พบว่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยน้ำส้มคั้นมีปริมาณกรดทั้งหมด มากกว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ส่วนความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น 3.10 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 13.80 องศาบริกซ์ ตามลำดับ เชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น จาก 2.60 เป็น 5.98 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 30 วัน (ภาพที่ 4.8 (ก)

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มคั้นบรรจุขวดผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000+1.0 พีพีเอ็ม ที่ปริมาณเชื้อ *C. krusei* เริ่มต้น 4 log cfu/ml พบว่าเป็นแนวโน้มเดียวกันกับที่ปริมาณเชื้อ *C. krusei* เริ่มต้น 2 log cfu/ml โดยน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีการเปลี่ยนแปลงของสี ลักษณะปรากฏ และกลิ่นแตกต่างกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) (ภาคผนวก ค-12) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ดังภาพที่ 4.9 (ภาคผนวก ค-16) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความเป็นกรดด่างลดลง จาก พีเอช 3.65 เป็น 3.44 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 14.20 องศาบริกซ์ ตรวจพบเชื้อยีสต์ 4.76 log cfu/ml จากนั้นมีปริมาณลดลง จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 3 วัน ขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อรา โคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* (ภาพที่ 4.9 (ข)) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) พบว่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยน้ำส้มคั้นมีปริมาณกรดทั้งหมด มากกว่าน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ส่วนค่าความเป็นกรดด่างลดลง จากพีเอช 3.65 เป็น3.08 และ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง จาก 15.20 เป็น 13.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับ และเชื้อยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้น จาก 4.76 เป็น 6.86 log cfu/ml ที่ระยะเวลา 30วัน (ภาพที่ 4.9 (ก))

จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เป็นแนวโน้มเช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีเกิดขึ้นช้ากว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำช่วยลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และยืดอายุการเก็บรักษาน้ำส้มคั้นนานขึ้น (วิไล รังสาดทอง, 2547) สอดคล้องกับ Fitzgerald et al. (2004) พบว่าวานิลลินความเข้มข้น 20 และ 10 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sac. cerevisiae* และ *C. parapsilosis* ในน้ำอัดลมกลิ่นพีชและน้ำแอปเปิ้ลพาสเจอร์ไรส์ได้ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ความเป็นกรดด่าง (◆) ปริมาณกรดทั้งหมด (▲) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (■) และปริมาณเชื้อยีสต์ (●) ของน้ำส้มคั้นชุดควบคุม(ก) และน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000+1.0 พีพีเอ็ม (ข) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากใช้วานิลลินความเข้มข้น 5 และ 1 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 สัปดาห์

ปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 0.93 และ 1.12 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 และ 4 log cfu/ml ตามลำดับ ระหว่างการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้เริ่มต้น (0.83 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำส้ม ดังนั้นน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บรรจุขวด จึงสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน ขณะที่น้ำส้มคั้นชุดควบคุม สามารถเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน

4.7 ศึกษาผลของการใช้วานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้น

การทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม และ1,000+1.0 พีพีเอ็ม ด้วยวิธี nine point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิม จำนวน 60 คน แบ่งตามช่วงอายุ 20-40 ปี จำนวน 30 คน และ ช่วงอายุ 41-60 ปี จำนวน 30 คน ดังตารางที่ 4.7 และ 4.8

ผู้ทดสอบช่วงอายุ 20-40 ปี ให้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 500+0.5 พีพีเอ็มใกล้เคียงกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งมีความชอบโดยรวมเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง ขณะที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม แตกต่างกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีความชอบโดยรวมเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ชอบเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบช่วงอายุ 20-40 ปี ให้ความพึงพอใจต่อน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่ความเข้มข้นในระดับต่ำ ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีผลต่อการยอมรับทางด้านกลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยเฉพาะด้านรสชาติ พบมีค่าน้อยที่สุด (ตารางที่ 4.7) อาจเนื่องจากความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เพิ่มขึ้น มีผลให้น้ำส้มคั้นมีรสชาติของวานิลลินและรสขมของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้แตกต่างจากน้ำส้มคั้น จึงทำให้รสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคสอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธิดา (2543) พบว่า ผู้ทดสอบช่วงอายุ 25-35 ปี มีทัศนคติในการเลือกบริโภคน้ำผลไม้พร้อมดื่ม โดยพิจารณาจากความชอบทางด้านรสชาติของน้ำผลไม้เป็นหลักในการตัดสินใจเลือกบริโภคน้ำผลไม้พร้อมดื่ม

ตารางที่ 4.7 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้โดยใช้ผู้ทดสอบช่วงอายุ 20-40 ปี

ลักษณะ	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้น (วานิลลิน 500 พีพีเอ็ม + น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 0.5 พีพีเอ็ม)	น้ำส้มคั้น (วานิลลิน 1,000 พีพีเอ็ม + น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 1.0 พีพีเอ็ม)
สี [ns]	8.03 ± 0.67	7.90 ± 0.76	7.87 ± 0.63
กลิ่น	7.60 ± 0.72 [ns]	7.67 ± 0.76 [ns]	6.10 ± 0.76 [b]
รสชาติ	7.87 ± 0.73 [ns]	7.73 ± 0.79 [ns]	5.43 ± 0.73 [b]
เนื้อสัมผัส	7.63 ± 0.81 [ns]	7.90 ± 0.76 [ns]	6.50 ± 0.68 [b]
ความชอบโดยรวม	7.77 ± 0.68 [ns]	7.83 ± 0.79 [ns]	6.07 ± 0.83 [b]

หมายเหตุ : ตัวอักษรในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
: ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ส่วนผลการทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ โดยใช้ผู้ทดสอบช่วงอายุ 41-60 ปี (ตารางที่ 4.8) พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความความชอบโดยรวมของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 500+0.5 พีพีเอ็ม และ1,000+1.0 พีพีเอ็ม ใกล้เคียงกับน้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งมีความชอบโดยรวมเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค เนื่องจาก ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ยอมรับกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวของวานิลลินและตะไคร้ที่ผสมในน้ำส้มคั้น จึงทำให้ให้ผู้บริโภคช่วงอายุ 41-60 ปี พึงพอใจต่อน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้โดยใช้ผู้ทดสอบช่วงอายุ 41-60 ปี

ลักษณะ	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้น (วานิลลิน 500 พีพีเอ็ม + น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 0.5 พีพีเอ็ม)	น้ำส้มคั้น (วานิลลิน 1,000 พีพีเอ็ม + น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 1.0 พีพีเอ็ม)
สี ^{ns}	8.00 ± 0.74	7.73 ± 0.58	7.87 ± 0.68
กลิ่น ^{ns}	7.70 ± 0.65	7.73 ± 0.58	7.70 ± 0.65
รสชาติ ^{ns}	7.73 ± 0.74	7.80 ± 0.55	7.77 ± 0.73
เนื้อสัมผัส ^{ns}	7.63 ± 0.62	7.83 ± 0.70	7.60 ± 0.68
ความชอบโดยรวม ^{ns}	7.90 ± 0.61	7.97± 0.62	7.83 ± 0.65

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคทั้งสองกลุ่มให้การยอมรับน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ 500+0.5 พีพีเอ็ม ทั้งทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง ซึ่งผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีลักษณะเด่น ทางด้านกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยจึงเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

น้ำส้มคั้นจากร้านค้าในกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 13 ตัวอย่าง มีค่าความเป็นกรดค่างอยู่ในช่วง 3.37-3.82 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด อยู่ในช่วง 14.80-15.60 องศาบริกซ์ และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก อยู่ในช่วง 0.42-1.28 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาใช้ในการกำหนดสภาวะที่ใช้ในการเตรียมน้ำส้มคั้นที่ใช้ในการศึกษามีความเป็นกรดค่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก มีค่า 3.62 15.20 องศาบริกซ์ และ 0.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำน้ำส้มคั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อยีสต์ อยู่ในช่วง 3.45-4.61 log cfu/ml โดยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากน้ำส้มคั้นคือ *C.tropicalis* และ *C. krusei*

ในการทดสอบผลของวานิลลิน น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ และสารผสมทั้งสองต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ในน้ำส้มคั้น พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml วานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000-4,000 และ 0.5-2.5 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดจนตรวจไม่พบ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใน 72 ชั่วโมง โดยวานิลลินความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 0.5 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* และ *C. krusei* ได้ และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml วานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 3,500-4,000 และ 2.0-2.5 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใน 72 ชั่วโมง โดยวานิลลินความเข้มข้น 3,500 พีพีเอ็ม และ น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 2.0 พีพีเอ็ม เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์มีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ พบว่า *C. krusei* ทนทานต่อสารทั้งสองชนิดได้ดีกว่า *C. tropicalis* จากการทดสอบผลของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ พบว่าวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 1,000+1.0 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *C. krusei* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง การใช้วานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. krusei ได้ดีกว่าการใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว แสดงว่าสารผสมอาจเพิ่มฤทธิ์ยับยั้งหรือเสริมฤทธิ์กัน

อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษา มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ (สี ลักษณะปรากฏ และกลิ่น) และคุณภาพทางเคมี (ความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมด) ของน้ำส้มคั้นบรรจุขวด ที่ผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม และ 1,000+1.0 พีพีเอ็ม การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีช้ากว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจไม่พบเชื้อยีสต์ รา โคลิฟอร์ม *E. coli* และ *Staph. aureus* น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ขณะที่น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) สามารถเก็บรักษาได้เพียง 1 วัน และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เป็นเวลา 12 วัน ขณะที่น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม) สามารถเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน

การทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ พบว่าผู้ทดสอบช่วงอายุ 20-40 ปี และ 41-60 ปี ให้ความพึงพอใจต่อน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500+0.5 พีพีเอ็ม อยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง และผลิตภัณฑ์น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ มีลักษณะเด่น ทางด้านกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยจึงเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพได้แก่ การยอมให้แสงผ่าน (%Tranmisstance) และ สี (L*a*b*) ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เพื่อจะให้ทราบการสูญเสียความคงตัวของความขุ่น และการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำส้มคั้นในระหว่างการเก็บรักษา

5.2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารวานิลลิน และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ในน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ เปรียบเทียบกับน้ำส้มคั้น เพื่อจะให้ทราบองค์ประกอบทางเคมี ชนิดและปริมาณสารอาหาร และสารสำคัญต่างๆในน้ำส้มคั้นที่ผู้บริโภคได้รับ

5.2.3 ความเข้มข้นของวานิลลินและน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น อาจจะนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชนิดอื่นๆ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมอนามัย. 2548. **"การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในศูนย์อาหารของห้างสรรพสินค้า."** กรุงเทพฯ : กองสุขาภิบาลอาหารและน้ำ. เอกสารอัดสำเนา.

กระทรวงสาธารณสุข. 2543. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือ เครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร (ฉบับที่ 193).** นนทบุรี : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2553. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร (ฉบับที่ 2).** นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

กนกวรรณ แซ่หล่อ. 2551, 11 พฤษภาคม. " เครื่องคั้นน้ำส้มอัตโนมัติแบบจานหมุน ผลงานนักประดิษฐ์แม่โจ้." เสมอขวัญ ตันติกุล. **บ้านเมือง.** หน้า 13.

เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล ลักขณา งิ้วสระ ขจีลักษณ์ เฉียบแหลม จันทรกานต์ ศรีสมทรัพย์ และชิษณุสรร สวัสดิวัตน์. 2548. "คุณสมบัติต้านมะเร็งของวานิลลา และสารที่มีโครงสร้างคล้ายกัน." 18-20 ตุลาคม 2548. หน้า 633-634. **ใน การประชุมวิชาการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.** นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

คมสัน หุตะแพทย์. 2549. **การสกัดน้ำมันหอมระเหย การใช้ประโยชน์ และการทำผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย.** กรุงเทพฯ : ออฟเซ็ท ครีเอชั่น.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. 2550. **น้ำมันหอมระเหยและการใช้สุคนธบำบัด.** กรุงเทพฯ : วิฑูรย์การปก.

ทนง ภัครัชพันธุ์. 2524. **อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธิดา เข็มทองใหญ่. 2543. **"ตลาดอุตสาหกรรมน้ำผลไม้พร้อมดื่มที่มีตรายี่ห้อ."** วิทยานิพนธ์ครุศาสตร์อุตสาหกรรมมหาบัณฑิต สาขาวิชาธุรกิจอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. **เครื่องเทศ.** กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. **เคมีอาหาร.** กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

นพมาศ สะพู. 2542. "น้ำผลไม้คุณค่าแฝงอันตราย." **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ.** 179(59) : 40-42.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. **"ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปาริชาติ เจริญรัตน์. 2542. **"คุณค่าทางโภชนาการของเครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ของไทยและผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มคั้นสด."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยมหิดล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรมปรี ณ สงขลา. 2537. **รวมกลยุทธ์ส้ม.** กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์.

ปุ่น คงเจริญเกียรติ์. 2553. **บรรจุภัณฑ์น้ำผลไม้.** กรุงเทพฯ : ฟู้ด เน็ตเวิลด์ โซลูชั่น.

รัตนา อัตตปัญโญ. 2549. **เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิท.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลดาพรรณ แสงคล้าย จุไร โชติชนาททวีวงศ์ ใจภักดิ์ พราหมณ์พันธุ์ นฤมล เหลืองคำรงกิจ และสุวรรณี ธีรภาพธรรมกุล. 2533. "คุณภาพน้ำหวานหาบเร่จากแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานคร." **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 32(3) : 121 -132.

ลินจง สุขลำภู. 2546. **การใช้ความร้อนต่ำร่วมกับสารสกัดจากขิงในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำส้ม.** กรุงเทพฯ : สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. **จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร.** สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิไล รังสาดทอง. 2547. **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร.** กรุงเทพ ฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วิสิฐ จะวะสิต สุภาพร กัณหะวัฒนะ และวชิระ จิระรัตนรังสี. 2547. **คู่มือการผลิตเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ ชนิดบรรจุขวดและถุงพลาสติก.** กรุงเทพ ฯ : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2535. **วัตถุเจือปนในผลิตภัณฑ์อาหาร.** นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและอบรมการเกษตรแห่งชาติ.

สรจักร ศิริบริรักษ์. 2549. **พลังมหัศจรรย์ในน้ำผักผลไม้.** กรุงเทพฯ : ซีเอ็ดยูเคชั่น.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2547. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำส้ม (มผช.247/2547).** กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้ม (มอก.99-2549).** กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. **สถิติการส่งออกน้ำส้ม.** กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2554. **บรรจุภัณฑ์สำหรับน้ำผลไม้.** ปทุมธานี : คลองหลวง.

หน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร. 2552. **โครงการศึกษาศึกษาปัญหาและแนวทางแก้ไขการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข.** กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัจฉรา เหมทานนท์ สุมาลี เหลืองสกุล และธารารัตน์ ศุภศิริ. 2532. "ฤทธิ์ของสารสกัดจากตะไคร้ในการต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังบางชนิด." **วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.** 5(2) : 115-223.

Al-Jedah, J.H. and Robinson, R.K. 2002. "Nutritional Value and Microbiological Safety of Fresh Fruit Juices sold through Retail Outlets in Qatar." **Pakistan. J. Nutr.** 1(2) : 79-81.

Alwazeer, D., Cachon, R. and Divies, C. 2002. "Behavior of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in Fresh and Thermally Process Orange Juice." **J. Food Protect.** 65(10) : 1586 – 1589.

Arias, C.R., Burn, J.K., Fricdrich, L.M., Goodrich, R.M. and Parish, M.E. 2002. "Yeast Species Associated With Orange Juice : Evaluation of Different Identification Methods." **J. Appl. Environ. Microbiol.** 68(4) : 1955-1961.

Ashurst, P.R. 1995. **Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages.** New York : Champman & Hall.

Baker, R.A. and Cameron, R.G. 1999. "Clouds of Citrus Juices and Juice Drinks." **J. Food Tech.** 53(1): 64-69.

Belletti, N., Kamdem, S.S., Patrignani, F., Lanciotti, R., Covelli, A. and Gardini, F. 2007. "Antimicrobial Activity of Aroma Compounds against *Saccharomyces cerevisiae* and Improvement of Microbiological Stability of Soft Drinks as Assessed by Logistic Regression." **J. Appl. and Environ. Microbiol.** 73(17) : 5580-5586.

Budavari, S., Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E. and Kinneary, J.F. 1996. **The Merck Index.** Germany : Whitehouse Station.

Cava-Roda, R.M., Taboada-Rodriguez, A., Valverde-Franco, M.T. and Marin-Iniesta, F. 2010. "Antimicrobial Activity of Vanillin and Mixtures with Cinnamon and Clove Essential Oils in Controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in Milk." **J. Food Bioprocess Technol.** 70(12) : 2757-2763.

Cerrutti, P. and Alzamora, S.M. 1996. "Inhibitory Effects of Vanillin on Some Food Spoilage Yeasts in Laboratory Media and Fruit Purees." **Int. J. Food Microbiol.** 29 : 379-386.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cielo, D., Char, N., Guerrero, S. and Alzamora, M. 2008. "Mild Thermal Process Combined with Vanillin Plus Citral to Help Shorten the Inactivation Time for *Listeria innocua* in Orange Juice." **Food Bioprocess Technol.** 10 : 155-164.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., Bruyne, T. and Hermans, N. 2002. "Correlation Between Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Some Aromatic Medicinal Plants Growing in The Democratic Republic of Congo." **J. Ethnopharmacol.** 79 : 213-20.

Evans, B.K., James, K.C. and Luscombe, D.K. 1978. "Quantitatives Structure-Activity Relationships and Carminative Activity." **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.** 67 : 277-287.

Farnworth, E.R., Lagace, M., Couture, R., Yaylayan, R. and Stewart, B. 2011. " Thermal Processing, Storage Conditions, and The Composition and Physical Properties of Orange Juice." **J. Food Res. Int.** 34 : 25-30.

Feller, P. J., De Jager, G. and Poole, M.L. 1986. " Quality of Retail Florida-Packed Frozen Concentrated Orange Juice as Determined by Consumers and Physical and Chemical Analyses." **J. Food Sci.** 51(5) : 1187-1190.

FDA- Bacteriological Analytical Manual (BAM). 2001. ***"Staphylococcus aureus."*** in Chapter 12. [Online]. Available : http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM071429.htm

FDA- Bacteriological Analytical Manual (BAM). 2002. **"Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria."** in Chapter 4. [Online]. Available : http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM064948.htm

Fitzgerald, D.J., Stratford, M. and Narbad, A. 2003. "Analysis of the Inhibition of Food Spoilage Yeasts by Vanillin." **Int. J. Food Microbiol.** 86 : 113-122.

Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M.J. and Narbad, A. 2004. "The Potential Application of Vanillin in Preventing Yeast Spoilage of Soft Drinks and Fruit Juices." **J. Food Protect.** 67(2) : 391-395.

Franke, S.I., Ckless, K., Silveira, J.D., Rubensam, G., Brendel, M., Erdtmann, B. and Henriquex, J. 2004. "Study of Antioxidant and Mutagenic Activity of Different Orange Juices." **J. Food Chem.** 88 : 45-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goodner, J. K., Braddock, R.J., Parish, M.E. and Sims, C. A. 1999. "Cloud Stabilization of Orange Juice by High Pressure Processing." **J. Food Sci.** 64(4): 699-700.

Haginiwa, J., Hasada, M. and Morishita, I. 1963. "Properties of Essential Oil Components of Aromatics and Their Phamacological Effect on Mouse Intestine." **J. Pharmacol. Pharmacol. Toxicol. Meth.** 83: 624.

Helal, G.A., Sarhan, M.M., Shahla, A.N. and Abou, E.K. 2006. "Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against Microorganisms Deteriorating Fruit Juices." **J. Mycobiol.** 34(4): 219-229.

Lalko, J. and Api, A.M. 2008. "Citral: Identifying a Threshold for Induction of Dermal Sensitization." **J. Regul. Toxicol. Pharmacol.** 52 : 62-73.

Marino, A., Nostro, A. and Fioremtino, C. 2009. "Ochratoxin A Production By *Aspergillus westerdijkiae* in Orange Fruit and Juice." **Int. J. Food Microbiol.** 132 : 185-189.

Melendez-Martinez, A. J., Vicario, I. M. and Heridia, F.J. 2007. "Analysis of carotenoids in orange juice." **J. Food Compos. Anal.** 20 : 638-649.

Mourtzinos, I., Konteles, S., Kalogeropoulos, N. and Karathanos, T.V. 2009. "Thermal Oxidation of Vanillin Affects its Antioxidant and Antimicrobial Properties." **J. Food Chem.** 114 : 791-797.

Naik, M., Bashir, A.F., Ebenezar, J. and Javid, A.B. 2010. "Antibacterial Activity of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Oil Against some Selected Pathogenic Bacterias". **Asian Pac. J. Trop. Med.** 535 -538.

Nienaber, U. and Shellhammer, T.H. 2001. "High-Pressure Processing of Orange Juice Combination Treatments and a Shelf Life Study." **J. Food Sci.** 66(2): 332-336.

Nikos, G.T. and Costas, D.E. 2007. "Antifungal Activity of Lemongrass (*Cympopogon citratus* L.) Essential Oil Against Key Postharvest Pathogens." **J. Innovat. Food Sci. Emerg. Tech.** 8 : 253-258.

Onawunmi, G. O. 1989. "Evaluation of the Antimicrobial Activity of Citral." **Lett. Appl. Microbiol.** 9: 105 -108.

Penney, V., Henderson, H., Blum, C. and Johnson – Green, P. 2004. "The Potential of Phytopreservatives and Nisin to Control Microbial Spoilage of Minimally Processed Fruit Yogurts." **J. Innovat. Food Sci. Emerg. Tech.** 5 : 369-375.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rojas-Grau, M.A., Raybaudi-Massilia, R.M., Soliva-Fortuny, R.C., Avena-Bustillos, R.J. McHugh, T.H. and Belloso, O.M. 2007. "Apple Puree-Alginate Edible Coating as Carrier of Antimicrobial Agents to Prolong Shelf-Life of Fresh-Cut Apples." **J. Posth. Biol. Tech.** 45 : 254-264.

Roussos, P. A. 2011. "Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Orange (*Citrus sinensis* (l.) Osbeck cv.Salustiana) Juice Produced Under Organic and Integrated Farming System in Greece." **J. Sci. Hort.** 129 : 253-258.

Rupasinghe, H.P. 2006. "Vanillin Inhibition Pathogenic and Spoilage Microorganism in Vitro and Aerobic Microbial Growth in Fresh - Cut Apples." **J. Food Res. Int.** 39 : 575-580.

Scott, W.C., Kew, T.J., and Veldhuis, M.K. 1965. "Composition of Orange Juice Cloud." **J. Food Sci.** 30 : 833 - 837.

Shaaban, M.F., Yahia, H., Bayoum, H. and Hesham A.E. 2010. "The Use of Lemongrass Extracts as Antimicrobial and Food Additive Potential in Yoghurt." **J. Am. Sci.** 6(11) : 582-594.

Silva, C.B., Guterres, S.S., Weisheimer, V. and Schapoval, E.E. 2008. "Antifungal Activity of The Lemongrass Oil and Citral Against Candida spp." **Braz. J. Infect. Dis.** 12(1) : 63-66.

Sospedra, I., Rubert J., Soriano, J.M. and Manes, J. 2011. "Incidence of Microorganisms From Fresh Orange Juice Processed by Squeezing Machines." **J. Food Contr.** 44 : 1-4.

Stratford, D.J., Gasson, M.J. and Narbad, A. 2004. "The Potential Application of Vanillin in Preventing Yeast Spoilage of Soft Drinks and Fruit Juices." **J. Food Protect.** 67 : 391-395.

The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 15th ed. Virgina : Arlington.

The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 17th ed. Gaithersburg : Maryland.

Vasantha, H.P., Jeanine, B.B., Taehyun, A. and Joseph, A. 2006. "Vanillin Inhibits Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Vitro and Aerobic Microbial Growth in Fresh-Cut Apples." **J. Food Res. Int.** 39 : 575-580.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Versteeg, C., Rombouts, F.M., Spansen, C.H. and Pilnik, W. 1980. "Thermostability and Orange Juice Cloud Destabilizing Properties of Multiple Pectinesterases from Orange." **J. Food Sci.** 45 : 969-971.

Walton, J.N., Melinda, J. and Arjan, N. 2003. "Molecules of Interest Vanillin." **J. Phy. Chem.** 63: 505-515.

Warnasuriya, D., Liyanage, A.W., Weerawansa, G.G., Athauda, P.K. and Jayatissa, P.M. 1985. "Isolation and Characterization of Yeast of Some Fruits and Fruit Products of Sri Lanka" **J. Natn. Sci. Coun. Sri Lanka.** 13(1) : 71-75.

Wannissorn, B., Jarikasem, S. and Soontorntanasart, T. 1996. "Antifungal Activity of Lemon grass Oil and Lemongrass Oil Cream." **J. Phys. Res.** 10 : 551-554.

Wissanee, S. and Renu, P. 2007. "Physical, Chemical and Microbiological Changes during Storage of Orange Juices cv. Sai Nam Pung and cv. Khieo Waan in Northern Thailand." **Int J. Agr. Biol.** 9(5) : 726-730.

Wolska-Mitaszko, B., Jakubowicz, T., Kucharzewska, T., and Gasior, E. 1981. "An Efficient Technique for the Isolation of Yeast Spores and the Preparation of Spheroplast Lysates Active in Protein Synthesis." **J. Anal. Biochem.** 116 : 241-247.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1990)

ปิเปตน้ำส้มคั้น 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น (ที่ผ่านการต้มเดือดและเย็นลง) 100 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟธาลีนลงไป 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายในฟลาสก์เป็นสีชมพูอ่อน ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

$$\text{ปริมาณกรดในรูปของกรดซิตริก} = \frac{\text{มิลลิลิตร (ml) ของ NaOH} \times N \times 100 \times 64}{A \times 1{,}000}$$

ml ของ NaOH = จำนวนมิลลิลิตรของ NaOH 0.1 นอร์มัล ที่ใช้ในการไทเทรต

N = Normality ของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

A = ปริมาตร(ระบุหน่วย) ของตัวอย่างน้ำส้มคั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข- 1 การวิเคราะห์หายีสต์และรา (AOAC, 2000)

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Potato Dextrose Agar (PDA) (Diffco, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Potato infusion	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมด 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำให้อุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเพาะเชื้อ

1.2 สารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Buffered peptone water	0.036	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลอง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 กรดทาร์ทาริก 10 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)

Tartaric acid	10	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่ขวดที่มีฝาปิดแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. วิธีการ

2.1 เจือจางตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ในสารละลายเปปโตน 99 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ไปเจือจางต่อในสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร ทำต่อไปจนความเจือจาง 10^{-4}

2.2 ดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจางๆ ละ 1 มิลลิลิตรใส่ในจานเพาะเชื้อ ทุกความเจือจางทำ 2 ซ้ำ

2.3 เติมกรดทาร์ทาริกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 100 มิลลิลิตร ที่หลอมเหลวและปล่อยให้อุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียสแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง หมุนจานไปมาเพื่อให้อาหารและตัวอย่างเข้ากันอย่างดี

2.5 รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง กลับจานเพาะเชื้อก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง

2.6 นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.7 รายงานผลจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร โดยนำค่าเจือจางคูณกับค่าเฉลี่ยของจานที่นับได้

3. ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ (% growth inhibition) (Helal et al., 2006)

สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{ปริมาณเชื้อ (ชุดควบคุม)} - \text{ปริมาณเชื้อ (ชุดตัวอย่าง)}}{\text{ปริมาณเชื้อ (ชุดควบคุม)}} \times 100$$

ข-2 การวิเคราะห์หาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *E. coli* (BAM, 2002)

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Brillient-green lactose bile broth (BGLB) (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone	10	กรัม
Lactose	10	กรัม
Oxgall	20	กรัม
Brillient-green	0.0133	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมด 40 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 6.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Lauryl sulphate tryptose broth (LST) (Diffco, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Tryptose	20	กรัม
Lactose	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2.75	กรัม
Potassiumdihydrogen phosphate	2.75	กรัม
Sodium lauryl sulphate	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายสารทั้งหมด 35.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.4 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 Nutrient agar (NA) (Diffco, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมด 20 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.0 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 Escherichia coli broth (EC broth) (Diffco, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Enzymatic digest of casein	20	กรัม
Lactose	5	กรัม
Bile salts mixture	1.5	กรัม
Dipotassium phosphate	4	กรัม
Monopotassium phosphate	1.5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมด 37 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 6.9 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.5 Eosin methylene blue agar (EMB) (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Enzymatic digest of gelatin	10	กรัม
Lactose	10	กรัม
Dipotassium phosphate	2	กรัม
Eosin Y	0.4	กรัม
Methylene blue	0.065	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายสารทั้งหมด 36 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.1 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.6 สารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Buffered peptone water	0.036	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลอง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

2.1.1 ปิเปตตัวอย่างๆ ละ10 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ

2.1.2 เติมสารละลายเปปโตน จำนวน 90 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยความเร็วต่ำ เป็นเวลา 1 นาที และทำการเจือจางให้เป็น 1:10 1:100 1:1,000 ตามลำดับ โดยใช้สารละลายเปปโตน

2.2 การตรวจนับจำนวนขั้นแรก (Presumptive test)

2.2.1 เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน ดูดตัวอย่างใส่หลอดอาหาร LST หลอดละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด ส่วนหลอดอาหาร LST ดูดตัวอย่างใส่หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด และ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

2.2.2 บ่มหลอดอาหารทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

2.2.3 สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง หากหลอดใดไม่เกิดก๊าซให้บ่มเชื้ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจผลเช่นเดียวกัน

2.2.4 บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละหลอด นำไปเปิดตาราง MPN รายงานผล เป็น MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มขั้นแรก/มิลลิลิตร

2.3 การตรวจนับจำนวนขั้นยืนยัน (Confirm test)

2.3.1 การตรวจนับแบคทีเรียโคลิฟอร์ม

2.3.1.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอดลงในอาหารเหลว BGLB หลอดต่อหลอด

2.3.1.2 บ่มหลอดอาหารไว้ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.3.1.3 บันทึกผลหลอดที่เกิดก๊าซ นำไปเปิดตาราง MPN รายงานผล เป็น MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มขั้นยืนยัน/มิลลิลิตร

2.3.2 การตรวจนับ *E. coli*

2.3.2.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอดลงในอาหารเหลว EC broth หลอดต่อหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอด

2.3.2.3 นำหลอดที่เกิดก๊าซมาเขย่าเบาๆ ใช้ลูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อจากหลอดดังกล่าวไปลากแนวบนอาหารแข็ง EMB

2.3.2.4 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนีที่มีสีเข้มตรงกลาง และมีสีโลหะตัด (metallic sheen)

2.3.2.5 ถ่ายเชื้อจากโคโลนีดังกล่าว ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3.2.6 นำไปย้อมสีแกรม ทดสอบ IMViC test นำไปเปิดตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของ *E. coli* /มิลลิลิตร

ข-3 การวิเคราะห์หา *Staph. aureus* (BAM, 2001)

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Baird-Parker agar (BP agar) (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Enzymatic digest of casein	10	กรัม
Beef extract	5	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
Lithium chloride	5	กรัม
Glycine	12	กรัม
Sodium pyruvate	10	กรัม
Agar	15	กรัม
Egg yolk tellurite	100	มิลลิลิตร
(chicken egg yolk 100 เปอร์เซ็นต์ + potassium tellurite 0.21 กรัม)		
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมด 58 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 6.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติม egg yolk tellurite 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.2 Brain heart infusion (BHI) (Diffco, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Brain heart infusion	17.5	กรัม
Enzymatic digest of gelatin	10	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dextrose	2	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Disodium phosphate	2.5	กรัม

ละลายสารทั้งหมด 37 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.4 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 Coagulate plasma

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Plasma rabbit	15	มิลลิลิตร
EDTA	15	ไมโครลิตร

เจาะเลือดกระต่ายจากเส้นเลือดที่ใบหู โดยเทคนิคปลอดเชื้อแล้วนำเลือดมาผสมกับ EDTA ซึ่งเป็นสารป้องกันการแข็งตัว เก็บพลาสม่า (plasma) หลังจากปั่นให้เม็ดเลือดตกตะกอนที่ 660 × g นาน 10 นาที แล้วนำพลาสม่าไปกรองแล้วนำไปบรรจุใน plastic vial ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนนำไปผ่านขบวนการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งระบบอัตโนมัติ

1.4 สารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Buffered peptone water	0.036	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลอง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. วิธีการ

2.1 ปิเปตตัวอย่างๆ ละ10 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ

2.2 เติมสารละลายเปปโตน จำนวน 90 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยความเร็วต่ำเป็นเวลา 1 นาที และทำการเจือจางให้เป็น 1:10 1:100 1:1,000 ตามลำดับ โดยใช้สารละลายเปปโตน

2.3 ดูดตัวอย่างจากระดับความเจือจางที่เหมาะสม จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BP agar จำนวน 2 ซ้ำ และใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ

2.4 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5 ตรวจสอบลักษณะโคโลนี โดยเลือกลักษณะโคโลนีมีลักษณะสีดำขอบขาวและแววใส รอบบริเวณมีบริเวณใส (clear zone) เลือกจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวน 20-200 โคโลนี

2.6 ถ่ายโคโลนีลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.7 ดูดตัวอย่าง จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบ และเติม coagulate plasma จำนวน 0.3 มิลลิลิตร ตรวจผลอีกครั้งเมื่อครบ 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตรวจผลการแข็งตัวของพลาสม่า ถ้าพลาสม่า ยังไม่แข็งตัว ให้เก็บหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วตรวจผลอีกครั้ง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง หลอดที่แข็งตัวแสดงว่ามีการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ผลการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1 ผลของวานิลลินต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	2.42±0.33 ^{ns}	2.48±0.31 ^{a}	3.08±0.05 ^{a}	3.56±0.06 ^{a}	3.77±0.03 ^{a}	4.52±0.13 ^{a}	4.95±0.07 ^{a}	5.23±0.18 ^{a}	5.77±0.07 ^{a}	6.24±0.90 ^{a}	6.62±0.13 ^{a}	7.05±0.21 ^{a}	7.28±0.28 ^{a}
100	2.42±0.33 ^{ns}	2.49±0.29 ^{a}	3.07±0.13 ^{a}	3.45±0.09 ^{a}	3.56±0.11 ^{a}	4.02±0.34 ^{ab}	4.82±0.03 ^{a}	4.99±0.13 ^{a}	5.20±0.12 ^{a}	5.94±0.34 ^{a}	6.28±0.34 ^{b}	6.66±0.06 ^{b}	6.95±0.13 ^{b}
500	2.42±0.33 ^{ns}	2.47±0.30 ^{a}	2.72±0.10 ^{ab}	3.18±0.20 ^{a}	3.26±0.21 ^{a}	3.68±0.04 ^{b}	3.76±0.20 ^{b}	4.25±0.13 ^{a}	4.71±0.15 ^{a}	4.89±0.22 ^{b}	5.39±0.09 ^{c}	5.61±0.04 ^{c}	5.72±0.25 ^{c}
1,000	2.42±0.33 ^{ns}	2.33±0.30 ^{ab}	2.34±0.27 ^{bc}	2.1±0.28 ^{b}	1.99±0.13 ^{b}	1.99±0.13 ^{c}	1.90±0.00 ^{c}	1.90±0.00 ^{b}	0.93±0.30 ^{b}	0.89±0.26 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}
1,500	2.42±0.33 ^{ns}	2.26±0.21 ^{ab}	2.11±0.00 ^{bcd}	2.11±0.00 ^{b}	2.08±0.50 ^{b}	1.72±0.33 ^{c}	1.35±0.47 ^{d}	0.8±0.13 ^{c}	0.8±0.13 ^{b}	0.8±0.13 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}
2,000	2.42±0.33 ^{ns}	2.02±0.34 ^{ab}	1.86±0.53 ^{cd}	1.80±0.45 ^{bc}	1.80±0.45 ^{b}	1.35±0.49 ^{c}	1.24±0.34 ^{d}	0.65±0.93 ^{c}	0.65±0.92 ^{b}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}
2,500	2.42±0.33 ^{ns}	1.80±0.45 ^{b}	1.48±0.07 ^{d}	1.43±0.60 ^{c}	0.5±0.70 ^{c}	0.50±0.70 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}
3,000	2.42±0.33 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}
3,500	2.42±0.33 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-2 ผลของวานิลลินต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	4.04±0.37^{ns}	4.77±0.04^{a}	5.42±0.33^{a}	6.02±0.34^{a}	6.41±0.07^{a}	6.57±0.11^{a}	6.91±0.06^{a}	7.27±0.26^{a}	7.31±0.32^{a}	7.36±0.40^{a}	7.79±0.22^{a}	7.95±0.07^{a}	7.95±0.18^{a}
100	4.04±0.37^{ns}	4.75±0.02^{a}	5.46±0.11^{a}	5.84±0.34^{a}	6.27±0.13^{a}	6.49±0.16^{a}	6.89±0.06^{a}	7.27±0.13^{a}	7.34±0.20^{a}	7.33±0.40^{a}	7.71±0.26^{a}	7.89±0.09^{a}	7.94±0.05^{a}
500	4.04±0.37^{ns}	4.73±0.02^{a}	5.37±0.16^{a}	5.84±0.16^{a}	6.25±0.07^{a}	6.44±0.11^{a}	6.77±0.18^{a}	7.07±0.30^{ab}	7.27±0.10^{a}	7.30±0.27^{a}	7.64±0.29^{a}	7.79±0.10^{a}	7.87±0.06^{a}
1,000	4.04±0.37^{ns}	4.71±0.01^{a}	5.24±0.28^{a}	5.78±0.17^{a}	6.05±0.21^{a}	6.35±0.16^{a}	6.62±0.30^{a}	6.99±0.13^{ab}	7.10±0.28^{a}	7.23±0.21^{a}	7.52±0.17^{a}	7.71±0.11^{a}	7.82±0.11^{a}
1,500	4.04±0.37^{ns}	4.69±0.00^{a}	4.95±0.03^{ab}	4.97±0.37^{b}	5.58±0.30^{a}	5.94±0.02^{b}	5.90±0.85^{b}	6.72±0.22^{b}	6.95±0.07^{a}	6.97±0.26^{a}	7.28±0.40^{a}	7.59±0.22^{a}	7.73±0.11^{a}
2,000	4.04±0.37^{ns}	4.67±0.01^{a}	4.72±0.14^{bc}	4.87±0.56^{b}	4.94±0.08^{c}	4.94±0.20^{c}	5.45±0.27^{b}	5.67±0.21^{c}	5.96±0.08^{b}	5.99±0.15^{b}	6.35±0.24^{b}	6.81±0.27^{b}	6.96±0.23^{b}
2,500	4.04±0.37^{ns}	4.65±0.01^{a}	4.69±0.10^{bc}	4.83±0.03^{b}	4.89±0.06^{c}	4.95±0.06^{c}	5.16±0.29^{b}	5.29±0.16^{cd}	5.32±0.34^{c}	5.47±0.24^{b}	5.67±0.18^{c}	5.88±0.06^{c}	5.93±0.21^{c}
3,000	4.04±0.37^{ns}	4.58±0.03^{a}	4.59±0.18^{bc}	4.60±0.16^{bc}	4.62±0.29^{c}	4.90±0.04^{c}	5.10±0.28^{b}	5.17±0.24^{d}	5.16±0.53^{c}	5.40±0.38^{b}	5.50±0.37^{c}	5.35±0.70^{c}	5.84±0.09^{c}
3,500	4.04±0.37^{ns}	4.27±0.32^{ab}	4.41±0.36^{c}	4.22±0.25^{c}	3.95±0.23^{d}	3.97±0.16^{d}	3.97±0.06^{c}	3.93±0.06^{e}	3.91±0.06^{d}	3.66±0.16^{e}	3.24±0.40^{d}	2.81±0.39^{d}	2.41±0.15^{d}
4,000	4.04±0.37^{ns}	4.03±0.60^{b}	4.02±0.27^{c}	2.81±0.18^{d}	1.50±0.28^{e}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{ff}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{e}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-3 ผลของวานิลลินต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	2.51±0.13^{ns}	2.78±0.37^{a}	4.32±0.08^{a}	4.91±0.29^{a}	5.27±0.10^{a}	5.76±0.06^{a}	5.94±0.08^{a}	7.03±0.18^{a}	7.40±0.17^{a}	7.48±0.16^{a}	7.47±0.18^{a}	7.60±0.20^{a}	7.76±0.10^{a}
100	2.51±0.13^{ns}	2.83±0.15^{a}	4.25±0.07^{a}	4.77±0.13^{a}	5.07±0.16^{a}	5.44±0.34^{b}	5.78±0.10^{b}	6.10±0.14^{b}	6.16±0.17^{b}	6.42±0.14^{b}	6.64±0.08^{b}	7.07±0.16^{b}	7.42±0.05^{b}
500	2.51±0.13^{ns}	2.50±0.17^{ab}	2.93±0.04^{b}	2.99±0.13^{b}	3.12±0.05^{b}	3.38±0.05^{c}	3.66±0.04^{c}	3.73±0.07^{c}	3.86±0.01^{c}	3.95±0.07^{c}	3.99±0.06^{c}	4.41±0.10^{c}	4.60±0.01^{c}
1,000	2.51±0.13^{ns}	2.36±0.06^{bc}	2.36±0.06^{bc}	2.28±0.03^{c}	2.21±0.08^{c}	2.08±0.05^{d}	2.08±0.00^{d}	1.80±0.28^{d}	1.75±0.21^{d}	1.72±0.33^{d}	1.54±0.34^{d}	4.24±0.34^{d}	0.00±0.00^{d}
1,500	2.51±0.13^{ns}	2.34±0.06^{bc}	2.26±0.04^{bc}	2.26±0.04^{c}	2.23±0.04^{c}	2.04±0.06^{d}	1.93±0.11^{e}	1.89±0.16^{d}	1.74±0.06^{d}	1.78±0.11^{d}	1.54±0.34^{d}	1.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}
2,000	2.51±0.13^{ns}	1.99±0.13^{c}	1.99±0.13^{c}	1.97±0.10^{d}	1.98±0.04^{d}	1.98±0.04^{d}	1.90±0.07^{e}	1.59±0.16^{d}	1.24±0.34^{e}	1.00±0.00^{e}	1.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}
2,500	2.51±0.13^{ns}	1.99±0.06^{c}	1.75±0.21^{e}	1.59±0.12^{e}	1.45±0.21^{e}	1.45±0.21^{e}	1.00±0.00^{f}	1.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}
3,000	2.51±0.13^{ns}	1.59±0.16^{c}	0.65±0.92^{d}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}
3,500	2.51±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}
4,000	2.51±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{d}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค-4 ผลของวานิลลินต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	4.17±0.13^{ns}	4.80±0.01^{a}	5.56±0.05^{a}	6.32±0.06^{a}	6.56±0.06^{a}	6.62±0.03^{a}	6.96±0.04^{a}	7.32±0.06^{a}	7.50±0.06^{a}	7.61±0.13^{a}	7.85±0.03^{a}	7.96±0.04^{a}	7.98±0.04^{a}
100	4.17±0.13^{ns}	4.78±0.03^{ab}	5.55±0.04^{a}	6.25±0.07^{ab}	6.52±0.04^{a}	6.60±0.01^{a}	6.83±0.03^{ab}	7.03±0.18^{b}	7.46±0.07^{a}	7.55±0.08^{a}	7.84±0.02^{a}	7.92±0.01^{a}	7.96±0.02^{a}
500	4.17±0.13^{ns}	4.78±0.02^{ab}	5.45±0.06^{a}	6.14±0.08^{bc}	6.48±0.02^{ab}	6.52±0.06^{ab}	6.77±0.03^{abc}	6.95±0.13^{b}	7.25±0.10^{b}	7.49±0.04^{a}	7.74±0.04^{a}	7.80±0.03^{ab}	7.92±0.02^{a}
1,000	4.17±0.13^{ns}	4.75±0.02^{bc}	5.10±0.14^{b}	6.03±0.11^{cd}	6.38±0.08^{bc}	6.45±0.06^{b}	6.56±0.06^{bc}	6.95±0.04^{b}	7.03±0.11^{c}	7.46±0.01^{a}	7.53±0.09^{b}	7.69±0.04^{b}	7.82±0.04^{a}
1,500	4.17±0.13^{ns}	4.73±0.01^{cd}	4.98±0.18^{bc}	5.99±0.01^{d}	6.32±0.06^{c}	6.38±0.05^{b}	6.49±0.06^{c}	6.90±0.02^{b}	6.99±0.18^{c}	7.15±0.05^{b}	7.33±0.14^{c}	7.49±0.08^{c}	7.59±0.14^{b}
2,000	4.17±0.13^{ns}	4.72±0.01^{cd}	4.81±0.06^{cd}	4.91±0.01^{e}	4.99±0.07^{d}	5.08±0.11^{c}	5.61±0.04^{d}	5.83±0.03^{c}	5.99±0.08^{d}	6.03±0.11^{c}	6.53±0.09^{d}	6.92±0.03^{d}	6.97±0.20^{c}
2,500	4.17±0.13^{ns}	4.69±0.01^{d}	4.78±0.02^{d}	4.87±0.02^{e}	4.92±0.03^{d}	5.01±0.04^{cd}	5.32±0.03^{e}	5.49±0.08^{d}	5.65±0.01^{e}	5.73±0.05^{d}	5.83±0.04^{e}	5.35±0.24^{e}	5.99±0.11^{d}
3,000	4.17±0.13^{ns}	4.55±0.04^{e}	4.64±0.06^{de}	4.73±0.04^{f}	4.79±0.04^{e}	4.88±0.03^{d}	4.99±0.30^{f}	5.27±0.10^{d}	5.34±0.08^{f}	5.52±0.13^{e}	5.67±0.08^{e}	5.79±0.04^{e}	5.86±0.04^{d}
3,500	4.17±0.13^{ns}	4.52±0.01^{e}	4.64±0.02^{de}	4.66±0.07^{fg}	4.46±0.08^{f}	4.08±0.11^{e}	3.99±0.13^{g}	3.97±0.04^{e}	3.94±0.02^{g}	3.85±0.06^{f}	3.51±0.11^{f}	2.90±0.10^{f}	2.64±0.08^{e}
4,000	4.17±0.13^{ns}	4.45±0.02^{f}	4.53±0.06^{e}	4.55±0.05^{g}	3.50±0.02^{g}	2.86±0.06^{f}	2.05±0.21^{h}	1.89±0.16^{f}	0.00±0.00^{h}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{f}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-5 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	2.59±0.16 ^{ns}	3.50±0.06 ^{a}	3.89±0.01 ^{a}	4.03±0.11 ^{a}	4.69±0.08 ^{a}	4.85±0.01 ^{a}	4.97±0.03 ^{a}	5.32±0.12 ^{a}	5.53±0.11 ^{a}	5.96±0.03 ^{a}	6.21±0.18 ^{a}	6.62±0.11 ^{a}	6.74±0.18 ^{a}
0.5	2.59±0.16 ^{ns}	2.90±0.07 ^{a}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
1.0	2.59±0.16 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
1.5	2.59±0.16 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
2.0	2.59±0.16 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	00.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
2.5	2.59±0.16 ^{ns}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-6 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	4.07±0.16 ^{a}	4.73±0.04 ^{a}	5.44±0.11 ^{a}	5.97±0.26 ^{a}	6.31±0.18 ^{a}	6.61±0.12 ^{a}	6.91±0.03 ^{a}	7.36±0.13 ^{a}	7.46±0.11 ^{a}	7.51±0.13 ^{a}	7.77±0.04 ^{a}	7.94±0.01 ^{a}	7.96±0.01 ^{a}
0.5	4.07±0.16 ^{a}	4.27±0.16 ^{b}	4.52±0.04 ^{b}	4.69±0.08 ^{b}	4.78±0.03 ^{b}	4.81±0.03 ^{b}	4.90±0.05 ^{b}	4.94±0.04 ^{b}	4.99±0.13 ^{b}	5.03±0.11 ^{b}	5.27±0.10 ^{b}	5.38±0.08 ^{b}	5.34±0.11 ^{b}
1.0	4.07±0.16 ^{a}	4.23±0.21 ^{b}	4.25±0.13 ^{b}	4.34±0.11 ^{bc}	4.37±0.13 ^{c}	4.60±0.04 ^{c}	4.73±0.04 ^{c}	4.92±0.03 ^{bc}	4.95±0.07 ^{b}	4.99±0.08 ^{b}	5.08±0.04 ^{c}	5.22±0.25 ^{b}	5.19±0.16 ^{b}
1.5	4.07±0.16 ^{a}	4.16±0.29 ^{b}	4.18±0.32 ^{b}	4.27±0.23 ^{c}	4.32±0.23 ^{c}	4.59±0.03 ^{c}	4.65±0.07 ^{c}	4.79±0.02 ^{c}	4.89±0.04 ^{b}	4.93±0.01 ^{b}	4.99±0.06 ^{c}	5.06±0.16 ^{b}	5.10±0.14 ^{b}
2.0	4.07±0.16 ^{a}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}
2.5	4.07±0.16 ^{a}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-7 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	2.25±0.30^{ns}	4.02±0.23^{a}	5.69±0.11^{a}	6.04±0.37^{a}	6.27±0.26^{a}	7.26±0.21^{a}	7.61±0.12^{a}	7.68±0.06^{a}	7.78±0.08^{a}	7.85±0.08^{a}	7.89±0.04^{a}	7.93±0.05^{a}	7.96±0.06^{a}
0.5	2.25±0.30^{ns}	3.05±0.21^{b}	2.02±0.23^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1.0	2.25±0.30^{ns}	2.60±0.13^{c}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1.5	2.25±0.30^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2.0	2.25±0.30^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2.5	2.25±0.30^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-8 ผลของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0	4.14±0.08^{ns}	4.79±0.04^{a}	5.58±0.06^{a}	6.30±0.09^{a}	6.41±0.07^{a}	6.59±0.08^{a}	6.94±0.04^{a}	7.07±0.16^{a}	7.34±0.11^{a}	7.72±0.06^{a}	7.84±0.03^{a}	7.94±0.01^{a}	7.99±0.05^{a}
0.5	4.14±0.08^{ns}	4.34±0.08^{b}	4.58±0.05^{b}	4.71±0.04^{b}	4.82±0.04^{b}	4.85±0.01^{b}	4.95±0.04^{b}	4.97±0.05^{b}	5.03±0.11^{b}	5.09±0.20^{b}	5.34±0.06^{b}	5.42±0.14^{b}	5.43±0.10^{b}
1.0	4.14±0.08^{ns}	4.24±0.18^{b}	4.32±0.12^{c}	4.37±0.16^{c}	4.40±0.15^{c}	4.62±0.04^{c}	4.75±0.04^{c}	4.94±0.01^{b}	5.04±0.06^{b}	5.03±0.11^{b}	5.28±0.06^{bc}	5.32±0.12^{b}	5.34±0.11^{b}
1.5	4.14±0.08^{ns}	4.21±0.04^{b}	4.27±0.10^{c}	4.32±0.08^{c}	4.36±0.11^{c}	4.59±0.06^{c}	4.67±0.06^{c}	4.71±0.05^{c}	5.04±0.14^{b}	4.99±0.13^{b}	5.14±0.13^{c}	5.20±0.12^{b}	5.27±0.16^{b}
2.0	4.14±0.08^{ns}	2.67±0.26^{c}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{d}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{c}
2.5	4.14±0.08^{ns}	2.05±0.21^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{d}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{d}	00.00±0.00^{c}	00.00±0.00^{c}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-9 ผลของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม ต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0+0	2.69±0.13^{ns}	3.93±0.03^{a}	5.32±0.12^{a}	5.71±0.05^{a}	6.08±0.11^{a}	7.25±0.13^{a}	7.56±0.05^{a}	7.64±0.04^{a}	7.78±0.05^{a}	7.82±0.04^{a}	7.89±0.04^{a}	7.89±0.02^{a}	7.92±0.02^{a}
500+0.5	2.69±0.13^{ns}	2.33±0.18^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
500+1.0	2.69±0.13^{ns}	1.24±0.34^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
500+2.0	2.69±0.1^{ns}	1.24±0.34^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,000+0.5	2.69±0.10^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,000+1.0	2.69±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,000+2.0	2.69±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,500+0.5	2.69±0.10^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,500+1.0	2.69±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
1,500+2.0	2.69±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2,000+0.5	2.69±0.10^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2,000+1.0	2.69±0.13^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2,000+2.0	2.69±0.10^{ns}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-10 ผลของวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 1.0 พีพีเอ็มต่อการเจริญของเชื้อ *C. krusei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu/ml ในน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) ระยะเวลา (ชั่วโมง)												
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
0+0	4.41±0.07 ^{ns}	4.73±0.04 ^{a}	5.74±0.06 ^{a}	7.19±0.16 ^{a}	7.30±0.06 ^{a}	7.32±0.08 ^{a}	7.38±0.05 ^{a}	7.38±0.03 ^{a}	7.48±0.06 ^{a}	7.63±0.04 ^{a}	7.83±0.03 ^{a}	7.86±0.03 ^{a}	7.90±0.02 ^{a}
1,000+1.0	4.41±0.07 ^{ns}	3.64±0.06 ^{b}	3.20±0.12 ^{b}	1.45±0.21 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
1,000+2.0	4.41±0.07 ^{ns}	3.32±0.12 ^{c}	2.13±0.18 ^{c}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
2,000+1.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
2,000+2.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
3,000+1.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
3,000+2.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
3,500+1.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
3,500+2.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
4,000+1.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}
4,000+2.0	4.41±0.07 ^{ns}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{d}	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}	0.00±0.00 ^{b}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

: ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-11 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 และ 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

วันที่	ลักษณะทางกายภาพ			
	ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 2 log cfu/ml		ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 4 log cfu/ml	
	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 +0.5 พีพีเอ็ม	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม
0	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้อ่อนๆ	ส้มขุ่นเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
1	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเล็กน้อย กลิ่นส้มหมัก	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้อ่อนๆ	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเล็กน้อย กลิ่นส้มหมัก	สีสีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
2	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเล็กน้อย กลิ่นส้มหมัก	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้อ่อนๆ	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมัก	สีสีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
3	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย กลิ่นส้มปนตะไคร้อ่อนๆ	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย กลิ่นส้มปนกลิ่นตะไคร้เด่นชัด
4	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นตะไคร้
5	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นเหม็นเขียวฉุนๆ
6	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเล็กน้อย กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นเหม็นเขียวฉุนๆ
7	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปน กลิ่นเหม็นเขียวฉุนๆ	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนกลิ่นเหม็นเขียวฉุนๆ

ตารางที่ ค-12 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 และ 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

วันที่	ลักษณะทางกายภาพ			
	ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 2 log cfu/ml		ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 4 log cfu/ml	
	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม	น้ำส้มคั้น (ชุดควบคุม)	น้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม
0	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
3	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
6	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
9	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มอ่อนๆ	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
12	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมัก	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมัก	สีส้มเข้ม เป็นเนื้อเดียวกัน กลิ่นส้มปนตะไคร้เด่นชัด
15	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้
18	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้
21	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้
24	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้
27	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊ส กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมัก	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้
30	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น มีฟองแก๊สเพิ่มขึ้น กลิ่นเหม็น	สีส้มอ่อน ตกตะกอนแยกชั้นเพิ่มขึ้น กลิ่นส้มหมักปนตะไคร้

ตารางที่ ค-13 คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

วันที่	ความเป็นกรดด่าง		ปริมาณของแข็ง (°บริกซ์)		ปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)		ปริมาณยีสต์ (log cfu/ml)	
	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้
0	3.65 ± 0.20^{Aa}	3.65 ± 0.20^{Aa}	15.20 ± 0.10^{Ba}	15.20 ± 0.20^{Ba}	0.83 ± 0.20^{Ca}	0.83 ± 0.20^{Ca}	2.60 ± 0.20^{Ha}	2.6 ± 0.20^{Ha}
1	3.57 ± 0.20^{Aa}	3.63 ± 0.10^{Ba}	14.80 ± 0.20^{Ca}	15.20 ± 0.10^{Da}	0.90 ± 0.20^{Ea}	0.83 ± 0.10^{Fa}	6.33 ± 0.20^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
2	3.52 ± 0.10^{Aa}	3.63 ± 0.20^{Ba}	14.60 ± 0.20^{Ca}	15.20 ± 0.20^{Da}	1.14 ± 0.30^{Ea}	0.86 ± 0.10^{Fab}	7.84 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
3	3.49 ± 0.10^{Aa}	3.60 ± 0.10^{Ba}	14.40 ± 0.20^{Cab}	14.80 ± 0.20^{Da}	1.25 ± 0.20^{Ea}	0.88 ± 0.20^{Fab}	8.29 ± 0.20^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
4	3.33 ± 0.20^{Aab}	3.58 ± 0.20^{Ba}	14.20 ± 0.30^{Cab}	14.80 ± 0.20^{Da}	1.36 ± 0.20^{Ea}	0.90 ± 0.20^{Fb}	8.79 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
5	3.28 ± 0.30^{Aab}	3.58 ± 0.20^{Ba}	14.20 ± 0.20^{Cab}	14.60 ± 0.10^{Da}	1.55 ± 0.20^{Eab}	0.90 ± 0.20^{Fb}	9.89 ± 0.20^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
6	3.14 ± 0.20^{Ab}	3.53 ± 0.30^{Bab}	14.00 ± 0.10^{Cab}	14.60 ± 0.20^{Da}	1.63 ± 0.20^{Eab}	0.92 ± 0.10^{Fb}	10.61 ± 0.10^{Kbc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
7	3.09 ± 0.20^{Ab}	3.50 ± 0.20^{Bab}	13.80 ± 0.10^{Cc}	14.60 ± 0.20^{Da}	1.77 ± 0.20^{Eab}	0.94 ± 0.20^{Fc}	11.21 ± 0.20^{Kbc}	0.00 ± 0.00^{Ib}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-14 คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

วันที่	ความเป็นกรดด่าง		ปริมาณของแข็ง (°บริกซ์)		ปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)		ปริมาณยีสต์ (log cfu/ml)	
	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้
0	3.65 ± 0.10^{Aa}	3.65 ± 0.10^{Aa}	15.20 ± 0.10^{Ba}	15.2 ± 0.10^{Ba}	0.83 ± 0.10^{Ca}	0.83 ± 0.10^{Ca}	4.76 ± 0.10^{Ha}	4.76 ± 0.10^{Ha}
1	3.53 ± 0.10^{Ab}	3.62 ± 0.30^{Ba}	14.60 ± 0.20^{Cb}	15.00 ± 0.10^{Da}	0.94 ± 0.10^{Eb}	0.86 ± 0.30^{Fa}	8.66 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
2	3.46 ± 0.10^{Abc}	3.60 ± 0.10^{Ba}	14.40 ± 0.10^{Cb}	14.80 ± 0.10^{Da}	1.29 ± 0.10^{Eb}	0.86 ± 0.10^{Fa}	8.89 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
3	3.41 ± 0.20^{Abc}	3.58 ± 0.10^{Ba}	14.00 ± 0.10^{Cbc}	14.60 ± 0.20^{Da}	1.38 ± 0.10^{Eb}	0.89 ± 0.10^{Fab}	9.38 ± 0.20^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
4	3.30 ± 0.20^{Ac}	3.54 ± 0.10^{Bab}	13.80 ± 0.10^{Cbc}	14.60 ± 0.10^{Da}	1.51 ± 0.20^{Ebc}	0.92 ± 0.10^{Fab}	10.42 ± 0.10^{Kbc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
5	3.11 ± 0.10^{Ad}	3.50 ± 0.10^{Bab}	13.60 ± 0.10^{Cbc}	14.40 ± 0.10^{Da}	1.65 ± 0.10^{Ec}	0.95 ± 0.20^{Fab}	10.69 ± 0.10^{Kbc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
6	3.07 ± 0.10^{Ad}	3.46 ± 0.30^{Bb}	13.60 ± 0.20^{Cbc}	14.20 ± 0.10^{Da}	1.71 ± 0.10^{Ec}	1.06 ± 0.10^{Fab}	11.37 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
7	3.00 ± 0.10^{Ad}	3.42 ± 0.10^{Bb}	13.40 ± 0.10^{Cbc}	14.00 ± 0.30^{Da}	1.86 ± 0.10^{Ec}	1.12 ± 0.20^{Fc}	11.68 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-15 คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 500 + 0.5 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

วันที่	ความเป็นกรดด่าง		ปริมาณของแข็ง (°บริกซ์)		ปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)		ปริมาณยีสต์ (log cfu/ml)	
	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้
0	3.65 ± 0.30^{Aa}	3.65 ± 0.10^{Aa}	15.20 ± 0.10^{Ba}	15.20 ± 0.10^{Ba}	0.83 ± 0.10^{Ca}	0.83 ± 0.10^{Ca}	2.60 ± 0.20^{Ha}	2.60 ± 0.10^{Ha}
3	3.61 ± 0.30^{Aa}	3.65 ± 0.05^{Aa}	15.00 ± 0.10^{Ba}	15.20 ± 0.10^{Ba}	0.85 ± 0.10^{Ca}	0.83 ± 0.10^{Ca}	3.70 ± 0.10^{Ha}	0.00 ± 0.00^{Ib}
6	3.51 ± 0.30^{Ab}	3.63 ± 0.03^{Ba}	14.80 ± 0.20^{Ca}	15.20 ± 0.20^{Da}	0.91 ± 0.10^{Ea}	0.85 ± 0.10^{Fa}	4.15 ± 0.10^{Ka}	0.00 ± 0.00^{Ib}
9	3.48 ± 0.20^{Ab}	3.62 ± 0.00^{Ba}	14.80 ± 0.10^{Ca}	15.00 ± 0.10^{Da}	1.00 ± 0.20^{Ea}	0.88 ± 0.10^{Fa}	4.60 ± 0.10^{Ka}	0.00 ± 0.00^{Ib}
12	3.38 ± 0.30^{Abc}	3.60 ± 0.01^{Ba}	14.60 ± 0.20^{Cab}	15.00 ± 0.20^{Da}	1.11 ± 0.10^{Eab}	0.90 ± 0.10^{Fa}	4.72 ± 0.10^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
15	3.32 ± 0.20^{Abc}	3.58 ± 0.02^{Ba}	14.60 ± 0.10^{Cab}	15.00 ± 0.00^{Da}	1.18 ± 0.10^{Eab}	0.93 ± 0.10^{Fab}	4.94 ± 0.10^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
18	3.25 ± 0.20^{Ac}	3.55 ± 0.03^{Bab}	14.40 ± 0.20^{Cab}	14.80 ± 0.10^{Da}	1.24 ± 0.10^{Eab}	0.95 ± 0.10^{Fab}	5.38 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
21	3.22 ± 0.10^{Ac}	3.51 ± 0.02^{Bab}	14.20 ± 0.10^{Cb}	14.80 ± 0.10^{Da}	1.30 ± 0.20^{Eab}	0.95 ± 0.10^{Fab}	5.66 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
24	3.17 ± 0.20^{Ac}	3.48 ± 0.01^{Bb}	14.00 ± 0.10^{Cb}	14.80 ± 0.00^{Da}	1.35 ± 0.10^{Eab}	1.00 ± 0.10^{Fb}	5.78 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
27	3.14 ± 0.20^{Ac}	3.47 ± 0.01^{Bb}	14.00 ± 0.10^{Cb}	14.60 ± 0.10^{Dab}	1.48 ± 0.10^{Ec}	1.12 ± 0.10^{Fbc}	5.91 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}
30	3.10 ± 0.20^{Ac}	3.43 ± 0.02^{Bb}	13.80 ± 0.10^{Cb}	14.40 ± 0.20^{Dab}	1.58 ± 0.10^{Ec}	1.16 ± 0.10^{Fbc}	5.98 ± 0.10^{Kc}	0.00 ± 0.00^{Ib}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ ค-16 คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของน้ำส้มคั้นผสมวานิลลินร่วมกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 1,000 + 1.0 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

วันที่	ความเป็นกรดด่าง		ปริมาณของแข็ง (°บริกซ์)		ปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)		ปริมาณยีสต์ (log cfu/ml)	
	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้	ชุดควบคุม	วานิลลิน + น้ำมันตะไคร้
0	3.65 ± 0.30^{Aa}	3.65 ± 0.10^{Aa}	15.20 ± 0.10^{Ba}	15.20 ± 0.10^{Ba}	0.83 ± 0.10^{Ca}	0.83 ± 0.10^{Ca}	4.76 ± 0.10^{Ha}	4.76 ± 0.20^{Ha}
3	3.59 ± 0.30^{Ab}	3.61 ± 0.10^{Aa}	15.00 ± 0.10^{Ba}	15.20 ± 0.10^{Ba}	0.89 ± 0.10^{Ca}	0.84 ± 0.10^{Ca}	4.91 ± 0.20^{Ha}	0.00 ± 0.00^{Ib}
6	3.52 ± 0.30^{Ab}	3.60 ± 0.10^{Ba}	14.80 ± 0.10^{Ca}	15.20 ± 0.10^{Da}	0.95 ± 0.30^{Eab}	0.88 ± 0.50^{Fa}	5.31 ± 0.10^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
9	3.40 ± 0.20^{Abc}	3.58 ± 0.10^{Ba}	14.60 ± 0.30^{Cab}	15.00 ± 0.10^{Da}	1.14 ± 0.10^{Eab}	0.92 ± 0.10^{Fab}	5.65 ± 0.10^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
12	3.36 ± 0.30^{Abc}	3.55 ± 0.20^{Bab}	14.40 ± 0.30^{Cab}	15.00 ± 020^{Da}	1.22 ± 0.10^{Eab}	0.94 ± 0.10^{Fab}	5.88 ± 0.10^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
15	3.30 ± 0.30^{Abc}	3.53 ± 0.10^{Bab}	14.00 ± 0.10^{Cc}	14.80 ± 0.10^{Da}	1.31 ± 0.10^{Eab}	1.12 ± 0.10^{Fab}	5.95 ± 0.30^{Kab}	0.00 ± 0.00^{Ib}
18	3.24 ± 0.20^{Abc}	3.53 ± 0.20^{Bab}	14.00 ± 0.10^{Cc}	14.80 ± 0.10^{Da}	1.38 ± 0.30^{Eb}	1.18 ± 0.10^{Fb}	6.13 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
21	3.19 ± 0.30^{Ac}	3.50 ± 0.10^{Bab}	13.60 ± 0.10^{Cc}	14.80 ± 0.20^{Da}	1.40 ± 0.10^{Eb}	1.23 ± 0.10^{Fb}	6.32 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
24	3.15 ± 0.30^{Ac}	3.47 ± 0.10^{Bb}	13.20 ± 0.10^{Ccd}	14.40 ± 0.10^{Dab}	1.52 ± 0.10^{Ebc}	1.30 ± 0.50^{Fbc}	6.55 ± 0.30^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
27	3.10 ± 0.30^{Ac}	3.45 ± 0.10^{Bb}	13.00 ± 0.30^{Ccd}	14.40 ± 0.10^{Dab}	1.62 ± 0.10^{Ebc}	1.39 ± 0.10^{Fbc}	6.72 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}
30	3.08 ± 0.30^{Ac}	3.44 ± 0.10^{Bb}	13.00 ± 0.20^{Ccd}	14.20 ± 0.10^{Db}	1.73 ± 0.10^{Ec}	1.50 ± 0.10^{Fc}	6.86 ± 0.10^{Kb}	0.00 ± 0.00^{Ib}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแนวตั้งที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

: ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในแนวนอนที่ต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ภาคผนวก ง
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง- 1 แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชื่อผลิตภัณฑ์ น้ำส้มคั้น

ผู้ทดสอบชิม .....**วันที่**.....

อายุ.....**ปี**

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้ตามลำดับของรหัสในตารางจากซ้ายไปขวา และกรุณาบ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่างใหม่ทุกครั้ง แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละปัจจัยที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

9	=	ชอบมากที่สุด	4	=	ไม่ชอบเล็กน้อย
8	=	ชอบมาก	3	=	ไม่ชอบปานกลาง
7	=	ชอบปานกลาง	2	=	ไม่ชอบมาก
6	=	ชอบเล็กน้อย	1	=	ไม่ชอบมากที่สุด
5	=	บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ (เฉยๆ)			

ปัจจัยคุณภาพ	คะแนนความชอบของตัวอย่าง		
	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบโดยรวม			

ข้องเสนอแนะ

.....

.....

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือในการทดสอบผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด
วันเดือนปีเกิด	26 กันยายน 2526
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2548 คณะวิทยาศาสตร์ สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน พ.ศ. 2548-2553	ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่หน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

การนำเสนอผลงาน

ฉัตรแก้ว ช่วยเกิด. 2554. "ผลของวานิลลินในการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำส้มคั้น." 10 - 11 พฤษภาคม 2554. หน้า 1247-1250. **ใน การประชุมทางวิชาการบัณฑิตศึกษาศิลปากร ระดับชาติ / นานาชาติ ครั้งที่ 1.** กรุงเทพ ฯ : มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ฉัตรแก้ว ช่วยเกิด. 2552. "การแก้ปัญหาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในกระทรวงสาธารณสุข." 24 - 25 กันยายน 2552. หน้า 12 -18. **ใน การประชุมสัมมนาจัดการงานคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพในภาวะวิกฤต.** กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้