

## บทที่ 2

### การทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เปลือกหอยลายสำหรับยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในประเด็นหัวข้อต่างๆ ดังนี้

#### 2.1 หอยสองฝา

หอยสองฝาเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่จัดอยู่ในไฟลัมมอลลัสกา (Phylum Mollusca) สัตว์ในไฟลัมนี้มีเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกายเพื่อป้องกันอันตรายและป้องกันสภาพแวดล้อมที่อาจจะเปลี่ยนไปในทางที่ไม่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิต ร่างกายของหอยโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) ส่วนเท้า (foot) ส่วนอวัยวะภายใน (visceral mass) และแมนเทิล (mantle) แมนเทิลเป็นอวัยวะที่พบเฉพาะในไฟลัมมอลลัสกา และเป็นส่วนที่มีหน้าที่สร้างเปลือกและห่อหุ้มร่างกาย หัวของหอยอยู่ส่วนหน้าสุดของลำตัวและประกอบด้วยส่วนที่มีระบบประสาทสัมผัสและปาก ภายในปากของหอยจะมีแผงฟัน (radula) ยกเว้นหอยสองฝาที่ใช้เป็นอวัยวะสำหรับขูดกินอาหาร แผงฟันดังกล่าวจะพบเฉพาะในสัตว์ไฟลัมมอลลัสกาเท่านั้น เท้าของหอยเป็นอวัยวะที่เป็นกล้ามเนื้อแข็งแรงสามารถเปลี่ยนรูปร่างและยืดหดได้ เป็นอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่หรือฝังตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยสองฝาเป็นหอยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในฐานะทรัพยากรประมงธรรมชาติและมีการเพาะเลี้ยง (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2543)

คลาสไบแวลเวีย (Class Bivalvia) ได้แก่ หอยสองฝา หอยในคลาสนี้มีเปลือกที่มีลักษณะเป็นสองชิ้นประกบกันและยึดติดกันโดยฟันเปลือก (hinge teeth) ร่วมกับโครงสร้างลักษณะคล้ายเอ็นหรือหนังเรียกว่าลิกาเมนต์ (ligament) ที่อยู่ด้านบน (dorsal) ของเปลือก ลำตัวของหอยสองฝามีตำแหน่งอยู่ระหว่างเปลือกทั้งสอง หอยสองฝาไม่มีส่วนหัวที่เด่นชัด ไม่มีแผงฟัน กินอาหารโดยการกรองโดยใช้เหงือก และส่วนมากมักมีเท้าเจริญดีใช้สำหรับฝังตัวในโคลนหรือทราย หอยสองฝบบางพวกอาจมีเท้าที่ลดรูป เช่น พวกหอยแมลงภู่ (mussels) หรือไม่มีเท้าและอาศัยเกาะอยู่บนวัตถุหรือพื้นใต้น้ำ เช่น พวกหอยนางรม (oyster) ส่วนหอยสองฝบบางชนิดสามารถว่ายน้ำได้ เช่น พวกหอยเชลล์หรือหอยพัด (scallops) หอยสองฝาเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจมาก โดยเป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ทั่วทุกทวีปในโลกมีการทำการประมงหอยสองฝจากแหล่งธรรมชาติ หอยสองฝบบางชนิดมีประวัติการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารอย่างกว้างขวาง เช่น พวกหอยแมลงภู่ พวกหอยตลับ (clams) พวกหอยพัดหรือหอยเชลล์ และพวกหอยแครง (cockles) เป็นต้น (FAO, 1998) หอยสองฝบบางชนิดมีการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารและการอนุรักษ์ควบคู่กันไป เช่น พวกหอยมือเสือ (giant clams) และหอยสองฝบบ้างชนิดมีการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นอัญมณี เช่น พวกหอยมุก (pearl oysters) (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2543)

หอยสองฝาส่วนมากที่มีการเพาะเลี้ยงเป็นหอยที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ไปไกล และจะอาศัยกรองกินอาหารที่ถูกพัดพามากับกระแสน้ำ โดยใช้แผ่นเหงือกที่ขนาบอยู่สองข้างของลำตัว อนุภาคเล็กๆ ที่มีขนาดไม่เกิน 100 ไมโครเมตร ไม่ว่าจะเป็นสาหร่ายเซลล์เดียว ตะกอนดิน หรือซากพืชซากสัตว์ที่กำลังถูกจุลชีพสลายอยู่จะถูกเหงือกกรองไว้และลำเลียงใส่ปากโดยใช้ซีเลีย (cilia) ที่อยู่บนซี่เหงือก การเลี้ยงหอยสองฝาในประเทศไทยไม่ปรากฏหลักฐานแน่ชัดว่าเริ่มขึ้นในสมัยใด อย่างไรก็ตาม ด้วยเหตุที่หอยในธรรมชาติมีปริมาณลดลงเนื่องจากการเก็บมากินเป็นอาหารและสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลงทำให้เกิดความริเริ่มที่จะเพิ่มผลผลิตของหอยสองฝาเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการคิดค้นวิธีเลี้ยง รวมทั้งแสวงหาพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงหอยในบริเวณชายฝั่ง (Brohmanonda et al, 1988)

หอยสองฝาเศรษฐกิจส่วนมากดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณใกล้ชายฝั่งที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของน้ำขึ้นน้ำลง และมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำตามฤดูกาล จากการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนแปลงความเค็มอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่กระตุ้นกลไกในวงชีวิต โดยเฉพาะการสืบพันธุ์และการวางไข่ของหอย ด้วยเหตุนี้แหล่งเลี้ยงหอยสองฝาจึงควรอยู่ในใกล้ปากแม่น้ำ ลำคลอง และป่าชายเลน นอกจากนั้นสภาพภูมิประเทศดังกล่าวอาจช่วยกักกูลให้มีอนุภาคอาหารปริมาณมากๆ สำหรับการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโต พื้นที่ที่ใช้เลี้ยงหอยสองฝาคควรมีความลาดเอียงน้อยและแผ่ขยายออกเป็นบริเวณกว้าง ทั้งนี้เพื่อวัตถุประสงค์ในการขยายพื้นที่และเพิ่มปริมาณผลผลิตให้คุ้มกับการลงทุน นอกจากนี้ระดับน้ำต้องอยู่ในพิสัยที่เหมาะสมสำหรับหอยแต่ละชนิดเพราะหอยสองฝบางชนิดต้องอยู่ใต้น้ำตลอดเวลา ส่วนบางชนิดอาจไผ่พ้นน้ำได้ในช่วงระยะเวลาที่น้ำลง หอยบางชนิดจะชอบอาศัยในเขตชายฝั่งที่พื้นที่อยู่พื้นน้ำเป็นระยะเวลานานๆ บางชนิดต้องอยู่ในน้ำลึกหรือในเขตที่มีน้ำใส นอกจากนั้นสภาพแวดล้อมอื่นๆ เช่น คลื่นและลม อาจเป็นตัวเลือกที่สำคัญในการพิจารณาสำหรับการเลือกสถานที่เพาะเลี้ยง ตัวอย่างเช่น ลมมรสุมที่มีความรุนแรงอาจทำให้ฟาร์มเลี้ยงหอยเสียหาย เช่น ฟาร์มหอยนางรมหรือหอยแมลงภู่ที่ใช้ไม้ไผ่เป็นวัสดุให้หอยเกาะ เป็นต้น (คเชนทร เถลิวัฒน์, 2543) เปลือกหอยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการบริโภค ปริมาณเปลือกหอยจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเนื้อหอย หอยจะมีเปลือกประมาณ 70-75% โดยน้ำหนัก

เปลือกหอยประกอบด้วยเปลือกชั้นนอกหรือเรียกว่าเพอริออสเทรคัม (periostracum) เปลือกชั้นกลาง ซึ่งเป็นชั้นหินปูน (calcareous) ชั้นนอก และเปลือกชั้นในเรียกว่าเนครีอัส (nacreous) ซึ่งเป็นชั้นหินปูนชั้นใน ชั้นแมนเทิลมีรอยพับสามรอยคือ ลอนชั้นนอก ลอนชั้นกลาง และลอนชั้นใน เปลือกหอยประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) เป็นส่วนใหญ่ มีสูตรเคมี  $\text{CaCO}_3$  ส่วนประกอบทางเคมีประกอบด้วย  $\text{CaO}$  ร้อยละ 56 และ  $\text{CO}_2$  ร้อยละ 44 โดยประมาณ มีค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) ประมาณ 2.72 มีความแข็งระดับ 3 มีความหนาแน่น  $2.8 \text{ g/cm}^3$  มีอุณหภูมิหลอมเหลวประมาณ 825 องศาเซลเซียส แคลเซียมคาร์บอเนตสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ แคลเซียมคาร์บอเนตที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ เปลือกหอย โครงกระดูกสัตว์ หินอ่อน หินปูน และหินปะการัง และแคลเซียมคาร์บอเนตที่ได้จากการสังเคราะห์โดยกระบวนการตกตะกอนหรือที่เรียกกันทั่วไปว่า calcium carbonate precipitation, CCP ได้จากกระบวนการผลิตหลายๆ วิธี เช่น การนำปูนขาว (lime,  $\text{Ca(OH)}_2$ ) ไปตกตะกอนด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ลักษณะทางกายภาพของแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นผงสีขาว ไม่ละลายน้ำ

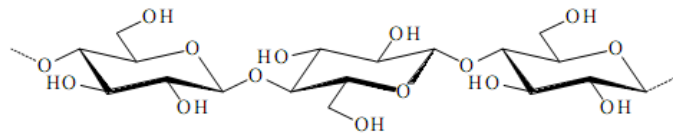
แต่สามารถละลายได้เมื่อมีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) น้ำที่มีแคลเซียมคาร์บอเนตละลายอยู่ เรียกว่าน้ำกระด้างและจะตกตะกอนเมื่อเสียดคาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) แร่ที่ประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต เรียกว่า แร่แคลไซต์ (calcite) ซึ่งเป็นรูปแบบที่พบในธรรมชาติมากที่สุด ผลึกของแคลไซต์มีหลายชนิด เช่น ด็อกทูธสปาร์ (Dogtooth spar) ไอซ์แลนด์สปาร์ (Iceland spar) เนลเฮดสปาร์ (Nailhead spar) และซาตินสปาร์ (Satin spar) เป็นต้น (ศราวุธ, 2551)

## 2.2 ไคโตซาน

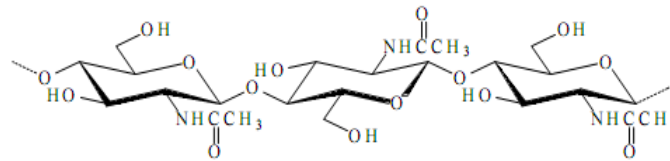
ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly [ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] หรือ poly N-acetyl-glucosamine โดยแต่ละหน่วยจะเชื่อมกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) และมีสูตรทั่วไปคือ (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>N)<sub>n</sub> ซึ่งเป็นสารพอลิเมอร์ชีวภาพจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลส แต่จะต่างกันที่ตำแหน่ง C-2 โดยเซลลูโลสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ส่วนไคตินจะประกอบด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) สูตรโครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 2.1 (ก) และ 2.1 (ข) ตามลำดับ โดยทั่วไปมักพบไคตินในผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เห็ด รา รวมทั้งเปลือกของแมลง และสัตว์จำพวกโครงร่างภายนอกแข็ง (exoskeleton) กลุ่มครัสเตเชียน (crustacean) เช่น กุ้ง ปู และแกนหมึก (Merck Index, 1996)

ไคโตซานหรืออนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิติดล ไคตินที่มีการกำจัดหมู่อะซิติดลตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป จะเรียกว่า ไคโตซาน (chitosan) ซึ่งโดยทั่วไปไคโตซานจะมีปริมาณการกำจัดหมู่อะซิติดลอยู่ในช่วงร้อยละ 70 ถึง 90 และส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 10 ถึง 30 ยังคงเป็นหมู่ N-acetyl และถ้าปริมาณการกำจัดหมู่อะซิติดลมากกว่าร้อยละ 90 ขึ้นไปจะเรียกว่า full deacetylation (Hon, 1996) การกำจัดหมู่อะซิติดลนี้เรียกว่าปฏิกิริยา deacetylation โดยแซไคตินในสารละลายต่างเข้มข้น โดยหมู่อะซิติดล (-COCH<sub>3</sub>) บนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 จะถูกแทนที่ด้วยไฮโดรเจนกลายเป็นหมู่เอมีน (-NH<sub>2</sub>) ซึ่งไคโตซานที่ได้นี้มีชื่อทางเคมีว่า poly [ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose] มีสูตรทั่วไปคือ (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>)<sub>n</sub> และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีของไคโตซานแสดงไว้ในภาพที่ 2.1 (ค) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมดและน้ำที่มีค่า pH เป็นกลางหรือต่าง แต่สามารถละลายได้ดีในกรดอ่อน (Hayes et al., 1977)

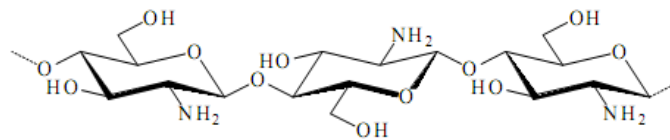
กรรมวิธีการผลิตไคตินและไคโตซานมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องทั้งวิธีทางเคมีและทางชีวภาพ ซึ่งในระดับอุตสาหกรรมมักจะใช้วิธีทางเคมี และวัตถุดิบส่วนใหญ่มาจากกากของเหลือในอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง อาทิ เปลือก-หัวกุ้ง กระดองปูและแกนหมึก โดยสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของไคตินและไคโตซานที่ได้มีความหลากหลายขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (species) ของสัตว์เหล่านี้ รวมถึงกรรมวิธีการผลิต ดังนั้นกระบวนการผลิตที่นำเอาเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาผสมผสานกับกระบวนการผลิตทางเคมีจึงมีการพัฒนาขึ้นเพื่อให้ได้สมบัติของผลิตภัณฑ์ไคตินและไคโตซานตามต้องการและเหมาะสมกับการนำไปใช้ แสดงขั้นตอนการผลิตไคตินและไคโตซานดังภาพที่ 2.2



(ก) โครงสร้างของเซลลูโลส

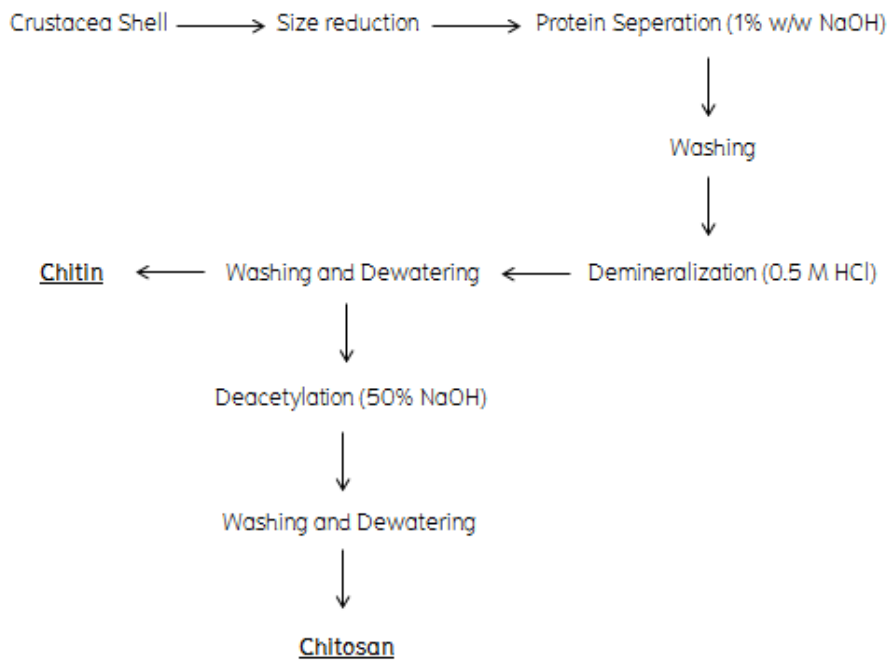


(ข) โครงสร้างของไคติน



(ค) โครงสร้างของไคโตซาน

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน (Merck Index, 1996)



ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนการผลิตไคตินและไคโตซาน (Hon, 1996)

### สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโคโตซาน

1. การละลาย (solubility) โคโตซานไม่ละลายน้ำ ต่าง และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรดอินทรีย์เกือบทุกชนิดที่มี pH น้อยกว่า 6 กรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกเป็นกรดที่นิยมใช้ในการละลายโคโตซาน กรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริก และกรดฟอสฟอริก สามารถละลายโคโตซานได้เช่นกัน แต่ต้องอยู่ภายใต้การกวนที่อุณหภูมิสูงปานกลาง อย่างไรก็ตามในบางครั้งอาจมีตะกอนขาวคล้ายเจลเกิดขึ้น สารละลายโคโตซานมีความเหนียวใส มีพฤติกรรมแบบนอน-นิวโตเนียน (non-newtonian) ในสารละลายหมู่อะมิโนของโคโตซานจะแตกตัว โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pKa) ขึ้นกับความหนาแน่นของประจุของพอลิเมอร์ โดย pKa ของโคโตซานมีค่าอยู่ในช่วง 6.2 ถึง 6.8

2. น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) โคโตซานจะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง  $1 \times 10^5$  ถึง  $1.2 \times 10^6$  ขึ้นอยู่กับขั้นตอนในการผลิต

3. ระดับการกำจัดหมู่อะซิติก (degree of deacetylation) เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นโคติน-โคโตซาน เนื่องจากโคติน-โคโตซานเป็นโคพอลิเมอร์ระหว่างสองมอนอเมอร์ของ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine ถ้าสัดส่วนของมอนอเมอร์แรกมากกว่าคือมีค่า degree of deacetylation ต่ำ จะแสดงสมบัติเด่นของโคติน แต่ถ้าสัดส่วนของมอนอเมอร์ที่สองมากกว่าคือมีค่า degree of deacetylation สูง จะแสดงสมบัติเด่นของโคโตซาน

4. ความหนืด (viscosity) ความหนืดของสารละลายโคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น degree of deacetylation น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น ionic strength ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ชนิดของกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายพอลิเมอร์จะให้ผลความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของโคโตซานในกรดอะซิติกจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีค่า pH ลดลง ในขณะที่ความหนืดของโคโตซานในกรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ) จะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายเพิ่มขึ้น

5. ความสามารถในการจับตัว (coagulating ability) โคโตซานเป็นตัวสร้างตะกอนและตัวตกตะกอน (flocculant and coagulating agent) ที่ดี เนื่องจากการมีหมู่อะมิโนจำนวนมากที่สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและจับกับสารที่มีประจุลบได้ เช่น โปรตีน สีย้อม และพอลิเมอร์อื่นๆ จากการวิจัยประสิทธิภาพของโคโตซาน ในการแยกโปรตีนออกจาก cheese whey พบว่าความสามารถในการจับโปรตีนเป็นส่วนผูกพันกับน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน นอกจากนี้โคโตซานยังสามารถจับกับโลหะหนักได้ โดยไนโตรเจนในหมู่อะมิโนของโคโตซานจะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนทำให้อิออนของโลหะสามารถสร้างพันธะเชิงซ้อน (coordinate) กับหมู่อะมิโนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่อะมิโนในโคโตซานมีประสิทธิภาพในการจับกับอิออนของโลหะได้ดีกว่าหมู่อะซิติกในโคติน ดังนั้นโคโตซานที่มี degree of deacetylation สูงจะมีอัตราการดูดซับหรือความสามารถในการจับกับอิออนของโลหะสูง ความสามารถในการดูดซับอิออนของโลหะของโคโตซานยังขึ้นกับอีกหลายปัจจัย เช่น ความเป็นผลึกและความสามารถในการดึงดูน้ำของโคโตซาน (Li et al., 1992)

6. โครงสร้างโมเลกุล (molecular conformation) โคโตซานเป็นพอลิอิเล็กโทรไลต์ประเภทบวกร (cationic polyelectrolyte) เนื่องจากในสารละลายกรด หมู่อะมิโนในสายโซ่โมเลกุลจะรับ

โปรตอน แล้วอยู่ในภาพ  $-NH_3$  conformation ของไคโตซานโมเลกุลในสารละลายสามารถบ่งชี้โดยค่า Mark-Houwink exponent (ค่า  $a$ ) ถ้า  $a$  มีค่าประมาณ 0, 0.5-0.8 และ 1.8 บ่งชี้ว่าพอลิเมอร์ขดตัวเป็นทรงกลมมีลักษณะเป็น random coil และมีลักษณะเป็นแท่ง (rod) ตามลำดับ conformation ของไคโตซานโมเลกุลที่แตกต่างกันในสารละลายขึ้นอยู่กับ ionic strength ค่า pH อุณหภูมิ ความเข้มข้นของยูเรีย น้ำหนักโมเลกุล และ degree of deacetylation (Chen et al., 1996)

7. การเสื่อมสลาย (degradation) ไคติน-ไคโตซานก็เหมือนกับพอลิเมอร์หรือพอลิแซ็กคาไรด์อื่นทั่วไปคือเมื่อเกิดการเสื่อมสลายจะให้สายโซ่โมเลกุลที่สั้นลงเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomer) หรือโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) และเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดที่เรียกว่ามोनอเมอร์ (monomer) หรือมोनแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) โอลิโกเมอร์/โอลิโกแซ็กคาไรด์ของไคตินและไคโตซาน คือ N-acetyl-chitooligosaccharide และ chitooligosaccharides ตามลำดับ ส่วนมोनอเมอร์/มोनแซ็กคาไรด์ของไคตินและไคโตซานคือ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine ตามลำดับ

8. การเสื่อมสลายโดยกรด (acid hydrolysis) การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานเนื่องจากกรดเป็นแบบสุ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือโอลิโกเมอร์ขนาดต่างๆ และมोनอเมอร์ ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ เช่น ชนิดของกรด เวลา อุณหภูมิ ชนิดของพันธะของสายโซ่โมเลกุล ชนิดของพอลิเมอร์ โดยไคตินจะสามารถต้านทานต่อการเสื่อมสลายโดยกรดได้ดีกว่าไคโตซาน

9. การเสื่อมสลายโดยด่าง (alkaline degradation) การเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ในด่างจะเริ่มจากปลายสุดของสายโซ่โมเลกุล การเสื่อมสลายแบบนี้เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า peeling reaction

10. การเสื่อมสลายโดยการสั่นโดยคลื่นเสียง (degradation by sonication) การเสื่อมสลายโดยการสั่นโดยคลื่นเสียงควบคู่กับการใช้กรด มีผลให้ได้โอลิโกเมอร์ที่มีขนาดใกล้เคียงกันมากกว่าการเสื่อมสลายโดยใช้กรดเพียงอย่างเดียว

11. การเสื่อมสลายโดยเอนไซม์ (enzymic degradation) การเสื่อมสลายโดยใช้เอนไซม์มีข้อดีกว่าการใช้สารเคมีคือ มีความจำเพาะเจาะจงมากกว่าการใช้สารเคมี เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายไคโตซาน ได้แก่ chitinase (EC 3.2.1.14) สามารถย่อยสลายสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานแบบสุ่ม (random) ตรงตำแหน่งพันธะ (-1, 4-linkage) ได้เป็น chitooligosaccharide เอนไซม์ lysozyme (EC 3.2.1.17) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่คล้ายกับ chitinase เอนไซม์ N-acetylhexosaminidase (EC 3.2.1.30) และ N-acetylhexosaminidase (EC 3.2.1.52) ทำหน้าที่ย่อยสลาย N-acetylchitooligosaccharide เป็น N-acetyl-glucosamine โดยเริ่มจากปลายสายโซ่โมเลกุล (non-reducing end)

12. การเสื่อมสลายโดยความร้อน (thermal degradation) ความร้อนมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของไคโตซาน จากการวิจัยพบว่าความร้อนจากเตาอบซึ่งเป็นความร้อนแบบแห้ง (dry heat) ที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สายโซ่โมเลกุลมีความยืดหยุ่นมากขึ้น อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วลดลง ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น ส่วนความร้อนแบบแห้งที่อุณหภูมิสูง มีผลทำให้ไคโตซานเกิดสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่

อุณหภูมิสูงกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายของไคโตซานจะลดลงที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลานานกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมง ไคโตซานจะไม่ละลายในกรดอะซิติก (0.2 M)/ โซเดียมอะซิเตต (0.1 M)

สำหรับการอบแห้งแบบใช้ไอร้อน (saturated steam) ไคโตซานจะไม่สามารถละลายหลังจากการอบที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และหลังจากการอบที่อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง การอบที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 120 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อสมบัติทางกายภาพของไคโตซาน (Lim et al., 1999)

### 2.3 คุณภาพของอาหารและการเสื่อมเสีย

ผลิตภัณฑ์อาหารประกอบด้วยวัตถุดิบที่เป็นสิ่งชีวภาพจึงเสื่อมเสียได้ ซึ่งการเสียของอาหารคือการที่อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะไม่เป็นที่ต้องการ (Singh and Anderson, 2004) มีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ แมลงและสัตว์กัดแทะ การทำงานของเอนไซม์ในพืชและสัตว์ ปฏิกริยาเคมี และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (สุมาลี, 2541)

การเสื่อมเสียของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ 3 ลักษณะ คือ คุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ดังนี้

1. คุณภาพทางกายภาพ เป็นสาเหตุแรกของการเสียของอาหาร โดยเฉพาะการถ่ายเทความชื้นจากอาหารสู่บรรยากาศหรือจากบรรยากาศสู่อาหาร เช่น การสูญเสียน้ำของผลไม้ ทำให้เกิดผลไม้เหี่ยว การดูดซับความชื้นจากอากาศของคุกกี้ทำให้น้ำมันสัมผัสน้ำ

2. คุณภาพทางเคมี เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสารประกอบทางเคมีในอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ค่า pH และการได้รับแสงและออกซิเจน แต่ละปฏิกิริยามีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน เช่น เอนไซม์จะทำงานได้ดีที่  $a_w$  ประมาณ 0.40-0.80 โดยเฉพาะมีความชื้นที่ monolayer ต่ำ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมียังเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัสของอาหาร

3. คุณภาพทางจุลินทรีย์ จุลินทรีย์เป็นสาเหตุหลักในการเสียของอาหารประเภทที่เสื่อมเสียได้ง่าย (perishable food) การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ป้องกันได้โดยการควบคุมจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่จะปนเปื้อนในอาหาร อุณหภูมิการเก็บรักษาอาหาร การลด  $a_w$  ค่า pH การถนอมอาหาร และการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม จึงต้องเข้าใจปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยภายในตัวของอาหาร

ผักผลไม้และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย

ปัจจุบันผักและผลไม้สดเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค โดยเฉพาะผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยสุด (minimally processed fruit and vegetable) หรือผักและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการทำให้พร้อมต่อการบริโภค นอกจากสามารถรับประทานได้ทันทีหรือมีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยากแล้ว การรับประทานผักและผลไม้สดยังทำให้ได้รับวิตามิน เกลือแร่ และสารอาหารต่างๆ ที่

สำคัญต่อสุขภาพอย่างครบถ้วน อย่างไรก็ตามพืชผักและผลไม้อาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ทุกขั้นตอน นับตั้งแต่เมล็ดพันธุ์ ต้นพืชที่อยู่ในแปลงเพาะและในสวนหรือไร่นา ในขณะที่เก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว จนถึงในขั้นแปรรูปหรือเตรียมเป็นอาหาร

## 2.4 บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial packaging) เป็นบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟ (active packaging) ประเภทหนึ่ง (Han, 2003) ซึ่งบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟคือระบบบรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่รักษาสถานะที่เหมาะสมของอาหารในระหว่างกระบวนการแปรรูป การขนส่ง และการเก็บรักษา โดยควบคุมปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงอาหาร ได้แก่ ออกซิเดชัน การสุก การเจริญของเชื้อรา การเปลี่ยนแปลงสี การเปลี่ยนแปลงระหว่างการอบ เป็นต้น (Rooney, 1995)

บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ คือ ระบบบรรจุภัณฑ์ที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งปนเปื้อนมากับอาหาร มักใช้การเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมในบรรจุภัณฑ์หรือการใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ทำให้การเจริญเติบโตในช่วงแรก (lag period) นานขึ้น และลดอัตราการเจริญเติบโต หรือลดจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตลงได้ (Han, 2003) นอกจากนี้ ข้อดีของการใช้สารประกอบพอลิเมอร์ผสมร่วมกับสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ยังช่วยในด้านการควบคุมการปลดปล่อยสารเพื่อให้คงประสิทธิภาพตลอดช่วงอายุการเก็บรักษาอาหาร (Cagri et al., 2004)

วัตถุประสงค์ของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อเป็นการรับประกันความปลอดภัย คุณภาพ และยืดอายุการเก็บของอาหาร ซึ่งให้ลำดับความสำคัญสลับกันกับวัตถุประสงค์ของบรรจุภัณฑ์ทั่วไปที่ต้องการเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา คุณภาพ และรับประกันความปลอดภัย ปัจจุบันการรับประกันความปลอดภัยของอาหารถือว่าเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์จึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น (Han, 2003) เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างบรรจุภัณฑ์ทั่วไปกับบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์นอกจากสามารถป้องกันได้ทั้งความชื้น ออกซิเจน เนื่องจากสมบัติของฟิล์มแต่ละชนิดแล้ว บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ยังสามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าสู่อาหารได้

บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์มีทั้งแบบที่ตัวบรรจุภัณฑ์สัมผัสกับอาหารโดยตรงและแบบช่องว่าง (headspace) ระหว่างบรรจุภัณฑ์กับอาหาร โดยบรรจุภัณฑ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ไม่เพียงป้องกันและต่อต้านจุลินทรีย์ในอาหารที่ถูกบรรจุอยู่ แต่ยังรวมถึงจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับบรรจุภัณฑ์ด้วย (Appendini and Hotchkiss, 2002)

ลักษณะการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใส่ลงในบรรจุภัณฑ์ มี 3 ลักษณะ คือ การปลดปล่อย (release) การดูดซึม (absorption) และการอิมโมบิไลเซชัน (immobilization) การปลดปล่อยเกิดขึ้นจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีทั้งประเภทสารละลายหรือแก๊ส ถ้าเป็นแก๊สจะเคลื่อนไปสู่อาหารหรือช่องว่างระหว่างอาหารกับบรรจุภัณฑ์ได้ แต่หากเป็นสารละลายจะไม่สามารถทำได้ การดูดซึมมีหลักการทำงาน คือ เคลื่อนย้ายปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ออกจากบรรจุภัณฑ์และต่อต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นการสัมผัสระหว่างบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์กับ



ผิวหนังจึงมีความสำคัญอย่างมากจึงมักใช้การบรรจุอาหารด้วยสุญญากาศหรือใช้การเคลือบผิวโดยการสเปรย์หรือจุ่ม (Devlieghere et al., 2004)

## 2.5 ประเภทบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ประเภทของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์แบ่งได้หลายประเภท ลักษณะการใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ เช่น การผสมรวมกับพอลิเมอร์อิมโมบิไลเซชัน หรือการเคลือบบนผิวพอลิเมอร์ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของระบบบรรจุภัณฑ์ สารยับยั้งจุลินทรีย์ และอาหาร

### 1. ประเภทของการบรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปลง

1) Passive Modified Atmosphere Package (Passive MAP) คือ การสร้างสภาวะบรรยากาศที่ต้องการภายในภาชนะบรรจุโดยการเลือกชนิดของฟิล์มพลาสติกที่มีสภาพให้ซึมผ่านไดของแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เหมาะสมกับอัตราการหายใจของพืช ณ อุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษา การเก็บรักษาสีของผลผลิตด้วยฟิล์มพลาสติกสามารถก่อให้เกิดสภาวะบรรยากาศดัดแปลงภายในภาชนะบรรจุได้เนื่องจากผลผลิตผลสดหลังการเก็บเกี่ยวยังคงมีชีวิตอยู่จึงมีการใช้ปริมาณแก๊สภายในภาชนะบรรจุมาใช้ในการหายใจซึ่งในตอนแรกอัตราการหายใจจะสูงเนื่องจากปริมาณของแก๊สออกซิเจนยังสูงอยู่และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ยังมีน้อย หลังจากนั้นอัตราการหายใจจะค่อยๆ ลดลงตามการลดลงของปริมาณแก๊สออกซิเจนและการเพิ่มขึ้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ความแตกต่างของความดันย่อยของแก๊สทั้งสองที่อยู่ภายในกับภายนอกจะทำให้แก๊สออกซิเจนภายนอกซึมผ่านเข้าไปในภาชนะบรรจุ ขณะเดียวกันแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะซึมผ่านออกไปภายนอกเช่นกันจนกระทั่งสมดุลซึ่งทำให้เกิดการดัดแปลงสภาวะบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ

2) Active Modified Atmosphere Package (Active MAP) คือ การสร้างสภาวะบรรยากาศที่ต้องการสำหรับผักและผลไม้สด โดยการพ่นแก๊สที่ต้องการตามความเข้มข้นลงไป หรือบรรจุสารเคมีชนิดที่ให้แก๊สที่ต้องการหรือชนิดที่ดูดกลับแก๊สที่ไม่ต้องการออกไปจากบรรยากาศที่ล้อมรอบผลิตภัณฑ์ภายในภาชนะบรรจุ

### 2. สภาวะบรรยากาศดัดแปลงที่เหมาะสม

แม้ว่าสภาวะบรรยากาศดัดแปลงจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลผลิตผลได้ แต่ในขณะเดียวกันก็สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลักษณะผิดปกติของผลผลิตได้ เช่น การหมักและการเกิดกลิ่นผิดปกติซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณแก๊สออกซิเจนภายในภาชนะบรรจุลดต่ำลงจนผลผลิตผลไม่สามารถหายใจแบบใช้ออกซิเจนได้เช่นเดียวกับการเกิดอาการสะท้านหนาว (chilling injury) เมื่อมีปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงเกินระดับที่ผลผลิตจะทนได้ระดับความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อผลผลิต

### 3. ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบของบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ

องค์ประกอบของสภาวะบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุเป็นผลมาจากปัจจัยหลายอย่างประกอบกัน ได้แก่ สภาพให้ซึมผ่านได้ (permeability) ของภาชนะบรรจุ อัตราการหายใจของผลผลิตและสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความชื้น ฟิล์มพลาสติกและสภาพแวดล้อม สามารถควบคุมให้เหมาะสมกับผลผลิตได้ แต่ผลผลิตมีความผันแปรเนื่องจากพันธุกรรมและการเพาะปลูก สถานที่ปลูก

การดูแลรักษา ลักษณะการเก็บเกี่ยว ระยะการเก็บเกี่ยว และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เป็นต้น ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผลิตผลและส่งผลต่อภาวะบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ

1) ภาชนะบรรจุ โดยทั่วไปแล้ววัสดุบรรจุที่นิยมใช้กับผักและผลไม้สดในการเก็บรักษาภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปลง ได้แก่ พลาสติก (Mir and Beaudry, 2004) การเลือกใช้ฟิล์มพลาสติกให้เหมาะกับผลิตผลภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปลงที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับอัตราการหายใจของผลิตผล สภาพให้ซึมผ่านได้ (permeability) ของแก๊สต่างๆ ของฟิล์มและสภาวะแวดล้อม สภาพให้ซึมผ่านได้ของฟิล์มพลาสติกแต่ละชนิดมีส่วนสำคัญในการเก็บรักษาผลิตผล การลดอุณหภูมิจะทำให้แก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึมผ่านฟิล์มได้น้อยลงทำให้อัตราส่วนของแก๊สทั้งสองภายในภาชนะบรรจุเปลี่ยนแปลง ส่งผลกระทบต่อการหายใจและปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ได้ เช่น การหายใจเปลี่ยนจากแบบใช้ออกซิเจนไปเป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งถ้าปริมาณแก๊สออกซิเจนซึมผ่านฟิล์มเข้าไปภายในภาชนะบรรจุน้อยเกินไป จะทำให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพผักและผลไม้ได้ อีกทั้งอัตราการซึมผ่านไอน้ำ พลาสติกส่วนใหญ่ไม่สูงมาก ไอน้ำที่พืชคายออกมาจะช่วยเพิ่มความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในภาชนะบรรจุให้มีความมากกว่าหรือเท่ากับความสัมพันธ์สมดุล (equilibrium relative humidity) ของผักและผลไม้สด ลดการสูญเสียน้ำได้

2) อัตราการหายใจ อัตราการหายใจสูงสุดของผลิตผลสดเพิ่มขึ้นเป็น 4-6 เท่า ที่อุณหภูมิ 0-15 องศาเซลเซียส ซึ่งเพิ่มมากกว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ (permeability) ของฟิล์ม LDPE 2-3 เท่า และมากกว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของฟิล์ม perforation 30 เท่า ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ความต้องการแก๊สออกซิเจนของผลิตผลจะมีมากกว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของฟิล์มพลาสติก ความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนภายในภาชนะบรรจุจะลดลงและอาจเกิดอันตรายต่อคุณภาพผลิตผลได้ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการใช้การบรรจุในสภาวะบรรยากาศดัดแปลง (Mir and Beaudry, 2004)

3) ความสัมพันธ์ระหว่างภาชนะบรรจุผลิตผลและสภาพแวดล้อม สมการทางคณิตศาสตร์สามารถนำมาใช้เพื่อการคาดคะเนผลที่เกิดจากการใช้ปัจจัยต่างๆ ร่วมกันในการเก็บรักษาผลิตผล สมการทางคณิตศาสตร์สามารถใช้โยงความสัมพันธ์ของสภาพให้ซึมผ่านได้ (permeability) ของฟิล์ม อัตราการหายใจของผลิตผลควบคู่ไปกับความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตผลทนทานได้ สมการสามารถคาดคะเนปริมาณแก๊สและความชื้นที่เกิดขึ้นบริเวณช่องว่างเหนือผลิตผล (headspace) ของภาชนะบรรจุภายใต้สภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ นอกจากนี้ยังสามารถระบุขอบเขตจำกัดของฟิล์มพลาสติก ลักษณะการออกแบบ ผลิตผลและสภาพแวดล้อม (Mir and Beaudry, 2004) อย่างไรก็ตามได้มีการคิดค้นและทดสอบสมการคณิตศาสตร์ขึ้นมากมายแต่ยังมีการนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์น้อยมาก

#### 4. การเปลี่ยนแปลงของผลิตผลที่บรรจุในสภาวะบรรยากาศดัดแปลง

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตผลสด ได้แก่ การสุกและการเน่าเสีย การเสื่อมเสียเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ การเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัด และกลิ่นรสผิดปกติ (Mir and Beaudry, 2004) การเก็บรักษาในสภาวะบรรยากาศดัดแปลงทำให้ภายในภาชนะบรรจุมีปริมาณแก๊สออกซิเจนน้อยและมีปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งสามารถลดการเปลี่ยนแปลงของอัตราการหายใจ ปริมาณน้ำตาล คลอโรฟิลล์ องค์ประกอบของผนังเซลล์ (Ben-Yehoshua et al., 1983) ชะลอ

การสุกและการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังสามารถชะลอการแพร่กระจายเชื้อจุลินทรีย์และลดการปนเปื้อนในกระบวนการขนส่ง (Phillips, 1996; Mir and Beaudry, 2004) อีกทั้งสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดได้ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณแก๊สออกซิเจนที่ต่ำทำให้มีการสูญเสียกลิ่นรส แต่สภาวะบรรยากาศดัดแปลงมีประโยชน์ต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผลมากกว่า ดังนั้นผู้บริโภคอาจได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นลดลงและมีการเปลี่ยนแปลงสีที่ไม่สอดคล้องกับความต้องการ (Mir and Beaudry, 2004)

การบรรจุแบบแอคทีฟ (active packaging)

การบรรจุแบบแอคทีฟเป็นการบรรจุในสภาวะบรรยากาศดัดแปลงแบบหนึ่งที่สามารถดัดแปลงสภาวะบรรยากาศภายในให้เหมาะสมต่อการเก็บรักษา โดยภาชนะบรรจุจะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทั้งภายในและภายนอก สามารถตอบสนองต่อการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมด้วยการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของภาชนะบรรจุเพื่อสร้างสภาวะบรรยากาศที่ต้องการ (Brody et al., 2001)

## 2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณาในการออกแบบบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ คือ กิจกรรมเฉพาะ (specific activity) การต้านทานของเชื้อจุลินทรีย์ การควบคุมปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่ผิวอาหาร ธรรมชาติทางเคมีของอาหารและสารยับยั้งจุลินทรีย์ สภาวะการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย สภาวะของกระบวนการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์ คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารยับยั้งจุลินทรีย์

### 1. กิจกรรมจำเพาะของสารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้อย่างจำเพาะ ดังนั้นการที่จะเลือกใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใดขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการยับยั้งเพราะอาหารแต่ละชนิดมีคุณลักษณะแตกต่างกัน สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เลือกใช้ต้องสามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะของอาหารในบรรจุภัณฑ์

### 2. การควบคุมการปลดปล่อยและกลไกการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์

อัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ควรออกแบบให้เหมาะสมกับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ควรเร็วหรือช้าเกินกว่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เพราะหากอัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์เร็วกว่าจะทำให้ความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ต่ำลงและอาจหมดก่อนอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร เชื้อจุลินทรีย์จึงเจริญเติบโตได้ภายหลังสารยับยั้งจุลินทรีย์หมดลง และหากอัตราการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ช้ากว่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญก่อนที่สารยับยั้งจะทำงาน ดังนั้นการเคลื่อนที่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ไปสู่ผิวอาหารจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญ เมื่อระยะเวลาในการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ตามระยะเวลาจะทำให้ความเข้มข้นของสารลดลงและลดลงจนต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง บรรจุภัณฑ์จึงไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของบรรจุภัณฑ์ทั่วไปจะเกิดขึ้นที่ผิวของอาหารภายในบรรจุภัณฑ์ ขณะที่การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

ของบรรจุภัณฑ์แบบเคลือบบนผิวของสารเคลือบที่เคลือบอยู่ด้านนอกของอาหาร ดังนั้นสิ่งสำคัญของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ต้องแนบติดกับตัวอาหารจึงจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 3. ธรรมชาติทางเคมีของสารยับยั้งจุลินทรีย์

ความสามารถในการละลายน้ำของสารยับยั้งจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับความสามารถในการผสมได้ระหว่างสารยับยั้งจุลินทรีย์กับพอลิเมอร์หรือพลาสติกเพราะจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาค่า pH ที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อของสารยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อเลือกใช้ให้เหมาะสมกับ pH ของพอลิเมอร์และอาหาร เพราะประสิทธิภาพในการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับค่า pH ด้วย

### 4. การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์สู่อาหาร

การละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปสู่อาหารถือเป็นปัจจัยที่สำคัญอันหนึ่งเพราะมีผลต่อประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อของบรรจุภัณฑ์ ถ้าสารยับยั้งจุลินทรีย์ละลายได้ดีในอาหาร ระบบบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้คือ ระบบชนิด unconstrained free diffusion แต่ถ้าสารยับยั้งจุลินทรีย์ละลายได้ต่ำในอาหาร จะเรียกว่าระบบชนิด monolithic system ระบบชนิด unconstrained free diffusion สารยับยั้งจุลินทรีย์จะละลายสู่อาหารได้สูง ความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผิวอาหาร  $C_s$  จะลดลงเท่าๆ กับความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์จนกระทั่งมีความเข้มข้นต่ำกว่า  $m.i.c$  จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ขณะที่ระบบชนิด monolithic system มีสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้ต่ำ  $C_s$  จึงมีความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ซึ่งระดับของความเข้มข้น  $C_s$  ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปสู่อาหาร  $C_s$  จะคงที่ไปจนกระทั่งปริมาณของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์หมด นั่นคือประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยังคงที่จนกระทั่งปริมาณของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์หมด

### 5. สภาพการเก็บรักษาและการจัดจำหน่าย

อุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษาและจัดจำหน่ายมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ จึงควรเลือกใช้อุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อ และภายในอายุการเก็บรักษาของอาหาร

### 6. สภาพการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์

กระบวนการขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์มี 2 วิธี คือ กระบวนการเอ็กซ์ทรูชันและการหล่อ กรณีการขึ้นรูปโดยการเอ็กซ์ทรูชัน สิ่งสำคัญที่ควรพิจารณาคือ ความสามารถในการทนต่อความร้อนและสภาพที่รุนแรงของสารยับยั้งจุลินทรีย์ เนื่องจากสภาพของการเอ็กซ์ทรูชันใช้อุณหภูมิและความดันค่อนข้างสูง ขณะที่การขึ้นรูปโดยการหล่อมีสิ่งสำคัญคือตัวทำละลายที่เลือกใช้ต้องสามารถละลายได้ทั้งในสารยับยั้งจุลินทรีย์และพอลิเมอร์เพื่อให้สารยับยั้งเชื้อกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับพอลิเมอร์ ซึ่งจะส่งผลถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

### 7. สมบัติทางกายภาพและทางกลของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์

ปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผสมกับพอลิเมอร์ต้องมีปริมาณที่เหมาะสม ไม่มากเกินไปจนทำให้มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความโปร่งใส สี และคุณสมบัติทางกลของบรรจุภัณฑ์

### 8. ลักษณะทางประสาทสัมผัสและความเป็นพิษของสารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์เป็นสารที่มีกลิ่นหรือรสที่รุนแรง ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส รวมทั้งวัตถุประสงค์สำหรับผลิตฟิล์มหรือสารเคลือบที่สามารถรับประทานได้ควรคำนึงถึงสารก่อภูมิแพ้

#### 9. กฎหมายข้อบังคับ

การใส่สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ต้องพิจารณาถึงกฎหมายข้อบังคับเนื่องจากสารยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ในอาหาร ต้องมีความปลอดภัยต่อการอุปโภคและบริโภค ดังนั้นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเมื่อเทียบกับสารยับยั้งจุลินทรีย์สังเคราะห์

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Martinez-Camacho et al. (2010) ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติทางแสงและสมบัติเชิงกล รวมถึงผลจากความร้อนของฟิล์มไคโตซานต่อการต้านเชื้อราด้วยวิธีการ casting พบว่าฟิล์มไคโตซานที่เตรียมขึ้นมีคุณสมบัติทางความร้อนคล้ายกัน คือ มีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว ( $P > 0.05$ ) นอกจากนี้การเพิ่มพลาสติกไซเซอร์ยังส่งผลให้การยืดตัวของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น ( $P \leq 0.05$ ) ส่วนค่ามอดูลัสของยังมีค่าต่ำลง ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลโลเฟน

ฐิติมา สุขมาก (2553) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานออลิโกเมอร์และพอลิเมอร์จากกุ้งปู และหมึก เพื่อยับยั้งแบคทีเรีย โดยใช้กุ้งค็อกเทลเป็นแบบอาหารจำลอง พบว่าประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและแหล่งที่มาของไคโตซาน โดยพบว่าไคโตซานพอลิเมอร์จากปูสามารถประยุกต์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติในอาหารพร้อมบริโภคได้

Lim et al. (1999) ได้รายงานการอบฟิล์มไคโตซานด้วยวิธี dry heat และ saturated steam พบว่า ความเป็นผลึกของฟิล์มไคโตซานจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการอบฟิล์มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน

Hartmann (1998) ได้ทดลองนำวัตถุดิบทางการเกษตรมาผลิตเป็นพลาสติกชีวภาพ เช่น สตาร์ชจากพืชต่างๆ เช่น มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด มันฝรั่ง เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารสกัดจากเปลือกของสัตว์จำพวกครัสเตเชียน (crustacean) (เช่น ไคโตซาน) อนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรต (เช่น เมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส) และผลิตผลจากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียในสกุล Lactobacilli ซึ่งพบว่าพลาสติกจากไคโตซานมีคุณสมบัติที่ดีกว่า คือ ไม่มีสี มีความใส เหนียว

Nakamura et al. (1998) ได้ศึกษาการผสมระหว่างแคลเซียมคาร์บอเนตและพีวีซี พบว่าสมบัติเชิงกลที่ได้ไม่ขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค แต่มีผลจากการปรับปรุงผิวของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ส่งผลให้สมบัติของพอลิเมอร์ผสมดีขึ้น สำหรับสารตัวเติมที่มีขนาดเล็ก เมื่อผสมลงในพอลิเมอร์จะเกิดปัญหาในเรื่องของการกระจายตัว โดยจะมีการปรับปรุงผิวของสารตัวเติมโดยการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีที่เติมลงไปเพื่อปรับปรุงผิวจะทำให้สารตัวเติมมีการกระจายตัวดีในพอลิเมอร์ผสม

Lim and Wan (1995) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบฟิล์ม chitosonium acetate เพื่อปรับปรุงสมบัติความทนต่อน้ำด้วยกระบวนการความร้อน (heat treatment) พบว่าความเป็นผลึกของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการอบสูงขึ้น และการอบฟิล์มด้วยความร้อนสามารถทำให้ฟิล์มทนต่อการละลายในสารละลายกรดและน้ำได้ดี ขณะที่การละลายในสารละลายด่าง ฟิล์มจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงมากนัก

Kienzle-Sterzer et al. (1982) ได้รายงานผลของความเข้มข้นสารละลายโคโตซานและชนิดของกรดต่อสมบัติของฟิล์มโคโตซาน โดยการเตรียมสารละลายโคโตซานเข้มข้นร้อยละ 0.80-1.40 โดยน้ำหนักในกรดแอสติคและกรดโพรพอนิกความเข้มข้น 0.1665 โมลต่อลิตร ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส ผลการวิจัยพบว่าค่าโมดูลัสของยังของฟิล์มโคโตซานเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารละลายโคโตซานมากขึ้น และการใช้กรดแอสติคเป็นตัวทำละลายจะให้ค่าโมดูลัสของยังของฟิล์มมากกว่าการใช้กรดโพรพอนิกเป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้ค่าโมดูลัสของยังของฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากความเป็นผลึกของฟิล์มโคโตซานมากขึ้นเมื่อขนาดของโมเลกุลของกรดลดลง

Wake (1971) ได้ศึกษาการผสมแคลเซียมคาร์บอเนตกับโพลีโพรพิลีนซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความแข็งแรงสูง กระบวนการผลิตมีช่วงเวลาที่สั้น เนื่องจากแคลเซียมคาร์บอเนตมีค่าความร้อนจำเพาะ และค่าการนำความร้อนที่สูง