

ผลของสารห่อหุ้ม พีเอช และอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่มีต่อการผลิต
ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน
เพื่อประยุกต์ใช้เคลือบเฉพาะจุดบนบรรจุภัณฑ์อาหาร

Effect of Wall Material, pH, and Core/Wall Ratio on the Production of Orange
Essential Oil Microcapsules Using Complex Coacervation
for Applying as Spot Coating on Food Package

รัชฎาพร ใจมั่น^{1*} และ ณัฐพงศ์ กันหา²

Ratchadaporn Jaimun¹ and Nattapong Kanha²

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการพิมพ์และบรรจุภัณฑ์ คณะศิลปกรรมและสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

¹ Division of Printing and Packaging Technology, Faculty of Art and Architecture, Rajamangala University of Technology Lanna

² Division of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University

Received : 10 October 2017

Accepted : 2 March 2018

Published online : 13 March 2018

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชันเพื่อประยุกต์ใช้ในการเคลือบเฉพาะจุดบนบรรจุภัณฑ์อาหาร และศึกษาผลของสารห่อหุ้มเจลาติน-อะคาเซียกัม (GE-AG) และเจลาติน-คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (GE-CMC) พีเอช (3.0, 3.5 และ 4.0) และอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม (1:1, 1:2, และ 1:4) ที่มีต่อคุณภาพของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้ ซึ่งผลการวิจัยที่ได้พบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับผลิตไมโครแคปซูลโดยใช้ GE-AG และ GE-CMC คือ 4.0 และ 3.5 ตามลำดับ และอัตราส่วนของสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่เหมาะสมที่สุดสำหรับผลิตไมโครแคปซูลโดยใช้ GE-AG และ GE-CMC คือ 1:2 และ 1:4 ตามลำดับ ทั้งนี้ไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จากทุก ๆ สภาวะมีลักษณะเป็นทรงกลมที่บรรจุไปด้วยกลุ่มของอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยส้มจำนวนมาก ซึ่งจัดอยู่ในรูปแบบมัลติคอร์ไมโครแคปซูล โดย GE-CMC ให้ชั้นสารห่อหุ้มของไมโครแคปซูลหนากว่าแต่ให้ขนาดของอนุภาคใหญ่กว่า GE-AG อย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มควรใช้ GE-CMC เป็นสารห่อหุ้ม ภายใต้สภาวะพีเอช 3.5 และใช้อัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม 1:4 มีคุณภาพดีที่สุด โดยให้ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ 55.19 ± 4.30) ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด (657.17 ± 17.76 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด) และประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชัน (ร้อยละ 88.04 ± 0.90) สูงสุด ซึ่งเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้เคลือบเฉพาะจุดตรงตำแหน่งบนบรรจุภัณฑ์อาหารต่อไป

คำสำคัญ : เอนแคปซูเลชัน คอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน น้ำมันหอมระเหยส้ม เคลือบเฉพาะจุด บรรจุภัณฑ์อาหาร

*Corresponding author. E-mail : ratchadaporn.jaimun@gmail.com

Abstract

The objectives of this research were to produce the orange essential oil microcapsules by complex coacervation for application as the spot coating solution on food packaging, and to study the effects of wall system gelatin-acacia gum (GE-AG) and gelatin-carboxymethyl cellulose (GE-CMC), pH values (3.0, 3.5, and 4.0), and ratios of core to wall material (1:1, 1:2, and 1:4) on the properties of produced microcapsules. The result found that appropriate pH values for producing microcapsules using GE-AG and GE-CMC were 4.0 and 3.5, respectively. While, appropriate core : wall ratios for producing microcapsules using GE-AG and GE-CMC were 1:2 and 1:4, respectively. Microcapsules showed a spherical shape with numerous oil-in-water emulsion cores in the pattern of multicore microcapsules, in which GE-CMC gave the microcapsule wall layer obviously thicker than another one. Therefore, the appropriate conditions for producing orange essential oil microcapsules was use of GE-CMC as wall system and must be formed using 1:4 core : wall ratio at pH 3.5. The obtained microcapsules from such condition exhibited the highest microcapsule yield (55.19 ± 4.30 %), total orange essential oil content (657.17 ± 17.76 mg/g fresh weight), and encapsulation efficiency (88.04 ± 0.90 %). These microcapsules will be further applied as spot coating on food package.

Keywords : encapsulation, complex coacervation, orange essential oil, spot coating, food package

บทนำ

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารไม่ได้มุ่งเน้นแค่เพียงการศึกษาเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการปกป้องและยืดอายุการเก็บรักษาเท่านั้น หากแต่ยังต้องพิจารณาเรื่องการตลาดควบคู่ไปด้วย เพื่อให้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงของเทคโนโลยีและความต้องการของผู้บริโภค ด้วยกลไกทางการตลาดที่มักมีคู่แข่งเพิ่มขึ้นเสมอ กิจการใดก็ตามที่ไม่มีการพัฒนาหรือสร้างความแตกต่างในตัวผลิตภัณฑ์ ไม่มีการปรับปรุงพัฒนาบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสม กิจการนั้นก็ไม่สามารถสร้างอิทธิพลต่อผู้บริโภคและเกิดการเสียเปรียบในการแข่งขันได้ บรรจุภัณฑ์เป็นสิ่งที่อยู่ใกล้ชิดกับสินค้ามากที่สุด บรรจุภัณฑ์ช่วยสร้างอัตลักษณ์ให้สินค้าที่ถูกบรรจุอยู่ภายใน สร้างความแตกต่างระหว่างสินค้าที่เหมือนกัน สื่อสารภาพลักษณ์ คุณค่า คุณประโยชน์ต่าง ๆ ของตัวสินค้า ทำหน้าที่เป็นพนักงานขายที่ให้ข้อมูล แนะนำการใช้งาน เชิญชวน ใจให้ผู้บริโภคให้อยากซื้อสินค้า จึงถือเป็นเครื่องมือทางการตลาดที่สำคัญ (Intrungsi, 2016) การนำนวัตกรรมมาใช้สร้างความแตกต่างบนบรรจุภัณฑ์เป็นหนึ่งในกลยุทธ์ทางการตลาดที่ช่วยกระตุ้นความสนใจจากผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มมิติแห่งการสัมผัสถึงผลิตภัณฑ์ภายในบรรจุภัณฑ์ เช่น การใช้อินดิเคเตอร์บอกความสด หรือความสูงของอาหารภายในบรรจุภัณฑ์ การใช้หมึกพิมพ์เปลี่ยนสีตามอุณหภูมิในการเก็บรักษา และการสร้างพื้นผิวบนบรรจุภัณฑ์ เป็นต้น การสร้างแรงดึงดูดใจบนบรรจุภัณฑ์อาหารนอกจากจะผ่านการมองเห็นและสัมผัสแล้ว กลิ่นหอมก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่เชิญชวนให้ผู้บริโภคเกิดความสนใจในตัวผลิตภัณฑ์ได้เป็นอย่างดี

อย่างไรก็ตาม สารให้กลิ่นหอมส่วนใหญ่เป็นพวกน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีระเหยได้ง่ายและไม่คงตัวทางเคมีต่อหลายปัจจัย เช่น แสง อากาศ ความชื้น และอุณหภูมิสูง เป็นต้น (Jun-xia *et al.*, 2011) เทคโนโลยีเอนแคปซูลชันจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อห่อหุ้มกลิ่นหอมให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูล เพื่อช่วยชะลอการสูญเสียกลิ่น ช่วยควบคุมการปลดปล่อยให้เป็นไป

ตามที่ต้องการ และช่วยให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้ง่ายขึ้น สำหรับเทคนิคที่ใช้ในผลิตไมโครแคปซูลสารให้กลิ่นหอม มีหลายวิธี เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) และวิธีการอื่น ๆ ขึ้นอยู่กับลักษณะการปลดปล่อยสารให้กลิ่นหอมที่ต้องการและการใช้ประโยชน์ (Madene *et al.*, 2006) หนึ่งในเทคนิคห่อหุ้มสารให้กลิ่นหอมที่น่าสนใจ คือ คอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน (complex coacervation) ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถห่อหุ้มสารสำคัญไว้ภายในโครงสร้างไมโครแคปซูลได้ในปริมาณมาก (high loading) และสามารถกำหนดลักษณะของการปลดปล่อย (controlled release) สารสำคัญที่ต้องการโดยวิธีการใช้แรงเชิงกล (mechanical stress) ได้ (Gouin, 2004) เทคนิคนี้อาศัยกลไกของการแยกเฟส (liquid-liquid phase separation) ในสภาวะเหมาะสม โดยการปรับให้ไฮโดรคอลลอยด์หรือพอลิเมอร์สองชนิดที่ภายในโมเลกุลมีประจุตรงข้ามกัน เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างกัน ซึ่งมีการขับเคลื่อนในเชิงเอนโทรปีเป็นหลัก และอาจมีสาเหตุจากการเคลื่อนย้ายตำแหน่งของประจุ (delocalization of counter ions) ด้วย เช่น กรณีระบบสารห่อหุ้มโปรตีน-โพลีแซ็กคาไรด์ (De Kruijff *et al.*, 2004) เป็นต้น ทั้งนี้ การห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ ที่เป็นวัตถุติดจากธรรมชาติให้กลิ่นหอมด้วยเทคนิคคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชันเคยได้รับการศึกษามากเป็นจำนวนมาก เช่น น้ำมันกานพลู (clove oil) น้ำมันมะกอก (olive oil) และน้ำมันวานิลลา (vanilla oil) เป็นต้น (Thimma & Tammishetti, 2003; Devi *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2014) โดยใช้สารห่อหุ้มในกลุ่มโปรตีน-โพลีแซ็กคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ในการเตรียมไมโครแคปซูล เช่น เจลาติน-กัม เจลาติน-คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เจลาติน-ไคโตซาน และเจลาติน-ไซเดียมอัลจิเนต เป็นต้น (Thimma & Tammishetti, 2003; Devi & Maji, 2011; Devi *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2014)

เนื่องจากกลิ่นส้มโวดึงดูดการรับรู้ทางประสาทสัมผัสของมนุษย์ อีกทั้งยังสามารถหาซื้อได้ง่ายและราคาไม่แพง ดังนั้น การศึกษานี้จึงเลือกใช้น้ำมันหอมระเหยส้มเป็นกลิ่นตัวอย่างในการผลิตไมโครแคปซูล น้ำมันหอมระเหยส้ม (orange essential oil) คือ สารเคมีที่มีกลิ่นหอม ถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์ที่เปลือกของผลส้ม (*Citrus sinensis* L.) ซึ่งถูกพิจารณาว่าเป็นของเสียในอุตสาหกรรมเกษตร สามารถสกัดได้หลายวิธี เช่น การกลั่น (distillation) และการสกัดเย็น (cold expression) โดยมีลิโมนีน (limonene) เป็นองค์ประกอบหลัก ที่พบได้มากกว่าร้อยละ 70 (Bauer *et al.*, 2001; Espina *et al.*, 2011) น้ำมันหอมระเหยส้มมีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นสารให้กลิ่นหอม ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัย และมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพ (Viuda-Martos *et al.*, 2008; Tao *et al.*, 2009; Espina *et al.*, 2011; Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013) ที่ผ่านมามีการใช้ประโยชน์น้ำมันหอมระเหยส้มเพื่อเพิ่มความพึงพอใจของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายชนิด เช่น ขนม ลูกกวาด ไอศกรีม เครื่องดื่ม เบเกอรี่ และอื่น ๆ นอกจากนี้ ยังมีใช้ในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ อีกด้วย เช่น น้ำหอม และสารปรับอากาศ เป็นต้น (Braun & Cohen, 2007)

ที่ผ่านมามีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับวิธีการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชันโดยใช้โปรตีนถั่วเหลืองร่วมกับกัมอะคาเซียเป็นสารห่อหุ้ม และให้ผลลัพธ์ที่ดีในการปกป้องน้ำมันหอมระเหยส้ม (Jun-xia *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตาม ไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชันซึ่งใช้เจลาตินร่วมกับกัมอะคาเซีย หรือร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นสารห่อหุ้ม ซึ่งอาจเป็นสารห่อหุ้มที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมกับน้ำมันหอมระเหยส้ม และควรได้รับการอธิบายเพิ่มเติม ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องในการเตรียมไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน 3 ปัจจัย คือ สารห่อหุ้ม (GE-AG และ GE-CMC) ค่าพีเอช (3.0, 3.5, และ 4.0) และอัตราส่วนสารแกน (น้ำมันหอมระเหยส้ม) ต่อสารห่อหุ้ม (1:1, 1:2, และ 1:4, น้ำหนัก/น้ำหนัก) ที่มีต่อปริมาณผลผลิต ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้ม และประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชัน

ของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้ ตลอดจนการสังเกตพื้นฐานวิทยาของไมโครแคปซูลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจะถูกใช้สำหรับเตรียมไมโครแคปซูล น้ำมันหอมระเหยส้ม เพื่อประยุกต์ใช้โดยการเคลือบเฉพาะจุดบนตัวอย่างบรรจุภัณฑ์อาหารที่ทำการออกแบบต่อไป (ภาพที่ 1)



Figure 1 The region on cookie box was designed for spot coating with orange essential oil microcapsule

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบและสารเคมี

น้ำมันหอมระเหยกลิ่นส้ม (orange essential oil) ที่สกัดด้วยวิธีบีบเย็น (cold expression) ที่มาจากบริษัท Aromahub Group (Nonthaburi, Thailand) เจลาตินชนิด B จากหนังวัว (gelatin type B from bovine skin) ความแข็งแรงของเจล ~200 g Bloom ชนิดผงที่มาจากบริษัท Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) สำหรับไฮโดรคอลลอยด์ชนิดผง 2 ชนิด คือ กัมอะคาเซีย (acacia gum) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) จากบริษัท Union Science (Chiang Mai, Thailand) สารละลายไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ความเข้มข้นร้อยละ 37) น้ำกลั่น และน้ำไร้ประจุ (deionized water) จากบริษัท RCI Labscan (Bangkok, Thailand)

2. การเตรียมไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน

การผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชัน (ภาพที่ 2) เริ่มจากเตรียมสารละลายของสารหุ้มแต่ละชนิด ได้แก่ สารละลายเจลาติน (ความเข้มข้นร้อยละ 1 – 4 น้ำหนัก/ปริมาตร) สารละลายกัมอะคาเซีย (ความเข้มข้นร้อยละ 1 – 4 น้ำหนัก/ปริมาตร) และสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 – 1.2 น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อกันนั้นผสมน้ำมันหอมระเหยกลิ่นส้มปริมาณ 5 กรัม ลงในสารละลายเจลาตินปริมาตร 250 มิลลิลิตร (ตารางที่ 1) และปั่นให้เกิดเป็นอิมัลชัน (oil in water emulsion) โดยใช้เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) (Ultra-Turrax T25, IKA, Malaysia) ด้วยความเร็วรอบ 3200 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 10 นาที หลังจากนั้นลดความเร็วในการปั่นลงโดยย้ายอิมัลชันมาปั่นต่อด้วยเครื่องกวนแบบใช้แม่เหล็ก (magnetic stirrer) (IKA C-MAG HS 7, Werke GmbH & Co. KG, Germany) และปรับอุณหภูมิให้เป็น 40 องศาเซลเซียส ต่อมาจึงค่อย ๆ เติมสารละลายกัมอะคาเซียหรือสารละลายคาร์บอกซีเมทิล

เซลล์โลสปริมาตร 250 มิลลิลิตร (ตารางที่ 1) ลงไป และปรับค่าพีเอชของส่วนผสมด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของส่วนผสมโดยใช้เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) (LAQUAtwin-pH-22, Horiba Scientific, Japan) จนได้ค่าพีเอชที่ต้องการ หลังการปรับค่าพีเอช กวนต่อเนื่องอีกเป็นระยะเวลา 15 นาที แล้วจึงลดอุณหภูมิของส่วนผสมลง โดยแช่ในอ่างน้ำแข็งพร้อมทั้งกวนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนแบบใช้แม่เหล็ก จนกระทั่งอุณหภูมิลดต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 10 นาที จึงกรองแยกอนุภาคไมโครแคปซูลออกมา และล้างด้วยน้ำไร้ประจุจำนวน 3 รอบ ก่อนนำไปทำแห้งต่อไป

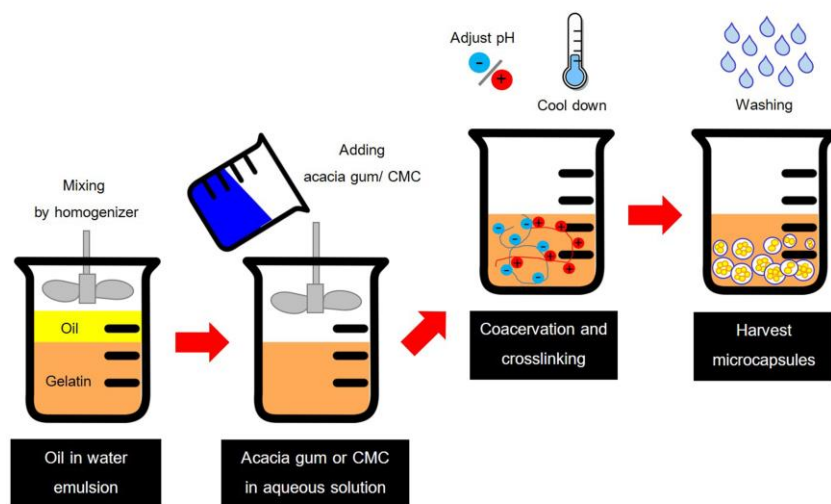


Figure 2 Processing step for the production of orange essential oil microcapsule by complex coacervation

Table 1 Sample formulations

Core : wall ratio (w/w)	Orange essential oil (g)	Wall materials (g/250 mL deionized water)		
		Gelatin	Acacia gum	CMC
1 : 1	5	2.5	2.5	-
1 : 2	5	5.0	5.0	-
1 : 4	5	10.0	10.0	-
1 : 1	5	4.25	-	0.75
1 : 2	5	8.50	-	1.50
1 : 4	5	17.00	-	3.00

3. การทำแห้งไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม

ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่เตรียมได้จะถูกย้ายมาใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียม (25 เซนติเมตร × 34 เซนติเมตร × 2.3 เซนติเมตร) และเกลี่ยให้สม่ำเสมอทั่วภาชนะ ก่อนนำมาทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลมร้อน (hot air dryer) (Model 600, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

4. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดและที่พื้นผิวของไมโครแคปซูล

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดของไมโครแคปซูล (total oil content, TOC) วิเคราะห์โดยการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการที่อธิบายโดย Fernandes *et al.* (2013) โดยละลายไมโครแคปซูล ปริมาณ 20 กรัม ในน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตร และกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยชุดอุปกรณ์การกลั่น (cleverger-type apparatus) เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ต่อจากนั้นสกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากเฟสน้ำโดยใช้สารละลายไดเอทิลอีเทอร์ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ทั้งหมด 3 รอบ ก่อนนำเฟสน้ำมันมาระเหยเอาไดเอทิลอีเทอร์ออกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) (Buchi, Labortechnik AG, Switzerland) โดยแช่ฟาส์กับตัวทำละลาย (receiving flask) ในอ่างน้ำแข็งตลอดระยะเวลาการระเหย เพื่อป้องกันการระเหยกลับของสารไดเอทิลอีเทอร์ ภายหลังจากการระเหย น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยจะถูกบันทึกเป็น TOC

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มที่พื้นผิวของไมโครแคปซูล (surface essential oil content, SOC) วิเคราะห์โดยการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการที่อธิบายโดย Fernandes *et al.* (2013) โดยล้างไมโครแคปซูลปริมาณ 20 กรัม ด้วยสารละลายไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ทั้งหมด 3 รอบ ก่อนนำมาระเหยเอาสารละลายไดเอทิลอีเทอร์ออกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ ภายหลังจากการระเหย น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยจะถูกบันทึกเป็น SOC

5. การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตและประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชัน

วิเคราะห์ปริมาณผลผลิต (encapsulation yield) ได้จากปริมาณของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้ (total amount of produced microcapsules, TAM) ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน (total amount of orange essential oil load in the emulsion, TAO) และปริมาณสารห่อหุ้มที่ใช้ในการเตรียมไมโครแคปซูล (total amount of used wall materials, TAW) โดยสามารถคำนวณได้ตามสมการที่ (1)

$$\text{ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{TAM}}{\text{TAO} + \text{TAW}} \right) \times 100 \quad (1)$$

สำหรับประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชัน (encapsulation efficiency) สามารถคำนวณได้จากปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มที่สกัดได้จาก 2 ส่วน ได้แก่ ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด (TOC) และปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มที่พื้นผิว (SOC) ของไมโครแคปซูล ตามวิธีที่อธิบายไว้โดย Jun-xia *et al.* (2011) ดังสมการที่ (2)

$$\text{ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{TOC} - \text{SOC}}{\text{TOC}} \right) \times 100 \quad (2)$$

6. สันฐานวิทยาของไมโครแคปซูล

ประเมินคุณภาพทางสันฐานวิทยา (morphology) ของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) ที่กำลังขยาย 40 เท่า

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มถูกผลิตและวิเคราะห์สมบัติของไมโครแคปซูลทุกชนิด (ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดของไมโครแคปซูล ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มที่พื้นผิวไมโครแคปซูล และประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชัน) ทั้งหมด 3 ข้อ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ โดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (IBM SPSS statistic 24)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลของสารห่อหุ้มและค่าพีเอชที่มีต่อการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม

ปริมาณผลผลิต

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 16.87 – 44.39 และ 20.50 – 47.86 ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 (a) ทั้งนี้ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-AG เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณผลผลิตสูงสุด (ร้อยละ 44.39) ที่พีเอช 4.0 ในขณะที่ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-CMC ไม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามพีเอชที่เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อปรับพีเอชให้สูงขึ้นจาก 3.0 เป็น 3.5 ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณผลผลิตลดลงเมื่อปรับพีเอชให้เป็น 4.0 ($p \leq 0.05$) โดยพบปริมาณผลผลิตสูงสุด (ร้อยละ 47.86) ที่พีเอช 3.5 ถ้าเปรียบเทียบระหว่างสารห่อหุ้มทั้ง 2 ระบบ ที่ใช้ผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มภายใต้ค่าพีเอชที่ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด พบว่า GE-CMC ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่า GE-AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

พีเอชมีอิทธิพลต่อความหนาแน่นประจุ (charge density) ของสารที่สามารถเป็นได้ทั้งสภาพกรดและด่าง (ampholytes) จึงอาจชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของทั้งโปรตีนและโพลีแซ็กคาไรด์ได้ (Turgeon *et al.*, 2007; Jun-xia *et al.*, 2011) จากภาพที่ 3 (a) แสดงให้เห็นว่าพีเอชมีผลต่อการเกิดไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มแตกต่างกัน โดยมีความเป็นไปได้ว่าพอลิเมอร์ชีวภาพทั้ง 2 ชนิด (GE-AG และ GE-CMC) อาจมีความหนาแน่นของประจุบวกและลบเท่ากัน (stoichiometrically balanced) หรือมีจุดสมมูลทางประจุไฟฟ้า (electrical equivalence point, EEP) อยู่ที่พีเอช 4.0 และ 3.5 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนการเกิดคอมเพล็กซ์ไอออนเซออร์เวชันของ GE-AG และ GE-CMC ในหลาย ๆ การทดลองที่ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดที่ค่าพีเอชดังกล่าวเช่นกัน (Burgess & Carless, 1984; Koh & Tucker, 1988) ทั้งนี้ที่ EEP ของแต่ละระบบสารห่อหุ้มจะมีความสามารถในการละลายลดลงและเกิดการแยกเฟสออกมา พร้อมทั้งเกิดการเชื่อมต่อกัน (coalescence) ล้อมรอบหยดน้ำมันและกลายเป็นเจลที่แข็งแรงมากขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ (< 10 องศาเซลเซียส) สำหรับส่วนของสารห่อหุ้มและหยดน้ำมันที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มด้วย สารห่อหุ้มจะยังคงแขวนลอยอยู่ในส่วนผสม และสูญเสียไปในขั้นตอนการกรองแยกไมโครแคปซูล ด้วยเหตุนี้ ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จากทุก ๆ สารห่อหุ้มจึงน้อยกว่าร้อยละ 50 ซึ่งน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Jun-xia *et al.* (2011) ที่พบว่าไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตโดยใช้โปรตีนถั่วเหลือง-กัมอะคาเซียเป็นสารห่อหุ้ม มีปริมาณ

ผลผลิตสูงกว่าร้อยละ 55 ที่พีเอช 4.0 และน้อยกว่าร้อยละ 40 ที่พีเอช 3.5 ดังนั้นค่าพีเอชที่เหมาะสมจะให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าและยังสะท้อนให้เห็นว่าสามารถเกิดไมโครแคปซูลที่พีเอชนั้น ๆ ได้มากกว่าด้วยเช่นกัน

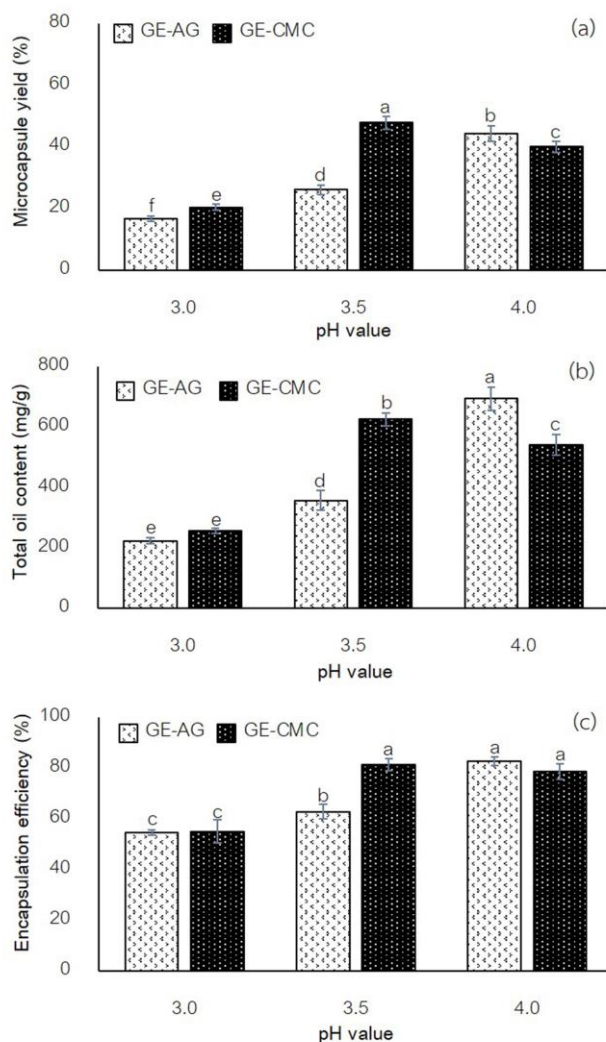


Figure 3 Microcapsule yield (a), total oil content (b), and encapsulation efficiency (c) of orange essential oil microcapsules produced using different wall materials and pH values

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด

จากผลการวิจัยที่ได้พบว่าไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มอยู่ในช่วง 224.17 – 695.00 และ 257.50 – 626.67 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 (b) ทั้งนี้การเพิ่มค่าพีเอชส่งผลให้ไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-AG มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตามค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดสูงสุด (695.00 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด) ที่พีเอช 4.0

ในขณะที่ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-CMC เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มพีเอชจาก 3.0 เป็น 3.5 แต่เมื่อเพิ่มพีเอชเป็น 4.0 กลับสามารถห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ได้ลดลง โดยมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดสูงสุด (626.67 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด) ที่พีเอช 3.5 ($p \leq 0.05$) ถ้าเปรียบเทียบระหว่างสารห่อหุ้มทั้ง 2 ระบบ ที่ใช้ผลิตไมโครแคปซูล ภายใต้ค่าพีเอชที่ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดสูงสุด พบว่า GE-AG เป็นสารห่อหุ้มที่ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดสูงกว่า GE-CMC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากผลการวิจัยที่ได้สะท้อนให้เห็นว่าที่ค่าพีเอชต่ำหรือมีสภาพเป็นกรด (พีเอช 3.0) อาจมีการเติมโปรตอน (protonation) ที่หมู่อะมิโนของเจลาตินและหมู่คาร์บอกซิลิกของไฮโดรคอลลอยด์ ทั้ง 2 ชนิด (Xie *et al.*, 2001; Espinosa-Andrews *et al.*, 2007) Espinosa-Andrews *et al.* (2007) อธิบายว่า ที่พีเอชต่ำกว่า 3.5 จะมีการเติมโปรตอนที่หมู่คาร์บอกซิลิกของกัมอะคาเซียเกิดขึ้นและไปยับยั้งการเกิดโคอะเซอร์เวชัน ด้วยเหตุนี้ ทั้งกัมอะคาเซีย และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจึงสามารถมีปฏิสัมพันธ์ (complexation) กับเจลาตินได้ค่อนข้างต่ำ และส่วนใหญ่ยังคงละลายอยู่ในส่วนผสม นอกจากนี้ค่าพีเอชอื่น ๆ ที่ไม่เหมาะสมอาจก่อให้เกิดการเสียสภาพของระบบอิมัลชันขึ้น หรือเกิดการรวมตัวกันของหยดน้ำมันกลายเป็นอนุภาคใหญ่ขึ้น ซึ่งขึ้นของสารห่อหุ้มที่บางกว่าจะหุ้มหยดน้ำมันขนาดใหญ่ไม่ไหวและง่ายต่อการสลาย จึงสามารถห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยไว้ได้น้อยกว่า การเกิดโครงสร้างดังกล่าวอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลและปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดน้อยลง ในขณะที่เดียวกันเมื่อเพิ่มค่าพีเอชขึ้นเป็น 4.0 สำหรับกัมอะคาเซีย หรือเพิ่มเป็น 3.5 สำหรับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจะก่อให้เกิดสภาพสมดุลของประจุบวกและลบขึ้น ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) ระหว่างระบบสารห่อหุ้มทั้ง GE-AG และ GE-CMC ขึ้น และเชื่อมต่อกันรอบ ๆ หยดน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ได้อย่างแข็งแรง (insoluble protein-polysaccharide complex) และในปริมาณมากกว่า ดังนั้นไมโครแคปซูลที่มีหลายแกน (multicore microcapsule) และสามารถละลายกลับได้ยากกว่าที่ค่าพีเอชอื่น ๆ จึงให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดมากกว่า

ประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชัน

ประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชัน สามารถคำนวณได้จากปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมด และปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่พื้นผิวไมโครแคปซูล ซึ่งผลการวิจัยที่ได้พบว่า ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่พื้นผิวอยู่ในช่วง 101.67 – 132.33 และ 114.50 – 117.17 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อคำนวณประสิทธิภาพไมโครเอนแคปซูเลชันแล้วจะได้ผลลัพธ์ตามที่แสดงดังภาพที่ 3 (c) โดยพบว่า ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชันอยู่ในช่วงร้อยละ 54.61 – 82.72 และ 55.00 – 81.32 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับที่รายงานโดย Jun-xia *et al.* (2011) ทั้งนี้ประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชันของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตได้จาก GE-AG มีค่าสูงขึ้นตามค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) และมีค่าสูงสุด (ร้อยละ 82.72) ที่พีเอช 4.0 ขณะที่ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตโดยใช้ GE-CMC ให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งการเพิ่มพีเอชให้สูงขึ้นจาก 3.0 เป็น 3.5 ส่งผลให้ประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชันสูงขึ้น ($p \leq 0.05$) แต่การเพิ่มพีเอชจาก 3.5 เป็น 4.0 ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามแม้ว่าไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตได้จากทั้ง 2 พีเอช จะมีประสิทธิภาพเอนแคปซูเลชันสูงไม่แตกต่างกัน แต่หากพิจารณาย้อนกลับไปที่ปริมาณผลผลิตและปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดจะเห็นได้ว่าไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ที่ผลิตได้จาก GE-CMC ที่พีเอช 3.5 ให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพัทธ์ทั้งหมดสูงกว่าที่พีเอช 4.0 ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าค่า

พีเอชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคโคเซอร์เวชันโดยใช้ GE-AG และ GE-CMC เป็นสารห่อหุ้ม คือ พีเอช 4.0 และ 3.5 ตามลำดับ

Table 2 Surface orange essential oil content of microcapsules

Fixed factors	Variable factors	GE-AG (mg/g FW)	GE-CMC (mg/g FW)
Core : wall ratio 1:2 (w/w)	pH 3.0	101.67 ± 2.36	115.83 ± 11.51
	pH 3.5	132.33 ± 3.79	117.17 ± 15.59
	pH 4.0	119.83 ± 8.02	114.50 ± 11.91
pH 3.5 for GE-CMC or pH 4.0 for GE-AG	Core : wall ratio 1:1 (w/w)	111.67 ± 3.06	126.50 ± 06.06
	Core : wall ratio 1:2 (w/w)	90.67 ± 3.33	108.83 ± 01.26
	Core : wall ratio 1:4 (w/w)	101.83 ± 2.84	78.50 ± 03.77

Data shows the average ± standard deviation of the triplicate (n = 3)

สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล

ภาพที่ 4 แสดงลักษณะโครงสร้างไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC ในสภาวะที่ใช้ค่าพีเอชแตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า โดยพบว่าที่พีเอช 3.0 โครงสร้างของไมโครแคปซูลส่วนใหญ่ที่ผลิตได้จากทั้ง GE-AG และ GE-CMC มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ไม่มีการก่อตัวของผนังไมโครแคปซูลที่หนา ซึ่งเป็นไปได้ที่ลักษณะของไมโครแคปซูลที่สังเกตเห็นจะเป็นเพียงชั้นบาง ๆ ของเจลาตินและโพลีแซ็กคาไรด์ล้อมรอบหยดน้ำมัน (ตำแหน่งที่หัวลูกศรชี้) และอนุภาคทรงกลม (ที่เกิดขึ้นจากแรงเฉือนจากการกวน) ของเจลาตินและโพลีแซ็กคาไรด์ที่ไม่มีหยดน้ำมันอยู่ภายใน ซึ่งในลักษณะหลังเป็นไปได้ว่ามีสาเหตุมาจากการคลายตัวของโครงสร้างพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด ที่มีสภาพเป็นประจุบวกจำนวนมาก ส่งผลให้น้ำภายนอกแทรกตัวเข้าไปสู่อิโคโนแคปซูลและขยายตัวใหญ่ขึ้น สำหรับที่พีเอช 3.5 และ 4.0 โครงสร้างไมโครแคปซูลส่วนใหญ่ที่ผลิตได้จาก GE-AG มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงความหนาแน่นของจำนวนหยดน้ำมันภายในไมโครแคปซูลที่พีเอช 4.0 มีจำนวนที่แน่นกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากชั้นของสารห่อหุ้ม GE-AG ก่อตัวได้ดีที่พีเอช 4.0 จึงส่งผลให้อันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างสารห่อหุ้มแข็งแรงและสามารถห่อหุ้มหยดน้ำมันได้ดีกว่า โดยคาดว่าที่พีเอช 3.5 ชั้นของสารห่อหุ้มอาจไม่แข็งแรง หยดน้ำมันที่ติดกันจึงง่ายที่จะเกิดการเสียสภาพและนำไปสู่การรวมตัวกันกลายเป็นที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Ivanov *et al.*, 1999) ทำให้ดูเหมือนมีความหนาแน่นของจำนวนมากกว่า ในขณะที่โครงสร้างของไมโครแคปซูลส่วนใหญ่ที่ผลิตได้จาก GE-CMC มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันทั้งที่ผลิตได้จากพีเอช 3.5 และ 4.0 ถ้าเปรียบเทียบบลักษณะไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC พบว่าโครงสร้างไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-CMC ดูมีขนาดใหญ่กว่า GE-AG และมีขนาดของชั้นสารห่อหุ้มที่หนากว่าอย่างเห็นได้ชัดในทั้ง 2 ค่าพีเอช

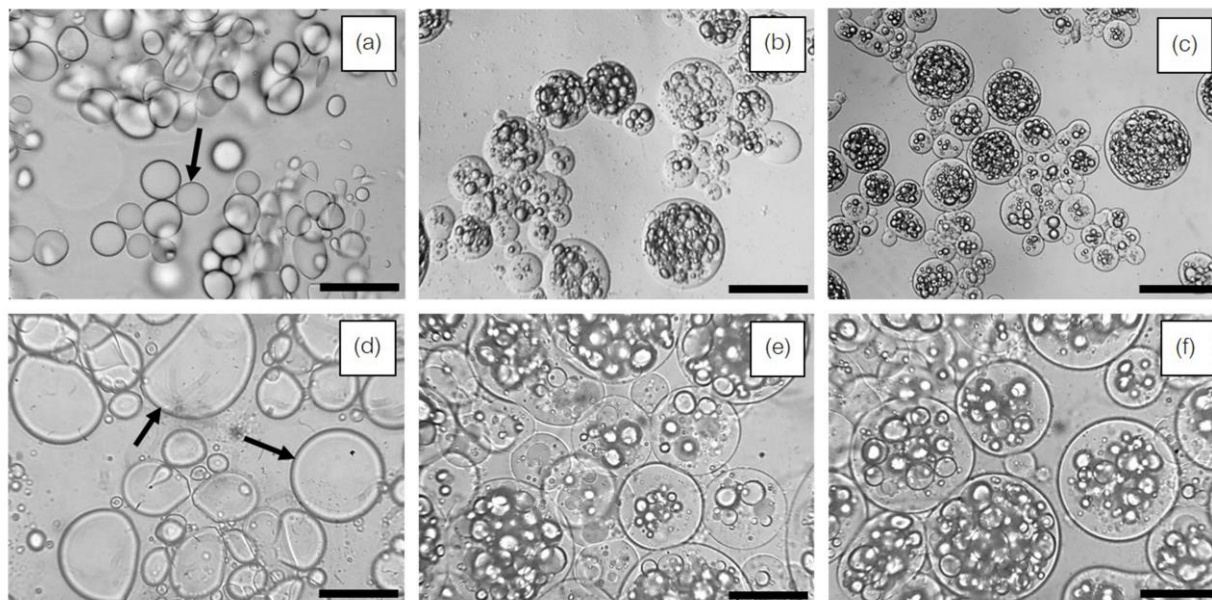


Figure 4 Microcapsules produced using GE-AG at pH 3.0 (a), 3.5 (b), and 4.0 (c) and GE-CMC at pH 3.0 (d), 3.5 (e), and 4.0 (f) under optical microscope 40× magnification. Each bar indicates 1000 μ m.

2. ผลของสารห่อหุ้มและอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่มีต่อการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม

ปริมาณผลผลิต

ค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดที่ทราบจากการศึกษาแรก คือ พีเอช 3.5 และ 4.0 สำหรับใช้ผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มโดยใช้ GE-AG และ GE-CMC ตามลำดับ ถูกใช้เพื่อผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มในการศึกษานี้ ซึ่งผลของสารห่อหุ้มและอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มที่มีต่อปริมาณผลผลิต ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้ม และประสิทธิภาพของแคปซูลชั้นแสดงดังภาพที่ 5 โดยปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 43.77 – 49.11 และ 46.64 – 55.19 ตามลำดับ (ภาพที่ 5 (a)) ทั้งนี้การเพิ่มอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-AG ($p > 0.05$) ในขณะที่การเพิ่มอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มจาก 1:1 เป็น 1:4 ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-CMC เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ถ้าเปรียบเทียบระหว่างสารห่อหุ้มทั้ง 2 ระบบ ที่ใช้ผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม พบว่าการใช้อัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม 1:1 และ 1:2 ในการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มให้ปริมาณผลผลิตใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) ยกเว้นเพียงอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม 1:4 ที่ GE-CMC ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่า GE-AG ($p < 0.05$) ทั้งนี้ ผลการวิจัยที่ได้แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้มจาก 1:1 เป็น 1:4 ส่งผลให้ไมโครแคปซูลที่เตรียมได้จาก GE-CMC สามารถห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยส้มได้ในปริมาณมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความเข้มข้นที่สูงกว่าของเจลาตินช่วยส่งผลให้เกิดระบบอิมัลชันที่แข็งแรงกว่า โดยเป็นที่ทราบดีว่าที่อุณหภูมิคงที่หนึ่ง ๆ ความหนืดจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาตินที่สูงขึ้น (Schrieber, 1976) และช่วยให้เกิดระบบอิมัลชันที่คงตัวมากขึ้น ในขั้นตอนการปั่นที่ความเร็ว 3200 รอบ/นาที จึงลดการสลายของระบบอิมัลชันภายหลังจากขั้นตอนย้ายมาปั่นที่ความเร็วต่ำกว่า เมื่อเติมสารละลายโพลีแซ็กคาไรด์ลงไปจึงไปช่วยห่อหุ้มระบบอิมัลชันชั้นแรกไว้ด้วยการพันล้อมรอบและเกิด

อันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับเจลาตินเมื่อปรับค่าพีเอช จนกระทั่งสุดท้ายกลายเป็นไมโครแคปซูลที่มีผนังหนาขึ้น และมีปริมาณผลผลิตมากขึ้น

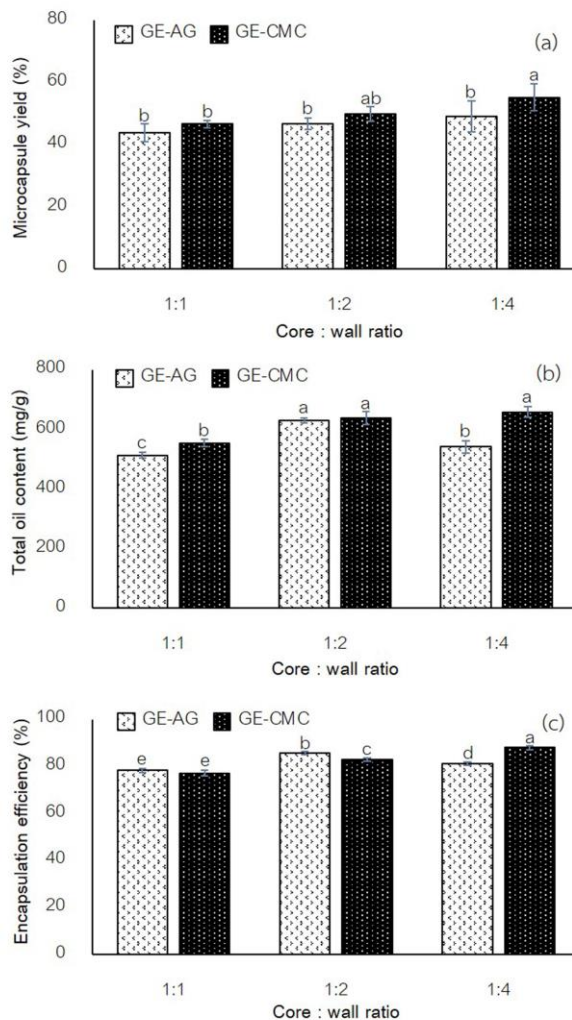


Figure 5 Microcapsule yield (a), total oil content (b), and encapsulation efficiency (c) of orange essential oil microcapsules produced using different wall materials and pH values

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด

สำหรับปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด ผลการวิจัยที่ได้แสดงดังภาพที่ 5 (b) โดยไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดอยู่ในช่วง 512.83 – 630.50 และ 553.67 – 657.17 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ทั้งนี้ไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-AG มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนสารห่อหุ้มขึ้นจาก 1:1 เป็น 1:2 แต่ในทางตรงข้าม การใช้อัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม 1:4 กลับลดปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดลง ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมดสูงสุด (630.50 มิลลิกรัม/

กรัม น้ำหนักสด) เมื่อใช้อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:2 การลดลงของปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ทั้งหมดคาดว่าเป็นผลมาจากความหนาของชั้นสารหอมที่อาจเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่ออัตราส่วนของสารหอมเพิ่มขึ้นจาก 1:2 เป็น 1:4 และไปลดสัดส่วนของปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่อยู่ในไมโครแคปซูลลง ทั้งนี้ Dong *et al.* (2011) รายงานว่า การเพิ่มอัตราส่วนของสารแทน ส่งผลให้ความหนาของชั้นสารหอมของไมโครแคปซูลน้ำมันเปปเปอร์มินต์ (peppermint oil) ลดลง และก่อให้เกิดไมโครแคปซูลที่มีขนาดอนุภาคและสัดส่วนของปริมาณน้ำมันที่ถูกห่อหุ้มอยู่ในเพิ่มขึ้น (Dong *et al.*, 2007) สำหรับปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จาก GE-CMC พบว่าการใช้อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:2 (637.83 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด) และ 1:4 (657.17 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด) ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่สูงกว่าที่ได้จากอัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:1 ($p < 0.05$) ถ้าเปรียบเทียบระหว่างสารหอมทั้ง 2 ระบบ ที่ใช้ผลิตไมโครแคปซูลภายใต้อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอมที่ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ทั้งหมดสูงสุด พบว่าทั้ง GE-AG และ GE-CMC ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชัน

ผลการวิจัยที่ได้แสดงดังภาพที่ 5 (c) โดยพบว่า ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตได้จาก GE-AG และ GE-CMC มีประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันอยู่ในช่วง ร้อยละ 78.22 – 85.61 และ 77.14 – 88.04 ตามลำดับ ทั้งนี้ประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชัน ของไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตได้จาก GE-AG มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนสารหอมเพิ่มขึ้นจาก 1:1 เป็น 1:2 ในทางตรงข้าม การใช้อัตราส่วนของสารแทนต่อสารหอม 1:4 กลับลดประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันลง ($p < 0.05$) โดยมีประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงสุด (ร้อยละ 85.61) ที่อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:2 สำหรับไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตโดยใช้ GE-CMC ให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกัน โดยพบว่าประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนสารหอม ($p < 0.05$) โดยมีประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงสุด (ร้อยละ 88.04) ที่อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:4 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารหอมทั้ง 2 ระบบ ที่ผลิตโดยใช้อัตราส่วนของสารแทนต่อสารหอมที่ให้ประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงสุด พบว่าไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตได้จาก GE-CMC ให้ประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงกว่า GE-AG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากผลการวิจัยที่ได้พบว่าประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันขึ้นอยู่กับสารหอมและอัตราส่วนสารแทนต่อสารหอมที่เลือกใช้ สภาวะการผลิตไมโครแคปซูลที่ให้ประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงกว่าควรถูกพิจารณาว่าเหมาะสมมากกว่า โดยไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตจาก GE-CMC ที่อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:4 มีประสิทธิภาพเอนแคปซูลเลชันสูงกว่า GE-AG ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นผลมาจากโครงสร้างสายกิ่ง (branched chain) ของกัมอะคาเซียที่อาจสามารถจัดเรียงตัวได้ไม่เป็นระเบียบเท่ากับโครงสร้างสายตรงของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเป็นไปได้ที่สายกิ่งบางส่วนของกัมอะคาเซียจะไปเกาะเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่กระจายอยู่นอกหอดิอัลซิส สามารถเห็นได้ชัดจากปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่พื้นผิวไมโครแคปซูล (ตารางที่ 2) โดยไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่ผลิตจาก GE-AG ที่อัตราส่วนสารแทนต่อสารหอม 1:4 มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่พื้นผิวไมโครแคปซูลค่อนข้างสูงกว่าที่ผลิตได้จาก GE-CMC ทั้งนี้ เงื่อนไขสำคัญที่เหมาะสมสำหรับนำไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ไปประยุกต์ใช้เคลือบเฉพาะจุดบนบรรจุภัณฑ์อาหาร คือ ควรมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่พื้นผิวดำ เนื่องจากต้องการเคลือบไมโครแคปซูลบนบรรจุภัณฑ์อาหารและปลดปล่อยกลิ่นหอมเมื่อมีการขูดที่บริเวณเคลือบเท่านั้น ดังนั้นปริมาณน้ำมันหอมระเหยสัมพันธ์ที่พื้นผิวมากกว่าอาจรบกวนการรับรู้กลิ่นหอมได้

สัณฐานวิทยาของไมโครแคปซูล

สำหรับไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จากทุกสภาวะ มีลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นทรงกลม (spherical shape) ซึ่งบรรจุด้วยอิมัลชันน้ำมันขนาดเล็กที่ถูกห่อหุ้มอยู่ใน โดยมียังมีจำนวนอิมัลชันน้ำมันตั้งแต่หนึ่งหยด หรือหนึ่งแกนขึ้นไป แต่จากการสังเกตเห็นพบว่าไมโครแคปซูลส่วนใหญ่มีหลายแกน ซึ่งจัดอยู่ในรูปแบบที่เรียกว่า “มัลติคอร์ไมโครแคปซูล” (multicore microcapsule) (ภาพที่ 6) และลักษณะไมโครแคปซูลที่คล้ายกันนี้สามารถพบได้ในงานวิจัยอื่น ๆ ด้วยเช่นกัน (Jun-xia *et al.*, 2011; Dong *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามไมโครแคปซูลกลิ่นหอมที่ผลิตด้วยวิธีการเหมือนกัน แต่ให้ลักษณะไมโครแคปซูลที่แตกต่างกัน ถูกแสดงในรายงานวิจัยของ Leclercq *et al.* (2009) ที่ห่อหุ้มลิโมนีน (limonene) และเมนทอล (menthol) โดยมีลักษณะเป็นโมโนคอร์ไมโครแคปซูล (monocore microcapsule) นอกจากนี้สิ่งที่สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนคือขนาดของไมโครแคปซูล ความหนาของชั้นสารห่อหุ้ม ขนาดของอิมัลชันน้ำมัน และจำนวนของอิมัลชันน้ำมัน ซึ่งประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายเท่ากัน พบว่าไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จาก GE-CMC มีจำนวนของอนุภาคขนาดใหญ่ มีชั้นของสารห่อหุ้ม และขนาดของอิมัลชันมากกว่า GE-AG อย่างเห็นได้ชัด แต่มีจำนวนของอิมัลชันน้ำมันบรรจุอยู่น้อยกว่า

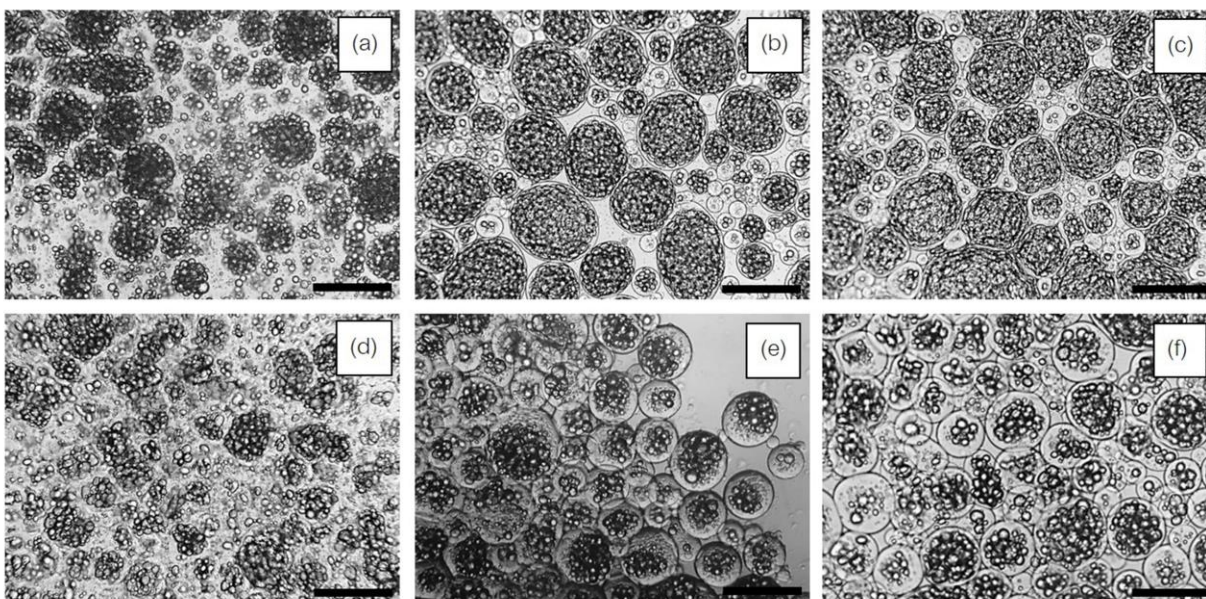


Figure 6 Microcapsules produced using GE-AG at core : wall ratio 1:1 (a), 1:2 (b), and 1:4 (c) and GE-CMC at core : wall ratio 1:1 (d), 1:2 (e), and 1:4 (f) under optical microscope 40× magnificant. Each bar indicates 1000 μ m.

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องของการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มด้วยวิธีคอมเพล็กซ์โคอะเซอร์เวชันทั้ง 3 ปัจจัย คือ สารห่อหุ้ม พีเอช และอัตราส่วนสารแกนต่อสารห่อหุ้ม ล้วนส่งผลต่อคุณภาพของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้ โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มจาก GE-AG และ GE-CMC คือ 4.0 และ 3.5

ตามลำดับ และอัตราส่วนสารแทนต่อสารหอมที่ผสมที่สุดสำหรับใช้ผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มจาก GE-AG และ GE-CMC คือ 1:2 และ 1:4 ตามลำดับ สภาวะดังกล่าวให้ปริมาณผลผลิต ปริมาณน้ำมันหอมระเหยส้มทั้งหมด และประสิทธิภาพเอนแคปซูลเข้มข้นข้างสูง เมื่อเทียบกับที่ผลิตได้จากสภาวะอื่น ๆ นอกจากนี้ไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จากทุก ๆ สภาวะ มีลักษณะเป็นทรงกลมที่บรรจุไปด้วยกลุ่มของอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยส้มจำนวนมาก ซึ่งจัดอยู่ในรูปแบบมัลติคอร์ไมโครแคปซูล โดย GE-CMC ให้ชั้นสารหอมของไมโครแคปซูลหนากว่าแต่ให้ขนาดอนุภาคใหญ่กว่า GE-AG อย่างเห็นได้ชัด จากผลการวิจัยที่ได้สามารถสรุปได้ว่า GE-CMC เป็นระบบสารหอมที่ดีที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพเอนแคปซูลเข้มข้นสูงสุด จึงเหมาะที่จะใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้ม โดยการศึกษาดังกล่าว ไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยส้มที่ผลิตได้จะนำไปผสมสารเคลือบ แล้วทำการเคลือบลงบนตำแหน่งภาควัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อนด้วยน้ำส้ม ซึ่งเป็นตัวอย่างของผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส้มเป็นส่วนประกอบ แล้วใช้ข้อความว่า “Scratch and sniff” เพื่อเชิญชวนให้ผู้บริโภคมีส่วนร่วมในการสัมผัสประสบการณ์ด้านกลิ่นของสินค้าภายใน ด้วยการขูด (Scratch) ให้ผนังไมโครแคปซูลแตกออก แล้วสูดดมกลิ่น (Sniff) โดยไม่จำเป็นต้องเปิดบรรจุภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

- Bauer, K., Garbe, D., & Surburg, H. (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials*, 4th Ed, Wiley VCH.
- Braun, L., & Cohen, M. (2007). *Herbs and natural supplements. An evidence-based guide*. Australia: Elsevier.
- Burgess, D. J., & Carless, J. E. (1984). Microelectrophoretic studies of gelatin and acacia for the prediction of complex coacervation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 98(1), 1 - 8.
- De Kruif, C. G., Weinbreck, F., & de Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9, 340–349.
- Devi, N., Hazarika, D., Deka, C., & Kakati, D. K. (2012). Study of complex coacervation of gelatin A and sodium alginate for microencapsulation of olive oil. *Journal of Macromolecular Science, Part A. Pure and Applied Chemistry*, 49, 936–945.
- Devi, N., & Maji, T. K. (2011). Study of complex coacervation of gelatin A with sodium carboxymethyl cellulose: microencapsulation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil (NSO). *International Journal of Polymeric Materials*, 60, 1091-1105.
- Dong, Z. J., Touré, A., Jia, C. S., Zhang, X. M., & Xu, S. Y. (2007). Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 24(7), 634–646.
- Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S., & Zhang, X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 104, 455–460.
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22, 896–902.

- Espinosa-Andrews, H., Baez-Gonzalez, J. G., Cruz-Sosa, F., & Vernon-Carter, E. J. (2007). Gum Arabic–chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*, 8(4), 1313–1318.
- Fernandes, R. V. B., Borges, S. V., Botrel, D. A., Silva, E. K., da Costa, J. M. G., & Queiroz, F. (2013). Microencapsulation of rosemary essential oil: Characterization of particles. *Drying Technology*, 31, 1245–1254.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7–8), 330–347.
- Intrungsi, A. (2016). *Visual Communication Design and Brand Building*. Bangkok: O.S. Printing House Co., Ltd. (in Thai)
- Ivanov, I. B., Danov, K. D., & Kralchevsky, P. A. (1999). Flocculation and coalescence of micron-size emulsion droplets. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 152, 161–182.
- Jun-xia, X., Hai-yan, Y., & Jian, Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, 125, 1267-1272.
- Koh, G. L., & Tucker, I. G. (1988). Characterization of sodium carboxymethylcellulose-gelatin complex coacervation by chemical analysis of the coacervate and equilibrium fluid phases. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 40(5), 309–312.
- Leclercq, S., Harlander, K. R., & Reineccius, G. A. (2009). Formation and characterization of microcapsules by complex coacervation with liquid or solid aroma cores. *Flavour and Fragrance Journal*, 24, 17–24.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1-21.
- Schrieber, R. (1976). Edible gelatin: Types, properties, use and applications in the food industry. *Gordian*. 356–364.
- Tao, N. G., Liu, Y. J., & Zhang, M. L. (2009). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1281-1285.
- Thimma, R. T., & Tammishetti, S. (2003). Study of complex coacervation of gelatin with sodium carboxymethyl guar gum: microencapsulation of clove oil and sulphamethoxazole. *Journal of Microencapsulation*, 20, 203-210.
- Turgeon, S. L., Schmitt, C., & Sanchez, C. (2007). Protein–polysaccharide complexes and coacervates. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12(4–5), 166–178.
- Velázquez-Nuñez, M. J., Avila-Sosab, R., Paloua, E., & López-Malo, A. (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, 31(1), 1-4.

- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, 19(12), 1130–1138.
- Xie, W., Xu, P., & Liu, Q. (2001). Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11, 1699–1701.
- Yang, Z. M., Peng, Z., Li, J. H., Li, S. D., Kong, L. X., Li, P. W., & Wang, Q. H. (2014). Development and evaluation of novel flavor microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. *Food Chemistry*, 145, 272-277.