

ผลของการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา *Ocimum sanctum* Linn. ด้วยบีตา-
ไซโคลเดกซ์ทรินต่อคุณภาพและความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่น



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF HOLY BASIL *Ocimum Sanctum* Linn. ESSENTIAL OIL USING BETA-CYCLODEXTRINS ON QUALITY AND VOLATILE AROMA COMPOUNDS STABILITY



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology

Department of Food Technology

FACULTY OF SCIENCE

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา <i>Ocimum sanctum</i> Linn. ด้วยบีตา-ไซโคลเดกซ์ทรีนต่อคุณภาพและความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่น
โดย	น.ส.วันทนี น้อยจินดา
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์)

วันทนิย์ น้อยจินดา : ผลของการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา *Ocimum sanctum* Linn. ด้วยบีตา-ไซโคลเดกซ์ทรินต่อคุณภาพและความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่น. (EFFECTS OF HOLY BASIL *Ocimum Sanctum* Linn. ESSENTIAL OIL USING BETA- CYCLODEXTRINS ON QUALITY AND VOLATILE AROMA COMPOUNDS STABILITY) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.อินทวรุธ สรรพพรสถิตย์

น้ำมันหอมระเหยกะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) มีองค์ประกอบที่เป็นสารระเหยให้กลิ่น จัดอยู่ในกลุ่มโมโนเทอร์พีน โมโนเทอร์พีนอยด์ พิซิลิโพรพานอยด์ เซสควิเทอร์พีน และ เซสควิเทอร์พีนออกไซด์ นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางเพื่อให้เกิดกลิ่นเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์ แต่อย่างไรก็ตามสารระเหยให้กลิ่นส่วนใหญ่ไม่คงตัวและระเหยได้ง่ายเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปหรือเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน ประกอบกับน้ำมันหอมระเหยมีสมบัติในการละลายน้ำที่ไม่ดี จึงมีการใช้เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation) ด้วยบีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD) เกิดเป็นสารประกอบอินคลูชัน ช่วยให้สารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยมีความคงตัวมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราต่อความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญเมื่อผ่านการให้ความร้อนและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน ในขั้นต้น ศึกษาองค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบสารระเหยให้กลิ่นหลัก คือ β -caryophyllene (19,443 ppm), eugenol (16,280 ppm) และ methyl eugenol (8,140 ppm) และสารระเหยให้กลิ่นสำคัญจากการคำนวณค่า odor activity value (OAV) คือ eugenol (1,662,224), linalool (1,462,500), eucalyptol (527,333), β -caryophyllene (303,797), copaene (139,166), methyl eugenol (119,705) และ estragole (115,250) หลังจากนั้นศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของสารประกอบอินคลูชัน β -CD เพื่อเลือกอัตราส่วน (สัดส่วนโดยโมลของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD) ที่เหมาะสม พบว่าที่อัตราส่วน 1:5 มีปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้ม (EY) และประสิทธิภาพในการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหย (EE) สูงที่สุดคือ 59.72% และ 57.01% ตามลำดับ ในขณะที่มีค่าความสามารถในการบรรจุน้ำมันหอมระเหย (LC) คือ 8.25% และความสามารถในการละลายน้ำ 20.50% ซึ่งแตกต่างกับค่าการละลายของ β -CD ปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อตรวจสอบสมบัติทางเคมีกายภาพของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค thermo gravimetry analysis (TGA) และวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) พบว่าสารประกอบอินคลูชัน β -CD ส่งผลให้น้ำมันหอมระเหยกะเพราเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพ โดย β -CD จะทำหน้าที่เป็นสารห่อหุ้มที่กักเก็บโมเลกุลของสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยไว้ที่โพรงภายในได้ เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 ให้ผลดีที่สุด โดยมีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกับ β -CD ปกติ จึงเลือกสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนนี้มาศึกษาในขั้นต่อไป โดยศึกษาองค์ประกอบและปริมาณสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน พบสารระเหยให้กลิ่นหลัก คือ eugenol (1,004 ppm), methyl eugenol (662 ppm) และ β -caryophyllene (501 ppm) รวมถึงสารระเหยให้กลิ่นสำคัญจากการคำนวณ OAV คือ eugenol (102,448), eucalyptol (80,000), linalool (17,500), methyl eugenol (9,735), β -caryophyllene (7,828), estragole (3,500) และ copaene (3,500) ซึ่งพบว่าสารระเหยให้กลิ่นสำคัญเหล่านี้เมื่ออยู่ในรูปของสารประกอบอินคลูชัน β -CD จะมีความคงตัวต่อความร้อนและการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าน้ำมันปกติ และผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ทดสอบสามารถรับรู้กลิ่นน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือนได้ดี ดังนั้นเทคนิคการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วย β -CD จึงช่วยให้สารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีความคงตัวต่อความร้อนและการเก็บรักษา ด้วยคุณสมบัตินี้ทำให้สารประกอบอินคลูชัน β -CD สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างหลากหลาย

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6072217423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: holy basil, essential oil, beta-cyclodextrin, encapsulation, inclusion complex

Wantanee Noichinda : EFFECTS OF HOLY BASIL *Ocimum Sanctum* Linn. ESSENTIAL OIL USING BETA-CYCLODEXTRINS ON QUALITY AND VOLATILE AROMA COMPOUNDS STABILITY. Advisor: Asst. Prof. INTHAWOOT SUPPAVORASATTI, Ph.D.

Holy basil (*Ocimum sanctum* Linn.) essential oil contains various groups of volatile compounds, including monoterpene, monoterpene, phenylpropanoid, sesquiterpene and sesquiterpenoid, which are popular and used as characteristic flavorings for foods and beverages. However, most of volatile compounds are not stable during processing or long time storage. Moreover, solubility in water of essential oil is not good. Encapsulation technique using beta-cyclodextrin (β -CD) are claimed that can cause inclusion complex which can increase essential oil stability. The objective of this study was to study the effect of inclusion complex formation between β -CD and holy basil essential oil on its stability during thermal processing and 3 months storage. Firstly, identification of major volatile components in holy basil essential oil was performed by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). β -caryophyllene (19,443 ppm), eugenol (16,280 ppm) and methyl eugenol (8,140 ppm) were identified as the major components. In addition, eugenol (1,662,224), linalool (1,462,500), eucalyptol (527,333), β -caryophyllene (303,797), copaene (139,166), methyl eugenol (119,705) and estragole (115,250) were potent odorants based on odor activity value (OAV) calculation. The appropriate inclusion complex ratio of 1:5 (holy basil essential oil: β -CD) was chosen by physicochemical properties of microcapsule. It was found that the ratio of 1:5 showed highest encapsulation yield (EY) and efficiency (EE), which were 59.72% and 57.01%, respectively. However, loading capacity (LC) was 8.25% and solubility was 20.50%, that was significantly difference when compared with β -CD. Moreover, the physicochemical properties and functional groups on the microcapsules were evaluated by thermo gravimetry analysis (TGA) and fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), respectively. The result showed that the holy basil essential oil was well encapsulated in the cavity of β -CD. Results from scanning electron microscopy (SEM) indicated that the inclusion sample at a ratio of 1:5 showed high quality capsules. The particle size and shape of inclusion complex samples were changed from pure β -CD. In addition, the major volatile compounds that found in inclusion complex were eugenol (1,004 ppm), methyl eugenol (662 ppm) and β -caryophyllene (501 ppm). The potent odorants calculated by OAV were eugenol (102,448), eucalyptol (80,000), linalool (17,500), methyl eugenol (9,735), β -caryophyllene (7,828), estragole (3,500) and copaene (3,500). Besides, the inclusion complex improved thermal stability and showed longer period storage than essential oil. Sensory evaluation indicated that panelists could perceive characteristic of holy basil odor in 3 months storage. the inclusion complex sample. So, the β -CD encapsulation could improve physicochemical properties and stability of holy basil essential oil which can be used in various food industries.

Field of Study: Food Technology

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช (CU_GR_62_82_23_31) และทุนอุดหนุนการศึกษา โดย ทุนวิทยบัณฑิต และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อินทาวุธ สรรพพรสถิตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูงที่ให้แนวคิดงานวิจัย คำแนะนำในด้านวิชาการ และคำแนะนำในการใช้ชีวิต

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศิริมา พ่วงประพันธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ซาลีดา บรมพิชัยชาติกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พชรภรณ์ ถิ่นจันทร์ ที่ให้ความกรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังให้คำแนะนำ ทั้งด้านวิชาการและด้านอื่น ๆ รวมทั้งตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวก การให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ต่างๆ ขอขอบคุณเพื่อนๆ ในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต และพี่ๆ ในหลักสูตรปริญญาคุษฏีบัณฑิตทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ ดูแล รวมทั้งให้กำลังใจเพื่อฝ่าฟันอุปสรรคต่างๆ ผู้ทำวิจัยจะไม่สามารถทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงได้ หากไม่มีทุกท่านคอยช่วยเหลือ

วันทนีย์ น้อยจินดา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 กะเพรา (holy basil).....	3
2.1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์	3
2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา	5
2.1.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา	8
2.1.4 การใช้ น้ำมันหอมระเหยกะเพราในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง	8
2.1.5 ความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา.....	9
2.2 เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation).....	12
2.3 บีตา-ไซโคลเดกซ์ทรีน* (beta-cyclodextrin; β -CD).....	13
2.4 สารประกอบอินclusion (inclusion complex).....	16
2.5 การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying).....	17
2.5.1 การฉีดพ่นของเหลวให้เป็นละอองฝอย.....	17
2.5.2 การสัมผัสระหว่างของเหลวกับอากาศร้อน.....	17
2.5.3 การระเหยของน้ำ.....	18
2.5.4 การแยกผลิตภัณฑ์ที่เป็นผงออกจากระบบทำแห้ง	18
2.6 การใช้สารประกอบอินclusion.....	19

2.6.1 การเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยด้วยอินคลูชันคอมเพลกซ์ของไซโคลเดกซ์ทริน	21
2.6.1.1 ป้องกันการสูญเสียของสารระเหยให้กลิ่นจากความร้อน รังสี และกระบวนการ ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	21
2.6.1.2 ควบคุมการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย	21
2.6.1.3 ปรับปรุงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ	22
2.6.1.4 ปรับปรุงสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์	22
2.6.2 การปรับปรุงคุณสมบัติด้านการละลายของน้ำมันหอมระเหย	22
2.6.3 การควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย	23
บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีดำเนินงานวิจัย	24
3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมี และ อุปกรณ์	24
3.1.1 วัตถุประสงค์	24
3.1.2 สารเคมี	24
3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์	25
3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย	26
3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหย กะเพราด้วยเทคนิค Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)	26
3.2.2 วิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา	27
3.2.3 การเตรียมสารประกอบอินคลูชัน β -CD	27
3.2.4 การศึกษาผลของการเกิดสารประกอบอินคลูชันของปีตาไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD)	28
3.2.4.1 การหาค่าผลผลิตในการห่อหุ้ม (encapsulation yield; EY)	28
3.2.4.2 การหา encapsulation efficiency (EE) และ loading capacity (LC)	28
3.2.4.3 การหาความสามารถในการละลาย (solubility index)	28
3.2.4.4 การหาปริมาณความชื้น โดยวิธี air oven method	28

3.2.4.6 การศึกษาสมบัติของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค Thermo gravimetry analysis (TGA)	29
3.2.4.7 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	29
3.2.4.8 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)	29
3.2.5 การศึกษาสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD	29
3.2.5.1 การศึกษาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD..	29
3.2.5.2 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อน (heat stability) ของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	30
3.2.5.3 การจำลองระยะเวลาการเก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันต่อความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญ.....	30
3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	31
บทที่ 4 ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง.....	32
4.1 องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา	32
4.2 ปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้ม (encapsulation yield) ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD....	36
4.3 ประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย (encapsulation efficiency; EE) และความสามารถในการบรรจุน้ำมันหอมระเหย (loading capacity; LC) ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	37
4.4 ความสามารถในการละลาย (solubility)	41
4.5 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค thermo gravimetry analysis (TGA).....	42
4.6 ปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	46
4.7 ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	47
4.8 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM)	49

4.9 ปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD	52
4.10 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อน (heat stability) ของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญใน สารประกอบอินคลูชัน β -CD	58
4.11 ระยะเวลาการเก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันต่อความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญ	62
4.11.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β - CD	63
4.11.2 การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของกลิ่นน้ำมันหอมระเหยกะเพราใน สารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	65
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	72
5.1 สรุปผลการทดลอง	72
บรรณานุกรม.....	74
ภาคผนวก.....	87
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์	88
ภาคผนวก ข ตารางเพิ่มเติม	97
ภาคผนวก ค การทดสอบทางประสาทสัมผัส.....	100
ภาคผนวก ง Mass spectrum.....	104
ภาคผนวก จ หนังสืออนุญาตใช้บทความเพื่อประกอบวิทยานิพนธ์	111
ประวัติผู้เขียน.....	112

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1	relative peak area ของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี SDE.....	6
ตารางที่ 2.2	สมบัติทางเคมีกายภาพของ α -CD, β -CD และ γ -CD.....	15
ตารางที่ 2.3	การปรับปรุงสมบัติของน้ำมันหอมระเหยเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันกับ CDs .	20
ตารางที่ 4.1	องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา.....	34
ตารางที่ 4.2	ปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยกะเพราของสารประกอบอินคลูชัน.....	37
ตารางที่ 4.3	ความสามารถในการละลายของสารประกอบอินคลูชัน β -CD	42
ตารางที่ 4.4	ปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	46
ตารางที่ 4.5	ชนิดและปริมาณสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	54
ตารางที่ 4.6	คุณลักษณะ คำอธิบายลักษณะของกลิ่น ตัวอย่างอ้างอิงและระดับความเข้มข้นของตัวอย่างอ้างอิงสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างสารประกอบอินคลูชัน β -CD	66

สารบัญรูป

รูปที่ 2.1	ต้นกะเพรา (ก) ใบกะเพรา (ข) และดอกกะเพรา (ค).....	4
รูปที่ 2.2	โครงสร้างสารประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา.....	7
รูปที่ 2.3	ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ไส้กรอกกะเพรา (ก) ซีสมสมใบกะเพรา (ข) และ น้ำชาจากใบกะเพรา (ค)	9
รูปที่ 2.4	ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ β -caryophyllene	11
รูปที่ 2.5	รูปร่างและองค์ประกอบของแคปซูล.....	13
รูปที่ 2.6	โครงสร้าง 3 มิติ ของ β -CD	14
รูปที่ 2.7	โครงสร้างทางเคมีของ α , β and γ -CD.....	14
รูปที่ 2.8	การเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ eugenol ในน้ำมันหอมระเหย.....	17
รูปที่ 2.9	กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย	18
รูปที่ 4.1	chromatogram ของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา.....	32
รูปที่ 4.2	โครงสร้างโมโครแคปซูลของสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา..	38
รูปที่ 4.3	ประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย (EE) ของสารประกอบอินคลูชัน.....	39
รูปที่ 4.4	ความสามารถในการบรรจุน้ำมันหอมระเหย (LC) ของสารประกอบอินคลูชัน.....	40
รูปที่ 4.5	TGA ของ β -CD.....	42
รูปที่ 4.6	TGA ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา.....	43
รูปที่ 4.7	TGA ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1.....	43
รูปที่ 4.8	TGA ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:3.....	44
รูปที่ 4.9	TGA ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5.....	44
รูปที่ 4.10	FTIR สเปกตรัมของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (a), β -CD (b) และสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 (c) 1:3 (d) และ 1:5 (e).....	48

รูปที่ 4.11 ลักษณะทางสัณฐาน (กำลังขยาย 500X และ 1000X แทนสัญลักษณ์ 1 และ 2 ตามลำดับ) ของ β -CD (a) และสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 (b) 1:3 (c) และ 1:5 (d).....	51
รูปที่ 4.12 chromatogram ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	52
รูปที่ 4.13 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ eugenol.....	56
รูปที่ 4.14 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ methyl eugenol.....	56
รูปที่ 4.15 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ linalool.....	57
รูปที่ 4.16 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ limonene (a) methyl heptene carbonate (b).....	58
รูปที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงสารระเหยให้กลิ่นสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา eugenol (a), methyl eugenol (b), linalool (c), copaene (d), estragole (e) , β -caryophyllene (f) และ eucalyptol (g) ต่อความร้อนในสารประกอบอินคลูชัน β -CD.....	59
รูปที่ 4.18 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ β -caryophyllene.....	61
รูปที่ 4.19 caryophyllene oxide (h) ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราเมื่อได้รับความร้อน.....	62
รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือน.....	63
รูปที่ 4.21 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ β -caryophyllene.....	64
รูปที่ 4.22 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ estragole.....	65
รูปที่ 4.23 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสารประกอบอินคลูชันที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ.....	67

บทที่ 1

บทนำ

กลิ่นรส (flavor) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารในแง่ความพึงพอใจของผู้บริโภค อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มจึงให้ความสำคัญต่อกระบวนการผลิต การเก็บรักษา บรรจุภัณฑ์ และชนิดของวัตถุดิบในอาหาร ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงคุณภาพและปริมาณของกลิ่นรสที่อยู่ในอาหารนั้น ๆ การเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของอาหาร เช่น ไขมัน เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน มักส่งผลให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเกิดการลดลงหรือการจางลงของกลิ่น ในอุตสาหกรรมจึงมีการเติมสารให้กลิ่นรสลงไปเพิ่มเติมเพื่อลดปัญหาดังกล่าว โดยทั่วไปสมุนไพรหรือเครื่องเทศเป็นตัวเลือกสำคัญที่ใช้ให้กลิ่นรสในอาหาร เช่น กะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Labiatae มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ร้อยละ 0.35 (v/w) โดยมีองค์ประกอบสารระเหยให้กลิ่นหลัก ได้แก่ methyl eugenol, linalool, camphene, ocimol, chavinol, limonene, cineole และ caryophyllene (Pino และคณะ, 1994; Singhornart และคณะ, 2009) มีการนำน้ำมันหอมระเหยกะเพราไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มอย่างหลากหลาย เนื่องจากสามารถเพิ่มกลิ่นรสให้อาหารโดยตรง หรือเติมผสมร่วมกับเครื่องเทศและสมุนไพรชนิดอื่น ๆ (Tsiraki และ Savvaidis, 2013) อย่างไรก็ตาม น้ำมันหอมระเหยกะเพรามีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยเฉพาะสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) และเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) และยังมีสรรพคุณทางยา สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา และพยาธิ รวมถึงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านมะเร็งได้ (Singh และคณะ, 2007; Amber และคณะ, 2010) อย่างไรก็ตาม น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีอายุการเก็บรักษาที่ไม่ยาวนานนัก เนื่องจากสารหอมระเหยเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างและปริมาณได้ง่ายระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา สารหอมระเหยสามารถระเหยได้เองตามธรรมชาติและว่องไวต่อการตอบสนองต่อแสง ความร้อน ความชื้น และออกซิเจน รวมถึงความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยตามธรรมชาติ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ จากการศึกษาพบว่าการห่อหุ้ม (encapsulation) น้ำมันหอมระเหยด้วยบีตาไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD) สามารถป้องกันการเสื่อมสลายของสาร

ระเหยให้กลิ่น และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนั้นยังเป็นตัวช่วยให้ละลายน้ำได้ดียิ่งขึ้น (Nandi และคณะ, 2003)

β -CD เป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นผงสีขาว มีการจัดเรียงตัวสามมิติ คล้ายรูปกรวยก้นตัด ประกอบด้วยน้ำตาลแอลฟา-ดี-กลูโคส (alpha-D-glucose) 7 หน่วย ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) แบบ beta-(1,4) (Conner, 1997) ผิวด้านนอกกรวยมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) จึงละลายน้ำได้ดี ส่วนผิวด้านในกรวย (cavity) มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงสามารถจับ (entrap) กับโมเลกุลของสารที่มีขั้วน้อย และรวมตัวกันเป็นสารประกอบไซโคลเดกซ์ทรินเชิงซ้อน (cyclodextrin inclusion complex) ด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole) หรือพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) เกิดเป็นสารประกอบที่มีความคงตัวและสามารถละลายน้ำได้ดี (Stojakovic และคณะ, 2012) ปัจจุบันมีการใช้ β -CD ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลายเนื่องจากได้รับการรับรอง (generally recognized as safe; GRAS) ตามประกาศขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา อีกทั้งยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมโดยสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (biodegradation) (Fenyvesi และคณะ, 2005) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการนำเทคนิคการห่อหุ้มมาใช้ร่วมกับ β -CD ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวกักเก็บ ป้องกันการสูญเสียกลิ่นรสในอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้ยาวนานขึ้น เนื่องจากสามารถป้องกันการเสื่อมสลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (Szente และ Szejtli, 2004) และสามารถควบคุมการปลดปล่อย (controlled release) โมเลกุลสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในสารประกอบได้ นอกจากนี้เทคนิคการห่อหุ้ม β -CD กับน้ำมันหอมระเหย ทำให้สารระเหยให้กลิ่นที่อยู่ในสถานะของเหลวในรูปของสารละลาย เปลี่ยนเป็นผลผลิตที่มีความคงตัวในสถานะที่เป็นของแข็ง โดยเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ ลดการแยกชั้นในระบบน้ำมันในน้ำ (oil/water) (Rodis และคณะ, 2002) และเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดผงที่พร้อมใช้ในการเป็นสารเติมแต่งในอาหารได้

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเกิดสารประกอบอินคลูชันของ β -CD กับน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราต่อความคงตัวของสารให้กลิ่นสำคัญเมื่อผ่านการให้ความร้อน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นสำคัญระหว่างการเก็บรักษา

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 กะเพรา (holy basil)

2.1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

อนุกรมวิธานของกะเพรา (taxonomy of holy basil) มีข้อมูล ดังนี้

Domain:	Eukaryota
Kingdom:	Plantae
Phylum:	Spermatophyta
Subphylum:	Angiospermae
Class:	Dicotyledonae
Order:	Lamiales
Family:	Lamiaceae
Genus:	<i>Ocimum</i>
Species:	<i>Ocimum tenuiflorum</i>
Scientific Names:	<i>Ocimum americanum</i> sunsu Bello
	<i>Ocimum micranthum</i> sensu A. Stahl
	<i>Ocimum sanctum</i> Linn

กะเพรามีต้นกำเนิดมาจากประเทศอินเดีย เติบโตได้ดีในภูมิประเทศที่มีอากาศร้อนชื้น เป็นพืชล้มลุกลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย รูปร่างลำต้นทรงเหลี่ยมมีความยาวประมาณ 1 เมตร มีขนอ่อนสีขาวยื่นบริเวณกิ่ง ลักษณะใบเรียวยาวและมีขอบหยัก ความยาวประมาณ 3 - 6 เซนติเมตร กว้าง 1 - 2.5 เซนติเมตร และมีขนอ่อนขึ้นบริเวณใบทั้ง 2 ด้าน เป็นใบเดี่ยวที่มีการจัดเรียงตัวของใบแบบตรงข้ามกัน (opposite) ดอกอยู่ที่ปลายยอดเป็นช่อรวม ช่อดอกมีลักษณะเรียวยาวเล็ก ความยาวประมาณ 4 -

12 เซนติเมตร กว้าง 1 - 1.5 เซนติเมตร และมีความยาวของก้านดอกประมาณ 2.5 เซนติเมตร ที่โคนดอกมีกลีบเลี้ยงสีเขียวเรียงติดกันจำนวน 5 กลีบ โดยทั่วไปกลีบดอกจะมีสีชมพูอ่อน ม่วงอ่อน หรือขาว ซึ่งจะมีชั้นเกสรตัวผู้ (androecium) และชั้นเกสรตัวเมีย (gynoecium) เรียงอยู่บนกลีบดอกและมีเมล็ดอยู่ภายใน (รูปที่ 2.1) น้ำมันหอมระเหยถูกสร้างและสะสมไว้ทุกส่วนของกะเพรา โดยเฉพาะบริเวณใบที่มีการสะสมน้ำมันหอมระเหยไว้มากที่สุด กะเพราถูกใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาและใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีฤทธิ์ทางยาและมีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ (Li และ Chang, 2016)



รูปที่ 2.1 ต้นกะเพรา (ก) ใบกะเพรา (ข) และดอกกะเพรา (ค)

ที่มา : <https://www.kasetnana.com/2020/586/> และ <https://farmerspace.co/> แก่กิ่งต้นกะเพราให้โตไว

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

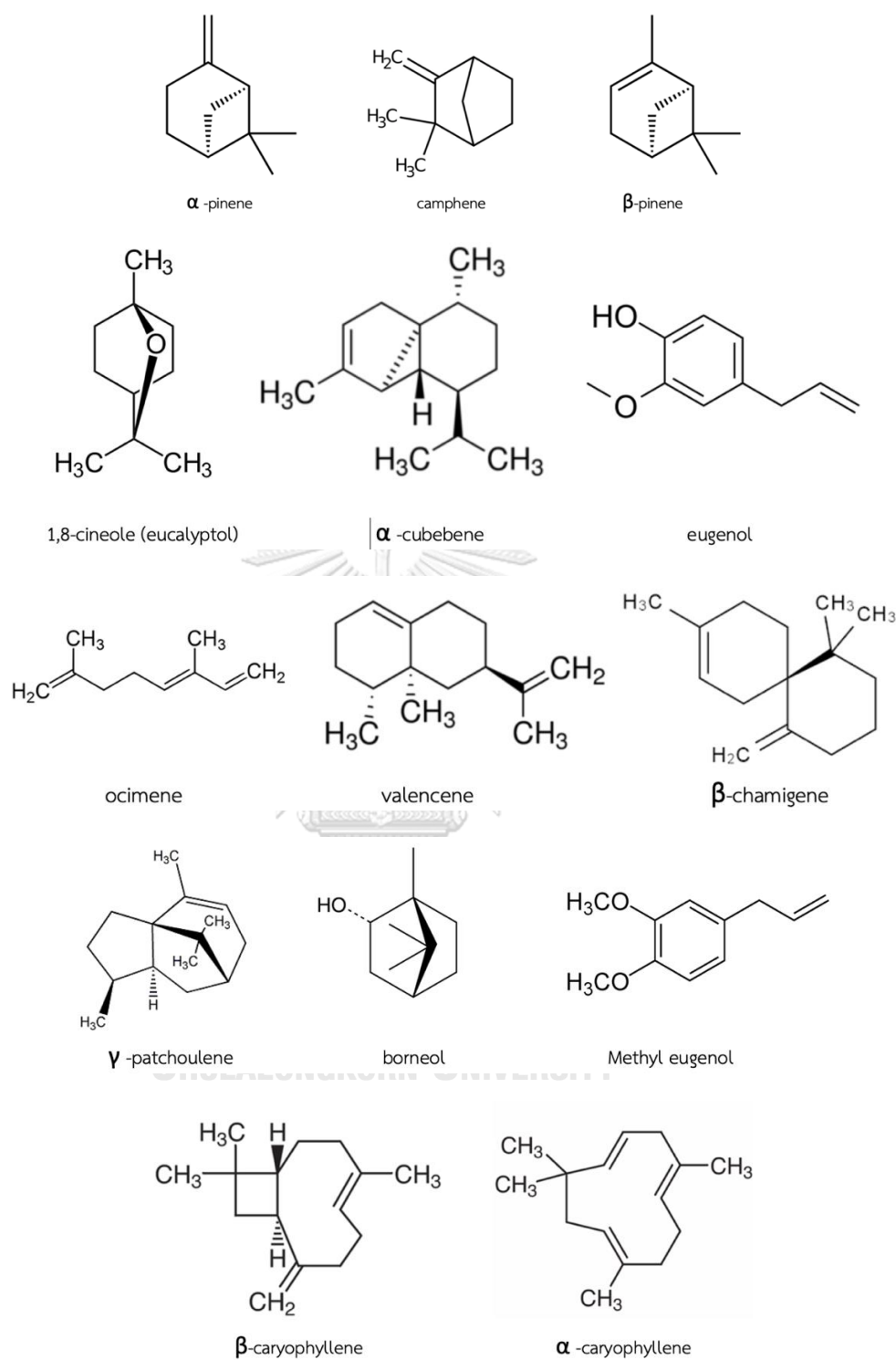
น้ำมันหอมระเหย คือสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสร้างขึ้นตามธรรมชาติเพื่อป้องกันตัวเองจากสิ่งรบกวน เช่น สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การเข้าทำลายของแมลง และเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืช ประกอบด้วยโมเลกุลของสารประกอบที่ไม่มีขั้วที่สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน (lipophilic) และสารระเหยให้กลิ่นที่มีกลิ่นหอม (aroma) นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์ นอกจากนี้ยังมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Bhavya และคณะ, 2018) น้ำมันหอมระเหยมีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง โดยองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ได้จะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของสายพันธุ์ วิธีการเพาะปลูก สภาพภูมิประเทศ สภาพภูมิอากาศ ระยะการเจริญเติบโต การเก็บเกี่ยว และสภาวะหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งมีผลต่อปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นของกะเพรา (Raut และ Karuppayil, 2014) กะเพราขาวและแดงได้รับความนิยมในประเทศไทย ซึ่งมีรายงานว่าพบองค์ประกอบทางเคมีของสารสำคัญมากกว่า 200 ชนิด ประกอบด้วย โมโนเทอร์พีน (monoterpene) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene) ไตรเทอร์พีน (triterpene) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และ สารประกอบแอโรแมติก (aromatic compounds) Singkhornart และคณะ (2009) รายงานว่าเมื่อนำกะเพรามาสกัดด้วยวิธี Simultaneous distillation extraction (SDE) เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC/MS) พบองค์ประกอบสารระเหยสำคัญของกะเพรา ดังแสดงในตารางที่ 2.1 พบว่าสารระเหยสำคัญโดยเรียงลำดับตามพื้นที่ใต้กราฟ มีดังนี้ methyl eugenol (52.27%), eugenol (23.61%), β -caryophyllene (17.49%), β -chamigene (2.15%), valencene (2.02%) และ α -caryophyllene (1.23%) และโครงสร้างของสารแต่ละตัวแสดงในรูปที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 relative peak area ของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี SDE

องค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่น	% relative peak area
methyl eugenol	52.27
eugenol	23.61
β -caryophyllene	17.49
β -chamigene	2.51
valencene	2.02
α -caryophyllene	1.23
α -cubebene	0.60
borneol	0.30
γ -patchoulene	0.19
ocimene	0.07
1,8-cineole (eucalyptol)	0.05
camphene	0.03
α -pinene	0.02
β -pinene	0.02

ดัดแปลงจาก Singkhornart และคณะ (2009) วิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2.2 โครงสร้างสารประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

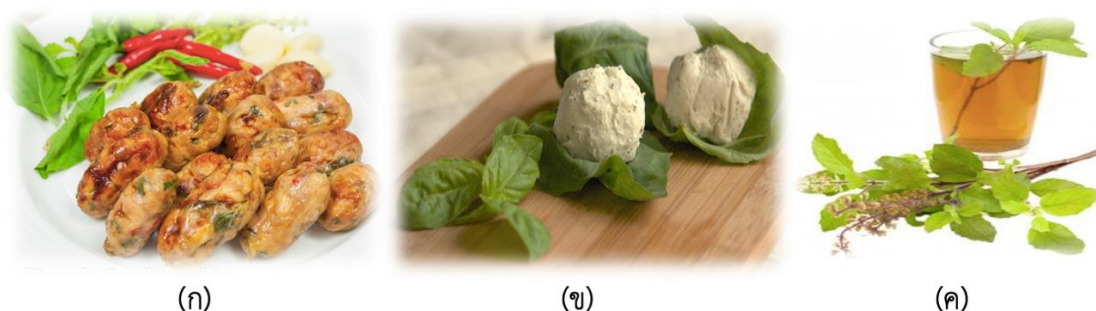
ที่มา: Li และ Chang (2016)

2.1.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

น้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในลำต้น ก้าน ใบ และดอกของกะเพราสามารถสกัดได้หลากหลายวิธี เช่น สกัดโดยการกลั่นด้วยน้ำ (hydro distillation) และการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ถึงแม้ความร้อนจะทำให้เกิดความเสียหายต่อสารสูญเสียปริมาณองค์ประกอบของสารระเหยให้กลั่นในน้ำมัน ซึ่งอาจเป็นโมเลกุลที่สามารถระเหยได้ง่ายเมื่อได้รับความร้อน แต่ในระดับอุตสาหกรรมยังคงนิยมใช้วิธีการสกัดดังกล่าวซึ่งเป็นขั้นตอนพื้นฐานในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ปัจจุบันมีวิธีการสกัดทางเลือกเพื่อลดปัญหาการสูญเสียของสารระเหยให้กลั่น รวมถึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกลั่นได้สูงยิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดพื้นฐาน เช่น การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติ (super critical fluid extraction) การสกัดด้วยของไหลความดันสูง (pressurized liquid extraction) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction) และ การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ (ultrasound assisted extraction) (Li และ Chang, 2016)

2.1.4 การใช้น้ำมันหอมระเหยกะเพราในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง

เนื่องจากสารหอมระเหยในกะเพราสามารถเพิ่มกลิ่นรส ดับกลิ่นคาว จึงนิยมประยุกต์ใช้ในอาหารและเครื่องสำอางหลากหลายประเภท เช่น เติมน้ำมันในไส้กรอกและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ซีส เครื่องสำอางที่มีแอลกอฮอล์และไม่มีแอลกอฮอล์ (รูปที่ 2.3) รวมถึงผลิตภัณฑ์หมักดองที่มีการเติมผสมร่วมกับเครื่องเทศและสมุนไพรชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารเติมลงในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (bakery) และของหวาน (confectionary) จำพวกลูกกวาด พุดดิ้ง (pudding) และไอศกรีม (ice cream) นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำมันหอมระเหยกะเพราเพื่อยืดอายุอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปและถนอมอาหาร เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อีกทั้งยังสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์และรา แบคทีเรีย และพยาธิบางชนิดได้ รวมถึงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและ ต้านมะเร็งได้ (Singh และคณะ, 2007; Amber และคณะ, 2010) โดยน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (food and drug administration; FDA) และ คณะกรรมาธิการยุโรป (European Commission) จัดให้อยู่ในกลุ่มของสารที่สามารถใช้เติมลงไปในการอาหารได้อย่างปลอดภัย ไม่เกิดความเสียหายต่อผู้บริโภค (generally recognized as safe; GRAS)



รูปที่ 2.3 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ไส้กรอกกะเพรา (ก) ชีสผสมใบกะเพรา (ข) และ น้ำชาจากใบกะเพรา (ค)

ที่มา : <http://www.foodtravel.tv/recipe.aspx?viewid=4469>

<https://www.tnews.co.th/social/401891> และ

<https://www.foodrepublic.com/recipes/basil-wrapped-goat-cheese-recipe/>

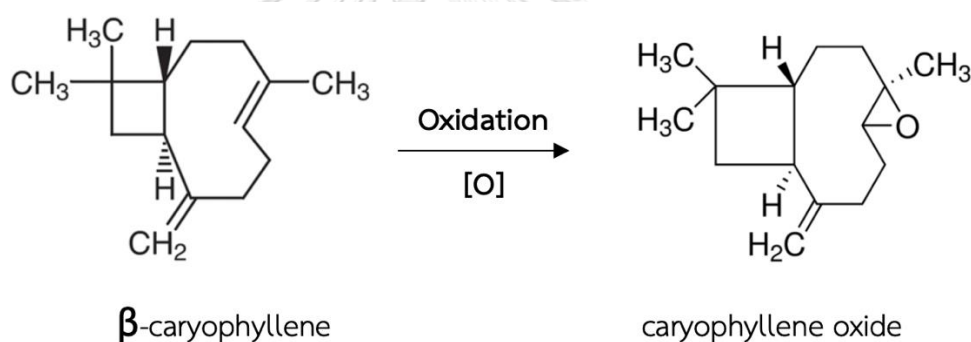
2.1.5 ความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

จากประโยชน์ดังกล่าวข้างต้น ทำให้มีการนำน้ำมันหอมระเหยกะเพราไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางแพร่หลาย แต่ตัวน้ำมันหอมระเหยเองก็มีข้อจำกัดจึงจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ตลอดกระบวนการผลิต การขนส่ง และเก็บรักษา เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพราเป็นสารประกอบให้กลิ่นที่สามารถระเหยได้ง่ายและไม่คงตัว หากมีปัจจัยภายนอก เช่น แสง ออกซิเจน ความร้อน และความชื้น เข้ามากระตุ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างและสูญเสียลักษณะกลิ่นตามธรรมชาติไป ดังนั้นความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยจึงมีความสำคัญ เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคโดยตรง จากการศึกษาพบว่า สารกลุ่มโมโนเทอร์พีนในน้ำมันหอมระเหยสามารถเกิดการเสื่อมสภาพได้อย่างรวดเร็วภายใต้การเหนี่ยวนำของแสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet; UV) และแสงในช่วงที่มองเห็นได้ (visible light; Vis) โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (autoxidation) ด้วยการสกัดไฮโดรเจน (hydrogen abstraction) ของหมู่ไฮดรอกซิลในสารประกอบอินทรีย์ ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ในน้ำมันหอมระเหย (Choe และ Min, 2006) จากการศึกษาของ Fincke และ Maurer (1974) เมื่อเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่ในภาวะที่มีแสง พบว่าแสงจะเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันของน้ำมัน เป็นผลให้ปริมาณสารประกอบ

geranial, terpinolene, และ γ -terpinene ในน้ำมันหอมระเหยมะนาวลดลง และมีปริมาณ *p*-cymene เพิ่มขึ้น

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลถึงความคงตัวของน้ำมันหอมระเหย กล่าวคือปฏิกิริยาทางเคมีจะเกิดได้มากขึ้นเมื่อระบบได้รับความร้อน เป็นไปตามสมการอัตราการเกิดปฏิกิริยาของ Arrhenius เมื่อน้ำมันหอมระเหยได้รับความร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยิ่งไปกว่านั้นความร้อนเป็นปัจจัยประกอบที่ทำให้เกิดการเริ่มต้นสร้างอนุมูลอิสระ โดยพบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยลดลง เช่น ปริมาณของ β -caryophyllene, β -myrcene, β -pinene, sabinene, และ γ -terpinene ในน้ำมันหอมระเหยกระวาน (cardamom oil) กานพลู (clove oil) ลาเวนเดอร์ (lavender oil) สน (pine oil) และ โรสแมรี่ (rosemary oil) ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 25 °C เป็น 150 °C โดย McGraw และ คณะ (1999) แยกรูปแบบการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบเทอร์พีนไว้ 4 แบบ ได้แก่ การแยกกันของพันธะคู่ (cleavage of double bonds), ปฏิกิริยาอีพอกซิเดชัน (epoxidation) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนพันธะคู่ของกรดไขมันให้เป็นหมู่ฟังก์ชันอีพอกซี, การดีไฮโดรจีเนชันของสารประกอบแอโรแมติก และการออกซิเดชันของแอลลิลิก จากการศึกษาของ Nguyen และคณะ (2009) พบการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยในมะนาว ที่เก็บไว้ที่ระดับอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ภายใต้ความดันปกติ พบว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมะนาวมีปริมาณลดลง เช่น α -terpinene, limonene, β -phellandrene, β -caryophyllene และ citral อีกทั้งยังพบการเพิ่มขึ้นของ *p*-cymene, limonene oxide, α -terpineol, and geranic acid ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบดังกล่าว ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในภาชนะที่มีแก๊สไนโตรเจน จะทำให้น้ำมันหอมระเหยมะนาวมีความคงตัวมากกว่า นอกจากนี้ยังมีการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากทารากอน (tarragon) เมื่อผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาไว้ในสภาพอากาศที่มีความชื้น น้ำมันหอมระเหยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีและมีปริมาณสารสำคัญลดลง เช่น methyl, eugenol, ocimene และ estragole ดังนั้น ความร้อนที่ใช้ระหว่างการผลิตและเก็บรักษา มีผลต่อคุณภาพและความคงตัวของน้ำมันหอมระเหย แต่อย่างไรก็ตาม หากเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหยในอุณหภูมิที่ต่ำเกินไปอาจทำให้เกิดการละลายของออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้น้ำมันหอมระเหยมีความไม่คงตัวได้เช่นกัน (Arabhosseini และคณะ, 2007)

ออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้น้ำมันหอมระเหยเกิดการเสื่อมสภาพ และเปลี่ยนแปลงคุณภาพในแง่ขององค์ประกอบของสาร และสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันหอมระเหย จากกฎของเฮนรี (Henry's law) เมื่อระบบมีอุณหภูมิต่ำ จะทำให้ออกซิเจนมีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น แต่หากเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น อัตราการละลายของออกซิเจนในระบบก็จะลดลง ดังนั้นการเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหยไว้ที่อุณหภูมิต่ำโดยไม่ควบคุมปริมาณออกซิเจน จะทำให้น้ำมันเกิดออกซิเดชัน โดยมีอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล (peroxyl radical) และ สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ตัวอย่างการพบ caryophyllene oxide ซึ่งเป็นสารประกอบเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของ β -caryophyllene ในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (รูปที่ 2.4) ส่งผลให้ปริมาณของ β -caryophyllene ลดลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงกลิ่นในน้ำมันหอมระเหย



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ β -caryophyllene

ที่มา: Turek และ Stintzing (2013)

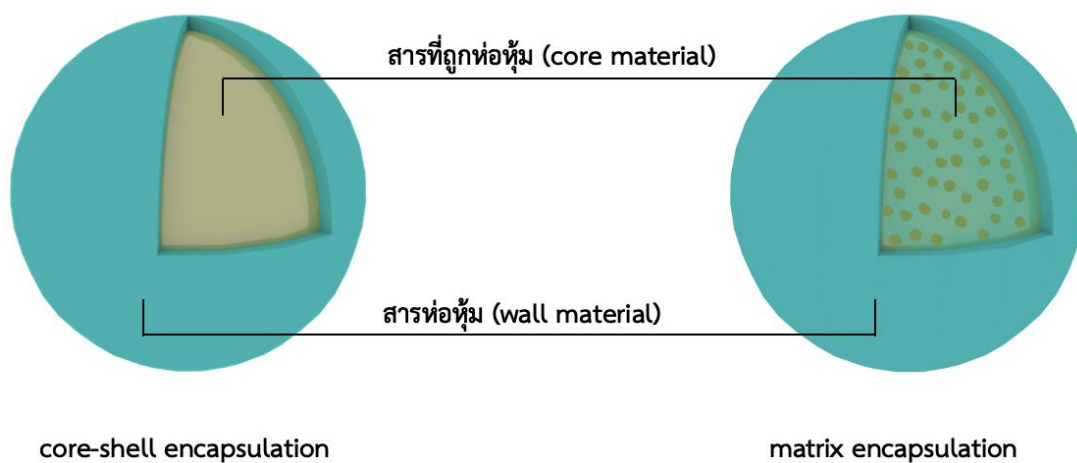
นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในน้ำมันหอมระเหยอื่น ๆ เช่น น้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่และน้ำมันสน เมื่อเก็บรักษาน้ำมันไว้ที่อุณหภูมิห้อง รวมถึงน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ (lavender oil) และ น้ำมันหอมระเหยไทม์ (thyme oil) เมื่อเก็บรักษาน้ำมันไว้ที่ระดับอุณหภูมิ 5 °C (Turek และ Stintzing, 2013)

นอกจากนี้ธรรมชาติของน้ำมันหอมระเหยมักมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ ไม่ละลายน้ำแต่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์ จึงมีความจำเป็นต้องเปลี่ยนรูปของน้ำมันหอมระเหยให้มีความสามารถละลายน้ำได้ จึงจะสามารถประยุกต์ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางได้อย่างหลากหลาย มีการใช้เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation) เพื่อปรับปรุงและป้องกัน

การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการระเหยของสารระเหยให้กลิ่นระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา

2.2 เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation)

เทคนิคการห่อหุ้ม คือ กระบวนการห่อหุ้มหรือกักเก็บสารชนิดหนึ่งไว้ด้วยสารอีกชนิดหนึ่ง สารที่ห่อหุ้ม เรียกว่า wall material, coating material, shell, host molecule โดยสารที่ถูกห่อหุ้มมีสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว หรือ แก๊ส เรียกว่า core material หรือ guest molecule เกิดเป็นเม็ดแคปซูล (capsule) ขนาด 1 – 1,000 ไมโครเมตร โดยทั่วไปรูปแบบของแคปซูล มี 2 ประเภท คือ สารที่ถูกห่อหุ้มกระจายตัวอยู่ในสารห่อหุ้ม (matrix encapsulation) และ สารที่ถูกห่อหุ้มทั้งหมดถูกห่อหุ้มไว้ด้วยสารห่อหุ้ม (core shell encapsulation) (รูปที่ 2.5) ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้เทคนิคนี้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถกักเก็บสี กลิ่น หรือ รสชาติที่ไม่พึงประสงค์ อีกทั้งปกป้องสารสำคัญด้วยเกราะทางกายภาพจากสิ่งรบกวน เช่น แสง ความร้อน ออกซิเจน และความชื้น ลดหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชัน ไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หรือการระเหยของสารสำคัญในอาหาร เช่น กลิ่นรส (flavor) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) วิตามิน (vitamin) แร่ธาตุ และโพรไบโอติก (probiotic) ทำให้สารประกอบเหล่านั้นมีความคงตัวระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา ควบคุมการปลดปล่อยสาร รวมถึงยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มได้ จากการศึกษาของ Hill และคณะ (2013) ซึ่งใช้เทคนิคการห่อหุ้มสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากอบเชยและกานพลู ประกอบด้วย *trans*-cinnamaldehyde และ eugenol รวมถึง oleuropein ที่มักเกิดการออกซิเดชันได้ง่าย เมื่อใช้บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD) มาห่อหุ้มสารระเหยให้กลิ่นดังกล่าว พบว่าการเกิดออกซิเดชันและการระเหยของสารระเหยให้กลิ่นเมื่อผ่านกระบวนการผลิตและการเก็บรักษามีค่าลดลง เมื่อตรวจสอบด้วยเครื่อง oxidative differential scanning calorimetry ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความคงตัวและเพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารได้ ทั้งนี้การเลือกประเภทสารห่อหุ้มที่มีสมบัติเหมาะสมในการกักเก็บสารสำคัญจะช่วยให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดีและเหมาะสมต่อการใช้งาน



รูปที่ 2.5 รูปร่างและองค์ประกอบของแคปซูล

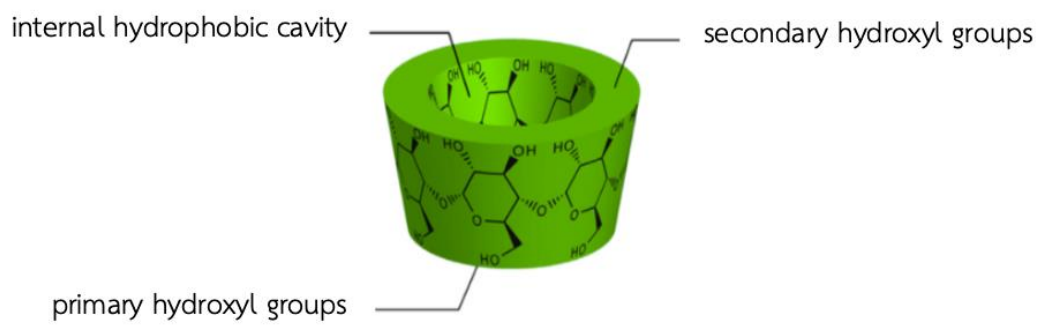
ที่มา: ดัดแปลงจาก <https://www.agrolytix.com/en/technology/microencapsulation>

2.3 บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน* (beta-cyclodextrin; β -CD)

บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-cyclodextrin; β -CD) เป็นคาร์โบไฮเดรต มีลักษณะเป็นผงสีขาว มีการจัดเรียงตัวสามมิติคล้ายรูปกรวยก้นตัด (รูปที่ 2.6) โครงสร้างของ β -CD ประกอบด้วยน้ำตาล แอลฟา-ดี-กลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) แบบ beta-(1,4) ผิวด้านนอกมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ส่วนผิวด้านใน (cavity) มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ตารางที่ 2.2 แสดงสมบัติทางเคมีกายภาพของไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins; CDs) ที่นิยมใช้ในปัจจุบันแบ่งออกตามขนาดของโมเลกุลคือ แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทริน (alpha-cyclodextrin; α -CD) บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-cyclodextrin; β -CD) และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน (gamma-cyclodextrin; γ -CD) ซึ่งมีจำนวนน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 6, 7 และ 8 หน่วย (รูปที่ 2.7) และมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 0.6, 0.8 และ 1.0 นาโนเมตร ตามลำดับ (Del Valle, 2004)

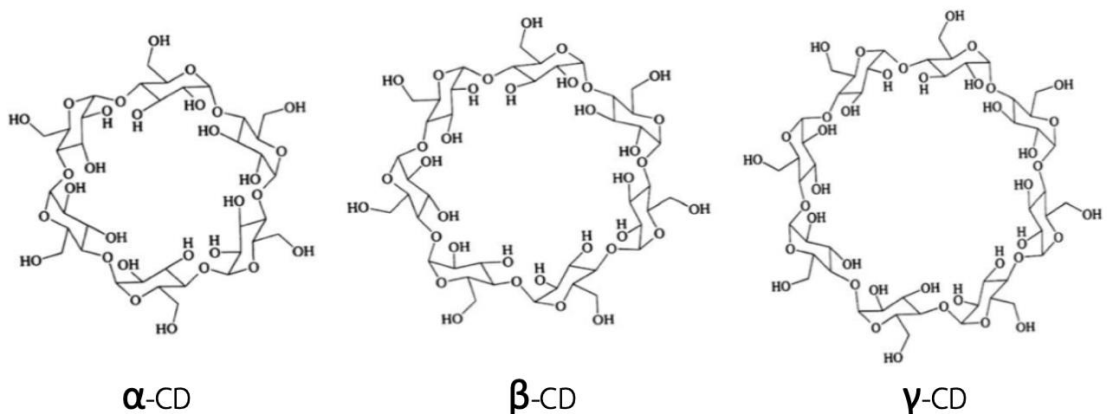
* ดัดแปลงและได้รับอนุญาตจาก วันทนีย์ น้อยจินดา และ อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์. (2562). การเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยด้วยอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของไซโคลเดกซ์ทริน. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยสยาม, 14(2), 108-119.

มีการใช้ CDs ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะ β -CD ที่ถูกนำมาใช้กับน้ำมันหอมระเหยหลากหลายชนิด เนื่องจากสามารถเติมลงไปเพื่อใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ตัวพาสารให้กลิ่นรส (flavor carrier) โดยไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่จะถูกจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ย่อยสลาย นอกจากนี้ยังพบว่า CDs มีความปลอดภัยโดยได้รับการรับรอง generally recognized as safe (GRAS) ตามประกาศขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา อีกทั้งยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมโดยสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Fenyvesi และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.6 โครงสร้าง 3 มิติ ของ β -CD

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kfoury และคณะ (2016)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของ α , β and γ -CD

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kfoury และคณะ (2016)

β -CD ผลิตได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส (alpha-amylase) และ ไซโคลเดกซ์ทริน กลูโคซิลทรานส์เฟอเรส (cyclodextrin glucosyltransferase; CGTase) โดยนิยมผลิตจากแป้งมันสำปะหลังหรือแป้งข้าวโพดมากกว่าแป้งข้าวสาลี เนื่องจากในแป้งข้าวสาลีมีส่วนของแอมิโลส (amylose) มากกว่า ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตน้อยกว่าแอมิโลเพกทิน (amylopectin) จากแป้งมันสำปะหลังหรือแป้งข้าวโพด β -CD มีสมบัติไม่ชอบน้ำ ที่โพรงภายในของโมเลกุลจึงสามารถจับสารที่มีขั้วน้อยได้ดี และมีสมบัติชอบน้ำบริเวณผิวด้านภายนอกจึงสามารถละลายน้ำได้ (Szejtli, 1998) แต่ความสามารถในการละลายของ β -CD ยังค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับความเหมาะสมในการใช้งานบางประเภท คือ สามารถละลายได้เพียง 1.8 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 °C เนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาภายในและภายนอกของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในปัจจุบันจึงมีการดัดแปรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายน้ำของ β -CD ที่บริเวณคาร์บอนตำแหน่งที่ 2, 3 และ 6 ของโครงสร้าง โดยพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 มีความสามารถในการทำอันตรกิริยาสูงสุด รองลงมาเป็นตำแหน่งที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่ง β -CD ที่ถูกดัดแปรจะมีสมบัติทางกายภาพและเคมีแตกต่างไปจากเดิม ซึ่งอาจทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำและควบคุมการปลดปล่อยได้ดียิ่งขึ้น ยกตัวอย่างอนุพันธ์ของ CDs ที่ผ่านการดัดแปร เช่น hydroxypropyl- β -CD, methyl- β -CD, 2,6-di-O-methyl- β -CD และ 2,3,6-per-O-methyl- β -CD

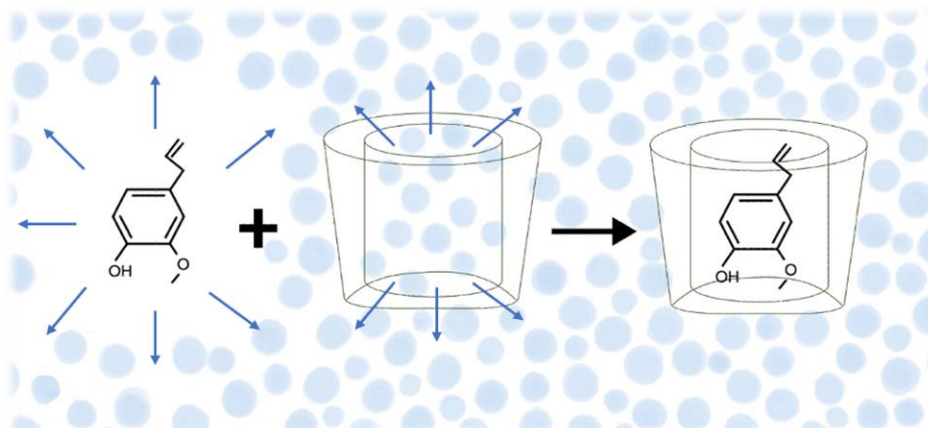
ตารางที่ 2.2 สมบัติทางเคมีกายภาพของ α -CD, β -CD และ γ -CD

physicochemical properties	α -CD	β -CD	γ -CD
Glucose units	6	7	8
Chemical formula	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Molecular weight	972	1135	1297
Cavity diameter (Å)	5.7	7.8	9.5
Cycle diameter (Å)	14.6-15	15.4-15.8	17.5-17.9
Cavity volume (Å ³)	173	262	427
Aqueous solubility at 25 °C (g 100 mL ⁻¹)	14	1.8	23
Melting point (°C)	275	280	275

ที่มา : ดัดแปลงจาก วันทนีย์ น้อยจินดา และ อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์ (2562)

2.4 สารประกอบอินคลูชัน (inclusion complex)

จากที่กล่าวข้างต้น β -CD มีโครงสร้างเป็นน้ำตาลแอลฟา-ดี-กลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ beta-(1,4) เกิดเป็นโครงสร้าง 3 มิติรูปกรวยก้นตัดที่มีโพรงด้านใน จากการจัดเรียงตัวนี้มี secondary hydroxyl group ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 อยู่บริเวณขอบด้านกว้างของวง ในขณะที่ primary hydroxyl group ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 อยู่ที่ขอบด้านตรงข้าม และยังมีไฮโดรเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 5 รวมทั้งออกซิเจนอยู่ในโพรงของ β -CD เป็นผลให้บริเวณภายในโพรงของ β -CD สามารถจับกับสารที่ไม่มีขั้วได้ดี ในขณะที่ผิวภายนอกมีสมบัติที่ชอบน้ำ จึงสามารถละลายน้ำได้ ในกรณีของการเกิดสารประกอบอินคลูชันของ β -CD กับน้ำมันหอมระเหย นั้น เมื่อละลาย β -CD ในน้ำจะมีโมเลกุลของน้ำเข้าไปอยู่ในโพรงของ β -CD (host) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลง driving force บริเวณโพรงภายใน โมเลกุลน้ำจะถูกแทนที่ด้วยโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหย (hydrophobic guest) ซึ่งจะเข้าไปทำอันตรกิริยาแบบ apolar-apolar ทำให้ระบบมีพลังงานลดต่ำลงและมีความเสถียรมากขึ้น อธิบายการเกิดสารประกอบอินคลูชันจาก รูปที่ 2.8 โดยมีขั้นตอนดังนี้ โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยในสารละลายจะเกิดแรงผลัก (repulsive interaction) ระหว่างโมเลกุลน้ำที่อยู่รอบๆ ในขณะที่ภายในโพรงของ β -CD เกิดการเพิ่มจำนวนของพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) เป็นผลมาจากการแทนที่ของน้ำภายในโพรง β -CD รวมถึงการลดแรงผลักระหว่างโมเลกุลน้ำมันหอมระเหยกับน้ำที่อยู่รอบๆ โดยเพิ่มแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ทำให้โมเลกุลน้ำมันหอมระเหยสอดตัวเองเข้าไปภายในโพรงของ β -CD ที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำ อย่างไรก็ตามอาจมีแรงอย่างอื่นเช่น แวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals) และ แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole) เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ซึ่งเป็นพันธะที่ไม่แข็งแรงมากนัก ทั้งนี้มีหลายปัจจัยที่เข้ามามีผลต่อการเกิดสารประกอบอินคลูชันดังกล่าวด้วย เช่น เส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงภายใน β -CD, pH, ionization state รวมถึงวิธีการเตรียมสารประกอบอินคลูชัน นอกจากนี้ β -CD ยังสามารถจับกันเองด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent) และ นอนโควาเลนต์ (non-covalent) จนเกิดเป็น building blocks โครงสร้างขนาดใหญ่ที่ซับซ้อน (supramolecular complex) (Astray และคณะ, 2009)



รูปที่ 2.8 การเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ eugenol ในน้ำมันหอมระเหย

ที่มา: ดัดแปลงจาก Astray และคณะ (2009)

2.5 การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying)

เป็นการทำแห้งเพื่อแปรรูปของเหลวให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงแห้ง โดยสารละลายที่เป็นของเหลวจะถูกดูดผ่านปั๊มและฉีดพ่นให้เกิดเป็นฝอยละอองในโถอบลมร้อน ซึ่งละอองฝอยเหล่านั้นจะสัมผัสกับอากาศร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 150-300 °C ทำให้น้ำในสารละลายเกิดการระเหยเมื่อได้รับความร้อน ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงแห้ง (รูปที่ 2.9) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 - 200 ไมโครเมตร โดยขั้นตอนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

2.5.1 การฉีดพ่นของเหลวให้เป็นละอองฝอย

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการทำแห้ง เนื่องจากมีผลต่อการระเหยของน้ำที่ส่งผลถึงพื้นที่ผิวของผลิตภัณฑ์แคปซูลที่แตกต่างกัน โดยสารละลายที่เป็นของเหลวจะถูกฉีดโดยใช้หัวฉีด ขนาดของแคปซูลที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของหัวฉีดที่ใช้ และอัตราเร็วในการป้อนสารละลาย

2.5.2 การสัมผัสระหว่างของเหลวกับอากาศร้อน

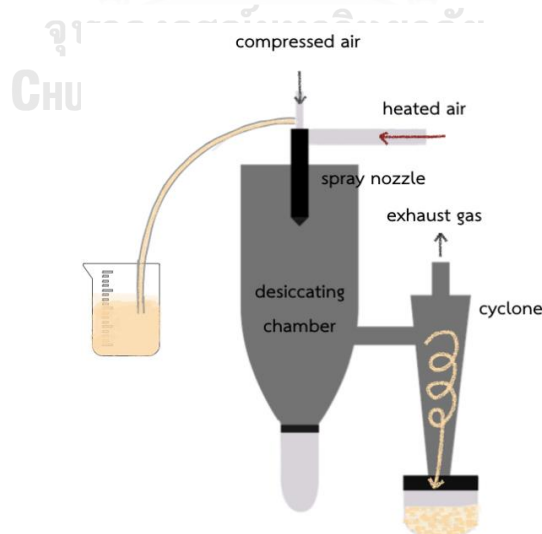
เมื่อละอองฝอยสัมผัสกับอากาศร้อนจะทำให้เกิดการระเหยของน้ำ เนื่องจากการถ่ายเทความร้อน

2.5.3 การระเหยของน้ำ

แบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ การระเหยของน้ำที่คงที่ กล่าวคือเมื่อความชื้นที่ผิวของอนุภาคมีการกระจายตัวอยู่อย่างคงที่จนเกิดสภาวะอิ่มตัว เมื่อได้รับความร้อนด้วยวิธีการนำ และ การพา ความร้อนเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในรูปของความร้อนแฝงของการกลายเป็นไอ เกิดการถ่ายเทมวลให้อากาศร้อนด้วยการแพร่ และ การพาจากพื้นที่ผิวของอนุภาคสู่อากาศร้อน ทำให้ปริมาณความชื้นลดลงต่ำกว่าสภาวะอิ่มตัวและเข้าสู่จุดวิกฤต (critical point) ผิวละอองอนุภาคจะเริ่มแห้งขึ้น จนเข้าสู่ช่วงอัตราการระเหยแบบไม่คงที่ โดยอัตราการระเหยของน้ำจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายความชื้นผ่านผิวนอกของอนุภาคที่แห้งแล้ว ทำให้มีบริเวณชั้นผิวที่แห้งเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้หากสารละลายที่ใช้ทำให้มีความเข้มข้นมาก จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงแห้ง ที่มีขนาดอนุภาคใหญ่และมีปริมาณความหนาแน่นปรากฏสูง อีกทั้งการเพิ่มอุณหภูมิอากาศร้อนแต่อัตราการไหลของสารละลายคงที่ จะทำให้ผงแห้งมีความหนาแน่นลดลงเนื่องจากน้ำเกิดการระเหยอย่างรวดเร็ว (Gharsallaoui และคณะ, 2007)

2.5.4 การแยกผลิตภัณฑ์ที่เป็นผงออกจากระบบทำแห้ง

อนุภาคที่เป็นผงแห้งจะถูกดูดด้วยแรงลมที่มาจากท่อลมในระบบ ซึ่งเป็นวิธีการแยกผงแห้งที่มีน้ำหนักเบาออกจากอากาศร้อนด้วยระบบไซโคลนโดยอาศัยแรงเหวี่ยงและการถ่ายเทโมเมนตัม ทำให้ผลิตภัณฑ์ผงแห้งตกลงสู่พื้นล่างของถ้วยที่มารองรับ



รูปที่ 2.9 กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sosnik และ Seremeta (2015)

วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นที่นิยมใช้ในระบบอุตสาหกรรม และมีการศึกษาว่าสามารถใช้กับสารละลายของสารประกอบอินคลูชัน น้ำมันหอมระเหยที่ใช้จะต้องมีความคงตัวต่อความร้อน โดยละลาย CDs และสารที่ต้องการทำสารประกอบอินคลูชันในน้ำกลั่น จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยภายใต้อุณหภูมิ 50-70 °C หากใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่สูงเกินไปจะทำให้เกิดการสูญเสียสารสำคัญของสารประกอบอินคลูชันได้ วิธีการนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถทำได้ง่าย ขั้นตอนไม่ซับซ้อน ราคาไม่แพง ได้ผลผลิตคุณภาพดี เก็บรักษาและขนส่งได้ง่ายเมื่อเทียบกับ สารละลาย หรือ เจล ตัวอย่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยในสารประกอบอินคลูชัน เช่นการทำแห้งแบบพ่นฝอยน้ำมันหอมระเหยจากขิง (Zhang และคณะ, 2018)

2.6 การใช้สารประกอบอินคลูชัน

การเกิดสารประกอบอินคลูชันจะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหอมระเหย โดย β -CD ทำหน้าที่กักเก็บน้ำมันหอมระเหยเอาไว้ในโพรงภายใน มีผลทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเกิดการเปลี่ยนแปลงเสมือนเป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุล β -CD ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ถูกใช้ประโยชน์ในอาหารและเครื่องสำอางอย่างหลากหลาย ตารางที่ 2.3 แสดงถึงการปรับปรุงสมบัติของน้ำมันหอมระเหยเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชัน โดยไซโคลเดกซ์ทรินทำหน้าที่หลักสำคัญคือเป็นตัวพาสารที่ถูกจับไว้ให้มีความคงตัวเพิ่มขึ้นจากปัจจัยภายนอก เช่น ออกซิเจน แสง และความร้อน ทำให้ไม่เกิดการออกซิเดชันและการระเหยของสารระเหยให้กลิ่น เพิ่มความสามารถในละลาย ปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส ยืดอายุของผลิตภัณฑ์และควบคุมการปลดปล่อยได้

ตารางที่ 2.3 การปรับปรุงสมบัติของน้ำมันหอมระเหยเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันกับ CDs

Essential oil	Cyclodextrins	Properties
Cinnamon oil	β -CD	Stability
Jasmin oil	β -CD	Stability
Peppermint oil	β -CD	Stability
Caraway oil	β -CD	Stability
Thymol, Eugenol and Carvacrol	β -CD	Stability, Solubility
Clove oil	β -CD	Stability
Lavender oil	α , β , γ , HP- β -CD	Stability
Olive leaf oil	β -CD	Stability, Solubility
Basil oil	α , β , γ , HP- β -CD	Stability, Controlled release
Tarragon oils	α , β , γ , HP- β -CD	Stability, Controlled release
Lemongrass Oil	α , β , γ , HP- β -CD	Stability, Controlled release
Carvacrol, Eugenol, Linalool and 2-pentanoylfuran	α , β , HP- β -CD	Solubility
p-Cymene, Thymol, Carvacrol	β -CD	Stability

HP- β -CD คือ hydroxypropyl- β -CD เกิดจากการดัดแปร β -CD ให้มีสมบัติในการละลายน้ำเพิ่มขึ้น

ที่มา : ดัดแปลงจาก วันทนีย์ น้อยจินดา และ อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์ (2562)

2.6.1 การเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยด้วยอินคลูชันคอมเพลกซ์ของไซโคลเดกซ์ทริน

การเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยโดยการเกิดสารประกอบอินคลูชันเกิดจากการที่น้ำมันหอมระเหยเข้าไปอยู่ในโพรงของไซโคลเดกซ์ทริน ทำให้ไม่สามารถสัมผัสกับสิ่งที่จะทำให้ น้ำมันหอมระเหยเสื่อมสภาพได้โดยตรง จึงทำให้น้ำมันหอมระเหยมีความคงตัวมากขึ้น ซึ่งการทำอินคลูชันคอมเพลกซ์มีข้อดีหลายประการ ได้แก่

2.6.1.1 ป้องกันการสูญเสียของสารระเหยให้กลิ่นจากความร้อน รังสี และกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

คุณภาพของน้ำมันหอมระเหยหลังจากที่สกัดออกมาจากพืชนั้นจะคงทนหรือไม่ ขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บรักษา รวมถึงปัจจัยภายนอก ได้แก่ ความร้อน แสง และรังสี เช่น รังสี UVA UVB และ UVC ที่เป็นตัวกลางสำคัญทำให้โครงสร้างของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยเปลี่ยนแปลง ในน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา (basil oil) ตะไคร้ (lemongrass oil) และทาร์รากอน (tarragon oil) จะมี citral isomer เป็นองค์ประกอบ จากการศึกษาพบว่าการเกิดสารประกอบอินคลูชันของ *trans*-citral กับ β -CD จะช่วยทำให้ *trans*-citral มีความคงตัวมากขึ้นเมื่อผ่านความร้อนหรือเก็บรักษาไว้ในสภาวะที่มีแสง (Ruktanonchai และคณะ, 2011 ;Kfoury และคณะ, 2016) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชส่วนใหญ่จะเกิดการสูญเสียได้ง่ายเนื่องจากอยู่ในรูปของสารระเหยที่ละลายในน้ำมัน โดยน้ำมันหอมระเหยจะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำมาก ๆ ยกตัวอย่างเช่น ในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า -20°C ทำให้สารในน้ำมันหอมระเหยบางประเภทเกิดการเปลี่ยนแปลงไป เช่นสารระเหยให้กลิ่น linalool ในน้ำมันดอกคาโมมายล์และ camphor จากดอกลาเวนเดอร์จะเกิดการสลายตัวระหว่างกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งได้ง่าย แต่เมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันของ β -CD มีรายงานว่าสามารถป้องกันการสลายของสารให้กลิ่นนั้น ๆ ได้ดีมากขึ้น (Ciobanu และคณะ, 2012)

2.6.1.2 ควบคุมการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชเป็นสารอินทรีย์ที่มีความคงตัวต่ำ จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ง่ายทั้งในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymatic reaction) และไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non-enzymatic reaction) ตัวอย่างเช่นสารหอมระเหยในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จาก

อบเชย และ กานพลู ซึ่งประกอบไปด้วย *trans*-cinnamaldehyde และ eugenol รวมถึง oleuropein ซึ่งสารให้กลิ่นหลักในน้ำมันมะกอก (olive oil) มักเกิดการออกซิเดชันได้ง่าย จากการศึกษาพบว่า การเกิดสารประกอบอินคลูชันระหว่างสารหอมระเหยข้างต้นกับ β -CD จะช่วยลดการเกิดออโตออกซิเดชัน (auto oxidation) ของน้ำมันหอมระเหยลงเมื่อตรวจสอบด้วยเครื่อง oxidative differential scanning calorimetry (Szejtli และ Szente, 1979; Mourtzinis และคณะ, 2007; Hill และคณะ, 2013)

2.6.1.3 ปรับปรุงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นโดยสิ่งมีชีวิตอยู่ตลอดเวลาจากกระบวนการออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction reaction) มีผลต่อการทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์จนเกิดการรั่วไหลของประจุและเกิดการเสียหายของเซลล์ในที่สุด ถึงแม้ว่าในธรรมชาติจะมีกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ แต่หากเกิดการออกซิเดชันอาจมีผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ จึงควรต้องบริโภคสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเข้าไปเพื่อช่วยลดการเสื่อมของเซลล์อีกทางหนึ่ง โดยสารสกัดจากน้ำมันหอมระเหยของพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ดังกล่าว จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม และ ยา โดยพัฒนาให้สารต้านอนุมูลอิสระนี้คงประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ยกตัวอย่างเช่น β -caryophyllene เป็นองค์ประกอบสารให้กลิ่นหลักในน้ำมันหอมระเหยพริกไทยดำ (black pepper oil) carvacrol และ thymol ในน้ำมันหอมระเหยจากดอกยาร์โรว์ (yarrow oil) จะมีคุณสมบัติในการป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีขึ้นเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันระหว่างสารหอมระเหยกับ β -CD

2.6.1.4 ปรับปรุงสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่ทำลายเซลล์และก่อให้เกิดโรค ได้มีการนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากออริกาโน มี phenolic monoterpenoids เป็นสารประกอบหลัก ซึ่งมีสมบัติในการป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันกับ β -CD (Rakmai และคณะ, 2018)

2.6.2 การปรับปรุงคุณสมบัติด้านการละลายของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่มักจะละลายในน้ำมันที่มีความเป็นขี้ดต่ำ CDs เป็นสารที่เกิดขึ้นจากการจับตัวกันระหว่างโมเลกุลของกลูโคสที่มีโครงสร้างเป็นรูปกรวยกันตดที่ด้านนอกมีสมบัติชอบน้ำ ดังนั้นจึงสามารถละลายน้ำได้ ส่วนผิวภายในโพรงนั้นมีสมบัติไม่ชอบน้ำ จึงจับกับสารประเภทที่ไม่ชอบน้ำได้

ดี เช่น น้ำมันหอมระเหย ทั้งนี้ต้องเลือกขนาดของโมเลกุลสารที่จะนำมาเกิดสารประกอบอินคลูชันให้เหมาะสมกับขนาดของ CDs ที่สารนั้นเข้าไปจับด้วย ยกตัวอย่างสารในน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วย carvacrol, eugenol, linalool, 2-pentanoylfuran และ thymol เมื่อเกิดสารประกอบอินคลูชันกับ CDs พบว่าผลึกมีความสามารถในการดูดน้ำและความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การศึกษา phase solubility พบว่าการเกิดสารประกอบอินคลูชันของน้ำมันหอมระเหยจากโคมะกอกกับ β -CD ที่เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยได้มากกว่า 150% จึงสามารถนำสารประกอบอินคลูชันนี้ไปใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารได้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ น้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในสถานะของเหลว (Liang และคณะ, 2012)

2.6.3 การควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย

การปลดปล่อยสารสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารระเหยให้กลิ่นที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหย จะเกิดขึ้นช้า หรือ เร็ว ขึ้นอยู่กับสมบัติของสารหอมระเหยนั้นและปัจจัยภายนอกที่เข้ามากระตุ้น การควบคุมสารระเหยในน้ำมันหอมระเหย ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้ เช่น ต้องการให้สารหอมระเหยจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อได้รับความร้อน หรือในอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการควบคุมการปลดปล่อยให้เกิดอย่างคงที่เมื่ออาหารถูกเปิดออกสู่อากาศแวดล้อม โดยมีรายงานว่า สารประกอบอินคลูชันมีสมบัติในการกักเก็บสารให้กลิ่นเอาไว้ในโครงสร้างเป็นระยะเวลาานาน ซึ่งจะปลดปล่อยกลิ่นรสออกมาได้ภายในช่องปากในภาวะที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Rosenberg และคณะ, 1990) จากการศึกษาสารประกอบอินคลูชัน CDs ของ estragole ในน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและทาร์รากอน (tarragon oil) เกิดการปลดปล่อยสารให้กลิ่นอย่างช้า ๆ หลังจากชั่วโมงที่ 2 และพบว่ายังคงเหลือ estragole อยู่ประมาณ 37-44% ขึ้นอยู่กับชนิดของไซโคลเดกซ์ทรินที่ใช้ ในขณะที่ estragole ในน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและทาร์รากอน ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว ประมาณ 98% ภายใน 1 ชั่วโมง จึงสามารถบอกได้ว่าสารประกอบอินคลูชันมีประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยสารให้กลิ่นได้ นอกจากนี้สารประกอบอินคลูชันของ citral isomers ในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ รวมถึงน้ำมันหอมระเหยจากหอม (onion oil) และน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม (garlic oil) พบว่ามีความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยของสารให้กลิ่นได้ดีด้วยเช่นกัน (Ruktanonchai และคณะ, 2011)

บทที่ 3

อุปกรณ์ และ วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และ อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

น้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 98.0 % (บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด)

บีตาไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD) (บริษัท โตเกียว เคมีคอล อินดัสทรี จำกัด)

กระวาน (ร้านขายยาโบราณ สกุลโอสด, ประเทศไทย)

กานพลู (ร้านขายยาโบราณ สกุลโอสด, ประเทศไทย)

ผิวมะกรูดตากแห้ง (ร้านขายยาโบราณ สกุลโอสด, ประเทศไทย)

ดอกเก๊กฮวยตากแห้ง (ร้านขายยาโบราณ สกุลโอสด, ประเทศไทย)

หล่อฮังก้วย (ร้านขายยาโบราณ สกุลโอสด, ประเทศไทย)

พริกไทยดำ (บริษัท ไร่ธัญญา จำกัด, ประเทศไทย)

ยาสีฟัน Dentiste® (บริษัท สยาม เฮลท์ กรุ๊ป จำกัด, ประเทศไทย)

ลูกอม Hitto® (บริษัท ยูโรเปียนฟู้ด จำกัด, ประเทศไทย)

3.1.2 สารเคมี

2,4,6-trimethylpyridine (Sigma-Aldrich, Switzerland) (G.C.)

C₁₀ – C₄₀ saturated alkanes standard (Sigma-Aldrich, Switzerland) (G.C.)

ethanol (99.95%) (QRëC, New Zealand) (G.C.)

hexane (QRëC, New Zealand) (A.R.)

methanol (QRëC, New Zealand) (A.R.)

petroleum ether (Loba Chemie, India)	(A.R.)
potassium bromide (Loba Chemie, India)	(A.R.)
sodium chloride (Loba Chemie, India)	(A.R.)

3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์

centrifuge (Hettich รุ่น D-78532, Germany)

fourier transform infrared spectrometer (Perkin elmer รุ่น Spectrum one, Waltham, Massachusetts, USA)

gas chromatography mass spectrometer (GC-MS)

- cryostatic cooling device (CCD) Cooling pump (Gerstel, Germany)
- GC column (DB-5MS, Agilent Technologies, USA)
- GC system (Agilent Technologies รุ่น 7890B GC system, USA)
- MS (Agilent Technologies รุ่น 5977B GC/MSD Single Quad, USA)
- multipurpose sampler (MPS; Gerstel, Germany)
- temperature-programmable vaporization inlet (Gerstel CIS 4 PTV, Germany)
- Tenax®-packed liner (Gerstel glass liners, TenaxTA, Gerstel, Germany)
- thermal desorption unit (TDU) (Gerstel, Germany)

hot air oven (Gen Lab รุ่น PRIME, UK)

magnetic stirrer with heating plate (IKA รุ่น C-MAG HS7, Germany)

micropipette (Mettler Toledo, USA)

mini spray dryer (BÜCHI Labortechnik AG รุ่น B-290, Switzerland)

refrigerator (Sanyo รุ่น SF-C95, Japan)

rotary vacuum evaporator (BÜCHI รุ่น Rotavapor R-114, Switzerland)

scanning electron microscope (JEOL รุ่น JSM-IT300, Japan)

shaker (Innova รุ่น 2050, USA)

shaking water bath (Julabo รุ่น SW23, Germany)

sonicator (Elma รุ่น Elmasoniv E70H, Germany)

thermogravimetric analyzer (NETZSCH รุ่น TG 209 F3 Tarsus, Germany)

thermometer (Ebro รุ่น TFX410, Germany)

ultrasonicator (Hielscher รุ่น UP400S, Germany)

vacuum pump (Rocker รุ่น 3000, Taiwan)

whatman No.1 filter paper (Whatman, Maidstone, UK)

μ -vials 300 μ L (Gerstel, Germany)

เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS1602S/01, Switzerland)

เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)

3.2 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วยเทคนิค Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)

วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่น โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singkhornart และคณะ (2009) ปีเปิดน้ำมันหอมระเหยกะเพรา 100 μ L และ 2,4,6-trimethylpyridine (internal standard) (ภาคผนวก ก.1) ปริมาตร 5 μ L มีความเข้มข้น 782 ppm ลงในหลอด μ -vial ขนาด 300 μ L หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture (scientific industries, รุ่น GENIE2, USA) ที่ความเร็วระดับ 5 เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้ น้ำมันหอมระเหยและ internal standard ผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำตัวอย่างใน μ -vial ไปให้ความร้อนภายใน thermal desorption unit (TDU) เพื่อให้เกิดการปลดปล่อยสารระเหยที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$ C

เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับระบบ cooled injection system (CIS) เป็นตัวดักจับสารระเหยของน้ำมันกะเพร่าก่อนที่จะเริ่มให้ความร้อน โดยตั้งค่าอุณหภูมิที่ 10 °C เป็นเวลา 10 นาที และจะเพิ่มอุณหภูมิขึ้นจาก 40 °C ไปจนถึง 280 °C ภายในเวลา 5 นาที ที่อัตราเร็ว 12 °C/min เกิดการปลดปล่อยสารระเหยเข้าสู่ระบบของ gas chromatography (GC) ด้วยระบบการฉีดแบบ split mode (split ratio, 1:20 v/v) โดยตั้งอุณหภูมิ injector เป็น 230 °C ระบบจะปล่อยสารระเหยให้เข้าสู่คอลัมน์ โดยใช้ capillary คอลัมน์ชนิด DB-5MS (30 m x 0.25 µm i.d. x 0.25 µm film thickness; J&W, Agilent, USA) ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ oven ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 40 °C คงไว้ 5 นาที แล้วเพิ่มขึ้นในอัตราเร็ว 3 °C/min จนถึง 250 °C และคงไว้ 5 นาที ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา โดยมีอัตราการไหล 1 mL/min และ ionize voltage 70 eV ใช้ mass range ตั้งแต่ 40-350 m/z โดยมีอุณหภูมิ detector 280 °C แปรผลโดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (NIST version 17) ร่วมกับการคำนวณค่า linear retention index (LRI) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอัลเคน (C₁₀-C₄₀) (ภาคผนวก ก.2) คำนวณปริมาณของสารระเหยโดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารนั้น ๆ กับ 2,4,6-trimethylpyridine ที่ใช้เป็น internal standard ซึ่งจะรายงานเป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารระเหยชนิดนั้นต่อน้ำหนักตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกะเพร่า (ppm) (ภาคผนวก ก.3)

3.2.2 วิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพร่า

นำความเข้มข้นที่คำนวณได้จาก 3.2.1 มาหาค่า odor activity value (OAV) ดังสมการที่ 3.1 (Qian และ Wang, 2004)

$$\text{OAV} = \frac{\text{ปริมาณสารระเหยที่คำนวณได้ (ppm)}}{\text{odor threshold values}} \quad (3.1)$$

3.2.3 การเตรียมสารประกอบอินคลูชัน β -CD

การเตรียมสารประกอบอินคลูชัน ดัดแปลงจากวิธีของ Kfoury และคณะ (2015) ด้วยการละลาย β -CD ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 50 °C กวนผสมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 5-7 นาที จนได้สารละลายใส เมื่ออุณหภูมิของสารละลายลดลงมาที่ประมาณ 40 °C จึงผสมน้ำมันหอมระเหยใบ

กะเพรา ในอัตราส่วน 1:1 1:3 และ 1:5 (ภาคผนวก ก.4) เขย่าผสมที่ 250 rpm อุณหภูมิ 25 °C ควบคุมความดันเป็นระบบสุญญากาศ (0.8 bar) เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเขย่าผสมสารละลายที่ได้อย่างต่อเนื่องที่ความดันปกติ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำสารละลายไปทำแห้งด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) โดยใช้ magnetic stirrer กวนผสมสารละลายก่อนป้อนเข้าเครื่องทำแห้งตลอดเวลา เพื่อไม่ให้เกิดการตกตะกอน โดยเทคนิคการทำแห้ง ทำตามวิธีของ Hundre และคณะ (2014) โดยมี inlet temperature เป็น 120 °C และ outlet temperature เป็น 75-80 °C อัตราการป้อนเข้า 5 mL/min air flow rate 40 L/min หลังจากนั้นบรรจุผงของสารประกอบอินคลูชันในถุง aluminum laminate ที่ปิดสนิทแบบสุญญากาศ เก็บรักษาไว้ในกล่องที่ทึบแสงบรรจุทรายซิลิกาดูดความชื้น ที่อุณหภูมิ -40 °C เพื่อเก็บไว้ในการวิเคราะห์ขั้นตอนถัดไป

3.2.4 การศึกษาผลของการเกิดสารประกอบอินคลูชันของบีตาไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD)

3.2.4.1 การหาค่าผลผลิตในการห่อหุ้ม (encapsulation yield; EY)

ค่าผลผลิตในการห่อหุ้ม (EY) สามารถคำนวณได้ตามสมการด้านล่าง (ตามวิธีของ Kfoury และคณะ, 2015)

$$EY (\%) = \frac{\text{น้ำหนักสารประกอบอินคลูชัน } \beta\text{-CD หลังทำแห้ง}}{\text{น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราวมกับ } \beta\text{-CD ที่ใช้}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.4.2 การหา encapsulation efficiency (EE) และ loading capacity (LC)

ดัดแปลงวิธีจาก Chew และคณะ (2018) (ภาคผนวก ก.5)

3.2.4.3 การหาความสามารถในการละลาย (solubility index)

หาความสามารถในการละลายตามวิธีของ Chew และคณะ (2018) (ภาคผนวก ก.6)

3.2.4.4 การหาปริมาณความชื้น โดยวิธี air oven method

หาปริมาณความชื้นตามวิธีของ A.O.A.C. (2000) (ภาคผนวก ก.7)

3.2.4.6 การศึกษาสมบัติของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค Thermo gravimetry analysis (TGA)

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารด้วยความร้อนด้วยวิธีของ Zhang และคณะ (2018) (ภาคผนวก ก.8)

3.2.4.7 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของ β -CD น้ำมันหอมระเหยกะเพรา และสารประกอบอินคลูชัน β -CD ตามวิธีของ Yuan และคณะ (2015) (ภาคผนวก ก.9)

3.2.4.8 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) ซึ่งจะแสดงผลเป็นภาพ 3 มิติ เพื่อบอกขนาดรูปร่าง และลักษณะพื้นผิวของสารประกอบอินคลูชัน ตามวิธีของ Guimaraes และคณะ (2015) (ภาคผนวก ก.10)

3.2.5 การศึกษาสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD

เลือกตัวอย่างที่อัตราส่วนสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาสมบัติของสารประกอบอินคลูชันจากข้อ 3.2.4 เพื่อนำมาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.2.5.1 การศึกษาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD

สารประกอบอินคลูชัน 3 g ละลายใน hexane ปริมาตร 20 mL และผสมให้เข้ากัน โดยใช้ magnetic stirrer เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และชะด้วย hexane ปริมาตร 10 mL 3 ครั้ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างของแข็งที่เหลืออยู่ 1 g ใส่ลงใน volumetric flask ปริมาตร 10 mL และเปิด 2,4,6-trimethylpyridine ที่ใช้เป็น internal standard ปริมาตร 250 μ L ลงไปที่ตัวอย่าง และเติม ethanol จนครบกำหนดปริมาตร 10 mL (ethanol ที่เติมลงไปจะเข้าไปละลายพันธะของสารระเหยที่จับอยู่กับ β -CD (Galvão และคณะ, 2015) และนำไป vortex ที่

ความเร็วระดับ 5 เป็นเวลา 3 นาที ให้ตัวอย่างผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นจึงปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 100 μL ลงใน $\mu\text{-vial}$ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยให้กลั่นด้วยเทคนิค GC-MS ตามวิธีการในข้อ 3.2.1

3.2.5.2 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อน (heat stability) ของสารระเหยให้กลั่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน $\beta\text{-CD}$

บรรจุสารประกอบอินคลูชัน 3 g ในถ้วยอลูมิเนียม เก็บในตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิ 70 °C และ 100 °C เป็นเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลาจึงนำตัวอย่างมาเก็บไว้ใน desiccator จนกระทั่งตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันมีอุณหภูมิเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยให้กลั่นสำคัญ วิธีตามขั้นตอนที่ 3.2.5.1

3.2.5.3 การจำลองระยะเวลาการเก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันต่อความคงตัวของสารระเหยให้กลั่นสำคัญ

เก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันในถุง aluminum laminate ที่ปิดสนิทแบบสุญญากาศ ใน desiccator ที่อุณหภูมิห้อง 25 °C เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยวิเคราะห์ตัวอย่างทุก 1 เดือน ดังต่อไปนี้

I. วิเคราะห์ปริมาณสารระเหยให้กลั่นสำคัญด้วยเทคนิค GC/MS

โดยจะนำตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันมาวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยให้กลั่นสำคัญ ด้วยเทคนิค GC-MS ซึ่งจะใช้วิธีวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.5.1

II. การประเมินสมบัติด้านกลิ่นของสารประกอบอินคลูชัน

ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี modified quantitative descriptive analysis; modified QDA โดยประเมินความเข้ม (intensity) ของกลิ่นรสด้วยการระบุคะแนนลงใน scale แบบเส้น 15 cm (ภาคผนวก ข.1) และใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน (ชาย 5 คน และ หญิง 7 คน) จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ก่อนการทดสอบทางประสาทสัมผัสกับตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันจะมีขั้นตอนการกำหนดคุณลักษณะ (attribute) ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา โดยให้ผู้

ทดสอบแต่ละคนตมกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ที่ควบคุมภาวะในการเก็บรักษา ดังต่อไปนี้

- น้ำมันหอมระเหยที่บรรจุอยู่ในขวดอลูมิเนียม ฝาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 25 °C เก็บรักษา 1 เดือน (lot การผลิต 18/03/2020)
- น้ำมันหอมระเหยที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วใส โปรงแสง และเปิดฝา ที่อุณหภูมิ 25 °C เก็บรักษา 1 เดือน (lot การผลิต 18/03/2020)
- น้ำมันหอมระเหยที่บรรจุอยู่ในขวดขวดแก้วสีชา ฝาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 25 °C เก็บ 6 เดือน (lot การผลิต 03/11/2019)

โดยผู้ทดสอบจะต้องกำหนดและบรรยายคุณลักษณะต่าง ๆ ของน้ำมันดังกล่าว แสดงความคิดเห็นและตกลงร่วมกัน กำหนดคุณลักษณะให้เป็นเอกลักษณ์และหาตัวอย่างอ้างอิงเพื่อเป็นตัวแทนอธิบายคุณลักษณะนั้น ๆ หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างอ้างอิงที่ได้จากการตกลงร่วมกันมาเลือกและให้คะแนนความเข้ม โดยต้องผ่านความเห็นชอบจากผู้ทดสอบทุกคน ในการทดสอบแต่ละรอบใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง (Beddow และ Wong, 1987) รวมระยะเวลาในการฝึกฝนทั้งหมด 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทดสอบทางประสาทสัมผัสกับตัวอย่างสารประกอบอินคลูชัน 1 g ละลายในน้ำกลั่น 10 mL บรรจุลงในถ้วยพลาสติกทรงกลมปริมาตร 50 mL (Molteberg และคณะ, 1997) ให้คะแนนความเข้มโดยเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละคุณลักษณะ ทั้งนี้ผู้ทดสอบสามารถเลือกเวลาในการหยุดพักระหว่างการประเมินความเข้มของแต่ละคุณลักษณะได้สามารถเมล็ดคาแพที่จัดไว้ให้ ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ครั้ง

3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

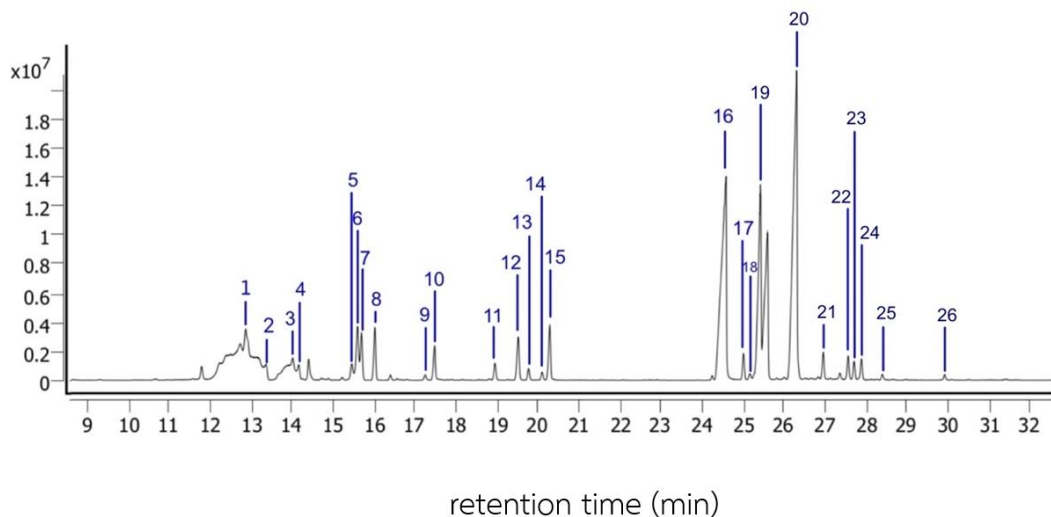
วางแผนการทดลองการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญและศึกษาผลของการเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD แบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ และวางแผนการศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชันและการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ RCBD ทดลอง 3 ซ้ำ โดยรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละชุดข้อมูล แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics version 22 (IBM Corporation, USA)

บทที่ 4

ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบ retention index (RI) และปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วยเทคนิค gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) โดยเปรียบเทียบ mass spectrum ของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรากับฐานข้อมูล (national institute of standards and technology; NIST, version 17) คำนวณปริมาณสารระเหยโดยเทียบกับ 2,4,6-trimethylpyridine ที่ใช้เป็น internal standard แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 chromatogram ของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

จากการวิเคราะห์พบว่าในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา มีองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นถึง 26 ชนิด (ตารางที่ 4.1) โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ monoterpene, monoterpenoid, phenyl- propanoid, sesquiterpene และ sesquiterpenoid oxide โดยสารระเหยหลักที่พบในปริมาณ สูงสุดคือ β -caryophyllene (19443 ppm), eugenol (16280 ppm) และ methyl eugenol (8140 ppm) จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kothari และคณะ (2004)

ซึ่งพบสารระเหยให้กลิ่นทั้ง 3 ชนิดนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของ phenylpropanoid ได้แก่ eugenol และ methyl eugenol รวมถึง sesquiterpene ได้แก่ β -caryophyllene นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบ สารระเหยให้กลิ่นชนิดอื่น ๆ ซึ่งจำแนกอยู่ในกลุ่มของ monoterpene ได้แก่ α -pinene (4261 ppm), camphene (2276 ppm), sabinene (1666 ppm), β -pinene (654 ppm), p-cymene (681 ppm), D-limonene (2154 ppm), β -ocimene (1629 ppm) และ γ -terpinene (199 ppm) ในกลุ่ม monoterpene ได้แก่ eucalyptol (1582 ppm), linalool (1170 ppm), camphor (568 ppm), borneol (1559 ppm), 4-terpinenol (375 ppm), α -terpineol (263 ppm), และ estragole (1844 ppm) ในกลุ่มของ sesquiterpene ได้แก่ copaene (835 ppm), β -elemene (249 ppm), α -humulene (914 ppm), germacrene D (826 ppm), β -humulene (588 ppm), α -selinene (714 ppm) และ α -cadinene (200 ppm) และในกลุ่ม ของ sesquiterpene oxide ได้แก่ caryophyllene oxide (207 ppm) ทั้งนี้สารระเหยที่เป็น องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีปริมาณแตกต่างกัน จะขึ้นอยู่กับอายุและส่วนของ กะเพราที่นำมาสกัด รวมถึงสภาพอากาศ ฤดูกาล และสถานที่ปลูกด้วย จากการศึกษาของ Dey และ Choudhuri (1983) พบว่าใบกะเพราอายุ 5-10 วัน ที่ปลูกในประเทศอินเดียมีปริมาณ methyl eugenol สูงที่สุด ในขณะที่ประเทศบังกลาเทศ เยอรมัน คิวบา และ บราซิล พบ eugenol เป็นสาร ระเหยที่มีปริมาณมากที่สุดใมน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (Pino และคณะ, 1998; Machado และคณะ , 1999; Nakatsu และคณะ, 2000; Mondello และคณะ, 2002)

แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารระเหยให้กลิ่นไม่ได้บ่งบอกถึงความสำคัญว่าสารระเหยนั้นจะ แสดงลักษณะกลิ่นมากหรือน้อย จึงต้องพิจารณาค่า odor activity value (OAV) ของสารระเหยที่ เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (ตารางที่ 4.1) จากการศึกษาพบว่าค่า OAV ของ eugenol (1662224), linalool (1462500), eucalyptol (527333), β -caryophyllene (303797), copaene (139166), methyl eugenol (119705) และ estragole (115250) เป็นสาร ระเหยให้กลิ่นที่สำคัญ เนื่องจากมีค่า OAV สูง จากการคำนวณเทียบกับ odor threshold ของสารที่ ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่จะสามารถรับรู้กลิ่นได้ ทำให้ทราบว่าสารระเหยให้กลิ่นเหล่านี้เป็นองค์ประกอบ ที่แสดงลักษณะกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sonmezdag และคณะ 2018 ที่ศึกษาสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในใบกะเพราแห้งจากประเทศตุรกีและอิหร่าน

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

peak	chemical family and compound	RI	relative concentration (ppm)	odor threshold value in air (ppm)	odor activity value (OAV)	odor characteristics	identification ^l
monoterpene							
1	α -pinene	933	4261	2.1000 ^a	2029	herbal, cooling	MS, RI
2	camphene	947	2276	1.8600 ^a	1223	woody, minty, spicy	MS, RI
3	sabinene	981	1666	0.9800 ^d	1700	woody, spicy	MS, RI
4	β -pinene	986	654	2.5400 ^a	275	herbal, minty	MS, RI
5	p-cymene	1034	681	0.1000 ^a	6810	citrus	MS, RI
6	D-limonene	1039	2154	1.2000 ^a	1795	citrus, sweet	MS, RI
8	β -ocimene	1054	1629	0.0340 ^c	47911	floral	MS, RI
9	γ -terpinene	1099	199	0.6000 ^a	332	sweet, citrus	MS, RI
monoterpenoid							
7	eucalyptol	1042	1582	0.0003 ^a	527333	minty	MS, RI
10	linalool	1107	1170	0.0008 ^a	1462500	floral	MS, RI
11	camphor	1160	568	1.3600 ^a	418	woody	MS, RI
12	borneol	1181	1559	0.1800 ^a	8661	woody	MS, RI
13	4-terpinenol	1190	375	1.2900 ^a	315	woody	MS, RI
14	α -terpineol	1202	263	6.8000 ^a	39	floral	MS, RI
15	estragole	1209	1844	0.0160 ^{f, k}	115250	liquorice-like	MS, RI
phenylpropanoid							
16	eugenol	1379	16280	0.0098 ^b	1662224	clove-like, spicy	MS, RI
20	methyl eugenol	1421	8140	0.0680 ^{e, k}	119705	clove-like, spicy	MS, RI
sesquiterpene							
17	copaene	1396	835	0.0060 ^{s, k}	139166	spicy, woody	MS, RI
18	β -elemene	1402	249	-	-	herbal	MS, RI
21	β -caryophyllene	1452	19443	0.0640 ^c	303797	spicy, woody	MS, RI
22	α -humulene	1480	914	0.3900 ^d	2344	woody	MS, RI

24	germacrene D	1506	826	1.8000 ^{h,k}	458	woody, spicy	MS, RI
25	β -humulene	1513	588	0.3900 ^{i,k}	1507	woody	MS, RI
26	α -selinene	1521	714	0.1500 ^{h,k}	4760	peppery	MS, RI
27	α -cadinene	1543	200	0.1200 ^{j,k}	1667	dry woody	MS, RI

sesquiterpenoid

oxide

28	caryophyllene oxide	1610	207	0.4100 ^{i,k}	504	dry woody	MS, RI
----	------------------------	------	-----	-----------------------	-----	-----------	--------

RI จากการคำนวณกับสารละลายมาตรฐาน alkanes (C₁₀-C₄₀)

ppm คือหน่วยที่บอกปริมาณของสารระเหยชนิดนั้นต่อน้ำหนักตัวอย่างในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

กำหนด response factor = 1

^a Padrayuttaw และคณะ, 2001

^b Zeller และ Rychlik, 2007

^c Niu และคณะ, 2020

^d Boonbumrung และคณะ, 2001

^e Lorjaroenphon และ Cadwallader, 2014

^f Sonmezdag และคณะ, 2018

^g Cui และคณะ, 2010

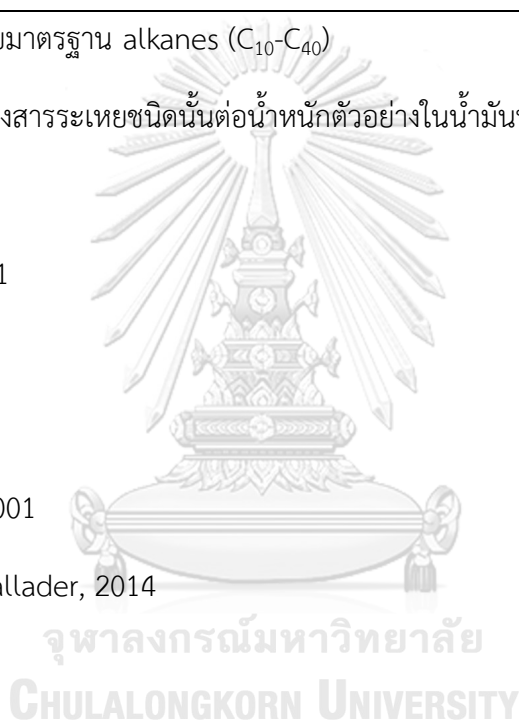
^h Sun และคณะ, 2014

ⁱ Tamura และคณะ, 2001

^j Rychlik และคณะ, 1998

^k odor threshold value in water (ppm)

^l identification based on comparison of the mass spectrum (MS)



4.2 ปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้ม (encapsulation yield) ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

ในกระบวนการเกิดสารประกอบอินคลูชัน บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD) ทำหน้าที่ห่อหุ้ม น้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีการแปรอัตราส่วนน้ำมันหอมระเหย: β -CD 1:1 1:3 และ 1:5 เมื่อผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย จะได้ผลิตภัณฑ์ของสารประกอบอินคลูชันในรูปของผงแห้ง จึงต้องมีการคำนวณปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มของสารประกอบอินคลูชันหลังการทำแห้ง เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิต ซึ่งแสดงถึงความคุ้มค่าในการผลิตระดับอุตสาหกรรม ผลของปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มแสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 มีปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้ม 59.72% ซึ่งเป็นปริมาณสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคืออัตราส่วน 1:3 (45.51%) และ 1:1 (33.07%) ตามลำดับ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากปริมาณอัตราส่วนระหว่าง β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา พบว่าการเพิ่มสัดส่วนของ β -CD จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำแห้ง เนื่องจาก β -CD ที่อยู่ในโถแก้วอบแห้ง (drying chamber) สามารถดูดความชื้นในอากาศได้ดี ส่งผลให้ความชื้นในอากาศภายในโถแก้วอบแห้งลดลง จึงเกิดการถ่ายโอนความชื้นจากอนุภาคไมโครแคปซูลสู่ลมร้อนที่อยู่ภายในโถแก้วอบแห้ง ส่งผลให้ผงของสารประกอบอินคลูชันไม่เกาะติดกันเอง และยังสามารถลดการแห้งติดของผงอินคลูชันกับผนังโถแก้วอบแห้งของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยอีกด้วย จึงทำให้มีปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มสูงขึ้น (Santana และคณะ, 2016) ทั้งนี้อุณหภูมิลมร้อนเข้ายังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้ม กล่าวคือ อุณหภูมิลมร้อนเข้ามีผลต่ออัตราการระเหยของน้ำในสารละลาย โดยความร้อนที่สูงขึ้นจะทำให้บริเวณผิวด้านนอกของ β -CD แห้งและเกิดเป็นฟิล์ม (film formation) ซึ่งมีลักษณะเป็นไมโครแคปซูลที่มาจาก การห่อหุ้มโมเลกุลน้ำมันหอมระเหยกะเพราไว้ภายใน จากงานวิจัยของ Laohasongkram และคณะ (2011) ศึกษาความเหมาะสมของอุณหภูมิลมร้อนเข้าของสารห่อหุ้มกับน้ำมันชนิดต่าง ๆ พบว่าอุณหภูมิลมร้อนเข้าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 150-200 °C แต่เนื่องจากองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราบางตัว เช่น β -caryophyllene มีจุดเดือดอยู่ที่ประมาณ 130 °C หากใช้อุณหภูมิลมร้อนเข้าที่สูงเกินไป อาจทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นชนิดนี้ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้อุณหภูมิลมร้อนเข้าในกระบวนการทำแห้งที่ 120 °C เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการระเหยที่จะส่งผลถึงการสูญเสีย

องค์ประกอบของสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา เมื่อเกิดการป้อนฉีดสารละลายผ่านหัวฉีด atomizer ฝอยละอองขนาดเล็กเหล่านี้จึงได้รับความร้อนที่ไม่สูงนัก ทำให้เกิดการระเหยของน้ำออกจากผิวของ β -CD ซ้ำลง โดยเฉพาะสารประกอบอินคลูชันที่มีปริมาณ β -CD น้อย จะทำให้การถ่ายโอนความชื้นของอนุภาคสู่ลมร้อนภายในโถแก้วอบแห้งลดลง ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ผงของสารประกอบอินคลูชันบางส่วนเกาะติดอยู่ที่บริเวณผนังโถแก้วอบแห้งของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งจะทำให้ปริมาณผลผลิตการห่อหุ้มของสารประกอบอินคลูชันที่ได้นั้นลดลงด้วย

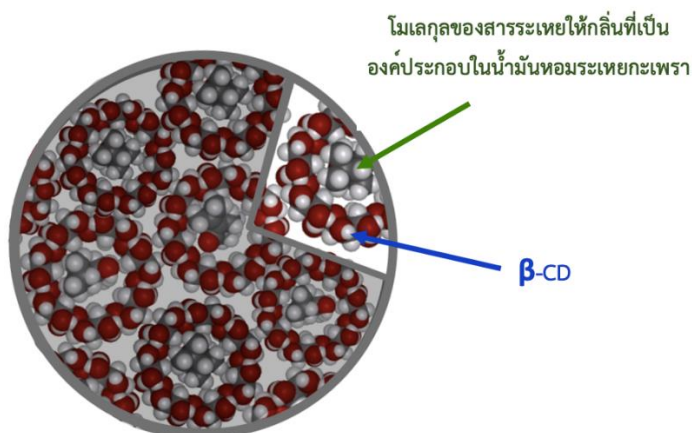
ตารางที่ 4.2 ปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยกะเพราของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

อัตราส่วนของสารประกอบอินคลูชัน	ผลผลิตการห่อหุ้ม (%)
1:1	33.07 ^a \pm 2.59
1:3	45.51 ^b \pm 3.56
1:5	59.72 ^c \pm 2.57

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) และค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.3 ประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย (encapsulation efficiency; EE) และความสามารถในการบรรจุน้ำมันหอมระเหย (loading capacity; LC) ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

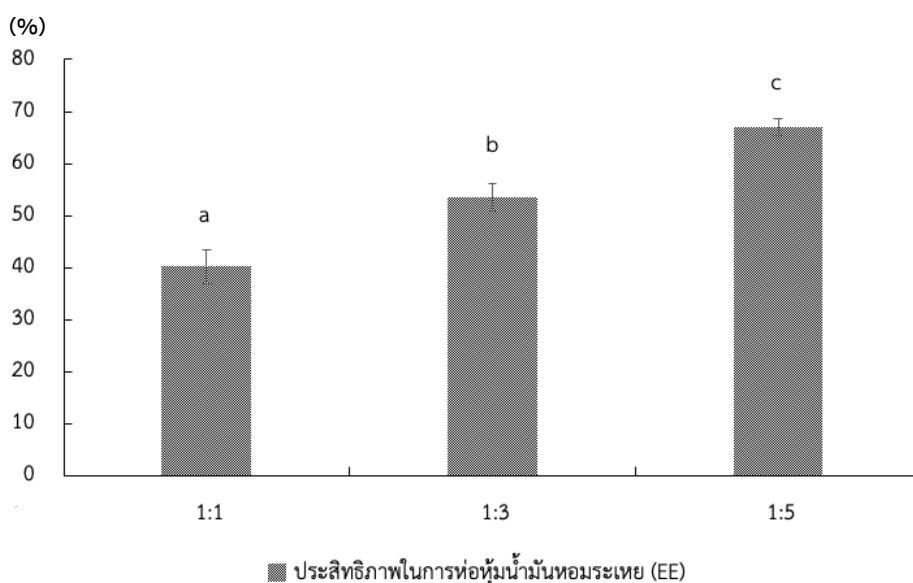
น้ำมันหอมระเหยกะเพราที่อยู่ในกระบวนการเกิดสารประกอบอินคลูชัน จะเข้าไปเกิดอันตรกิริยาดังดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำกับพื้นที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD (รูปที่ 4.2) ทำให้สามารถกักเก็บสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยเอาไว้ได้ เมื่อผ่านกระบวนการทำแห้ง ความร้อนจะทำให้ น้ำที่ผิวของสารประกอบระเหยออกไป เกิดเป็นฟิล์มที่ห่อหุ้มโมเลกุลน้ำมันหอมระเหยไว้



รูปที่ 4.2 โครงสร้างไมโครแคปซูลของสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา
ที่มา: ดัดแปลงจาก Ciobanu และคณะ (2013)

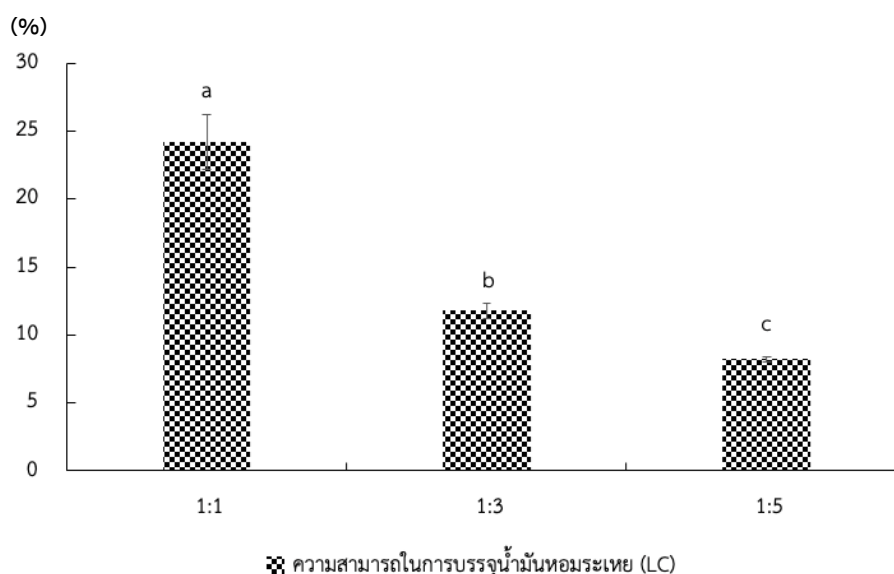
จึงจำเป็นต้องหาอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยและ β -CD ที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบอินคลูชัน เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ในไมโครแคปซูลได้ดี หากสารประกอบอินคลูชันมีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยสูง จะแสดงถึงความความคงตัวของน้ำมันจากปัจจัยภายนอก เช่น ออกซิเจน แสง และความร้อน ทำให้เกิดการออกซิเดชันหรือการระเหยของสารระเหยให้กลิ่นลดลง

รูปที่ 4.3 แสดง EE ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ในอัตราส่วนที่ต่างกันไป พบว่าสารประกอบอินคลูชันทุกอัตราส่วนมีค่า EE ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตั้งแต่ 36.24% ถึง 57.01% โดยสารประกอบอินคลูชันน้ำมันหอมระเหย: β -CD ที่อัตราส่วน 1:5 มีค่า EE สูงที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:3 และ 1:1 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าสัดส่วนของ β -CD ส่งผลถึงประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่อยู่ในไมโครแคปซูล หากใช้ β -CD ในปริมาณน้อยเกินไป อาจจะทำให้มีปริมาณสารที่หุ้มไม่มากพอต่อการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำมันส่วนใหญ่ที่ไม่ได้เกิดอันตรกิริยากับพื้นที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD นั้นยังกระจายอยู่ที่บริเวณผิวของไมโครแคปซูล ประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันของสารประกอบอินคลูชันจึงลดลง



รูปที่ 4.3 ประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย (EE) ของสารประกอบอินคลูชัน ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) และค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน กำกับในกราฟแท่งสีเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการศึกษาของ Zhang และคณะ (2018) พบว่าการเกิดสารประกอบอินคลูชันของน้ำมันหอมระเหยจากซิงกับ β -CD ที่อัตราส่วน 1:5 (น้ำมันหอมระเหย: β -CD) มีค่า EE สูงที่สุด และที่อัตราส่วน 1:3 และ 1:4 จะมีค่า EE ลดลงตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามหากมีการใช้ β -CD เป็นสารห่อหุ้มในปริมาณมากเกินไป ถึงแม้จะทำให้มีค่า EE สูงขึ้นแต่อาจจะทำให้ไม่คุ้มทุนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (Frascareli และคณะ, 2012) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบ β -CD กับสารห่อหุ้มชนิดอื่น ๆ เช่น โมลโตเดกซ์ทริน พบว่าสารประกอบอินคลูชัน β -CD ยังมี EE ไม่สูงมากนัก เนื่องจาก β -CD นั้นเป็นสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ถูกตัดแปรด้วยกระบวนการทางเอนไซม์จากแป้งมันสำปะหลัง (วันทนี น้อยจินดา และ อินทาวุธ สรรพพรสถิตย์, 2562) ในขั้นตอนการเตรียมสารประกอบอินคลูชัน เมื่อ β -CD ละลายในน้ำจะให้สารที่มีลักษณะเป็นไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) มีสมบัติเป็นสารก้ออิมัลชันได้แต่ก็ยังมีประสิทธิภาพต่ำ (ธีระวัฒน์ บุญโสม และ เอกชัย คำเกลี้ยง, 2561) จึงต้องใช้ร่วมกับสารห่อหุ้มชนิดอื่น เพื่อเพิ่มความสามารถในการเกิดอิมัลชันทำให้สารประกอบอินคลูชันมีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันที่สูงขึ้น



รูปที่ 4.4 ความสามารถในการบรรจุไขมันหอมระเหย (LC) ของสารประกอบอินคลูชัน

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) และค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันกำกับในกราฟแท่งสี่เหลี่ยมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่า LC (รูปที่ 4.4) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกปริมาณไขมันหอมระเหยทั้งหมดต่อน้ำหนักของสารประกอบอินคลูชัน แต่ไม่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการกักเก็บไขมันหอมระเหยว่ามีปริมาณไขมันมากหรือน้อยที่ถูกกักเก็บไว้ภายในไมโครแคปซูล เนื่องจากค่า LC นี้แสดงถึงปริมาณไขมันหอมระเหยทั้งหมดในสารประกอบ ซึ่งเป็นปริมาณที่รวมไขมันที่อยู่ภายในไมโครแคปซูลและไขมันที่ผิวของไมโครแคปซูลด้วย จากการศึกษาพบว่าค่า LC ของสารประกอบอินคลูชันไขมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD ที่อัตราส่วน 1:1 มีค่า LC สูงที่สุดคือ 24.19% รองลงมาคือที่อัตราส่วน 1:3 (11.78%) และ 1:5 (8.25%) ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kfoury และคณะ (2015) ที่ศึกษาการเกิดสารประกอบอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (CDs) กับไขมันหอมระเหยจากโหระพาและทาร์รากอน และพบว่าค่า LC ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 มีค่าสูงที่สุดถึงแม้จะมีค่า EE ต่ำที่สุดก็ตาม เนื่องจากที่อัตราส่วนนี้ใช้สัดส่วนของ β -CD ในปริมาณน้อย ทำให้มีจำนวนสารห่อหุ้มในปริมาณที่ไม่มากพอต่อการกักเก็บไขมันไว้ภายในไมโครแคปซูล ไขมันส่วนใหญ่จึงยังกระจายและเกาะอยู่ที่บริเวณผิวของไมโครแคปซูลเป็นผลให้มีค่า LC สูง ซึ่งสวนทางกับค่าของ EE

4.4 ความสามารถในการละลาย (solubility)

ความสามารถในการละลายถือเป็นปัจจัยเกี่ยวข้องกับคุณภาพของสารประกอบอินคลูชัน เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม หากผงแห้งของสารประกอบอินคลูชันละลายน้ำได้ไม่ดี จะส่งผลถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดความยุ่งยากและไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค จากการทดลองพบว่า β -CD ปกติ ละลายน้ำได้เพียง 3.65% ที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Linert และคณะ (1992) ที่ศึกษาความสามารถในการละลายของไซโคลเดกซ์ทริน (CDs) ชนิดต่าง ๆ พบว่าที่อุณหภูมิห้อง β -CD นั้นสามารถละลายน้ำได้เพียง 1.85 g/100 mL เท่านั้น ทั้งนี้เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยซึ่งไม่สามารถละลายน้ำได้โดยธรรมชาติ หากนำมาทำให้เกิดกระบวนการห่อหุ้มโดยใช้ β -CD ก็จะมีโอกาสในการละลายน้ำของน้ำมันหอมระเหยได้มากขึ้น จากการทดลองพบว่าความสามารถในการละลายของสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน มีค่าการละลายอยู่ในช่วง 20.50% ถึง 35.36% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วน 1:5 มีค่าการละลายต่ำที่สุด อาจเนื่องจากที่อัตราส่วนนี้มีปริมาณ β -CD มากกว่าจึงทำให้มีค่าการละลายต่ำกว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:3 ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการละลายได้มากกว่า ทั้งนี้สามารถอธิบายความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชันได้ เนื่องจากที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD สามารถเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลกับน้ำมันหอมระเหยด้วยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction), แวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) และ แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole) จึงทำให้สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยได้ดี ในขณะที่ผิวภายนอกของ β -CD นั้นมีสมบัติที่มีขั้ว เนื่องจากวงของน้ำตาลแอลฟา-ดี-กลูโคส มีการจัดเรียงตัวกันโดยให้ secondary hydroxyl group ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 รวมถึง primary hydroxyl group ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 หันออกอยู่บริเวณผิวด้านนอกของโครงสร้าง ทำให้สารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่กักเก็บน้ำมันหอมระเหยกะเพราไว้แล้วนั้นมีความสามารถในการละลายในน้ำได้ดี (Abarca และคณะ, 2016)

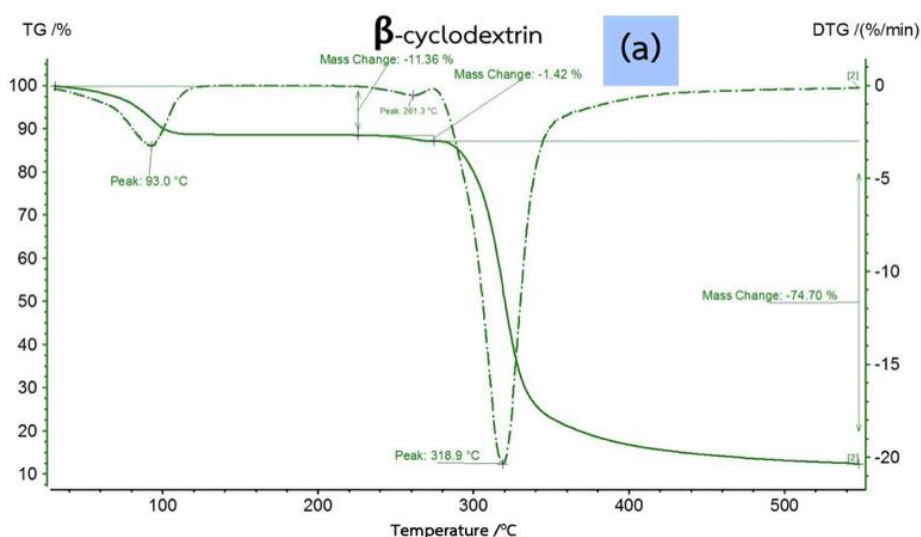
ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการละลายของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

อัตราส่วนของสารประกอบอินคลูชัน	ความสามารถในการละลาย (%)
β -CD	$3.65^a \pm 0.48$
1:1	$35.36^b \pm 1.17$
1:3	$30.08^c \pm 0.98$
1:5	$20.50^d \pm 0.14$

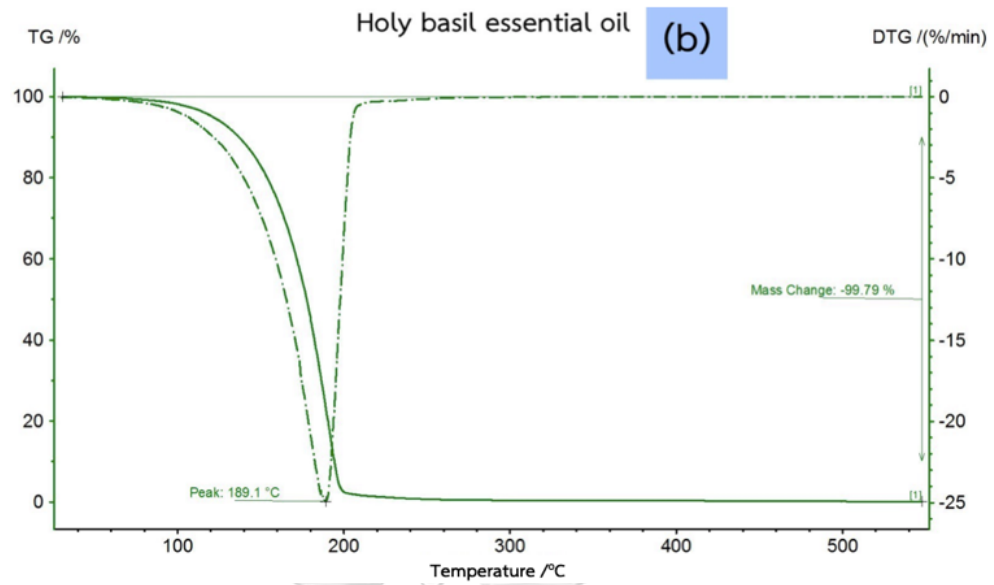
ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) และค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.5 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค thermo gravimetry analysis (TGA)

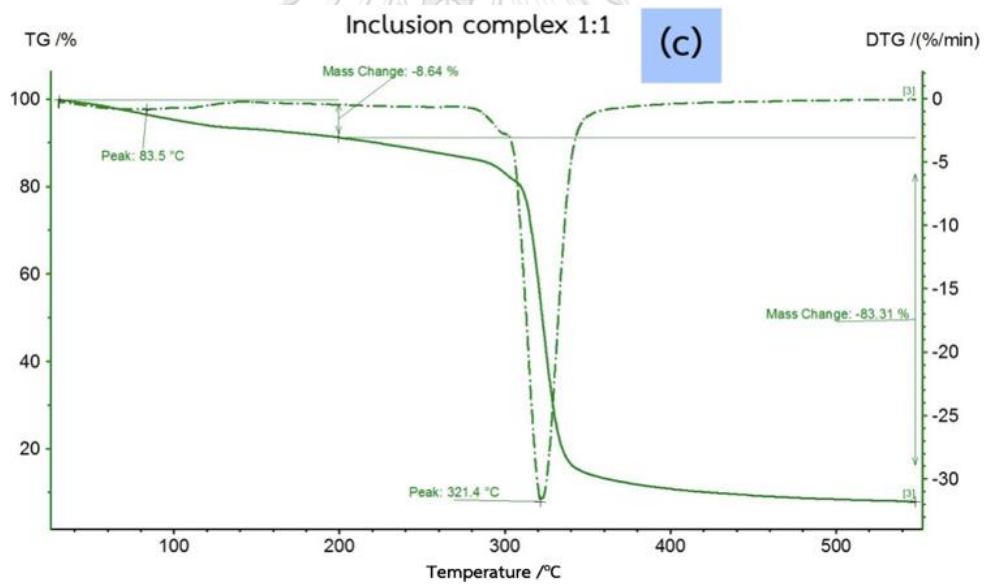
TGA คือเทคนิคการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารด้วยความร้อน เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของ β -CD (รูปที่ 4.5), น้ำมันหอมระเหยกะเพรา (รูปที่ 4.6) และสารประกอบอินคลูชัน β -CD (รูปที่ 4.7 - 4.9)



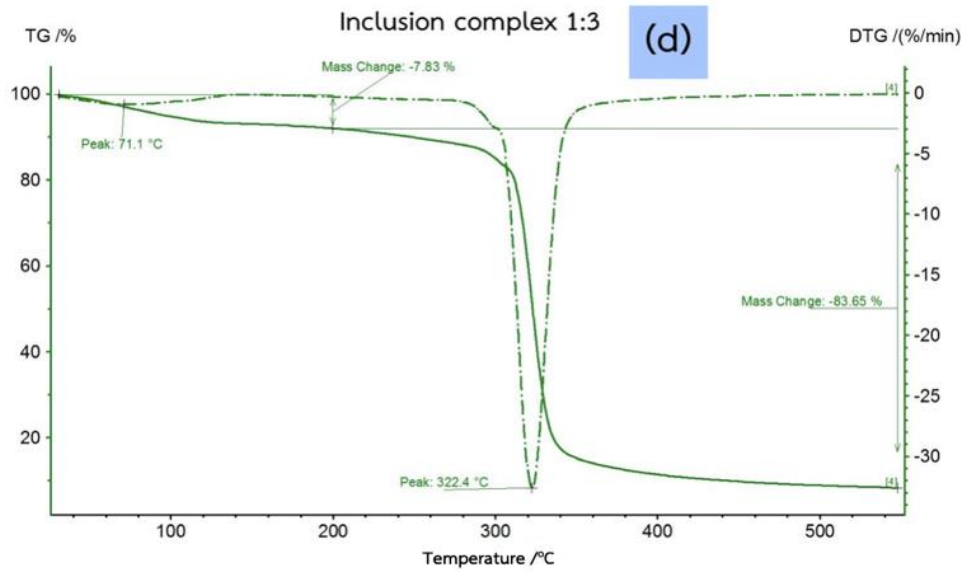
รูปที่ 4.5 TGA ของ β -CD



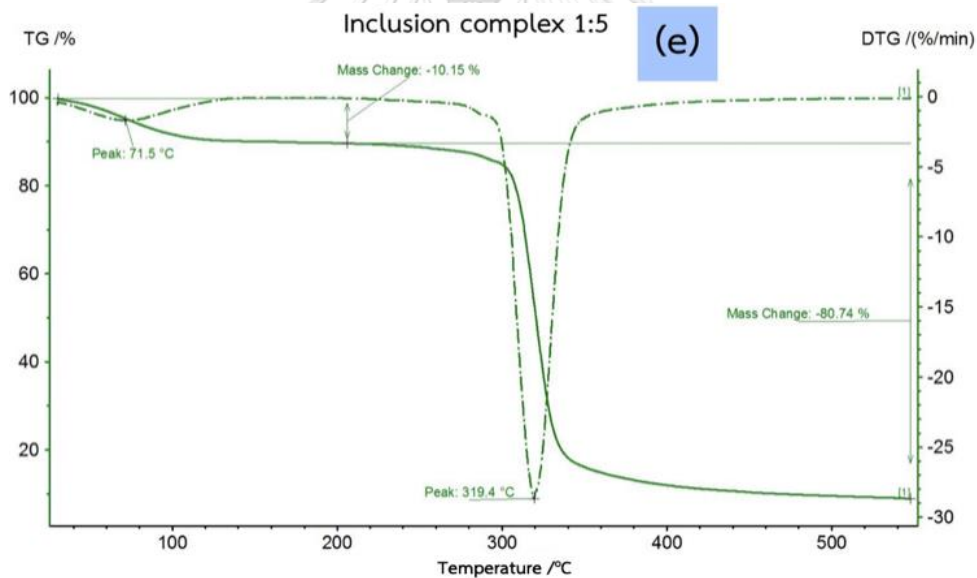
รูปที่ 4.6 TGA ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา



รูปที่ 4.7 TGA ของสารประกอบอินclusionชั้นที่อัตราส่วน 1:1



รูปที่ 4.8 TGA ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:3



รูปที่ 4.9 TGA ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของ β -CD (รูปที่ 4.5) พบว่ามี 3 ช่วงอุณหภูมิที่เกิดการสูญเสียน้ำหนักมวลสาร กล่าวคือในช่วงแรกที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 100 °C มีน้ำหนักมวลสารที่หายไป 11.36% แสดงถึงการระเหยของน้ำอิสระ (free water) ในโมเลกุล β -CD (Giordano และคณะ,

2001) และในช่วงที่ 2 คือที่อุณหภูมิ 255 °C มีน้ำหนักมวลสารหายไป 1.42% สัมพันธ์กับการระเหยของโมเลกุลน้ำที่อยู่ภายใน (bound water) และในช่วงสุดท้าย เกิดการสูญเสียน้ำหนักของมวลสารถึง 74.70% ที่อุณหภูมิ 320 °C แสดงถึงการสูญเสีย (degradation) ของโมเลกุล β -CD (Hädärugä และคณะ, 2017) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (b) พบว่าในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 60 - 189 °C เกิดการสูญเสียน้ำหนักของมวลสารไป 99.79% เนื่องจากเกิดการระเหยของน้ำและสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ทั้งนี้เทคนิควิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารด้วยความร้อน บ่งชี้ได้ว่า β -CD สามารถเกิดสารประกอบอินคลูชันกับน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ เนื่องจากช่วงอุณหภูมิการสูญเสียน้ำหนักมวลสารของน้ำมันหอมระเหยกะเพราไม่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักในสารประกอบอินคลูชัน ในขณะที่สารประกอบอินคลูชันทั้ง 3 อัตราส่วนคือ 1:1 (รูปที่ 4.7) 1:3 (รูปที่ 4.8) และ 1:5 (รูปที่ 4.9) นั้นมีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสารคล้ายกับ β -CD แต่จะมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในช่วงแรก กล่าวคือที่อัตราส่วน 1:5 มีการใช้ β -CD ในปริมาณมากทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการระเหยของน้ำอิสระมากกว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนอื่น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Abarca และคณะ (2016) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารด้วยความร้อนในสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยในอัตราส่วนที่ต่างกันได้ เมื่อพิจารณาน้ำหนักที่หายไปของสารประกอบอินคลูชันในช่วงที่ 3 พบว่าที่อัตราส่วน 1:3 มีการสูญเสียน้ำหนักมวลสารถึง 83.65% รองลงมาคือ อัตราส่วน 1:1 (83.31%) และ อัตราส่วน 1:5 (80.74%) แสดงถึงการสูญเสียน้ำหนักของสารประกอบอินคลูชันที่เกิดเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในโมเลกุล β -CD รวมถึงน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายใน เมื่อสารประกอบได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงทำให้ β -CD ที่ทำหน้าที่เป็นสารห่อหุ้มเกิดการสูญเสีย จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักของโมเลกุลน้ำมันที่ยึดจับอยู่ที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ด้วย (Gong และคณะ, 2014) จึงอาจกล่าวได้ว่าการเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราจะช่วยทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยมีความคงตัวต่อความร้อนเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มด้วย β -CD (Das และคณะ, 2013)

4.6 ปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

จากผลวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารประกอบอินคลูชันด้วยความร้อน (TGA) พบว่า การหายไปของน้ำหนักสารในช่วงแรก คือการระเหยของโมเลกุลน้ำอิสระที่มีอยู่ในสารประกอบอินคลูชัน ซึ่งสามารถแสดงถึงปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชันได้ และเมื่อเทียบเคียงผลการศึกษาจากงานวิจัยของ Hädärugä และคณะ (2017) ที่วิเคราะห์สมบัติของสารด้วย TGA รายงานว่า β -CD มีความชื้น 13.31% เป็นไปตามสมบัติทางโครงสร้างโมเลกุล กล่าวคือ β -CD มีพื้นที่ผิวภายนอกและพื้นที่ผิวบริเวณโพรงภายใน จึงทำให้มีโอกาสดูดความชื้นหรือสัมผัสกับน้ำได้มาก เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชันทั้ง 3 อัตราส่วน พบว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 มีปริมาณความชื้นสูงที่สุดจากการวิเคราะห์ด้วย TGA และวิธีตาม AOAC (ตาราง 4.4) คือ 10.15% และ 6.58% ตามลำดับ รองลงมาคือที่อัตราส่วน 1:3 คือ 7.83% และ 5.39% ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 1:1 คือ 8.64% และ 5.33% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของ β -CD ในสารประกอบอินคลูชันมีสัมพันธ์กับปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของ β -CD มีโพรงอยู่ภายในจึงทำให้น้ำและความชื้นมีโอกาสที่จะอยู่ในโมเลกุลมาก แต่เมื่อมีการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหย โมเลกุลของน้ำมันจะเข้าไปเกิดอันตรกิริยาแทนที่โมเลกุลของน้ำ จึงทำให้น้ำที่จับอยู่บริเวณนั้นถูกดันออกมา ความชื้นในสารประกอบอินคลูชันจึงลดลงเมื่อเทียบกับ β -CD ปกติ (Galvão และคณะ, 2015)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณความชื้นของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

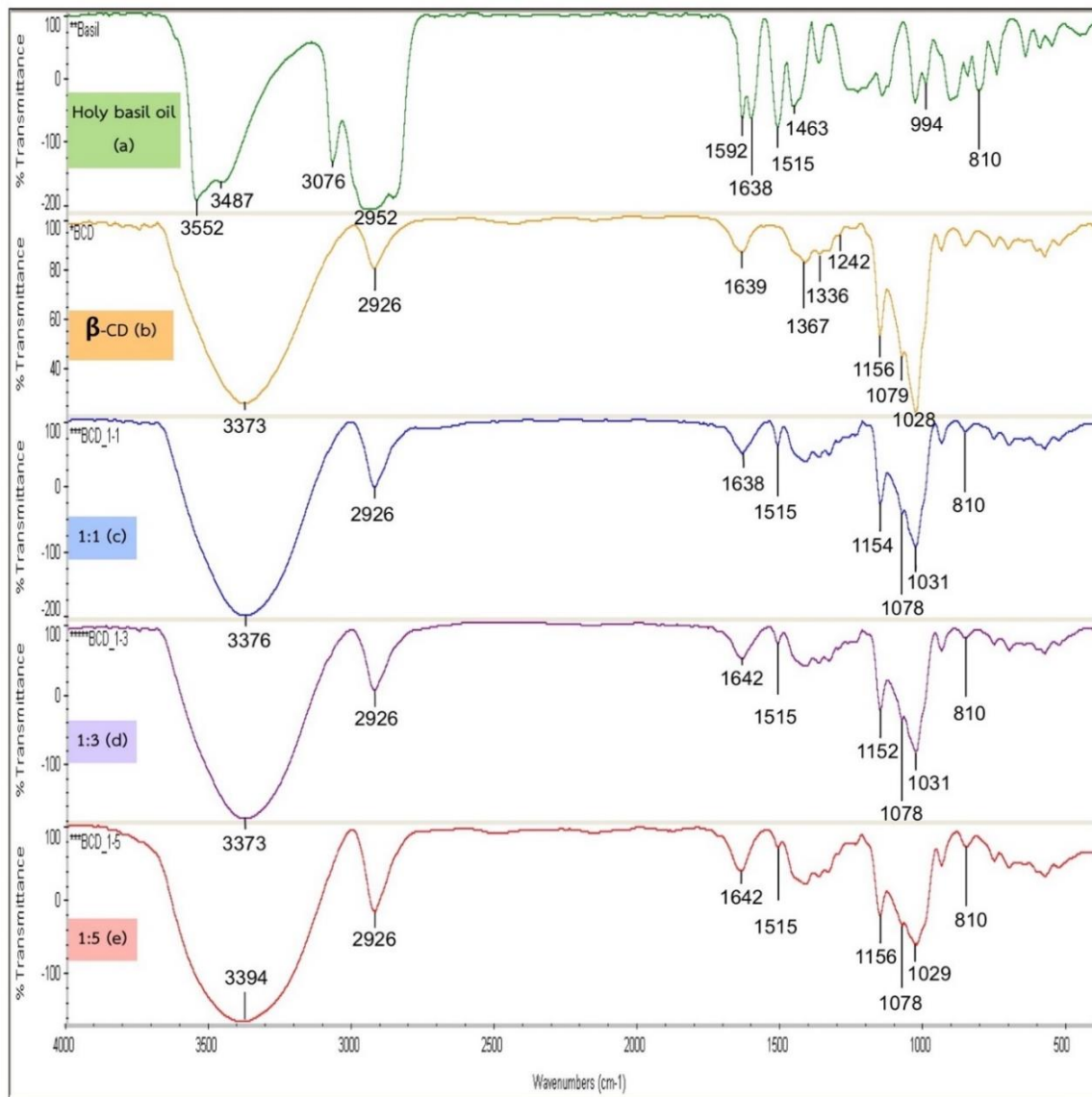
อัตราส่วนของสารประกอบอินคลูชัน	ความชื้น (%) (AOAC)
1:1	5.33 ^a ± 0.18
1:3	5.39 ^a ± 0.34
1:5	6.58 ^b ± 0.19

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) และค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.7 ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

เทคนิค FTIR สามารถวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ ได้โดยการวัดปริมาณการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่เกิดในช่วงกลาง (middle infrared region) ในช่วงความยาวคลื่น 4000 - 400 cm^{-1} จากการศึกษาพบว่า เส้นสเปกตรัมของสารประกอบอินทรีย์บ่งบอกถึงการเกิดอันตรกิริยาทางกายภาพระหว่าง β -CD และ น้ำมันหอมระเหยกะเพรา โดยอธิบายได้จาก รูปร่างของพีค ความเข้ม และตำแหน่งของเส้นสเปกตรัม ดังแสดงในรูปที่ 4.10 FTIR สเปกตรัมของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (a) แสดงถึง หมู่ O-H stretching ที่ความยาวคลื่น 3487 และ 3552 cm^{-1} , C-H stretching ที่ความยาวคลื่น 2952 และ 3076 cm^{-1} โดยจะมีการสั่นของหมู่ C=C ที่อยู่ในช่วงคลื่น 1592 ถึง 1638 cm^{-1} นอกจากนี้ เส้นสเปกตรัมที่แสดงในความยาวคลื่น 1514, 1463 และ 994 cm^{-1} แสดงถึง หมู่ N-O stretching, C-H bending และ C=C stretching vibrations ตามลำดับ

ในขณะที่ FTIR สเปกตรัมของ β -CD (b) ประกอบด้วย symmetrical และ asymmetrical stretching ของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่ความยาวคลื่น 3373 cm^{-1} , การสั่นของหมู่ CH และ CH₂ (stretching vibration) ที่ความยาวคลื่น 2926 cm^{-1} , การสั่นของโมเลกุลน้ำ (bending vibration of H-O-H) ที่ความยาวคลื่น 1639 cm^{-1} , การสั่นของหมู่ C-H (bending vibration) ที่ความยาวคลื่น 1242, 1336 และ 1367 cm^{-1} นอกจากนี้ ที่ความยาวคลื่น 1028, 1079 และ 1156 cm^{-1} ยังแสดงถึง asymmetric และ symmetric stretching ของหมู่ C-O-C ใน β -CD โดยเส้นสเปกตรัมที่ปรากฏอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 1000-700 cm^{-1} นั้นจะแสดงถึงการสั่นของหมู่ C-H และ C-C วงน้ำตาล D-glucopyranose ของ β -CD (Menezes และคณะ, 2013; Wang และคณะ, 2014)



รูปที่ 4.10 FTIR สเปกตรัมของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (a), β -CD (b) และสารประกอบอินclusionชั้นที่อัตราส่วน 1:1 (c) 1:3 (d) และ 1:5 (e)

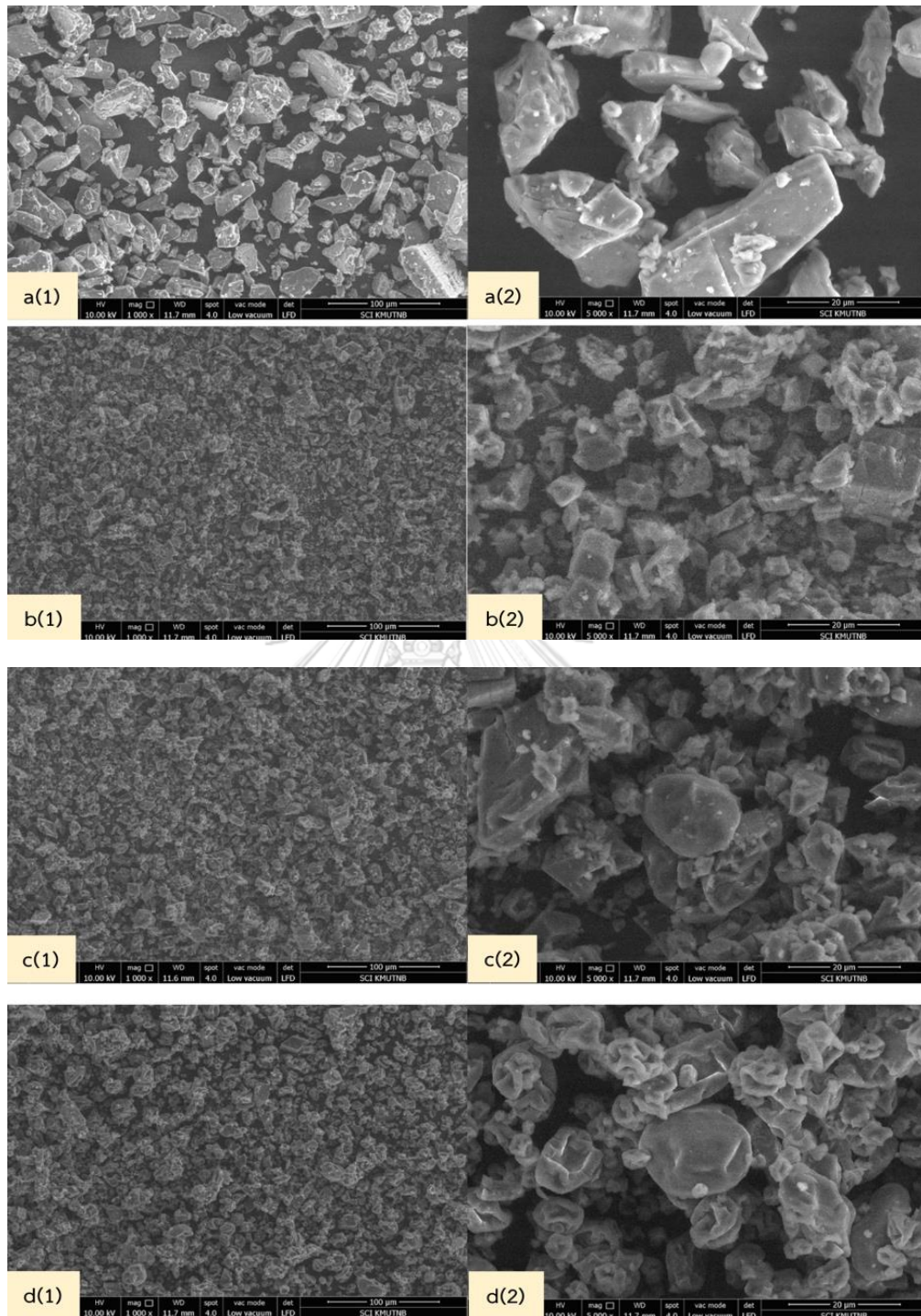
เมื่อพิจารณาเส้นสเปกตรัมของสารประกอบอินclusionชั้นที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD ที่อัตราส่วน 1:1 (c) 1:3 (d) และ 1:5 (e) มีความยาวคลื่นที่คล้ายคลึงกันกับ β -CD ปกติ แต่หมู่ของ O-H stretching vibrations ที่ความยาวคลื่นประมาณ 3373 cm^{-1} นั้นจะมีค่าที่เปลี่ยนไปเล็กน้อย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดขึ้นจากการจัดเรียงตัวใหม่ของพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล (intermolecular hydrogen bonding) ของ β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

โดยการเปลี่ยนแปลงระดับของการเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (degree of hydration) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kfoury และคณะ (2015) ที่ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินคลูชันน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและทาร์รากอน พบว่าในช่วงความยาวคลื่น 3424 cm^{-1} ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 จะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลเมื่อเปรียบเทียบกับ CDs ชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตาม ในสารประกอบอินคลูชันนั้นไม่สามารถตรวจพบทุกพีคของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราได้ทั้งหมด จะพบเพียง p-substituted ของหมู่ C-H bending vibrations ที่ความยาวคลื่น 810 cm^{-1} และ N-O stretching vibrations ที่ความยาวคลื่น 1515 cm^{-1} ที่ยังปรากฏอยู่ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ในทุกอัตราส่วน เมื่อพิจารณาที่ความยาวคลื่น 1515 cm^{-1} ของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 พบว่ามีขนาดพีคที่ใหญ่และแหลมกว่าสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:3 และ 1:5 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการเกิดสารประกอบอินคลูชันที่จะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา โดย β -CD นั้นทำหน้าที่กักเก็บน้ำมันหอมระเหยเอาไว้ในโพรงภายใน ทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเกิดการเปลี่ยนแปลงเสมือนเป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุล β -CD

4.8 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถอธิบายขนาดและรูปร่างของ β -CD และสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนแตกต่างกันได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.11 โดย β -CD (a) มีขนาดอนุภาคประมาณ $20\text{ }\mu\text{m}$ มีลักษณะเป็นผลึกที่มีเหลี่ยมมุมและไม่สามารถบ่งบอกรูปร่างได้ชัดเจน กระจัดกระจายอย่างไม่เป็นกลุ่มก้อน บริเวณพื้นผิวมีทั้งด้านที่เป็นผิวเรียบและเป็นรูพรุน ในขณะที่สารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:1 (b), 1:3 (c) และ 1:5 (d) เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง รูปร่างของผลึก และมีขนาดที่เล็กกว่า β -CD โดยสารประกอบอินคลูชันทุกอัตราส่วนมีขนาดอนุภาคประมาณ $10\text{ }\mu\text{m}$ เมื่อพิจารณาที่อัตราส่วน 1:1 (b) พบว่ารูปร่างผลึกมีความคล้ายคลึงกับผลึกของ β -CD แต่ขนาดเล็กกว่า ผสมปนไปกับผลึกที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมซึ่งมีพื้นผิวขรุขระไม่เรียบเสมอกัน ซึ่งอาจเป็นผลจากอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยและ β -CD ที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากปริมาณของ β -CD ที่อัตราส่วนนี้อาจมีไม่เพียงพอต่อการห่อหุ้มโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยที่มีขนาดใหญ่ จึงทำให้เกิดสารประกอบ

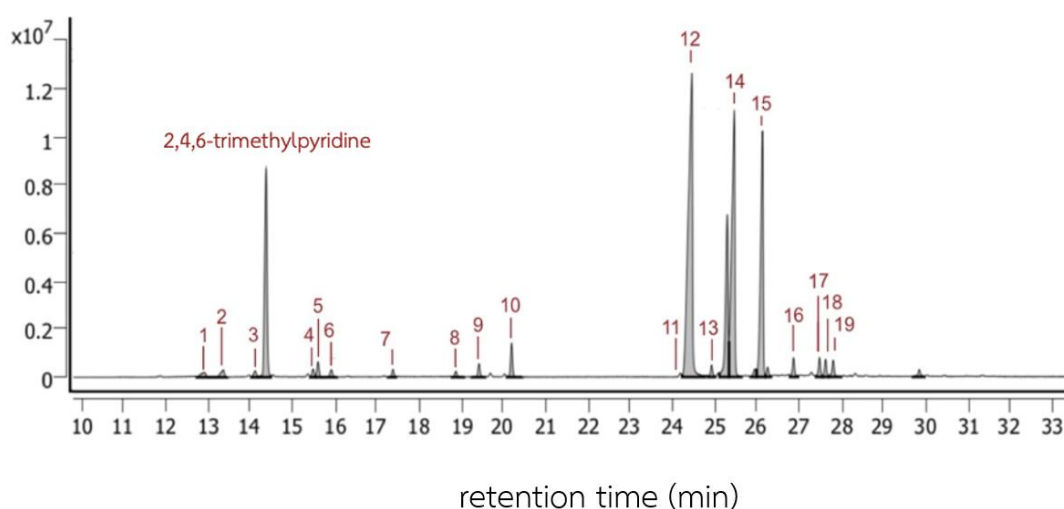
อินคลูชันที่ไม่สมบูรณ์ ลดโอกาสที่น้ำมันหอมระเหยจะเข้าไปแทรกจับบริเวณภายในโพรง β -CD ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับการศึกษาของ Hadian และคณะ (2018) ที่อธิบายลักษณะการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างผลึกใน β -CD: geraniol physical mixture ที่คล้ายคลึงกับผลึกของ β -CD ในขณะที่สารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:3 (c) พบผลึกที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมจำนวนมากขึ้น สลับกับผลึกขนาดเล็กที่มีเหลี่ยมมุมและไม่สามารถบ่งบอกรูปร่างได้ชัดเจน แสดงถึงการเกิดสารประกอบอินคลูชันที่ไม่สมบูรณ์ สามารถพิจารณาร่วมกับค่าประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยที่มีค่าไม่สูงนักเมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 ที่มีค่าสูงกว่า เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 พบว่ามีรูปร่างผลึกเป็นทรงกลม ลักษณะผิวไม่เรียบ มีรอยย่นที่เป็นจิบแนบกับบนผิวของอนุภาค ซึ่งอาจเกิดจากอัตราการทำให้แห้งที่ไม่เหมาะสมทำให้เกิดรอยย่นบนผิวของอนุภาคได้ (Soottitantawat และคณะ, 2003) แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนนี้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยสูงที่สุด รวมถึงมีรูปร่างและลักษณะผิวของไมโครแคปซูลที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2018) ที่ศึกษาการเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยจากขิง และงานวิจัยของ Sanchez และคณะ (2012) ที่ศึกษาการเกิดสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยออริกาโนที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย จากลักษณะข้างต้นแสดงถึงความเหมาะสมของสัดส่วนน้ำมันหอมระเหยและ β -CD ที่ทำหน้าที่เป็นสารห่อหุ้มที่มีปริมาณมากพอ เพื่อเพิ่มโอกาสให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเข้าไปแทรกจับบริเวณโพรงภายในของ β -CD ทำให้เกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันที่สมบูรณ์



รูปที่ 4.11 ลักษณะทางสัณฐาน (กำลังขยาย 500X และ 1000X แทนสัญลักษณ์ 1 และ 2 ตามลำดับ) ของ β -CD (a) และสารประกอบอินclusion ที่มีอัตราส่วน 1:1 (b) 1:3 (c) และ 1:5 (d)

4.9 ปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD

จากการศึกษาสมบัติของสารประกอบอินคลูชันในข้อที่ 4.2-4.8 เพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมพบว่าที่อัตราส่วน 1:5 (น้ำมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD) มีปริมาณผลผลิตและประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูงที่สุด สามารถละลายน้ำได้ และมีสมบัติการเป็นสารประกอบอินคลูชันตามที่ได้ตรวจสอบด้วยกระบวนการวิเคราะห์โดยความร้อน รังสี และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จึงเลือกสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนนี้มาวิเคราะห์หาสารระเหยให้กลิ่นสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS ในขั้นตอนของการเตรียมสารประกอบอินคลูชันก่อนการวิเคราะห์ มีการใช้ hexane เพื่อกำจัดน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ติดอยู่ที่ผิววนอกของไมโครแคปซูลออกก่อน หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างไมโครแคปซูลนั้นมาวิเคราะห์หาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS โดยคำนวณเทียบกับ 2,4,6-trimethylpyridine ที่ใช้เป็น internal standard แสดง chromatogram ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 chromatogram ของสารประกอบอินคลูชัน β -CD

เมื่อพิจารณาปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นในสารประกอบอินคลูชัน (ตารางที่ 4.5) พบว่ามีปริมาณลดลงมากกว่า 10 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกะเพราในตารางที่ 4.1 นอกจากนี้ในสารประกอบอินคลูชันตรวจพบกลุ่มของสารระเหยให้กลิ่นเพียง 4 กลุ่ม คือ monoterpene, monoterpenoid, phenylpropanoid และ sesquiterpene แต่มีจำนวนเหลือเพียง 19 ชนิดเท่านั้น

และไม่พบสารระเหยให้กลิ่นในกลุ่ม sesquiterpenoid oxide ที่ตรวจพบในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา เมื่อพิจารณาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นหลักของสารประกอบอินคลูชัน พบสารระเหยให้กลิ่นในกลุ่มของ phenylpropanoid คือ eugenol (1004 ppm) และ methyl eugenol (662 ppm) และในกลุ่ม sesquiterpene คือ β -caryophyllene (501 ppm) นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบสารระเหยให้กลิ่น ชนิดอื่น ๆ จำแนกอยู่ในกลุ่มของ monoterpene ได้แก่ α -pinene (18 ppm), camphene (25 ppm), sabinene (15 ppm), D-limonene (15 ppm), β -ocimene (16 ppm) ใน กลุ่ม monoterpene ได้แก่ eucalyptol (24 ppm), linalool (14 ppm), camphor (13 ppm), borneol (24 ppm), estragole (56 ppm) และในกลุ่มของ sesquiterpene ได้แก่ copaene (21 ppm), β -elemene (30 ppm), α -humulene (34 ppm), germacrene D (33 ppm), β -humulene (29 ppm) และ α -selinene (31 ppm) แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบอินคลูชันยังคง แสดงลักษณะกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ดีเมื่อพิจารณาร่วมกับค่า OAV คือ eugenol (102448), eucalyptol (80000), linalool (17500), methyl eugenol (9735), β -caryophyllene (7828), estragole (3500) และ copaene (3500) ซึ่งองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญใน สารประกอบอินคลูชันเหล่านี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในน้ำมันหอม ระเหยกะเพราในข้อที่ 4.1

ตารางที่ 4.5 ชนิดและปริมาณสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินทรีย์ชั้น β -CD

peak	chemical family and compound	relative concentration (ppm)	odor threshold value in air (ppm)	odor activity value (OAV)
monoterpene				
1	α -pinene	18	2.1000 ^a	9
2	camphene	25	1.8600 ^a	13
3	sabinene	15	0.9800 ^d	15
4	D-limonene	15	1.2000 ^a	12
6	β -ocimene	16	0.0340 ^c	471
monoterpenoid				
5	eucalyptol	24	0.0003 ^a	80000
7	linalool	14	0.0008 ^a	17500
8	camphor	13	1.3600 ^a	10
9	borneol	24	0.1800 ^a	134
10	estragole	56	0.0160 ^{f, k}	3500
phenylpropanoid				
11	eugenol	1004	0.0098 ^b	102448
14	methyl eugenol	662	0.0680 ^{e, k}	9735
sesquiterpene				
12	copaene	21	0.0060 ^{g, k}	3500
13	β -elemene	30	-	-
15	β -caryophyllene	501	0.0640 ^c	7828
16	α -humulene	34	0.3900 ^d	87
17	germacrene D	33	1.8000 ^{h, k}	18
18	β -humulene	29	0.3900 ^{i, k}	74
19	α -selinene	31	0.1500 ^{h, k}	207

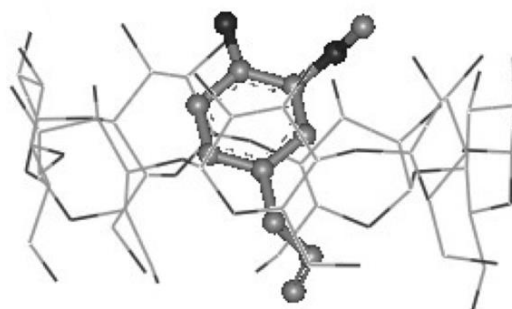
ppm คือหน่วยที่บอกปริมาณของสารระเหยชนิดนั้นต่อน้ำหนักตัวอย่างในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

กำหนด response factor = 1

^a Padrayuttaw และคณะ, 2001

- ^b Zeller และ Rychlik, 2007
- ^c Niu และคณะ, 2020
- ^d Boonbumrung และคณะ, 2001
- ^e Lorjaroenphon และ Cadwallader, 2014
- ^f Sonmezdag และคณะ, 2018
- ^g Cui และคณะ, 2010
- ^h Sun และคณะ, 2014
- ⁱ Tamura และคณะ, 2001
- ^j Rychlik และคณะ, 1998
- ^k odor threshold value in water (ppm)

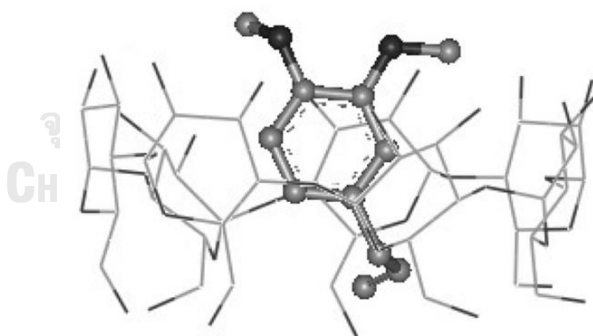
เมื่อพิจารณาขนาด รูปร่าง ประจุ และสภาพขั้วของโมเลกุลสารระเหยในน้ำมันหอมระเหย
กะเพรา พบว่าสมบัติทางเคมีกายภาพเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลถึงความสามารถในการเกิดอันตร
กิริยาระหว่างโมเลกุลสารระเหยกับ β -CD โดยอธิบายได้ด้วยค่าพลังงานยึดเหนี่ยว (binding energy)
(ภาคผนวก ข.1) ของสารประกอบอินคลูชัน (Abarca และคณะ, 2016) จากการศึกษาพบว่าใน
สารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราตรวจพบปริมาณ eugenol สูงที่สุด
เนื่องจากมีพลังงานยึดเหนี่ยว -8.18 kcal/mol โดยโครงสร้างโมเลกุลของ eugenol จะมีวงแหวน
phenyl และ unsaturated end ที่สามารถเกิดอันตรกิริยาด้วยแรง hydrophobic กับพื้นที่ผิวบริเวณ
โพรงภายในของ β -CD ได้ดี โดยมีหมู่ hydroxyl และหมู่ methyl อยู่ที่ผิวบริเวณโพรงภายในของ β -
CD ในด้านกว้าง (รูปที่ 4.13) (Lawtrakul และคณะ, 2014)



รูปที่ 4.13 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ eugenol

ที่มา: Lawtrakul และคณะ, 2014

เมื่อพิจารณาการเกิดอันตรกิริยาของ methyl eugenol กับ β -CD พบว่าโมเลกุล methyl eugenol มีโครงสร้างที่มีวงแหวน phenyl ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับพื้นที่ผิวบริเวณโพรงภายในของ β -CD ด้วยแรง hydrophobic โดยมี unsaturated end อยู่ที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ในด้านแคบ (รูปที่ 4.14) ส่งผลให้ methyl eugenol มีค่าพลังงานยึดเหนี่ยวในสารประกอบ คือ -7.74 kcal/mol ซึ่งมีค่าน้อยกว่าพลังงานยึดเหนี่ยวของ eugenol แสดงถึงความสามารถในการเข้าจับกับโมเลกุล β -CD ที่ต่ำกว่า

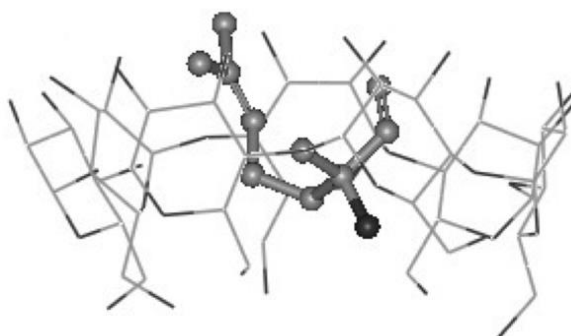


รูปที่ 4.14 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ methyl eugenol

ที่มา: Lawtrakul และคณะ, 2014

linalool เป็นสารระเหยให้กลิ่นที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสายตรง (linear molecule) และมีการตรวจพบสารระเหยนี้ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารระเหยชนิดอื่น อาจเนื่องมาจากรูปร่างโมเลกุลของ linalool นั้นไม่เหมาะสมต่อการยึดจับกับ β -CD มากนัก

กล่าวคือ โมเลกุลของ linalool ส่วนใหญ่มักเกิดอันตรกิริยากับพื้นที่ผิวบริเวณโพรงภายในของ β -CD ที่เป็นด้านกว้าง โดยหัน dimethyl group ออกมาอยู่ที่บริเวณด้านนอกโพรง β -CD แทน ทำให้มีค่าพลังงานยึดเหนี่ยวเพียง -5.61 kcal/mol เท่านั้น (รูปที่ 4.15) จึงทำให้เห็นว่าโมเลกุลของสารระเหยให้กลิ่นที่มีวงแหวน phenyl และหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบนั้นมีความสามารถในการเข้าจับที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ได้ดีกว่าโมเลกุลที่เป็นสายตรง

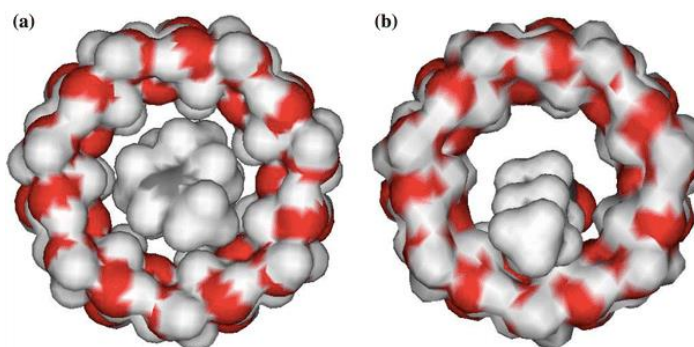


รูปที่ 4.15 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ linalool

ที่มา: Lawtrakul และคณะ, 2014

นอกจากนี้โมเลกุลของสารระเหยที่จะเข้าจับที่โพรงภายในของ β -CD ได้ดีนั้นจะต้องมีขนาดและรูปร่างที่พอดีกับความกว้างบริเวณโพรงภายในของ β -CD ด้วย จากการศึกษาของ Decock และคณะ (2008) พบว่ารูปร่างโมเลกุลของ limonene มีขนาดและรูปร่างที่พอดีกับขนาดของโพรงภายใน β -CD มากกว่าโมเลกุลของ methyl heptene carbonate ที่มีขนาดและรูปร่างเล็กกว่า จึงทำให้ limonene สามารถเกิดอันตรกิริยาดัวยแรง van der Waals กับ β -CD ได้ดีกว่า (รูปที่ 4.16) ด้วยเหตุผลนี้จึงสามารถสนับสนุนการพบ limonene ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ที่ถึงแม้ว่าจะพบ limonene ปริมาณน้อยในน้ำมันหอมระเหยกะเพราตั้งต้น แต่ก็ยังคงสามารถตรวจพบสารระเหยนี้ได้อยู่เมื่อทำให้เกิดเป็นสารประกอบอินคลูชันกับ β -CD ในขณะที่สารระเหยให้กลิ่นชนิดอื่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับ limonene เช่น β -pinene, p-cymene, γ -terpinene, 4-terpinenol, α -terpineol, α -cadinene และ caryophyllene oxide นั้นไม่สามารถตรวจพบได้ในสารประกอบอินคลูชัน อีกทั้งสารระเหยเหล่านี้มีปริมาณตั้งต้นน้อยในน้ำมันหอมระเหย

กะเพรา จึงทำให้โอกาสในการเข้าจับกับ β -CD ที่บริเวณโพรงภายในน้อยกว่า รวมถึงพลังงานยึดเหนี่ยว โครงสร้างโมเลกุล และขนาดที่ไม่เหมาะสม



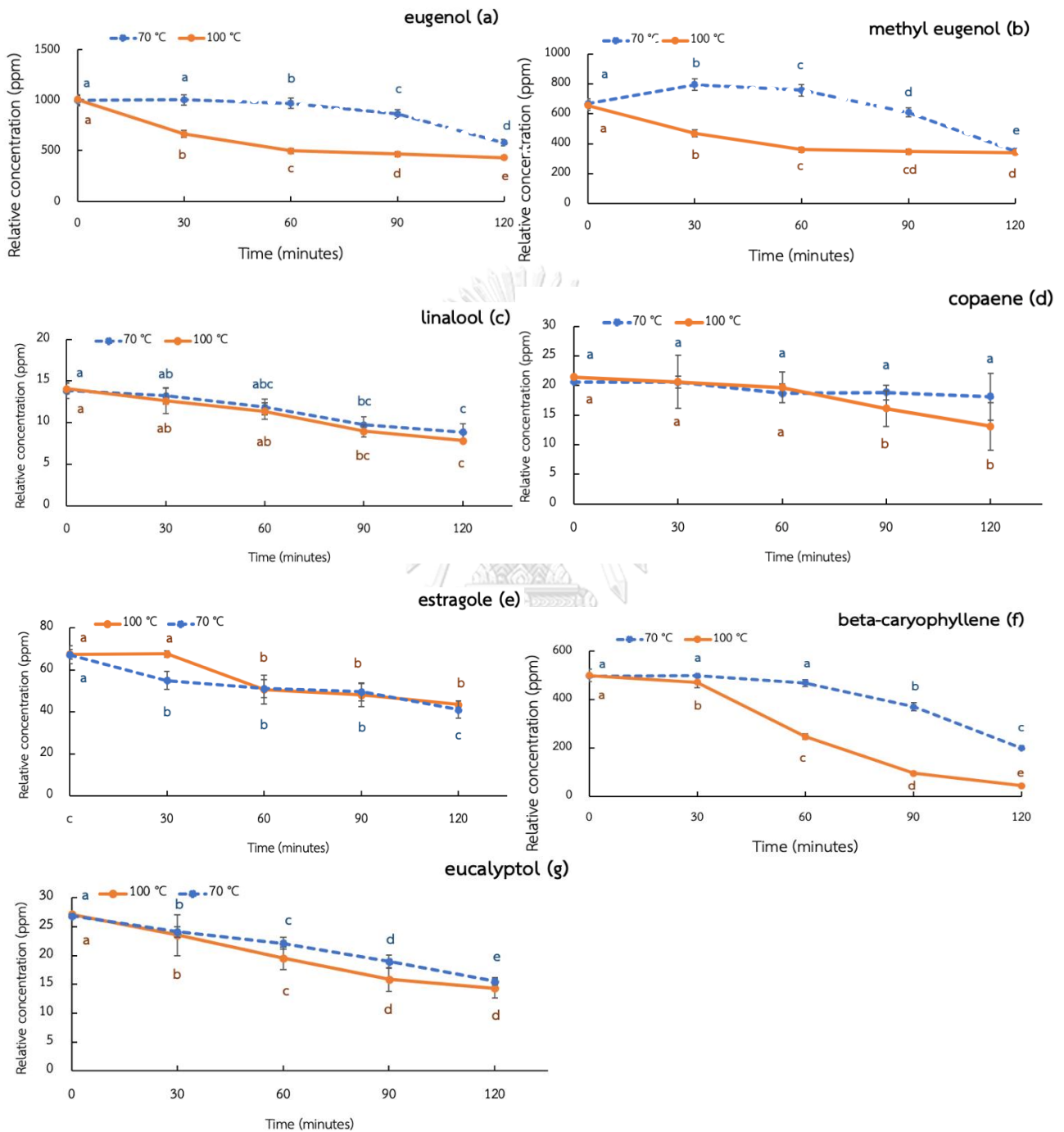
รูปที่ 4.16 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ limonene (a) methyl heptene carbonate (b)

ที่มา: Decock และคณะ, 2008

4.10 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อน (heat stability) ของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญใน สารประกอบอินคลูชัน β -CD

ตามธรรมชาติของน้ำมันหอมระเหยเมื่อได้รับความร้อนซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการออกซิเดชันและการระเหยของสารระเหยให้กลิ่น จะส่งผลให้คุณภาพของน้ำมันลดลงและสูญเสียกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ เมื่อนำ β -CD มาห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้มีการศึกษาอย่างแพร่หลายพบว่าโมเลกุลของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยจะเข้าไปยึดจับที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ซึ่งมีสมบัติที่ไม่มีขั้ว ด้วยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) แวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) หรือแรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole) ทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเกิดการเปลี่ยนแปลงเสมือนเป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุล β -CD ซึ่งจะทำให้มีความคงตัวเพิ่มขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงทดสอบความคงตัวของสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 ซึ่งเป็นสัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยกะเพราและ β -CD ที่มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสูงและมีสมบัติทางเคมีกายภาพที่เหมาะสม โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพราทั้ง 7 ชนิด คือ eugenol, methyl eugenol, β -caryophyllene, linalool, eucalyptol, estragole และ copaene ซึ่งสารระเหยให้กลิ่นสำคัญทั้ง 7 ชนิดนี้จะแสดงกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ที่มีลักษณะกลิ่นของ clove-like, spicy, floral, woody และ liquorice-like โดยเลือกอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการระเหยของ

น้ำมันกะเพราจากการศึกษาด้วย TGA แสดงดังในรูปที่ 4.6 เพื่อให้มั่นใจได้ว่าสารประกอบอินทรีย์ชั้นมีความคงตัวต่อความร้อน ลดการสูญเสียปริมาณสารระเหยให้กลิ่นเมื่อได้รับความร้อนได้

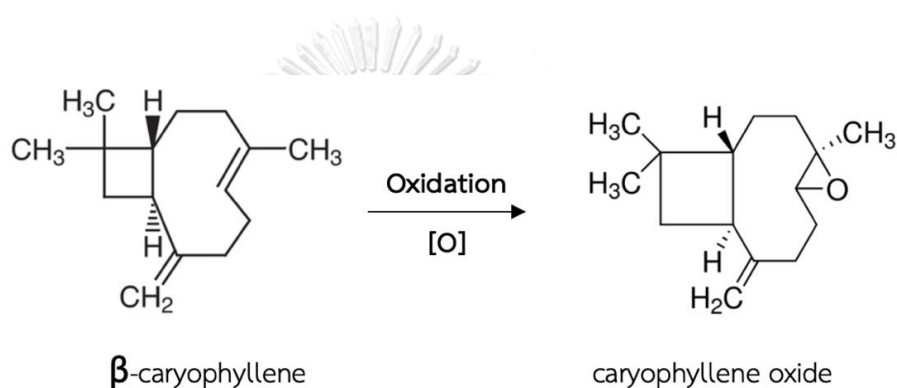


รูปที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงสารระเหยให้กลิ่นสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา eugenol (a), methyl eugenol (b), linalool (c), copaene (d), estragole (e) , β -caryophyllene (f) และ eucalyptol (g) ต่อความร้อนในสารประกอบอินทรีย์ชั้น β -CD

รูปที่ 4.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญ eugenol (a), methyl eugenol (b), linalool (c), copaene (d), estragole (e), β -caryophyllene (f) และ eucalyptol (g) ในสารประกอบอินคลูชัน ที่อุณหภูมิ 70 °C และ 100 °C เป็นระยะเวลา 30 60 90 และ 120 นาที พบว่าเกิดการลดลงของปริมาณสารระเหยทุกชนิด โดยสามารถพิจารณาร่วมกับค่า formation constant (K_f) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค static headspace-gas chromatography (ภาคผนวก ข.2) เป็นค่าคงที่ ๆ บ่งบอกถึงความคงตัวของสารประกอบ พบว่าค่า K_f ของสารประกอบอินคลูชันที่มีความเหมาะสมจะมีค่าอยู่ในช่วง 100-5000 LM^{-1} หากสารประกอบที่มีค่า K_f ต่ำกว่า 100 LM^{-1} จะมีผลทำให้เกิดอันตรกิริยาอย่างอ่อนระหว่าง β -CD กับโมเลกุลสารระเหย และจะทำให้เกิดการปลดปล่อยของโมเลกุลสารได้ง่าย ในทางกลับกันหาก K_f มีค่าสูงกว่า 5,000 LM^{-1} จะเกิดการจับกันของ β -CD กับโมเลกุลสารระเหยอย่างแน่นและคงตัวมาก ทำให้ไม่สามารถปลดปล่อยสารนั้นได้อย่างสมบูรณ์ (วันทนี น้อยจินดา และ อินทาวุฒ สรรพพรสถิตย์, 2562) จากการพิจารณาค่า K_f ของ eugenol, linalool, estragole และ eucalyptol ซึ่งอยู่ในช่วง 100 - 5000 LM^{-1} มีความเป็นไปได้ที่สารระเหยจะเกิดการปลดปล่อยกลิ่นเมื่อได้รับความร้อน เนื่องจากโมเลกุลของสารระเหยเหล่านี้เกิดอันตรกิริยากับ β -CD อย่างไม่ได้แข็งแรงมากนัก โดยเฉพาะในภาวะที่สารประกอบอินคลูชันได้รับความร้อนก็จะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารระเหยออกมามากขึ้น เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ 70 °C ในระยะเวลา 30 นาทีแรก สารระเหยในสารประกอบอินคลูชันมีปริมาณลดลงเล็กน้อยและค่อย ๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 120 แสดงถึงการสูญเสียปริมาณสารระเหยให้กลิ่นเมื่อได้รับความร้อน และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 100 °C พบว่าสารประกอบอินคลูชันเกิดการสูญเสียปริมาณสารระเหยตั้งแต่ 30 นาทีแรก และลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 120 แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาการลดลงของ β -caryophyllene ในช่วง 30 นาทีแรก พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงในปริมาณน้อยมาก แสดงถึงความคงตัวของสารระเหยในสารประกอบอินคลูชัน เนื่องจาก β -caryophyllene มีค่า K_f 28674 LM^{-1} ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับบริเวณโพรงภายในของ β -CD อย่างแน่นและคงตัวมาก แต่หากสารประกอบอินคลูชันนี้ได้รับความร้อนอย่างต่อเนื่องในนาทีที่ 60 เป็นต้นไป ก็จะทำให้มีความร้อนสะสมมากพอที่จะทำให้เกิดการปลดปล่อย β -caryophyllene นำไปสู่การสูญเสียสารระเหยให้กลิ่นนี้เมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งจากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยของ 2 อุณหภูมิพบว่า ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C จะทำให้สูญเสียสารระเหยให้

กลิ่นสำคัญทั้ง 6 ชนิดของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน β -CD มากกว่าที่อุณหภูมิ 70 °C

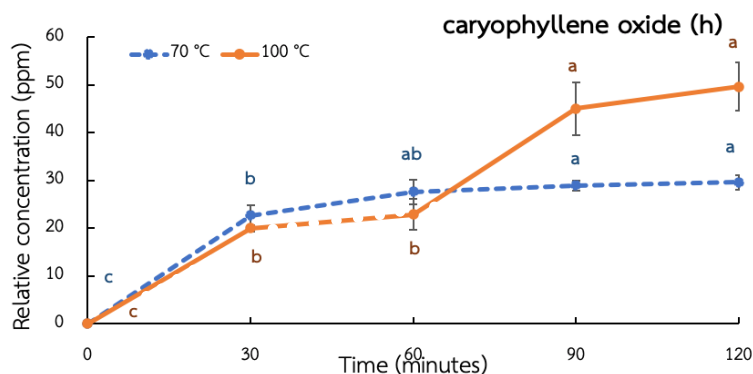
นอกจากนี้ในสารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการให้ความร้อน ตรวจพบ caryophyllene oxide ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของ β -caryophyllene (รูปที่ 4.18) ซึ่งสารระเหยนี้ไม่มีการตรวจพบในสารประกอบอินคลูชันปกติ แสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ β -caryophyllene ในสารประกอบอินคลูชันเมื่อได้รับความร้อน



รูปที่ 4.18 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ β -caryophyllene

ที่มา: Turek และ Stintzing (2013)

รูปที่ 4.19 แสดงการเพิ่มขึ้นของสารประกอบ caryophyllene oxide ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ β -caryophyllene ที่ลดลง กล่าวคือที่อุณหภูมิ 70 °C เวลา 120 นาที มี caryophyllene oxide เพิ่มขึ้นเป็น 2.42% จากสารประกอบที่เหลือทั้งหมด ในขณะที่ β -caryophyllene ลดลงเหลือเพียง 2.42% จากสารประกอบที่เหลือทั้งหมด และที่อุณหภูมิ 100 °C เวลา 120 นาที มี caryophyllene oxide เพิ่มขึ้นเป็น 5.33% จากสารประกอบที่เหลือทั้งหมด และมี β -caryophyllene ลดลงเหลือเพียง 4.64% จากสารประกอบที่เหลือทั้งหมด ซึ่ง caryophyllene oxide นี้มีลักษณะกลิ่น dry woody จึงอาจทำให้สารประกอบอินคลูชันที่ได้รับความร้อนมีกลิ่นลักษณะนี้เพิ่มขึ้นด้วย



รูปที่ 4.19 caryophyllene oxide (h) ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราเมื่อได้รับความร้อน

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยหลักของกลิ่นกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน พบว่า β -CD สามารถทำหน้าที่เป็นสารห่อหุ้มที่ปกป้องสารระเหยต่อความร้อนได้ดี ทำให้มีความคงตัวมากกว่าน้ำมันหอมระเหยตามธรรมชาติ แต่เมื่อเกิดการสะสมความร้อนเป็นระยะเวลานาน สารประกอบจึงค่อย ๆ ปลดปล่อยสารระเหยออกมาทำให้สูญเสียกลิ่นภายในสารประกอบซึ่งแสดงถึงความคงตัวที่ลดลง ผลจากการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ruktanonchai และคณะ (2011) ที่ศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของสารประกอบอินคลูชัน β -CD และ citral พบว่าเกิดการปลดปล่อยโมเลกุลของ citral ออกมาจากสารประกอบช้ากว่า free citral แสดงถึงความคงตัวต่อความร้อนของสารประกอบ β -CD

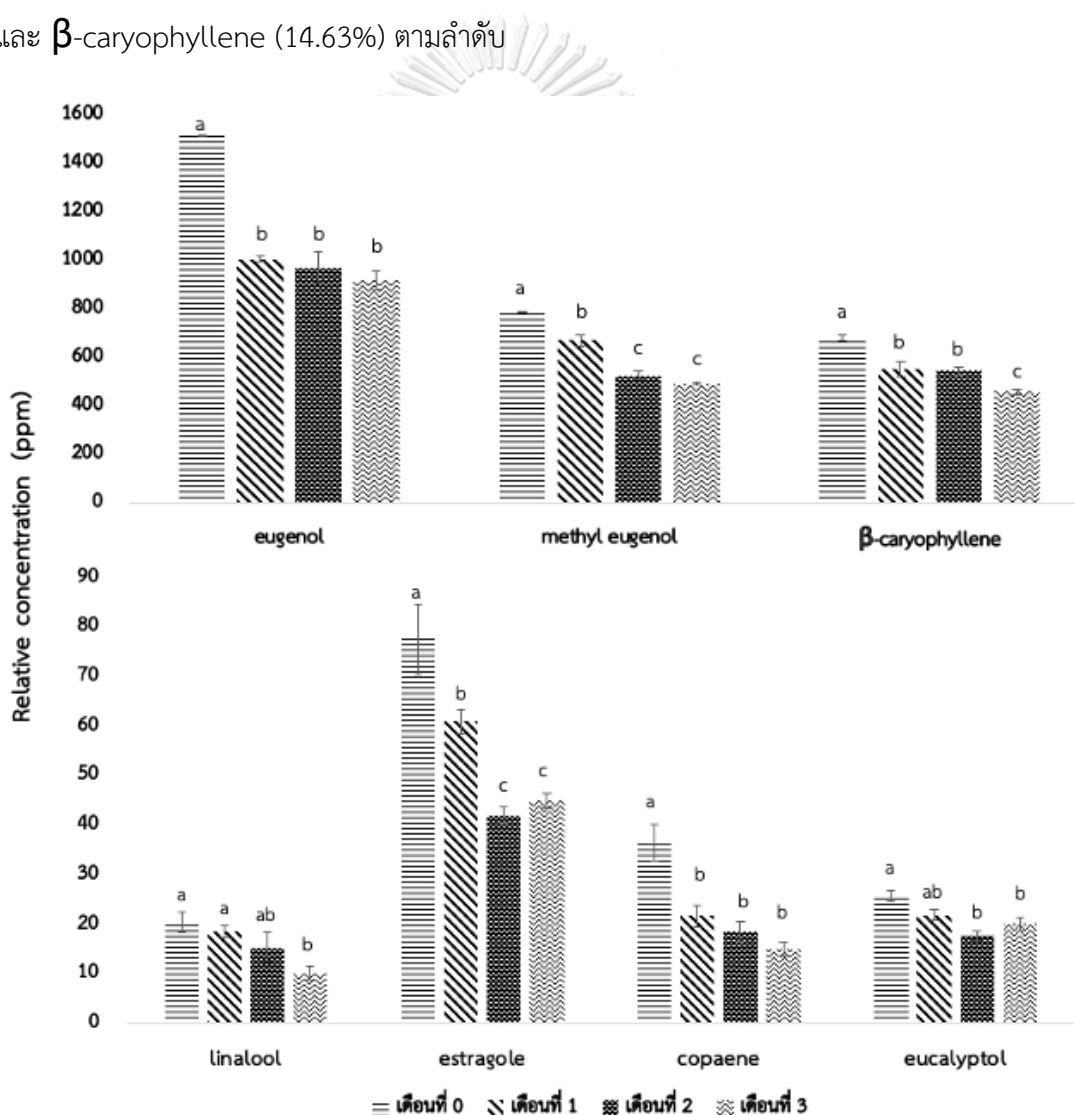
มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.11 ระยะเวลาการเก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันต่อความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญ

เพื่อศึกษาความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน จึงได้มีการติดตามปริมาณสารระเหยที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลา 3 เดือน โดยเก็บตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 ในถุง aluminum laminate ปิดสนิทแบบสุญญากาศ เก็บรักษาไว้ใน desiccator โดยมีการบรรจุทรายซิลิกาเพื่อดูดความชื้น เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ด้วยการใช้เทคนิค GC-MS ร่วมกับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนี้

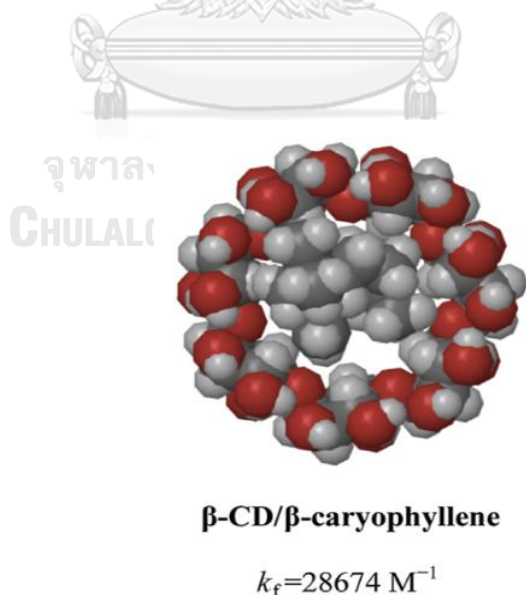
4.11.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD

จากการนำสารประกอบอินคลูชันมาตรวจหาปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS ทุก 1 เดือน (รูปที่ 4.20) สารระเหยให้กลิ่นสำคัญทั้ง 7 ชนิดคือ eugenol, methyl eugenol, β -caryophyllene, linalool, eucalyptol, estragole และ copaene พบว่ามีปริมาณลดลงเมื่อผ่านการเก็บรักษาในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น โดยใน 1 เดือนแรก โดย copaene มีปริมาณลดลงถึง 35.51% ซึ่งมากกว่าสารระเหยให้กลิ่นสำคัญชนิดอื่น รองลงมาคือ eugenol (33.46%), methyl eugenol (22.58%), estragole (20.80%), linalool (16.11%), eucalyptol (15.28%) และ β -caryophyllene (14.63%) ตามลำดับ



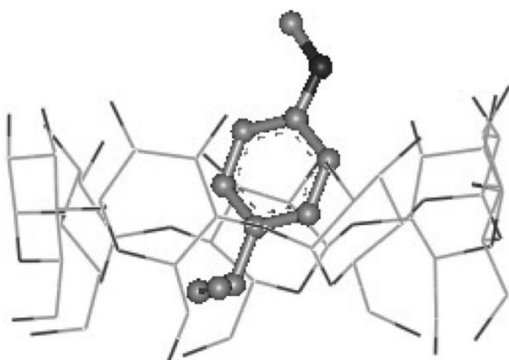
รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือน

ทั้งนี้เมื่อพิจารณาค่า K_f ที่บ่งบอกถึงความแข็งแรงในการเข้าจับกันของโมเลกุลสารระเหยกับ β -CD พบว่า eugenol ที่ค่า K_f 264 LM^{-1} ส่งผลให้โมเลกุลสารระเหยนี้เกิดอันตรกิริยาที่ไม่แข็งแรงมากนักที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ทำให้มีความคงตัวน้อยและเกิดการปลดปล่อยของโมเลกุลสารระเหยได้ง่ายกว่าสารระเหยชนิดอื่นที่มีค่า K_f สูงกว่า จึงเป็นเหตุผลให้ eugenol ในสารประกอบอินคลูชันมีปริมาณลดลงมาก จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญจนครบระยะเวลา 3 เดือน พบว่ามีการลดลงของ β -caryophyllene เพียง 13.06% เทียบกับเดือนแรก ซึ่งแสดงถึงความคงตัวของสารระเหยชนิดนี้ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD เนื่องจากความเหมาะสมของขนาดและรูปร่างของโมเลกุล (รูปที่ 4.21) และค่า K_f ที่สูงถึง 28674 LM^{-1} แสดงถึงการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างโมเลกุลสารระเหยกับพื้นที่ผิวบริเวณโพรงภายในของ β -CD ได้ดี ในขณะที่ estragole นั้นมีปริมาณสารระเหยลดลง 18.31% ซึ่งแสดงถึงความคงตัวของสารระเหยในสารประกอบอินคลูชันที่น้อยกว่า β -caryophyllene ทั้งนี้เนื่องจากค่า K_f ของ estragole มีค่าเพียง 939 LM^{-1} โดยแสดงภาพโครงสร้างสารประกอบอินคลูชันเพื่ออธิบายการเกิดอันตรกิริยาของวงแหวน phenyl ในโมเลกุลของ estragole กับพื้นที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ด้วยแรง hydrophobic และ unsaturated end จะอยู่ใกล้กับบริเวณโพรงภายในของ β -CD ที่เป็นด้านแคบ (ภาพที่ 4.22)



รูปที่ 4.21 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ β -caryophyllene

ที่มา: Kfoury และคณะ, 2016



รูปที่ 4.22 โครงสร้างสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ estragole

ที่มา: Lawtrakul และคณะ, 2014

ดังนั้นเทคนิคการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วย β -CD จึงสามารถชะลอการสูญเสียปริมาณสารระเหยให้กลั่นในน้ำมันได้ โดยจะช่วยทำให้สารระเหยให้กลั่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา มีความคงตัวต่อการเก็บรักษามากกว่าสารระเหยที่อยู่ในน้ำมันปกติ กล่าวคือเมื่อโมเลกุลของสารระเหยแทรกตัวเข้าไปยึดจับและเกิดอันตรกิริยาที่บริเวณโพรงภายในของ β -CD ด้วยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction), แวนเดอร์วาลส์ (van der Waals) และแรงดึงดูดระหว่างขั้ว (dipole-dipole) นอกจากนี้ยังพบว่าผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Santos และคณะ (2015) ที่ศึกษาความคงตัวของสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับ cravacol ในน้ำมันหอมระเหยจากดอกพกากรองที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน พบปริมาณ cravacol ในสารประกอบอินคลูชันลดลงน้อยกว่า cravacol ในน้ำมันที่ไม่ได้เกิดการห่อหุ้มด้วย β -CD

4.11.2 การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของกลิ่นน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน β -CD

ระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัส คือระยะเวลาเดียวกันกับที่ใช้หาปริมาณสารระเหยด้วยเทคนิค GC-MS ในข้อที่ 4.11.1 โดยทดสอบทางประสาทสัมผัสทุก 1 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 3 เดือน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงลักษณะกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบ โดยทดสอบด้วยวิธี modified quantitative descriptive

analysis กับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน (ชาย 5 คน และ หญิง 7 คน) โดยเริ่มต้นจากการให้ผู้ทดสอบดมกลิ่นเพื่อจำแนกและอธิบายคุณลักษณะของกลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาวะแตกต่างกัน คือ น้ำมันหอมระเหยที่มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือน บรรจุในขวดอลูมิเนียมทึบแสง ฝาปิดสนิท และน้ำมันหอมระเหยในขวดแก้วใส โปร่งแสง เปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน รวมถึงน้ำมันหอมระเหยอายุการเก็บ 6 เดือน ที่บรรจุอยู่ในขวดขวดแก้วสีชา ฝาปิดสนิท เมื่อผู้ทดสอบทั้ง 12 ร่วมกันตกลงคำนิยามแล้ว พบว่าสามารถจำแนกคุณลักษณะของน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ทั้งหมด 8 คุณลักษณะ คือ herbal, cooling, spicy, clove-like, woody, sweet, dried-chrysanthemum-liked และ sweet peppermint หลังจากนั้นให้ผู้ทดสอบระบุตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละคุณลักษณะเพื่อคัดเลือกและนำมากำหนดระดับความเข้มข้นในสเกลที่แน่นอน แสดงรายละเอียดในตารางที่ 4.6 โดยคุณลักษณะคำอธิบายลักษณะของกลิ่น ตัวอย่างอ้างอิง และระดับความเข้มข้นที่แน่นอนเหล่านี้ จะนำไปใช้เพื่อเป็นเกณฑ์ในอ้างอิงสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์ในระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน

ตารางที่ 4.6 คุณลักษณะ คำอธิบายลักษณะของกลิ่น ตัวอย่างอ้างอิงและระดับความเข้มข้นของตัวอย่างอ้างอิง สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์ β -CD

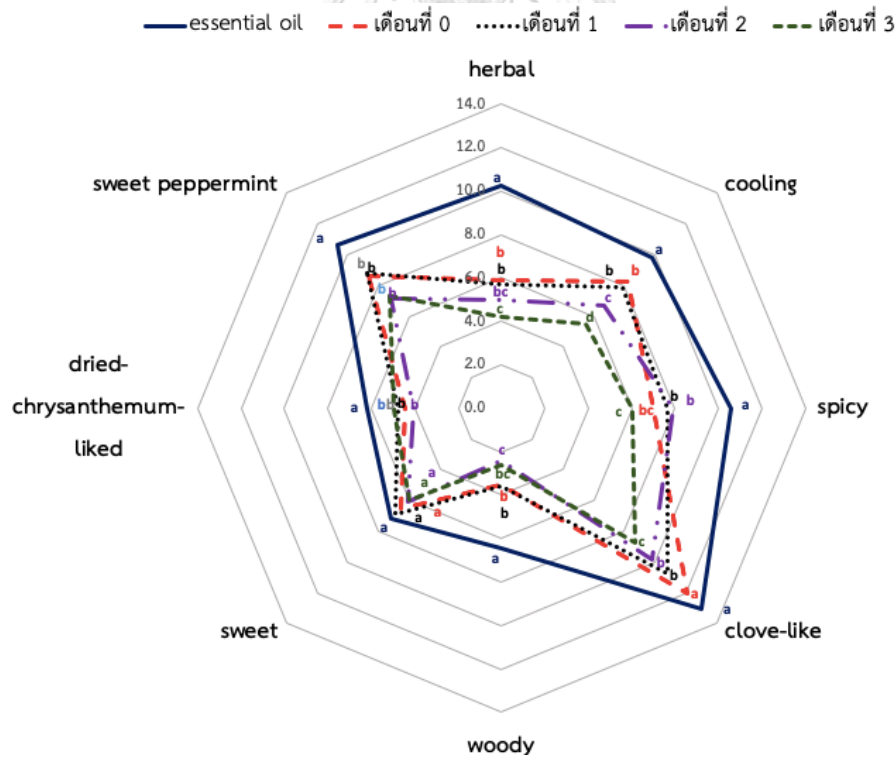
คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	คำอธิบายลักษณะของกลิ่น	ตัวอย่างอ้างอิง ^a	ความเข้มข้น ^b
herbal	กลิ่นสมุนไพรที่ใช้ในการประกอบอาหาร	ยาสีฟัน dentiste	4
cooling	กลิ่นเย็น ไม่แสบจมูก	กระวานตากแห้ง	8
spicy	กลิ่นเผ็ดร้อน	พริกไทยดำ	12
clove-liked	กลิ่นกานพลูตากแห้ง ในยาต้มสมุนไพร	กานพลูตากแห้ง	14
woody	กลิ่นเปลือกไม้แห้ง	ผิวมะกรูดตากแห้ง	4
sweet	กลิ่นหวานปลาย	หล่อฮั้งก้วย	8
dried-chrysanthemum-liked	กลิ่นใบกะเพราเมื่อเก็บค้างไว้นาน	ดอกเก๊กฮวยตากแห้ง	6
sweet peppermint	กลิ่นที่หวานและเย็นเหมือน peppermint	ลูกอม Hitto รสpeppermint	9

^a ตัวอย่างอ้างอิงถูกจัดเตรียมอยู่ในถ้วยพลาสติกสำหรับชิมปริมาตร 50 mL พร้อมฝาปิด

^b ประเมินด้วยระดับความเข้มข้นบนสเกล 15-cm line scale โดย 0 = ไม่มีความเข้มข้นของกลิ่น และ 15 = มีความเข้มข้นของกลิ่นมากที่สุด

การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ทุก 1 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 3 เดือน ด้วยการนำผงแห้งของสารประกอบตามระยะเวลาที่กำหนด 1 g มาละลายในน้ำกลั่น 10 mL ในถ้วยพลาสติกปริมาตร 50 mL พร้อมฝาปิด แสดงผลดังรูปที่ 4.23 พบว่าคุณลักษณะของกลิ่นทางประสาทสัมผัสในสารประกอบอินคลูชัน β -CD กับน้ำมันหอมระเหยกะเพราเริ่มต้น (0 month) ที่ได้ระดับความเข้มสูงสุดคือ clove-like รองลงมาคือ spicy, sweet peppermint, herbal, cooling, sweet, woody และ dried-chrysanthemum-liked ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาจนครบเวลา 3 เดือน พบว่าสารประกอบอินคลูชัน β -CD เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มในแต่ละคุณลักษณะ กล่าวคือ เกิดการลดลงของระดับความเข้มของใน clove-like, spicy, peppermint, cooling, herbal, woody และ sweet ในขณะที่คุณลักษณะ dried-chrysanthemum-liked

มีระดับความเข้มที่เพิ่มขึ้น โดยสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มของสารประกอบอินคลูชันในแต่ละคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสได้ดังนี้



รูปที่ 4.23 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสารประกอบอินคลูชันที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ

-clove-like ถือเป็นคุณลักษณะเด่นของของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่ผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มข้นสูงสุด ซึ่งสารระเหยให้กลิ่นที่มีคุณลักษณะร่วมของ clove-like ประกอบไปด้วย eugenol, methyl eugenol และ β -caryophellene เมื่อผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มข้นทางประสาทสัมผัสกับตัวอย่างสารประกอบอินคลูชันในการเก็บรักษาทุก 1 เดือนพบว่า ลักษณะของกลิ่นที่ได้นั้นมีระดับความเข้มข้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค GC-MS ร่วมกับการคำนวณค่า OAV (ภาคผนวก ข.3) พบว่า eugenol ที่มีค่า OAV สูงสุดของคุณลักษณะกลิ่น clove-like นั้นมีอยู่ในสารประกอบอินคลูชันเริ่มต้น (เดือนที่ 0) คือ 154635 ซึ่งจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในเดือนที่ 1-3 ในขณะที่ค่า OAV ของ methyl eugenol ที่มีค่ารองลงมานั้นมีปริมาณลดลงทุกเดือน จึงอาจเป็นเหตุผลให้ผู้ทดสอบรับรู้ความเข้มข้นของกลิ่นในคุณลักษณะ clove-like ลดลงตามอายุการเก็บรักษาสารประกอบอินคลูชันที่เพิ่มขึ้น

-spicy เป็นคุณลักษณะของกลิ่นที่ผู้ทดสอบให้คะแนนสูงรองลงมาจาก clove-like โดยเมื่อเปรียบเทียบคะแนนความเข้มข้นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรากับสารประกอบอินคลูชันพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มข้นของกลิ่นในสารประกอบอินคลูชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารระเหยให้กลิ่นที่แสดงคุณลักษณะ spicy ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา เช่น β -caryophellene, estragole, sabinene, copaene, germacrene D และ α -selinene มีปริมาณไม่มากเมื่ออยู่ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD แต่เมื่อนำไปคำนวณค่า OAV พบว่า copaene เป็นสารระเหยที่แสดงลักษณะกลิ่น spicy ที่ผู้ทดสอบสามารถรับรู้กลิ่นได้มากกว่าสารระเหยชนิดอื่นที่กล่าวมาข้างต้นเนื่องจากมีค่า OAV สูงที่สุดคือ 6055 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่า OAV ของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่มีค่าสูงถึง 139166 จึงทำให้ผู้ทดสอบประเมินระดับความเข้มข้นในสารประกอบอินคลูชันน้อยกว่าในน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคะแนนความเข้มข้นของสารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือน พบว่าผู้ทดสอบประเมินระดับความเข้มข้นของ spicy ในสารประกอบอินคลูชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในเดือนที่ 3 สอดคล้องกับการคำนวณค่า OAV ของสารระเหยให้กลิ่นที่มีค่าน้อยลงในเดือนที่ 3 เช่นกัน คือ copaene (2470), β -caryophellene (7179), estragole (2801), α -selinene (90), sabinene (13) และ germacrene D (8) แสดงถึงความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นในคุณลักษณะ spicy ของสารประกอบ

อินคลูชัน β -CD ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ซึ่งยังคงสามารถแสดงลักษณะของกลิ่นได้ดี ผลการศึกษาที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tangpao และคณะ (2018) ที่รายงานระดับความเข้มของคุณลักษณะ spicy ในใบกะเพราแดงด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ระดับความเข้มข้น สเกล 15-cm line scale มีค่าอยู่ในช่วง 6.4-7.3 ซึ่งสารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือนมีคะแนนความเข้มอยู่ในช่วงระดับคะแนนนี้เช่นกัน

-sweet peppermint แสดงลักษณะกลิ่นขององค์ประกอบสารระเหย eucalyptol, camphene และ α -pinene เมื่อเปรียบเทียบคะแนนความเข้มของคุณลักษณะนี้ในน้ำมันหอมระเหยกะเพรากับสารประกอบอินคลูชัน พบว่าระดับความเข้มของ sweet peppermint ในสารประกอบอินคลูชันลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาร่วมกับค่า OAV ของสารระเหยในสารประกอบอินคลูชันเริ่มต้น คือ eucalyptol (85266), α -pinene (13) และ camphene (15) ซึ่งมีค่าน้อยกว่า OAV ที่คำนวณได้จากปริมาณสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยกะเพราตั้งต้น ทั้งนี้เมื่อพิจารณาระดับความเข้มจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสสารประกอบอินคลูชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-3 เดือน พบว่าผู้ทดสอบไม่สามารถรับรู้ถึงการลดลงของระดับความเข้มกลิ่นนี้ได้ สอดคล้องกับการคำนวณค่า OAV ของสารระเหยในสารประกอบอินคลูชันในเดือนที่ 3 คือ eucalyptol (66078), α -pinene (9) และ camphene (10) แสดงถึงความคงตัวของสารระเหยให้กลิ่นที่แสดงคุณลักษณะ sweet peppermint เมื่ออยู่ในประกอบอินคลูชัน β -CD

-cooling เป็นคุณลักษณะที่ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับความเข้มในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา แตกต่างกับคะแนนความเข้มในสารประกอบอินคลูชันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณา α -pinene, camphene และ eucalyptol ซึ่งเป็นสารระเหยให้กลิ่นที่แสดงถึงคุณลักษณะของกลิ่นดังกล่าว พบว่าค่า OAV ที่ได้จากการคำนวณปริมาณสารระเหยในสารประกอบอินคลูชันนั้นมีค่าน้อยกว่าในน้ำมันหอมระเหยตั้งต้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความเปลี่ยนแปลงในสารประกอบอินคลูชันที่อายุการเก็บรักษา 3 เดือน พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มกลิ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในเดือนที่ 2

-herbal จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนความเข้มของลักษณะกลิ่น herbal ในสารประกอบอินคลูชัน β -CD ลดลงจากคะแนนความเข้มของน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญ

($p \leq 0.05$) เนื่องจากในสารประกอบอินคลูชันไม่สามารถตรวจพบ β -pinene ที่เป็นองค์ประกอบของ สารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่แสดงคุณลักษณะของกลิ่นนี้ รวมถึงสามารถพิจารณา ร่วมกับการลดลงของค่า OAV ของ α -pinene และ estragole ในสารประกอบอินคลูชันได้อีกด้วย จึงอาจทำให้ผู้ทดสอบรับรู้ความเข้มของลักษณะกลิ่นนี้ได้้น้อยลง เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลง ระดับความเข้มของสารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการเก็บรักษาในระยะเวลา 3 เดือน พบว่าผู้ทดสอบ ให้คะแนนความเข้มลดลงในเดือนที่ 3 สอดคล้องกับค่า OAV ของ estragole ที่ลดลงจากค่าเริ่มต้น 4834 เป็น 2801 ในเดือนสุดท้าย

-woody เมื่อผู้ทดสอบประเมินระดับความเข้มของคุณลักษณะนี้ในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา กับสารประกอบอินคลูชัน พบว่ามีระดับความเข้มในสารประกอบอินคลูชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก borneol, α -humulene และ β -humulene ซึ่งเป็นสารระเหยที่แสดง คุณลักษณะของกลิ่นดังกล่าว พบว่ามีค่า OAV ลดลงจากน้ำมันหอมระเหยตั้งต้นมากกว่า 10 เท่า ส่งผลให้การรับรู้กลิ่นน้อยลงเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงคะแนนความเข้มของคุณลักษณะกลิ่นใน สารประกอบอินคลูชันที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือน พบว่าผู้ทดสอบประเมินระดับความเข้มลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยเฉพาะในเดือนที่ 2 และ 3 แสดงถึงการรับรู้ความเข้มกลิ่นที่ลดลง สอดคล้องกับค่า OAV ของสารระเหยข้างต้นในสารประกอบอินคลูชันที่ลดลงเช่นกัน

-sweet ผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มของคุณลักษณะนี้ในน้ำมันหอมระเหยกะเพราและ สารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการเก็บรักษาในเวลา 3 เดือนไม่แตกต่างกัน เนื่องจากสารระเหยให้กลิ่น ที่สามารถแสดงลักษณะกลิ่นดังกล่าวคือ γ -terpinene ซึ่งมีค่า OAV เริ่มต้นในน้ำมันหอมระเหยน้อย เมื่อเทียบกับค่า OAV ของสารระเหยอื่น อีกทั้งยังไม่สามารถตรวจพบสารระเหยนี้ได้ในสารประกอบ อินคลูชัน β -CD จึงทำให้ผู้ทดสอบรับรู้คุณลักษณะนี้ได้้น้อย นอกจากนี้อาจต้องพิจารณาอิทธิพลของ D-limonene ซึ่งเป็นสารระเหยให้กลิ่นที่สามารถแสดงคุณลักษณะของ sweet ได้อยู่บางส่วนแต่ อาจจะไม่ชัดเจนมากนัก ทำให้ผู้ทดสอบประเมินคะแนนความเข้มต่ำและแสดงถึงการรับรู้ที่ไม่แตกต่าง กันในทุกระยะเวลาการเก็บรักษา

-dried-chrysanthemum-liked เมื่อผู้ทดสอบประเมินความเข้มของคุณลักษณะนี้ในน้ำมันหอม ระเหยกะเพรากับสารประกอบอินคลูชัน พบว่ามีคะแนนความเข้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากการลดลงของค่า OAV ในสารระเหย β -ocimene และ linalool ที่ลดลงมากกว่า 60

เท่าเมื่อเกิดเป็นสารประกอบอินคลูชัน ทั้งนี้เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของกลี้นในสารประกอบอินคลูชันที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือนพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน แสดงถึงความคงตัวของสารระเหยในสารประกอบอินคลูชัน

เมื่อพิจารณาคะแนนความเข้มข้นของคุณลักษณะกลี้นทั้ง 8 ชนิดในสารประกอบอินคลูชัน β -CD พบว่าผู้ทดสอบยังคงสามารถรับรู้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ โดยสารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน มีระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วงคะแนนที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tangpao และคณะ (2018) ซึ่งทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะกลี้นในใบกะเพราแดง ที่ระดับความเข้มข้นบนสเกล 15-cm line scale จึงแสดงให้เห็นว่าสารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน สามารถรักษาความคงตัวและแสดงลักษณะของกลิ่นน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ดี

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชันมีความคงตัวต่อความร้อนที่ 70 °C และลดลงที่ 100 °C ในระยะเวลา 30 นาทีแรก โดยพบว่าในระยะเวลา 3 เดือนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยให้กลิ่นสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกะเพราในสารประกอบอินคลูชัน โดยการเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่ลดลง แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบอินคลูชัน β -CD ยังคงทำให้สารระเหยให้กลิ่นสำคัญเหล่านี้มีความคงตัวต่อความร้อนและการเก็บรักษาที่ยาวนานมากกว่าน้ำมันหอมระเหยปกติ จึงสามารถนำสารประกอบอินคลูชันน้ำมันหอมระเหยกะเพรานี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ยกตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋อง หรือ ผลิตภัณฑ์อาหาร ready to eat ที่ต้องมีการอุ่นร้อน (100 °C) ก่อนการบริโภค สารประกอบจะค่อย ๆ ปลดปล่อยสารระเหยให้กลิ่นออกมา ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารนั้นมีกลิ่นหอมของน้ำมันกะเพราเพิ่มขึ้น อีกทั้งสารประกอบอินคลูชันนี้สามารถละลายน้ำได้ จึงเกิดกระจายของกลี้นรสในเนื้ออาหารได้อย่างสม่ำเสมอ รักษาความเป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นกะเพราไว้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ในระยะเวลายาวนานขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วน 1:5 (น้ำมันหอมระเหยกะเพรา : β -CD) มีปริมาณผลผลิตในการห่อหุ้มและประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันสูงที่สุด อีกทั้งมีความสมบูรณ์ของไมโครแคปซูลมากกว่าที่อัตราส่วนอื่น เมื่อทดสอบความสามารถในการละลายของสารประกอบอินคลูชันที่ใช้ β -CD เป็นสารห่อหุ้มพบว่าสามารถเพิ่มโอกาสในการละลายน้ำได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ β -CD ปกติ และน้ำมันหอมระเหยซึ่งไม่สามารถละลายน้ำได้โดยธรรมชาติ นอกจากนี้การเกิดสารประกอบอินคลูชัน ช่วยทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยมีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้น เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารด้วยความร้อน และเมื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินคลูชัน พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา โดย β -CD นั้นทำหน้าที่กักเก็บน้ำมันหอมระเหยเอาไว้ในโพรงภายใน ทำให้โมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเกิดการเปลี่ยนแปลงเสมือนเป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุล β -CD

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา ด้วยเทคนิค Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) พบว่ามีองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่น 26 ชนิด โดยสารระเหยที่พบในปริมาณมากคือ β -caryophyllene, eugenol และ methyl eugenol ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า odor activity value (OAV) พบสารระเหยให้กลิ่นสำคัญคือ eugenol linalool copaene β -caryophyllene methyl eugenol และ estragole ตามลำดับ และเมื่อนำสารประกอบอินคลูชันที่อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด (1:5) มาวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา สามารถตรวจพบเพียง 19 ชนิดเท่านั้น โดยพบปริมาณสารระเหยให้กลิ่นหลักคือ eugenol methyl eugenol และ β -caryophyllene โดยที่สารระเหยให้กลิ่นสำคัญที่พบในสารประกอบอินคลูชันคือ eugenol linalool methyl eugenol estragole copaene และ β -caryophyllene ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารระเหยในสารประกอบ

อินคลูชันพบว่า β -CD สามารถทำหน้าที่เป็นสารห่อหุ้มที่ปกป้องสารระเหยต่อความร้อนได้ดี แต่เมื่อเกิดการสะสมความร้อนเป็นระยะเวลานาน สารประกอบอินคลูชันจะมีความคงตัวที่ลดลง

สารประกอบอินคลูชันที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน สามารถรักษาความคงตัว และแสดงลักษณะของกลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพราได้ดีเมื่อทดสอบด้วยเทคนิค GC-MS โดยพิจารณาร่วมกับค่า OAV และการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนั้นเทคนิคการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยกะเพราด้วย β -CD จึงสามารถชะลอการสูญเสียปริมาณสารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันได้ และช่วยทำให้สารระเหยให้กลิ่นในน้ำมันหอมระเหยกะเพรามีความคงตัวต่อความร้อนและการเก็บรักษา มากกว่าสารระเหยที่อยู่ในน้ำมันปกติ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรใช้ร่วมกับสารห่อหุ้มชนิดอื่น ๆ เพื่อเพิ่มความสามารถในการเกิดอิมัลชันทำให้สารประกอบอินคลูชันมีประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำมันที่สูงขึ้น
2. ควรศึกษาอายุเก็บรักษาของสารประกอบอินคลูชัน ที่สภาวะและบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษา

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาษาไทย

ธีระวัฒน์ บุญโสม และเอกชัย คำเกลี้ยง. (2561). การทำไมโครเอนแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยโดยการพ่นแห้งผลของส่วนประกอบของสารหล่อหุ้มและสภาวะการเตรียม. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย, 12(2): 48-62.

วันทนี้อย น้อยจินดา และ อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์. (2562). การเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยด้วยอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของไซโคลเดกซ์ทริน. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยสยาม, 14(2): 108-119.

ภาษาอังกฤษ

A. O. A. C. (2000). Official Method of Analysis. 17th ed., The Association of Office Analytical Chemists, Virginia.

Abarca, R. L., Rodriguez, F. J., Guarda, A., Galotto, M. J., & Bruna, J. E. (2016). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food Chemistry*. 196: 968-975.

Amber, K., Aijaz, A., Immaculata, X., Luqman, K. A., & Nikhat, M. (2010). Anticandidal effect of *Ocimum sanctum* essential oil and its synergy with fluconazole and ketoconazole. *Phytomedicine*. 17(12): 921-925.

Arabhosseini, A., Huisman, W., Boxtel, A. V., & Müller, J. (2007). Long-term effects of drying conditions on the essential oil and color of tarragon leaves during storage. *Journal of Food Engineering*. 79: 561-566.

Astray, G., Gonzalez, B. C., Mejuto, J. C., Rial, O. R., & Gandara, S. J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*. 23: 1631-1640.

- Beddows, C. G., & Wong, J. (1987). Optimization of yield and properties of silken tofu from soybeans. *International Journal of Food Science & Technology*. 22(1): 29-34.
- Bhavya, M. L., Chandu, A. G. S., & Devi, S. S. (2018). *Ocimum tenuiflorum* oil, a potential insecticide against rice weevil with anti-acetylcholinesterase activity. *Industrial Crops and Products*. 126: 434-439.
- Boonbumrung, S., Tamura, H., Mookdasanit, J., Nakamoto, H., Ishihara, M., Yoshizawa, T., & Varayanond, W. (2001). Characteristic aroma components of the volatile oil of yellow keaw mango fruits determined by limited odor unit method. *Food Science and Technology Research*. 7(3): 200-206.
- Chew, S. C., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2018). Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. *Journal of Food Engineering*. 237: 78-85.
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*. 5: 169-86.
- Ciobanu, A., Landy, D., & Fourmentin, S. (2013). Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds. *Food Research International*. 53(1): 110-114.
- Ciobanu, A., Mallard, I., Landy, D., Brabiec, G., Nistorc, D., & Fourmentin, S. (2012). Inclusion interactions of cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers with linalool and camphor in *Lavandula angustifolia* essential oil. *Carbohydrate Polymers*. 87: 1963-1970.
- Connors, K. A. (1997). The stability of cyclodextrin complexes in solution. *Chemical Reviews*. 5: 1325-1357.

- Cui, L., Liu, C.-Q., & Li, D.-J. (2010). Changes in volatile compounds of sweet potato tips during fermentation. *Agricultural Sciences in China*. 9(11): 1689-1695.
- Das, S., Rajanrajabalaya, David, S., Gani, N., Khanam, J., & Nanda, A. (2013). Cyclodextrins-the molecular container. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 4: 1694-1720.
- Decock, G., Landy, D., Surpateanu, G., & Fourmentin, S. (2008). Study of the retention of aroma components by cyclodextrins by static headspace gas chromatography. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 62(3): 297-302.
- Del Valle, E. M. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. 39: 1033-1046.
- Dey, B. B., & Choudhuri, M. A. (1983). Effect of Leaf Development Stage on Changes in Essential Oil of *Ocimum sanctum* L. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*. 178(5): 331-335.
- Fenyvesi, E., Gruiz, K., Verstichel, S., Wilde, B. D., Leitgib, L., Csabai, K., & Szaniszló, N. (2005). Biodegradation of cyclodextrins in soil. *Chemosphere*. 60: 1001-1008.
- Fincke, A., & Maurer, R. (1974). Verhalten von Citronenol bei der Herstellung und Lagerung citronenolhaltiger Zuckerwaren. 2. Mitteilung: Lager- und Herstellungsversuche. *Dtsch Lebensm Rdsch*. 70: 100-104.
- Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*. 90(3): 413-424.
- Galvão, J. G., Silva, V. F., Ferreira, S. G., França, F. R. M., Santos, D. A., Freitas, L. S., Alves, P. B., Araújo, A. A. S., Cavalcanti, S. C. H., & Nunes, R. S. (2015). beta-

cyclodextrin inclusion complexes containing *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil: An alternative to control *Aedes aegypti* larvae. *Thermochimica Acta*. 608: 14–19.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Application of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*. 40: 1107-1121.

Giordano, M., Kansiz, M., Heraud, P., Beardall, J., Wood, B. & McNaughton, D. (2001). Fourier transform infrared spectroscopy as a novel tool to investigate changes in intracellular macromolecular pools in the marine microalga *chaetoceros muellerii* (bacillariophyceae). *Journal of Psychology*. 37(2): 271-279.

Gong, A., Ping, W., Wang, J., & Zhu, S. (2014). Cyclodextrin polymer/Fe₃O₄ nanocomposites as solid phase extraction material coupled with UV–vis spectrometry for the analysis of rutin. *Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 122: 331–336.

Guimaraes, A. G., Oliveira, M. A., Alves, R. S., Menezes, P. P., Serafini, M. R., Araujo, A. A. S., Bezerra, Kfoury, M., Auezova, L., Ruellan, S., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. (2015). Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oils with cyclodextrins. *Carbohydrate polymers*. 118: 156-164.

Hădărugă, D. I., Birău, C. L., Gruia, A. T., Păunescu, V., Bandur, G. N., & Hădărugă, N. G. (2017). Moisture evaluation of β -cyclodextrin/fish oils complexes by thermal analyses: A data review on common barbel (*Barbus barbus* L.), Pontic shad (*Alosa immaculata* Bennett), European wels catfish (*Silurus glanis* L.), and common bleak (*Alburnus alburnus* L.) living in Danube river. *Food Chemistry*. 236: 49-58.

- Hadian, Z., Maleki, M., Abdi, K., Atyabi, F., Mohammadi, A., & Khaksar, R. (2018). Preparation and characterization of nanoparticle β -Cyclodextrin: geraniol inclusion complexes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 17(1): 39-51.
- Hill, L. E., Gomes, C., & Matthew, T. T. (2013). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *Food Science and Technology*. 51(1): 86-93.
- Kfoury, M., Auezova, L., Ruellan, S., & Greige-Gerges, H. (2015). Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oil with cyclodextrins. *Carbohydrate polymers*. 118: 156-164.
- Kfoury, M., Hadaruga, N. G., Hadaruga, D. I., & Fourmentin, S. (2016). Chapter 4; Cyclodextrins as encapsulation material for flavors and aroma. In Grumezescu, A. M. (Ed.) *Encapsulations*. Elsevier Inc. pp. 127-192.
- Kovats, E. (1958). Gas chromatographic characterization of organic compounds. Part 1. Retention indexes of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones. *Helv Chim Acta* 41: 1915-1932.
- Laohasongkram, K., Mahamaktudsanee, T., & Chaiwanichasiri, S. (2011). Microencapsulation of macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Science*. 1660-1665.
- Lawtrakul, L., Inthajak, K., & Toochinda, P. (2014). Molecular calculations on β -cyclodextrin inclusion complexes with five essential oil compounds from *Ocimum basilicum* (sweet basil). *ScienceAsia*. 40: 145-151.

- Li, Q. X., & Chang, C. L. (2015). Basil (*Ocimum basilicum* L.) Oils. In: V. R. Preedy., editor, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Salt Lake City, Utah, Academic Press, pp. 231-238.
- Liang, H., Yuan, Q., Vriesekoop, F., & Lv, F. (2012). Effects of cyclodextrins on the antimicrobial activity of plant-derived essential oil compounds. *Food Chemistry*. 135(3): 1020-1027.
- Linert, W., Margl, P., & Renz, F. (1992). Solute-solvent interactions between cyclodextrin and water: a molecular mechanical study. *Chemical Physics*. 161(3): 327-338.
- Lorjaroenphon, Y., & Cadwallader, K. R. (2014). Identification of character-impact odorants in a cola-flavored carbonated beverage by quantitative analysis and omission studies of aroma reconstitution models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63: 776–786.
- Machado, M. I. L., Vasconcelos Silva, M. G., Matos, F. J. A., Craveiro, A. A., & Alencar, J. W. (1999). Volatile constituents from leaves and inflorescence oil of *Ocimum tenuiflorum* L. f. (syn. *O. sanctum* L.) grown in Northeastern Brazil. *Journal of Essential Oil Research*. 11(3): 324-326.
- McGraw, G. W., Hemingway, R. W., Ingram, L. L. Jr., Canady, C. S., & McGraw, W. B. (1999). Thermal degradation of terpenes: camphene, carene, limonene, and α -terpinene. *Environmental Science and Technology*. 33: 4029–4033.
- Menezes, P. P., Serafini, M. R., Quintans-Junior, L. J., Silva, G. F., Oliveira, J. F., & Carvalho, F. M. S. (2013). inclusion complex of (-)-linalool and β -cyclodextrin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 115(3): 2429-2437.

- Molteberg, E. L., Magnus, E. M., Bjorge, J. M., & Nilsson, A. (1997). Sensory and Chemical Studies of Lipid Oxidation in Raw and Heat-Treated Oat Flours. *American Association of Cereal Chemists*. 73(5): 579-587.
- Mondello, L., Zappia, G., Cotroneo, A., Bonaccorsi, I., Chowdhury, J. U., Yusuf, M. & Dugo, G. (2002). Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type. *Flavour Fragrance Journal*. 17: 335-340.
- Mourtzinou, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A., & Karathanos, V. T. (2007). Encapsulation of Olive leaf extract in β -Cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 8088-8094.
- Nakatsu, T., Lupo, A. T., Chinn, J. W., & Kang, R. K. L. (2000). Biological activity of essential oils and their constituents. In Atta, U. R. (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier Inc. pp. 571-631.
- Nandi, I., Bateson, M., Bari, M., & Joshi, H. N. (2003). Synergistic effect of PEG-400 and cyclodextrin to enhance solubility of progesterone. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*. 4: 1-5.
- Nguyen, H., Campi, E. M., Jackson, W. R., & Patti, A. F. (2009). Effect of oxidative Deterioration on flavour and aroma components of lemon oil. *Food Chemistry*. 112: 388-393.
- Niu, Y., Wang, P., Xiao, Q., Xiao, Z., Mao, H., & Zhang, J. (2020). Characterization of Odor-Active Volatiles and Odor Contribution Based on Binary Interaction Effects in Mango and Vodka Cocktail. *Molecules*. 25(5): 1083-1093.

- Padrayuttawat, A., Yoshizawa, T., Tamura, H., & Tokunaga, T. (2001). Optical isomers and odor thresholds of volatile constituents in *Citrus sudachi*. *Food Science and Technology International Tokyo*. 3(4): 402-408.
- Pino, J. A., Roncal, E., Rosado, A., & Goire, I. (1994). The essential oils of *Ocimum basilicum* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*. 6: 89-90.
- Pino, J. A., Rosado, A., Rodriguez, M., & Garcia, D. (1998). Composition of the essential oil of *Ocimum tenuiflorum* L. grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research*. 10(4): 437-438.
- Politeo, O., Jukic, M., & Milos, M. (2007). Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chemistry*. 101(1): 379-385.
- Qian, M. C., & Wang, Y. (2004). Seasonal variation of volatile composition and odor activity value of marion and thornless evergreen blackberries. *Journal of Food Science*. 70(1): 13-20.
- Rakmai, J., Cheirsilp, B., Cid, A., Agrasar, T. A., Mejuto, C. J., & Gandara., S. J. (2018). Chapter 11; Encapsulation of Essential Oils by Cyclodextrins: Characterization and Evaluation. In Arora, P., & Dhingra, N. (Eds.) *A Versatile Ingredient*. IntechOpen. pp. 263-290.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. 62: 250-264.
- Rodis, P. S., Karathanos, V. T., & Mantzavinou, A. (2002). Partitioning of olive leaf antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 596-601.

- Rosenberg, M., Kopelman, I. J., & Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 1288-1294.
- Ruktanonchai, U. R., Srinuanchai, W., Saesoo, S., Sramala, I., Puttipipatkachorn, S., & Soottitantawat, A. (2011). Encapsulation of citral isomers in extracted lemongrass oil with cyclodextrins: molecular modeling and physicochemical characterizations. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 75(12): 2340-2345.
- Rychlik, M., Schieberle, P., & Grosch, W. (1998). Compilation of odor thresholds, odor qualities and retention indices of key food odorants. *Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie*. Garching. Germany.
- Saito, Y., Tanemura, I., Ueda, H., & Sato, T. (1998). Simultaneous determination of the stability constants for fragrance materials with 2-Hydroxypropyl-beta;-cyclodextrin by static head-space gas chromatography. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 46(7): 1177-1179.
- Sánchez, A. C., Lech, K., Szumny, A., Figiel, A., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2012). Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by drying method. *Food Research International*. 48: 217-225.
- Santana, A. A., Cano-Higuera, D. M., Oliveira, R. A., & Telis, V. R. N. (2016). Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp (*Euterpe edulis*) by spray drying. *Food Chemistry*. 212: 1-9.
- Santos, I. G., Scher, R., Rott, M. B., Menezes, L. R., Costa, E. V., Cavalcanti, S. C., Blank, A. F., Santos Aguiar, J., Silva, T. G., & Dolabella, S. S. (2016). Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia* spp. (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. *Parasitology Research*. 115(2): 535-540.

- Sayer, G., & Bhat, G. J. C. C. (2014). The renin-angiotensin-aldosterone system and heart failure. *32*(1), 21-32.
- Silva, M. C. E., Galhano, C. I. C., & Silva, A. M. G. M. (2007). A new sprout inhibitor of potato tuber based on carvone/ β -cyclodextrin inclusion compound. In Albrecht, M. (Ed.) *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. Springer. pp. 121-124.
- Singh, S., Taneja, M., & Majumdar, D. K. (2007). Biological activities of *Ocimum sanctum* L. fixed oil-An overview. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45: 403-412.
- Singkhornart, S., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., & Chatpaisarn, A. (2009). Identification of major compounds from 3 labiatae oils extracted. *Agriculture Science Journal*. 40(1): 95-98.
- Sonmezdag, A. S., Amanpour, A., Kelebek, H., & Selli, S. (2018). The most aromatic compounds in shade-dried aerial parts of basil obtained from Iran and Turkey. *Industrial Crops and Products*. 124: 692-698.
- Sootitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., & Linko, P. (2003). Microencapsulation by Spray Drying: Influence of Emulsion Size on the Retention of Volatile Compounds. *Journal of Food Science*. 68(7): 2256-2262.
- Sosnik, A. & Seremeta, K. P. (2015). Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Advances in Colloid and Interface Science*. 223: 40-54.
- Stojakovic, D., Bugarski, B., & Rajic, N. (2012). A kinetic study of the release of vanillin encapsulated in carnauba wax microcapsules. *Journal of Food Engineering*. 109(3): 640-642.

- Sun, H., Ni, H., Yang, Y., Chen, F., Cai, H., & Xiao, A. (2014). Sensory evaluation and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) analysis of the volatile extracts of pummelo (*Citrus maxima*) peel. *Flavour Fragrance Journal*. 29: 305– 312.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*. 98(5): 1743–1753.
- Szejtli, J., & Szente, L. (1979). Stabilization of volatile, oxidizable flavour substances by β -cyclodextrin. *Planta Medica*. 36(3): 292–293.
- Szente, L., & Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*. 15(3): 137-142.
- Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T., & Varanyanond, D. W. (2001). The volatile constituents in the peel and pulp of a green Thai mango, Kkieo sawoei cultivar (*Mangifera indica* L.). *Food Science and Technology Research*. 7: 72-77.
- Tangpao, T., Chung, H. H., & Sommano, S. R. (2018). Aromatic Profiles of Essential Oils from Five Commonly Used Thai Basils. *Foods*. 7: 1-13.
- Tsiraki, M. I., & Savvaidis, I. N. (2013). Effect of packaging and basil essential oil on the quality characteristics of whey cheese “Anthotyros”. *Food and Bioprocess Technology*. 6(1): 124-132.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12: 40-53.
- Wang, X., Luo, Z., & Xiao, Z. (2014). Preparation, characterization, and thermal stability of β -cyclodextrin/soybean lecithin inclusion complex. *Carbohydrate polymers*. 102: 1127-1132.

- Yuan, C., Liu, B., & Liu, H. (2015). Characterization of hydroxypropyl- β -cyclodextrins with different substitution patterns via FTIR, GC-MS, and TG-DTA. *Carbohydrate Polymers*. 118: 36-40.
- Zeller, A. & Rychlik, M. (2007). Impact of estragole and other odorants on the flavour of anise and tarragon. *Flavour Fragrance Journal*. 22: 105-113.
- Zhang, Y., Zhang, H., Wang, F., & Wang, L. (2018). Preparation and properties of ginger essential beta-cyclodextrin/chitosan inclusion complexes. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 8: 305-318.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก.1 การเตรียมตัวอย่าง internal standard (วิธีของ Politeo และคณะ, 2007)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)
2. ขวดวัดปริมาตร 10 mL
3. micropipette (Mettler Toledo, USA)

สารเคมี

1. 2,4,6-trimethylpyridine (Sigma-Aldrich, Switzerland)
2. methanol (QRëC, New Zealand)

วิธีการเตรียม

1. ชั่ง 2,4,6-trimethylpyridine น้ำหนัก 0.1564 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 10 mL
2. เติม methanol ลงไปจนถึงขีดวัดปริมาตร 10 mL

คำนวณน้ำหนักสาร 2,4,6-trimethylpyridine (internal standard)

$$\text{Internal standard เริ่มต้น} = \frac{0.1564}{10000} = 0.01564 \text{ mg/uL}$$

$$\text{Internal standard 5 uL ในน้ำมันหอมระเหย 100 uL} = 0.0782 \text{ mg}$$

ก.2 การเตรียมสารมาตรฐานอัลเคน (C₁₀-C₄₀)

อุปกรณ์

1. micropipette (Mettler Toledo, USA)
2. μ-vials 300 μL (Gerstel, Germany)

สารเคมี

1. C₁₀ – C₄₀ saturated alkanes standard (Sigma-Aldrich, Switzerland)
2. dichlormethane (QRëC, New Zealand)

วิธีการเตรียม

1. ปิเปต C₁₀ – C₄₀ saturated alkanes standard ความเข้มข้น 500 ppm 1 mL จาก stock solution ลงในขวดวัดปริมาตร 10 mL
2. เติม dichlormethane จนถึงขีดวัดปริมาตรที่ขวด
3. ปิเปตสารละลาย 1 μL ลงใน μ-vials ขนาด 300 μL
4. นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)

วิธีคำนวณ retention index (RI)

สมการคำนวณ RI จาก Kovats (1958)

$$RI = 100N + 100n \frac{t_{R_a} - t_{R_N}}{t_{R_{N+n}} - t_{R_N}}$$

N is carbon number of the lower alkane

n is the difference in carbon number of the two n-alkane that bracket the compound

t_{R_a} , t_{R_N} , $t_{R_{(N+n)}}$ are the retention times of unknown compound, the lower alkane and the upper alkane, respectively

ก.3 การคำนวณปริมาณของสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยกะเพราเทียบกับ internal standard

ปริมาณสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยกะเพรา (mg) =

$$\frac{\text{พื้นที่ใต้พีคสารระเหย} \times \text{ปริมาณ internal standard ที่เติมลงไป ในน้ำมันหอมระเหย (mg)}}{\text{พื้นที่ใต้พีคของ internal standard}}$$

ก.4 การเตรียมอัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD

1. น้ำมันหอมระเหยกะเพราคำนวณจากน้ำหนักโมเลกุลของ eugenol, methyl eugenol และ β -caryophyllene คือ 546.78 g/mol
2. น้ำหนักโมเลกุลของ β -CD คือ 1134.99 g/mol

ดังนั้นอัตราส่วนโดยโมล (น้ำมันหอมระเหยกะเพรา: β -CD)

1:1 คือ น้ำมันหอมระเหย 546.78 g/mol

β -CD 1134.99 g/mol

1:3 คือ น้ำมันหอมระเหย 546.78 g/mol

β -CD 3404.97 g/mol

1:5 คือ น้ำมันหอมระเหย 546.78 g/mol

β -CD 5674.95 g/mol

ก.5 การหา encapsulation efficiency (EE) และ loading capacity (LC) (ดัดแปลงวิธีจาก Chew และคณะ (2018))

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)

2. hot air oven (Gen Lab รุ่น PRIME, UK)
3. magnetic stirrer with heating plate (IKA รุ่น C-MAG HS7, Germany)
4. rotary vacuum evaporator (BÜCHI รุ่น Rotavapor R-114, Switzerland)
5. ultrasonicator (Hielscher รุ่น UP400S, Germany)
6. vacuum pump (Rocker รุ่น 3000, Taiwan)
7. whatman No.1 filter paper (Whatman, Maidstone, UK)

สารเคมี

1. บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -CD)
2. ethanol 95% (QRèC, New Zealand)
3. hexane (QRèC, New Zealand)

วิธีการเตรียม

การหาปริมาณน้ำมันทั้งหมด (total oil content)

1. ละลายสารประกอบอินทรีย์ β -CD (2 g) ในสารละลาย ethanol: hexane (1:1 v/v) ปริมาตร 40 mL
2. homogenize ด้วยเครื่อง ultrasonic homogenizer ที่ amplitude 100% เป็นเวลา 2 นาที
3. เติม hexane ปริมาตร 20 mL และเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่อง vortex mixture ที่ความเร็วระดับ 7 เป็นเวลา 3 นาที
4. นำสารละลายทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 5 นาที (ทำการสกัดซ้ำในขั้นตอนที่ 1-4 เป็นจำนวน 3 ครั้ง)
5. นำส่วนของเหลวที่ได้มาใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 mL ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ระเหย ethanol และ hexane ออกจากตัวอย่างด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

6. นำขวดก้นกลมที่บรรจุน้ำมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 °C เวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำออกจากตู้อบใส่ลงใน desiccator จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะและตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง จึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง เพื่อคำนวณปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่สกัดได้

หาปริมาณน้ำมันหอมระเหยใบกะเพราที่ผิวของสารประกอบอินคลูชัน β -CD (surface oil)

1. สกัดสารประกอบอินคลูชัน β -CD (2 g) ด้วย hexane 20 mL พร้อมเขย่าด้วยมือ เป็นเวลา 2 นาที
2. กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1
3. ชะตะกอนด้วย hexane ปริมาตร 20 mL เป็นจำนวน 3 ครั้ง
4. นำส่วนสารละลายใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 mL ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน และใช้เครื่อง rotary evaporator ระเหย hexane ที่อุณหภูมิ 40 °C
5. นำขวดก้นกลมที่บรรจุน้ำมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 °C เวลา 10 นาที นำออกจากตู้อบใส่ลงใน desiccator จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะและตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำขวดก้นกลมที่บรรจุน้ำมันไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำมันที่ผิวที่สกัดได้ จึงนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา EE และ LC ดังสมการ

$$EE (\%) = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันทั้งหมด} - \text{ปริมาณน้ำมันที่ผิว}}{\text{ปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่เติมลงไป}} \times 100$$

$$LC (\%) = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักของสารประกอบอินคลูชัน}} \times 100$$

ก.6 การหาความสามารถในการละลาย (solubility index) (ตามวิธีของ Chew และคณะ (2018))

อุปกรณ์

1. หลอด centrifuge ขนาด 250 mL
2. shaking water bath (Julabo รุ่น SW23, Germany)
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)
4. hot air oven (Gen Lab รุ่น PRIME, UK)

วิธีการเตรียม

1. ชั่งน้ำหนักสารประกอบอินคลูชัน 1 g ในหลอด centrifuge
2. เติมน้ำกลั่นอุณหภูมิ 25 °C ปริมาตร 25 mL
3. นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water baht) ความเร็วรอบ 110 rpm ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 30 นาที
4. เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 5 นาที
5. นำสารละลายใสเหนือตะกอนใส่ถ้วยอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
6. นำออกจากตู้อบใส่ลงใน desiccator จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะและตัวอย่างเท่ากับ อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งไม่เกิน 1-3 mg
7. คำนวณหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

$$\text{ความสามารถในการละลาย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักอินคลูชันก่อนอบ} - \text{น้ำหนักอินคลูชันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักอินคลูชันก่อนอบ}} \times 100$$

ก.7 การหาปริมาณความชื้น โดยวิธี air oven method (วิธีของ A.O.A.C. (2000))

อุปกรณ์

1. hot air oven (Gen Lab รุ่น PRIME, UK)
2. ถ้วยอลูมิเนียม

วิธีการเตรียม

1. อบถ้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 ± 5 °C นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบและเก็บถ้วยอลูมิเนียมใน desiccator จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าผลต่างของชั่งน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งไม่เกิน 1-3 mg
2. ชั่งน้ำหนักสารประกอบอินคลูชันที่แน่นอน 1 g ใส่ลงไปในถ้วยอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 °C นาน 2-3 ชั่วโมง
3. นำออกจากตู้อบและเก็บถ้วยอลูมิเนียมใน desiccator จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะและตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าผลต่างของชั่งน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งไม่เกิน 1-3 mg
4. คำนวณหา % ปริมาณความชื้น ดังสมการ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักอินคลูชันก่อนอบ} - \text{น้ำหนักอินคลูชันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักอินคลูชันก่อนอบ}} \times 100$$

ก.8 การศึกษาสมบัติของสารประกอบอินคลูชันด้วยเทคนิค Thermo gravimetry analysis (TGA) (วิธีของ Zhang และคณะ (2018))

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)
2. aluminum pan

- thermogravimetric analyzer (NETZSCH รุ่น TG 209 F3 Tarsus, Germany)

วิธีการเตรียม

- ชั่งตัวอย่างผงสารประกอบอินคลูชันหรือน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา 2 mg ใส่ลงใน aluminum pan ที่อยู่ภายในเครื่อง thermogravimetric analyze
- กำหนดความร้อน 10 °C /min ที่ช่วงอุณหภูมิ 50-550 °C ภายใต้แก๊สไนโตรเจน ที่อัตราไหล 20 mL/min

ก.9 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

อุปกรณ์

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)
- โถรงบดยา
- fourier transform infrared spectrometer (Perkin elmer รุ่น Spectrum one, Waltham, Massachusetts, USA)

สารเคมี

- potassium bromide (KBr)

วิธีการเตรียม

ตัวอย่างผง

- ชั่ง β -CD หรือ สารประกอบอินคลูชัน 2 mg บดรวมกับผง potassium bromide (KBr) 100 mg (ที่อบไล่ความชื้นแล้ว เพื่อที่น้ำจะได้ไม่รบกวนการดูดกลืนรังสี infrared ในการทดลอง)
- อัดผงตัวอย่างด้วย minipress แล้วนำไปวางไว้บนตัวอัด KBr disc

- นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมนี้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR โดยตั้งค่า ที่ช่วงความยาวคลื่น 4,000-400 cm^{-1} และ resolution 4.0 cm^{-1}

ตัวอย่างน้ำมัน

- หยดน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา 1 หยดลงบนแผ่นผลึก KBr แล้วยัดเข้ากับตัวยึด
- นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมนี้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR โดยตั้งค่า ที่ช่วงความยาวคลื่น 4,000-400 cm^{-1} และ resolution 4.0 cm^{-1}

ก.10 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) (Guimaraes และคณะ, 2015)

- วางตัวอย่างผง β -CD หรือสารประกอบอินคลูชัน double side carbon ที่ติดอยู่บนแท่นอลูมิเนียม
- วางลงบนฐานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- ปรับค่าความต่างศักย์ที่ 20 กิโลโวลต์ เพื่อวิเคราะห์ ขนาด รูปร่าง โครงสร้าง และลักษณะพื้นผิวของสารประกอบอินคลูชัน β -CD ได้

ภาคผนวก ข
ตารางเพิ่มเติม

ข.1 binding energy (ΔE) kcal/mol ของสารประกอบอินทรีย์ชั้น β -CD

compound	(ΔE) kcal/mol
eugenol	-8.18
Methyl eugenol	-7.74
linalool	-5.16
estragole	-4.21
eucalyptol	-2.86

ที่มา: Lawtrakul และคณะ, 2014

ข.2 conformation constant (K_f) ของสารประกอบอินทรีย์ชั้น β -CD

compound	formation constant (K_f) M^{-1}	compound	formation constant (K_f) M^{-1}
camphene	4825 ^a	D-limonene	3162 ^o
camphor	2058 ^a	linalool	366 ^o
β -caryophyllene	28674 ^a	ocimene	432 ^a
p-cymene	2502 ^a	Alpha-pinene	2588 ^o
eucalyptol	615 ^a	Beta-pinene	4587 ^o
eugenol	264 ^h	Gamma-terpinene	1309 ^a
estragole	939 ^a	Alpha-terpineol	1143 ^a

^a Kfoury และคณะ, 2016

^h Saito และคณะ, 1998

^o Ciobanu และคณะ, 2013

ข.3 odor activity value (OAV) ของสารระเหยให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราใน
สารประกอบอินคลูชัน β -CD ที่อายุการเก็บรักษา 0-3 เดือน

chemical family and compound	(OAV)	(OAV) Month 0	(OAV) Month 1	(OAV) Month 2	(OAV) Month 3
monoterpene					
α -pinene	9	13 ^a	11 ^{ab}	10 ^{bc}	9 ^c
camphene	13	15 ^a	15 ^a	15 ^a	10 ^b
sabinene	15	17 ^a	17 ^a	16 ^a	13 ^b
D-limonene	12	14 ^a	11 ^b	11 ^b	9 ^c
β -ocimene	470	566 ^a	524 ^a	383 ^b	251 ^b
monoterpenoid					
eucalyptol	80000	85266 ^a	72240 ^{ab}	58456 ^b	66078 ^b
linalool	17500	25316 ^a	22871 ^a	20221 ^{ab}	12399 ^b
camphor	10	20 ^a	21 ^a	20 ^a	15 ^b
borneol	133	225 ^a	135 ^b	105 ^c	72 ^d
estragole	3500	4834 ^a	3800 ^b	2615 ^c	2801 ^d
phenylpropanoid					
eugenol	10	154635 ^a	102887 ^b	99324 ^b	93847 ^b
methyl eugenol	9735	11569 ^a	9878 ^b	7756 ^c	7256 ^c
sesquiterpene					
copaene	3500	6055 ^a	3576 ^b	3060 ^b	2470 ^b
β -elemene	-	-	-	-	-

β -caryophyllene	7828	10662 ^a	8621 ^b	8527 ^b	7179 ^c
α -humulene	87	127 ^a	78 ^b	50 ^c	36 ^d
germacrene D	18	20 ^a	14 ^{ab}	11 ^b	8 ^b
β -humulene	74	102 ^a	75 ^b	55 ^{bc}	40 ^c
α -selinene	206	263 ^a	192 ^b	131 ^{bc}	90 ^c



ภาคผนวก ค

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ค.1 แบบประเมินการทดสอบการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA (Quantitative descriptive analysis) เพื่อศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างสารประกอบอินคลูชัน β -cyclodextrin กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

แบบประเมินการทดสอบการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA (Quantitative descriptive analysis) เพื่อศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างสารประกอบเชิงซ้อน β -cyclodextrin กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

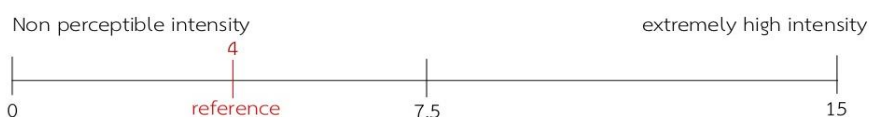
วันที่ _____

รหัสการทดสอบ _____ รหัสผู้ทดสอบ _____

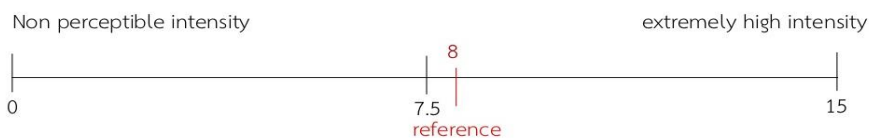
ผู้ทดสอบจะได้รับตัวอย่างเพื่อประเมินความเข้มของกลิ่นตามคุณลักษณะที่ได้ทำการตกลงร่วมกันในการฝึกฝน
กรณำประเมินโดยขีดเส้นให้คะแนนในสเกลเส้นเทียบกับตัวอย่างอ้างอิง (Reference) ของแต่ละคุณลักษณะ
สามารถแจ้งผู้ทดสอบได้ หากตัวอย่างหรือตัวอย่างอ้างอิงมีปัญหา

กรุณาอ่านคำอธิบาย และปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด หากมีคำถามหรือข้อสงสัยกรุณาสอบถามผู้ทดสอบได้

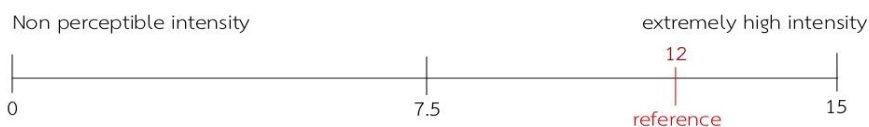
1. Herbal



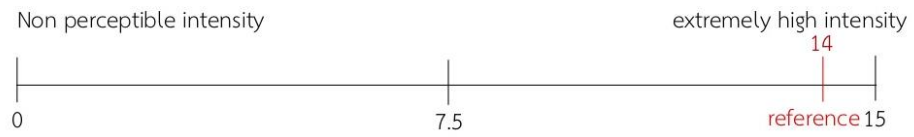
2. Cooling



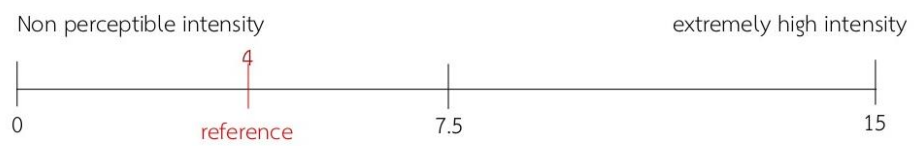
3. Spicy



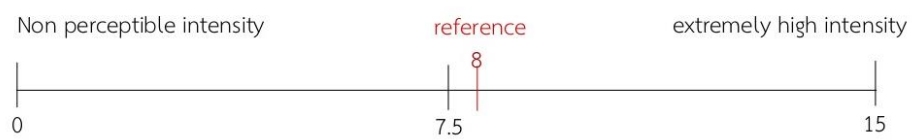
4. Clove-like



5. Woody



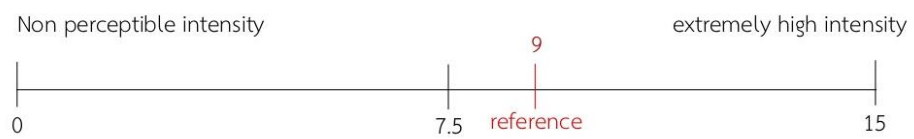
6. Sweet



7. Dried-chrysanthemum-liked



8. Sweet peppermint



ค.2 ตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี modified quantitative descriptive analysis (MQDA)



หล่อฮังก้วย

พริกไทยดำ

ผิวมะกรูดตากแห้ง

กระวานตากแห้ง



ดอกเก๊กฮวยตากแห้ง

กานพลูตากแห้ง.

ยาสีฟัน dentist

Hitto peppermint



สารประกอบอินคลูชันที่ละลายน้ำ

ค.3 ใบอนุมัติรับรองยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส
สารประกอบอินคลูชัน β -cyclodextrin กับน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

AF 01-12



คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กลุ่มสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
254 อาคารจามจรี 1 ชั้น 2 ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์: 0-2218-3202, 0-2218-3049 E-mail: eccu@chula.ac.th


COA No. 180/2563


ใบรับรองโครงการวิจัย
ยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

- โครงการวิจัยที่ 141.1/63 : ผลของการทอหุ้มน้ำมันหอมระเหยใบกะเพรา *Ocimum sanctum* Linn. ด้วย
บีตา-ไซโครเดกซ์ทรินต่อคุณภาพของแคปซูลและความคงตัวของสารระเหยให้
กลิ่น
- ผู้วิจัยหลัก : นางสาววันทนี น้อยจินดา
- หน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยนี้ได้รับการยกเว้นการทบทวนจริยธรรมการวิจัยโดยใช้หลักของ Office for Human
Research Protections (OHRP Exempt Categories) 45 CFR part 46.101(b)

โดยมีเงื่อนไขว่าผู้วิจัยดำเนินการวิจัยอย่างเคร่งครัดตามที่ปรากฏในโครงการวิจัยฉบับที่ส่งให้
คณะกรรมการ พิจารณา หากมีการเปลี่ยนแปลงต้องแจ้งคณะกรรมการฯ ก่อนมีการดำเนินการวิจัยต่อไป

ลงนาม 
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ปรีดา ทัศนประดิษฐ์)
ประธาน

ลงนาม 
(รองศาสตราจารย์ ดร.นันทรี ชัยชนวงศาโรจน์)
กรรมการและเลขานุการ

วันที่รับรอง : 11 สิงหาคม 2563



หมายเหตุ

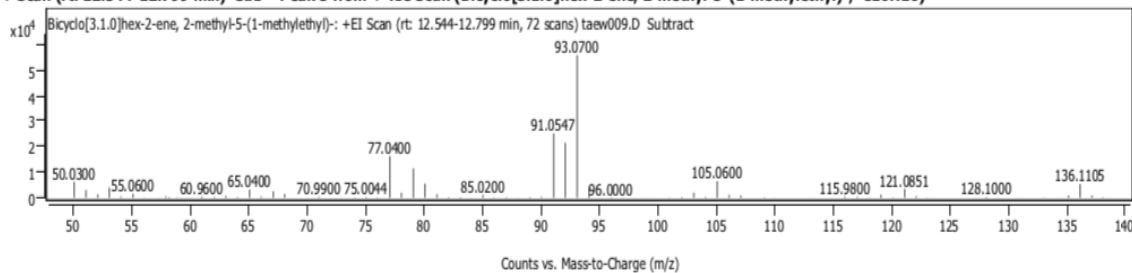
โครงการวิจัยไม่เกิน 1 ปี ส่งแบบรายงานสิ้นสุดโครงการวิจัย (AF 01-15) และบทคัดย่อผลการวิจัยภายใน 30 วัน เมื่อโครงการวิจัยเสร็จสิ้น สำหรับ
โครงการวิจัยที่เป็นวิทยานิพนธ์ให้ส่งบทคัดย่อผลการวิจัย ภายใน 30 วัน เมื่อโครงการวิจัยเสร็จสิ้น

ภาคผนวก ง

Mass spectrum

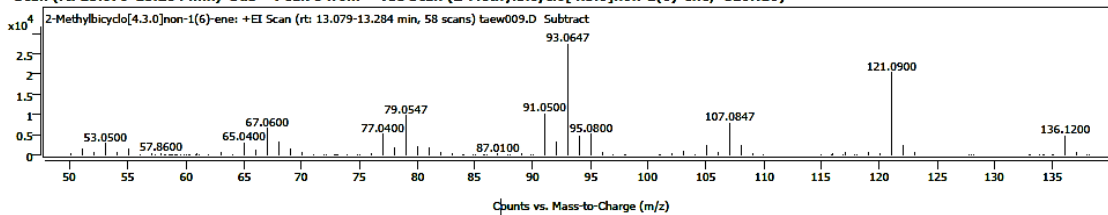
ง.1 ตัวอย่าง Spectrum ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา

+ Scan (rt: 12.544-12.799 min) Sub Peak 5 from + TIC Scan (Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-; C10H16)



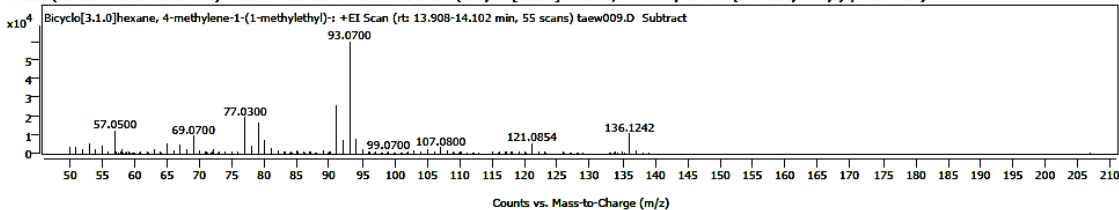
รูปที่ ง.1.1 spectrum ของ alpha-pinene

+ Scan (rt: 13.079-13.284 min) Sub Peak 8 from + TIC Scan (2-Methylbicyclo[4.3.0]non-1(6)-ene; C10H16)



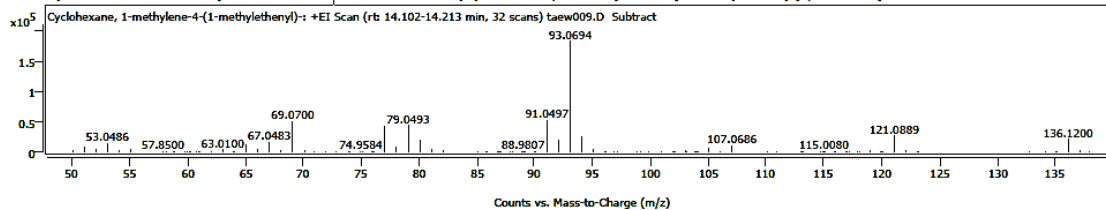
รูปที่ ง.1.2 spectrum ของ Camphene

+ Scan (rt: 13.908-14.102 min) Sub Peak 12 from + TIC Scan (Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-; C10H16)



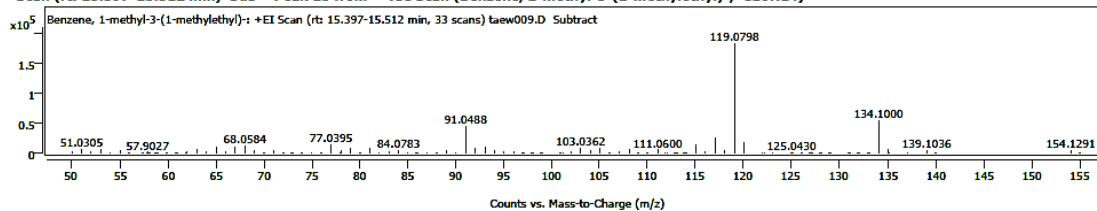
รูปที่ ง.1.3 spectrum ของ Sabinene

+ Scan (rt: 14.102-14.213 min) Sub Peak 13 from + TIC Scan (Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)-; C10H16)



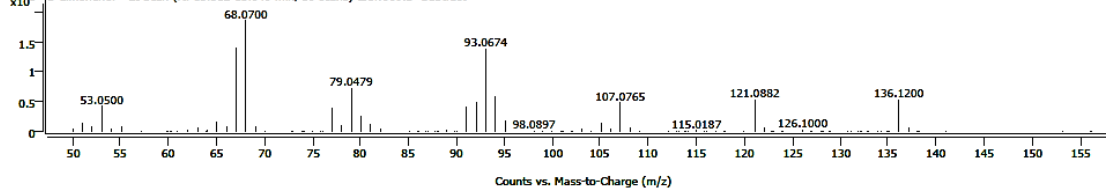
รูปที่ ง.1.4 spectrum ของ Beta-pinene

+ Scan (rt: 15.397-15.512 min) Sub Peak 15 from + TIC Scan (Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-; C10H14)



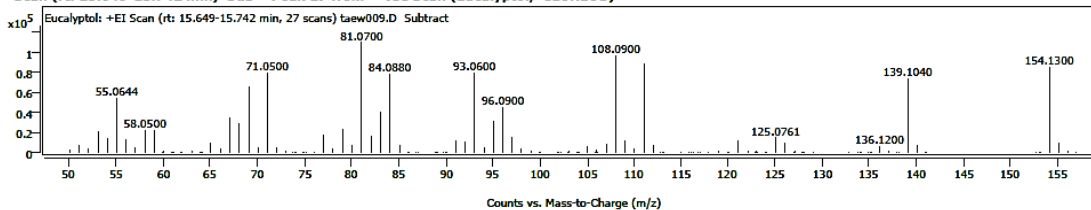
รูปที่ ง.1.5 spectrum ของ p-cymene

D-Limonene: +EI Scan (rt: 15.512-15.649 min, 39 scans) taew009.D Subtract



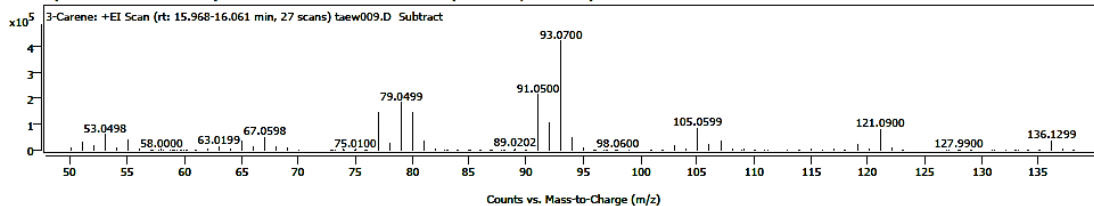
รูปที่ ง.1.6 spectrum ของ D-Limonene

+ Scan (rt: 15.649-15.742 min) Sub Peak 17 from + TIC Scan (Eucalyptol; C10H18O)



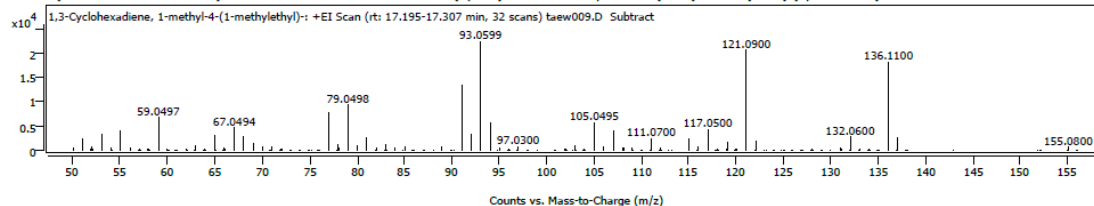
รูปที่ ง.1.7 spectrum ของ (1,8-Cineole) Eucalyptol

+ Scan (rt: 15.968-16.061 min) Sub Peak 18 from + TIC Scan (3-Carene; C10H16)



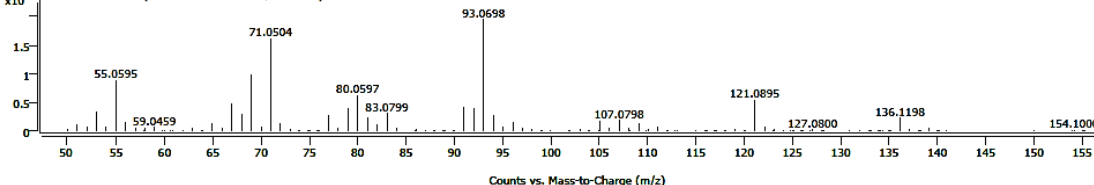
รูปที่ ง.1.8 spectrum ของ beta-Ocimene

+ Scan (rt: 17.195-17.307 min) Sub Peak 19 from + TIC Scan (1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-; C10H16)



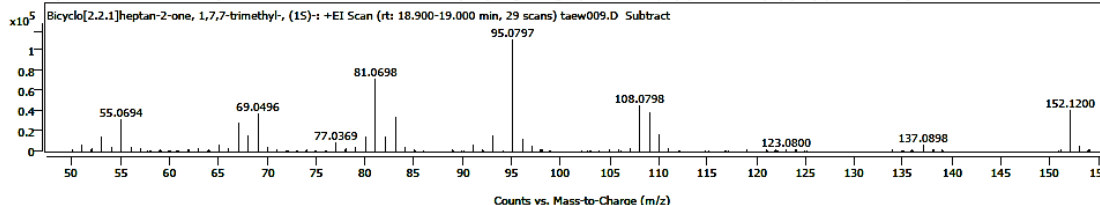
รูปที่ ง.1.9 spectrum ของ gamma-Terpinene

+ Scan (rt: 17.418-17.518 min, 29 scans) taew009.D Subtract

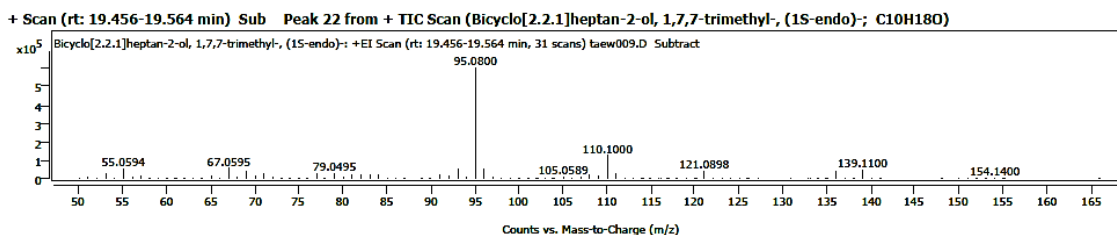


รูปที่ ง.1.10 spectrum ของ Linalool

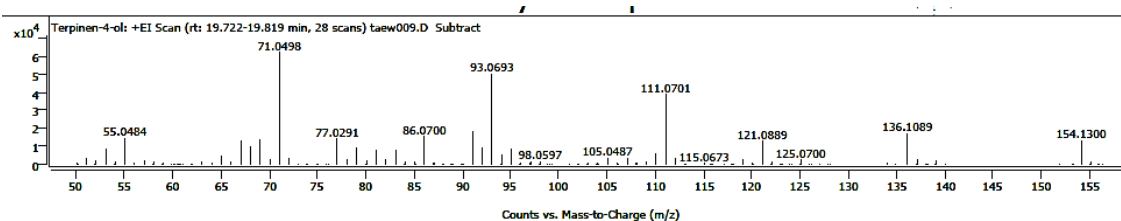
+ Scan (rt: 18.900-19.000 min) Sub Peak 21 from + TIC Scan (Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)-; C10H16O)



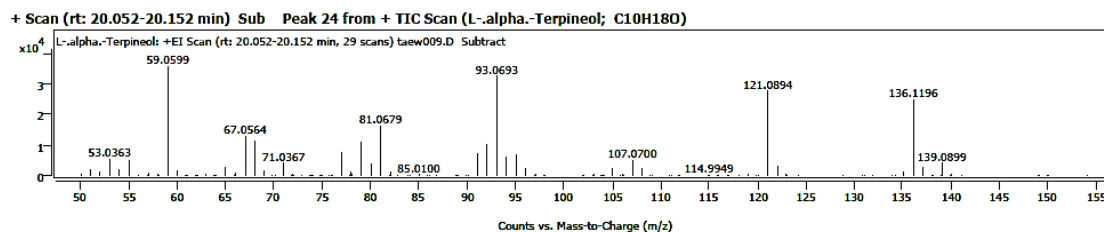
รูปที่ ง.1.11 spectrum ของ Camphor



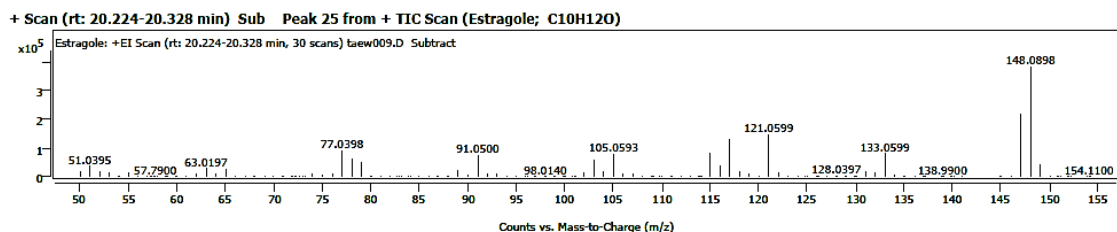
รูปที่ ๑.1.12 spectrum ของ Borneol



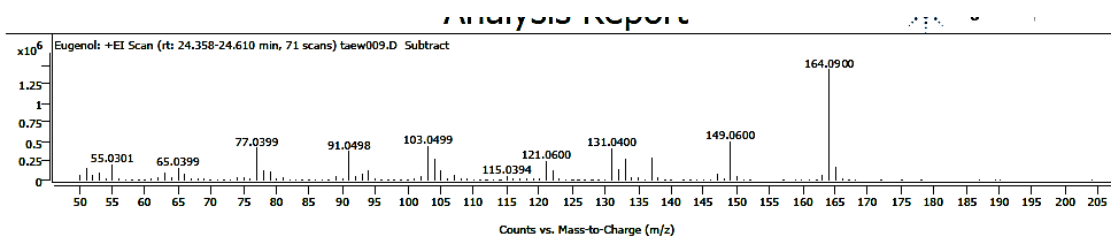
รูปที่ ๑.1.13 spectrum ของ 4-Terpinenol



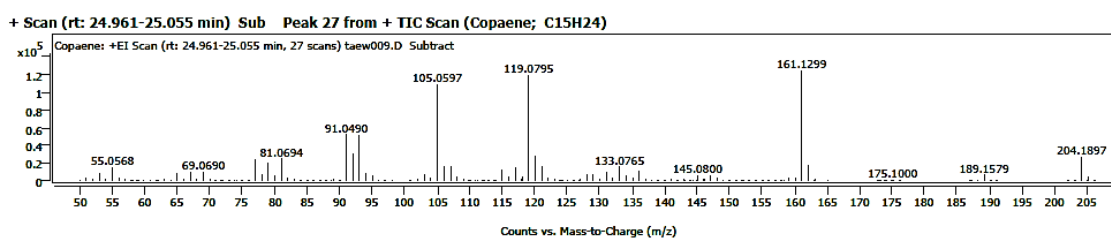
รูปที่ ๑.1.14 spectrum ของ alpha-Terpineol



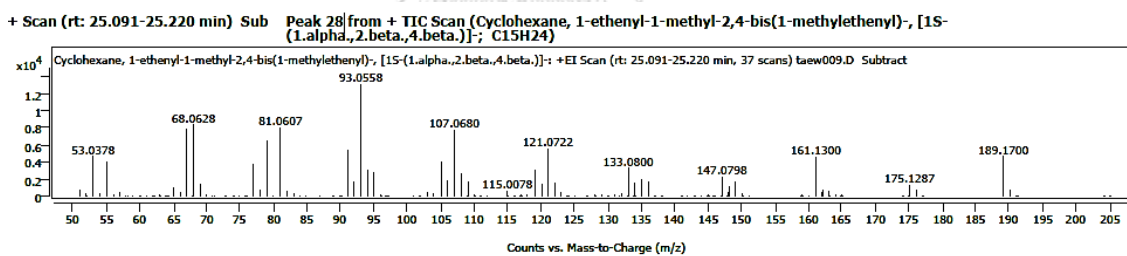
รูปที่ ๑.1.15 spectrum ของ Estragole, methyl chavicol



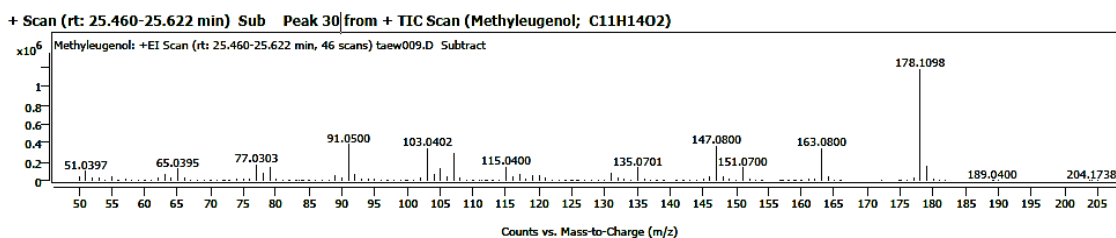
รูปที่ 1.16 spectrum ของ Eugenol



รูปที่ 1.17 spectrum ของ Copaene

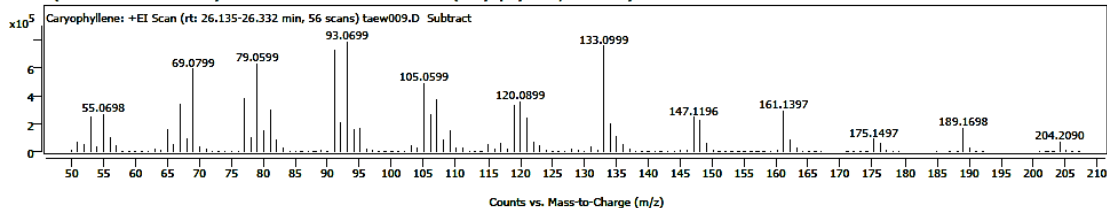


รูปที่ 1.18 spectrum ของ Beta-elemene



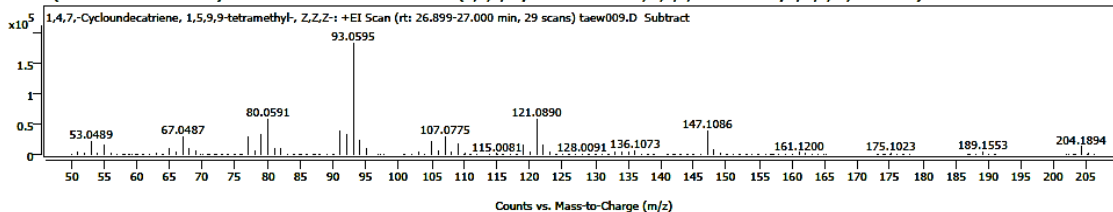
รูปที่ 1.19 spectrum ของ Methyl eugenol

+ Scan (rt: 26.135-26.332 min) Sub Peak 31 from + TIC Scan (Caryophyllene; C15H24)

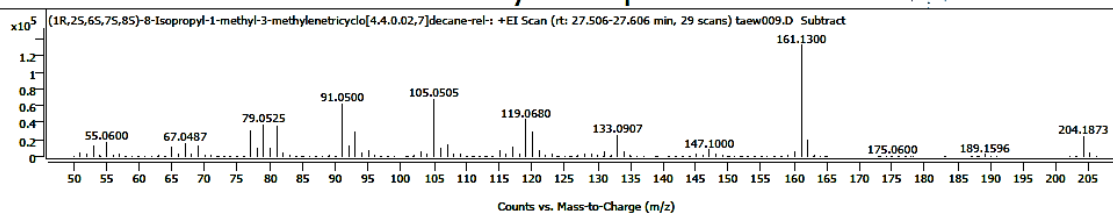


รูปที่ ง.1.20 spectrum ของ Beta-Caryophyllene

+ Scan (rt: 26.899-27.000 min) Sub Peak 32 from + TIC Scan (1,4,7-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-; C15H24)

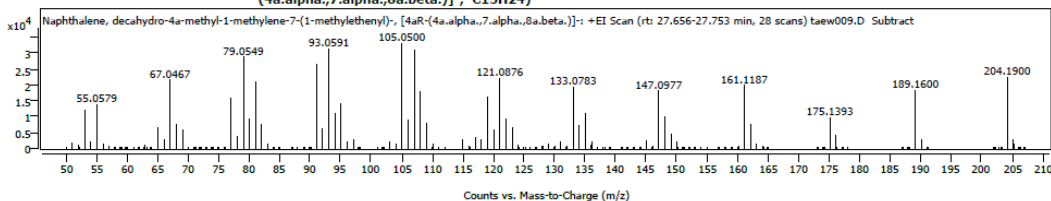


รูปที่ ง.1.21 spectrum ของ Alpha-Humulene

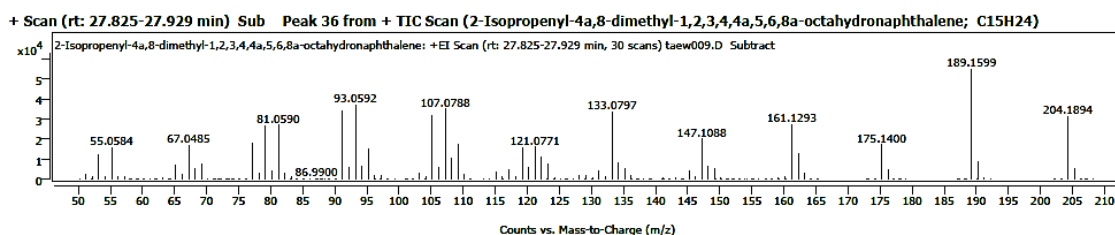


รูปที่ ง.1.22 spectrum ของ Germacrene D

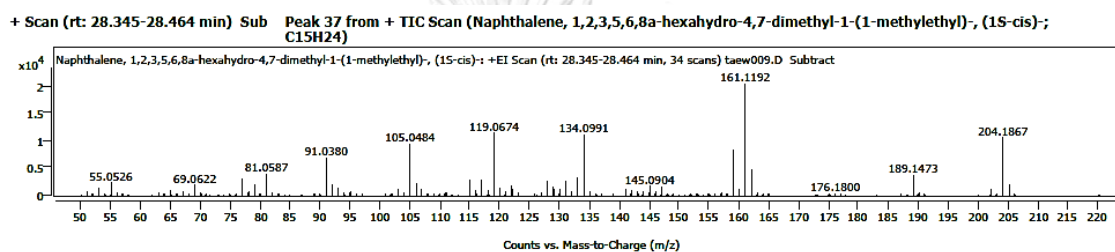
+ Scan (rt: 27.656-27.753 min) Sub Peak 35 from + TIC Scan (Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-; C15H24)



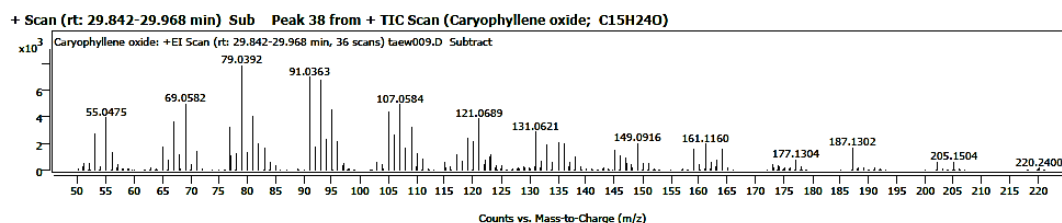
รูปที่ ง.1.23 spectrum ของ beta-Humulene



รูปที่ ๑.1.24 spectrum ของ 4a,8-Dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro naphthalene Alpha-selinene



รูปที่ ๑.1.25 spectrum ของ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-Alpha-cadinene



รูปที่ ๑.1.26 spectrum ของ Caryophyllene oxide

ภาคผนวก จ

หนังสืออนุญาตใช้บทความเพื่อประกอบวิทยานิพนธ์



JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY, SIAM UNIVERSITY
ISSN 1686-3070 (Print) / 2651-1169 (Online)

This is a License Agreement between Wantanee Noichinda, Citizen ID TH1100200836011 ("You") and Journal of Food Technology, Siam University provided by Faculty of Science, Siam University.

License number	6314202
License date	July 16, 2020
Licensed content publisher	Siam University
Licensed content title	Enhancement of Essential Oil Stability by Cyclodextrins Inclusion Complex
Licensed content author	Wantanee Noichinda, Inthawoot Suppavorasatit
Licensed content date	October 29, 2019
Licensed content volume number	14
Licensed content issue number	2
Start page – End page	108-119
Type of use	Reuse in a thesis/dissertation
Title of thesis/dissertation	EFFECTS OF HOLY BASIL (<i>Ocimum sanctum</i> Linn.) ESSENTIAL OIL USING BETA-CYCLODEXTRINS ON CAPSULE QUALITY AND VOLATILE AROMA COMPOUNDS STABILITY

This type of license, instead of the standard Terms & Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats.
- If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
- Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from (COMPLETE REFERENCE CITATION). Copyright (YEAR) Siam University." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
- One-time permission is granted only for the use specified in your request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any other uses, please submit a new request.


 Asst. Prof. Dr. Kanjana Mahattanatawee
 Editor in Chief
 Journal of Food Technology, Siam University



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	วันทนีย์ น้อยจินดา
วัน เดือน ปี เกิด	02 มิถุนายน 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพฯ
วุฒิการศึกษา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	1562/84 หมู่บ้านพิบูลย์ ถนนประชาราษฎร์ เขตบางซื่อ แขวงบางซื่อ กรุงเทพฯ 10800
ผลงานตีพิมพ์	<p>Noichinda, W., Rongkaumpan, G. and Anprung, P. (2016). Stabilizer Ability of Pectinesterase-depolymerized Palm Flesh in Low Salad dressing. <i>Agricultural Science Journal</i>. 47(2): 613-616.</p> <p>Rongkaumpan, G., Noichinda, W. and Anprung, P. (2016). Physiochemical Properties of Ripe Palm Flesh (<i>Borassus flabellifer</i> L.) Depolymerized by Pectinase. <i>Agricultural Science Journal</i>. 47(2): 397-400.</p> <p>Noichinda, W. and Suppavorasatit, I. (2019). Enhancement of Essential Oil Stability by Cyclodextrins Inclusion Complex. <i>Journal of Food Technology, Siam University</i>. 14(2): 108-119.</p> <p>Noichinda, W. and Suppavorasatit, I. (2020). Effect of Beta-Cyclodextrin Encapsulated Holy Basil (<i>Ocimum Sanctum</i> Linn.) Essential Oil Properties. In <i>Proceedings of the 22nd Food Innovation Asia Conference</i>; 18-19 June 2020; Bangkok, Thailand. p. 135-144.</p>