บทความวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน

ศรัญญา เรืองสว่าง[1] และ สุจินดา ศรีวัฒนะ[1*]

ได้รับบทความ: 15 เมษายน 2563
ได้รับบทความแก้ไข: 22 กรกฎาคม 2563
ยอมรับตีพิมพ์: 1 สิงหาคม 2563

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนและทำแห้งโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง วางแผนการทดลองแบบส่วนผสมกลางที่มี 2 ปัจจัย ปัจจัยละ 2 ระดับ (เจลาตินร้อยละ 10-30 กัมอะราบิกร้อยละ 20-40) พบว่า ความเข้มข้นของวัสดุที่ใช้ในการเก็บกัก (wall) ที่เหมาะสมคือ เจลาตินต่อกัมอะราบิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/w) โดยมีสัดส่วนเท่ากับ 1 ต่อ 1 และสารสกัดจากใบมะกรูดอบแห้งความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/w) ในน้ำมันมะกอกแบบไร้กลิ่น (core) มีอัตราส่วนของวัสดุเก็บกัก (wall) ต่อสารแกนกลาง (core) เท่ากับ 2 ต่อ 1 สารเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากใบมะกรูดที่ได้ มีค่า L^* a^* b^* ร้อยละปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคติวิตี ร้อยละประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล และปริมาณซิโตรเนลลัล เท่ากับ 65.29, -1.90, 51.09, 1.51, 0.250, 80.25 และ 20.38 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักไมโครแคปซูล ตามลำดับ โดยไมโครแคปซูลที่ได้ผ่านการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าลักษณะของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จะมีรูปทรงที่ไม่แน่นอนและมีหลากหลายขนาด

คำสำคัญ: ใบมะกรูด การเก็บกัก เทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน

[1]สาขาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[*]ผู้นิพนธ์ประสานงาน, email: sujindapdt@gmail.com

The Optimization of Microcapsule Encapsulating Kaffir Lime Leave Extract using Complex Coacervation

Saranya Ruangsawang[1] and Sujinda Sriwattana[1*]

Received: 15 March 2020
Revised: 22 July 2020
Accepted: 1 August 2020

ABSTRACT

The optimization of microcapsule encapsulating of the extract from kaffir lime leaves was developed by complex coacervation technique and freeze-drying technique. A central composite design (CCD) was employed microcapsule encapsulation (condition as level of gelation at 10% and 30% and arabic gum at 20% and 40%). The optimum condition was encapsutation with gelatin 20% and arabic gum 20% (1:1), and used as wall materials. These were mixed with 10% of extract in extra virgin olive oil as core materials and the ratio of wall materials and core material was 2:1. L^*, a^*, b^*, moisture content, water activity, encapsulation efficiency and citronellal were 65.29, -1.90, 51.09, 1.51, 0.250, 80.25 and 20.38 mg/g of microcapsule, respectively. The particle morphology by scanning electron microscopy (SEM) showed that microcapsules were irregular in shape with various sizes.

Keywords: kaffir lime leave, encapsulation, complex coacervation technique

[1]Division of Product Development Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, 50100
[*]Corresponding author, email: sujindapdt@gmail.com

บทนำ

ใบมะกรูดมักถูกใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารในแถบประเทศตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยที่ให้กลิ่นหอมช่วยในการเพิ่มกลิ่นรสให้กับอาหารและดับกลิ่นคาวได้ นิยมใช้ในอาหารไทย เช่น ต้มยำ ต้มข่าไก่ พริกแกงต่างๆ เป็นต้น โดยในใบมะกรูดมีสารหอมระเหยหลักที่สำคัญคือ citronellal และยังพบว่ามีสารหอมระเหยที่มีปริมาณรองลงมาได้แก่ citronellol, limonene และ nerol ซึ่งเป็นสารหอมระเหยที่ให้กลิ่นเฉพาะในใบมะกรูด นอกจากนี้ ยังพบสารหอมระเหยอื่นๆ ได้แก่ α-pinene, camphene, β-pinene, sabinene, myrcene, trans-ocimene, γ-terpinene, ρ-cymene, terpinolene, copaene, linalool, β-cubebene, isopulegol, caryophyllene, citronellyl acetate, citronellol, geranyl acetate และ δ-cadinene [1-3] ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มักสลายตัวด้วยความร้อน แสง หรือปัจจัยอื่นๆ เป็นต้น ดังนั้นจึงจะต้องใช้เทคโนโลยีเก็บกัก (encapsulation technology) เพื่อทำให้สารหอมระเหยเหล่านี้มีความเสถียร สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [4]

เทคโนโลยีการเก็บกัก (encapsulation technology) เป็นกระบวนการที่สารหรือส่วนผสมของสารถูกเคลือบด้วยสารอื่น สารที่ถูกเคลือบ (coated) หรือ ถูกจับยึดไว้ (entrapped) ส่วนใหญ่จะเป็นของเหลวหรืออาจเป็นของแข็งหรือก๊าซ ซึ่งเรียกว่า core material ส่วนสารที่นำมาเคลือบเรียกว่า wall material เทคโนโลยีการเก็บกักเป็นหนึ่งในวิธีการประยุกต์ใช้สารเคลือบที่รับประทานได้ ทำให้สารสำคัญที่ต้องการเก็บกักอยู่ในรูปของเหลว ไม่ว่าจะเป็นไขมัน (fat) หรือน้ำมัน (oil) ให้กลายเป็นผงซึ่งสะดวกต่อการใช้งานมากขึ้น การเก็บกักสารสำคัญที่มีอนุภาคระดับไมครอน เรียกว่า ไมโครเอนแคปซูเลชัน (microencapsulation) หมายถึง อนุภาคของสารที่ประกอบด้วยชั้นเคลือบห่อหุ้มสารที่ต้องการเก็บกัก ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 10-2000 ไมครอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการที่ใช้เตรียมไมโครแคปซูล [5] โคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน (complex coacervation) เป็นกระบวนการเก็บกักที่มักใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหาร โดยพบว่าเป็นกระบวนการที่สามารถเก็บกักสารสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง มีความเสถียรและมีระยะของการปลดปล่อยสารสำคัญค่อนข้างนาน โดยใช้หลักการทางเคมีเกิดโคอะเซอร์เวทในระบบที่มีคอลลอยด์มากกว่า 1 ชนิด ถ้าเป็นโคอะเซอร์เวชันแบบที่เป็นน้ำมักเกิดจากการเปลี่ยนหรือปรับสภาพพีเอช โดยใช้ไฮโดรฟิลิคคอลลอยด์สองชนิดที่มีประจุต่างกัน เช่นการเติมสารละลายกัมอะราบิกลงในสารละลายเจลาติน จากนั้นปรับพีเอชจนเจลาตินมีประจุบวกและกัมอะราบิกมีประจุลบ เกิดการจับของประจุอย่างหลวมๆ แยกตัวออกมาเป็นสารประกอบเชิงซ้อน วิธีนี้นิยมใช้ผลิตไมโครแคปซูลมากกว่าชนิดธรรมดา เนื่องจากได้ผนังที่แข็งแรงกว่า สามารถควบคุมการปลดปล่อยกลิ่นรสได้ดีกว่า และสามารถควบคุมขนาดของไมโครแคปซูลได้ง่ายกว่า มีประโยชน์สำหรับการเก็บกักสารที่เป็นของเหลวหรืออนุภาคขนาดเล็ก มีลักษณะเป็น oil-in-water ซึ่งนิยมใช้เจลาติน เนื่องจากละลายน้ำได้ดี ไม่มีพิษ มีคุณสมบัติในการเกิดฟิล์มได้ดี ราคาถูก หาซื้อง่าย [5]

จากการศึกษาของ Yang และคณะ [5] พบว่ามีการสูญสลายของสารให้กลิ่นรสของวนิลาค่อนข้างง่าย จึงมีการนำเทคโนโลยีการเก็บกักกลิ่นรส ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่มีการใช้งานอย่างแพร่หลายที่ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมทอผ้า เป็นต้น โดยจะทำการศึกษาการเก็บกักสารให้กลิ่นรสของวนิลาโดยใช้เทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนโดยใช้พอลิเมอร์ธรรมชาติ คือ เจไนพินและไคโตซาน ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการเก็บกักสูงสุดร้อยละ 94.2 ในอัตราส่วนของน้ำมันวนิลาต่อไคโตซานเท่ากับ 2 ต่อ 1 และพบว่ายังคงมีปริมาณน้ำมันวนิลาเหลืออยู่ร้อยละ 60 หลังจากที่มีการ

ปลดปล่อยกลิ่นมา 30 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคโนโลยีการเก็บกักแบบวิธีโคอะเซอร์เวชันทำให้สามารถควบคุมการสูญสลายของกลิ่นได้ ทำให้ได้กลิ่นวนิลาที่มีคุณภาพสูงขึ้นและทนต่อความร้อนได้มากขึ้น และจากการศึกษาของ Junyaprasert [6] นำวิตามินเอมาทำการเก็บกักโดยใช้วิธีโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนและใช้เจลาตินและกัมอะราบิกเป็นวัสดุเก็บกัก จากนั้นได้ทำการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของเจลาตินต่อกัมอะราบิกที่ 2:3, 1:1 และ 3:2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารแกนกลางต่อวัสดุเก็บกักที่อัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 2:3 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังศึกษาเปรียบเทียบผลของกระบวนการทำแห้งระหว่างตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และการแช่เยือกแข็ง จากผลการศึกษาพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมของเจลาตินต่อกัมอะราบิก คือ 1:1 และอัตราส่วนของสารแกนกลางต่อวัสดุเก็บกัก เท่ากับ 1:2 ซึ่งวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมที่สุดของการเก็บกัก เนื่องจากไมโครแคปซูลที่ได้มีลักษณะที่ดีที่สุดและยังมีอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่นานกว่าอีกด้วย นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยอีกหลายงานวิจัยที่ทำการศึกษาการเก็บกักโดยวิธีนี้ เช่น การเก็บกักน้ำมันหอมระเหยจากเปปเปอร์มิ้นต์โดยใช้เจลาตินและกัมอะราบิกเป็นวัสดุเก็บกัก เพื่อป้องกันการสูญสลายของสารให้กลิ่นรส [7]

เนื่องจากสารสกัดที่ได้จากใบมะกรูดเป็นสารที่ระเหยได้ง่าย สามารถสลายตัวได้ง่ายด้วยแสง ความร้อน และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้น จึงเป็นที่มาของแนวคิดในการศึกษาความสามารถในการเก็บกักสารสกัดโดยใช้เทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน ซึ่งเป็นเทคโนโลยีสมัยใหม่วิธีหนึ่งที่มักมีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาเพื่อเก็บกักสารให้กลิ่นรสหรือสารให้คุณค่าทางโภชนาการที่สูญเสียได้ง่ายจากสภาวะแวดล้อมต่างๆ กระบวนการผลิตและระยะการเก็บรักษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บกักสารสกัดที่ได้ [5-7] ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังมีผลดีในด้านของความสะดวกในการขนส่ง อีกทั้งยังได้สารให้กลิ่นรสที่ใกล้เคียงกับกลิ่นที่ได้จากวัตถุดิบตั้งต้นที่สกัดโดยวิธีทางธรรมชาติ ไม่มีสารปนเปื้อนจากตัวทำละลายและสารเคมีอื่นๆ เจือปน เพิ่มความมั่นใจและไว้วางใจให้แก่ผู้ประกอบการและผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมของเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูดด้วยวิธีโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนและศึกษาประสิทธิภาพการเก็บกักของไมโครแคปซูลเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูด

อุปกรณ์และวิธีทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดใบมะกรูด

สกัดสารสกัดจากใบมะกรูดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือวิกฤติที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 25 เมกะปาสคาล และมีอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเวลาที่ใช้ในการสกัดคงที่ตลอดกระบวนการสกัดที่ 2.5 ลิตรต่อนาที เป็นเวลา 90 นาที ทำการเก็บสารสกัดที่ได้ในขวดรูปชมพู่ที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ป้องกันแสงและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมาใส่ในโถดูดความชื้นจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักสุดท้ายที่ได้ จากนั้นถ่ายสารสกัดลงในขวดสีชาและเก็บสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส [8]

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของการเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูด

พัฒนาไมโครแคปซูลสำหรับเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูดโดยใช้เทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน โดยนำสารสกัดจากใบมะกรูด ละลายด้วยน้ำมันมะกอกแบบไร้กลิ่น (Bertolli© olive oil soft taste extra light) ให้มีความเข้มข้น 10% (w/w) และนำน้ำมันหอมระเหยผสมในสารละลายเจลาติน 10% (w/w) กวนผสมโดยใช้ความเร็วรอบ 8000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมน้ำอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 30% (100 กรัมน้ำ/30 กรัมสารละลายคอลลอยด์) แยกเอาส่วนไมโครแคปซูลที่ได้ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศและล้างด้วย 2-propanol หลังจากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง [6] ผันแปรอัตราส่วนของเจลาตินต่อกัมอะราบิก โดยใช้โปรแกรม Design-Expert version 6.0.2 (Stateas Inc., USA) โดยออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) with 2 center points ดังตารางที่ 1 และสามารถออกแบบจำนวนชุดการทดลองได้จาก $2^k + 2k + n_0$ เมื่อ k คือ จำนวนตัวแปรที่ต้องการศึกษาและ n_0 คือ จำนวนซ้ำการทดลองที่จุดกึ่งกลาง (center point) ดังนั้น เมื่อศึกษา 2 ปัจจัย จึงเท่ากับ $2^2 + 2(2) + 2$ สามารถออกแบบการทดลองได้ทั้งหมด 10 การทดลอง ที่มีจุดกึ่งกลางซ้ำ 2 ครั้ง ทำให้ได้สัดส่วนของวัสดุที่ใช้เก็บกักทั้งหมดจำนวน 10 สูตร ที่มีจุดกึ่งกลาง 2 จุด คือสิ่งทดลองที่ 9 และ 10 โดยระดับปัจจัยจะถูกแบ่งออกเป็น 5 ระดับ ($-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ระดับสูง-ต่ำของอัตราส่วนวัสดุที่ใช้เก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูด

วัสดุที่ใช้เก็บกัก	$-\alpha$ (-1.68)	ระดับต่ำ (%) (-1)	0	ระดับสูง (%) (+1)	$+\alpha$ (+1.68)
เจลาติน	5.86	10	20	30	34.14
กัมอะราบิก	15.86	20	30	40	44.14

ตารางที่ 2 ระดับปัจจัยในแต่ละสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบ Central Composite Design (CCD) สำหรับผลิตไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูด

สิ่งทดลอง	X_1 (เจลาติน)	X_2 (กัมอะราบิก)	ส่วนประกอบ (%)	
			เจลาติน	กัมอะราบิก
1	−1	−1	10	20
2	+1	−1	30	20
3	−1	+1	10	40
4	+1	+1	30	40
5	−1.68	0	5.86	30
6	+1.68	0	34.14	30
7	0	−1.68	20	15.86
8	0	+1.68	20	44.14
9	0	0	20	30
10	0	0	20	30

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของไมโครแคปซูลเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูด

– ร้อยละผลผลิตที่ได้ [5]

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักไมโครแคปซูลที่ได้}}{\text{น้ำหนักของของแข็งทั้งหมดที่ใช้ในการเก็บกัก}} \times 100$$

– ค่าสีระบบมันเซล (Muncell color system) : L^*, a^* และ b^* โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromaticity Meter CR-410 (Konika Minolta, Japan)

โดย ค่า L^* คือความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
ค่า a^* คือค่าสีแดง เมื่อ a มีค่าเป็น (+) แทนค่าสีแดง
เมื่อ a มีค่าเป็น (–) แทนค่าสีเขียว
ค่า b^* คือค่าสีเหลือง เมื่อ b มีค่าเป็น (+) แทนค่าสีเหลือง
เมื่อ b มีค่าเป็น (–) แทนค่าสีน้ำเงิน

– ปริมาณความชื้น [9] โดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Memmert UM500n Oven, GER) ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

– ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (water activity ; a_w) โดยใช้เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Aqualab Lite, Decagon, USA)

– ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่พื้นผิว (Surface oil) [5]

นำไมโครแคปซูลผง 2.5 กรัม ผสมกับปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิด ทำการเขย่าด้วยมือเพื่อทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่พื้นผิว กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ทำการ

เขย่าและกรองอีก 2 ครั้ง จนได้สารละลายใส นำสารละลายใสที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกและทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ ด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศ จากนั้นทำการคำนวณหาปริมาณน้ำมันที่ผิวหน้า

$$\text{ปริมาณน้ำมันที่พื้นที่ผิว (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้ x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างไมโครแคปซูล}}$$

– ประสิทธิภาพของการเก็บกัก (Encapsulation efficiency) [5]

นำไมโครแคปซูลที่ได้มาทำการล้างด้วยสารละลายเอทานอล 2 ครั้ง นำไมโครแคปซูลหนัก 0.1 กรัม เติมสารละลายเฮกเซน 100 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นำสารละลายผสมที่ได้ไปใส่ในเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการสั่น 150 rpm จะทำให้ได้สารสกัดน้ำมันใบมะกรูดออกมา ทำการแยกส่วนที่ไม่ละลายออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง ทำการชั่งน้ำหนักที่ได้

$$\%\text{Encapsulation efficiency} = \frac{\text{น้ำหนักของไมโครแคปซูลที่มีน้ำมันใบมะกรูด}}{\text{น้ำหนักของน้ำมันใบมะกรูดที่ใช้ในการเตรียมไมโครแคปซูล}} \text{ x 100}$$

– การวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์สมการถดถอย (regression analysis) และหาสูตรที่เหมาะสมโดยวิธีการหาพื้นที่ตอบสนอง (response surface methodology) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert version 6.0.2 (Stateas Inc., USA) และใช้สถิติ ANOVA ในการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

จากการพัฒนาไมโครแคปซูลสำหรับเก็บกักน้ำมันใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน โดยใช้สารสกัดจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้น 10% (w/w) ในน้ำมันมะกอกแบบไร้กลิ่น (Bertolli© olive oil soft taste extra light) และใช้เจลาตินกับกัมอะราบิกเป็นวัสดุเก็บกักกลิ่น โดยทำการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของวัสดุที่ใช้ในการเก็บกักทั้งหมด 10 สิ่งทดลอง ได้ผลดังตารางที่ 3 พบว่า ผงไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูดที่ได้มีค่า L^* b^* ร้อยละประสิทธิภาพในการเก็บกัก ร้อยละผลผลิต และปริมาณ citronellal ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นค่า a^* วอเตอร์แอคติวิตี ปริมาณน้ำมันที่พื้นที่ผิว ความชื้น และการดูดซับน้ำบนพื้นที่ผิวของอนุภาค ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าสี L^* a^* และ b^* จากตารางที่ 3 พบว่า ผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูดทั้ง 10 สิ่งทดลองมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอมขาว โดยมีค่าสี L^* a^* และ b^* อยู่ในช่วง 63.95-79.29, -3.43-(-0.77) และ 51.12 ตามลำดับ ส่วนปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอคติวีตี อยู่ในช่วงร้อยละ 0.81-7.05 และ 0.137-0.425 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ (low moisture food, LMF) ที่มีค่าวอเตอร์แอคติวีตีอยู่ในช่วง 0.010-0.650 เมื่อจำแนกประเภทของอาหารโดยใช้ค่าวอเตอร์แอคติวีตีเป็นเกณฑ์ และปริมาณความชื้นในอาหารต่ำกว่าร้อยละ 15 [10]

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูดทั้ง 10 สิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	ส่วนประกอบ (%)		ค่าสี			ความชื้น^{ns} (%)	ค่า Water activity^{ns} (a_w)
	เจลาติน	กัมอะราบิก	L^*	a^{*ns}	b^*		
1	(−1) 10	(−1) 20	69.93 ± 0.78	−3.43 ± 0.13	51.12 ± 0.83	3.45 ± 0.71	0.225 ± 0.01
2	(+1) 30	(−1) 20	66.12 ± 0.43	−1.99 ± 0.07	44.64 ± 0.51	7.05 ± 0.98	0.146 ± 0.01
3	(−1) 10	(+1) 40	66.58 ± 0.59	−2.26 ± 0.09	43.80 ± 0.56	1.37 ± 0.13	0.159 ± 0.01
4	(+1) 30	(+1) 40	77.88 ± 0.76	−1.57 ± 0.16	39.80 ± 0.60	0.81 ± 0.09	0.137 ± 0.01
5	(−α) 5.86	(0) 30	63.95 ± 0.55	−2.56 ± 0.23	47.12 ± 0.74	1.27 ± 0.26	0.141 ± 0.01
6	(+α) 34.14	(0) 30	76.75 ± 0.55	−2.00 ± 0.08	41.96 ± 0.54	3.65 ± 0.81	0.347 ± 0.01
7	(0) 20	(−α) 15.86	64.53 ± 0.15	−2.96 ± 0.02	49.67 ± 0.50	0.95 ± 0.12	0.137 ± 0.01
8	(0) 20	(+α) 44.14	79.29 ± 0.26	−1.71 ± 0.08	41.50 ± 0.26	1.40 ± 0.13	0.173 ± 0.01
9	(0) 20	(0) 30	76.91 ± 0.46	−0.77 ± 0.07	44.76 ± 0.35	2.21 ± 0.33	0.251 ± 0.01
10	(0) 20	(0) 30	75.80 ± 0.54	−1.84 ± 0.12	44.81 ± 0.37	2.03 ± 0.26	0.247 ± 0.01

หมายเหตุ ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูดทั้ง 10 สิ่งทดลอง (ต่อ)

สิ่งทดลอง	ส่วนประกอบ (%)		ร้อยละผลผลิต (%yield)	ปริมาณน้ำมันที่พื้นที่ผิว^{ns} (%)	ประสิทธิภาพในการเก็บกัก (%)	citronellal (mg/g)	การดูดซับน้ำบนพื้นที่ผิวของอนุภาค^{ns} (min/g)
	เจลาติน	กัมอะราบิก					
1	(−1) 10	(−1) 20	78.75	7.16 ± 0.93	90.44	21.15 ± 0.42	26.42 ± 0.84
2	(+1) 30	(−1) 20	93.00	10.51 ± 0.45	83.51	22.99 ± 1.57	24.13 ± 1.14
3	(−1) 10	(+1) 40	75.00	11.76 ± 0.66	52.80	25.41 ± 1.20	25.89 ± 0.14
4	(+1) 30	(+1) 40	89.17	2.54 ± 0.07	67.98	1.38 ± 0.03	28.34 ± 1.67
5	(−α) 5.86	(0) 30	78.03	21.46 ± 0.92	54.57	27.09 ± 0.50	29.51 ± 1.86
6	(+α) 34.14	(0) 30	85.86	3.07 ± 0.24	62.51	2.00 ± 0.05	28.28 ± 2.30
7	(0) 20	(−α) 15.86	90.85	9.75 ± 0.52	98.09	23.47 ± 2.07	29.91 ± 1.95
8	(0) 20	(+α) 44.14	85.86	6.62 ± 0.05	53.80	6.58 ± 0.08	24.43 ± 1.03
9	(0) 20	(0) 30	82.00	5.83 ± 0.24	50.58	4.02 ± 0.01	24.37 ± 0.09
10	(0) 20	(0) 30	84.00	4.28 ± 0.26	50.26	3.39 ± 0.11	28.36 ± 1.34

หมายเหตุ ^{ns} หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เมื่อนำผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์หาสมการถดถอย ซึ่งสมการดังกล่าวจะอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (ปริมาณเจลาตินและกัมอะราบิก) และตัวแปรตาม (คุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์) ทำการเลือกตัวแปรอิสระเข้ามาในโครงสร้างของสมการ แล้วคัดเลือกเฉพาะตัวแปรอิสระที่มีผลต่อตัวแปรตามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่านั้น ($p \leq 0.05$) เพื่อให้ได้สมการที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามที่ถูกต้อง และมีค่า Adjusted R^2 สูง ($> 65\%$) ซึ่งเป็นค่าแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามที่ศึกษา โดยที่ Adjusted R^2 ยิ่งสูงหมายความว่าสมการถดถอยนั้นสามารถทำนายผลการตอบสนองได้ดี [11] สมการถดถอยที่วิเคราะห์ได้แสดงดังตารางที่ 4 จากสมการพบว่าปริมาณเจลาตินและกัมอะราบิก มีผลต่อค่าสี L^*, b^*, ปริมาณร้อยละผลผลิต ร้อยละของประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล และปริมาณ citronellal (มิลลิกรัมต่อกรัมไมโครแคปซูล) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และทุกตัวแปรมีค่า lack of fit ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยใช้สถิติ ANOVA ในการวิเคราะห์

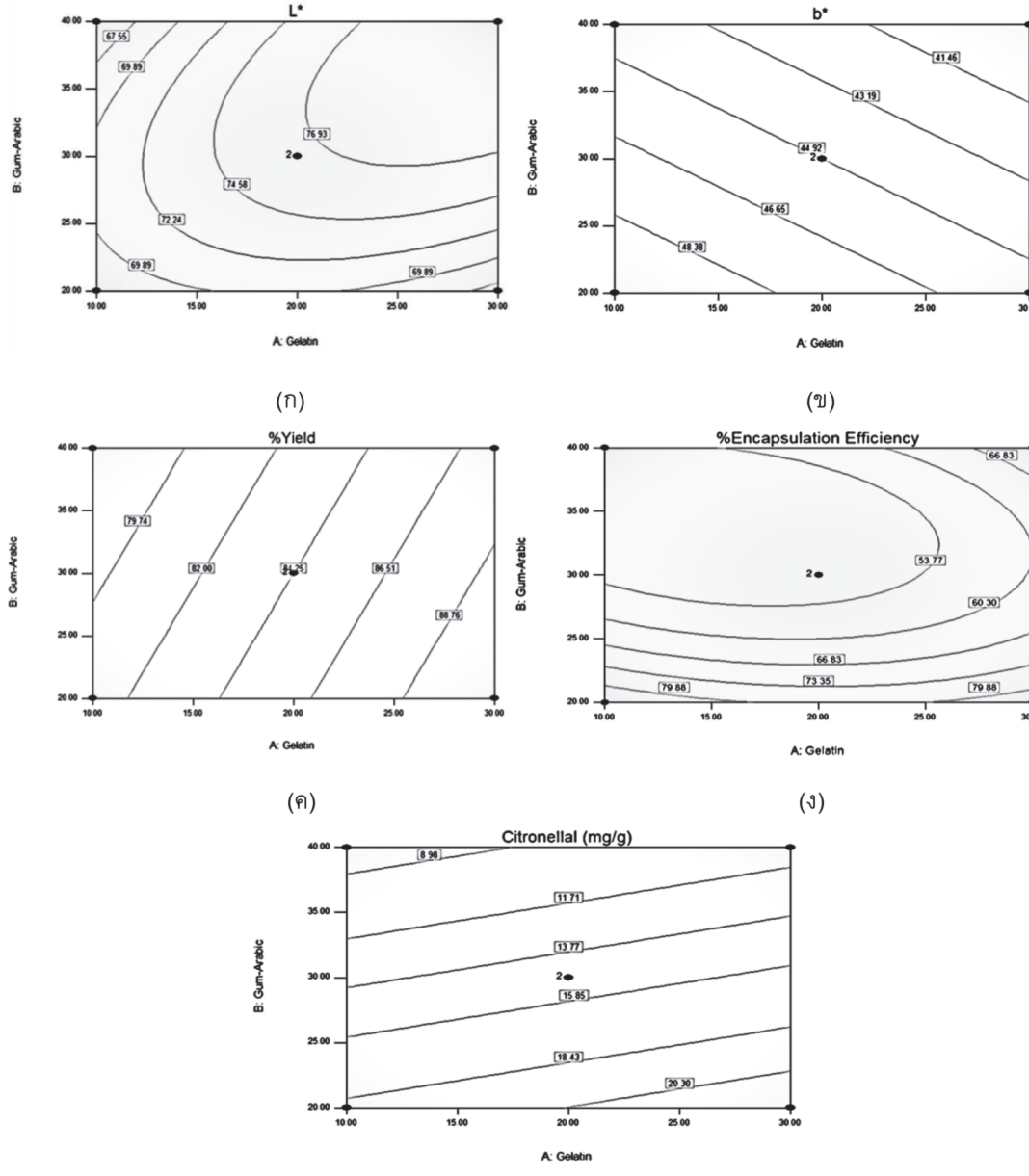
ตารางที่ 4 สมการถดถอยที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระของการเก็บกักด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน

คุณลักษณะ	สมการถดถอย	Adjusted R^2	P-value	Lack of fit
L^*	$= 40.020 + 0.313X_1 + 1.758X_2 - 0.028X_1^2 - 0.038X_2^2 + 0.038X_1X_2$	0.8644	0.0149	0.2435
b^*	$= 58.255 - 0.222X_1 - 0.296X_2$	0.9539	0.0001	0.0528
ร้อยละผลผลิต	$= 79.868 + 0.494X_1 - 0.183X_2$	0.7173	0.0120	0.2793
ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บกักของไมโครแคปซูล	$= 289.494 - 3.690X_1 - 12.647X_2 + 0.062X_1^2 + 0.175XX_2^2 + 0.053X_1X_2$	0.9262	0.0046	0.0605
ปริมาณ citronellal (mg/g)	$= 28.264 + 0.151X_1 - 0.548X_2$	0.6501	0.0253	0.0708

หมายเหตุ X_1 = เจลาติน; X_2 = กัมอะราบิก

จากรูปที่ 1 และสมการถดถอยในตารางที่ 4 สามารถอธิบายได้ว่า ค่าสี L^* จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณเจลาตินและกัมอะราบิกถึงร้อยละ 20 และ 30 ตามลำดับ (มีค่าความสว่างเพิ่มมากขึ้น) จากนั้นค่า L^* จะมีค่าลดลง โดยจากผลการทดลอง พบว่า ค่า b^* มีค่าเป็นบวก ซึ่งหมายถึง ความเป็นสีเหลือง โดยค่า b^* จะมีค่าลดลงเมื่อมีปริมาณเจลาตินและกัมอะราบิกที่เพิ่มสูงขึ้น (ความเป็นสีเหลืองลดลง) นั่นคือ เจลาตินและกัมอะราบิกมีผลเป็นลบต่อค่าสี b^* อันเนื่องมาจากเมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของวัสดุเก็บกักที่เพิ่มสูงมากขึ้นในขณะที่สารที่ถูกเก็บกักคือน้ำมันใบมะกรูดที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองเข้มมีความเข้มข้นปริมาณเท่าเดิม ทำให้สีของสารสกัดมีค่าความเป็นสีเหลืองที่ลดลงจากการเจือจางด้วยความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้นของวัสดุเก็บกัก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ [6, 12] และร้อยละของประสิทธิภาพการเก็บกักของไมโครแคปซูล พบว่า ปริมาณเจลาตินมีผลเป็นลบเมื่อเพิ่มปริมาณถึงร้อยละ 25 และจะมีผลเป็นบวกเมื่อมี

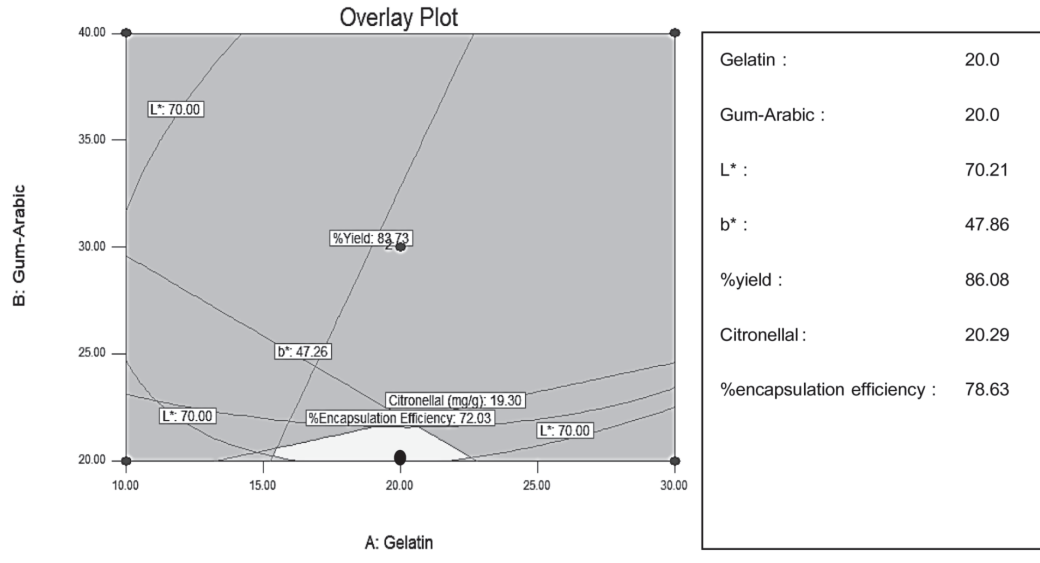
ปริมาณเจลาตินมากกว่าร้อยละ 25 ส่วนปริมาณกัมอะราบิกมีผลเป็นลบต่อร้อยละของประสิทธิภาพการเก็บกักของไมโครแคปซูล และพบว่าร้อยละผลผลิต และปริมาณ citronellal จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณเจลาติน และลดปริมาณกัมอะราบิก นั่นคือ ปริมาณเจลาตินมีผลเป็นบวก และปริมาณกัมอะราบิกมีผลเป็นลบต่อร้อยละผลผลิต และปริมาณ citronellal



รูปที่ 1 (ก) ค่าสี L^* (ข) ค่า b^* (ค) ปริมาณร้อยละผลผลิต (ง) ร้อยละของประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล และ (จ) ปริมาณ citronellal

จากการศึกษาของ [13] พบว่า ประสิทธิภาพการเก็บกักที่ดีควรจะต้องมากกว่าร้อยละ 80 โดยแนวโน้มของร้อยละประสิทธิภาพในการเก็บกัก จากงานวิจัย [7] พบว่า ประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูลจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของวัสดุเก็บกักที่สูงขึ้น แต่ในกรณีที่วัสดุเก็บกักเป็นเจลาตินกับกัมอะราบิกกลับพบว่า เมื่อปริมาณเจลาตินเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความหยืดหยุ่นมาก มีความชื้นสูง และไม่สามารถบดเป็นผงได้ [6] ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อมีปริมาณพอลิเมอร์ธรรมชาติ (natural biopolymer) ความเข้มข้นสูงจะทำให้อิมัลชันเสถียร ทำให้เกิดฟอร์มของไมโครแคปซูลที่แข็งแรง และอัตราส่วนของวัสดุเก็บกักต่อสารแกนกลาง ก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการเก็บกักเช่นเดียวกัน โดยอัตราส่วนของวัสดุเก็บกักจะต้องมากกว่าสารแกนกลางเสมอ [14] และจากการศึกษาอัตราส่วนของวัสดุที่ใช้ในการเก็บกัก พบว่า อัตราส่วนของเจลาตินต่อกัมอะราบิกที่เท่ากับ 1:1 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากเจลาตินทำหน้าที่เป็นประจุบวกและกัมอะราบิกทำหน้าที่เป็นประจุลบเมื่อมีอัตราส่วนที่เท่ากันจะทำให้เกิดความสมดุลของประจุ หากใช้อัตราส่วนที่มากกว่านี้จะทำให้ประจุรวมไม่สมดุล ซึ่งมีผลต่อค่าปริมาณร้อยละผลผลิตของไมโครแคปซูล [15] ส่วนปริมาณ citronellal นั้นเป็นสารที่ใช้เป็นสารแกนกลางอธิบายได้โดยปริมาณสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล นั่นคือเมื่อมีปริมาณพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่เป็นวัสดุที่ใช้ในการเก็บกักที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้พอลิเมอร์สามารถฟอร์มตัวได้ดี เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงของไมโครแคปซูลที่สามารถเก็บกักสารแกนกลางได้ดี [8]

เมื่อหาสภาวะที่เหมาะสมโดยการสร้างภาพ overlay plot ด้วยโปรแกรม Design Expert (Design Expert version 6.0.2, Stat-Ease Inc.) โดยการกำหนดค่าสี L^* และ b^* ให้อยู่ในช่วงค่าที่ได้จากการทดลอง และกำหนดค่าปริมาณร้อยละผลผลิต ร้อยละของประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล และปริมาณ citronellal ให้เข้าใกล้ค่าสูงสุด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากใบมะกรูด พบว่ามีปริมาณเจลาตินอยู่ในช่วงร้อยละ 15.32–22.49 และมีปริมาณร้อยละของกัมอะบิกอยู่ในช่วงร้อยละ 20.00–21.66 ตามลำดับ และได้เลือกจุดที่เหมาะสมที่จะใช้สำหรับการทดลอง คือ มีปริมาณเจลาตินและกัมอะราบิกเข้มข้นร้อยละ 20 ดังรูปที่ 2 โดยที่สภาวะนี้มีค่าสี L^* b^* ปริมาณร้อยละผลผลิต ร้อยละของประสิทธิภาพของการเก็บกักของไมโครแคปซูล และปริมาณ citronellal เท่ากับ 70.21, 48.09, 85.59, 38.95 และ 20.16 ตามลำดับ



รูปที่ 2 ระดับของเจลาตินและกัมอะราบิก (พื้นที่สีเหลือง) ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไมโครแคปซูลเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน

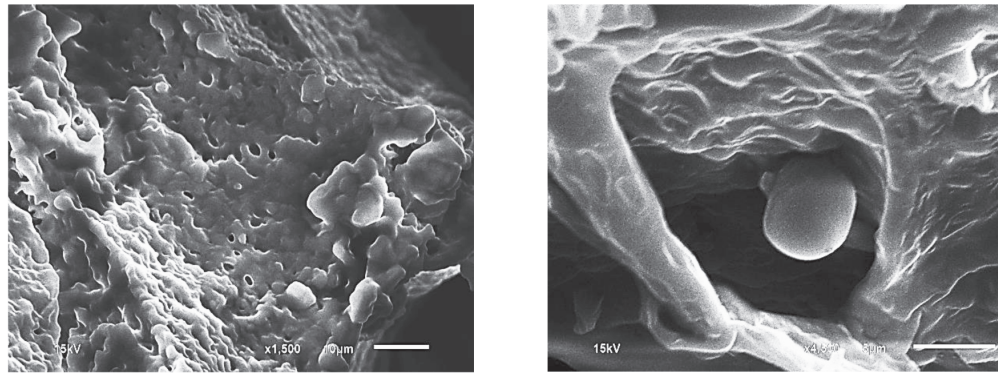
เมื่อตรวจสอบคุณภาพของการเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนที่ใช้ปริมาณความเข้มของเจลาตินและกัมอะราบิกร้อยละ 20 จากการทำนายและค่าที่ได้จากการทดลอง พบว่า มีความแตกต่างกันน้อยกว่า 10% ดังตารางที่ 5 สอดคล้องกับ [16] ที่กล่าวว่าความคลาดเคลื่อนของค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายนั้นจะต้องมีความแตกต่างกันน้อยกว่า 10% จึงจะเหมาะสมต่อการทำนายของสมการ

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบคุณภาพของไมโครแคปซูลกักเก็บสารสกัดจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการทำนายและการทดลอง และค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการเปรียบเทียบ

ค่าสังเกต	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดลอง	ความคลาดเคลื่อน (%)
L^*	70.21	65.29	7.53
b^*	47.86	51.09	6.32
ร้อยละผลผลิต	86.08	84.89	1.40
ร้อยละประสิทธิภาพการเก็บกักของไมโครแคปซูล	78.63	80.25	2.02
ปริมาณ citronellal (mg/g)	20.29	20.38	0.44

จากการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการเก็บกักสารให้กลิ่นรสจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อนที่ใช้เจลาตินและกัมอะราบิกเป็นวัสดุที่ใช้ในการเก็บกัก พบว่า ต้องใช้ปริมาณความเข้มข้นของเจลาตินและกัมอะราบิก ด้วยอัตราส่วน 1:1 จึงจะเหมาะสมต่อการเก็บกักด้วยวิธีนี้และใช้เจลาตินและกัมอะราบิกเป็นวัสดุที่ใช้ในการเก็บกัก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ [6-7, 14-15, 17-18] ที่กล่าวว่าปริมาณที่เหมาะสมของการใช้เจลาตินและกัมอะราบิกเป็นวัสดุที่ใช้ในการเก็บกักด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันต้องใช้อัตราส่วนของเจลาตินและกัมอะบิกเป็น 1:1 เนื่องจากเจลาตินทำหน้าที่เป็นประจุบวกและกัมอะราบิกทำหน้าที่เป็นประจุลบเมื่อมีอัตราส่วนที่เท่ากันจะทำให้เกิดความสมดุลของประจุ และใช้อัตราส่วนของปริมาณสารที่ใช้ในการเก็บกักต่อปริมาณวัสดุที่ใช้ในการเก็บกักเท่ากับ 1:2 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้

เมื่อนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยเลือกจุดที่เหมาะสมโดยใช้อัตราส่วนของวัสดุเก็บกัก คือ เจลาตินต่อกัมอะราบิกเท่ากับ 1:1 (20:20 w/w) และใช้สารแกนกลางเป็นน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้น 10% โดยมีอัตราส่วนของวัสดุเก็บกักต่อสารแกนกลางเท่ากับ 2:1 ทำให้ได้รูปร่างลักษณะทางสัณฐานของไมโครแคปซูลที่ผลิตได้จะมีรูปทรงที่ไม่แน่นอนและมีหลากหลายขนาด โดยมีลักษณะเป็นแผ่นหรือเกล็ด โดยโครงสร้างดังกล่าวทำให้ไมโครแคปซูลสามารถแทรกตัวอยู่ภายในช่องว่างของแต่ละอนุภาคได้ดี พบว่า ที่กำลังขยาย 1500x จะเห็นว่าพื้นที่ผิวของผลิตภัณฑ์มีลักษณะรวมตัวกันเป็นแผ่นหรือเป็นก้อนและพบว่ามีลักษณะขรุขระ แต่เมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 4500x พบว่า มีไมโครแคปซูลที่มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือทรงรีที่แทรกตัวอยู่ในอนุภาคนั้นๆ และไม่มีการแตกของเปลือกสารห่อหุ้ม ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะของการเก็บกักที่ดี สอดคล้องกับการศึกษาของ Pakzad และคณะ [7] กับ Peng และคณะ [19] ดังรูปที่ 3



(ก) (ข)

รูปที่ 3 ลักษณะสัณฐานของไมโครแคปซูลที่พัฒนาได้โดยใช้เจลาตินและกัมอะราบิกร้อยละ 20 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ก) ที่กำลังขยาย 1500 เท่า และ (ข) ที่กำลังขยาย 4500 เท่า

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาการเก็บกักสารสกัดจากใบมะกรูดด้วยเทคนิคโคอะเซอร์เวชันเชิงซ้อน พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมของเจลาตินและกัมอะราบิก เท่ากับ อัตราส่วนร้อยละ 20 ต่อ 20 (w/w) (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) เนื่องจากเจลาตินมีประจุบวกและกัมอะราบิกมีประจุลบ เมื่อมีอัตราส่วนที่เท่ากันจะทำให้ประจุในระบบมีความและมีอัตราส่วนของวัสดุเก็บกักต่อสารแกนกลางเท่ากับ 2 ต่อ 1 เมื่อมีปริมาณพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่เป็นวัสดุที่ใช้ในการเก็บกักที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้พอลิเมอร์สามารถฟอร์มตัวได้ดี เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงของไมโครแคปซูลที่สามารถเก็บกักสารแกนกลางได้ดี โดยไมโครแคปซูลที่ได้มีรูปทรงที่ไม่แน่นอนและมีหลากหลายขนาด โดยมีลักษณะเป็นแผ่นหรือเกล็ด โดยโครงสร้างดังกล่าวทำให้ไมโครแคปซูลสามารถแทรกตัวอยู่ภายในช่องว่างของแต่ละอนุภาคได้ดี และเมื่อเพิ่มกำลังขยายก็จะเห็นว่าลักษณะของไมโครแคปซูลมีลักษณะเป็นทรงกลมหรือรีแทรกตัวอยู่ในอนุภาค

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม-พวอ. และขอขอบคุณคณาจารย์ บุคคลากร และคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือในการดำเนินการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Norkaew, O., Pitija, K., Pripdeevech, P., Sookwong, P., & Wongpornchai, S. (2013). Supercritical fluid extraction and gas chromatographic-mass spectrometric analysis of terpenoids in fresh kaffir lime leaf oil. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences, 40*(2), 240-247.
2. Jirapakkul, W., Tinchan, P., & Chaseri, S. (2013). Effect of drying temperature on key odourants in kaffir lime (*Citrus hystrix* D.C., Rutaceae) leaves. *International Journal of Food Science and Technology, 48,* 143-149.
3. Kasuan, N., Muhammud, Z., Yusoff, Z., Rahiman, M. H. F., Taib, M. N., & Haiyee, Z. At. (2013). Extraction analysis of volatile compounds. *Malaysian Journal of Analytical Science, 17*(3), 359-369.
4. Madene, A. Jacquot, M. Scher, J. & Desobry, S. (2006). Flavor encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science & Technology, 41,* 1-21.
5. Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P., & Wang, Q. (2014). Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. *Journal of Food Chemistry, 145,* 272-277.

6. Junyaprasert, B.V., Mitrevej, A., Sinchaipanid, N., Boonme, P., & Wurster, E. D. (2001). Effect of process variables on the microencapsulation of vitamin a palmitate by gelatin-acacia coacervation. *Drug Development and Industrial Pharmacy, 27*(6), 561–566.
7. Pakzad, H., Alemzadeh, L., & Kazemi, A. (2013). Encapsulation of Peppermint Oil with Arabic Gum-gelatin by Complex Coacervation Method. *International Journal of Engineering, 26*(8), 807-814.
8. Jamilah, B., Abdulkadir, G. M., Suhaila, M., & Md.Zaidul, I. S. (2011). Phenolics in citrus Hystrix leaves obtained using supercritical carbon dioxide extraction. *International Food Research Journal, 18*(3), 941-948.
9. The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000). *Official method of analysis of AOAC International* (17th ed.), Maryland, USA:
10. Jay, M. J., Loessner, J. M., & Golden, A. D. (1998). *Modern food microbiology* (pp. 45). Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.
11. Sriwattana, S. (2005). Modeling and optimization for food formulation. *Food Journal, 35*(3), 168-176.
12. Wulandari, N., Muchtadi, R. T., & Irene, R. (2015). Palm oil microencapsulation by coacervation, thin layer drying, and silica dioxide absorption technique. *World Journal of Engineering and Technology, 3,* 26-30.
13. Mora-Huertas, C. E., Fessi, H. & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics, 385,* 113-142.
14. Dong, Z., Ma, Y., Hayat, K., Jia, C., Xia, S., & Zhang, X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering, 104,* 455-460.
15. Siow, F. L., & Ong S. C. (2013). Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. *Journal of Food Processing and Technology, 4*(1), 1-5.
16. Hu, R. (1999). *Food Product Design: A Computer-Aided Statistic Approach* (pp. 143). Florida: CRC Press LLC.
17. Palmieri, F.G., Luari, D., Martelli, S., & Wehrle, P. (1999). Methoxybutropate microencapsulation by gelatin-acacia complex coacervation. *Drug Development and Industrial Pharmacy, 25*(4), 399–407.
18. Xing, F., Cheng, G. Yang, B., & Ma, L. (2003). Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins. *Journal of Applied Polymer Science, 91,* 2669–2675.

19. Peng, F., Sheng, L., Lui, B., Tong, H., & Lui, S. (2004). Comparison of different extraction method: steam distillation, simultaneous distillation and extraction and headspace co-distillation, used for the analysis of the volatile component in aged flue-cured tobacco leaves. *Journal of Chromatography A, 1040,* 1-17.