Thesis Title	Comparative Study of Lime Oil Properties by Fermentation with Bio-Fermented Products
Author	Miss Jaipian Laothamyingyong
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Surapol Natakankitkul	Chairperson
Assoc. Prof. Panee Sirisa-ard	member
Dr. Amphawan Apisariyakul	member

ABSTRACT

Essential oil is extremely used in medicine, perfumes and food flavorings. At present, there has been an increased demand of natural aroma compounds in those products and especially used more in spa and aromatherapy. The biotechnological processes, i.e. fermentation, can be used to convert the huge wastes of aromatic plant into the natural flavors and fragrances.

For improvement to aroma odor of bio-fermented products (BFP) by the fermentation of aromatic plants with appropriate BFP uses in ratio 1:1 in the absent air. The microbial test of BFP should be done for safety uses. It is necessary to study to obtain scientific data on physicochemical properties and changed chemical components after fermentation with BFP to insist that the quality of essential oil after fermentation was still suitable for uses. While these products were used with significant health products in community for 9 years ago, there was lack of scientific data supported.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

After fermentation of pressed peels of lime namely Manao Namhom (*Citrus aurantifolia*), the various ten-ton wastes from lime drinking industry in Chiang Mai, were hydrodistillated in clevenger type apparatus at 100°C for an hour. It was obtained the colorless distilled lime oil for evaluation of physicochemical properties and major changed chemical components analysing by TLC, GC and GC/MS comparing with distilled lime oil before fermentation. TLC analysis used toluene: ethyl acetate (96: 4, v/v) as developing solvent. The capillary column for GC and GC/MS were DB-1 and Alltech 15897 AT-1MS, respectively and used temperature at the same conditions. The column was held isothermally for 10 min at 70°C and then program up to 80°C at 2°C /min and to 220°C at 7°C /min and finally held 220°C for 5 min. Comparing with distilled lime oil before and after fermentation, it was present that after fermentation distilled lime oil had new aroma odor and increased in amount. The physicochemical properties of distilled lime oil after fermentation for 15-90 day showed the specific gravity from 0.837 to 0.849 (25°C) and refractive index from 1.470 to 1.471 (25°C). But optical rotation of 10% distilled lime oil in 95% ethanol was decreased from +6.63° to +6.05° (25°C) after fermentation. The major components identified were (+)-limonene, β-myrcene, (1S)-(-)-α-pinene and α-terpineol from TLC and GC analysis. By GC/MS analysis while the major components of distilled lime oil before fermentation identified were limonene (68.78%), *p*-cymene (8.51%), γ-terpinene (7.82%) and α-terpineol (3.44%). It contained limonene (74.17%), *p*-cymene (3.77%), γ-terpinene (11.65%) and α-terpineol (2.68%) as the same major components of distilled lime oil after fermentation. The relative amounts of the major components of distilled lime oil after fermentation were shown that increased components were limonene and γ-terpinene and the decreased components were *p*-cymene, terpinen-4-ol, β-bisabolene and α-terpineol. In addition, α-terpineol contents was decreased from 28.57 ± 0.12 to 24.03 ± 0.06 mg/g.

In conclusion, the properties of distilled lime oils after fermentation were different from the distilled lime oil before fermentation. These may due to actions of microorganisms, fermentation under acidic solution of bio-fermented products and distillation process. The major components were still maintained and only amounts of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

some components were changed, these led to new aroma odor. However, these results are useful for the alternative biotechnology production of the natural flavors and fragrances from the huge plant wastes to instead of the synthetic oils. For the scale up process of natural flavors and fragrances, further study on microorganisms that effect on essential oils should be done.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันมะนาวที่ได้จากการหมักด้วยน้ำหมักชีวภาพ
ผู้เขียน	นางสาวใจเพียร เหล่าธรรมยิ่งยง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สุรพล นธการกิจกุล	ประธานกรรมการ
รศ. พาณี ศิริสะอาด	กรรมการ
ดร. อัมพวัน อภิสริยกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

น้ำมันหอมระเหยเป็นที่นิยมใช้กันมากในการตกแต่งกลิ่นผลิตภัณฑ์ยา เครื่องหอม และอาหาร ปัจจุบันความต้องการสารหอมจากธรรมชาติกำลังเป็นที่ต้องการมากขึ้น โดยเฉพาะในสปาและอโรมาเธอราพี การหมักเป็นเทคโนโลยีชีวภาพที่สามารถนำมาใช้ในการแปรรูปเศษวัสดุเหลือทิ้งให้เป็นสารหอมจากธรรมชาติได้

การปรับปรุงกลิ่นน้ำหมักชีวภาพ โดยการหมักพืชหอมกับน้ำหมักชีวภาพในที่จำกัดอากาศด้วยอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก จะช่วยให้น้ำหมักชีวภาพนั้นมีกลิ่นหอมน่าใช้ขึ้น เพื่อความปลอดภัยควรจะมีการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในน้ำหมักชีวภาพ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่เปลี่ยนไปภายหลังการหมักด้วยน้ำหมักชีวภาพ เพื่อยืนยันในด้านคุณภาพที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ในชุมชนมีการนำน้ำหมักชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์สุขภาพของชุมชนกันมากเป็นเวลา 9 ปีแล้ว แต่ยังขาดข้อมูลที่เป็นวิทยาศาสตร์รองรับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หลังการหมักเปลือกมะนาวน้ำหอม ที่เป็นเศษวัสดุเหลือทิ้งหลายสิบตันจากอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มน้ำมะนาวในจังหวัดเชียงใหม่มาต้มกลั่นด้วยน้ำในเครื่องกลั่นชนิดแก้วที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้น้ำมันมะนาวที่ใสไม่มีสีมาประเมินหาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนไปด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง แก๊สโครมาโตกราฟี และแก๊สโครมาโตกราฟีคู่ควบแมสสเปกโตรเมตรีเพื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันมะนาวหลังการหมัก การวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบางใช้ toluene : ethyl acetate ในอัตราส่วน 96 : 4 โดยปริมาตรเป็นน้ำยาชะ ส่วนการวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี และแก๊สโครมาโตกราฟีคู่ควบแมสสเปกโตรเมทรีใช้คอลัมน์ชนิด DB-1 และ Alltech 15897 AT-1 MS ตามลำดับ ที่อุณหภูมิภายใต้สภาวะเดียวกันคือ ให้อุณหภูมิคงไว้ที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียสคงไว้เป็นเวลา 5 นาที เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำมันมะนาวก่อนและหลังการหมักพบว่า น้ำมันมะนาวที่ผลิตได้มีกลิ่นหอมแปลกใหม่และมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังการหมัก คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันมะนาวก่อนและหลังการหมัก 15-90 วัน พบว่า ค่าความถ่วงจำเพาะมีค่าเท่ากับ 0.837-0.849 (25 องศาเซลเซียส) และค่าดัชนีหักเหแสงมีค่าเท่ากับ 1.470-1.471 (25 องศาเซลเซียส) แต่ค่าการบิดเบนแสงของน้ำมันมะนาว 10 เปอร์เซ็นต์ ในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าลดลงจาก +6.63° เป็น +6.05° (25 องศาเซลเซียส)ภายหลังการหมัก จากการวิเคราะห์น้ำมันมะนาวด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง และแก๊สโครมาโตกราฟี องค์ประกอบหลักทางเคมีที่พบคือ (+)-limonene, β-myrcene , (1S)-(-)-α-pinene และ α-terpineol จากการวิเคราะห์น้ำมันมะนาวด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟีคู่ควบแมสสเปกโตรเมทรี พบว่า องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันมะนาวก่อนการหมักคือ limonene (68.78 เปอร์เซ็นต์), *p*-cymene (8.51 เปอร์เซ็นต์), γ-terpinene (7.82 เปอร์เซ็นต์) และ α-terpineol (3.44 เปอร์เซ็นต์) ส่วนองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันมะนาวหลังการหมักเหมือนกันคือ limonene (74.17 เปอร์เซ็นต์), *p*-cymene (3.77 เปอร์เซ็นต์), γ-terpinene (11.65 เปอร์เซ็นต์) และ α-terpineol (2.68 เปอร์เซ็นต์) จากปริมาณสัมพัทธ์ขององค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันมะนาวหลังการหมัก พบว่า องค์ประกอบที่มีปริมาณสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นคือ limonene และ γ-terpinene ส่วนองค์ประกอบที่มีปริมาณสัมพัทธ์ลดลงคือ *p*-cymene, terpinen-4-ol, β-bisaboleneและ α-terpineol นอกจากนี้ปริมาณของ α-terpineol ในน้ำมันมะนาวได้ลดลงจาก 28.57 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมเป็น 24.03 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัม

จะเห็นว่าคุณสมบัติของน้ำมันมะนาวหลังการหมักแตกต่างไปจากเดิม อาจเนื่องมาจากการทำงานของจุลินทรีย์ การหมักภายใต้สารละลายที่เป็นกรดของน้ำหมักชีวภาพ และวิธีการกลั่น จากองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันมะนาวก่อนและหลังการหมักที่ยังคงปรากฏอยู่ และมีเพียง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณที่เปลี่ยนแปลงในบางองค์ประกอบนี้ส่งผลให้เกิดกลิ่นหอมใหม่ของน้ำมันมะนาวขึ้น อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้เป็นเทคโนโลยีชีวภาพทางเลือกแบบใหม่ในการผลิตสารหอมจากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อทดแทนน้ำหอมสังเคราะห์ ส่วนการขยายขนาดการผลิตสารหอมในระดับอุตสาหกรรมควรมีการศึกษาผลของจุลินทรีย์ที่มีต่อน้ำมันหอมระเหย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved