การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางด้วยวิธีไฮโดรเจล โดยใช้แคลเซียมแอลจิเนต

รัตนา ตีคลี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ENCAPSULATION OF YANANG LEAVES (*Tiliacora triandra*) EXTRACTS WITH CALCIUM ALGINATE HYDROGEL BEADS

RATTANA TEEKLEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

MAJOR IN FOOD TECHNOLOGY

FACULTY OF AGRICULTURE

UBON RATCHATHANI UNIVERSITY

YEAR 2012

COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์

เรื่อง การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางด้วยวิธีไฮโดรเจลโดยใช้แคลเซียมแอลจิเนต

ผู้วิจัย นางสาวรัตนา ตีคลี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรา สิงห์ทอง)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์)

..... กรรมการ

(ดร.เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด)

..... คณบดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.วัชรพงษ์ วัฒนกูล)

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.อุทิศ อินทร์ประสิทธิ์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2555

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรา สิงห์ทอง ที่กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำ และความคิดเห็นในงานวิจัยเป็นอย่างดีมาตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยแนะนำแก้ไขงานวิจัยเล่มนี้ พร้อมทั้งได้แนะแนวทางในการค้นคว้าข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ดร. เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ช่วยแนะนำแก้ไขงานวิจัยเล่มนี้ และชี้แนะในการศึกษาค้นคว้าตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการในคณะเกษตรศาสตร์ทุกท่านที่ช่วยเหลือในเรื่องอุปกรณ์ และเครื่องมือการปฏิบัติงานเป็นอย่างดี รวมทั้งบุคลากรคณะเกษตรศาสตร์ที่ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในเรื่องเอกสารต่างๆ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณแม่ คุณป้า เพื่อนๆ พี่ๆ นักศึกษาปริญญาโท ที่ให้กำลังใจเสมอมา และขอขอบพระคุณคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่เอื้อเฟื้อทุนในการวิจัยและสถานที่ในการทดลอง

(นางสาวรัตนา ตีคลี)

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางด้วยวิธีไฮโดรเจลโดยใช้แคลเซียมแอลจิเนต

โดย : รัตนา ตีคลี

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการอาหาร

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร. จิตรา สิงห์ทอง

ศัพท์สำคัญ : เอนแคปซูล ใบย่านาง ไฮโดรเจล แคลเซียมแอลจิเนต

ย่านาง (*Tiliacora triandra*) จัดเป็นผักและสมุนไพรพื้นบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ปัจจัยที่ใช้ศึกษาคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ มีผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตเอนแคปซูล และความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงความสามารถในการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลที่อุณหภูมิแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังศึกษาความสามารถในการย่อยของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในระบบทางเดินอาหารจำลอง โดยเน้นเฉพาะผลจากพีเอชคือ ที่กระเพาะอาหาร (พีเอช 1.2) และที่ลำไส้เล็ก (พีเอช 7.4) ที่ 37 องศาเซลเซียส และสุดท้ายคือการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่างนางในระบบผลิตภัณฑ์อาหาร โดยจำลองผลของพีเอช (พีเอช 2, 3, 4, 5, 6 และ 7) อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อ (65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที) ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มพบว่า การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสมคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บและสารที่ใช้เคลือบคือ 1.60 ต่อ 8.40 ความเข้มข้นของแอลจิเนตร้อยละ 1 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 1 ของน้ำหนักต่อปริมาตร ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างสารสกัดจากใบย่านางต่อความเข้มข้นของแอลจิเนต รวมทั้งเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากกว่า 3 เดือน โดยมีร้อยละการคงเหลือของสารมากกว่าร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในระบบทางเดินอาหารจำลอง พบว่า

เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถดูดซึมที่ลำไส้เล็ก (พีเอช 7.4) ได้ดีกว่าที่กระเพาะอาหาร (พีเอช 1.2) ภายในเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่างนางในระบบจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยพบว่าที่พีเอช 4 มีการปลดปล่อยสารสำคัญมากที่สุด รวมทั้งที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที มีปริมาณสารสำคัญมากที่สุดเช่นกัน ซึ่งถือได้ว่าเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีความเป็นไปได้ในการประยุกต์กับผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม จากการศึกษาจะเห็นว่ากระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถป้องกันและยืดอายุเก็บรักษาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ และยังมีความเป็นไปได้ในการบริโภค และการประยุกต์กับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะอาหารเพื่อสุขภาพที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมในปัจจุบัน

ABSTRACT

TITLE : ENCAPSULATION OF YANANG LEAVES (*Tiliacora triandra*) EXTRACTS WITH CALCIUM ALGINATE HYDROGEL BEADS

BY : RATTANA TEEKLEE

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : FOOD TECHNOLOGY

CHAIR : ASST. PROF. JITTRA SINGTHONG, Ph. D.

KEYWORDS : ENCAPSULATION / YANANG / HYDROGEL / CALCIUM ALGINATE

Yanang (*Tiliacora triandra*) is used as a vegetable and herb in northeast Thailand. The research was to find the factors affecting the encapsulation process of Yanang leaf extract using three independent variables: the ratio of core material (Yanang leaf extract) to wall material (alginate), alginate concentration and concentration of $CaCl_2$ solution and evaluating encapsulation efficiency and bioactive compounds. The stability of bioactive compounds in encapsulated Yanang leaf extract was evaluated during storage at different temperatures. In addition, the in vitro release in gastrointestinal tract (GI tract) in stomach (pH 1.2) and in small intestine (pH 7.4) at 37°C, was studied. Finally, encapsulated Yanang leaf extract was *added* to a food model system (soft drink model system) to find the effect of pH (pH 2, 3, 4, 5, 6 and 7) and temperature/time (65 °C for 30 min and 77 °C for 1 min) treatments on the release of bioactive compounds. The optimal conditions for encapsulation were at the ratio of core material to wall material 1.60:8.40 in alginate concentration of 1% (w/v) and 1% (w/v) of $CaCl_2$ solution. The results show that the encapsulation efficiency and bioactivity were mainly affected by the ratio of Yanang leaf extract concentration to alginate concentration. Under these conditions the encapsulation process did not lose any bioactive compounds. Bioactive compounds in encapsulated Yanang leaf extract showed only a slow reduction during storage at 4-10 °C for 3 months (> 50% residual). Moreover, encapsulated Yanang leaf extract was released in small intestine (pH 7.4) more than in stomach (pH 1.2) at 24 hr and in the soft drink model system encapsulated Yanang leaf extract was

released at pH 4 and 77 °C for 1 min. In conclusion, this study demonstrates the potential of using hydrogel beads process in optimizing the encapsulation of herbal extract and it represents an interesting food additive option for incorporation into functional foods.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ก**
บทคัดย่อภาษาไทย	**ข**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ง**
สารบัญ	**ฉ**
สารบัญตาราง	**ฌ**
สารบัญภาพ	**ญ**
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	4
1.3 สมสติฐานของงานวิจัย	4
1.4 ขอบเขตการวิจัย	4
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	5
2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ย่านาง	6
2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในพืช	10
2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ	10
2.2.2 สารประกอบฟีนอลิก	15
2.2.3 วิตามินซี	17
2.2.4 แคโรทีนอยด์	18
2.2.5 คลอโรฟิลล์	19
2.3 กระบวนการเอนแคปซูล	21
2.3.1 ชนิดของเอนแคปซูลที่ผลิตโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน	21
2.3.2 เทคนิคที่นิยมใช้ในการเอนแคปซูเลชัน	23
2.3.3 เทคนิคกระบวนการเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจล	24
2.3.4 แอลจิเนต	25

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี 29
3.1.1 วัสดุอุปกรณ์ 29
3.1.2 สารเคมี 30
3.2 วัตถุดิบและวิธีการ 31
3.2.1 การเตรียมตัวอย่างใบย่านางอบแห้ง 31
3.2.2 การเตรียมสารสกัดจากใบย่านาง 31
3.2.3 การผลิตเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจล 32
3.2.4 การศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูล สารสกัดจากใบย่านาง 32
3.2.5 การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของ เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง 33
3.2.6 การศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัด จากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร 35

4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาความเหมาะสมของสารที่ต้องการกักเก็บต่อ สารที่ใช้เคลือบในการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านาง 36
4.1.1 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล 40
4.1.2 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 42
4.1.3 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัด จากใบย่านางต่อโครงสร้างของเอนแคปซูล 55
4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง 65
4.3 ผลการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญเอนแคปซูล ของสารสกัดจากใบย่านาง 77

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.4 ผลการศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง ในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร	83
4.4.1 ผลการศึกษาผลของพีเอชต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง	83
4.4.2 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง	86
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	89
เอกสารอ้างอิง	**91**
ภาคผนวก	**100**
ประวัติผู้วิจัย	**112**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณค่าทางโภชนาการของใบย่านาง	7
3.1	แผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) สำหรับการศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม	34
4.1	ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	38
4.2	ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ต่อ)	39
4.3	การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม	64
4.4	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบย่านางเริ่มต้นและเมื่อเวลาผ่านไป	66
4.5	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียสและ 25-30 องศาเซลเซียสภายในเวลา 12 สัปดาห์	68
4.6	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียสและ 25-30 องศาเซลเซียสภายในเวลา 12 สัปดาห์ (ต่อ)	71
4.7	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ถูกปลดปล่อยภายในเวลา 24 ชั่วโมง	78
4.8	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ถูกปลดปล่อยภายในเวลา 24 ชั่วโมง (ต่อ)	80
4.9	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่พีเอชต่างๆ	85
4.10	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อแตกต่างกัน	88

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะใบย่านาง	6
2.2	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน	11
2.3	การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	12
2.4	โครงสร้างของ diphenylpicrylhdrazyl: DPPH ในลักษณะของอนุมูลอิสระ	14
2.5	โครงสร้างของ diphenylpicrylhdrazyl: DPPH ในลักษณะที่ไม่มีอนุมูลอิสระ	14
2.6	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์	16
2.7	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์	17
2.8	โครงสร้างของ L-ascorbic acid, dehydro-L-ascorbic acid และ diketogulonic acid	18
2.9	โครงสร้างทางเคมีของอัลฟ่า-แคโรทีน และเบต้า-แคโรทีน	19
2.10	โมเลกุลของคลอโรฟิลล์	19
2.11	โครงสร้างของแคปซูล	21
2.12	แคปซูลแบบ single core	21
2.13	แคปซูลแบบ multi-core หรือ matrix encapsulation	22
2.14	แคปซูลแบบ matrix encapsulation ที่มีการเคลือบผิว 2 ชั้น	22
2.15	การเชื่อมต่อของสายโพลิเมอร์	25
2.16	โครงสร้างของแอลจิเนต	26
2.17	การเกิดเจลของแอลจิเนตโดยแอลจิเนตจับกับแคลเซียมไอออน	26
4.1	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล	41
4.2	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	45
4.3	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.4	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า IC_{50}	48
4.5	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณวิตามินซี	49
4.6	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด	53
4.7	กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด	54
4.8	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ -1 (2:8)	56
4.9	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ +1 (4:6)	57
4.10	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลที่ปัจจัยต่างๆอยู่ในระดับเดียวกัน	58
4.11	ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)	59
4.12	ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ความเข้มข้นของแอลจิเนตที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)	60
4.13	ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)	61
4.14	การแพร่กระจายขององค์ประกอบทางเคมีระหว่างกระบวนการเกิดเจลของแอลจิเนต	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.15	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม (สารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบคือ 1.60 ต่อ 8.40 ความเข้มข้นของแอลจิเนตคือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์คือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร)	63
4.16	ร้อยละการคงเหลือของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 3 เดือน	69
4.17	ร้อยละการคงเหลือของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 3 เดือน	72
4.18	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางโดยเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์	75
4.19	ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางโดยเก็บรักษาที่ 25-30 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์	76
4.20	ร้อยละการปลดปล่อยพีเอช 1.2 และ 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	81
4.21	ร้อยละการปลดปล่อยพีเอช 1.2 และ 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	82
ผ.1	กราฟมาตรฐาน gallic acid	105
ผ.2	กราฟมาตรฐาน ascorbic acid	107
ผ.3	กราฟระหว่าง % inhibition กับ ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ	108

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสมุนไพรเป็นที่นิยมมากขึ้น โดยมีการใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร และอาหารเสริม รวมทั้งเป็นยารักษาโรค ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสมุนไพรในตลาดโลกมีการขยายตัวอย่างรวดเร็วจากมูลค่า 200 พันล้านดอลลาร์สหรัฐในปี 2008 เป็น 5 ล้านล้านดอลลาร์สหรัฐในปี 2010 (Chan et al., 2010) สำหรับประเทศไทยในช่วงปี 2550-2554 มูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์สมุนไพรของประเทศไทยมีอัตราเพิ่มขึ้นจาก 85 ล้านบาท ในปี 2550 เป็น 144 ล้านบาท ในปี 2554 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสมุนไพรส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภค เช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การนำมาเป็นอาหารเสริม รวมทั้งคุณสมบัติในการรักษาโรคต่างๆ สำหรับประเทศไทยคนไทยได้เปรียบกว่าชาติอื่นเพราะเป็นแหล่งของสมุนไพรพื้นบ้านที่สำคัญหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นการนำสมุนไพรมาผลิตเพื่อบริโภคน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ รวมทั้งลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ

ย่านางจัดเป็นผักพื้นบ้านและสมุนไพร มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Tiliacora triandra* จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae พบได้ในทุกภาคของประเทศไทยโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยใบย่านางนิยมนำมาปรุงอาหาร เช่น ซุปหน่อไม้ หรือแกงหน่อไม้ เป็นต้น ใบย่านางมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ แคลเซียม 155 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เหล็ก 7.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มีปริมาณวิตามินเอ บีหนึ่ง บีสอง และวิตามินซีสูง (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553) รวมทั้งมีปริมาณเบต้า-แคโรทีน (β-carotene) และแร่ธาตุอื่นๆ อยู่สูง ส่วนรากย่านางมีสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) หลายชนิดประกอบไปด้วย ทอเรียโครินิน (tiliacorinine) ทิเรียโคริน (tiliacorine) และนอร์ทิเรียโครินิน (nor-tiliacorinine) (Mahidol et al., 1994)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ (total antioxidant) สารประกอบฟีนอลิก (total phenolic) วิตามินซี (vitamin C) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) และคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นสารที่พบในพืชผักหรือแม้กระทั่งในผลไม้หลายชนิด ซึ่งย่านางก็เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบ โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

(Bae and Suh, 2007) ได้มีการศึกษาสารสกัดจากผลไม้ชนิด *Cinnamomum zeylanicum* โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สารสกัดด้วยน้ำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง ส่งผลทำให้มีปริมาณกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกัน โดยจะวัดในรูปของเบต้า–แคโรทีน และ 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) (Jayaprakasha et al., 2007) นอกจากนี้มีการศึกษาของ Ozgen et al. (2009) เกี่ยวกับลักษณะพฤษเคมีและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลหม่อนสายพันธุ์มัลเบอร์รี่สีดำ (*Morus nigra*) และมัลเบอร์รี่สีแดง (*Morus rubra*) ที่อุดมไปด้วยสารแอนโทไซยานิน (antocyanins) โดยวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดพบว่า ในมัลเบอร์รี่สีดำจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่ามัลเบอร์รี่สีแดง เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาล ความเป็นกรด และความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งได้มีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพู่ข้าวโพด (corn tassel) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (by-product) ของข้าวโพด พบว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอล (ethanol) และเมทานอล (methanol) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและมีปริมาณกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (Mohsen and Ammar, 2009) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจาก Guarana seed พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตน (acetone) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (Majhenic et al., 2007) สารสกัดสมุนไพรสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเป็นสารเสริมฟังก์ชัน แต่ยังต้องมีการป้องกันการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากอายุการเก็บรักษาสั้น การใช้กระบวนการเอนแคปซูล (encapsulation) เป็นวิธีที่สามารถป้องกันการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมทั้งเป็นการยืดอายุการเก็บรักษา และสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเป็นส่วนประกอบเสริมหน้าที่ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

กระบวนเอนแคปซูล เป็นกระบวนการที่ใช้สารเคลือบสารที่สำคัญไว้ โดยมีทั้งการป้องกันสารและการควบคุมการปลดปล่อยสารที่ต้องการป้องกันหรือกักเก็บไว้ รวมทั้งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของสารสำคัญและปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Chan et al., 2010) สำหรับการผลิตเอนแคปซูล สารที่ต้องการกักเก็บจะอยู่ในสถานะที่เป็นของเหลวหรือก๊าซ โดยสารที่นิยมทำเอนแคปซูลในระดับอุตสาหกรรมคือ วิตามิน แร่ธาตุ สารต้านอนุมูลอิสระ สารให้สี เอนไซม์ และสารให้ความหวาน (Deladino et al., 2008) สำหรับสารที่ใช้เคลือบมีความเฉพาะต่อสารที่ต้องการป้องกัน และมีผลต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารของผู้บริโภค เช่น ต้องการให้ย่อยที่กระเพาะ

อาหาร หรือต้องการให้ดูดซึมที่ลำไส้เล็ก เนื่องจากสภาวะในการย่อยมีความแตกต่างกัน (Hu et al., 1998) สารเคลือบที่นิยมใช้ในการทำเอนแคปซูลส่วนใหญ่จะเป็นพวกโพลีแซกคาไรด์ (polysaccharides) เช่น แอลจิเนต (alginate) (Deladino et al., 2008 ; Hunt et al., 2010) และไคโตซาน (chitosan) (Deladino et al., 2008) เนื่องจากแอลจิเนตสามารถเกิดไฮโดรเจล (hydrogel) ได้เมื่อเกิดการเชื่อมกัน (cross-linked) กับไอออนแคลเซียมสามารถใช้เป็นสารเคลือบและลดการเกิดการพองตัว (swelling) และการเสื่อมสลาย (degradation) ของไมโครเอนแคปซูลได้ (Wikstrom et al., 2008) แอลจิเนตจึงเป็นสารเคลือบที่นิยมใช้ในการทำเอนแคปซูลแบบไฮโดรเจล วิธีการในการผลิตเอนแคปซูลสามารถนำไปใช้ได้ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ผลิตภัณฑ์ยา และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยวิธีการทำเอนแคปซูลสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เป็นการนำสารที่ใช้เคลือบมาละลายน้ำ จากนั้นนำสารที่กักเก็บมาผสมกับสารละลายที่ใช้ในการเคลือบ สำหรับวิธีเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) เป็นการกระจายตัวของสารที่ต้องการทำเอนแคปซูลในมวลของคาร์โบไฮเดรตที่หลอมเหลว โดยส่วนผสมจะถูกบังคับให้เคลื่อนผ่านหัวไดล์ (die) ไปยังของเหลวซึ่งใช้ในการดึงน้ำออก (dehydrating liquid) จะทำให้สารเคลือบเกิดการแข็งตัวและจับสารแกนกลางไว้ภายในของเหลวที่ใช้ในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นมีความแข็ง (harden material) ต้องนำไปผ่านขั้นตอนการทำให้แตกเป็นชิ้นเล็กๆ และทำให้แห้ง ส่วนวิธีทางเคมี (coacervation) เป็นการปรับสภาพของคอลลอยด์ที่ละลายน้ำได้ (hydrophillic colloids) 2 ชนิด ที่มีประจุต่างกันให้อยู่ในสภาวะที่ประจุเป็นกลางและเคลือบอยู่บนผิวของสารแกนกลาง (Beristain et al., 1996) เช่น วิธีไฮโดรเจลเป็นวิธีที่นิยมทางการค้า โดยเป็นการใช้สารเคลือบห่อหุ้มสารที่ต้องการเคลือบที่เป็นของเหลวไว้ภายใน วิธีไฮโดรเจลที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือ แคลเซียมแอลจิเนตไฮโดรเจล (calcium-alginate hydrogel) (Chan et al., 2010) ดังนั้นวิธีทำเอนแคปซูลจะขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของผลิตภัณฑ์ การผลิตเอนแคปซูลด้วยวิธีทางเคมีหรือไฮโดรเจลที่ใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบเป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงในการเก็บรักษาสารที่ต้องการทำเอนแคปซูล

จากการสูญเสียได้ง่ายของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในธรรมชาติการกักเก็บหรือป้องกันสารสำคัญนั้นไว้จึงเป็นสิ่งจำเป็น และจากกระบวนการเอนแคปซูลที่สามารถกักเก็บหรือป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไว้ได้จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม เพื่อช่วยในการป้องกันและลดการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในใบย่านาง รวมทั้งการศึกษาความคงตัวและการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในสภาวะที่แตกต่างกัน และการประยุกต์ในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 ศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางที่เหมาะสม

1.2.2 ศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านาง

1.2.3 ศึกษาการปลดปล่อยสาระสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

1.2.4 ศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองผลิตภัณฑ์อาหาร

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

1.3.1 อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่แตกต่างกันจะมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

1.3.2 กระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางได้และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 30 วัน

1.3.3 เมื่อผ่านระบบทางเดินอาหารของมนุษย์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้

1.3.4 เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีความคงตัวเมื่ออยู่ในระบบผลิตภัณฑ์อาหาร

1.4 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดจากใบย่านางด้วยน้ำ จากนั้นทำการศึกษาความเหมาะสมของสารที่ต้องการกักเก็บและสารที่ใช้เคลือบในการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัด โดยสารที่ใช้เคลือบคือ แอลจิเนต ต่อสารที่ต้องการกักเก็บคือ สารสกัดจากใบย่านาง ในอัตราส่วนของสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบแตกต่างกัน ทำการเอนแคปซูลด้วยวิธีทางเคมีแบบไฮโดรเจล โดยใช้แอลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางมาศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้องเย็น (4-10 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน โดยศึกษาลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลและทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมทั้งศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมให้เหมือนกับระบบการย่อยของร่างกายมนุษย์จะศึกษาเฉพาะผลของพีเอชที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยติดตามผลภายใน 24 ชั่วโมง และศึกษา

การประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยศึกษาผลของพีเอช อุณหภูมิ และเวลาในการฆ่าเชื้อที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดจากใบย่านาง

1.5.2 ทราบถึงความสามารถในการป้องกันและกักเก็บสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยศึกษาจากความคงตัวและการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

1.5.3 ทราบถึงอายุการเก็บรักษาของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

1.5.4 ทราบถึงความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะต่างๆ ทั้งค่าพีเอชในระบบทางเดินอาหารและระบบผลิตภัณฑ์อาหาร

1.5.5 ทราบถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์เอนแคปซูลสารจากสกัดใบย่านางในผลิตภัณฑ์อาหาร

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ย่านาง

ย่านางมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Tiliacora triandra Diels* อยู่ในวงศ์ Menispermaceae ย่านางมีถิ่นกำเนิดในตอนกลางของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นไม้เลื้อยในป่าเขตร้อนและในป่าไม้ผลัดใบในทวีปเอเชียและอเมริกาเหนือ ย่านางพบขึ้นตามป่าผลัดใบ ป่าดงดิบ และป่าโปร่งในทุกภาคของประเทศไทย ชื่ออื่นที่ใช้เรียกจะเรียกตามท้องถิ่นนั้นๆ คือ ภาคกลางเรียก เถาย่านาง เถาหญ้านาง เถาวัลย์เขียว หญ้าภคินี ภาคเหนือเรียก จ้อยนาง จอยนาง ผักจอยนาง ภาคใต้เรียก ย่านนาง ยานนาง ขันยอ ยาดนาง วันยอ และภาคอีสานเรียก ย่านาง (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553)

ลักษณะทางพฤกศาสตร์ของย่านาง คือ เป็นไม้เลื้อย มีลักษณะเป็นเถากลมขนาดเล็กเหนียว มีสีเขียว เถาอ่อนมีขนอ่อนปกคลุม เถาแก่ผิวเรียบมีสีเข้ม มีข้อห่างๆ รากมีขนาดใหญ่ มีหัวใต้ดิน เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวติดกับลำต้นแบบสลับ ใบคล้ายรูปไข่ หรือรูปไข่ขอบขนาน ปลายใบเรียว ฐานใบมน ขนาดใบยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ก้านใบยาว 1-1.5 เซนติเมตร ใบสีเขียวเข้ม หน้าและหลังใบเป็นมัน ลักษณะของใบย่านางแสดงดังภาพที่ 2.1 ดอกของย่านางแยกเพศคนละต้น ย่านางเป็นพืชที่ขึ้นในดินทุกชนิด และปลูกได้ทุกฤดู ขยายพันธุ์โดยใช้หัวใต้ดิน สามารถปลูกหรือขยายพันธุ์ง่าย (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบย่านาง (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553)

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของใบย่านาง (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553 ; ณรงค์ มูลคำ, 2553 ; วัลภา ประเสริฐศิลา, 2553)

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณของสารสำคัญต่อ 100 กรัมตัวอย่าง	
พลังงาน	95	กิโลแคลอรี
เส้นใย	7.9	กรัม
แคลเซียม	155	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	11	มิลลิกรัม
เหล็ก	7	มิลลิกรัม
วิตามินบี1	0.3	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	3.6	มิลลิกรัม
ไนอาซิน	14	มิลลิกรัม
วิตามินซี	141	มิลลิกรัม
โปรตีน	15.5	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	16.6	มิลลิกรัม
เบต้า-แคโรทีน	0.64397	มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	1.29	กรัม
acid detergent fiber (ADF)	33.7	กรัม
neutral detergent fiber (NDF)	46.8	กรัม
digestible dry matter (DMD)	62.0	กรัม
แทนนิน	210	มิลลิกรัม

คุณประโยชน์เฉพาะของย่านาง ใบย่านางมีสรรพคุณทางยาคือ มีรสชาติค่อนข้างจืดมากและออกรสขม เมื่อรับประทานเชื่อว่าจะมีฤทธิ์ในการถอนพิษไข้ แก้ไข้ตัวร้อน ใบย่านางประกอบไปด้วยเส้นใย นอกจากนี้ยังมีแคลเซียมและวิตามินซีค่อนข้างสูง ส่วนในรากย่านางมีสรรพคุณทางยาคือ มีรสจืดและขม สามารถใช้ต้มเป็นยาเพื่อแก้ไข้ ในรากใบย่านางประกอบไปด้วยสารอัลคาลอยด์หลายชนิดซึ่งเป็นสารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายประกอบไปด้วย ทิเรียโครินิน ทิเรียโครินและนอร์ทิเรียโครินิน นอกจากนี้ในด้านคุณค่าทางอาหารและโภชนาการของย่านาง ซึ่งย่านางสามารถนำทุกส่วนมาใช้ประโยชน์ได้ ไม่ว่าจะเป็นใบ เถา ผล หรือยอดอ่อน แต่คนโบราณนิยมนำส่วนใบย่านางมาคั้นเอาน้ำเพื่อปรุงอาหารประเภทต่างๆ เช่น แกงหน่อไม้ หรือซุปหน่อไม้ เป็นต้น รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการของใบย่านางพบว่า ปริมาณของสารที่สำคัญและเป็นสารที่โดดเด่นใน

ใบย่านาง คือ เส้นใย แคลเซียม เหล็ก เบต้า-แคโรทีน และวิตามินเอ แสดงดังตารางที่ 2.1 (วัลภา ประเสริฐศิลา, 2553)

ย่านางมีคุณค่าทางโภชนาการที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ของย่านางอีกด้วย Nanasombat and Teckchuen (2009) ได้ศึกษาสารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) สารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านกิจกรรมการเกิดมะเร็ง (anticancer activities) ในสมุนไพรท้องถิ่นของไทย พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากย่านางเป็นสารอัลคาลอยด์และได้แยกสารสกัดอัลคาลอยด์เพื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี column chromatography และ crystallization techniques รวมทั้งศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR (nuclear magnetic resonance) พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรากย่านางคือ ทิเรียโครินิน และทิเรียโครินิน (Saiin and Markmee, 2003) รวมทั้งมีการศึกษาสารต้านไข้มาลาเรีย (antimalarial activity) ในสารสกัดจากรากย่านางที่มีผลต่อ Plasmodium falciparum พบว่า เมื่อใช้น้ำในการสกัด สารสกัดจากรากย่านางมีความสามารถในการต่อต้าน Plasmodium falciparum ได้ (Pavanand et al., 1989) และยังมีการศึกษาของ Sireeratawong et al. (2008) เกี่ยวกับความเป็นพิษของสารสกัดจากรากย่านางที่สกัดด้วยน้ำพบว่า สารสกัดที่ความเข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนูทดลองไม่พบความเป็นพิษต่อหนู

สมุนไพรในวงศ์เดียวกันกับย่านางมีอยู่อีกหลายชนิด แต่ละชนิดนั้นมีสรรพยาคุณทางยาทั้งมีฤทธิ์ถอนพิษไข้ เป็นยาบำรุงร่างกาย หรือแม้กระทั่งเป็นยาระงับอาการปวด อาทิเช่น บอระเพ็ด มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Tinospora crispa* Miers. จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae มีลักษณะเป็นเถาสีเทาแกมเหลือง เถาขรุขระ เปลือกเถาบางสามารถลอกออกได้ ใบรูปไข่ค่อนข้างยาว ฐานใบเป็นรูปหัวใจ ดอกมีขนาดเล็กสีเขียวอมเหลือง เถาของบอระเพ็ดมีสารรสขมชื่อ picroretin นอกจากนั้นยังมีสารจำพวก diter penoid ชื่อ tinosporan ยังพบว่ามีสารประเภท amine 2 ชนิด คือ N-trans-feruloyl tyramine และ N-cis-feruloyl tyramine และสารประกอบฟีนอลิก โดยมีสรรพคุณทางยาคือ ใช้บำบัดอาการอ่อนเพลีย ถอนพิษไข้ โรคเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะ และแก้อาการอักเสบ นอกจากนี้ยังมีชิงช้าชาลีที่เป็นสมุนไพรในวงศ์ Menispermaceae โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers. มีลักษณะเป็นเถาแข็ง มีรากอากาศงอกตามเถา เปลือกสีน้ำตาลปนเทา ใบเป็นรูปหัวใจ ที่ฐานใบมีปุ่มเล็กๆ ดอกออกระหว่างใบและลำต้น พบว่า เถาของชิงช้าชาลีมีสารอัลคาลอยด์ที่มีสรรพคุณทางยา ที่ใบของชิงช้าชาลีพบว่า มีปริมาณโปรตีนสูง และยังมีแคลเซียมและฟอสฟอรัสด้วย มีสรรพคุณทางยาคือ ใช้บำบัดอาการอ่อนเพลีย ถอนพิษไข้ โรคเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะ แก้ไข้มาลาเรีย ลดอาการอักเสบ และเป็นยาระงับอาการเจ็บปวดได้ สมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่อยู่ในวงศ์ Menispermaceae คือ ขมิ้นเครือ โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Arcangelisia flava* (Linn.) Merr. มีลักษณะเป็นเถาที่มีเนื้อแข็ง เนื้อไม้มีสีเหลือง ในเถาของขมิ้นเครือมีสารอัลคาลอยด์ชนิด

berberine ซึ่งมีสรรพคุณทางยาคือ ถอนพิษไข้ แก้อาการท้องเสีย อาการท้องอืด และแก้โรคดีซ่านได้ นอกจากนี้ยังมีเครือหมาน้อยหรือกรุงเขมา ที่จัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cissampelos pareira* Linn.มีลักษณะเป็นไม้เถาเลื้อย ใบเดี่ยว รูปร่างใบเป็นรูปหัวใจ โคนใบแบบก้นปิด ใบกว้าง 5.6-6.6 เซนติเมตร ยาว 6.9-7.6 เซนติเมตร หน้าใบและหลังใบมีขนสีน้ำตาลยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ปกคลุมหนาแน่น หลังใบมีขนปกคลุมหนาแน่นมากกว่าหน้าใบ ก้านใบมีขนยาว 1.7-2.5 เซนติเมตร ดอกตัวผู้และตัวเมียเป็นกระจุกสีขาวยาวประมาณ 0.2-0.5 มิลลิเมตร ขอบใบเรียบ ยอดอ่อนสีน้ำตาลแดง ใบแก่สีเขียวเข้ม ก้านใบยาว 0.4-0.6 เซนติเมตร ออกดอกที่ยอดหรือปลายกิ่ง ช่อดอกมี 4-5 ดอก ยาว 6.0-6.5 เซนติเมตร ดอกย่อยแยกจากกัน มีขนาดเล็กสีเขียว เมล็ดโค้ง (เหมือนพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว) ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดหรือหน่อ พบว่า ในเครือหมาน้อยมีสารสำคัญหลายอย่างเช่น cissampareine, curine, cycleanine, daijisong, β-cyclanoline, dehydrodicentrine, hayatidine, hayatire, insularine และ isochonodendrine สรรพคุณทางยาในรากเครือหมาน้อยคือ ใช้ขับปัสสาวะ แก้ไข้ และเป็นยาถ่าย ส่วนในใบ เป็นยาเย็นดับพิษไข้ ใช้ภายนอกรักษาแผลหรือฝี (จินดาพร ภูริพัฒนาวงศ์, 2539)

ยังมีสมุนไพรในวงศ์อื่นอีกหลากหลายชนิดที่ใช้ประโยชน์จากใบเช่นเดียวกับใบย่านาง สามารถพบได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคประเทศไทย ยกตัวอย่างเช่น สาบเสือ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Chromolaena odoratum* (L.) จัดอยู่ในวงศ์ Compositae มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก มีอายุเพียง 1 ปี ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้าน สูงได้ถึง 1.5 เมตร ทุกส่วนของต้นในขณะที่ยังอ่อนมีขน ใบเป็นรูปไข่ที่ผิวใบมีขน ดอกช่อสีขาวแกมม่วง ใบสาบเสือมีสาร tetramethoxyflavone และแคลเซียม ซึ่งทำให้ใบสาบเสือมีสรรพคุณในการสมานแผลและห้ามเลือด สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มและอะซิโตนที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดหนอง นอกจากนี้ยังมีใบบัวบกที่มีสรรพคุณทางยา ซึ่งในปัจจุบันนิยมบริโภคกันมาก ใบบัวบกมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Centella asiatica* (L.) Urb. อยู่ในวงศ์ Umbelliffrae เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุหลายปี เลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน เป็นใบเลี้ยงเดี่ยว เรียงสลับ รูปไต ดอกเป็นช่อ ออกดอกที่ซอกใบ ขนาดเล็ก 2-3 ดอก กลีบดอกสีม่วง ใบสดของสามารถรักษาโรคปากเปื่อย เจ็บคอ ร้อนใน กระหายน้ำ ลดไข้ ขับปัสสาวะ และแก้ท้องเสีย ยังมีสมุนไพรที่ใช้ประโยชน์จากใบอีกคือ ลูกใต้ใบ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus amarus* Schum. จัดอยู่ในวงศ์ Phyllanthaceae เป็นไม้ล้มลุก ใบเดี่ยวเรียงสลับในระนาบเดียวกัน รูปรีหรือรูปขอบขนาน ดอกเป็นช่อสีนวล มีสรรพคุณทางยาคือ ถอนพิษไข้ รักษาริดสีดวง กามโรค ปวดท้อง ดีซ่าน ท้องเสีย บิด และแก้ไอได้ (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2547)

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในพืช

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารที่พบมากในพืชผักผลไม้ ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในธรรมชาติ ประกอบไปด้วยสารหลายชนิดเช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ และวิตามินซี เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ล้วนมีประโยชน์ต่อร่างกาย และไม่เป็นพิษ

2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

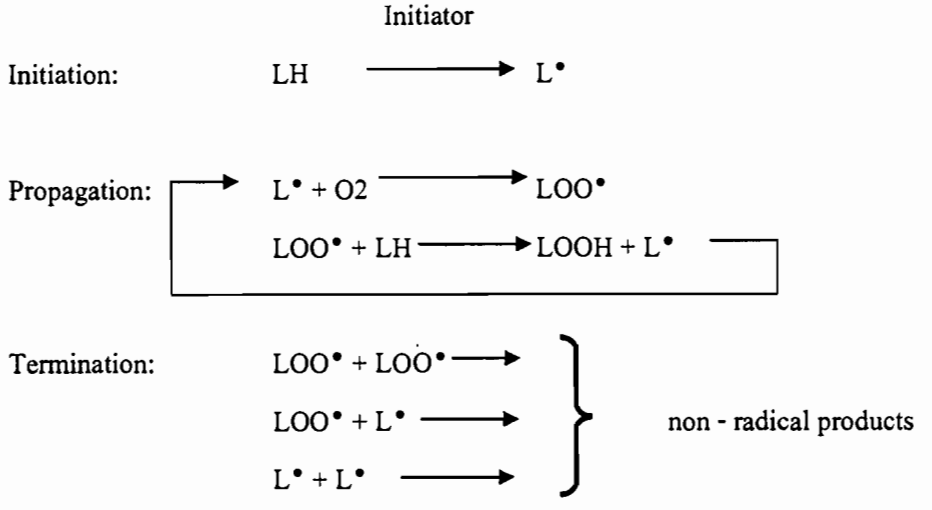
คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายได้ สารต้านออกซิเดชันที่พบในพืชได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551 ; Bae and Suh, 2007) สิ่งที่ทำให้สารต้านออกซิเดชันมีความน่าสนใจคือสมบัติในการลดอันตรายจากอนุมูลอิสระในร่างกายมนุษย์และยังป้องกันอันตรายจากไขมันที่มนุษย์ได้รับจากอาหาร ซึ่งทั้งสองกรณีนี้เกิดจากการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติ (Molyneux, 2004)

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งโมเลกุล การที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวส่งผลให้อนุมูลอิสระสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้ เนื่องจากอนุมูลอิสระพยายามทำให้อิเล็กตรอนเดี่ยวที่มีอยู่เกิดความสมดุลโดยใช้โมเลกุลอื่น เมื่ออนุมูลอิสระจับกับโมเลกุลอื่นจะเกิดการสร้างโครงสร้างเชื่อมกัน ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น (Wildman, 2007) อนุมูลอิสระเกิดจากการเสียอิเล็กตรอนซึ่งมีออกซิเจนเป็นตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agents) โดยออกซิเจนต้องอยู่ในสภาวะเร่ง (singlet oxygen ; $^1O_2$) ซึ่งออกซิเจนปกติ (ground state ; O_2) อยู่ในอากาศทั่วไป แต่เมื่อมีแสงอาทิตย์จะทำให้ออกซิเจนปกติกลายเป็นออกซิเจนในสภาวะเร่ง (Chen et al., 2012) โดยแสงอาทิตย์จะทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่นอกสุดของออกซิเจนเกิดการหมุน ทำให้ออกซิเจนในสภาวะเร่งสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้ง่าย เนื่องจากโมเลกุลอื่นมีอิเล็กตรอนที่สามารถจับคู่กับอิเล็กตรอนที่หมุนของออกซิเจนได้โดยไม่มีข้อจำกัด จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น (Wildman, 2007)

การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งถือได้ว่าเป็นสารที่ป้องกันความเสียหายของโมเลกุลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันคือ ป้องกันการเกิดขึ้นของออกซิเจนในสภาวะเร่ง กำจัดออกซิเจนในสภาวะเร่งก่อนที่จะจับกับโมเลกุลทางชีวภาพ โดยลดความแข็งแรงของออกซิเจนในสภาวะเร่ง หรือเสริมความแข็งแรงของโมเลกุลทางชีวภาพ นอกจากนั้นยังสามารถทำให้ออกซิเจนในสภาวะเร่งไม่สามารถเปลี่ยนแปลงไปในสภาวะอื่นอีกได้ สามารถซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากออกซิเจนในสภาวะเร่ง และสามารถปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสำหรับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ โดยทำให้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถจับกับไอออนของ

โลหะที่มีความสามารถในการสร้างอนุมูลอิสระ เช่น Fe^{2+} ได้ (Wildman, 2007) นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาขั้นแรกของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยจับกับอนุมูลอิสระ เช่น ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) จับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นแรก (primary product) และทำลายพันธะไฮโดรเจนของสารตั้งต้นที่จะสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Shahidi, 1997)

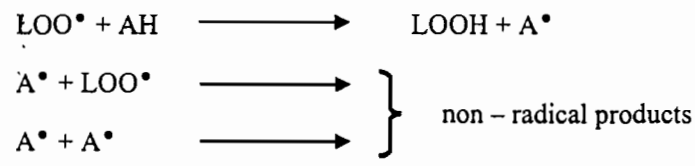
กลไกลในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันประกอบไปด้วย ขั้นแรกอินนิทิเอชัน (initiation) ขั้นที่สองโพรพาเกชัน (propagation) และขั้นที่สามเทอร์มิเนชัน (termination) ในขณะที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นในขั้นอินนิทิเอชัน ($L^{\bullet}$) ก็จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ซึ่งจะทำให้เกิดโมเลกุลของไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ($LOO^{\bullet}$) ในขั้นโพรพาเกชัน หลังจากนั้นในขั้นโพรพาเกชันจะทำให้เกิดสายของอนุมูลที่เกิดขึ้นและจะทำปฏิกิริยากันเองจนเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่มาเป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาจะหยุดลงในขั้นเทอร์มิเนชัน (Shahidi, 1997) แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Shahidi, 1997)

สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระในขั้นโพรพาเกชัน โดยกำจัดออกซิเจนในสภาวะเร่งหรือจับกับไอออนของโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม ($H^{\bullet}$) หรือให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ซึ่งสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ แสดงดังภาพที่ 2.3 ส่วนในร่างกายของมนุษย์อนุมูลอิสระอาจจะเกี่ยวข้องกับโรคภัยหรือการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ เช่น ปอด หัวใจ หลอดเลือดหัวใจ ไต ตับ ระบบทางเดินอาหาร ระบบเลือด สายตา ผิวหนัง กล้ามเนื้อ ระบบประสาท และระบบขับถ่าย

เป็นต้น ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดความผิดปกติโดยเกิดจากออกซิเจน น้ำ และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวภายในร่างกาย (Shahidi, 1997)



ภาพที่ 2.3 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (Shahidi, 1997)

สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายประเภท ซึ่งจะใช้กันอย่างกว้างขวางในอาหารประเภทไขมันหรือน้ำมัน ยกตัวอย่างเช่น สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ซึ่งสารสังเคราะห์ที่นิยมใช้คือสารประกอบ ฟีนอลิก เช่น butylated hydroxyanisol (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary butyhydroquinone (TBHQ) และกรดกาลิก (gallic acid) เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์สามารถปรับปรุงความคงตัวของไขมันและน้ำมันได้ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาการเติมสารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ร้อยละ 0.02 ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นไขมันหรือน้ำมันส่งผลทำให้ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์น้ำมันที่ได้จากพืชที่มีการใช้ TBHQ, BHA และ BHT สามารถช่วยให้น้ำมันพืชมีความคงตัวมากขึ้นเมื่อถูกความร้อน สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์จึงมีการใช้อย่างแพร่หลายมากขึ้น

นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังพบอยู่ในธรรมชาติมานานแล้ว โดยได้จากวิธีในครัวเรือนเช่น การรมควันและการใช้สมุนไพรในการเก็บรักษาเนื้อ ปลา ชีส และอาหารที่มีไขมันสูง สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติพบในพืชทุกชนิด ในจุลินทรีย์ เชื้อรา และเนื้อเยื่อสัตว์ สารประกอบที่มีมากในกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระคือสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้ยังเป็นกลุ่มโทโคฟีรอล (tocopherols) ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก (phenolic acid) (Pokorny et al., 2000)

การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น คุณสมบัติของโครงสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาเคมี รวมถึงชนิดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆอีก เช่น ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ อุณหภูมิ แสง ชนิดของอนุมูลอิสระ รวมถึงลักษณะทางกายภาพของระบบปฏิกิริยา ปัจจัยที่มีความสำคัญสามารถแบ่งออกได้ดังนี้ (Pokorny et al., 2000)

(1) ปัจจัยทางกายภาพ เช่น ออกซิเจนที่มีความดันสูง พื้นที่ผิวที่สามารถสัมผัสกับออกซิเจนได้ รวมทั้งความร้อนหรือรังสีความร้อนที่เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นแรกและขั้นที่สอง มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของแสงอาทิตย์ที่มีต่อลักษณะของน้ำมันดอกทานตะวันพบว่า

เมื่อเก็บรักษาน้ำมันดอกทานตะวันที่สภาวะอุณหภูมิห้องและมีแสงแดด มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันใกล้เคียงกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นเหตุผลที่ว่าการเก็บรักษาอาหารควรเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันแสงแดดและออกซิเจนได้ รวมถึงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร

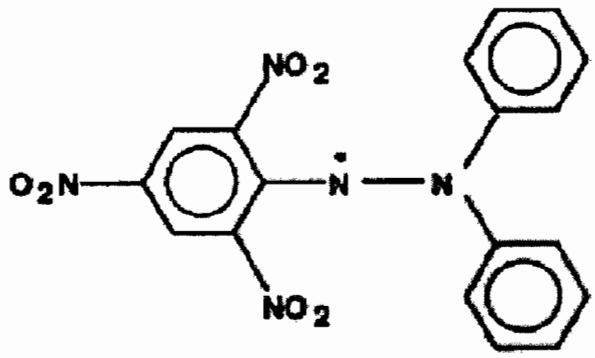
(2) ปัจจัยเกี่ยวกับสารตั้งต้น ในระบบอาหารสารต้านอนุมูลอิสระจะสามารถทำปฏิกิริยากับอาหารทั้งที่เป็นไขมันและที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ปัญหาหลักจะมีความเกี่ยวข้องกับความคงตัวของสารที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบไขมัน ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาตามลักษณะของสารตั้งต้นเช่น ความแตกต่างของโครงสร้างของสารตั้งต้น นอกจากนี้อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นแรกและขั้นที่สองยังสามารถบอกถึงชนิดและความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้นได้ และมีการศึกษาเกี่ยวกับความคงตัวของกรดไขมัน (fatty acid) ในน้ำมันที่ผ่านการใช้แล้ว ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งพบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นได้เร็วกว่าน้ำมันปกติหลายเท่า

(3) ลักษณะทางเคมีกายภาพ ในระบบอาหารและระบบชีวภาพจะมีลักษณะการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันเช่น ลักษณะการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกกับอนุมูลอิสระจะขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างปริมาณส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (lipophilic) มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของโทโคฟีรอลต่อระบบอิมัลชัน (emulsion) พบว่ามีผลตรงกันข้ามกับสารต้านอนุมูลอิสระประเภทโทรลอค (trolox) เนื่องจากว่าส่วนที่ชอบน้ำของโทโคฟีรอลมีปริมาณมากกว่า นอกจากนี้ลักษณะการมีขั้วของสารต้านอนุมูลอิสระยังมีผลต่อการทำงานของสารด้วย

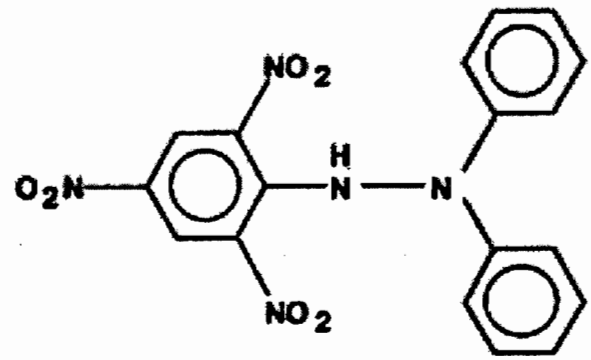
สารต้านอนุมูลอิสระสามารถวิเคราะห์ได้จากการใช้ diphenylpicrylhdrazyl หรือ DPPH ซึ่งเป็นวิธีพื้นฐานที่มีการนำมาใช้ในการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยโมเลกุลของ 1,1–diphenyl–2-picryl-hydrazyl (α,α–diphenyl–β–picrylhydrazyl ; DPPH) มีลักษณะสำคัญคือเป็นอนุมูลอิสระที่คงตัวโดยมีอิเล็กตรอนมากพอที่จะทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ แสดงดังภาพที่ 2.4 สารละลาย DPPH โดยปกติจะมีสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ สีม่วงจะหายไป (Molyneux, 2004) ซึ่งจะต้องทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515-520 นาโนเมตร (Molyneux, 2004 ; Pokorny et al., 2000) เมื่อสารละลาย DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนอะตอม ส่งผลให้สารละลาย DPPH อยู่ในรูปที่ไม่มีอนุมูลอิสระ แสดงดังภาพที่ 2.5 สามารถแสดงการเกิดปฏิกิริยาได้อย่างง่ายตามสมการที่ 1

$$Z^{\bullet}+AH \longrightarrow ZH+A^{\bullet} \qquad (1)$$

เมื่อ Z• คือ อนุมูลอิสระจากสารละลาย DPPH ส่วน AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อ Z• และ AH ทำปฏิกิริยากัน เกิดโมเลกุล ZH เป็นโมเลกุลของสารสะลาย DPPH ที่ไม่มีอนุมูลอิสระ และ A• เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอนุมูลอิสระในขั้นแรก หลังจากนั้นอนุมูลอิสระจะถูกควบคุมจำนวนจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ซึ่งจำนวนที่สามารถควบคุมอนุมูลอิสระคือ โมเลกุลจาก DPPH หรือสีม่วงที่หายไป (Molyneux, 2004)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ diphenylpicrylhdrazyl ; DPPH ในลักษณะของอนุมูลอิสระ (Molyneux, 2004)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของ diphenylpicrylhdrazyl: DPPH ในลักษณะที่ไม่มีอนุมูลอิสระ (Molyneux, 2004)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในสมการที่ 1 ส่งผลทำให้เกิดการเชื่อมโยงถึงปฏิกิริยาที่จะมาแทนที่ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากไขมันหรือเกิดจากไขมันชนิดไม่อิ่มตัว โมเลกุลจาก DPPH (Z•) จะสามารถทำให้อนุมูลอิสระเปลี่ยนรูปโดยมีสารตั้งต้นคือ AH ในการวัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สามารถเป็นข้อมูลในการคำนวณค่า IC_{50} (inhibition

concentration DPPH 50%) หมายถึงปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ลดลงร้อยละ 50 ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ (Molyneux, 2004) IC_{50} ถือว่าเป็นค่าที่สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญ หากมีค่า IC_{50} ต่ำบอกถึงสารสำคัญนั้นมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนูมูลอิสระสูง ใช้สารสำคัญนั้นเพียงปริมาณเล็กน้อยก็สามารถลดความเข้มข้นของ DPPH ได้ถึงร้อยละ 50 (Kosar et al., 2007) มีการศึกษาของ Jayaprakasha et al. (2007) เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านการกลายพันธุ์ในสารสกัดจาก Cinnamomum โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่าในสารสกัดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ส่งผลทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกัน ซึ่งวัดจากปริมาณ β-carotene linoleate และ 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH)

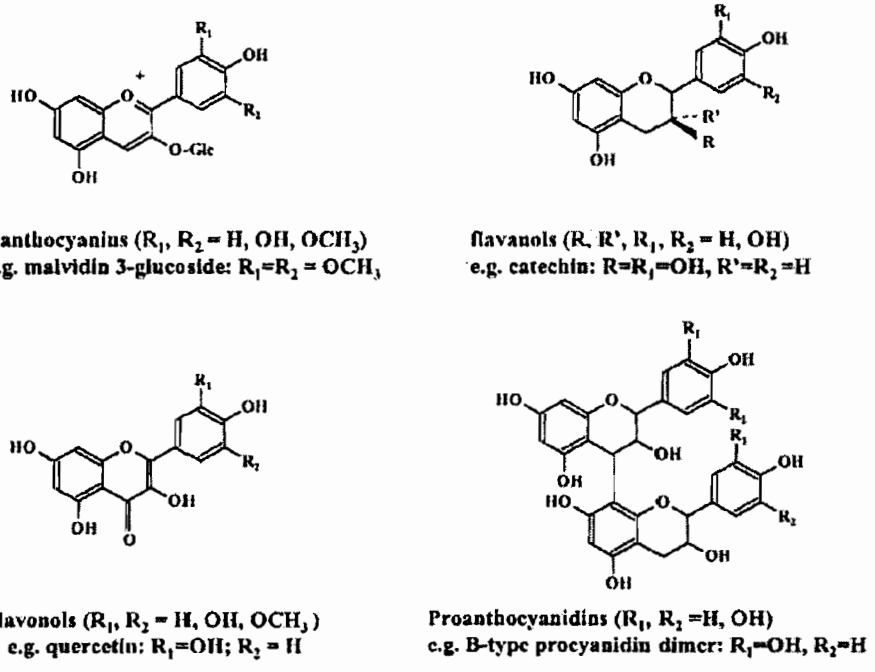
2.2.2 สารประกอบฟีนอลิก

เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในธรรมชาติ ซึ่งมีการศึกษาอย่างกว้างขวางว่ามีประโยชน์ต่อร่างกาย โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปรวมกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลคือ กลูโคส (glucose) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) อะมีน (amine) และไขมันอีกด้วย (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป ในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอลรวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551)

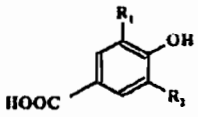
สารประกอบฟีนอลิกประกอบไปด้วยกลุ่มฟลาโวนอยด์และไม่ใช่กลุ่มฟลาโวนอยด์ (nonflavonoids) ในภาพที่ 2.6 แสดงกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ประกอบไปด้วยวงแหวนของฟีนอลิก (phenolic ring) 2 วงแหวนและมีองค์ประกอบของหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่า 1 หมู่ เช่น ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ส่วนภาพที่ 2.7 แสดงกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดเบนโซอิก และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic

acid) (Cheynier, 2005) โดยมากเป็นสารที่มีขั้ว ละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเลกตรอนไป แต่ในโครงสร้างของฟีนอลมีอิเลกตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเลกตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

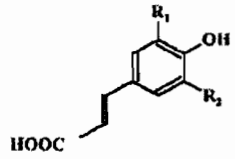
มีการศึกษาของ Majhenic et al. (2007) เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ด guarana (*Paullinia cupana*)โดยทำการศึกษาผลของตัวทำละลายและอุณหภูมิในการสกัด พบว่า ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำและสกัดที่อุณหภูมิห้องจะให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงมากกว่าการสกัดด้วยเมทานอลที่ 62 องศาเซลเซียส และยังมีค่าสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลที่ 75 องศาเซลเซียส



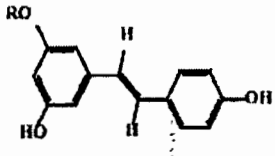
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Cheynier, 2005)



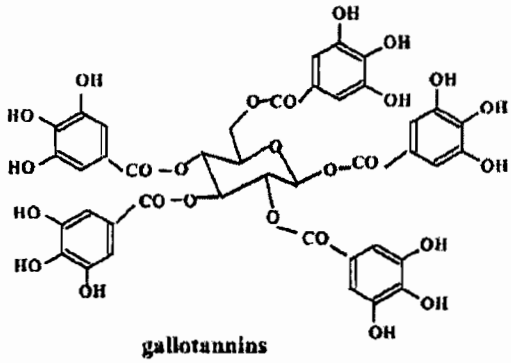
benzoic acids (R_1,R_2=H,OH,OCH_3)
e.g. gallic acid: R_1=R_2=OH



hydroxycinnamic acids (R_1,R_2=H,OH,OCH_3)
e.g. caffeic acid: R_1=OH, R_2=H



stilbenes
e.g. resveratrol: R=H

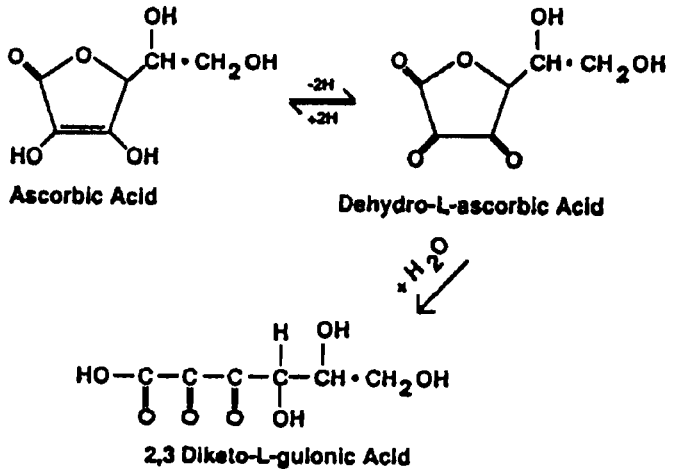


gallotannins
(e.g. pentagalloylglucose)

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (Cheynier, 2005)

2.2.3 วิตามินซีหรือ L-ascorbic acid

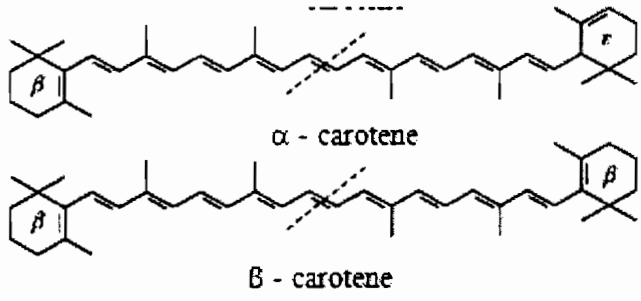
เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในผักผลไม้ทั่วไป ถือได้ว่าวิตามินซีเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อร่างกาย แต่วิตามินซีเกิดการสูญเสียได้ง่ายจากความร้อนในระหว่างการทำสุก วิตามินซีเป็นสารประกอบที่มีขั้วสูงจึงทำให้มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี วิตามินซีสามารถเปลี่ยนแปลงกลับไปมาเป็น dehydro-L-ascorbic acid โดยการออกซิไดซ์ (Kastner, 2003) แสดงโครงสร้างดังภาพที่ 2.8 กลไกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซีคือ กำจัดสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาหรือ reactive oxygen species (ROS) เช่นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) (สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง, 2011) และ superoxide radical ($O_2^{\cdot}$) โดย superoxide dismutase จะ catalyze $O_2^{\cdot}$ ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาให้เปลี่ยนแปลงเป็น H_2O_2 และ O_2 หลังจากนั้น H_2O_2 จะถูกกำจัดโดยการเข้าจับกับวิตามินซี แล้วถูกเปลี่ยนเป็นน้ำ ส่วนวิตามินซีจะถูกเปลี่ยนไปเป็น dehydro-L-ascorbic acid และจะถูก hydrolyzed เปลี่ยนแปลงไปเป็น diketo-L-gulonic acid (Ushimaru et al., 2006)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างของ L-ascorbic acid, dehydro-L-ascorbic acid และ diketogulonic acid (Bode et al., 1990)

2.2.4 แคโรทีนอยด์

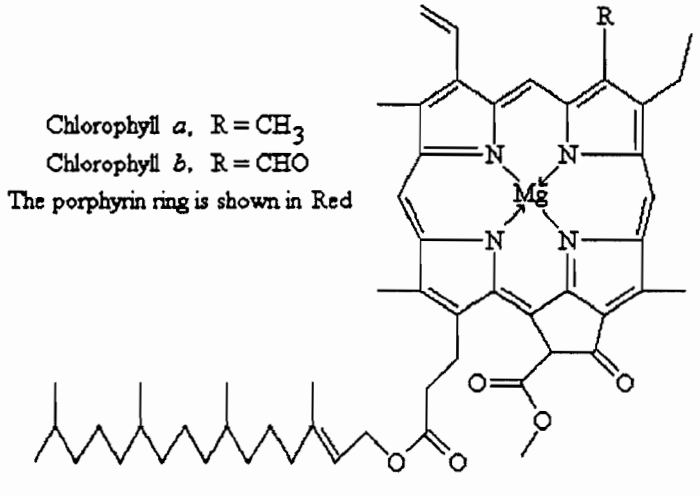
เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืช และพบมากในผักและผลไม้สุก โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า tetraterpene skeleton ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพที่ 2.9 แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุลคือ แคโรทีน (carotene) ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือ แซนโทฟิล (xanthophyll) โดยแคโรทีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน อัลฟ่า-แคโรทีน แกมม่า-แคโรทีน ไลโคปีน เป็นต้น โดยเบต้า-แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ การเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอ โดยการแตกพันธะคู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุล โดยเอนไซม์ carotene deoxygenase เมื่อเบต้า-แคโรทีนสามารถดักจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุลแล้ว โมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะอยู่ในลักษณะที่มีความเสถียร ส่วนออกโซแคโรทีนอยด์ หรือ แซนโทฟิล เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551)



ภาพที่ 2. 9 โครงสร้างทางเคมีของอัลฟ่า-แคโรทีนและเบต้า-แคโรทีน (Kwiatkowski, 2010)

2.2.5 คลอโรฟิลล์

เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นกลุ่มของรงควัตถุที่มีสีเขียวที่พบในพืชทั่วไป มีหน้าที่จับพลังงานแสง (primary light-accepting pigments) เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงซึ่งเกิดขึ้นในคลอโรพลาสต์ คลอโรฟิลล์แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอ มีสีเขียวแกมน้ำเงิน พบในพืชชั้นสูงทุกชนิดที่สังเคราะห์แสงได้ ส่วนคลอโรฟิลล์บี มีสีเขียวแกมเหลือง พบในพืชชั้นสูงทุกชนิดและสาหร่ายสีเขียว (green algae) คลอโรฟิลล์ซี พบในสาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) และสาหร่ายสีทอง (golden algae) แต่ไม่พบในพืชชั้นสูง และคลอโรฟิลล์ดี พบในสาหร่ายสีแดง (red algae) แต่ไม่พบในพืชชั้นสูง โดยทั่วไปจะพบทั้งคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีอยู่ด้วยกันในพืชชั้นสูง โดยมีสัดส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีประมาณ 2.5-3.5 ต่อ 1 (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551)



ภาพที่ 2.10 โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551)

โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ประกอบด้วยส่วนหัวของ porphyrin ring ซึ่งมี Mg อยู่ตรงกลาง และส่วนหางซึ่งเป็น long chain hydrocarbon เรียกว่า phytol ส่วนคลอโรฟิลล์บีแตกต่างจากคลอโรฟิลล์เอที่ aldehyde group (-CHO) ซึ่งจะแทนที่ methyl group (CH_3) ที่ตำแหน่งที่ 3 เท่านั้น แสดงดังภาพที่ 2.10 คลอโรฟิลล์บีมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำจึงไม่ละลายในน้ำ คลอโรฟิลล์เป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ คลอโรฟิลล์เป็นสารสีเขียวที่พบในพืชทั่วไป ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่พบในสาหร่ายโดยทั่วไปปกติมีประมาณร้อยละ 0.5-1.5 ของน้ำหนักแห้ง และสามารถเพิ่มสูงได้ถึงร้อยละ 6 ในสาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในที่มีแสงอ่อนๆ คลอโรฟิลล์มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง จากสูตรโมเลกุลของคลอโรฟิลล์เอคำนวณได้ว่า คลอโรฟิลล์เอมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณร้อยละ 8.22 ของน้ำหนักโมเลกุล คลอโรฟิลล์ที่นำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารวางขายกันทั่วไปในตอนนี้ความจริงก็เป็นสีผสมอาหารชนิดหนึ่งที่ให้สีเขียวนั่นเอง มีชื่อว่า โซเดียมคอปเปอร์คลอโรฟิลลิน (sodium copper chlorophyllin) เป็นการดัดแปลงโครงสร้างคลอโรฟิลล์ตามธรรมชาติ ทำให้ได้สารคลอโรฟิลล์ที่ยังคงมีสีเขียวอยู่ แต่มีความคงตัวและสามารถละลายน้ำได้ดี จึงนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารสำหรับผสมในเครื่องดื่ม ซึ่งองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (US FDA) รับรองความปลอดภัยเฉพาะคลอโรฟิลล์ชนิดที่ละลายน้ำเท่านั้น (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551) อย่างไรก็ตามพบว่าในใบย่านางมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูง จึงเป็นไปได้ว่าในสารสกัดใบย่านางก็มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงเช่นกัน

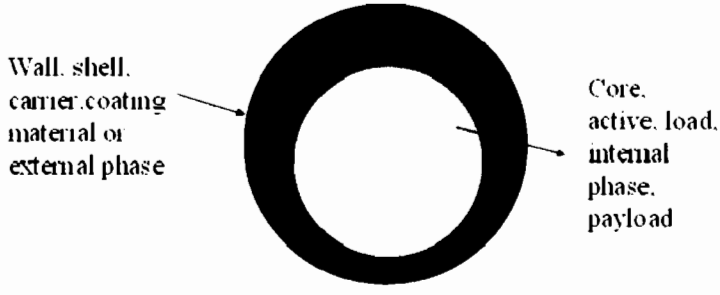
คลอโรฟิลลินเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่มีประสิทธิภาพดีพอๆกับเบต้า-แคโรทีน วิตามินซี และวิตามินอี คลอโรฟิลลินมีฤทธิ์ต้านทานสารก่อกลายพันธุ์ แต่กลไกต้านทานการกลายพันธุ์ของคลอโรฟิลลินยังไม่กระจ่างชัด อาจเป็นผลมาจากคลอโรฟิลลินเป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับ active group ของสารก่อกลายพันธุ์หรือป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสารก่อกลายพันธุ์เพื่อไปอยู่ในรูปที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยทางอ้อม

สำหรับแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ ซึ่งจะพบมากในพวกพืชที่มีสีเขียว เช่น ในบร็อคคอลี่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 42 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างสด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมี 52 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างสด เป็นต้น อุณหภูมิและพีเอชจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ (Ferruzzi et al., 2007) สารจำพวกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะมีการเปลี่ยนแปลงและมีการสูญเสียง่ายจากอุณหภูมิและสภาวะการเก็บรักษาทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้นลง จึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการป้องกันหรือปกป้องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้ไว้ (บรรจง กิติรัตน์ตระการ, 2002) นอกจากนี้ สารกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระที่ประกอบไปด้วยสารกลุ่มฟีนอลิกจะมีความไวต่อการดูดซับออกซิเจนและอนุมูลอิสระได้ดี จึงทำให้

เกิดการสูญเสียสภาพได้ง่าย จึงต้องมีการเก็บรักษาสารกลุ่มนี้ไว้ในรูปแบบต่างๆ (Javanmardi et al., 2003)

2.3. กระบวนการเอนแคปซูล (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

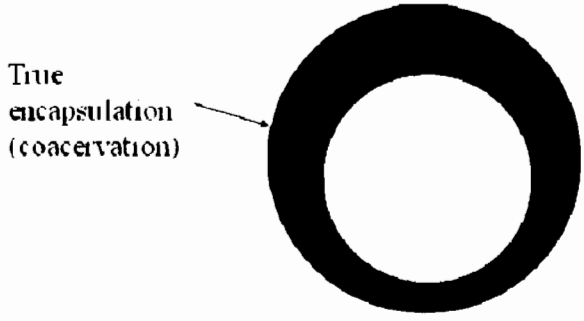
กระบวนการเอนแคปซูเลชันเป็นกระบวนการที่สารหรือส่วนผสมของสารถูกเคลือบด้วยสารชนิดอื่น สารที่ถูกเคลือบหรือถูกยึดจับไว้ส่วนใหญ่จะเป็นของเหลว แต่บางครั้งอาจเป็นอนุภาคของแข็งหรือก๊าซซึ่งจะเรียกชื่อแตกต่างกันไปเช่น core material หรือ internal phase สารที่นำมาเคลือบจะเรียกว่า wall material, carrier, membrane, shell หรือ coating โดยมีลักษณะโครงสร้างทั่วไปดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของแคปซูล (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

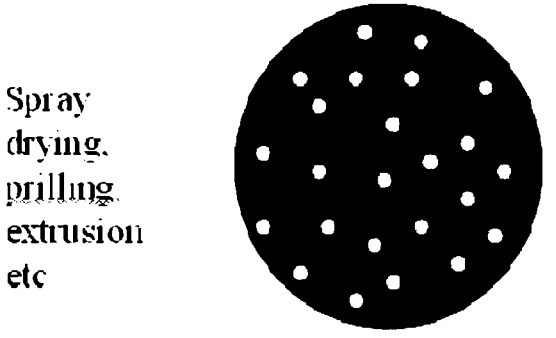
2.3.1 ชนิดของแคปซูลที่ผลิตโดยใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน

2.3.1.1 Single core (True encapsulation) เป็นรูปแบบของแคปซูลที่ได้จากการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิค coacervation โดยมีลักษณะโครงสร้างทั่วไปดังภาพที่ 2.12



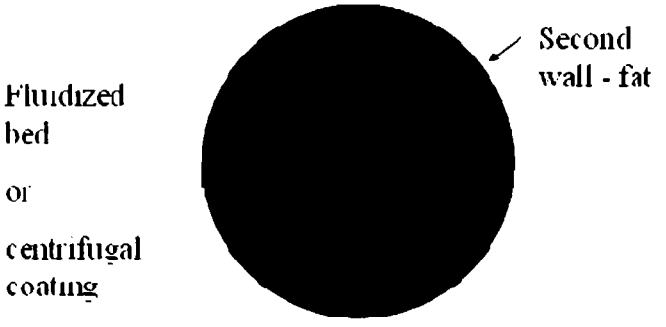
ภาพที่ 2.12 แคปซูลแบบ single core (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

2.3.1.2 Multi-core หรือ matrix encapsulation เป็นรูปแบบของแคปซูลของสารให้กลิ่นรสส่วนใหญ่ที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย สเปรย์ชิลลิง สเปรย์คูลลิง เอ็กซ์ทรูชันในการเอนแคปซูเลท โดยมีลักษณะโครงสร้างทั่วไปดังภาพที่ 2.13



ภาพที่ 2.13 แคปซูลแบบ multi-core หรือ matrix encapsulation (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

2.3.1.3 Multi-wall หรือ control release เป็นรูปแบบของแคปซูลของสารให้กลิ่นรสที่มีการเคลือบผิวครั้งที่สองโดยใช้ เทคนิค fluidized bed หรือ centrifugal coating ทำให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารให้กลิ่นรสในสภาวะที่ต้องการได้ โดยมีลักษณะโครงสร้างทั่วไปดังภาพที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 แคปซูลแบบ matrix encapsulation ที่มีการเคลือบผิว 2 ชั้น (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

การเอนแคปซูเลทสารให้กลิ่นรสสามารถปกป้องสารให้กลิ่นรสที่อาจทำปฏิกิริยากับส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร ลดการเกิดกลิ่นแปลกปลอมที่เกิดจากสารให้กลิ่นรสทำปฏิกิริยา

กัน ปกป้องสารให้กลิ่นรสจากแสงและ/หรือปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยืดอายุการเก็บ รักษาสารให้กลิ่นรส หรือควบคุมการปลดปล่อยสารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.3.2 เทคนิคที่นิยมใช้ในการเอนแคปซูเลชัน (encapsulation techniques)

2.3.2.1 การเอนแคปซูเลทโดยใช้วิธีทางเคมีด้วยวิธี coacervation การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคนี้ใช้ปรากฏการณ์การเกิดคอลลอยด์ซึ่งประกอบไปด้วย เฟส 3 เฟสซึ่งไม่ละลายซึ่งกันและกัน ได้แก่ เฟสต่อเนื่อง (continuous phase) เฟสของสารที่จะนำมาเอนแคปซูเลทและเฟสของสารเคลือบ การทำให้เกิดการเคลือบผิวในกรณีนี้จะเกี่ยวข้องกับการปรับสภาพของคอลลอยด์ที่ชอบน้ำ 2 ชนิด ซึ่งมีประจุต่างกันให้อยู่ในสภาวะที่ประจุเป็นกลางและเคลือบอยู่บนผิวของสารแกนกลาง ซึ่งมีขั้นตอนการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิค coacervation ประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอนคือ การเกิดอนุภาคหรือหยดของเหลวที่มีขนาดเล็ก หลังจากนั้นจะมีการเกิด coacervative wall และสุดท้ายจะเป็นการแยกแคปซูลที่ได้ออกจากสารละลาย

การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคนี้จะต้องทำการควบคุมการผสมเพื่อทำให้สารเคลือบเคลือบบนผิวของสารแกนกลางอย่างสม่ำเสมอ สารเคลือบที่ใช้ได้แก่ เจลาติน การเคลือบผิวรอบๆสารแกนกลางเกิดจากการดูดซับส่วนที่ชอบน้ำที่บริเวณผิวของสารแกนกลาง การเติม electrolyte เข้าไปในระบบจะทำให้เกิดการตกตะกอนของคอลลอยด์ โดย electrolyte จะไปทำให้ประจุเป็นกลางซึ่งจะช่วยให้เกิดการเคลือบที่บริเวณผิวของสารแกนกลาง จากนั้นทำให้แคปซูลที่ได้อยู่ในรูป solid microcapsule โดย desolvation หรือ thermal cross-linking

2.3.2.2 การเอนแคปซูเลทโดยใช้เครื่องมือ (Mechanical processes) โดยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย การอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นเทคนิคการเอนแคปซูเลทที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการผลิตสารให้กลิ่นรส เนื่องจากเครื่องมือหาได้ง่าย และต้นทุนการผลิตโดยวิธีการนี้จะต่ำกว่าวิธีอื่น ขั้นตอนการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยประกอบไปด้วย การนำตัวกลางที่ใช้ในการเคลือบ เช่น มอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin) แป้งดัดแปร (modified starch) หรือ กัม (gum) มาละลายน้ำ จากนั้นนำสารให้กลิ่นรสที่ต้องการนำมาเอนแคปซูเลทมาผสมกับสารละลายของตัวกลางที่ใช้ในการเคลือบ โดยทั่วไปอัตราส่วนของสารเคลือบและสารแกนกลางจะอยู่ในช่วง 4 ต่อ 1 นำส่วนผสมที่ได้ไปผ่านกระบวนการโฮโมจิไนซ์ (homogenize) เพื่อให้เกิดหยดของสารให้กลิ่นรส ซึ่งการใช้การอบแห้งแบบพ่นฝอยจะมีข้อดีคือ ต้นทุนการผลิตต่ำ เครื่องมือที่ใช้สามารถหาได้ง่าย สามารถปกป้องสารแกนกลางได้เป็นอย่างดี และสามารถเลือกใช้ตัวกลางในการเคลือบได้หลายชนิด แต่การใช้การอบแห้งแบบพ่นฝอยก็ยังมีข้อด้อยอยู่ เช่นอาจเกิดการสูญเสียสารให้กลิ่นรสที่มีจุดเดือดต่ำระหว่างกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย หรืออาจมีสารแกนกลางติดที่ผิวของแคปซูลซึ่งอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ที่ได้

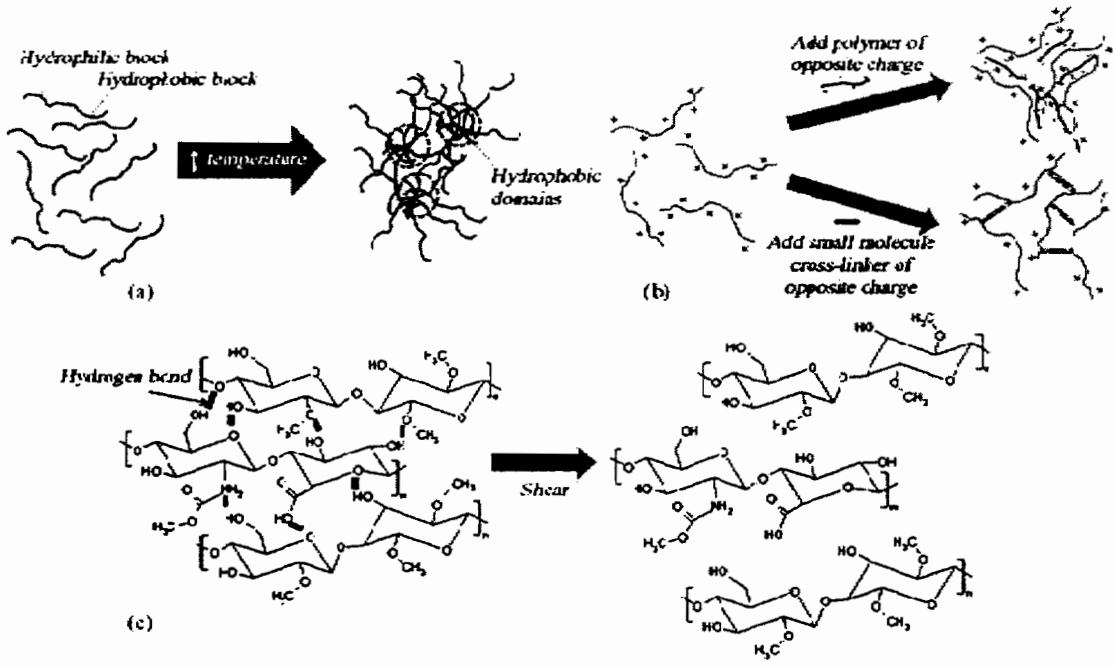
การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงที่ละเอียดมาก โดยทั่วไปขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ในช่วง 10-100 ไมครอน ซึ่งอาจจะต้องนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปผ่านกระบวนการ agglomeration โดยใช้ fluidized bed process เพื่อทำให้อนุภาคที่ผ่านการเอนแคปซูเลทสามารถละลายได้ทันที หรือละลายได้ง่ายขึ้นเมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่อยู่ในรูปของเหลว (เบญจา ชุตินทราศรี, 2553)

2.3.3 เทคนิคกระบวนการเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจล

คือโครงสร้างร่างแหของโพลิเมอร์ที่สามารถดูดซับน้ำไว้ได้ ในขณะที่ส่วนที่เหลือจากการดูดซับน้ำจะไม่ละลายน้ำ เนื่องจากการเชื่อมต่อกันของสายโพลิเมอร์โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือทางกายภาพ (Lee et al., 2011) การเชื่อมต่อกันของโพลิเมอร์จะทำให้เกิดโครงสร้างของไฮโดรเจลที่ไม่ละลายน้ำ แต่ยังคงเกิดการพองตัวและยังคงเป็นส่วนหนึ่งในสารละลายได้ ปริมาณน้ำที่อยู่ในไฮโดรเจลมีประมาณร้อยละ 20 แต่จะสามารถเพิ่มมากขึ้นถึงร้อยละ 99 ของน้ำหนัก ซึ่งการเชื่อมต่อกันของโพลิเมอร์เกิดขึ้นได้ทั้งทางเคมีและทางกายภาพ (Deligkaris et al., 2010)

การเชื่อมต่อของโพลิเมอร์ทางกายภาพ (Physical cross linking) จะสามารถเกิดขึ้นได้จากพันธะที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนท์ (non-covalent) โดยส่วนที่เกิดการเชื่อมกัน (junction zones) จะเกิดขึ้นเมื่อสายของโพลิเมอร์ขยายตัวออกและเชื่อมต่อกันอย่างไม่เป็นระเบียบ เป็นวิธีหนึ่งในการสร้างการเชื่อมต่อกันของโพลิเมอร์ ในส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะจับคู่กับส่วนที่ชอบน้ำทำให้โพลิเมอร์มีทั้งด้านที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (amphiphile) เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลทำให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำเกิดการรวมตัวกันและขยายยาวขึ้น โพลิเมอร์มีความเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อโครงสร้างทางเคมีของโพลิเมอร์แสดงดังภาพที่ 2.15(a) นอกจากนี้โพลิเมอร์ยังสามารถเชื่อมต่อกันด้วยการจับกันของประจุแสดงดังภาพที่ 2.15(b) หรือโดยการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโพลิเมอร์แสดงดังภาพที่ 2.15(c) (Deligkaris et al., 2010)

นอกจากนี้การเชื่อมต่อของสายโพลิเมอร์ทางเคมีจะเกิดขึ้นโดยพันธะโควาเลนท์ (covalent) ซึ่งการเชื่อมต่อของพันธะโควาเลนท์จะมีความแข็งแรงมากกว่าพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนท์ พันธะโควาเลนท์ที่เชื่อมต่อกันจะมีความคงตัวสูง การเชื่อมต่อกันของสายโพลิเมอร์ด้วยวิธีทางเคมีต้องใช้พลังงานสูงและอาจต้องใช้เอนไซม์ร่วมด้วย (Deligkaris et al., 2010)



ภาพที่ 2.15 การเชื่อมต่อของโพลิเมอร์

(a) คือ การเชื่อมต่อกันของสายโพลิเมอร์เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

(b) คือ การเชื่อมต่อกันของสายโพลิเมอร์โดยการจับกันของประจุ

(c) คือ การเชื่อมต่อกันของสายโพลิเมอร์โดยการจับกันของพันธะไฮโดรเจน

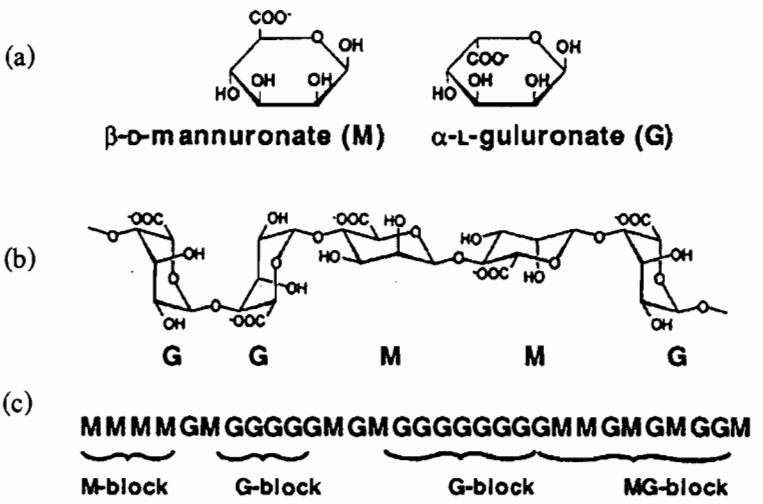
(Deligkaris et al., 2010)

กระบวนการไฮโดรเจลได้รับความนิยมอย่างมากเนื่องจากศักยภาพในการดูดซับสารสำคัญที่เป็นของเหลว สารที่นิยมนำมาใช้ในกระบวนการไฮโดรเจลคือ แคลเซียมแอลจิเนต ซึ่งมีคุณสมบัติคือ ไม่เป็นพิษ ง่ายต่อการผลิต และทำให้คุณสมบัติทางเคมีมีความคงตัว จึงเป็นกระบวนการที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไป (Chan et al., 2011)

2.3.4 แอลจิเนต

เป็นโพลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ โดยผลิตจากสาหร่ายสีน้ำตาล (*Phaeophyceae*) มีโครงสร้างเป็นสายตรงประกอบไปด้วยสาย 1,4-linked β-D-mannuronic acid (M) และ α-L-guluronic acid (G) แสงดังภาพที่ 2.16(a) และ 2.16(b) เมื่อแอลจิเนตถูกไฮโดรไลซ์โครงสร้างจะขยายออกเป็นสามมิติและกลายเป็น homopolymeric ที่ประกอบไปด้วย M และ G โดยจะสลับที่กันไปเรื่อยๆ เรียกว่า MG-block แสดงดังภาพที่ 2.16(c) (Steinbuchel and Rhee, 2005) คุณสมบัติของแอลจิเนต เช่น ไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภค สามารถเกิดเจลได้ง่าย และมีความคงตัวทางเคมี ทำให้แอลจิเนตได้รับความนิยมในการนำมาใช้ผลิตเอนแคปซูลทางการแพทย์ ใช้ผลิตยา รวมทั้งนำมาใช้

ในเชิงอุตสาหกรรมอาหาร แอลจิเนตสามารถเป็นเจลได้เมื่อจับกับไอออน เช่น Ca^{2+}, Ba^{2+}, Fe^{2+} และ Sr^{2+} เป็นต้น ซึ่งจะเกิดการเชื่อมต่อกันของพันธะไอออนิกระหว่าง G-block ภายในสายของโพลิเมอร์ ทำให้เกิดโครงสร้าง 3 มิติของเจล จะเรียกส่วนที่เชื่อมต่อกันว่ากล่องไข่ (egg boxes) แสดงดังภาพที่ 2.17 ไอออนมีหน้าที่ในการทำให้โซ่ของแอลจิเนตเชื่อมต่อกัน ส่งผลทำให้เกิดโครงสร้างเจลของแอลจิเนตที่มีความคงตัว โดยการเชื่อมต่อกันของโซ่แอลจิเนตที่มีการโยงสลับกันมากขึ้นจะทำให้เจลของแอลจิเนตสามารถดูดซับน้ำได้มากขึ้น กระบวนการเกิดเจลของแอลจิเนตจะมีความคงตัวแม้จะผ่านการดึงน้ำออก (Bartolo et al., 2003)



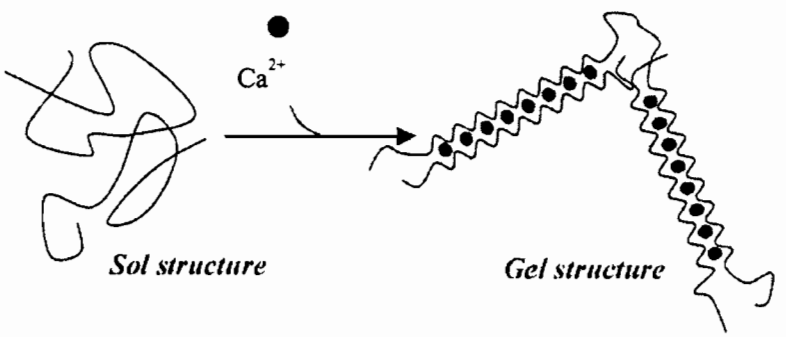
ภาพที่ 2.16 โครงสร้างของแอลจิเนต

(a) คือ โมเลกุลเดี่ยวของแอลจิเนต

(b) คือ การเชื่อมต่อกันของโครงสร้างแอลจิเนต

(c) คือ การกระจายของ M-block และ G-block

(Steinbuchel and Rhee, 2005)



ภาพที่ 2.17 การเกิดเจลของแอลจิเนตโดยแอลจิเนตจับกับแคลเซียมไอออน (Bartolo et al., 2003)

กระบวนการเอนแคปซูลเป็นกระบวนการที่สารหรือส่วนผสมของสารถูกเคลือบด้วยสารชนิดอื่น สารที่ถูกเคลือบส่วนใหญ่จะเป็นของเหลว ส่วนสารที่นำมาเคลือบ ซึ่งกระบวนการเอนแคปซูลสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของสารที่เป็นสารที่ต้องการกักเก็บได้ (Rai et al., 2009) มีการศึกษาของ Chan et al. (2010) เกี่ยวกับการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดจากสมุนไพร โดยใช้วิธีเอนแคปซูลทางเคมีแบบไฮโดรเจล โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับชนิดของสารเคลือบ ความเข้มข้นของสารเคลือบ ความเข้มข้นของตัวอย่างสารสกัด ขนาดของเม็ดบีดส์ และปริมาณน้ำในเม็ดบีดส์ ที่มีผลต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพบว่าปัจจัยต่างๆ มีผลต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หลังจากผ่านการทำเอนแคปซูลของสารสกัดพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะเห็นว่าการทำเอนแคปซูลสามารถป้องกันหรือปกป้องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไว้ได้ แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ยังไม่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาของเอนแคปซูล เช่น อุณหภูมิและ/หรือระยะเวลาในการเก็บรักษาว่ามีผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างไร Hunt et al. (2010) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนแคปซูลใน Fibroblasts โดยใช้วิธีไฮโดรเจล และใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบพบว่า เมื่อเวลาในการเก็บรักษาผ่านไป 7 วัน สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไม่มีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากกระบวนการเอนแคปซูลที่ใช้ไม่ได้ใช้ความร้อนจึงทำให้สามารถป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไว้ได้ นอกจากนั้นได้มีการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลต่อความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากพืชชนิด *Ilex paraguariensis* โดยใช้สารเคลือบ 2 ชนิด คือ โซเดียมแอลจิเนตและโซเดียมแอลจิเนตร่วมกับไคโตซานพบว่า เอนแคปซูลที่ใช้โซเดียมแอลจิเนตและโซเดียมแอลจิเนตร่วมกับไคโตซาน สามารถป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำพวกสารต้านอนุมูลอิสระไว้ได้ โดยวัดในรูปของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ แต่การใช้โซเดียมแอลจิเนตร่วมกับไคโตซานจะทำให้เกิดชั้นของฟิล์มที่มากกว่าการใช้โซเดียมแอลจิเนตเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการรวมตัวกันของโซเดียมแอลจิเนตกับไคโตซานทำให้เกิดสารประกอบระหว่างแคลเซียมแอลจิเนตและไคโตซาน (chitosan-alginate complex) ซึ่งมีผลต่อรูปร่าง (shape) และสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัส (texture properties) ของเม็ดบีดส์ ทำให้เม็ดบีดส์ที่ใช้แอลจิเนตร่วมกับไคโตซานมีขนาดใหญ่กว่าตัวควบคุมและมีความแข็งแรงของเจลน้อยกว่าการใช้แอลจิเนตเพียงอย่างเดียว (Deladino et al., 2008) รวมทั้งได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนแคปซูลของรงควัตถุ (pigment) โดยใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบ และศึกษาประสิทธิภาพของไอออนที่จะมาเชื่อมต่อที่มีความแตกต่างกัน (Ca^{2+}, Ba^{2+}) พบว่าขนาดและความคงตัวของเอนแคปซูลมีความแตกต่างกันเมื่อใช้ไอออนต่างกัน คือเมื่อใช้ Ca^{2+} จะทำให้ได้เม็ดบีดส์ที่มีความแข็งแรงกว่าที่ใช้ Ba^{2+} (Wikstrom et al., 2008)

ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นกลุ่มสารสกัดจากพืชผักหรือผลไม้ วิธีที่นิยมในการช่วยป้องกันการสูญเสียสารต่างๆไปคือ การทำเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจล นอกจากนี้แล้วสารที่ใช้เป็นสารเคลือบมักจะใช้แอลจิเนต เนื่องจากเกิดไฮโดรเจลได้ง่ายเมื่อมีแคลเซียมอยู่ในระบบ เช่น การทำเอนแคปซูลสารสกัดจากองุ่น (Grapes) โดยใช้แอลจิเนตร้อยละ 2 สามารถป้องกันการสูญเสียของวิตามินบี 5 ได้ และสามารถรักษาความคงตัวของวิตามินบี 5 เมื่อเวลาผ่านไป 90 วัน ซึ่งสามารถกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ วิตามินบี 5 และสารต้านอนุมูลอิสระได้นานถึง 90 วัน จึงถือเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารต่างๆ (Rai et al., 2009)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัดจากใบย่านาง โดยทำการศึกษาความเหมาะสมของสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบในการผลิตเอนแคปซูลของสารสกัด โดยสารที่ใช้เคลือบคือแอลจิเนตต่อสารที่ต้องการกักเก็บคือสารสกัดจากใบย่านาง ทำการเอนแคปซูลด้วยวิธีทางเคมีแบบไฮโดรเจล โดยใช้แอลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางมาศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้องเย็น (4-10 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน โดยศึกษาลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูล และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมทั้งศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมให้พีเอชเหมือนกับระบบการย่อยภายในร่างกายมนุษย์ที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยติดตามผลภายใน 24 ชั่วโมง และศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยศึกษาผลของพีเอช อุณหภูมิ และเวลาที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1.1 เครื่องอบแห้งแบบลมร้อน ยี่ห้อ BINDER รุ่น FED240-M ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.2 เครื่อง Freeze-dryer ยี่ห้อ Heto Lab Equipment รุ่น FD 8 ประเทศเดนมาร์ก

3.1.1.3 เครื่อง UV- Vis Spectophotometer ยี่ห้อ Libra รุ่น S12 UV/Visible ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.4 เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) ยี่ห้อ รุ่น JEOL JSM 5410-LV ประเทศญี่ปุ่น

3.1.1.5 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ยี่ห้อ Memmert รุ่น GFL 1083 ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.6 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ยี่ห้อ NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC รุ่น INNOVA ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.7 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น PB3002-S/FACT ประเทศญี่ปุ่น ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS2202S ประเทศเยอรมัน และยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP2215 ประเทศเยอรมัน

3.1.1.8 เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Refrigerated centrifuge) ยี่ห้อ Universal รุ่น 32R ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.9 เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) ยี่ห้อ VORTEX-2GENIE รุ่น G56OE ประเทศไทย และ Magnetic bar

3.1.1.10 เครื่องปั่นละเอียด ยี่ห้อ Moulinex La Moulinette ประเทศญี่ปุ่น

3.1.1.11 ชุดกรองสารตัวอย่างสุญญากาศ (vacuum pump)

3.1.1.12 กระดาษกรอง เบอร์ 1 และ เบอร์ 4 ยี่ห้อ Whatman

3.1.1.13 ชุดไตเตรท (บิวเรท และขาตั้ง)

3.1.1.14 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.1.15 ขวดรูปชมพู่ขนาด 50, 250 มิลลิลิตร

3.1.1.16 บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 250, 600 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.1.17 หลอดฉีดยา (Syringe)

3.1.1.18 ไมโครปิเปต ยี่ห้อ GILSON ขนาด 20 ไมโครลิตร, 200 ไมโครลิตร, 1000 ไมโครลิตร และ 10 มิลลิลิตร ประเทศเยอรมัน

3.1.1.19 Appendrop

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 Calcium Chroride ($CaCl_2$) Analytical Grade ยี่ห้อ Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.2.2 Sodium Alginate จาก International Specialty Products ; ISP ประเทศไทย

3.1.2.3 Gacial Acetic acid Analytical Grade ความเข้มข้นร้อยละ 99.7 ยี่ห้อ J.T.Baker ประเทศไทย

3.1.2.4 2,6 dichlorophenol indophenols Analytical Grade ยี่ห้อ Fluka Analytical ประเทศเยอรมัน

3.1.2.5 2,2-diphynyl-1-picrylhydrazy Analytical Grade ยี่ห้อ SIGMA ALDRICH ประเทศเยอรมัน

3.1.2.6 Trichloroacetic acid Analytical Grade ยี่ห้อ BDH PROLABO ประเทศฝรั่งเศส

3.1.2.7 Ascorbic acid Analytical Grade ยี่ห้อ Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.2.8 Folin-Ciocacateu phenol reagent Analytical Grade ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ยี่ห้อ SIGMA ALDRICH ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.1.2.9 Gallic acid Analytical Grade ยี่ห้อ SIGMA ALDRICH ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.1.2.10 Sodium carbonate anhydrous (Na_2Co_3) Analytical Grade ยี่ห้อ Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศนิวซีแลนด์

3.1.2.11 Methanol Analytical Grade ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ยี่ห้อ BDH PROLABO ประเทศฝรั่งเศส

3.1.2.12 Acetone Analytical Grade ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ยี่ห้อ BDH PROLABO ประเทศฝรั่งเศส

3.1.2.13 Ethanol Analytical Grade ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ยี่ห้อ J.T.Baker ประเทศเนเธอร์แลนด์

3.2 วัตถุดิบและวิธีการ

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างใบย่านางอบแห้ง ตามวิธีของ Singthong et al. (2009) นำใบย่านางจากเกษตรกรท้องถิ่นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดอุบลราชธานี) โดยมีอายุ 1 ปี ล้างทำความสะอาด คัดแยกใบเน่าเสียออก นำไปลดความชื้นโดยการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นบดให้ละเอียด โดยมีความชื้นที่ประมาณร้อยละ 10.42 ของน้ำหนักแห้ง ทำการบรรจุในถุงสุญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องก่อนนำมาใช้งาน

3.2.2 การเตรียมสารสกัดจากใบย่านาง ดัดแปลงจากวิธีของ Oonsivilai et al. (2007) นำใบย่านางอบแห้ง 100 มิลลิกรัม สกัดด้วยน้ำเดือด 12 มิลลิลิตร หลังจากนั้นแช่ย่าโดยควบคุมความร้อนที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 xg นาน 3 นาที นำส่วนใสมากรองด้วยวิธีสุญญากาศ (Vacuum) นำส่วนที่เป็นตะกอนไปสกัดด้วยวิธีเดิมอีก 2 ครั้ง โดยทำการสกัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จะได้สารสกัดประมาณ 30 มิลลิลิตร

หลังจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร (จะเป็นตัวแทนของสารละลายที่สกัดได้) นำสารสกัดที่ได้แบ่งใส่ในหลอด appendrop ประมาณ 2 มิลลิลิตร และนำไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิด (freeze-drying) เก็บสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งในโถดูดความชื้นเพื่อรอนำมาทำการผลิตเอนแคปซูลต่อไป

3.2.3 การผลิตเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจล ดัดแปลงจากวิธีของ Chan et al. (2010) นำสารสกัดใบย่านางที่ได้จากข้อ 3.2.2 มาศึกษาผลของสารที่ใช้เคลือบคือแอลจิเนตต่อสารที่ต้องการกักเก็บคือสารสกัดจากใบย่านาง โดยใช้อัตราส่วนของสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบดังตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาผลิตเอนแคปซูลด้วยวิธีทางเคมีแบบแคลเซียมแอลจิเนตไฮโดรเจล โดยใช้แอลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 3 ของน้ำหนักต่อปริมาตรใช้เข็มฉีดยาฉีดตัวอย่างลงไปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยฉีดตัวอย่างอัตราเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อ 10 วินาที แช่เม็ดบีดส์ไว้ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองเม็ดบีดส์ด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศและนำไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิดบรรจุและเก็บรักษาตัวอย่างที่ทำการเอนแคปซูลแล้วไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

ระหว่างกระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจะทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล ตามภาคผนวก ก1 และหลังจากได้เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางแล้วจะทำการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในแต่ละตัวอย่าง เพื่อให้ทราบถึงคุณภาพของกระบวนการเอนแคปซูลในการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากใบย่านาง โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทำการวิเคราะห์คือปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-caicalteu method (Oonsivilai et al., 2007) ตามภาคผนวก ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH assay (Brand-Williams et al., 1995) ตามภาคผนวก ข2 ค่า IC_{50} (Kosar et al., 2007) ตามภาคผนวก ข3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Remesh and Devasenapathy, 2006) ตามภาคผนวก ข4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Wongsa et al., 2010 ; Oliveira et al., 2010) ตามภาคผนวก ข5 และปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1995) ตามภาคผนวก ข6 นอกจากนี้จะศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) (Ko et al., 2008 ; Saenz et al., 2009) ตามภาคผนวก ก2

3.2.4 ศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ดัดแปลงจากวิธีของ Nori et al. (2011) นำเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางที่เหมาะสมจากข้อที่ 3.2.3 มาทำการศึกษาความคงตัวโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็น (4-10 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ทำการศึกษาคุณภาพของเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง ทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 3 เดือน โดยสาร

ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-caicalteu method (Oonsivilai et al., 2007) ตามภาคผนวก ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH assay (Brand-Williams et al., 1995) ตามภาคผนวก ข2 ค่า IC_{50} (Kosar et al., 2007) ตามภาคผนวก ข3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Remesh and Devasenapathy, 2006) ตามภาคผนวก ข4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Wongsa et al., 2010 ; Oliveira et al., 2010) ตามภาคผนวก ข5 และปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1995) ตามภาคผนวก ข6 นอกจากนี้จะศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) (Ko et al., 2008 ; Saenz et al., 2009) ตามภาคผนวก ก2

3.2.5 ศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ดัดแปลงจากวิธีของ Yoo et al., (2006) นำเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางมาศึกษาระบบการย่อยของเอนแคปซูลโดยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมให้เหมือนกับพีเอชในระบบการย่อยของร่างกายมนุษย์ โดยใช้ HCl ความเข้มข้น 0.05 M ร่วมกับ NaCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 เพื่อปรับสภาพให้มีพีเอช 1.2 เป็นการจำลองพีเอชในกระเพาะอาหาร (Stimulated Gastric Fluid : SGF) และใช้ Phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 M เพื่อปรับสภาพให้มีพีเอช 7.4 เป็นการจำลองพีเอชในลำไส้เล็ก (Simulated Intestinal Fluid : SIF) แต่จะไม่มีการศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งใช้ตัวอย่างเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง 150 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายที่เตรียมไว้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสพร้อมกับเขย่าตัวอย่างที่ 100 rpm และทำการติดตามผลภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-caicalteu method (Oonsivilai et al., 2007) ตามภาคผนวก ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH assay (Brand-Williams et al., 1995) ตามภาคผนวก ข2 ค่า IC_{50} (Kosar et al., 2007) ตามภาคผนวก ข3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Remesh and Devasenapathy, 2006) ตามภาคผนวก ข4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Wongsa et al., 2010 ; Oliveira et al., 2010) ตามภาคผนวก ข5 และปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1995) ตามภาคผนวก ข6

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) สำหรับการศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม

ลำดับที่	สัญลักษณ์ตัวแปร[1/]			ระดับของตัวแปร[2/]		
	X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1	2:8	1.5	1.5
2	-1	-1	+1	2:8	1.5	2.5
3	-1	+1	-1	2:8	2.5	1.5
4	-1	+1	+1	2:8	2.5	2.5
5	+1	-1	-1	4:6	1.5	1.5
6	+1	-1	+1	4:6	1.5	2.5
7	+1	+1	-1	4:6	2.5	1.5
8	+1	+1	+1	4:6	2.5	2.5
9	0	0	0	3:7	2.0	2.0
10	0	0	0	3:7	2.0	2.0
11	0	0	0	3:7	2.0	2.0
12	0	0	0	3:7	2.0	2.0
13	-2	0	0	1:9	2.0	2.0
14	+2	0	0	5:5	2.0	2.0
15	0	-2	0	3:7	1.0	2.0
16	0	+2	0	3:7	3.0	2.0
17	0	0	-2	3:7	2.0	1.0
18	0	0	+2	3:7	2.0	3.0

[1/] สัญลักษณ์ของตัวแปร : + คือระดับสูง, - คือระดับต่ำ และ 0 คือระดับกลาง

[2/]ระดับของตัวแปร X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

หมายเหตุ : ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้คือร้อยละ 10

3.2.6 ศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหาร

3.2.6.1 ศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูล ดัดแปลงจากวิธีของ Hansson et al. (2001) นำเอนแคปซูลของสารสกัดใบย่านางมาทำการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูลในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม โดยกำหนดค่าพีเอชที่ใช้ในการศึกษาอยู่ที่ระดับ 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับโดยใช้ citric acid 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้พีเอชเริ่มต้นมีค่าเป็น 2 และใช้ NaOH ปรับพีเอชของสารละลาย citric acid ให้มีพีเอช 3, 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับ และใช้ตัวอย่างเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางร้อยละ 0.1 ของน้ำหนักต่อปริมาตร ตรวจสอบค่าพีเอช โดยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) หลังจากนั้นจะทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-caicalteu method (Oonsivilai et al., 2007) ตามภาคผนวก ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH assay (Brand-Williams et al., 1995) ตามภาคผนวก ข2 ค่า IC_{50} (Kosar et al., 2007) ตามภาคผนวก ข3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Remesh and Devasenapathy, 2006) ตามภาคผนวก ข4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Wongsa et al., 2010 ; Oliveira et al., 2010) ตามภาคผนวก ข5 และปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1995) ตามภาคผนวก ข6

3.2.6.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาในการฆ่าเชื้อที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูล ดัดแปลงจากวิธีของ Pernice et al. (2009) นำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมาศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาในการฆ่าเชื้อที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูลในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม โดยกำหนดสภาวะให้คล้ายคลึงกับการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ โดยใช้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที (Low Temperature Long Time: LTLT) และอุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 นาที (High Temperature Short Time: HTST) หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลงที่อุณหภูมิห้อง ทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-caicalteu method (Oonsivilai et al., 2007) ตามภาคผนวก ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH assay (Brand-Williams et al., 1995) ตามภาคผนวก ข2 ค่า IC_{50} (Kosar et al., 2007) ตามภาคผนวก ข3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Remesh and Devasenapathy, 2006) ตามภาคผนวก ข4 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Wongsa et al., 2010 ; Oliveira et al., 2010) ตามภาคผนวก ข5 และปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1995) ตามภาคผนวก ข6

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ปัจจัยที่ใช้ศึกษาคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ (X_1) ความเข้มข้นของแอลจิเนต (X_2) และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ (X_3) โดยปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูล และโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูล จากการศึกษาทำให้ทราบถึงกระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม รวมถึงความสามารถในการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลที่อุณหภูมิแตกต่างกันเป็นระยะเวลา 3 เดือน รวมทั้งทราบถึงความสามารถในการย่อยของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในระบบทางเดินอาหาร โดยทำการศึกษาเฉพาะผลของพีเอชซึ่งจำลองสภาวะพีเอชที่กระเพาะอาหาร (พีเอช 1.2) และพีเอชที่ลำไส้เล็ก (พีเอช 7.4) เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และสุดท้ายได้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่างนางในสภาวะจำลองระบบผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม โดยศึกษาผลของพีเอช อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม โดยใช้พีเอช 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ในการศึกษา รวมทั้งใช้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ซึ่งมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1 ผลการศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม

เทคนิคการผลิตเอนแคปซูลเป็นที่น่าสนใจและเติบโตอย่างรวดเร็ว กระบวนการเอนแคปซูลสามารถช่วยรักษาความคงตัวของสารสำคัญไว้ได้ จึงมีการประยุกต์ใช้กระบวนการนี้ในการผลิตยารักษาโรคและส่วนประกอบของอาหารมากขึ้น (Ma and Feng. 2011) โดยเฉพาะทางด้านอุตสาหกรรมอาหารซึ่งพบว่าความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในอาหารมีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในอาหารเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้น โดยมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระบบอาหาร ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ซึ่งในกระบวนการเอนแคปซูลจะมีการใช้สารเคลือบที่สามารถเก็บรักษาและป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในอาหารไว้ได้ (Pitalua et al., 2010)

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ค่า IC_{50} และปริมาณวิตามินซีของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางแสดงดังตารางที่ 4.1 และตารางที่ 4.2 พบว่าตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนต เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบมากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบจากตัวอย่างที่มีอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบเป็น 2 ต่อ 8 กับตัวอย่างที่มีอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบเป็น 4 ต่อ 6 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอลจิเนตก็ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอลจิเนตร้อยละ 1.5 กับตัวอย่างมีความเข้มข้นของแอลจิเนตร้อยละ 2.5 โดยเมื่อสารที่ต้องการกักเก็บคือปริมาณสารสกัดจากใบย่านางมีอัตราส่วนเพิ่มมากขึ้นย่อมส่งผลให้มีปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อสารที่ใช้เคลือบคือแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้น ส่งผลทำให้แอลจิเนตมีความสามารถในการเกิดเจล และการเกิดโครงสร้างร่างแหสามมิติเพิ่มมากขึ้น (Packer et al., 1999) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของแอลจิเนตส่งผลในทางเดียวกัน โดยที่สารที่ใช้เคลือบเป็นระบบที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันส่วนที่เป็นสารที่ต้องการกักเก็บจากปัจจัยภายนอกที่อาจจะทำให้ส่วนสารที่ต้องการกักเก็บเกิดปฏิกิริยาต่างๆได้ ซึ่งสารที่ใช้เคลือบมีหน้าที่ในการลดการสูญเสียของสารที่ต้องการกักเก็บ และยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยของสารที่ต้องการกักเก็บได้ด้วย (Gharsallaoui et al., 2007) ดังนั้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนตจึงทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 4.1 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ลำดับที่	สัญลักษณ์ตัวแปร[1/]			ประสิทธิภาพ	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด	ฟีนอลิกทั้งหมด
	X_1	X_2	X_3	(g extract/g beads)	(mg/g encapsule)	(mg/g encapsule)	(mg GAE/g encapsule)
1	-1	-1	-1	0.16±0.00$^{m2/}$	0.35±0.00^{i}	12.00±0.00^{m}	672.16±17.00^{gh}
2	-1	-1	+1	0.25±0.00^{j}	0.56±0.02^{g}	13.53±1.23^{l}	721.22±29.44^{ef}
3	-1	+1	-1	0.26±0.00^{ij}	0.63±0.00^{f}	14.62±0.29^{l}	740.85±17.00^{e}
4	-1	+1	+1	0.26±0.00^{i}	0.74±0.03^{e}	17.57±0.66^{k}	809.54±29.44^{d}
5	+1	-1	-1	0.29±0.00^{h}	0.74±0.01^{c}	18.48±0.00^{jk}	681.97±17.00^{fgh}
6	+1	-1	+1	0.30±0.00^{g}	0.80±0.01^{d}	19.38±0.27^{j}	740.85±17.00^{e}
7	+1	+1	-1	0.36±0.00^{f}	0.80±0.01^{d}	21.02±0.29^{i}	829.16±17.00^{cd}
8	+1	+1	+1	0.37±0.00^{e}	0.92±0.01^{c}	27.65±0.28^{d}	868.41±29.44^{bc}
9	0	0	0	0.23±0.00^{k}	0.94±0.01^{bc}	23.77±0.32^{g}	681.97±17.00^{fgh}
10	0	0	0	0.23±0.00^{kl}	1.00±0.02^{a}	25.12±1.34^{f}	691.79±29.44^{fgh}
11	0	0	0	0.23±0.01^{k}	0.95±0.00^{b}	22.26±0.27^{h}	672.17±17.00^{fgh}
12	0	0	0	0.22±0.00^{l}	0.93±0.03^{bc}	25.81±0.62^{ef}	672.16±17.00^{gh}
13	-2	0	0	0.36±0.01^{f}	0.17±0.01^{k}	12.02±0.97^{m}	652.54±17.00^{h}
14	+2	0	0	0.51±0.00^{a}	0.99±0.01^{a}	51.58±0.64^{a}	1035.23±44.97^{a}
15	0	-2	0	0.11±0.00^{n}	0.26±0.01^{j}	26.75±1.00^{de}	711.41±17.00^{efg}
16	0	+2	0	0.46±0.00^{b}	0.44±0.03^{h}	30.25±0.00^{c}	868.41±29.44^{bc}
17	0	0	-2	0.38±0.00d	0.23±0.01j	33.91±0.66^{b}	691.79±29.44^{fgh}
18	0	0	+2	0.45±0.00c	0.24±0.00j	33.60±0.79^{b}	897.85±29.44^{b}

[1/]สัญลักษณ์ของตัวแปร X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

[2/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ต่อ)

ลำดับที่	สัญลักษณ์ตัวแปร[1/]			สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด	IC_{50}	วิตามินซี
	X_1	X_2	X_3	(AEAC mg/g encapsule)	(mg/g encapsule)	(mg/100g encapsule)
1	-1	-1	-1	29.14±0.63[12/]	1.71±0.01[a]	8.96±0.91[fgh]
2	-1	-1	+1	34.24±1.67[k]	1.45±0.01[b]	10.40±1.39[cdefg]
3	-1	+1	-1	35.70±2.28[k]	1.38±0.00[c]	10.46±1.35[defgh]
4	-1	+1	+1	48.82±1.67[i]	1.26±0.01[f]	11.60±1.43[cdef]
5	+1	-1	-1	63.75±1.26[h]	1.19±0.01[g]	10.59±1.31[cdefg]
6	+1	-1	+1	140.98±0.00[c]	0.99±0.01[k]	12.49±2.16[cd]
7	+1	+1	-1	142.81±0.63[c]	0.99±0.01[k]	12.27±2.13[cd]
8	+1	+1	+1	163.21±1.67[b]	0.98±0.01[k]	16.31±1.77[a]
9	0	0	0	41.53±2.89[i]	1.37±0.00[c]	11.71±0.78[cdef]
10	0	0	0	41.53±1.89[j]	1.36±0.01[d]	13.10±1.03[bc]
11	0	0	0	41.53±1.89[i]	1.30±0.01[e]	11.85±0.33[cde]
12	0	0	0	41.86±0.63[j]	1.27±0.00f	11.20±1.39[cdef]
13	-2	0	0	138.07±1.67[d]	0.99±0.00[k]	7.56±0.82[h]
14	+2	0	0	234.97±1.89[a]	0.97±0.00[l]	15.13±1.16[ab]
15	0	-2	0	101.64±2.19[g]	1.09±0.00[h]	8.30±0.72[gh]
16	0	+2	0	105.65±1.26[f]	1.03±0.01[i]	11.35±2.93[cdef]
17	0	0	-2	107.83±2.75[f]	1.01±0.01[j]	9.11±1.58[efgh]
18	0	0	+2	118.40±1.67[e]	1.01±0.01[j]	11.89±0.79[cde]

[1/]สัญลักษณ์ของตัวแปร X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

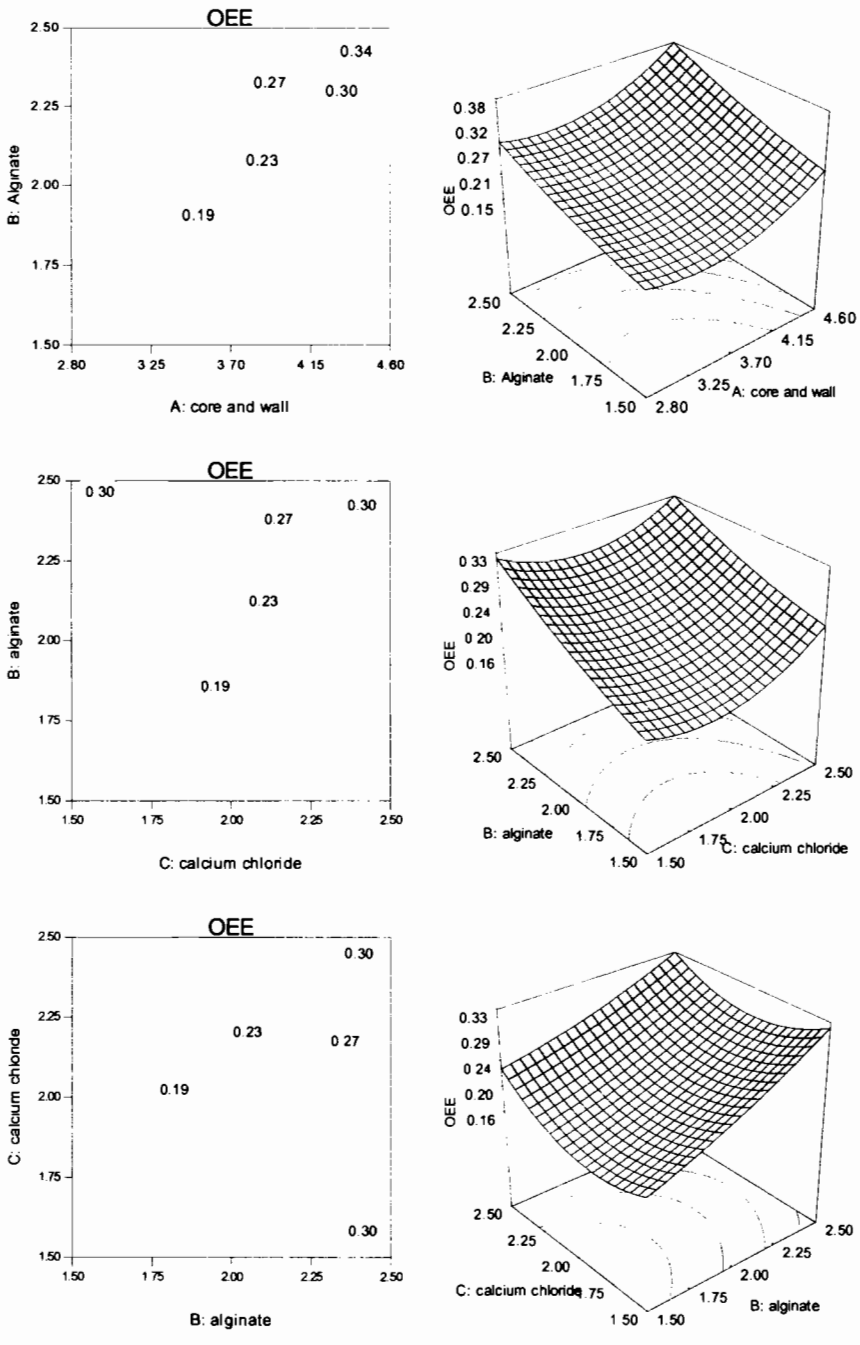
X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

[2/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

จากนั้นนำผลที่ได้จากตารางที่ 4.1 และตารางที่ 4.2 มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Design-Expert 6.1.10 เพื่อศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ คืออัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยจะพิจารณาจากประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง จากการวิเคราะห์ได้ผลดังนี้

4.1.1 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล

จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Design-Expert 6.1.10 จะได้สมการ Regression ของประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลดังสมการที่ 2 ($R^2 = 0.8120$) ผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลแสดงดังภาพที่ 4.1 พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนต เมื่ออัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้นส่งผลทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลเพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจากประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลคำนวณจากน้ำหนักของสารสกัดเริ่มต้นซึ่งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของสารที่ต้องการกักเก็บ และน้ำหนักเอนแคปซูลสุดท้ายซึ่งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนต การเพิ่มขึ้นของแอลจิเนตในระบบทำให้โอกาสในการจับกันของสายโพลิเมอร์มีมากขึ้น ส่งผลให้เกิดโครงสร้างสามมิติของเจลแอลจิเนตมากขึ้น เนื่องจากเกิดการจับกันในส่วนสายตรงของแอลจิเนตแบบกล่องไข่ (Bartolo et al., 2003) จากงานวิจัยของ Dragest et al. (2005) มีการตรวจสอบการจับกันระหว่างแอลจิเนตและไอออนจากแคลเซียม โดยใช้วิธี x-ray diffraction พบว่า แอลจิเนตเกิดเจลมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ ปัจจัยที่สำคัญที่อาจจะทำให้ผลการทดลองเปลี่ยนแปลงไปอาจเนื่องจากความแตกต่างขององค์ประกอบในตัวอย่างที่ใช้ในการผลิตเอนแคปซูล และความแตกต่างของชนิดแอลจิเนตที่ใช้



ภาพที่ 4.1 กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล

ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลเป็นตัวแปรที่สำคัญในการผลิตเอนแคปซูล ซึ่งแสดงถึงความเหมาะสมของสารที่ใช้เคลือบ นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ใช้น้ำมันเป็นสารที่ต้องการกักเก็บ และใช้แอลจิเนตเป็นสารที่ใช้เคลือบพบว่า ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลมีค่ามากขึ้นเมื่อใช้สารที่ต้องการกักเก็บมากขึ้น และเพิ่มความเข้มข้นของแอลจิเนต เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของแอลจิเนตทำให้เกิดการจับกันระหว่างแอลจิเนตกับแคลเซียมไอออนที่ผิวหน้าของเม็ดไขมัน ส่งผลทำให้เกิดการสร้างส่วน Ca-alginate hydrogel wall มากขึ้นด้วย (Chan, 2011) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่า ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนตเช่นกัน และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aranaz et al. (2009) ที่พบว่าประสิทธิภาพในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนที่ใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบมีค่าเพิ่มมากขึ้นถึงร้อยละ 60 เมื่อความเข้มข้นของแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางได้มีการทำแห้งแบบระเหิดเพื่อช่วยลดปริมาณความชื้น ส่งผลให้สารสกัดจากใบย่านางถูกดูดซับไว้ในเม็ดบีดส์ได้มากขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chan et al. (2010) ที่มีการกำจัดความชื้นจาก hydrogel matrix จึงส่งผลทำให้เกิดการดูดซับสารสกัดไว้ในเม็ดบีดส์มากขึ้น

$$OEE = +1.14-0.37(X_1)+0.01(X_2)-0.49(X_3)+0.06(X_1)^2+0.04(X_2)^2+0.17(X_3)^2 \quad (2)$$
$$+8.33x10^{-3}(X_1)(X_2)-0.02(X_1)(X_3)-0.05(X_2)(X_3) \qquad R^2 = 0.8481$$

เมื่อ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

X_3 คือ ความเข้มข้นของสายละลายแคลเซียมคลอไรด์

4.1.2 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ในธรรมชาติโดยทั่วไปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ ซึ่งมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยกลุ่มที่มีความสำคัญได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารในกลุ่มวิตามิน เช่น วิตามินซี (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551) มีรายงานของกรณ์การณ์ ภมรประวัติธนะ (2553) กล่าวว่า ในใบย่านางสดมีปริมาณวิตามินซีประมาณ 141 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง โดยวิตามินซีจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถละลายน้ำ เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี โดยจะให้อิเล็กตรอนจับกับอนุมูลอิสระ เช่น Hydroxyl และ Superoxide ทำให้เกิดการเสถียรได้ (Iqbal et al., 2004) อย่างไรก็ตาม การศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

อื่นๆ เช่นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด หรือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบย่านาง โดยสารกลุ่มฟีนอลิกจัดเป็นสารที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ และมีความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่ออยู่ในสภาวะความเข้มข้นต่ำกว่าสารออกซิไดซ์ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะมีความเสถียร ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นตอนโพรพาเกชันได้ (Packer et al,. 1999)

จากการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ค่า IC_{50} และปริมาณวิตามินซีในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง จะได้สมการ Regression ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดดังสมการที่ 3 ($R^2 = 0.8553$) ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดดังสมการที่ 4 ($R^2 = 0.8729$) ค่า IC_{50} ดังสมการที่ 5 ($R^2 = 0.8848$) และปริมาณวิตามินซีดังสมการที่ 6 ($R^2 = 0.8082$)

$$\text{Total Phenolic} = +1825.93-352.92(X_1)-449.07(X_2)-342.25(X_3)+49.17(X_1)^2 +105.32(X_2)^2+110.23(X_3)^2+32.71(X_1)(X_2)-5.45(X_1)(X_3) +2.61\times10^{-13}(X_2)(X_3) \quad R^2 = 0.8553 \tag{3}$$

$$\text{Total Antioxidant} = +1106.52-363.33(X_1)-234.54(X_2)-270.84(X_3) +42.34(X_1)^2+54.32(X_2)^2+63.79(X_3)^2+22.26(X_1)(X_2) +22.06(X_1)(X_3)-24.41(X_2)(X_3) \quad R^2 = 0.8729 \tag{4}$$

$$IC_{50} = +5.02-1.35(X_1)-0.86(X_2)-1.08(X_3)+0.16(X_1)^2+0.20(X_2)^2 +0.25(X_3)^2+0.08(X_1)(X_2)+0.08(X_1)(X_3)-0.09(X_2)(X_3) \quad R^2 = 0.8848 \tag{5}$$

$$\text{Vtamin C} = -2.36+1.78(X_1)+1.75(X_2)+1.80(X_3) \quad R^2 = 0.8082 \tag{6}$$

เมื่อ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

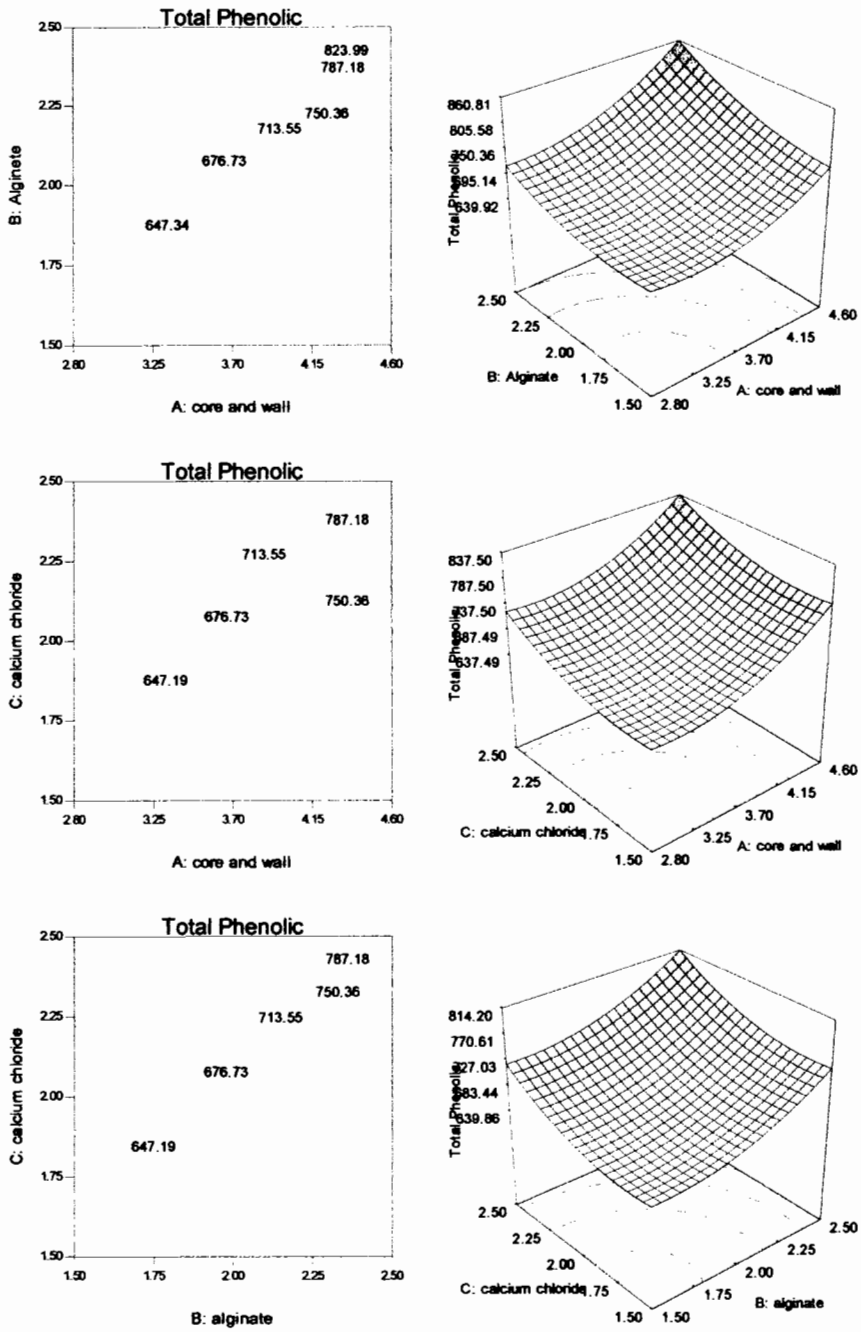
X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณฟีนอลิกแสดงดังภาพที่ 4.2 พบว่าเมื่อปัจจัยทั้งสามมีค่าเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจาก

เมื่อสารที่ต้องการกักเก็บเพิ่มมากขึ้นสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัดใบย่านางในระบบก็จะมีค่ามากขึ้นด้วย นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของแอลจิเนตจะส่งผลทำให้เกิดโครงสร้างของเจลเพิ่มมากขึ้น ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมในระบบจึงทำให้เกิดการจับกันระหว่างแคลเซียมไอออนกับแอลจิเนตมากขึ้น ส่งผลให้เกิดโครงสร้างร่างแหสามมิติ (Bartolo et al., 2003) การเพิ่มขึ้นของเจลแอลจิเนตสามารถทำให้การกักเก็บสารกลุ่มฟีนอลิกได้ดีมากขึ้นตามไปด้วย

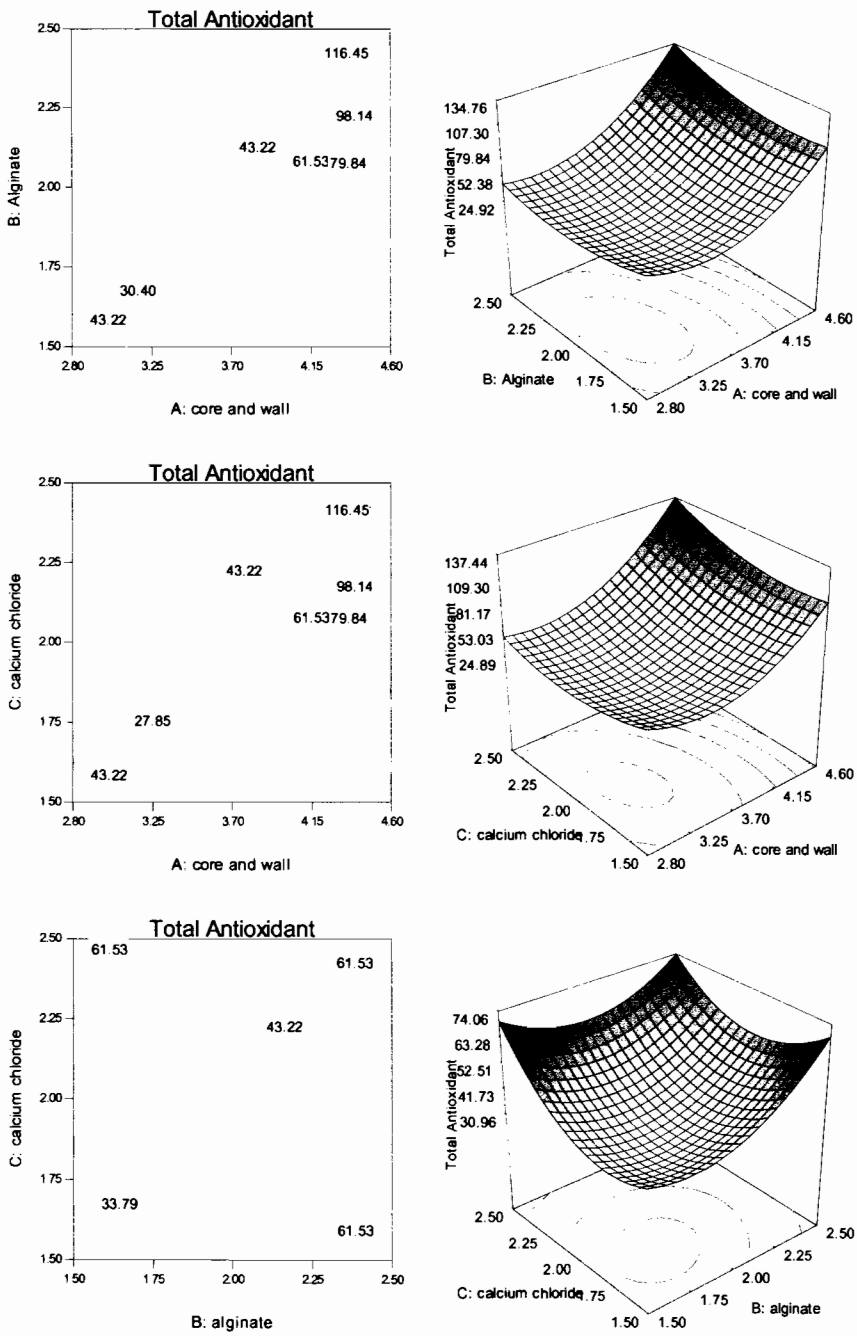
นอกจากนี้ผลที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด และค่า IC_{50} แสดงดังภาพที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ ส่วนปริมาณวิตามินซีแสดงดังภาพที่ 4.5 พบว่าปัจจัยที่มีผลคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ เนื่องจากเมื่อเพิ่มปริมาณสารที่ต้องการกักเก็บมากขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระที่ มีอยู่ในสารสกัดจากใบย่านางในระบบก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย สารต้านอนุมูลอิสระ และสารในกลุ่มฟีนอลิกมีความสามารถละลายในน้ำได้ ซึ่งในการสกัดสารสกัดจากใบย่านางใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จึงทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน (Bae and Suh, 2007) จากการทดลองจะเห็นว่าเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้ค่า IC_{50} ที่ได้ยังมีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด โดยที่ค่า IC_{50} หมายถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลจาก DPPH ลดลงร้อยละ 50 (Molyneux, 2004) หากมีค่า IC_{50} น้อยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่ใช้เป็นสารที่ต้องการกักเก็บมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี จากการทดลองพบว่าสารสกัดใบย่านางที่อยู่ในเอนแคปซูลมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยปริมาณสารสกัดเพียงเล็กน้อยก็มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ถึงร้อยละ 50 ในทำนองเดียวกับปริมาณวิตามินซีจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารที่ต้องการกักเก็บมากขึ้น แต่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากวิตามินซีละลายน้ำ และสูญเสียได้ง่ายจากอุณหภูมิหรือแสง แต่จากกระบวนการเอนแคปซูลจะเห็นได้ว่ายังสามารถเก็บรักษาวิตามินซีเอาไว้ได้ในทุกตัวอย่าง



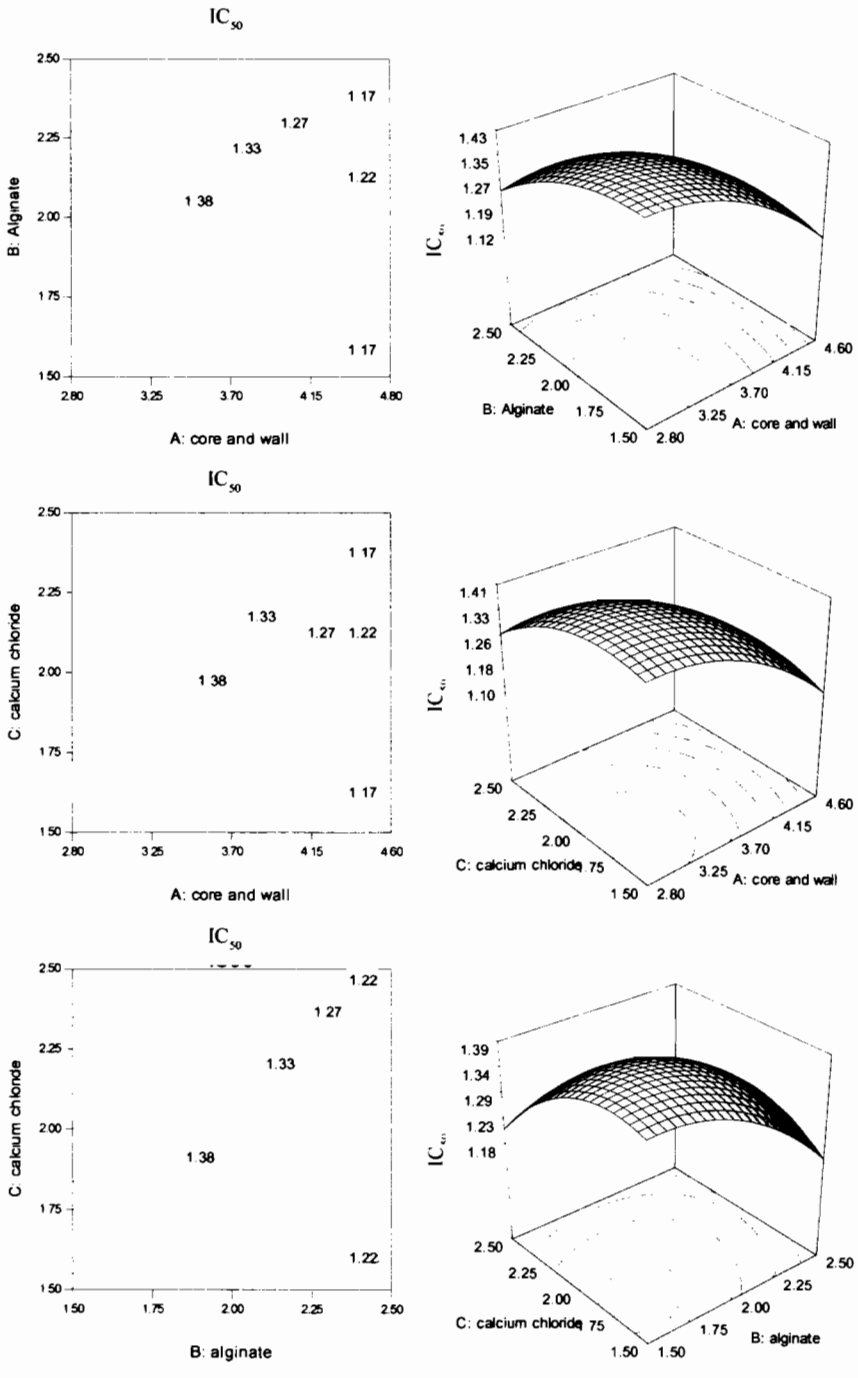
ภาพที่ 4.2 กราฟ 2 มิติ และ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Deladino et al. (2008) ที่ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากพืชชนิด yerba (*Ilex paraguriensis*) โดยพบว่าสารสกัดจะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูง โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนมากขึ้นปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน และมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Braczak and Kolodzieczyk (2010) ที่ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลด้วยการทำแห้งแบบวิธีพ่นฝอยของสารสกัดจากผลไม้ชนิด black currant (*Ribes nigrum*) พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนต โดยที่ยังมีปริมาณกลุ่มฟีนอลิกไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเริ่มต้น

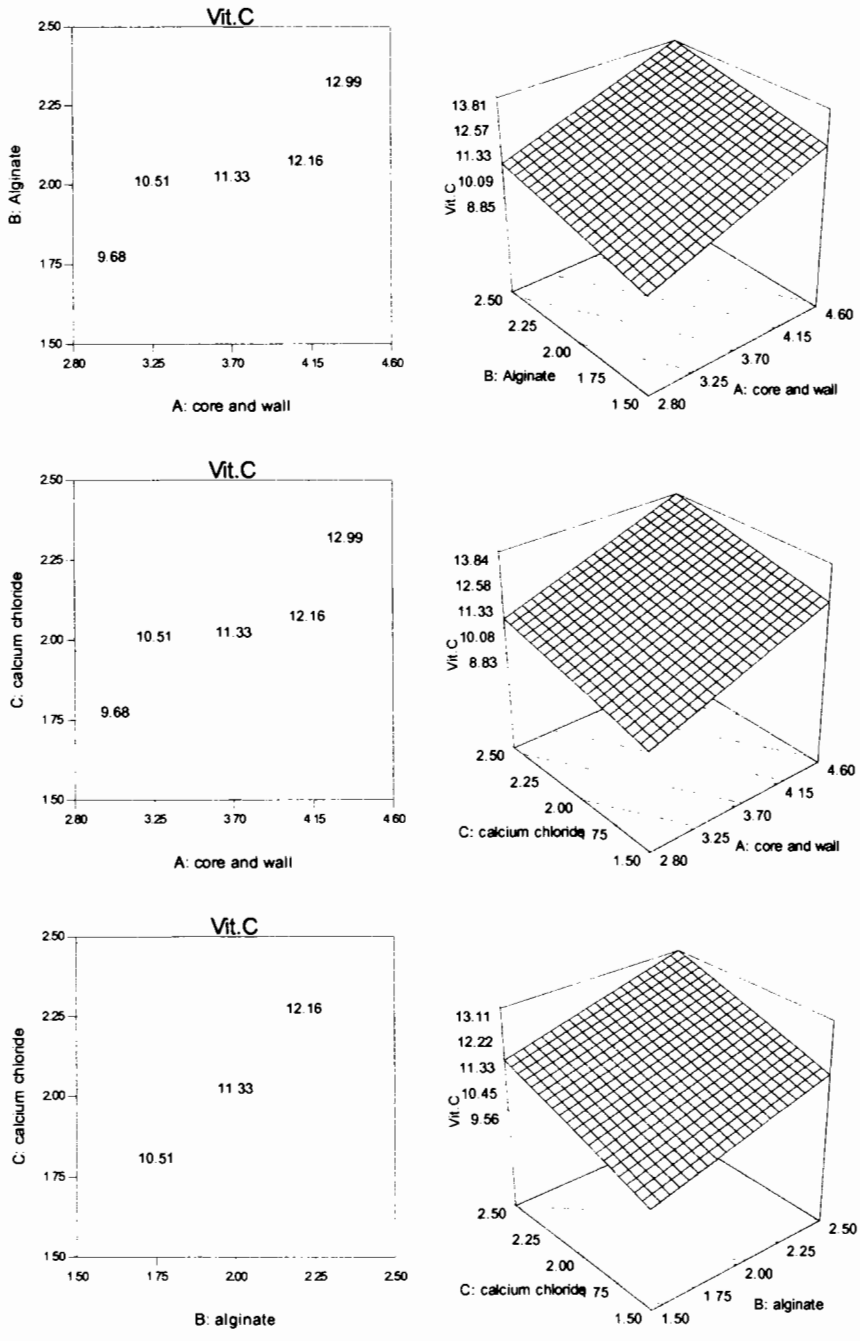
สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chan et al. (2010) ที่ทำการวิจัยการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากสมุนไพรพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนแคปซูลคือ อัตราส่วนสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ส่งผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในระบบเพิ่มมากขึ้น โดยการเพิ่มขึ้นของสารที่ใช้เคลือบทำให้ความสามารถในการเกิดเจลของแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นเสมือนเกราะป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ภายในเอนแคปซูล ส่วนความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ก็มีผลต่อการเกิดเจลของแอลจิเนตด้วย โดยช่วยในการเชื่อมต่อโครงสร้างของแอลจิเนตให้กลายเป็นโครงสร้างร่างแห หากมีการเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นก็จะทำให้เกิดเจลมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูลและสารสกัดใบย่านางเริ่มต้นพบว่า กระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบย่านางได้ ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบย่านางยังคงเหลือมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบย่านางเริ่มต้น จึงทำให้ทราบแน่ชัดว่ากระบวนการเอนแคปซูลเหมาะสำหรับการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบย่านาง



ภาพที่ 4.3 กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด



ภาพที่ 4.4 กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า IC_{50}



ภาพที่ 4.5 กราฟ 2 มิติและ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณวิตามินซี

นอกจากสารในกลุ่มฟีนอลิกและวิตามินที่มีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้วยังพบว่า ในพืชผักหรือผลไม้จะมีสารในกลุ่มรงควัตถุ เช่น แคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ ที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน จากรายงานเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการในใบย่านางสดของกรณ์กาณจน์ ภมรประวัติธนะ (2553) กล่าวว่าในใบย่านางสดมีองค์ประกอบของเบต้า-แคโรทีนประมาณ 0.6439 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง แต่ยังไม่มีการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบย่านาง ซึ่งสารกลุ่มนี้จัดเป็นสารที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่สามารถเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอได้โดยการแตกพันธะคู่ของตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุล ซึ่งสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ โดยจะจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จึงทำให้มีความเสถียรมากขึ้น (Packer et al., 1999) โดยทั่วไปการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์จะวิเคราะห์ในรูปของ Pro-vitamin A caroteniod (Oliveira et al., 2010 ; Muhammad, 2008) งานวิจัยครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในรูปของ Pro-vitamin A ที่สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

ส่วนคลอโรฟิลล์พบว่าในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์จะประกอบไปด้วย Mg^{2+} ซึ่งเป็นโมเลกุลอิสระ ที่สามารถไปจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยทั่วไปแล้วคลอโรฟิลล์จะมีความไวต่อ พีเอช อุณหภูมิ และจะสูญเสียได้ง่ายระหว่างกระบวนการผลิต โดยปกติคลอโรฟิลล์จะอยู่ในรูปที่ประกอบด้วย Mg^{2+} เมื่อสูญเสียสภาพไป โมเลกุล Mg^{2+} จะหลุดออกจากระบบ และทำให้กลายเป็นฟีโอไฟติน (Pheophytin) ซึ่งฟีโอไฟตินก็จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน (Ferruzzi and Blaeslee., 2007) ในการทดลองครั้งนี้จะเป็นการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดโดยสารที่อยู่ในกลุ่มคลอโรฟิลล์ที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือฟีโอไฟติน

จากผลการศึกษาพบว่า เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีปริมาณแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์อยู่ในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีความสามารถในการละลายน้ำน้อย แต่สามารถละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ เป็นต้น (Ferruzzi and Blaeslee., 2007) แคโรทีนอยด์สามารถเปลี่ยนรูปเป็นวิตามินเอได้โดยการแตกพันธะตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุล ส่วนคลอโรฟิลล์ก็สามารถเปลี่ยนรูปเป็นคลอโรฟิลลินได้ ซึ่งทั้งวิตามินเอและคลอโรฟิลลินก็มีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ (ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่, 2551) จึงทำให้เลือกศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ในระหว่างกระบวนการสกัดซึ่งใช้น้ำเป็นสารสกัดทำให้แคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ละลายได้น้อยในน้ำ และอาจจะสูญเสียระหว่างกระบวนการสกัด ส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์เริ่มต้นมีอยู่ไม่มากนัก จากการ

วิเคราะห์ทางสถิติจะได้สมการ Regression ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดดังสมการที่ 7 ($R^2 = 0.8894$) และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดดังสมการที่ 8 ($R^2 = 0.7788$)

$$\text{Total Caroteniods} = -7.35+1.17(X_1)+2.69(X_2)+2.96(X_3)-0.10(X_1)^2 \quad (7)$$
$$-0.56(X_2)^2-0.68(X_3)^2-0.08(X_1)(X_2)-0.04(X_1)(X_3)$$
$$-0.02(X_2)(X_3) \qquad R^2 = 0.8894$$

$$\text{Total Chlorophyll} = -13.84+8.49(X_1)+5.23(X_2)+1.71(X_3) \quad (8)$$
$$R^2 = 0.7788$$

เมื่อ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ

X_2 คือ ความเข้มข้นของแอลจิเนต

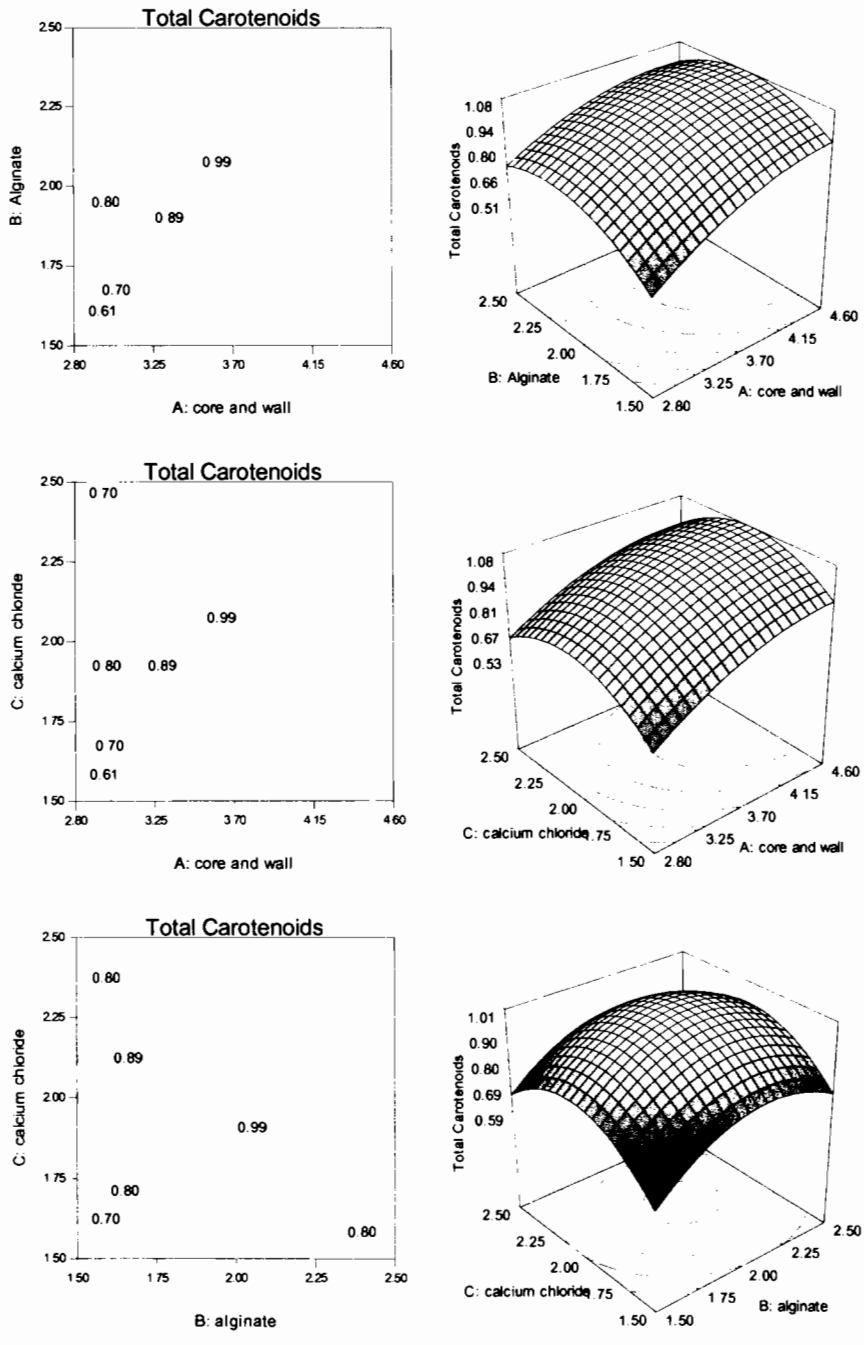
X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

จากการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดพบว่าปัจจัยที่มีผลคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบส่งผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจากปริมาณแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบหนึ่งในสารสกัดใบย่านาง เมื่อเพิ่มปริมาณสารที่ต้องการกักเก็บมากขึ้นส่งผลทำให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในระบบมากขึ้นแสดงดังภาพที่ 4.6 เช่นเดียวกับปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบแสดงดังภาพที่ 4.7 จะเห็นว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีผลไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากเป็นสารกลุ่มรงควัตถุเหมือนกัน

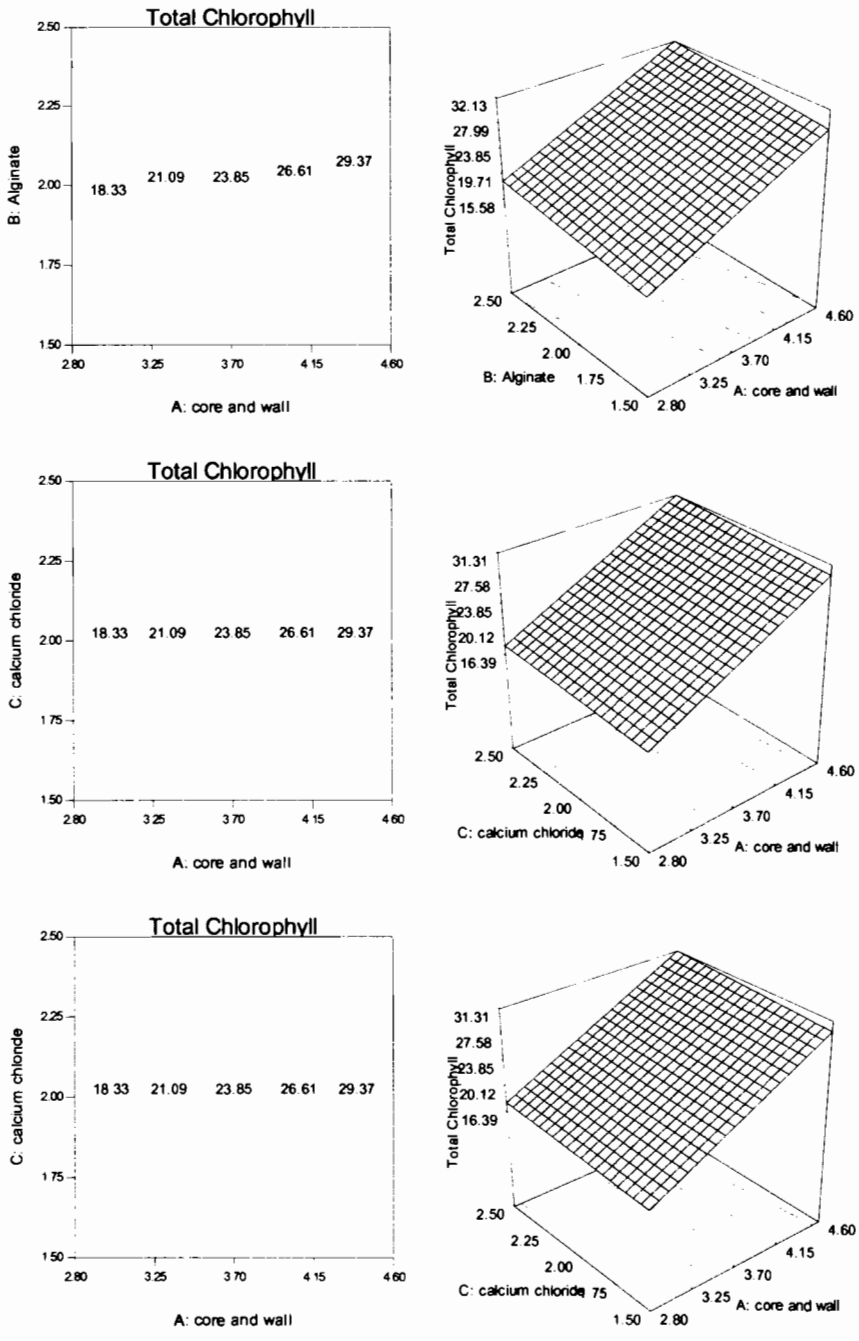
ในการเก็บรักษาสารกลุ่มรงควัตถุที่อยู่ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ เช่น แอนโทไซยานิน หรือ เบตาไซยานิน สามารถกักเก็บในรูปเอนแคปซูลได้ จากผลการทดลองที่พบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ge et al. (2009) ที่ได้ศึกษาการผลิตไมโครเอนแคปซูลสารสกัดกลุ่มแอนโทไซยานินจากดอกกุหลาบ (*Rosa rugosa* Thunb.) โดยใช้กัมอาระบิก (gum arabic) เป็นสารเคลือบพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินคือ ความแตกต่างระหว่างอัตราส่วนของสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบมากขึ้นจะมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีความสอดคล้องกับการศึกษาการผลิตไมโครเอนแคปซูลสารสกัดกลุ่มเบตาไซยานินจากบีทรูท (beetroot) พบว่า

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินคือชนิดของสารที่ใช้เคลือบ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และปริมาณความชื้น (Pitalua et al., 2010)

นอกจากนี้จากการทดลองพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนตมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดคือ เมื่อความเข้มข้นของแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นด้วย แต่ในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yi et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดกลุ่มคลอโรฟิลล์โดยสกัดจากพืชประเภทสาหร่าย โดยผลิตเอนแคปซูลเคลือบ 1 ชั้น และ 2 ชั้น พบว่าการใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบสามารถกักเก็บคลอโรฟิลล์ไว้ได้ เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน สามารถเก็บรักษาคลอโรฟิลล์ได้มากขึ้น เนื่องจากการเกิดโครงสร้างเจลระหว่างแคลเซียมกับแอลจิเนต (Ca-alginate gel structure) เกิดได้มากขึ้น แต่เมื่อทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลที่มีการเคลือบที่ผิวหน้า 2 ชั้น เพื่อกักเก็บคลอโรฟิลล์ไว้ พบว่าความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อการเกิดเจลของแอลจิเนตน้อย โดยตัวอย่างที่มีการเคลือบเพียงชั้นเดียว และเคลือบแบบ 2 ชั้น สามารถกักเก็บปริมาณคลอโรฟิลล์ได้ไม่แตกต่างกัน



ภาพที่ 4.6 กราฟ 2 มิติ และ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด



ภาพที่ 4.7 กราฟ 2 มิติ และ 3 มิติ แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด

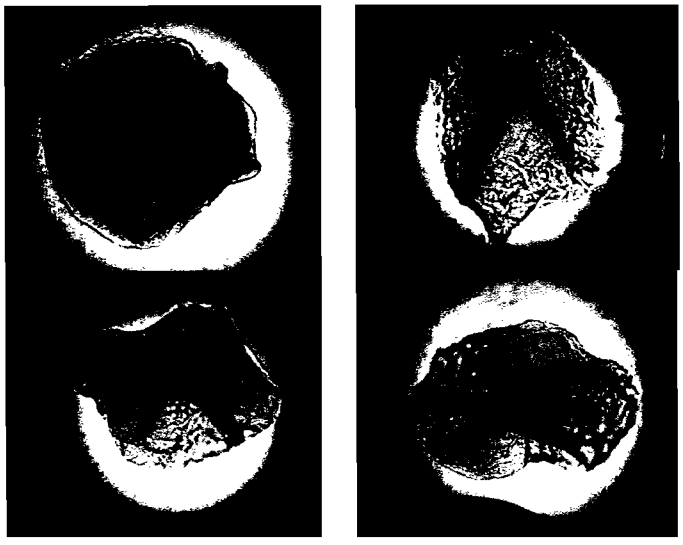
4.1.3 ผลของการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางต่อโครงสร้างของเอนแคปซูล

ในการศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง สิ่งหนึ่งที่สามารถบ่งบอกความสามารถในการห่อหุ้มสารสกัดจากใบย่านางไว้ได้คือ การศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูล โดยการศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลเป็นอีกตัวแปรหนึ่งที่มีความสำคัญ จากการศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางพบว่า เอนแคปซูลจะมีขนาดอยู่ในช่วง 400-800 ไมโครเมตร และมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม ที่ผิวหน้าของเอนแคปซูลจะมีลักษณะหดตัว เนื่องจากระหว่างการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีการทำแห้งเอนแคปซูลด้วยวิธีทำแห้งแบบระเหิด ส่งผลให้น้ำในระบบถูกขับออก ผิวหน้าของเอนแคปซูลจึงมีลักษณะหดตัว แต่ไม่มีลักษณะแตกร้าวที่ผิวหน้าบ่งบอกได้ว่าแอลจิเนตสามารถห่อหุ้มสารสกัดจากใบย่านางเอาไว้ได้

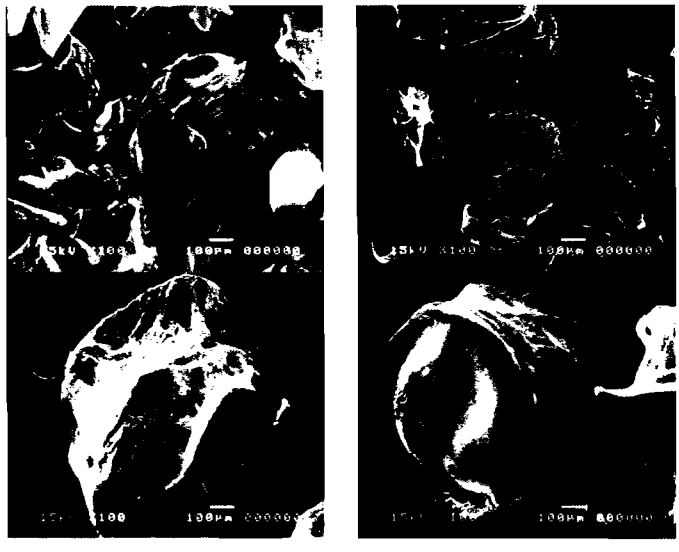
จากการศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลมากที่สุดคือ อัตราส่วนสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเอนแคปซูลที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ –1 (2:8) แสดงดังภาพที่ 4.8(b) กับเอนแคปซูลที่ใช้อัตราส่วนสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ +1 (4:6) แสดงดังภาพที่ 4.9(b) จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบมากขึ้นจะมีการหดตัวของเอนแคปซูลมากขึ้น เนื่องจากน้ำในระบบถูกขับออก ระหว่างการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีการทำแห้งเอนแคปซูลด้วยวิธีทำแห้งแบบระเหิด ส่งผลให้เกิดพันธะไอออนนิคระหว่างแอลจิเนตกับไอออนของแคลเซียมทำให้เกิดโครงสร้างร่างแหสามมิติที่มีความแข็งแรง (Bartolo et al., 2003) นอกจากนี้จากการศึกษาลักษณะภายนอกของเอนแคปซูลด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่ามีผลเช่นเดียวกัน และมีลักษณะของสารสกัดจากใบย่านางอยู่ในเอนแคปซูลอย่างชัดเจน แสดงดังภาพที่ 4.8(a) และภาพที่ 4.9(a) แต่จะเห็นว่าแม้จะผ่านกระบวนการทำแห้งโครงสร้างของเจลแอลจิเนตไม่เกิดความเสียหาย ซึ่งดูได้จากผิวหน้าของเอนแคปซูลที่ไม่มีลักษณะแตกร้าว

มีการศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่มีผลต่อการผลิตไมโครเอนแคปซูลของ Theophylline โดยใช้เวย์โปรตีน (whey proteins) เป็นสารเคลือบ การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบจะส่งผลทำให้ผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะหดตัว (Lee and Rosenberg, 2000) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Ko et al. (2008) ที่ทำการศึกษาผลของแอลจิเนตในการผลิตไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากถั่วเหลือง (soybean) พบว่า ที่ความเข้มข้นของแอลจิเนตมากจะทำให้ลักษณะผิวของไมโครเอนแคปซูล

เกิดรอยย่น เนื่องจากการสูญเสียน้ำระหว่างการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบระเหิด นอกจากนี้เมื่อเพิ่มสารที่ต้องการกักเก็บมากขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณของแข็งในสารสกัดใบย่านางมีเพิ่มมากขึ้น และมีความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสม สาเหตุของการหดตัวของเอนแคปซูลเกิดจากการคายน้ำภายในเอนแคปซูลระหว่างการทำแห้ง โดยน้ำภายในเอนแคปซูลถูกดึงออก ส่งผลให้เอนแคปซูลมีขนาดเล็กลง และผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะหดตัว (Deladino et al., 2008)

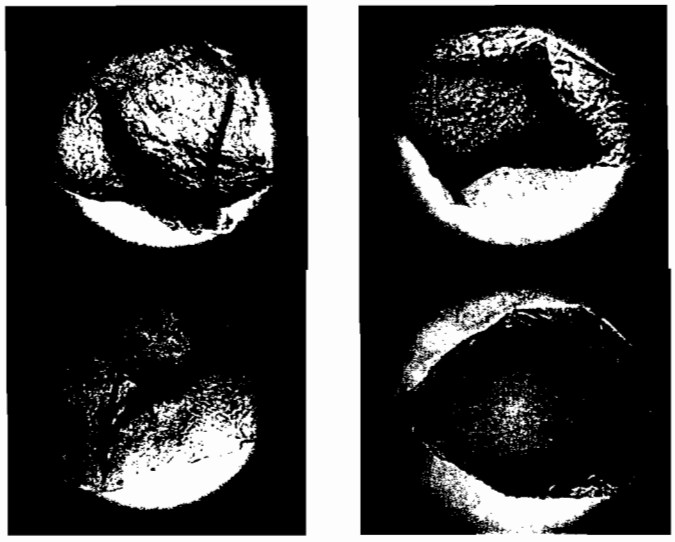


(a)

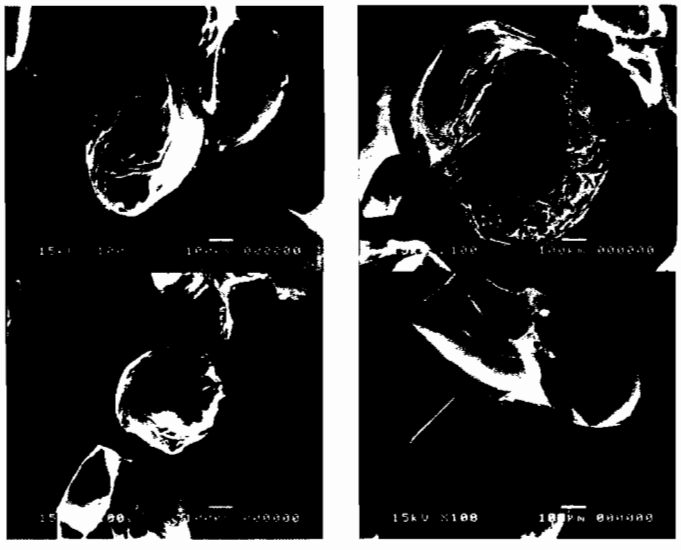


(b)

ภาพที่ 4.8 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ -1 (2:8)
(a) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
(b) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



(a)

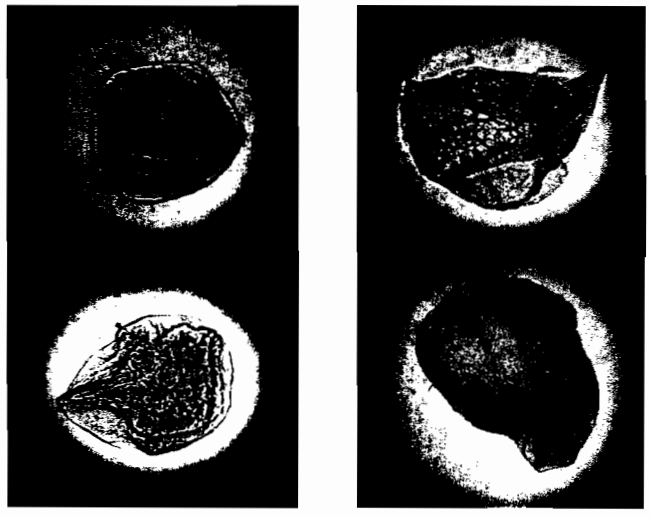


(b)

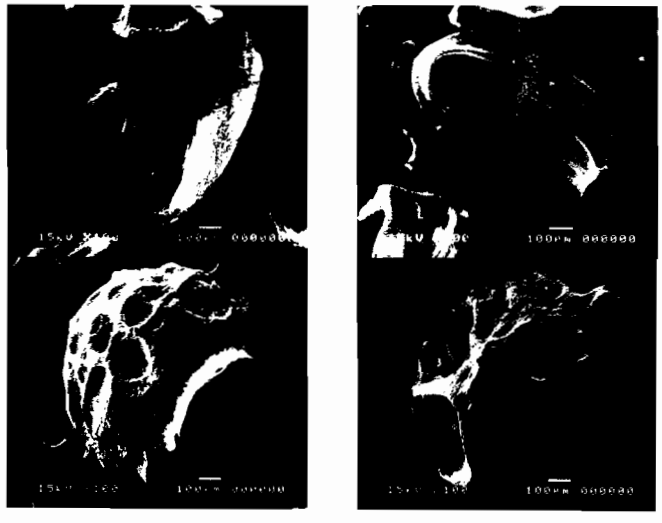
ภาพที่ 4.9 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับ +1 (4:6)
(a) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
(b) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 0 (X_1 = 3:7, X_2 = 2 และ X_3 = 2) หรือ จุดกึ่งกลาง

(center point) โดยทำการศึกษาทั้งหมด 4 ครั้งพบว่า ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลไม่มีความแตกต่างกันแสดงดังภาพที่ 4.10(a) และ (b) เนื่องจากมีปัจจัยต่างๆเหมือนกัน การหดตัวของเอนแคปซูลไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอลจิเนตต่ำกว่า คือตัวอย่างในภาพที่ 4.8 พบว่าการเพิ่มขึ้นของแอลจิเนตทำให้ผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะหดตัวมากขึ้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอลจิเนตสูงกว่าคือตัวอย่างในภาพที่ 4.9 พบว่าตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอลจิเนตสูงกว่าจะมีลักษณะของผิวหน้าเอนแคปซูลหดตัวมากขึ้นเช่นเดียวกัน



(a)



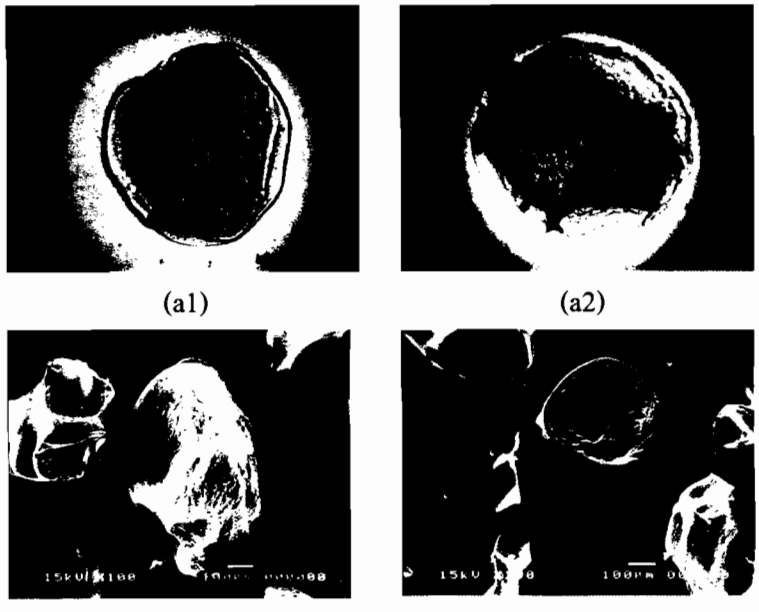
(b)

ภาพที่ 4.10 ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลที่ปัจจัยต่างๆอยู่ในระดับเดียวกัน (ระดับ 0)

(a) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(b) คือ โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

อย่างไรก็ตามจากโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2) พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อโครงสร้างเอนแคปซูลคืออัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ และความเข้มข้นของแอลจิเนตแสดงดังภาพที่ 4.11 ซึ่งเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับต่ำสุดแสดงดังภาพที่ 4.11 (a1) และ (b1) และที่ระดับสูงสุดแสดงดังภาพที่ 4.11 (a2) และ (b2) จะเห็นว่าโครงสร้างภายนอกจะมีการหดตัวมากขึ้น



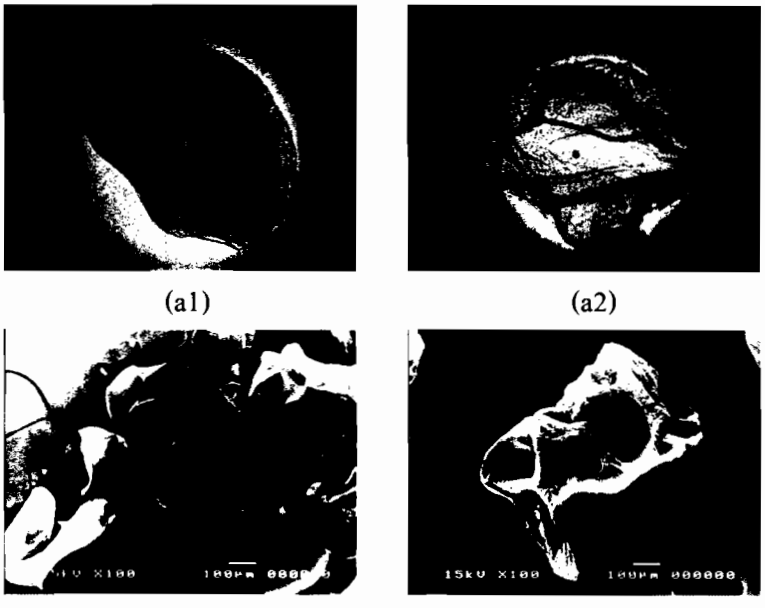
(a1) (a2)

(b1) (b2)

ภาพที่ 4.11 ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)
(a1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
(a2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
(b1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM
(b2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

เมื่อใช้ความเข้มข้นของแอลจิเนตที่ระดับต่ำสุดแสดงดังภาพที่ 4.12 (a1) และ (b1) และที่ระดับสูงสุดแสดงดังภาพที่ 4.12 (a2) และ (b2) มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอลจิเนตจะทำให้ลักษณะโครงสร้างมีการหดตัวอย่างรุนแรง เนื่องจากเมื่อแอลจิเนตเพิ่มมากขึ้นในระบบ เกิดการเชื่อมต่อของเจลมากขึ้น จึงทำให้โครงสร้างภายนอกของ

เอนแคปซูลมีการหดตัวในระหว่างกระบวนการทำแห้ง แต่ในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลแสดงดังภาพที่ 4.13 อาจเนื่องจากแคลเซียมคลอไรด์ที่อยู่ในระบบเพียงพอสำหรับการเกิดเจลของแอลจิเนต ซึ่งการหดตัวของเอนแคปซูลเกิดจากเมื่อไอออนของแคลเซียมแพร่เข้าสู้โครงสร้างของเจลแอลจิเนต ทำให้น้ำในระบบถูกขับออก และทำให้โครงสร้างร่างแหสามมิติของเจลแอลจิเนตที่มีความแข็งแรงและหดตัวลงแสดงดังภาพที่ 4.14 (Bartolo et al., 2003)



(a1) (a2)

(b1) (b2)

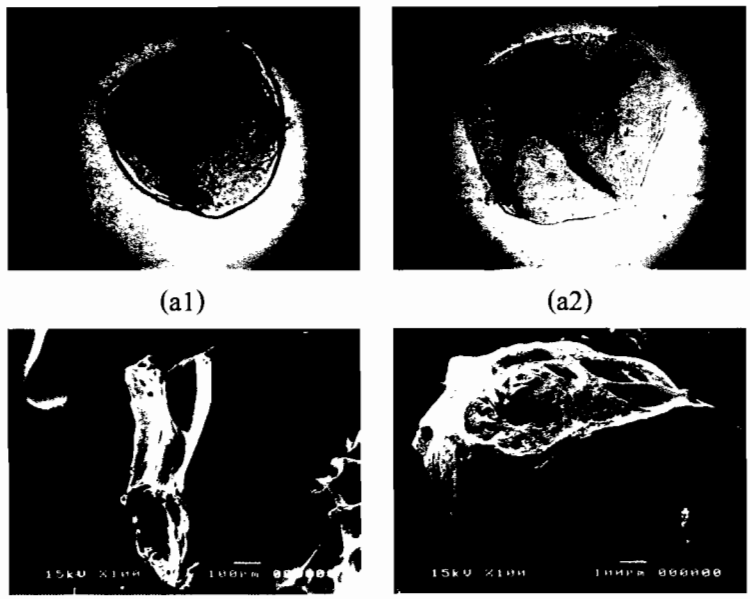
ภาพที่ 4.12 ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ความเข้มข้นของแอลจิเนตที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)

(a1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(a2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(b1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

(b2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



(a1) (a2)

(b1) (b2)

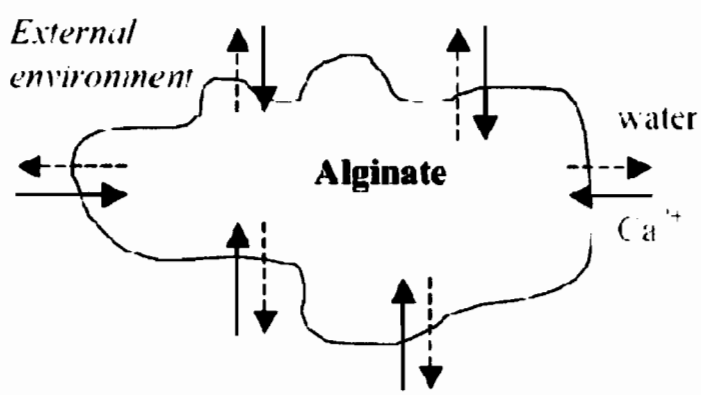
ภาพที่ 4.13 ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับต่ำสุด (-2) และสูงสุด (+2)

(a1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(a2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(b1) คือ ระดับต่ำสุด (-2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM

(b2) คือ ระดับสูงสุด (+2) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM



ภาพที่ 4.14 การแพร่กระจายขององค์ประกอบทางเคมีระหว่างกระบวนการเกิดเจลของแอลจิเนต (Bartolo et al., 2003)

จากการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลที่เหมาะสมของสารสกัดจากใบย่านางด้วยโปรแกรม Design-Expert 6.0.10 พบว่าอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมแสดงดังตารางที่ 4.3

ในการเลือกอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลได้ทำการเลือกจากปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีค่ามากที่สุด มีค่าความเชื่อมั่น (Desirability) ของสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติมากที่สุด นอกจากนี้ยังเลือกสมการที่มีค่า R^2 มากกว่า 0.8 หรือมากกว่าร้อยละ 80 มาใช้ในการวิเคราะห์ และเลือกจากความยากง่ายในการเตรียม และการคำนวณปริมาณสารสกัดที่ใช้ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ดังนั้นการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม และส่งผลทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง คือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บ (ปริมาณสารสกัดใบย่านาง 0.0235 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร) ต่อสารที่ใช้เคลือบที่ 1.60 ต่อ 8.40 ใช้แอลจิเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร นอกจากนั้นได้ทำการศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลแสดงดังภาพที่ 4.15 จะเห็นว่าลักษณะของเอนแคปซูลที่ผิวหน้ามีลักษณะเรียบ มีการหดตัวเพียงเล็กน้อย และไม่มีลักษณะแตกร้าว

จากการทดลองเห็นได้ว่าการผลิตเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาและป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากใบย่านางได้ เมื่อพิจารณาการป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลจะเห็นว่า อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนตและความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางคือ ปริมาณสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบคือ 1.60 ต่อ 8.40 (สารที่ต้องการกักเก็บ: ปริมาณสารสกัดใบย่านาง 0.0235 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร) ปริมาณความเข้มข้นของแอลจิเนตคือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์คือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร

ภาพที่ 4.15 ลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม (สารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ คือ 1.60 ต่อ 8.40 ความเข้มข้นของแอลจิเนตคือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์คือร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร)

หลังจากทำการวิเคราะห์ค่าทางด้านสถิติ โดยพิจารณาจากปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีค่ามากที่สุด และพิจารณาถึงโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง สามารถนำระดับของอัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมไปใช้ในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางได้ แต่จากผลการทดลองยังไม่เพียงพอสำหรับการนำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากยังไม่ทราบถึงลักษณะของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางหลังจากผ่านระยะเวลาในการเก็บรักษา และยังไม่ทราบถึงคุณภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจริง ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงความคงตัว และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

ตารางที่ 4.3 การผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เหมาะสม

ลำดับที่	สารที่ต้องกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ	แอลจิเนต (%)	แคลเซียมคลอไรด์ (%)	ประสิทธิภาพ (g extract/g beads)	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g encapsule)	ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g encapsule)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g encapsule)	IC_{50} (mg/g encapsule)	ระดับความเชื่อมั่น
1	1.60:8.40	1.00	1.00	0.40	0.88	909.49	152.36	1.42	0.824
2	1.60:8.40	1.00	1.00	0.40	0.87	907.40	151.46	1.43	0.824
3	1.65:8.35	1.02	1.02	0.41	0.82	905.21	141.01	1.52	0.785

4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลของสารสกัดจากใบย่านาง

จากการทดลองพบว่า เมื่อนำสารสกัดจากใบย่านางมาทำการผลิตเป็นเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง สามารถป้องกันการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบย่านางที่ไม่ผ่านการผลิตเป็นเอนแคปซูล ซึ่งปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบย่านางที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แสดงดังตารางที่ 4.4 จะมีการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน และที่เวลา 4 และ 5 เดือนปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบย่านางลดลงเกือบร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางพบว่า ที่การเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และที่ 25-30 องศาเซลเซียส มีการสูญเสียปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าร้อยละ 50 ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาเท่ากันคือ 3 เดือน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กระบวนการเอนแคปซูลสามารถป้องกันการสูญเสียของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากใบย่านางได้

นอกจากนี้จากตารางที่ 4.5 และ 4.6 จะเห็นว่าการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางที่สภาวะการเก็บต่างกันคือที่ 4-10 องศาเซลเซียส และที่ 25-30 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหลืออยู่มากกว่าการเก็บรักษาที่ 25-30 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบย่านางเริ่มต้นและเมื่อเวลาผ่านไป

ลำดับที่	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g Extract)	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g Extract)	ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g Extract)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g Extract)	IC_{50} (mg/g Extract)	วิตามินซี (mg/100g Extract)
สารสกัดย่านาง	10.14±0.07[a1/]	13.72±2.61[a]	271.64±4.33[a]	1452.70±19.35[a]	0.27±0.01[b]	24.22±0.87[a]
3 เดือน	0.20±0.01[b]	9.07±0.33[b]	1.69±1.50[b]	0.18±0.63[b]	18.98±0.01[a]	0.78±0.01[b]
4 เดือน	0.10±0.00[c]	8.45±0.58[c]	0.24±0.57[b]	0.06±0.31[b]	18.79±0.00[a]	0.70±0.00[c]
5 เดือน	0.00±0.01[d]	2.33±0.6[d]	0.24±0.57[b]	0.02±0.36[b]	18.41±0.01[a]	0.66±0.00[d]

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

จากการทดลองในตารางที่ 4.5 จะเห็นว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกันเมื่อระยะเวลาผ่านไป เนื่องจากแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์เป็นสารกลุ่มเดียวกันคือ สารกลุ่มรงควัตถุในพืช จึงมีปริมาณที่สัมพันธ์กัน และลดลงน้อยกว่าร้อยละ 50 ของปริมาณเริ่มต้นเมื่อผ่านไป 3 เดือน แสดงให้เห็นว่ากระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดได้ และอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเก็บรักษา เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการสูญเสียของสารก็จะเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ร้อยละของการคงเหลือของแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์มีค่าลดลง จะเห็นว่าในสัปดาห์ที่ 4 ลดลงเหลือร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับปริมาณสารเริ่มต้นและลดลงเหลือร้อยละ 70 และร้อยละ 50 ในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.16 จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Candan and Tarhan (2003) ที่ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์สังเคราะห์ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์มีความสัมพันธ์กันคือ ปริมาณการลดลงของแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันเมื่อระยะเวลาผ่านไป

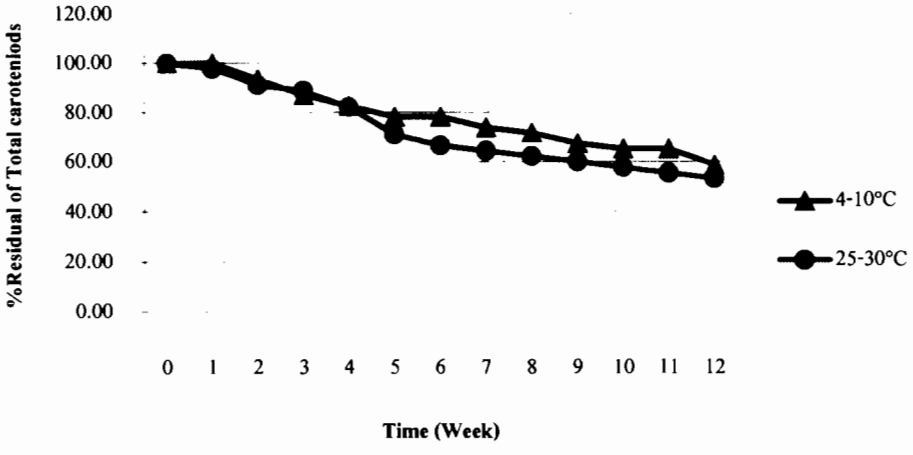
มีการศึกษาของ Ersus and Yurdagel (2007) เกี่ยวกับการผลิตไมโครเอนแคปซูลของสารให้สีประเภทแอนโทไซยานินที่สกัดจากแครอทสีม่วง (*Daucuscarota L.*) โดยใช้เทคนิคแบบพ่นฝอย และทำการเก็บรักษาไมโครเอนแคปซูลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 64 วัน พบว่า ความคงตัวของสารแอนโทไซยานินในไมโครเอนแคปซูลมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป แต่จะลดลงเพียงร้อยละ 33 จากปริมาณเริ่มต้น และที่สภาวะการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาแอนโทไซยานินได้ดีกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส รวมทั้งการทดลองของ Rocha et al. (2011) ที่ทำการศึกษาคุณลักษณะ ความคงตัว และการประยุกต์ใช้ไมโครเอนแคปซูลสารกลุ่มไลโคปีนด้วยวิธีแบบพ่นฝอย โดยใช้แป้งดัดแปรเป็นสารเคลือบ สารกลุ่มไลโคปีนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบแคโรทีนอยด์ จะพบมากในมะเขือเทศซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์คือ สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งที่อวัยวะต่างๆได้โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก สารไลโคปีนอาจเกิดการสูญเสียได้ง่ายระหว่างการเก็บรักษาจึงได้ทำการศึกษาการเก็บรักษาไมโครเอนแคปซูลสารไลโคปีนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 73 วัน พบว่า สารไลโคปีนจะมีการสูญเสียเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป โดยพิจารณาจากร้อยละการปลดปล่อยของไลโคปีนซึ่งเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเปรียบเทียบความคงตัวของไมโครเอนแคปซูลสารไลโคปีนที่สภาวะการเก็บรักษาต่างกันพบว่า ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสมีร้อยละของการปลดปล่อยสารน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาไมโครเอนแคปซูลสารไลโคปีนได้ดีที่สุด

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียสภายในเวลา 12 สัปดาห์

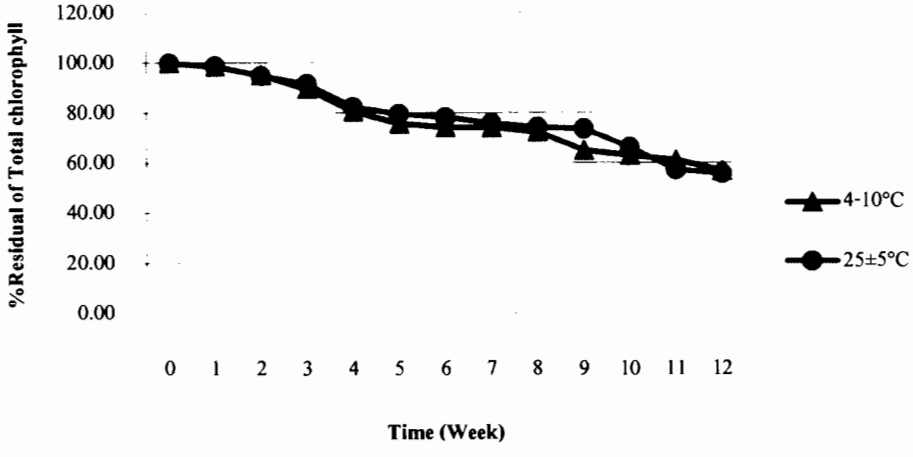
เวลา (สัปดาห์)	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g encapsule)		คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g encapsule)		ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g encapsule)	
	4-10°C	25-30°C	4-10°C	25-30°C	4-10°C	25-30°C
0	$0.46\pm0.02^{A1/a2/}$	0.45 ± 0.02^{Aa}	17.53 ± 0.42^{Aa}	17.70 ± 0.40^{Aa}	78.01 ± 1.70^{Aa}	77.03 ± 1.70^{Aa}
1	0.46 ± 0.02^{Aa}	0.44 ± 0.01^{Ab}	17.28 ± 0.64^{Aab}	17.50 ± 0.41^{Aab}	76.05 ± 0.85^{Ab}	75.07 ± 1.70^{Ab}
2	0.43 ± 0.04^{Ab}	0.41 ± 0.01^{Ac}	16.68 ± 0.00^{Ab}	16.80 ± 0.31^{Abc}	75.56 ± 1.70^{Ab}	73.10 ± 2.32^{Ab}
3	0.40 ± 0.01^{Ac}	0.40 ± 0.01^{Ad}	15.71 ± 0.00^{Ac}	16.22 ± 0.22^{Ac}	74.09 ± 2.32^{Abc}	68.69 ± 2.32^{Ac}
4	0.38 ± 0.01^{Ad}	0.37 ± 0.01^{Ae}	14.12 ± 0.16^{Ad}	14.59 ± 0.50^{Ad}	72.12 ± 1.70^{Acd}	69.67 ± 1.70^{Acd}
5	0.36 ± 0.00^{Ade}	0.32 ± 0.00^{Af}	13.26 ± 0.10^{Ade}	14.10 ± 0.00^{Ade}	71.14 ± 2.32^{Ad}	66.73 ± 1.70^{Ad}
6	0.36 ± 0.01^{Aef}	0.30 ± 0.00^{Ag}	13.01 ± 0.82^{Ae}	13.86 ± 0.37^{Adef}	70.16 ± 2.55^{Ad}	64.27 ± 2.55^{Ae}
7	0.34 ± 0.02^{Afg}	0.29 ± 0.02^{Ah}	12.98 ± 1.05^{Ae}	13.44 ± 1.05^{Aef}	65.74 ± 1.70^{Ae}	59.86 ± 1.70^{Af}
8	0.33 ± 0.01^{Ag}	0.28 ± 0.02^{Ah}	12.68 ± 1.57^{Ae}	13.14 ± 0.00^{Af}	57.40 ± 1.70^{Af}	54.95 ± 1.70^{Ag}
9	0.31 ± 0.01^{Ah}	0.27 ± 0.01^{Ah}	11.38 ± 0.40^{Af}	13.03 ± 0.55^{Af}	53.97 ± 1.70^{Ag}	53.97 ± 1.70^{Ag}
10	0.30 ± 0.01^{Ah}	0.26 ± 0.02^{Ai}	11.02 ± 1.86^{Af}	11.72 ± 0.46^{Ag}	50.05 ± 1.70^{Ah}	47.59 ± 2.32^{Ah}
11	0.30 ± 0.01^{Ah}	0.25 ± 0.00^{Ai}	10.71 ± 0.49^{Afg}	10.13 ± 0.36^{Ah}	49.06 ± 1.70^{Ah}	46.12 ± 1.70^{Ahi}
12	0.27 ± 0.02^{Ai}	0.24 ± 0.03^{Aj}	9.94 ± 0.47^{Ag}	9.86 ± 0.27^{Ah}	48.57 ± 1.70^{Ah}	44.16 ± 2.55^{Ai}

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนระหว่าง 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียส แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

[2/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



(a)



(b)

ภาพที่ 4.16 ร้อยละการคงเหลือของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง เมื่อเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน
(a) คือ ร้อยละการคงเหลือของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด
(b) คือ ร้อยละการคงเหลือของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด

นอกจากนี้จากการทดลองในตารางที่ 4.5 และ 4.6 จะเห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด และปริมาณวิตามินซีมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป และมีแนวโน้มการลดลงในทางเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะต่างกัน ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสจะมีการลดลงน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ร้อยละการคงเหลือของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด และวิตามินซีมีค่าลดลง จะเห็นว่าที่สัปดาห์ที่ 4 ลดลงเหลือร้อยละ 90 และลดลงเหลือร้อยละ 70 และร้อยละ 60 ในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.17 ส่วนค่า

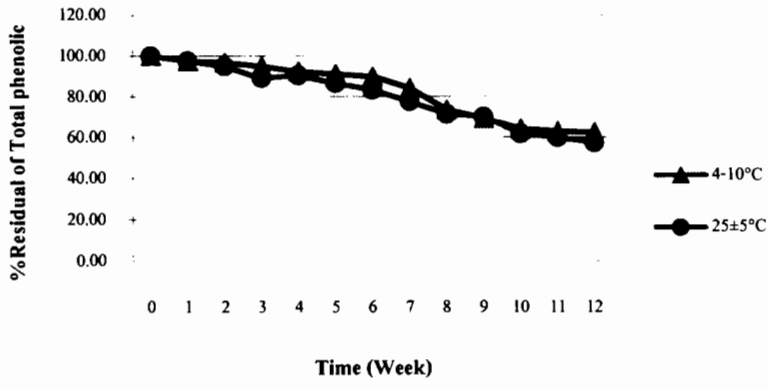
IC_{50} จะมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากการลดลงของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถบ่งบอกได้ว่ากระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ และอุณหภูมิในการเก็บรักษาจะมีผลต่อการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kumar et al. (2009) โดยศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลเพื่อเก็บรักษาสารสกัดจากถั่วเหลือง (*Glycine max*) ที่อุดมไปด้วยโปรตีน และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้แอลจิเนตเปรียบเทียบกับไคโตซานเพื่อปรับปรุงการเก็บรักษาสารสกัด ได้ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 200 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณสารสกัดจากถั่วเหลืองในเอนแคปซูลลดลงเรื่อยๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเอนแคปซูลที่ผลิตจากแอลจิเนตและไคโตซานกับสารสกัดจากถั่วเหลือง เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 60 วัน สารสำคัญในสารสกัดถั่วเหลืองลดลงถึงร้อยละ 90 แต่ตัวอย่างเอนแคปซูลที่ผลิตด้วยแอลจิเนตและไคโตซานสามารถเก็บรักษาสารสกัดจากถั่วเหลืองไว้ได้นานถึง 180 วัน และยังมีการลดลงเพียงร้อยละ 50 เท่านั้น จะเห็นได้ว่าการใช้แอลจิเนตและไคโตซานเป็นสารเคลือบสารสกัดจากถั่วเหลืองสามารถปรับปรุงหรือยืดอายุการเก็บรักษาได้ รวมทั้งการศึกษาของ Nori et al. (2011) ได้ทำการศึกษาการผลิตไมโครเอนแคปซูลสารสกัดที่ให้กลิ่นรสคือ สารสกัดจาก propolis ใช้เทคนิค coacervation โดยใช้ isolated soy protein และ เพคติน (pectin) เป็นสารเคลือบ ทำการศึกษาความคงตัวของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์ในไมโครเอนแคปซูล โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าทุกๆ 30 วันเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่าลดลงเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่า สารประกอบฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์ลดลงเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่ากระบวนการไมโครเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ไว้ได้ แต่ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียสภายในเวลา 12 สัปดาห์ (ต่อ)

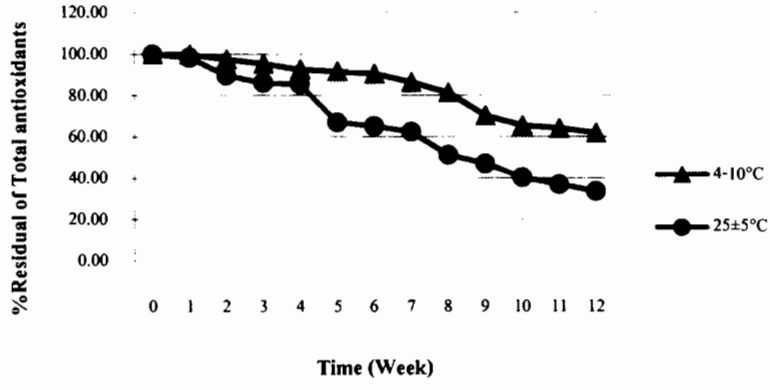
เวลา (สัปดาห์)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g encapsule)		IC50 (mg/g encapsule)		วิตามินซี (mg/100g encapsule)	
	4-10°C	25-30°C	4-10°C	25-30°C	4-10°C	25-30°C
0	315.12±1.89$^{A1/a2/}$	311.66±2.07^{Aa}	2.20±0.05^{Ah}	2.04±0.01^{Ah}	12.62±0.86^{Aa}	12.35±0.44^{Aa}
1	314.76±0.63^{Aa}	306.74±3.16^{Ab}	2.20±0.02^{Ah}	2.15±0.02^{Ag}	12.27±0.70^{Aab}	11.99±0.21^{Ab}
2	307.11±2.91^{Ab}	279.78±3.06^{Ac}	2.23±0.03^{Ag}	2.15±0.01^{Ag}	12.07±0.46^{Ab}	11.68±0.23^{Abc}
3	300.55±1.46^{Ac}	268.68±4.30^{Ad}	2.27±0.01^{Ag}	2.17±0.10^{Af}	11.86±0.25^{Abc}	11.41±0.18^{Ac}
4	291.80±1.09^{Ad}	266.67±1.67^{Ad}	2.27±0.01^{Ag}	2.18±0.08^{Af}	11.81±0.42^{Abc}	9.41±0.94^{Ad}
5	288.89±1.26^{Ae}	209.29±3.89^{Be}	2.36±0.01^{Af}	2.21±0.01^{Ae}	11.22±0.19^{Acd}	9.14±0.29^{Ae}
6	285.06±3.16^{Af}	203.64±1.76^{Bf}	2.38±0.05^{Ae}	2.27±0.01^{Ad}	10.71±0.26^{Ad}	8.32±0.75^{Af}
7	272.50±2.81^{Ag}	195.09±4.25^{Bg}	2.47±0.02^{Ad}	2.28±0.03^{Ad}	9.89±0.84^{Ae}	7.51±0.53^{Ag}
8	256.47±1.73^{Ah}	159.93±2.76^{Bh}	2.56±0.02^{Ad}	2.27±0.02^{Ad}	9.40±0.88^{Ae}	6.70±0.39^{Ah}
9	221.50±2.30^{Ai}	146.81±3.45^{Bi}	2.63±0.01^{Ac}	2.55±0.02^{Ac}	7.49±0.56^{Af}	6.64±0.39^{Ah}
10	206.56±1.46^{Al}	126.05±2.81^{Bj}	2.67±0.02^{Ab}	2.63±0.03^{Ab}	7.09±0.46^{Af}	5.60±0.31^{Ai}
11	202.37±0.95^{Ak}	115.48±2.87^{Bk}	2.76±0.02^{Ab}	2.67±0.03^{Ab}	7.26±0.47^{Afg}	5.06±0.33^{Ai}
12	195.09±2.84^{Al}	105.29±2.21^{Bl}	2.78±0.04^{Aa}	2.72±0.03^{Aa}	6.52±0.88^{Ag}	5.07±0.33^{Ai}

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนระหว่าง 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียส แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

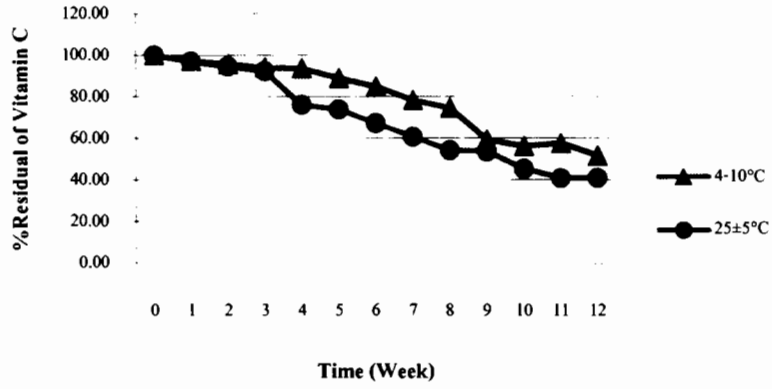
[2/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



(a)



(b)



(c)

ภาพที่ 4.17 ร้อยละการคงเหลือของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง เมื่อเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส และ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน

(a) คือ ร้อยละการคงเหลือของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

(b) คือ ร้อยละการคงเหลือของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด

(c) คือ ร้อยละการคงเหลือของปริมาณวิตามินซี

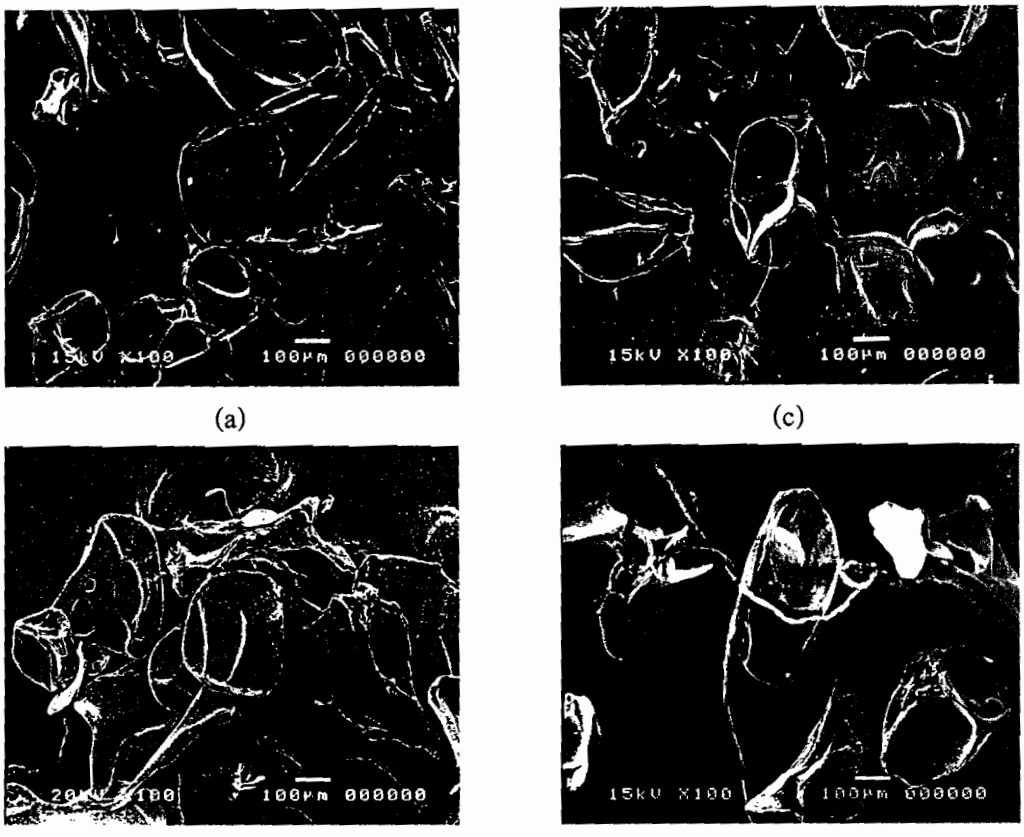
นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Saenz et al. (2009) ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตไมโครเอนแคปซูลจากสารสกัด cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) ด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไมโครเอนแคปซูล และทำการเก็บรักษาไมโครเอนแคปซูลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 44 วันพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไป ในทำนองเดียวกันกับการศึกษาของ Ghaffar et al. (2012) เกี่ยวกับผลของพีเอชต่อการควบคุมการปลดปล่อยสารของเอนแคปซูลสารไรโบฟลาวิน (riboflavin) ที่ใช้วิธีไฮโดรเจลโดยมีแอลจิเนตเป็นสารเคลือบ ซึ่งสารไรโบฟลาวินหรือวิตามินบี 2 (Vitamin B2) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ทำการเก็บรักษาเอนแคปซูลในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน พบว่า ร้อยละการปลดปล่อยไรโบฟลาวินเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อเวลาผ่านไป และเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 99 เมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน แสดงว่าในการเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาส่งผลโดยตรงกับการปลดปล่อยสารไรโบฟลาวิน แต่อย่างน้อยก็ทำให้เห็นว่ากระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารสำคัญไว้ได้

การศึกษาอายุการเก็บรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางบ่งบอกได้ว่ากระบวนการเอนแคปซูลสามารถยืดอายุการเก็บรักษาสารสำคัญไว้ได้มากกว่า 3 เดือน แต่สิ่งที่บ่งบอกได้ถึงความคงตัวของเอนแคปซูลได้ดีอีกอย่างหนึ่งคือ การเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูล จึงได้มีการตรวจสอบโครงสร้างของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางระหว่างการเก็บรักษาด้วย

ในการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่สภาวะต่างกันยังส่งผลต่อโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางอีกด้วย โดยแสดงดังภาพที่ 4.18 และ 4.19 โดยจะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีลักษณะการหดตัวน้อยกว่าการเก็บรักษาที่ 25-30 องศาเซลเซียส โดยลักษณะการหดตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจะเกิดขึ้นที่บริเวณผิวหน้าของเอนแคปซูล เมื่อระยะเวลาผ่านไปเอนแคปซูลที่เก็บรักษาไว้ที่ 25-30 องศาเซลเซียส มีผิวหน้าที่มีรอยย่นมากขึ้นเรื่อยๆ แต่จะเห็นได้ว่าที่ผิวหน้าของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่สภาวะการเก็บรักษาทั้งสองไม่เกิดการแตกร้าว แสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตเอนแคปซูลสามารถห่อหุ้มสารสกัดจากใบย่านางไว้ได้โดยไม่ทำให้เกิดการสูญเสียจากการแตกร้าวหรือแตกหักของเอนแคปซูลระหว่างกระบวนผลิต ในกรณีของการหดตัวของเอนแคปซูลอาจเกิดได้จากการสูญเสียน้ำภายในเอนแคปซูลในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งอาจจะส่งผลถึงการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่เก็บรักษาที่ 25-30 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิสูงจะส่งผลโดยตรงกับการสูญเสียน้ำและการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูล จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับ

การศึกษาของ George and Abraham (2007) ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยโปรตีนในเอนแคปซูลยา โดยใช้วิธีไฮโดรเจลที่มีแอลจิเนตร่วมกับกัวร์กัม (guar gum) เป็นสารเคลือบ ทำการศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูล โดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบลมร้อน วิธีอบแห้งแบบระเหิด และวิธีอบลมร้อนร่วมกับวิธีอบแห้งแบบระเหิดพบว่า เมื่อผ่านการอบด้วยวิธีต่างๆที่ผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะย่นและหดตัวลงเมื่อเปรียบเทียบกับเอนแคปซูลที่ยังไม่ผ่านการอบแห้ง โดยเฉพาะวิธีอบแห้งที่ใช้วิธีอบลมร้อนร่วมกับวิธีอบแห้งแบบระเหิดที่ผิวหน้ามีลักษณะหดตัวมากและเกิดรูพรุน เนื่องจากการสูญเสียน้ำระหว่างกระบวนการอบแห้ง แสดงให้เห็นว่าการสูญเสียน้ำในเอนแคปซูลมีผลอย่างมากต่อลักษณะโครงสร้างภายนอก

นอกจากนี้ในการศึกษาของ Chang and Dobashi (2003) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบเอนแคปซูลเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารกลุ่มน้ำมันหอมระเหย โดยศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการทำแห้ง ซึ่งทำแห้งโดยการใช้เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อผ่านการอบแห้งเอนแคปซูลจะมีขนาดลดลงและผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะหดตัวลงเช่นกัน รวมทั้งยังมีการศึกษาของ Aranaz et al. (2009) ที่ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจาก *Agrobacterium radiobacter* โดยใช้แอลจิเนตร่วมกับไคโตซานเป็นสารเคลือบ ได้ศึกษาโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลที่ยังไม่ผ่านการทำแห้ง และผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบระเหิด พบว่า เอนแคปซูลที่ผ่านการทำแห้งจะมีลักษณะเล็กลง และเกิดจุดการหดตัวที่ผิวหน้าซึ่งเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการทำแห้งเพื่อดึงน้ำออกจากเอนแคปซูล



ภาพที่ 4.18 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

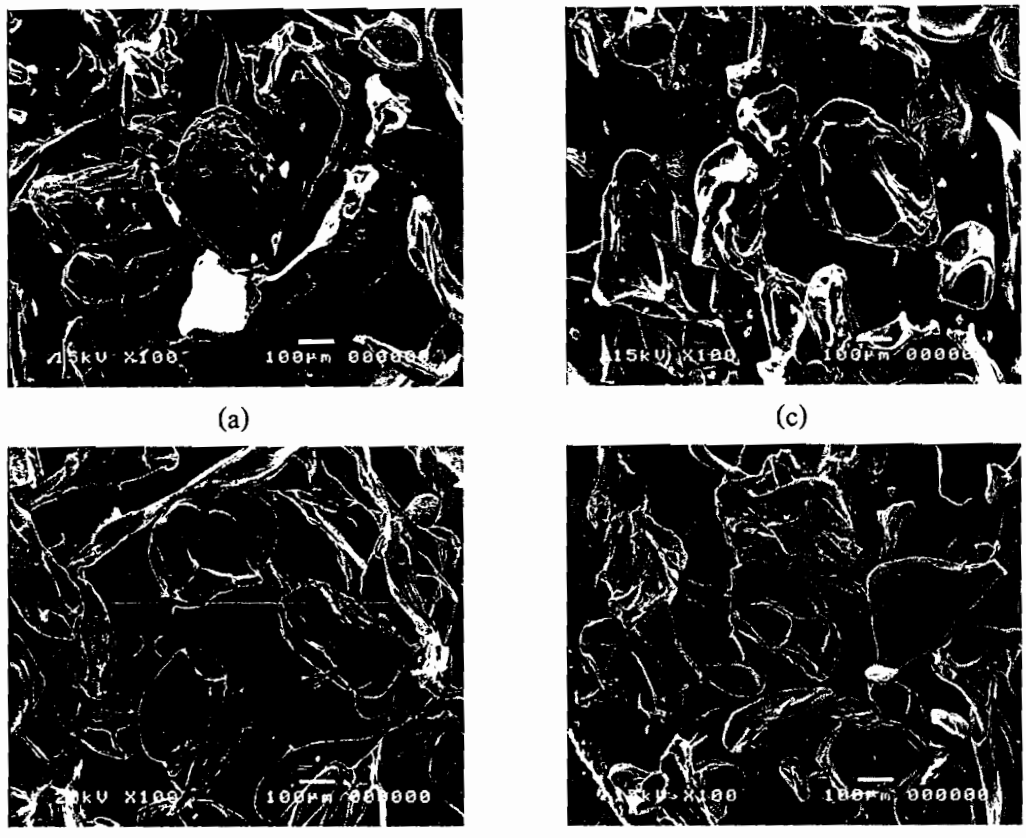
(a) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 0

(b) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 4

(c) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 8

(d) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 12

ในระหว่างการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และลักษณะโครงสร้างภายนอก ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Hunt et al. (2010) ได้ศึกษาโครงสร้างของเอนแคปซูลเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) โดยใช้วิธีไฮโดรเจลมีแอลจิเนตเป็นสารเคลือบพบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน เมื่อระยะเวลาผ่านไปโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลมีขนาดลดลง แสดงถึงการหดตัวของเอนแคปซูลเนื่องจากการสูญเสียน้ำและจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยที่เหลือลดลงระหว่างการเก็บรักษา จะเห็นว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงมีผลต่อลักษณะโครงสร้างของเอนแคปซูลจึงควรเก็บรักษาที่สภาวะเหมาะสม



(a) (c)

(b) (d)

ภาพที่ 4.19 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเก็บรักษาที่ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา12 สัปดาห์

(a) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 0

(b) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 4

(c) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 8

(d) คือ การเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 12

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า กระบวนการเอนแคปซูลสามารถป้องกันการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากใบย่านางได้ การลดลงของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าร้อยละ 50 เมื่อเวลาผ่านไปนาน 3 เดือน รวมทั้งร้อยละการคงเหลือของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีมากกว่าร้อยละ 50 เช่นกัน ในการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางควรเก็บรักษาที่ 4-10 องศาเซลเซียสเพื่อให้สามารถรักษาโครงสร้างของเอนแคปซูลไว้

4.3 ผลการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

จากการศึกษาเบื้องต้นสามารถบอกได้ว่ากระบวนการเอนแคปซูลด้วยวิธีไฮโดรเจลที่มีแอลจิเนตเป็นสารเคลือบ สามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบย่านางไว้ได้และยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 3 เดือน ซึ่งเป็นการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงการค้าทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมยา แต่ก่อนจะนำไปใช้ได้ต้องมีการตรวจสอบเพิ่มเติม อาทิเช่น การทดสอบความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญในสภาวะต่างๆ ที่สำคัญคือการทดสอบความเป็นไปได้ในการปลดปล่อยสารในร่างกายมนุษย์ในระบบการย่อย Shargel et al. (2004) กล่าวว่าโดยปกติแล้วในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract ; GI tract) ของมนุษย์ตามธรรมชาติจะเกิดการย่อยที่กระเพาะอาหารซึ่งมีค่าพีเอชประมาณ 1.2 โดยใช้เวลาในการย่อยหลังจากกลืนอาหาร 30 นาทีจนถึง 3 ชั่วโมง และเกิดการดูดซับสารอาหารที่ลำไส้เล็กซึ่งมีพีเอชประมาณ 7.4 โดยใช้เวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง จึงมีการศึกษาการปลดปล่อยของสารสำคัญในสภาวะพีเอชจำลองในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาผลของพีเอชที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเท่านั้น โดยกำหนดให้อุณหภูมิอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิโดยทั่วไปในร่างกายมนุษย์ เพื่อให้ทราบถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมยาต่อไป

จากผลการทดลองจะเห็นว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจะถูกปลดปล่อยออกมาได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากไม่เหลือสารให้ปลดปล่อยแล้ว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าพีเอชที่ 1.2 และ 7.4 จะเห็นว่าที่พีเอช 1.2 จะมีการปลดปล่อยปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าที่พีเอช 7.4 นั้นหมายความว่าที่พีเอช 1.2 ซึ่งเป็นสภาวะการจำลองพีเอชที่กระเพาะอาหารสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางได้น้อยกว่าที่พีเอช 7.4 แสดงดังตารางที่ 4.7 และ 4.8 เนื่องจากโดยปกติแล้วแอลจิเนตจะเกิดการหดตัวที่พีเอชต่ำ (สภาพแวดล้อมพีเอชในกระเพาะอาหาร) ทำให้โครงสร้างของเจลแอลจิเนตจับกันแน่นขึ้น และส่งผลทำให้การปลดปล่อยสารเกิดได้ยากขึ้น (Chen et al., 2004)

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ถูกปลดปล่อยภายในเวลา 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g encapsule)		คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g encapsule)		ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g encapsule)	
	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4
0	1.12±0.03$^{a/1}$	1.12±0.03^{a}	64.99±2.83^{a}	64.41±4.28^{a}	100.42±6.00^{a}	97.47±7.62^{a}
1	1.09±0.01^{ab}	0.98±0.16^{ab}	61.77±5.16^{a}	60.03±3.46^{b}	88.32±8.55^{ab}	87.98±0.57^{b}
2	1.04±0.07^{ac}	0.87±0.18^{bc}	57.07±6.56^{ab}	51.21±4.06^{c}	81.12±8.90^{b}	79.81±2.47^{c}
3	0.93±0.09^{abcd}	0.76±0.14^{cd}	52.75±9.00^{ab}	46.57±4.06^{d}	75.89±8.34^{bcbc}	70.00±6.00^{d}
4	0.79±0.17^{bcde}	0.65±0.03^{de}	47.34±10.16^{bc}	40.71±2.67^{e}	68.03±8.23^{c}	63.13±5.75^{d}
5	0.74±0.21^{cde}	0.55±0.06^{ef}	43.16±11.58^{bcd}	35.36±1.58^{f}	55.61±8.35^{d}	53.97±5.19^{e}
6	0.64±0.29^{def}	0.44±0.01^{gh}	38.45±10.60^{cde}	29.89±2.33^{g}	48.08±11.14^{d}	45.47±8.46^{f}
7	0.54±0.24^{ef}	0.37±0.01^{h}	32.46±12.58^{de}	21.58±2.25^{h}	31.40±10.61^{e}	35.65±5.58^{g}
8	0.40±0.18^{fg}	0.27±0.01^{hi}	27.57±9.39^{e}	17.97±3.54^{hi}	25.19±5.91^{e}	25.84±4.84^{h}
10	0.16±0.06^{g}	0.16±0.06^{i}	26.15±6.61^{e}	14.43±0.29^{i}	25.84±7.36^{e}	21.26±1.50^{h}
12	0.15±0.06^{g}	0.16±0.04^{i}	25.64±6.78^{e}	13.65±0.56^{i}	24.86±5.75^{e}	20.94±1.50^{h}
14	0.16±0.08^{g}	0.18±0.05^{i}	25.51±6.27^{e}	13.98±1.45^{i}	24.53±5.10^{e}	20.28±1.50^{h}
16	0.16±0.05^{g}	0.15±0.06^{i}	25.19±5.63^{e}	15.46±0.89^{i}	25.19±4.64^{e}	20.28±0.57^{h}
18	0.15±0.07^{g}	0.17±0.05^{i}	24.74±6.68^{e}	13.27±0.11^{i}	23.55±5.19^{e}	20.28±1.13^{h}
20	0.15±0.07^{g}	0.16±0.06^{i}	24.99±5.82^{e}	15.08±1.34^{i}	23.88±6.53^{e}	20.94±1.13^{h}
22	0.15±0.06^{g}	0.16±0.04^{i}	23.64±4.29^{e}	14.17±0.87^{i}	22.57±4.28^{e}	21.92±1.50^{h}
24	0.15±0.07^{g}	0.15±0.08^{i}	23.83±3.20^{e}	13.92±0.33^{i}	23.55±5.97^{e}	20.28±1.50^{h}

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Ghaffar et al. (2012) เกี่ยวกับผลของพีเอชต่อการควบคุมการปลดปล่อยสารของเอนแคปซูลสารไรโบฟลาวินที่ใช้วิธีไฮโดรเจลโดยมีแอลจิเนตเป็นสารเคลือบ เปรียบเทียบระหว่างพีเอช 1.2 และพีเอช 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า เอนแคปซูลสารไรโบฟลาวินที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 1.2 มีการปลดปล่อยสารได้น้อยกว่าเอนแคปซูลที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 เนื่องจากที่พีเอช 7.4 มีลักษณะเป็นด่างมากกว่าส่งผลทำให้การจับกันระหว่าง carboxyl group เกิดขึ้นได้น้อย นอกจากนี้มีการศึกษาของ George and Abraham (2007) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการ

ปลดปล่อยโปรตีนในเอนแคปซูลยา โดยใช้วิธีไฮโดรเจลมีแอลจิเนตร่วมกับกัวร์กัมเป็นสารเคลือบ โดยดูผลการปลดปล่อยของสารในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหารที่พีเอช 1.2 และพีเอช 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า อัตราการพองตัวของเอนแคปซูลที่พีเอช 1.2 มีค่าน้อยกว่าที่พีเอช 7.4 จึงส่งผลให้การปลดปล่อยสารที่พีเอช 1.2 มีค่าน้อยกว่าที่พีเอช 7.4 ด้วย เนื่องจากที่พีเอชต่ำแอลจิเนตเกิดการหดตัวทำให้การพองตัวน้อยลง การปลดปล่อยของสารทำได้เพียงร้อยละ 20 ของสารเริ่มต้น ในขณะที่พีเอช 7.4 มีอัตราการพองตัวมากกว่าจึงทำให้สามารถปลดปล่อยสารได้มากถึงร้อยละ 90 นอกจากนี้มีการศึกษาของ Yoo et al. (2006) เกี่ยวกับการผลิตไมโครเอนแคปซูลสารโทโคฟีรอลโดยใช้โซเดียมแอลจิเนตเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสาร โดยทดสอบความสามารถในการปลดปล่อยสารในระบบร่างกายมนุษย์จำลองที่พีเอช 1.2 และพีเอช 7.4 โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงพบว่า การปลดปล่อยของสารที่พีเอช 1.2 มีค่าน้อยกว่าที่พีเอช 7.4 โดยที่พีเอช 7.4 สามารถปลดปล่อยสารได้ถึงร้อยละ 81.5 ในขณะที่พีเอช 1.2 สามารถปลดปล่อยสารได้เพียงร้อยละ 28.8 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากไมโครเอนแคปซูลที่ใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบมีความคงตัวในสภาวะที่เป็นกรดแต่เกิดการพองตัวง่ายและไม่คงตัวภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง การปลดปล่อยที่พีเอช 7.4 จึงมีมากกว่า

เมื่อนำปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ถูกปลดปล่อยมาเปรียบเทียบกันเมื่อระยะเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงจะพบว่า สารในกลุ่มรงควัตถุคือ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดและปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีร้อยละการปลดปล่อยที่พีเอช 1.2 น้อยกว่าพีเอช 7.4 แสดงดังภาพที่ 4.20 ซึ่งมีผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Yi et al. (2002) เกี่ยวกับการผลิตเอนแคปซูลสารคลอโรฟิลล์ที่เป็นสารไม่มีขั้วโดยใช้วิธีไฮโดรเจลมีแอลจิเนตเป็นสารเคลือบ โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะผลิตเอนแคปซูลที่ต่างกัน คือ สภาวะที่ควบคุมพีเอชให้อยู่ประมาณ 8 และสภาวะที่ไม่ควบคุมพีเอช พบว่า ที่สภาวะพีเอช 8 มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ควบคุมพีเอช เนื่องจากที่พีเอชสูงขึ้นเป็นการเพิ่มประจุลบ (anionic) ให้กับระบบ การจับกันระหว่างแอลจิเนตและประจุบวกของแคลเซียมลดน้อยลง จึงทำให้เจลแอลจิเนตไม่แข็งแรง อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่มีพีเอชต่ำและพีเอชสูง จึงมีการศึกษาต่อไปของ Zvonar et al. (2010) เกี่ยวกับการผลิตไมโครเอนแคปซูลเพื่อเพิ่มความคงตัวให้กับระบบอิมัลชัน โดยใช้วิธีไฮโดรเจลมีแอลจิเนตร่วมกับไคโตซานเป็นสารเคลือบ ซึ่งควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญที่พีเอช 3 และพีเอช 6.8 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่า ที่พีเอช 6.8 มีปริมาณการปลดปล่อยสารเร็วกว่าที่พีเอช 3 ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่าที่พีเอชสูงกว่าจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญในเอนแคปซูลได้ดีกว่าที่พีเอชต่ำ

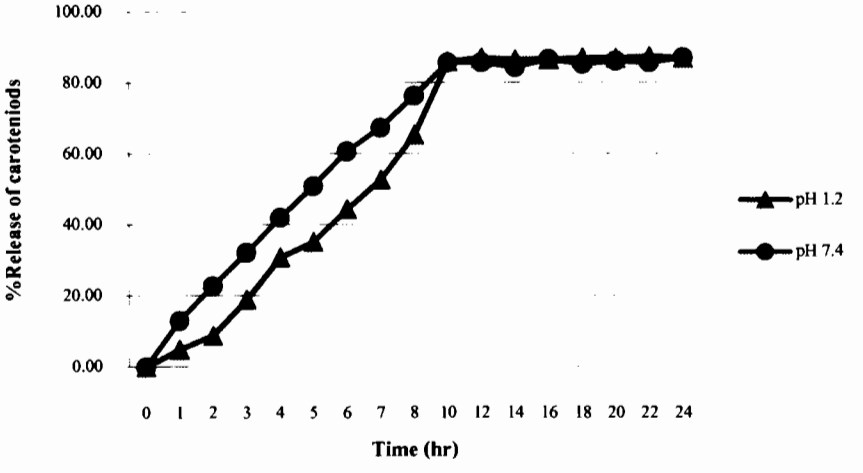
ตารางที่ 4.8 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ถูกปลดปล่อยภายในเวลา 24 ชั่วโมง (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g encapsule)		IC_{50} (mg/g encapsule)		วิตามินซี (mg/100g encapsule)	
	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4	พีเอช 1.2	พีเอช 7.4
0	268.31±8.88$^{a1/}$	416.39±10.34^{a}	0.79±0.37^{b}	0.81±0.37^{b}	19.45±2.40^{a}	20.37±4.01^{a}
1	260.48±8.55^{a}	345.54±18.31^{ab}	0.79±0.34^{b}	0.82±0.42^{b}	16.67±2.78^{b}	16.85±4.78^{ab}
2	238.80±10.48^{a}	295.45±21.58^{ab}	0.79±0.32^{b}	0.82±0.36^{b}	14.54±1.28^{bc}	14.44±4.47^{abc}
3	217.85±9.94^{a}	242.81±13.98^{ab}	0.80±0.35^{b}	0.82±0.38^{b}	12.87±1.12^{cd}	12.59±3.70^{bcd}
4	212.20±10.07^{ab}	224.04±13.29^{ab}	0.81±0.37^{b}	0.82±0.36^{b}	11.21±0.80^{de}	11.35±3.70^{cd}
5	193.08±8.60^{b}	156.47±13.98^{ab}	0.82±0.36^{b}	0.83±0.40^{b}	10.37±0.80^{def}	10.06±3.56^{cd}
6	144.63±12.77^{b}	152.46±13.88^{ab}	0.82±0.36^{b}	0.84±0.41^{b}	9.22±1.19^{efg}	8.73±2.83^{d}
7	117.67±13.34^{b}	134.61±15.73^{ab}	0.82±0.36^{b}	0.86±0.42^{b}	8.72±1.10^{efg}	7.75±2.85^{d}
8	95.08±11.02^{bc}	85.98±11.80^{b}	0.92±0.45^{b}	0.88±0.45^{b}	7.98±1.45^{fg}	7.04±3.31^{d}
10	69.58±8.75^{c}	79.78±10.45^{b}	1.02±0.57^{b}	1.05±0.61^{ab}	7.40±0.95^{g}	6.69±3.11^{d}
12	65.76±8.52^{c}	77.42±10.22^{b}	1.13±0.55^{ab}	1.12±0.53^{ab}	7.38±1.01^{g}	6.29±3.21^{d}
14	65.21±8.44^{c}	77.05±10.22^{b}	1.33±0.40^{ab}	1.19±0.62^{ab}	7.15±1.20^{g}	6.29±3.11^{d}
16	67.04±8.44^{c}	77.78±10.07^{b}	1.46±0.42^{ab}	1.49±0.54^{ab}	7.09±1.44^{g}	6.16±3.08^{d}
18	64.66±8.37^{c}	75.41±9.99^{b}	1.49±0.42^{a}	1.56±0.55^{ab}	6.93±1.23^{g}	6.30±3.45^{d}
20	64.30±8.42^{c}	75.96±10.17^{b}	1.58±0.44^{a}	1.80±0.89^{ab}	6.85±1.44^{g}	6.41±3.35^{d}
22	64.30±8.26^{c}	75.41±9.99^{b}	1.63±0.30^{a}	1.93±0.62^{ab}	6.64±1.66^{g}	6.20±3.05^{d}
24	63.75±8.24^{c}	76.69±10.02^{b}	1.68±0.33^{a}	2.25±0.31^{a}	6.42±1.57^{g}	6.40±3.48^{d}

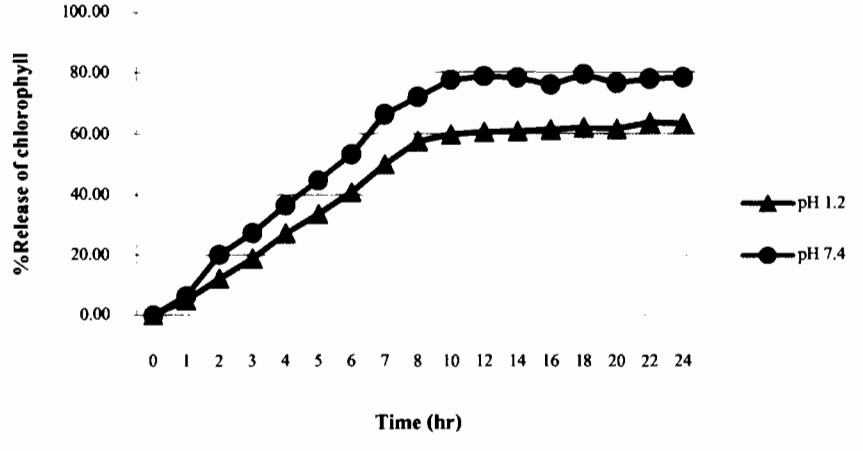
$^{1/}$ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ส่วนร้อยละการปลดปล่อยของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มอื่นคือปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด และปริมาณวิตามินซี จะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันกับปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด แสดงดังภาพที่ 4.21 จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปร้อยละการปลดปล่อยของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะเพิ่มมากขึ้น และเพิ่มมากที่พีเอช 7.4 แสดงให้เห็นว่าที่พีเอช 7.4 สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากกว่าเมื่อเวลาผ่านไป

สอดคล้องกับการศึกษาของ Gao et al. (2009) เกี่ยวกับการผลิตเอนแคปซูลโดยใช้วิธีไฮโดรเจลและใช้แอลจิเนตเป็นสารเคลือบ และพิจารณาความคงตัวของเอนแคปซูล โดยศึกษาการจำลองสภาวะในลำไส้เล็กที่พีเอช 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมงต่อความคงตัวของเอนแคปซูลพบว่า เอนแคปซูลที่ใช้แอลจิเนตอย่างเดียวที่พีเอช 7.4 มีอัตราการพองตัวมากกว่าตัวอย่างที่ใช้แอลจิเนตที่ผ่านการออกซิไดซ์ เนื่องจากเมื่อแอลจิเนตผ่านการออกซิไดซ์ความสามารถในการจับกันระหว่างไอออนของแคลเซียมกับกลุ่มของคาร์บอกซิลของแอลจิเนตจะเพิ่มมากขึ้นทำให้เจลแอลจิเนตมีความแข็งแรงมากกว่าการใช้แอลจิเนตเพียงอย่างเดียวที่สภาวะเป็นด่าง (พีเอช 7.4) แต่ทำให้ความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญลดลง

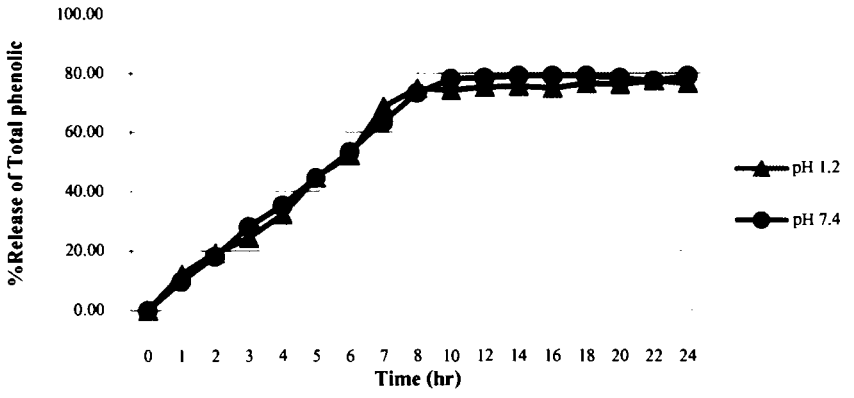


(a)

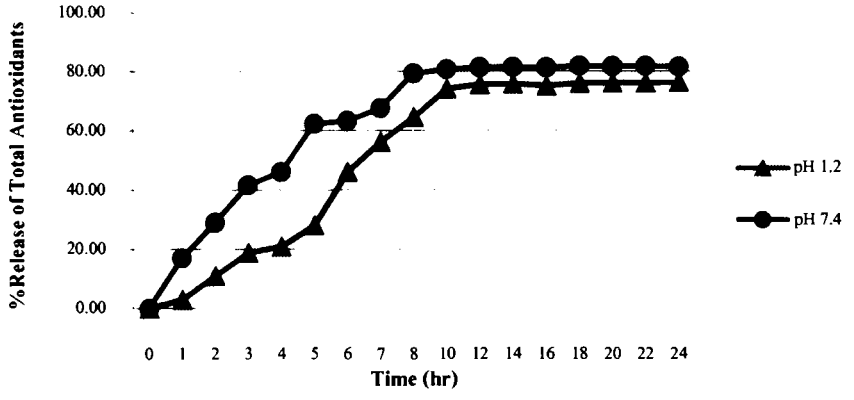


(b)

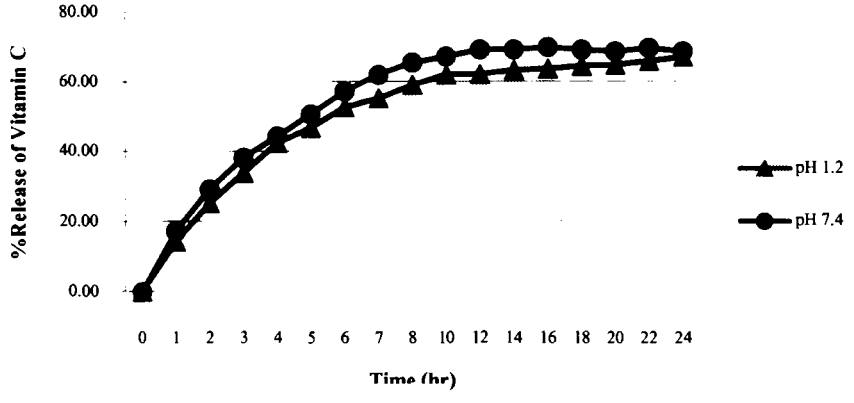
ภาพที่ 4.20 ร้อยละการปลดปล่อยพีเอช 1.2 และ 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
(a) คือ ร้อยละการปลดปล่อยปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด
(b) คือ ร้อยละการปลดปล่อยปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด



(a)



(b)



(c)

ภาพที่ 4.21 ร้อยละการปลดปล่อยพีเอช 1.2 และ 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(a) คือ ร้อยละการปลดปล่อยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

(b) คือ ร้อยละการปลดปล่อยปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด

(c) คือ ร้อยละการปลดปล่อยปริมาณวิตามินซี

นอกจากนั้น Wang et al. (2010) ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดโปรตีนในข้าวบาร์เลย์ (barley protein) ที่อยู่ในรูปของนาโนเอนแคปซูล โดยศึกษาความสามารถในการปลดปล่อยสารเบต้า-แคโรทีนที่พีเอช 2.0 และพีเอช 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงพบว่า การปลดปล่อยของสารเบต้า-แคโรทีนเกิดขึ้นที่พีเอช 7.4 มากกว่าพีเอช 1.2 ซึ่งจะเห็นว่าเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง การปลดปล่อยที่พีเอช 7.4 มีการปลดปล่อยสารเบต้า- แคโรทีนมากที่สุด สอดคล้องกับระบบการย่อยในลำไส้เล็กที่จะทำการย่อยหรือดูดซับสารอาหารได้มากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 3-4 ชั่วโมง (Shargel et al., 2004)

โดยปกติแล้วในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ตามธรรมชาติจะเกิดการย่อยที่กระเพาะอาหารซึ่งมีค่าพีเอชประมาณ 1.2 โดยใช้เวลาในการย่อยหลังจากกลืนอาหาร 30 นาทีจนถึง 3 ชั่วโมงและเกิดการดูดซับสารอาหารที่ลำไส้เล็กซึ่งมีพีเอชประมาณ 7.4 โดยใช้เวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง (Shargel et al., 2004) จากร้อยละการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจะเห็นว่า การจำลองพีเอชในระบบทางเดินอาหาร เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถปลดปล่อยที่กระเพาะอาหาร (พีเอช 1.2) ได้เพียงร้อยละ 20-30 และยังคงเหลือที่สามารถดูดซึมที่ลำไส้เล็ก (พีเอช 7.4) ได้ถึงร้อยละ 50-60 ซึ่งแสดงว่าหากนำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์อาหารจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ดีที่สำไส้เล็กเพื่อให้สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ต่อไป

4.4 ผลการศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม

4.4.1 ผลการศึกษาผลของพีเอชต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

ในปัจจุบันคนส่วนใหญ่นิยมหันกลับมาบริโภคอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพมากขึ้น เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมและมีความแตกต่างจากเครื่องดื่มทั่วไปจะเรียกว่า soft drink เป็นเครื่องดื่มที่ไม่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์และเป็นแหล่งให้พลังงาน (Brenna et al., 2009) โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท soft drink จะมีพีเอชค่อนข้างต่ำ (ประมาณพีเอช 4 หรือต่ำกว่า) ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายมีความสำคัญมากโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม เนื่องจากเป็นส่วนช่วยให้เกิดความสมดุลของรสชาติ (Hansson et al., 2001) นอกจากนี้หากมีการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากธรรมชาติจะเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มมูลค่าให้กับเครื่องดื่มประเภท soft drink ได้ จึงได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมาประยุกต์ในผลิตภัณฑ์ประเภท soft drink

จากผลการทดลองการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยทำการศึกษาที่พีเอช 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ซึ่งค่าพีเอช 2-4 เป็นพีเอชในผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้ ส่วนที่พีเอช 5-7 เป็นพีเอชทั่วไปในผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผักหรือน้ำสมุนไพร พบว่าที่พีเอช 4 จะมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุดแสดงดังตารางที่ 4.9 เนื่องจากที่พีเอชต่ำเจลแอลจิเนตจะมีการหดตัว ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบย่านางถูกละลายออกมาได้น้อย แต่เมื่อพีเอชสูงขึ้นการพองตัวของเอนแคปซูลจะเพิ่มมากขึ้น (Chen et al., 2004) ส่งผลทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบย่านางถูกละลายออกมาได้มากขึ้น แต่เมื่อพีเอชสูงกว่า 4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบย่านางถูกละลายออกมาได้น้อยลง อาจเนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ใช้อุณหภูมิห้องในการศึกษา เมื่อพีเอชสูงกว่า 4 แต่ไม่มีอุณหภูมิเป็นตัวเร่งการละลายเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางจึงอาจทำให้การละลายน้อยลง และส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบย่านางถูกละลายออกมาจากเอนแคปซูลได้น้อยลงด้วย ซึ่งจะเห็นว่า เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท soft drink ได้ และมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Hansson et al. (2001) ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยสารประเภทให้กลิ่นรส (flavor compound) ในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท soft drinks ที่พีเอช 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่าเมื่อเติม citric acid ปริมาณ 0.002 กรัม ในระบบของผลิตภัณฑ์อาหารประเภท soft drinks ทำให้ระบบที่มีพีเอชเป็น 4 จะมีการปลดปล่อยของสารกลุ่ม ethyl hexanoate, isopentyl acetate, cis-3-hexenyl acetate และ limonene มากที่สุด นอกจากผลของพีเอชต่อความคงตัวของเอนแคปซูลแล้วหากต้องการนำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางคือ อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารประเภทนั้นๆ โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม จึงได้มีการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง เพื่อแสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ระดับพีเอชต่างๆ

พีเอช	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g encapsule)	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g encapsule)	ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g encapsule)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g encapsule)	IC_{50} (mg/g encapsule)	วิตามินซี (mg/100g encapsule)
2	51.27±0.47$^{c1/}$	15.99±0.20^{d}	57.03±1.39^{d}	191.99±1.55^{c}	8.13±0.01^{c}	10.69±0.59^{cd}
3	56.20±0.66^{b}	17.49±0.27^{c}	72.76±1.39^{b}	224.77±1.03^{b}	8.00±0.00^{d}	14.17±1.57^{b}
4	61.00±0.09^{a}	28.07±0.48^{a}	90.46±5.56^{a}	263.39±5.16^{a}	7.89±0.02^{e}	18.75±0.98^{a}
5	50.53±1.51^{cd}	19.42±0.41^{b}	79.64±2.73^{b}	225.50±7.73^{b}	8.08±0.03^{c}	12.36±0.98^{bc}
6	49.87±3.39^{cd}	15.99±0.48^{d}	64.90±1.39^{c}	180.70±7.73^{c}	8.86±0.03^{b}	11.25±0.59^{cd}
7	47.07±0.94^{d}	9.66±0.55^{e}	27.04±2.09^{e}	103.10±2.58^{d}	9.66±0.01^{a}	9.17±0.39^{d}

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.2 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มมีอีกหนึ่งขั้นตอนที่มีความสำคัญนั้นคือ ขั้นตอนการฆ่าเชื้อ โดยทั่วไปแล้วกระบวนการฆ่าเชื้อจะมีอยู่ 2 แบบคือ การใช้อุณหภูมิต่ำแต่ระยะเวลานาน (low temperature long time) ที่อุณหภูมิประมาณ 62.5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และการใช้อุณหภูมิสูงแต่ระยะเวลาสั้น (high temperature short time) ที่อุณหภูมิประมาณ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที หรือ 88 องศาเซลเซียส 1 วินาที หรือ 94 องศาเซลเซียส นาน 0.1 วินาที (วิไล รังสาดทอง, 2543) ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของแต่ละผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิประมาณ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ยังคงเหลือปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าที่อุณหภูมิประมาณ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เนื่องจากการใช้เวลาในการฆ่าเชื้อสั้นลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการอาหาร โดยเมื่อเทียบกับเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนพบว่า การฆ่าเชื้อที่ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกับเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางเริ่มต้น ในทางตรงข้ามการฆ่าเชื้อที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากถึงร้อยละ 50 แสดงดังตารางที่ 4.10 ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการฆ่าเชื้อที่เรียกว่า การพาสเจอร์ไรซ์ เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความทนทานต่อความร้อนต่ำเพื่อยืดอายุของผลิตภัณฑ์อาหาร การฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่ำระยะเวลานานไม่เป็นที่นิยมเพราะส่งผลให้เกิดการสูญเสียวิตามินมากกว่ากระบวนการฆ่าเชื้อแบบอุณหภูมิสูงระยะเวลาสั้น เนื่องจากการสัมผัสกับความร้อนเป็นระยะนาน คุณค่าทางโภชนาการของอาหารจะลดลง ในที่นี้หมายถึงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าสูญเสียได้ง่ายจากอุณหภูมิสูง

สอดคล้องกับการศึกษาของ Pernice et al. (2009) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำผลไม้ โดยใช้กระบวนการฆ่าเชื้อ 2 แบบคือ ที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที พบว่าที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคงเหลือมากกว่าอุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นอกจากนี้มีการศึกษาของ Kumar et al. (2009) ได้ศึกษากระบวนการผลิตเอนแคปซูลเพื่อเก็บรักษาสารสกัดจากถั่วเหลืองที่อุดมไปด้วยโปรตีนและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้แอลจิเนตเปรียบเทียบกับไคโตซานเพื่อปรับปรุงการเก็บ

รักษาสารสกัด โดยศึกษาผลของอุณหภูมิจาก 10 องศาเซลเซียสถึง 90 องศาเซลเซียสพบว่า ปริมาณสารสำคัญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และเพิ่มมากที่สุดที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส และลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 75 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่สารสำคัญมีความคงตัวมากที่สุดและไม่ทำให้สารสำคัญสูญเสียไป อุณหภูมิที่สูงขึ้นประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส สามารถทำให้เอนแคปซูลปลดปล่อยสารสำคัญได้มากที่สุด เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ทำให้โครงสร้างของเจลแอลจิเนตมีการคลายตัวและขยายตัวมากกว่าปกติ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 75 องศาเซลเซียส สารสำคัญที่ถูกปล่อยออกมาจะถูกทำลายด้วยอุณหภูมิที่สูง จึงทำให้สารสำคัญมีปริมาณลดลง

จากการศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองของผลิตภัณฑ์อาหารพบว่า เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากที่สุดที่พีเอช 4 แสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ที่เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถนำไปประยุกต์กับผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้ หรือแม้กระทั่งน้ำผักหรือน้ำสมุนไพรที่มีพีเอชอยู่ในช่วง 5-7 ได้ เนื่องจากในช่วงพีเอช 5-7 นั้นเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางก็ยังสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ นอกจากนี้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางคือ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่ม สรุปได้ว่าหากนำเอนแคปซูลไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้สามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารของน้ำผลไม้ และมีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 4.10 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางที่อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อแตกต่างกัน

อุณหภูมิต่อเวลา	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g encapsule)	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g encapsule)	ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g encapsule)	สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (AEAC mg/g encapsule)	IC_{50} (mg/g encapsule)	วิตามินซี (mg/100g encapsule)
65°C:30 min	11.56±0.56	11.18±1.33	24.58±1.97	159.32±28.50	8.58±0.06	5.36±0.29
77°C:1 min	68.67±2.92*[1/]	48.63±5.49*	77.68±8.73*	341.59±41.49*	7.57±0.17*	15.46±1.12*

[1/]ค่าเฉลี่ยที่มีสัญลักษณ์กำกับต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองการศึกษาความเหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง โดยใช้ปัจจัยในการผลิต 3 ปัจจัยคือ อัตราส่วนระหว่างสารสกัดใบย่านาง (สารที่ต้องการกักเก็บ) ต่อแอลจิเนต (สารที่ใช้เคลือบ) ความเข้มข้นของแอลจิเนต และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตเอนแคปซูลและความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยจะทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางได้แก่ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ค่า IC_{50} และปริมาณวิตามินซี กระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางคือ อัตราส่วนระหว่างสารที่ต้องการกักเก็บต่อสารที่ใช้เคลือบ 1.60 ต่อ 8.40 ความเข้มข้นของแอลจิเนตร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 1.00 ของน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งส่งผลให้โครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลดีที่สุดคือ ผิวหน้าของเอนแคปซูลมีลักษณะเรียบ และมีการหดตัวเล็กน้อยแต่ไม่มีการแตกร้าว

เมื่อทำการศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางพบว่า กระบวนการเอนแคปซูลสามารถเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบย่านางไว้ได้ และยืดอายุการเก็บรักษาเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางได้มากกว่า 3 เดือน โดยสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้จากการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองพีเอชในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์พบว่า เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากที่พีเอช 7.4 เปรียบได้กับพีเอชที่ลำไส้เล็กในระบบทางเดินอาหาร และสุดท้ายจากผลการทดลองการศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในระบบผลิตภัณฑ์อาหารจำลองพบว่า พีเอชที่เหมาะสมในการปลดปล่อยสาระสำคัญคือ พีเอช 4 และสภาวะการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีปริมาณคงเหลือมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าหากมีการใช้เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มจะสามารถเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์อาหารได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการศึกษาความคงตัวของเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางควรทำการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบย่านางควบคู่กันไป เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกระบวนการเอนแคปซูลให้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

5.2.2 ในการศึกษาครั้งต่อไปอาจศึกษาในระบบทางเดินอาหารที่มีความเป็นไปได้มากกว่านี้ เช่น การใช้น้ำย่อย หรือให้เอนไซม์ร่วมด้วย

5.2.3 ในการศึกษาการประยุกต์เอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านางในสภาวะจำลองอาหารควรทำการศึกษาในสภาวะที่หลากหลาย

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ. "มหัศจรรย์ย่านางจากซุปหน่อไม้ถึงเครื่องดื่ม", สมุนไพรไทย. http://health-pmk.org/.010-370pdf. ตุลาคม, 2553.

จินดาพร ภูริพัฒนาวงษ์. 2539. เภสัชเวทตำรายาแผนโบราณ. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่. 2551. กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วัลภา ประเสริฐศิลา. 2553. ย่านางคลังยารักษาสรรพโรค. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แบงคอกบุ๊ค.

วิไล รังสาดทอง. 2543. เทคโนโลยีแปรรูปอาหาร: Food Processing Technology. กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ฉรงค์ คำมูล. 2553. ย่านาง สะเดา เพกา สมุนไพรพื้นบ้านต้านมะเร็ง. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ feel good.

บรรจง กิติรัตน์ตระการ. คลอโรฟิลล์. www.pcccr.ac.th/para_nok/parpart_myweb/chlorophyll.pdf. ธันวาคม, 2553.

เบญจา ชุดินทราศรี. เอนแคปซูเลชันและการควบคุมการปลดปล่อยสารให้ กลิ่นรส (Encapsulation and Control Release of Food Flavoring). http://e-book.ram.edu/ebook/f/FY463(50)/FY463-4.pdf. ธันวาคม, 2553.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์และทรงพร จึงมั่นคง. "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด (DPPH Free Radical Scavenging Activity and Total Phenol Compounds Content of Some Thai Medicinal Plant Extracts)", วารสารวิชาการ ม.อบ. 8 (2) : 76-88 ; พฤษภาคม-สิงหาคม, 2549.

สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง และดวงกมล แม้นศิริ. 2011. "การใช้วิตามินซีในการส่งเสริมความทนต่อสภาวะเครียดเกลือในข้าว" ใน The graduate research conference 12th. น.544-533. มหาวิทยาลัยขอนแก่น : ขอนแก่น.

สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. "มาตรฐานของสมุนไพรในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย", วารสารสมุนไพร. 11(1) : 21-32 ; มิถุนายน, 2547.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. รายการเศรษฐกิจการเกษตรเพื่อเกษตรกร. http://www.oae.go.th/pdf.php. กันยายน, 2553.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

A.O.A.C. Official methods of Association of Analytical Chemists 16th ed. 1995. Association of Analytical Chemists. Washington D.C.: Arlington.

Aranaz, I., Acosta, N. and Heras, A. 2009. "Encapsulation of an *Agrobacterium radiobacter* extract containing d-hydantoinaseand d-carbamoylase activities into alginate–chitosan polyelectrolyte complexesPreparation of the biocatalyst", Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 58: 54–64.

Bae, S., and Suh, H. 2007. "Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea", LWT -Food Science and Technology. 40: 955–962.

Bartolo, P.J., Lagoa, R. and Mendes, A. 2003. Solid Freeform Fabrication Symposium Proceedings. Portugal : School of Technology and Management.

Beristain, C.I. and et al. 1996. "Encapsulation of orange peel oil by cocrystallization", LWT-Food Science and Technology. 29: 645–647.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. 1995. "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity", Lebensm.-Qwiss.u-Technol. 28: 25-30.

Brenna, O.V., Ceppi,E.L.M. and Giovanelli, G. 2009. "Antioxidant capacity of some caramel-containing soft drinks", Food Chemistry. 115: 119–123.

Bode, A.M., Cunnongham, L. and Rose, R.C. 1990. "Spontaneous decay of oxidized ascorbic acid (Dehydro-L-ascorbic acid) evaluated by high-pressure liquid chromatography", CLIN.CHEM. 36: 1807-1809.

Barczak, A.M.B. and Kolodziejczyk, P. 2010. "Black currant polyphenols: Their storage stability and Microencapsulation", Industrial Crops and Products.

Candan, N. and Tarhan, L. 2003. "Relationship among chlorophyll-carotenoid content, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg^{2+} deficiency in the *Mentha pulegium* leaves", Plant Physiology and Biochemistry. 41: 35–40.

Chan, E. and et al. 2010. "Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with ca-alginate hydrogel beads", Food and Bioproducts Processing. 88: 195–201.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chan, E.S. 2011. "Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties", Carbohydrate Polymers. 84: 1267–1275.

Chang, C.P. and Dobash, T. 2003. "Preparation of alginate complex capsules containing eucalyptus essential oil and its controlled release", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 32: 257-262.

Cheynier, V. 2005. "Polyphenols in foods are more complex than often thought", Am J Clin Nutr. 81: 223S–229S.

Deladino, L. and et al. 2008. "Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*", Carbohydrate Polymers. 71: 126–134.

Deligkaris, K. and et al. 2010. "Hydrogel-based devices for biomedical applications", Sensors and Actuators B. 147: 765–774.

Ersus, S. and Yurdagel, U. 2007. "Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by spray drier", Journal of Food Engineering. 80: 805–812.

Ferruzzi, M., and Blakeslee, J. 2007. "Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives", Nutrition Research. 27: 1–12.

Gao, C. and et al. 2009. "Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel", Polymer Degradation and Stability. 94: 1405–1410.

Ge, X. and et al. 2009. "Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose", Journal of Food Engineering. 94: 122–128.

George, M. and Abraham, T.E. 2007. "pH sensitive alginate–guar gum hydrogel for the controlled delivery of protein drugs", International Journal of Pharmaceutics. 335: 123–129.

Ghaffar, M.A. and et al. 2012. "pH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled Release", Carbohydrate Polymers. 89: 667– 675.

Gharsallaoui, A. and et al. 2007. "Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview", Food Research International. 40: 1107–1121.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Hansson, A. and et al. 2001. "Effect of changes in pH on the release of flavor compounds from a soft drink-related model system", Food Chemistry. 74: 429-435.

Hu, G. and et al. 2011. "Design synthesis photoluminescence and electrochemiluminescence properties of naphthalimide derivative and its silver complex", Dyes and Pigments. 89: 105-110.

Hunt, N.and et al. 2010. "Encapsulation of fibroblasts causes accelerated alginate hydrogel Degradation", Acta Biomaterialia. 6: 3649–3656.

Javanmardi, J. and et al. 2003. "Antioxidant acidity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accssions*", Food Chemistry. 83: 547-550.

Jayaprakasha, G. And et al. 2007. "Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts", Journal of Food Composition and Analysis. 20: 330–336.

Kwiatkowski, M. Isolation and identification of selected plant dyes http://www.kii.3ntf.uni-lj.si/analchemvoc/2file.php//1HTML/support/poskus.3htm. February, 2010.

Ko, J.A., Koo, S.Y. and Park, H.J. 2008. "Effects of alginate microencapsulation on the fibrinolytic activity of fermented soybean paste (Cheonggukjang) extract", Food Chemistry.111: 921–924.

Kosar, M. and et al. 2007. "Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts", Food Chemistry. 103: 952–959.

Kumar, S., Dwevedi, A. and Kayastha, A.M. 2009. "Immobilization of soybean (*Glycine max*) urease on alginate and chitosan beads showing improved stability: Analytical applications" Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 58: 138–145.

Iqbal, K. and et al. 2004. "Biological Significance of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Human Health – A Review", Pakistan Journal of Nutrition. 3: 5-13.

Lee, Y.H. and et al. 2011. "Layered hydrogel of poly (γ-glutamic acid), sodium alginate, and chitosan:Fluorescence observation of structure and cytocompatibility", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 86: 409–413.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Ma, Y. and Feng, Q. 2011. "Alginate hydrogel-mediated crystallization of calcium carbonate", Journal of Solid State Chemistry. 184: 1008–1015.

Majhenic, L., kerget, M., and Knez, Z. 2007. "Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts", Food Chemistry. 104: 1258–1268.

Mahidol, C., Sahakitpichan, P. and Ruchirawat, S. 1994. "Bioactive natural products from Thai Plants", Pure & Appl. Chem. 66: 2353-2356.

Mohsen, S., and Ammar, A. 2009. "Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts", Food Chemistry. 112: 595-598.

Molyneux, P. 2004. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", Songklanakarin J. Sci. Technol. 26: 211-219.

Muhammad, J. 2008. "Dietary Intake of Selected Common Vegetable Foods and their Total Carotenoids Determination", American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 3: 729-733.

Nanasombat, S., and Teckchuen, N. 2009. "Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables", Journal of Medicinal Plants Research. 3: 443-449.

Nori, M. and et al. 2011. "Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation", LWT -Food Science and Technology. 44: 429-435.

Oliveira, R. G. and et al. 2010. "Assessment and degradation study of total carotenoid and ß-carotene in bitter yellow cassava (*Manihot esculenta Crantz*) varieties", African Journal of Food Science. 4: 148–155.

Oonsivilai, R. and et al. 2007. "Phytochemical profiling and phase II enzyme-inducingproperties of *Thunbergia laurifolia* Lindl. (RC) extracts", Journal of Ethnopharmacology. 114: 300-30.

Ozgen, M., Serce, S., and Kaya, C. 2009. "Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits", Scientia Horticulturae. 119: 275-279.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Packer, L., Rimbach, G. and Virgili, F. 1999. "Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus Maritima*) bark pycnogenol", Free Radical Biology & Medicine. 27: 704–724.

Pavanand. K., Webster, H., and Yomgvanitchit, K. 1989. "Antimalarial acidity of *Tiliacora triandra* Diels against *Plasmodium falciparum in vitro*", Phytotherary research. 3: 215-217.

Peanice, R. and et al. 2009. "Bergamot: A source of natural antioxidant for functionlized fruit juices", Food Chemistry. 112: 545-550.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2000. Antioxidants in food: Practical application. United states of America : Woodhead Publishing Ltd.

Rai, M. and et al. 2009. "The encapsulation technology in fruit plants-A review", Biotechnology Advances. 27: 671–679.

Ramesh, T. and Devasenapathy, P. 2006. "Physiological response of cowpea in a rainfed alfisol ecosystem to the impulse of soil moisture conservation practices", Gen.Appl.Plant Physiology. 32:181-190.

Rocha, G.A., Trindade, C.S.F. and Grosso, C.R.F. 2011. "Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules", food and bioproducts processing.

Saenz, C. and et al. 2009. "Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*)", Food Chemistry. 114: 616–622.

Saiin, C., and Markmee, S. 2003. "Isolation of Anti-malarial Active Compound from Yanang (*Tiliacora triandra* Diels)", Kasetsart Journal (Natural Science). 37: 47-51.

Shahidi, F. 1997. Natural antioxidants Chemistry, Health effects and Applications. United states of America: AOCS Press.

Shargel, L., Wu-Pong, S. and Yu, A.B.C. 2004. Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, 5th. United states of America: McGraw-Hill's ACCESS PHARMACY.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Singthong, J., Ningsanond, S., and Cui, S. 2009. "Extraction and physicochemical characterisation of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves", Food Chemistry. 114: 1301–1307.

Sireeratawong, S. AND ET AL. 2008. "Acute and subchronic toxiciry study of the water extract from *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels in rats", Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 611-619.

Steinbuchel, A. and Rhee, S.K. 2005. Polysaccharide and Polyamides in the food Industry: Properties, Production and Patents. Norway: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Ushimaru, T.and et al. 2006. "Transgenic Arabidopsis plants expressing the rice dehydroascorbate reductase gene are resistant to salt stress", Journal of Plant Physiology. 163: 1179—1184.

Wang, W., Bostic, T.R. and Gu, L. 2010. "Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars", Food Chemistry. 122: 1193–1198.

Wikstrom, J and et al. 2008. "Alginate-based microencapsulation of retinal pigment epithelial cell line for cell therapy", Biomaterials. 29: 869–876.

Wildman, R.E.C.. 2007. Handbook of nutraceuticals and functional foods. United States of America: CRC Press LLC.

Wongas, P., Takeaw, R., and Deerod, O. 2010. "Some phytochemical compounds and antioxidant activity of Thai pungemcy chili genotype during maturity stages", Proceedings of Food Innovation Asia Conference 2010. 1: 284-293.

Yi, Y. and et al. 2002. "Encapsulation of chlorophyllase in hydrophobically modified hydrogel", Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 19–20: 319–325

Yoo, S. and et al. 2006. "Microencapsulation of α-*toropherol* using sodium alginate and its controlled release properties", International Journal of Biological Macromolecules. 38: 25-30.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Zvonar, A. and et al. 2010. "Microencapsulation of self-microemulsifying system: Improving solubility and permeability of furosemide", International Journal of Pharmaceutics. 388: 151–158.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ภาคผนวก ก1 วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูล (Overall Encapsulation Efficiency) ดัดแปลงจากวิธีของ Chan et al. (2010)

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง

1.2 Appendrop

2. วิธีการ

2.1 ชั่งน้ำหนักของสารสกัดที่ใช้ในการผลิตเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง

2.2. ชั่งน้ำหนักของเม็ดบีดส์ที่ผลิตได้

2.3 ประสิทธิภาพโดยรวมของการผลิตเอนแคปซูลหาได้จากการคำนวณตามสมการที่ 9

$$\text{Overall Encapsulation Efficiency} = \frac{m_{Eb}}{m_b} \qquad (9)$$

โดย m_{Eb} คือ น้ำหนักของสารสกัดที่ใช้ผลิตเม็ดบีดส์ (กรัม)

m_b คือ น้ำหนักของเม็ดบีดส์ที่ได้ (กรัม)

ภาคผนวก ก2 วิธีวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างภายนอกด้วยวิธี Scanning Electron Microscopy (SEM) รุ่น JEOL JSM 5410-LV ดัดแปลงจากวิธีของ Ko et al. (2008) และ Saenz et al. (2009)

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) รุ่น JEOL JSM 5410-LV

1.2 เครื่อง Super coater ใช้ในการฉาบทอง

1.3 เทปคาร์บอน

1.4 สตับ (stub) ใช้ในการวางตัวอย่าง

1.5 ลูกยางเป่าลม

2. วิธีการ

2.1 เตรียมตัวอย่างโดยติดเทปคาร์บอนบนสตับ วางตัวอย่าง กดตัวอย่างเล็กน้อยเพื่อให้ตัวอย่างติดแน่นขึ้น ใช้ลูกยางเป่าตัวอย่างที่ไม่ติดออก

2.2 นำสตับที่ติดตัวอย่างแล้วไปฉาบทองด้วยเครื่อง Super coater ก่อนการศึกษาโดยใช้เวลาประมาณ 4 นาที

2.3 นำไปสังเกตุโครงสร้างภายนอกของเอนแคปซูลด้วย เทคนิค Scanning Electron Microscopy (SEM) ที่กำลังกระแสไฟฟ้า (Voltage) 20 kV. และทำการถ่ายภาพตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

ภาคผนวก ข1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) ด้วยวิธี Folin-caicalteu method ดัดแปลงจากวิธีของ Oonsivilai et al. (2007)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 Folin-caicalteu reagent

1.2 gallic acid

1.3 Na_2CO_3

1.4 ไมโครปิเปต

1.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงและ cuvette

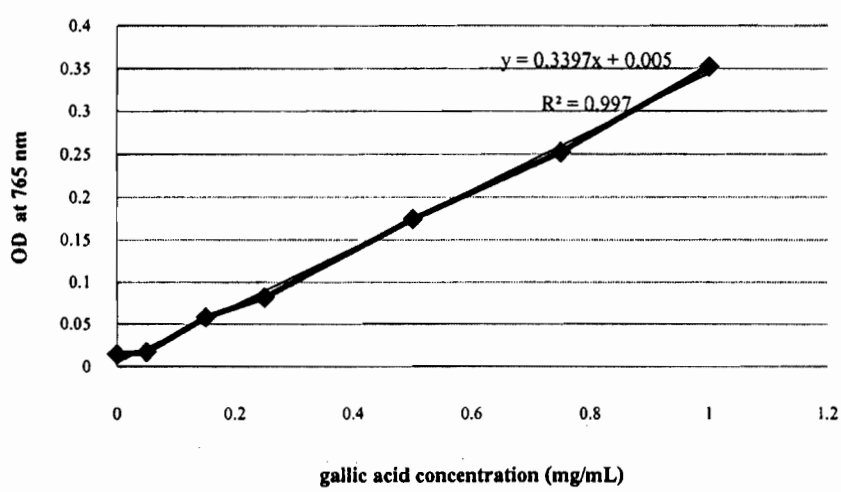
2. วิธีการ

2.1 ใช้เอนแคปซูลสารสกัดใบย่านางปริมาณ 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร

2.2 ใช้สารละลายเอนแคปซูลจำนวน 20 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นจำนวน 1.58 มิลลิลิตร และเติม Folin-caicalteu reagent ปริมาณ 100 ไมโครลิตร

2.3 ทำการผสมตัวอย่างและบ่มในที่มืดนาน 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 (ความเข้มข้นร้อยละ 2 w/v)

2.4 ทำการผสมตัวอย่างและบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการคำนวณค่าโดยเปรียบเทียบจากสารมาตรฐาน



ภาพที่ ผ.1 กราฟมาตรฐาน gallic acid

ภาคผนวก ข2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (Total antioxidant) ด้วยวิธี DPPH assay ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 สาร DPPH (2,2-diphynyl-1-picrylhydrazy)

1.2 เมทานอล

1.3 ascorbic acid

1.4 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง และ cuvette

1.5 parafilm

2. วิธีการ

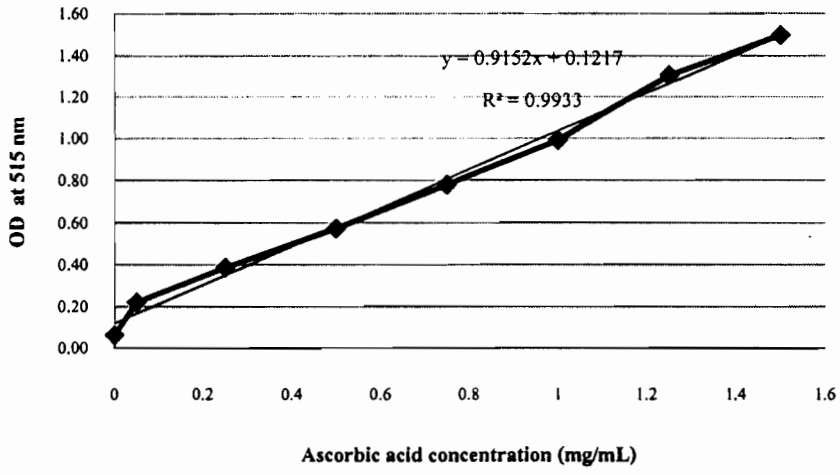
2.1 เตรียม stock solution ของสารละลาย DPPH โดยชั่งสาร DPPH 12 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอลปริมาณ 50 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการวิเคราะห์ให้นำ stock solution มาเจือจางกับเมททานอลที่อัตราส่วน 1:5 สำหรับการวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง (stock solution เก็บไว้ได้ไม่เกิน 5 วันต่อการเตรียมหนึ่งครั้ง)

2.2 นำเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลาย DPPH ที่เจือจางแล้ว 950 ไมโครลิตร ลงใน cuvette แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงครั้งแรกที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร แล้วบันทึกค่า

2.4 เติมสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid 50 ไมโครลิตรลงใน cuvette ผสมให้เข้ากันโดยใช้ parafilm ปิดปาก cuvette แล้วพลิกไปมา ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง

2.5 คำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดทำโดยนำค่าการดูดกลืนแสงครั้งแรกลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงครั้งสุดท้าย คำนวณค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเทียบกับความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid (หน่วยเป็น ascorbic acid equivalent antioxidant capacity: AEAC)



ภาพที่ ผ.2 กราฟมาตรฐาน ascorbic acid

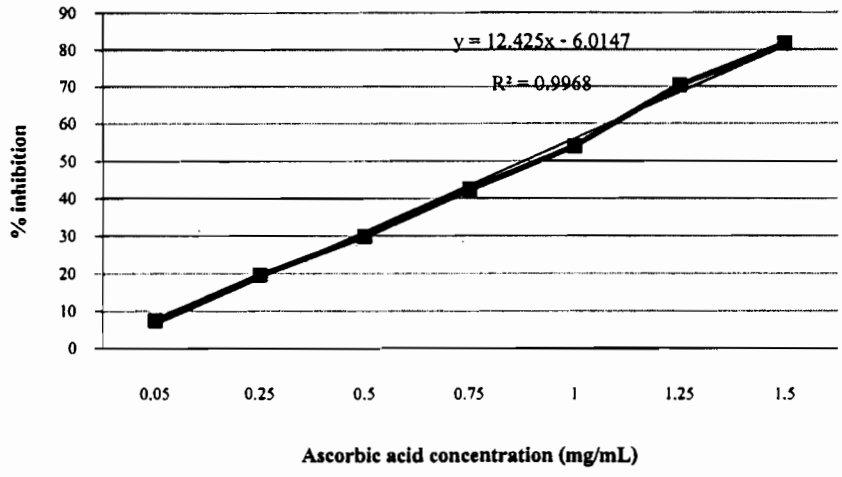
ภาคผนวก ข3 วิธีวิเคราะห์ค่า IC_{50} (Inhibition Concentration 50%) ดัดแปลงจากวิธีของ Kosar et al. (2007)

1. วิธีการ

1.1 นำผลของการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมาทำการคำนวณ %Inhibition ซึ่งคำนวณได้จากสมการที่ 10

1.2 หลังจากนั้นนำค่าที่ได้ไปเขียนเป็นกราฟระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน แล้วทำการคำนวณค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) เปรียบเทียบกับสารตัวอย่าง

$$\%\text{inhibition} = \left(\frac{\text{Absorption blank} - \text{Absorption sample}}{\text{Absorption blank}} \right) \times 100 \qquad (10)$$



ภาพที่ ผ.3 กราฟระหว่าง % inhibition กับ ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ภาคผนวก ข4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chlorophyll) ดัดแปลงจากวิธีของ Ramesh and Devasenapathy (2006)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อะซิโตน

1.2 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ

1.3 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงและ cuvette

1.4 ไมโครปิเปต

2. วิธีการ

2.1 นำสารละลายเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง (เอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

2.2 สกัดด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

2.3 นำตัวอย่างไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมินาน 30 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร โดยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80

2.4 หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร คำนวณค่าจากสมการที่ 11

$$\text{Total Chlorophyll } \left(\text{mg g}^{-1}\right) = \frac{\text{OD at 652 nm x V}}{\text{34.5 x WE}} \quad (11)$$

โดย V คือ ปริมาตรของส่วนใสที่สกัดได้

34.5 คือ สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงเฉพาะของคลอโรฟิลล์ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

WE คือ น้ำหนักของเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง

ภาคผนวกที่ ข5 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ (Total Carotenoid) ดัดแปลงจากวิธีของ Wongsa et al. (2010) และ Oliveira et al. (2010)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อะซิโตน

1.2 เอทานอล

1.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง

1.4 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงและ cuvette

2. วิธีการ

2.1 นำสารละลายเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง (เอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

2.2 มาสกัดโดยใช้สารละลายอะซิโตน:เอทานอล (1:1 v/v) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 1500 x*g* นาน 15 นาที ที่ 4-5 องศาเซลเซียส

2.3 นำส่วนใสมาปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร คำนวณค่าจากสมการที่ 12

$$\text{Total Carotenoids } \left(\text{mg g}^{-1}\right) = \frac{\text{Ab x V x } 10^2}{A^{1\%}\text{x WE}} \quad (12)$$

โดย Ab คือ ค่าที่ได้จากการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

V คือ ปริมาณสารที่สกัดได้

10^2 คือ ระดับการเจือจางของสารสกัด

$A^{1\%}$ คือ สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงเฉพาะของแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยใช้อะซิโตนเป็นสารสกัด มีค่าเท่ากับ 2500

WE คือ น้ำหนักเอนแคปซูลสารสกัดจากใบย่านาง (กรัม)

ภาคผนวก ข6 วิธีวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (Ascorbic acid) ตามวิธีของ AOAC (1995)

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 Metaphosphoric acid (HPO_3)

1.2 glacial acetic acid

1.3 2,6-dichlorophenolindophenol sodium salt

1.4 sodium bicarbonate

1.5 ascorbic acid

1.6 ไมโครปิเปต

1.7 ชุดไตเตรท (บิวเรทและขาตั้ง)

2. วิธีการ

2.1 เตรียมสาร Metaphosphoric acid-acetic acid solution โดยทำการชั่ง Metaphosphoric acid (HPO_3) 60 กรัม เติมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid 160 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 2 ลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บสารละลายในตู้เย็น และต้องนำใช้ภายใน 7 วัน

2.2 เตรียมสาร Indophenol standard solution โดยชั่ง 2,6-dichlorophenolindophenol sodium salt 250 มิลลิกรัม และ sodium bicarbonate 210 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร กรองผ่านกระดาษกรองเก็บในขวดสีชาในตู้เย็น ควรเตรียมใหม่ทุกสัปดาห์

2.3 เตรียมสาร ascorbic acid standard solution โดยชั่ง ascorbic acid 50 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลาย Metaphosphoric acid-acetic acid solution ที่เตรียมไว้ ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ควรใช้สารละลายที่เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

2.4 การวัดปริมาณของ standardization of indophenol solution โดยทำการปิเปต ascorbic acid standard solution 2 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม Metaphosphoric acid-acetic acid solution 5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรททันทีกับ indophenol solution จนถึงจุดยุติ คือ เปลี่ยนเป็นสีชมพูที่คงตัว หลังจากนั้นไตเตรท blank โดยใช้ Metaphosphoric acid-acetic acid solution 7 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของ indophenol standard solution โดยเปรียบเทียบกับ ascorbic acid (มิลลิกรัม) ที่สมมูลย์กับ indophenol standard solution 1 มิลลิลิตร

2.5 การวัดตัวอย่าง นำเอนแคปซูลสารสกัดใบย่านาง 0.5 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 10 มิลลิลิตร เติม Metaphosphoric acid-acetic acid solution 2 มิลลิลิตร ไตเตรททันทีกับ indophenols standard solution ขณะเดียวกันก็ต้องไตเตรท blank เพื่อเปรียบเทียบ โดยใช้ Metaphosphoric acid-acetic acid solution แทนสารละลายตัวอย่าง ส่วนการคำนวณทำดังสมการที่ 13

$$\frac{\text{mg ascorbic acid}}{\text{mg sample}} = \left(X\text{-}B\right) x \left(\frac{F}{10}\right) \qquad (13)$$

โดย X คือ ปริมาณ indophenol standard ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง

B คือ ปริมาณ indophenol standard ที่ใช้ในการไตเตรท blank

F คือ จำนวน mg ascorbic acid ที่สมมูลย์กับ indophenol standard

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวรัตนา ตีคลี

ประวัติการศึกษา ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พ.ศ.2552

ประวัติการวิจัย ในระดับปริญญาตรีได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย
โครงงานอุตสาหกรรมและวิจัยสำหรับนักศึกษา
ปริญญาตรี IRPUS (Industrial and Research Projects for Undergraduate Students) สนับสนุนโดยสำนักงาน
กองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ปี 2552