การพัฒนาไมโครเอ็นแคปซูเลทที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้จากสมุนไพรไทยด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น

นางสาวนัสจรินทร์ ลิ้มเสรี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE MICROENCAPSULATE FROM THAI MEDCINE PLANTS USING COACERVATION TECHNIQUE

Miss Nasjarin Limsaree

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาไมโครเอ็นแคปซูเลทที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้จากสมุนไพรไทยด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น
โดย	นางสาวนัสจรินทร์ ลิ้มเสรี
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร. พิมพ์พร พลเพชร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ ดร. จีรัณ กิ่งแก้ว)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

นัสจรินทร์ ลิ้มเสรี : การพัฒนาไมโครเอ็นแคปซูเลทที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้จากสมุนไพรไทยด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น (DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE MICROENCAPSULATE FROM THAI MEDCINE PLANTS USING COACERVATION TECHNIQUE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล, 99 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย คือ เปล้าใหญ่ คาง หว้า แห้วหมูและสะบ้า ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *(Staphylococcus aureus)* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli)* ด้วยวิธี Disc diffusion method โดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ สารสกัดสมุนไพรแห้วหมู แสดงผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงสุด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยที่วัดได้จากสารสกัดแห้วหมูมีค่าตั้งแต่ 7 ถึง 20 มิลลิเมตร ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดมีค่าตั้งแต่ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรถึง 125.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงได้ทำการเตรียมไมโครเอนแคปซูลระหว่างสารสกัดเอทานอลร่วมกับแป้งมอลโตเดกซ์ทริน หรือ แป้งข้าวโพดดัดแปรด้วยวิธีโคอะเซอเวชั่น ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อแป้งที่ศึกษา คือ 5:95, 7:93, 10:90, 15:85 และ20:80 เพื่อที่จะวัดประสิทธิภาพของแป้งในการเก็บกักสารสกัด พบว่า ประสิทธิภาพในการเก็บกักสูงสุด (90%) ของแป้งมอลโตเดกซ์ทรินอยู่ที่อัตราส่วน15:85 ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิก 12.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของแป้ง ส่วนประสิทธิภาพในการเก็บกักสูงสุด (92.01%) ของแป้งข้าวโพดดัดแปรอยู่ที่อัตราส่วน15:85 ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิก 13.46 มิลลิกรัมต่อกรัมของแป้ง เมื่อทำการตรวจสอบภายใต้กล้องส่องกราด พบว่า โครงสร้างของไมโครเอนแคปซูลจากแป้งทั้งสองชนิดมีลักษณะผิวขรุขระที่เกิดจากผลึกขนาดเล็กจำนวนมาก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2557

5470529021 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING
KEYWORDS: ไมโครเอนแคปซูเลท / สารสกัดสมุนไพร / ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย / HI-CAP / มอลโตเดกซ์ทริน

NASJARIN LIMSAREE: DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE MICROENCAPSULATE FROM THAI MEDCINE PLANTS USING COACERVATION TECHNIQUE. ADVISOR: CHUTIMON SATIRAPIPATHKUL, 99 pp.

The antibacterial activities of ethanol, dichrolometane and hexane extracts of *Croton oblongifolius* , *Entada phaseoloides* ,*Cyperus rotundus* ,*Syzygium cumini* and *Albizia lebbeckoides* against both gram-positive bacteria *(Staphylococcus aureus)* and gram-negative bacteria *(Escherichia coli)* were determined by Disc diffusion method and the broth dilution assay. The results showed that the ethanolic extracts displayed the highest activity against all the tested strains. Gram-negative bacteria strain was generally more resistant to the tested extracts than Gram-positive strains. The average clear zone of the inhibition of *Cyperus rotundus* extract ranged from 7.00 to 20.00 mm. The minimum bactericidal concentration (MIC) of *Cyperus rotundus* extracts was ranged from 31.25 mg/ml to 125mg/ml.Then, microcapsules between the ethanol extract and maltosedextrin or modified starch (Hi-Cap 100) were prepared by coacervation method with the extract to starch ratios of 5:95, 7:93, 10:90, 15:85 and 20:80 (w/w) in order to determine the efficiency of starch for encapsulating the extracts. The maximum efficiency loading of maltosedextrin was achieved at the ratio of 15:85, in which the powder contained 12.29 mg of phenolic compounds /g of maltosedextrin. . The maximum efficiency loading of modified starch was achieved at the ratio of 15:85, in which the powder contained 13.46 mg of phenolic compounds /g of modified starch The characterization of the microcapsule involved the analysis of particle size, colour, and the surface. Under scanning electron microscopy(SEM),pure maltosedextrin exhibited irregular shape and smooth surface,while surface of the microcapsule were rough and covered with lot of small crystals.

Department: Chemical Engineering Student's Signature .....
Field of Study: Chemical Engineering Advisor's Signature .....
Academic Year: 2014

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความอนุเคราะห์ช่วยเหลือที่ดีจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย อาจารย์ ดร.พิมพ์พร พลเพชร อาจารย์ ดร.จีรัณ กิ่งแก้วกรรมการภายนอก และประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณนายรัฐพล อินสว่างวงศ์ พี่และน้องๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว และท่านผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการศึกษามาโดยตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
บทที่1 1
บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
1.5 ระยะเวลาในการทำงานวิจัย 3
บทที่2 4
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ข้อมูลทั่วไปของเปล้าใหญ่ 4
2.2 ข้อมูลทั่วไปของสะบ้า 6
2.3 ข้อมูลทั่วไปของแห้วหมู 8
2.4 ข้อมูลทั่วไปของหว้า 9
2.5 ข้อมูลทั่วไปของคาง 10
2.6 สารประกอบทางเคมีในพืช (Phytochemicals) 11
2.6.1 สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ (primary metabolite) 12
2.6.2 สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) 13
2.7 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) 16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.8 หลักการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช 18
2.8.1 กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช 19
2.8.2 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม 19
2.9 แบคทีเรีย 22
2.10 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 23
2.10.1 ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่เกิดจากการทำลายทางกายภาพเคมี (physical-chemical damage) 23
2.10.2 ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ออกฤทธิ์ต่อเมตาโบลิซึม 24
2.11 ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 24
2.11.1 ประเภทของเซลล์เพาะเลี้ยง 24
2.11.2 ความเข้มข้นและความเสถียรของสารทดสอบ 24
2.11.3 ความหนาแน่นของเซลล์ที่ใช้ทดสอบ 24
2.12 การเก็บกักสารด้วยเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูล 25
2.12.1 ชนิดของสารที่นำมาเคลือบที่ใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลท 28
2.12.2 เทคนิคที่ใช้ในการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation techniques) 34
2.12.3 ประโยชน์ของเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่น 42
2.12.4 ระบบการปลดปล่อย 42
บทที่ 3 45
อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย 45
3.1 อุปกรณ์ 45
3.1.1 การสกัดสมุนไพรและทดสอบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 45
3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไมโครเอ็นแคปซูล 46
3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาความคงตัวของสารเก็บกัก 46

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

3.2 เคมีภัณฑ์ 46
3.2.1 สารเคมีที่ใช้การสกัดสมุนไพรและทดสอบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ . 46
3.2 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ 47
3.3 สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ 47
3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย 48
3.4.1 การสกัดสมุนไพร 48
3.4.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟินอลิกของสมุนไพรแต่ละชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ 49
3.4.3 การเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น 49
3.4.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย 49
3.4.4.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดสมุนไพร 49
3.4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยเทคนิค MTT assay 50
3.4.5 การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปร 50
3.4.6 การหาปริมาณสารสกัดสมุนไพรทั้งหมด 51
3.4.7 การวัดสีของไมโครแคปซูล 52
3.4.8 การศึกษาลักษณะโครงสร้างของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัด(Hi-Cap 100) 52
3.4.9 การศึกษาการคงสภาพของไมโครเอนแคปซูเลท 52
บทที่ 4 53
ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง 53
4.1 การสกัดสารจากสมุนไพร 53
4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟินอลิกของสมุนไพร 55

Chulalongkorn University

หน้า

4.3 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 57
4.3.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method 57
4.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ 64
(Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 64
4.6 การผลิตไมโครเอนแคปซูเลทสารสกัดโดยใช้แป้งเป็นสารเคลือบ ด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น 72
4.6.1 ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น 72
4.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenols assay) ในไมโครเอนแคปซูเลชั่น 73
4.6.3 การวัดสีของไมโครแคปซูล 75
4.6.4 การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพร 78
4.6.5 การศึกษาผลของการคงสภาพของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น (stability)ด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น 83
บทที่ 5 85
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 85
5.1 สรุปผลการวิจัย 85
5.2 ข้อเสนอแนะ 86
รายการอ้างอิง 87
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	เปล้าใหญ่	4
2.2	สะบ้า	6
2.3	แห้วหมู	8
2.4	หว้า	9
2.5	คาง	11
2.6	โครงสร้างภายในของเซลล์พืช	19
2.7	เทคนิคการเอนแคปซูเลทสาร	25
2.8	โครงสร้างของไมโครแคปซูล	26
2.9	โครงสร้างสตาร์ช (starch)	28
2.1	โครงสร้างมอลโตเด็กซ์ทริน	19
2.11	โครงสร้างแป้งข้าวโพดดัดแปร HI-CAP 100	30
2.13	การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย	35
2.14	การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคสเปรย์ ชิลลิง	36
2.15	การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคเอกทรูชัน	37
2.16	การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคฟูลอิดไดส์เบด	37
2.17	การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคไลโปโซม	38
2.18	การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคคอมเพล็กซ์โคอะเซอเวชัน	40
2.19	การนำไปใช้เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่นไปใช้ประโยชน์	42
4.1	ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก	58
4.2	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus*	63
4.3	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E.coli*	64
4.4	ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อค่าประสิทธิภาพในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น	74
4.5	ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อค่าฟีนอลิกในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น	76

4.6 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งมอลโตเดกซ์ทริน อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆโดยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไมโครสโคปกำลังขยาย 40x..... 74

4.7 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปร อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆโดยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไมโครสโคปกำลังขยาย 40x..... 75

4.8 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรที่อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราดกำลังขยาย 350..... 76

4.9 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งมอลโตเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบ*ส่อง*กราดกำลังขยาย 350..... 77

4.10 แสดงผลของการคงสภาพของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นภายในระยะเวลา 3 เดือน..... 78

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร.....	20
2.2	แสดงการใช้งานของสารที่ถูกห่อหุ้ม.....	25
2.3	สารที่ใช้เคลือบผิวในกระบวนการไมโครแคปซูเลท.....	30
2.4	ขนาดทั่วไปอนุภาคของการเอนแคปสารด้วยเทคนิคต่างๆ.....	38
4.1	ปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ.	51
4.2	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดคาง.....	54
4.3	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเปล้าใหญ่.....	54
4.4	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหว้า.....	55
4.5	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสะบ้า.....	55
4.6	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดแห้วหมู.....	56
4.7	ค่าMICของสารสกัดคางในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	61
4.8	ค่าMICของสารเปล้าใหญ่ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	62
4.9	ค่าMICของสารสกัดหว้าในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	63
4.10	ค่าMICของสารสกัดแห้วหมูในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	64
4.11	ค่าMICของสารสกัดสะบ้าในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	65
4.12	ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อมอลโตรเดกซ์ทรินต่อสีของไมโครเอนแคปซูเลชั่น.....	72
4.13	ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อแป้งข้าวโพดดัดแปรต่อสีของไมโครเอนแคปซูเลชั่น.....	72
4.14	ลักษณะทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูเลชั่นด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น.....	73

บทที่1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยมีที่ตั้งอยู่ในแถบป่าร้อนชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพของสายพันธุ์พืชและสมุนไพรเป็นจำนวนมาก ทำให้สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญต่อวิถีความเป็นอยู่ของชาวไทยมาเป็นเวลานานกว่า 4,500 ปี ซึ่งในปัจจุบันที่ได้เกิดมีความต้องการผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติในรูปของอาหาร ยา และเครื่องสำอาง จึงทำให้การใช้สมุนไพรเกิดการขยายตัวอย่างต่อเนื่องทุกปี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยเทคโนโลยีต่างๆเข้ามาช่วยในการนำสารสำคัญจากสมุนไพรมาใช้ให้ได้มาตรฐานและปลอดภัย เพื่อนำไปสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรมให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศและต่างประเทศ

วิธีไมโครเอนแคปซูเลชั่น จัดเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีที่มีการมาใช้งานอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดีคือ ช่วยลดสลายตัวของสารสำคัญที่ระเหยได้ และสามารถเก็บกักให้คงคุณสมบัติได้เป็นเวลานาน โดยช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสภาวะภายนอก เนื่องจากสารสำคัญบางตัวอาจมีความไวต่อความร้อน แสง อากาศ น้ำ ทำให้คุณสมบัติของสารเปลี่ยนไป นอกจากนี้ช่วยควบคุมการปลดปล่อยสารภายในแคปซูลได้เช่นกัน อีกทั้งต้นทุนการผลิตไม่สูงและผลิตได้ในปริมาณมาก

ในงานวิจัยนี้ได้นำเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่นมาใช้ในการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ คือ เปล้าใหญ่ คาง หว้า สะบ้า และแห้วหมู โดยใช้วิธีโคอะเซอเวชั่นเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ยา และเครื่องสำอางค์ เพื่อประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการสกัดสมุนไพร 5 ชนิด คือ เปล้าใหญ่ คาง หว้า แห้วหมูและสะบ้า ด้วยตัวทำละลาย รวมทั้งทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์และความเป็นพิษต่อเซลล์มนุษย์ของสารสกัดที่ได้

1.2.2 เพื่อศึกษาการผลิตไมโครเอนแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปรโดยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น รวมทั้งศึกษาลักษณะทางเคมีและกายภาพของไมโครเอนแคปซูลเลชั่นที่ได้

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดคือ เปล้าใหญ่ คาง แห้วหมู สะบ้า และหว้า โดยใช้ตัวทำละลายตามลำดับขั้ว คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล โดยใช้อัตราส่วนของสมุนไพรต่อตัวทำละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักวัตถุดิบแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลาย) ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์ผลได้สารสกัดหยาบ และปริมาณสารประกอบฟินอลิกที่ได้

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัด

1.3.3 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มนุษย์ของสารสกัด

1.3.3.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มนุษย์ (HaCaT)

1.3.3.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มนุษย์(HaCaT) ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})ในหลอดทอลอง (in vitro)

1.3.4 เพื่อศึกษาการผลิตไมโครเอ็นแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปรโดยวิธีโคอะเซอเวชั่น

1.3.4.1 การคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE) สารสกัดสมุนไพร

1.3.4.2 การวัดสีของไมโครเอ็นแคปซูล

1.3.4.3 การศึกษาลักษณะโครงสร้างของไมโครเอนแคปซูลด้วยกล้องส่องกราด (SEM)

1.3.4.4 ศึกษาการคงตัวของสารสกัดในไมโครเอนแคปซูล

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลเกี่ยวกับกระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีโคอะเซอเวชั่น โดยข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บกักสาร สกัดสมุนไพรอย่างประสิทธิภาพเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารเสริม และยารักษาโรค

1.5 ระยะเวลาในการทำงานวิจัย

การดำเนินงาน	พ . ศ . 2556							พ .ศ. 2557		
	มิ . ย.	ก . ค.	ส . ค.	ก . ย.	ต . ค.	พ ย.	ธ . ค.	ม . ค.	ก .พ.	มี .ค.
1. ศึกษาหัวข้อโครงงานและค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง										
2. ศึกษาการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย										
3. ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อ จุลินทรีย์ของสารสกัดและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลมนุษย์										
4. ศึกษาการผลิตไมโครเอ็นแคปซูลของสารสกัดด้วยวิธีโคอะเซอเวชั่นเชิงซ้อน										
5. ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไมโครเอ็นแคปซูลที่ได้										
6. วิเคราะห์ผลการวิจัย										
7. สรุปผลการศึกษาและจัดทำรายงาน										

บทที่2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของเปล้าใหญ่

รูปที่ 2.1 เปล้าใหญ่ (ฐานข้อมูลพันธุ์ไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Croton oblongifolius* Roxb.

ชื่อสมุนไพร เปล้าใหญ่

ชื่ออื่นๆ เปล้าหลวง (เหนือ) เปาะ (กำแพงเพชร) ควะวู (กาญจนบุรี)

ชื่อวงศ์ Euphorbiaceae

ถิ่นที่พบได้ พบทั่วไปตามป่าผลัดใบ ที่ความสูงของลำต้นไม่เกิน 950 เมตร มีการออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน และติดผลในเดือนมีนาคม-พฤษภาคม

ส่วนที่ใช้เป็นยา เปลือกต้น กระพี้ ใบ ดอก แก่นและผล

ลักษณะ ไม้ต้นผลัดใบ มีความสูง 4-10 เมตร ยอดอ่อนใบอ่อน ช่อดอกและผลอ่อนมีเกล็ดสีเทาเป็นแผ่นเล็กปกคลุม มีใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปขอบขนานถึงรูปใบหอก มีความกว้าง 5-10 ซม. และความยาว 9-30 ซม. รอบโคนใบมีต่อมเล็กๆ 1 คู่ ส่วนดอกจะออกเป็นช่อ มีการแยกเพศและอยู่รวมต้นหรือต่างต้น โดยดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ มีความยาว 2 ซม. มีกลีบดอก 5 กลีบ เรียงสลับกับกลีบเลี้ยง มีความยาว 2 มม. และมีขนแน่น รวมทั้งมีเกสรเพศผู้ 12 อัน ส่วนดอกเพศเมีย มีกลีบ

เลี้ยงและกลีบดอกขนาดเล็ก ส่วนผลมีลักษณะแห้งแตก มีลักษณะค่อนข้างกลม มี 3 พู โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. และแตกเป็น 3 ซีก

สรรพคุณทางยา มักใช้ร่วมกับเปล้าน้อย เรียกว่าเปล้าทั้งสอง

ส่วนใบ มีรสร้อน เมาเอียน เป็นยาบำรุงธาตุ แก้คันตามตัว แก้ลมจุกเสียด เป็นยาบำรุงกำลัง แก้กระหาย แก้เสมหะ และลม นำมาต้มน้ำอาบใช้แก้ผื่นคัน

ส่วนดอก มีรสร้อน เป็นยาขับพยาธิ ผล รสร้อน เมาเอียน ดองสุราดื่มขับเลือดหลังคลอด ขับน้ำคาวปลา

ส่วนเปลือกต้นและกระพี้ มีรสร้อน เมาเย็น เป็นยาช่วยย่อยอาหาร แก้เลือดร้อน

ส่วนเปลือกต้นและใบแก้ท้องเสีย บำรุงโลหิต น้ำต้มเปลือกต้น กินแก้ไข้ แก้ตับอักเสบ แก้ปวดข้อและปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ

ส่วนแก่น มีรสร้อนเมาเย็น ขับพยาธิไส้เดือน ขับเลือด ขับหนองให้ตก

ส่วนต้น ใช้ผสมกับรากส้มลม ต้นเล็บแมวต้นตับเต่าโคก ต้นมะดูก ต้นมะเดื่ออุทุมพร ต้นกำจาย ต้นกำแพงเจ็ดชั้น และต้นกะเจียน นำไปต้มน้ำ เพื่อดื่มแก้ปวดเมื่อย

ส่วนราก มีรสร้อนเมาเย็น ขับลมและแก้โรคผิวหนังผื่นคัน น้ำเหลืองเสีย แก้โรคเรื้อน มะเร็ง คุดทะราด กระจายลม ทำน้ำเหลืองให้แห้ง รากต้มน้ำใช้กินแก้โรคเหน็บชา แก้ปวดท้อง ถ่ายเป็นมูกเลือด โรคทางเดินปัสสาวะ แก้ปวดเมื่อย เจริญอาหาร และแก้ร้อนใน

ส่วนเนื้อไม้ มีรสร้อน แก้ริดสีดวงลำไส้และริดสีดวงทวารหนัก แก่น แก้ลมอันผูกเป็นก้อนให้กระจาย เป็นยาขับพยาธิไส้เดือน

ส่วนเมล็ด กินเป็นยาถ่ายและยาพื้นบ้าน

โสภณและคณะ(2001) ได้ศึกษาการสกัดเปลือกเปล้าใหญ่ด้วยเฮกเซน พบว่า จะได้สารที่มีฤทธิ์ป้องการกลายพันธุ์ของเซลล์มนุษย์และไม่เป็นพิษต่อเซลล์มนุษย์ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการฆ่าเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆได้ปานกลาง

2.2 ข้อมูลทั่วไปของสะบ้า

รูปที่ 2.2 สะบ้า (ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ ม. อุบลราชธานี)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Entada phaseoloides* (Linn.)Merr.

ชื่อสมุนไพร สะบ้า

ชื่ออื่นๆ สะบ้ามอญ

ชื่อวงศ์ Mimosaceae

ถิ่นที่พบได้ พบในเขตร้อนของทวีป แอฟริกา ทวีปเอเชียและอินโดเนเซีย ประเทศไทย พบทุกภาค ขึ้นพันไม้อื่นริมลำธารบริเวณป่าดงดิบหรือป่าผลัดใบ ที่ระดับ ความสูงได้ ถึง 900 เมตร ออกดอกช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม

ส่วนที่ใช้เป็นยา เมล็ด

ลักษณะ ลำต้นเป็นไม้เถาเนื้อแข็งขนาดใหญ่ เถาแบนบิดไปมา คล้ายเถากระไดลิง ใบ มีลักษณะประกอบแบบขนนกสองชั้น ส่วนใบย่อยมีรูปร่างคล้ายไข่กลับมีความกว้าง 1.3-3.5 ซม. ความยาว 2.5-7 ซม. ส่วนใบปลายมีลักษณะเป็นใบแหลมถึงทู่เล็กน้อยและมักมีติ่งแหลม ดอกมีลักษณะเป็นสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ออกดอกเป็นช่อมีความยาว 13-25 ซม. ซึ่งประกอบด้วยดอกย่อยขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก กลีบรองดอกเป็นรูปถ้วยปากกว้าง ฝักมีลักษณะแบน มีความกว้าง 7-15 ซม. ความยาวประมาณ 2 เมตร ลักษณะสีแดงเข้มออกน้ำตาล เนื้อผลภายในแข็งเป็นสีขาวนวล รูปกึ่งกลม แบน แข็ง ผิวมันเรียบ มีความกว้าง 3.5-4 ซม.

สรรพคุณทางยา ส่วนเมล็ดมีรสเมาเบื่อ เมื่อนำเมล็ดในมาสุมไฟให้ไหม้เกรียม เพื่อปรุงเป็นยารับประทาน แก้พิษไข้ตัวร้อน แก้ไข้ที่มีพิษจัดและเซื่องซึม

ส่วนเนื้อในเมล็ดใช้ปรุงยาทาแก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน แก้พยาธิ แก้มะเร็ง คุดทะราด ฆ่าเชื้อโรคผิวหนัง แก้หืด แก้เกลื้อน แก้กลาก หรือนำมาคั่วให้สตรีท้องคลอดกินจะทำให้คลอดง่าย ตำรายา

พื้นบ้านมุกดาหาร ใช้รักษาแผลฝีหนอง เมื่อนำเนื้อในมาเคี่ยวกับน้ำมันมะพร้าว บอนท่า และกำมะถัน ใช้ทารักษาโรคผิวหนังกลากเกลื้อน แก้น้ำเหลืองเสีย

Brice (2013) ได้ศึกษาการนำเปลือกสะบ้ามาสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนและเมทานอลในอัตราส่วน 1/1 โดยปริมาตร เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าได้สารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการผลิตไนโตรเจนออกไซด์ของเซลล์มะเร็ง และมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (IC_{50}) คือ 18.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำประสิทธิภาพมาเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Baicalin พบว่า สารสกัดสะบ้ามีการยับยั้งสูงถึง 89.08 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ Baicalin ให้การยับยั้งเพียง 63.3 เปอร์เซ็นต์

Simplice D Karou และคณะ (2011) ได้รายงานผลการสกัดสมุนไพรสะบ้า ด้วยการใช้เมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ในสารสกัดสมุนไพรสะบ้ามีปริมาณค่าผลได้ฟีนอลิกอยู่ที่ 20.34±1.26 มิลลิกรัมต่อกรัมสารแกลลิกที่เป็นสารมาตรฐาน (GAE) เมื่อทำการวัดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี MIC พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นมากกว่า 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า LD50 เท่ากับ 950±197 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Freiburghausa และคณะ (1998) ได้ศึกษาสารสกัดส่วนเปลือกรากของพืชในตระกูลสะบ้า คือ Entada abyssinica (Leguminosae) ที่เป็นพืชสมุนไพรที่ปลูกในประเทศอูกันดา เพื่อใช้ในการบำบัดโรคนอนไม่หลับ โดยนำมาสกัดด้วย dichloromethane พบว่า สามารถแยกสาร clerodane ในกลุ่ม diterpene kolavenol ในรูป diastereoisomer เป็นครั้งแรก และได้รายงานฤทธิ์ต้านเชื้อ Trypanosoma brucei rhodesiense ที่ทำให้เกิดโรค African trypanosomiasis โดยจะมีค่า IC50 value เท่ากับ2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือเทียบเท่ากับ 8.6 ไมโครโมล

O.A. Olajide และคณะ (2001) ได้ทำการสกัดสารจากต้น Entada abyssinica ที่อยู่ในตระกูลสะบ้า โดยนำมาแช่ในเฮกเซนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ก่อนทำการสกัดด้วยเมทานอลด้วยวิธี Soxhlet และนำมาหาฤทธิ์ต้านอาการอักเสบ (anti-inflammatory activity)โดยจะใช้โมเดลที่ทำให้เกิดการอักเสบจากการฉีดสาร carrageenanบริเวณอุ้งเท้าหนูเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดอาการบวมและเกิดการสร้างgranuloma ในเนื้อเยื่อของหนู พบว่า เมื่อใช้สารสกัดในช่วงความเข้มข้น50–200 mg/kg จะแสดงการยับยั้งการบวมและการสร้างgranulomaตามปริมาณความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ

L. K. Nzowa และคณะ (2010) ได้ทำการแยกสารสำคัญจากสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากเนื้อในเมล็ด (seeds kernel) ของต้นสะบ้า Entada rheedii และศึกษาโครงสร้างด้วย NMR และ mass spectrometry พบว่า ประกอบด้วยสาร Rheediinosides A และ B เป็นสารกลุ่ม

triterpene saponins ที่มีฤทธิ์ควบคุมการแบ่งตัวที่ผิดปกติ (antiproliferation) ต่อเซลล์มะเร็งชนิด T98G, A431, PC3 และ B16-F1 ปานกลางและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant) ปานกลาง เช่นกัน โดยสาร Rheediinosides B จะมีฤทธิ์ทั้งสองอย่างสูงกว่าชนิด Rheediinosides A

2.3 ข้อมูลทั่วไปของแห้วหมู

รูปที่ 2.3 แห้วหมู (สารศิลปะยาไทย ๒๓)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cyperus rotundus* Linn.

ชื่อสมุนไพร แห้วหมู

ชื่ออื่นๆ หญ้ากกดอกขาว หญ้าขนหมู

ชื่อวงศ์ CYPERACEAE

ถิ่นที่พบได้ พบขึ้นกระจายอยู่ทั่วโลก มีด้วยกันประมาณ 4000 ชนิด ชอบที่แฉะที่ระดับต่ำตามหนอง บึง ทางระบายคันคูน้ำและโคลนเลน

ส่วนที่ใช้เป็นยา ต้น หัว ใบ

ลักษณะ เป็นพืชล้มลุก อายุยืน มีความสูง 20-40 ซม. มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวคล้ายหัวแห้วไทย ส่วนลำต้นสามารถแตกแขนงอยู่ใต้ดินและงอกเป็นหัวใหม่ได้ ส่วนใบเป็นใบเดี่ยวมีจำนวนมาก แทงออกจากส่วนหัว โดยใบมีความกว้าง 2-6 มม. ความยาว 5-20 ซม. ลักษณะกลางใบเป็นร่อง สีเขียวเข้ม เกลี้ยง ส่วนดอก จะออกเป็นช่อขนาดเล็กแบบดอกหญ้า มีสีน้ำตาลแดงก้านช่อดอกเป็นสามเหลี่ยมตรง ส่วนผลเป็นผลแห้งลักษณะรูปไข่กลับ ปลายแหลมมีหน้าตัดเป็นรูปสามเหลี่ยม มีสีน้ำตาล หรือสีดำ

สรรพคุณทางยา เป็นสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบ

ส่วนใบใช้ห้ามเลือด และเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงธาตุ บำรุงหัวใจ บำรุงครรภ์ แก้ธาตุพิการ ช่วยให้เจริญอาหาร ขับพยาธิไส้เดือน ขับลม ช่วยย่อยอาหาร แก้ไข้ ขับเหงื่อ แก้บิด ทำให้ประจำเดือนมาเป็นปกติ ใช้พอกดูดพิษ ทาแก้แมลงกัดต่อย แก้กระษัย

Soumaya และคณะ(2009) ได้ศึกษาการสกัดแห้วหมูด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตรดและเมทานอล พบว่า มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เมื่อใช้ในความเข้มข้น 14 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Kilani-Jaziri และคณะ (2011) ศึกษาการสกัดสมุนไพรแห้วหมูโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ น้ำ เอทานอลและเอทิลอะซิเตดโดยใช้วิธีการ Soxhlet extraction เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ให้ค่าผลได้ปริมาณสารกลุ่มpolyphenol 670 มิลลิกรัต่อกรัมกรดแกลลิค ปริมาณสารกลุ่มฟาวโวนอย 340±20 มิลลิกรัต่อกรัมสารมาตราฐานquercertin และปริมาณแทนนิน 229±13.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม โดยสารสกัดที่ได้จากการใช้เอทิลอะซิเตดจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Salmonella enteritidis และ Salmonella typhimurium,ได้สูงกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ

2.4 ข้อมูลทั่วไปของหว้า

รูปที่ 2.4 หว้า (อุทยานแห่งชาติสิรีรุกขชาติ)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Syzygium cumini* (L.) Skeels

ชื่อสมุนไพร หว้า

ชื่ออื่นๆ ห้าขี้แพะ (เชียงราย)

ชื่อวงศ์ MYRTACEAE

ถิ่นที่พบได้ เอเชียเขตร้อน จากอินเดียถึงมาเลเซีย ชอบดินชื้นที่อุดมสมบูรณ์ ขึ้นตามป่าดิบ และป่าผลัด ใบทั่วไป

ส่วนที่ใช้เป็นยา ผล เมล็ด หรือเปลือกหุ้มลำต้น ใบ

ลักษณะ เป็นไม้ยืนต้นมีความสูง 10-35 เมตร เปลือกลำต้นค่อนข้างเรียบเป็นสีน้ำตาล ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกันรูปไข่หรือรูปรี ความกว้าง 3-7 ซม. ความยาว 8-14 ซม. มีจุดน้ำมันที่บริเวณขอบใบ ส่วนดอก เป็นช่อสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน จะออกดอกที่ซอกใบหรือปลายยอด ฐานรองดอกเป็นรูปกรวย มีกลีบเลี้ยง 4 กลีบ และกลีบดอก 4 กลีบ มีเกสรตัวผู้จำนวนมาก ผล เป็นผลสด ลักษณะเป็นรูปรีแกมรูปไข่ ฉ่ำน้ำ และผลแก่จะมีสีม่วงดำ ผิวมัน มีขนาด 1 ซม. ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ตอนกิ่ง

สรรพคุณทางยา ส่วนเปลือกนำมาทำยาอม ยากวาดคอ แก้ปากเปื่อย ลิ้นและคอ ส่วนเมล็ดนำมาต้มหรือบด แล้วนำมารับประทาน มีสรรพคุณใช้ แก้เบาหวาน(คนอินเดียโบราณใช้เมล็ดลูกหว้าในการรักษาโรคเบาหวาน เนื่องจากมีสาร ที่สามารถลดน้ำตาลในเลือด) แก้บิด แก้ท้องร่วง แก้บิด มูกเลือด ท้องเสีย

ส่วนใบหว้า นิยมนำมาต้มกับน้ำตาล แล้วนำน้ำที่ได้มาใช้ในการชะล้างแผลเน่าเปื่อย หรือนำใบมาตำแล้วใช้ทาแก้โรคผิวหนัง

Vijay Kothari และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดสมุนไพรหว้า โดยทำการสกัดผลหว้าแห้งบดละเอียดด้วยสารละลายเอทานอล 50% ในสัดส่วนสารละลาย 50 มิลลิลิตรต่อสมุนไพร 1 กรัม จากนั้นทำมาเข้าเครื่องไมโครเวฟโดยใช้กำลังไฟฟ้าที่ 720 W เป็นเวลา 70 วินาที จากผลที่ได้พบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. Coli* ได้ดี โดยให้ความกว้างวงใสเป็น 13±1.8 มิลลิเมตร เมื่อใช้ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ค่า IC50 สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ 730 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5 ข้อมูลทั่วไปของคาง

รูปที่ 2.5 คาง (สนอง และคณะ,2544)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Albizia lebbeckoides* (DC.) Benth

ชื่อสมุนไพร คาง

ชื่ออื่นๆ ข่าง , กาง, คาง, คางแดง (ไทยภาคกลาง)

ชื่อวงศ์ MIMOSEAE

ถิ่นที่พบได้ เป็นพรรณไม้ที่เกิดตามพื้นที่ลุ่มต่ำนี้น้ำอาจขึ้นลงท่วมถึงได้พบว่ามีตามลำธาร ทางภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคอีสาน และในกรุงเทพฯ

ลักษณะ ต้นเป็นพรรณไม้ยืนต้นมีขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ ลำต้นนั้นสูง ใบจะมีลักษณะใหญ่และดกหนาทึบ คล้ายใบมะขามไทยหรือใบจามจุรี ดอก จะออกเป็นผลฝอยฟู เหมือนกับดอกจามจุรี แต่ดอกจะเป็นสีเขียว และสีขาว มีกลิ่นหอม

สรรพคุณ ส่วนเปลือก มีรสฝาดเฝื่อน นำมาปรุงเป็นยารับประทานแก้ท้องร่วง แก้ลงท้อง แก้ตกโลหิต แก้บวม แก้ฝี แก้พยาธิเปื่อยเน่า แก้ลำไส้ พิการ บำรุงธาตุ ทำเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงเนื้อหนังให้บริบรูณ์ หรือนำมาฝนกับน้ำทารักษาโรคเรื้อน แก้แผลเน่าเปื่อยเรื้อรังทาฝี

ส่วนใบ ใช้ปรุงเป็นยาแก้ไอ

ส่วนดอก มีรสหวาน บำรุงธาตุ แก้ปวด บาดแผล แก้พิษงู แก้ฟกบวม แก้คุดทะราด แก้ไข้พิษที่เกิดจากตาอักเสบ

Sze Kwan Lam และ Tzi Bun Ng (2011) ได้ทำการศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อรา และแบคทีเรียของสารสกัดคาง โดยได้ทำการทดสอบด้วยวิธีโดยในส่วนของเชื้อราจะทดสอบด้วยวิธี clear zone และ IC50 พบว่าผลการทดสอบ clear zone สารสกัดสมุนไพรคางที่ความเข้มข้น 200 μg สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิด *C. albicans* และ *E. coli* ให้ค่า IC50 ที่ 16.9±2 ไมโครโมล และ 0.05±0.03 ไมโครโมล ตามลำดับ รวมทั้งยับยั้งเชื้อราชนิด *R. solani* ได้ดี โดยให้ค่า IC50 ที่ 39±3 ไมโครโมล แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *M. arachidicola, F. oxysporum, H. maydis,* และ *V. mali* ได้

2.6 สารประกอบทางเคมีในพืช (Phytochemicals)

หมายถึง สารประกอบที่พืชสร้างขึ้นด้วยกระบวนการเมแทบอลิซึม รวมทั้งสารอนุพันธ์ต่าง ๆ ของสารเหล่านี้ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

2.6.1 สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ (primary metabolite)

เป็นสารต่างๆ ที่ผลิตได้จากกระบวนการต่างๆ เช่น การสังเคราะห์แสง (photosynthesis) การหายใจ (respiration) และการสร้างพลังงานการสร้างพลังงาน ซึ่งจะเกิดเป็นสารประกอบชนิดต่าง ๆ ขึ้นมากมาย รวมทั้งสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ

1. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates)

เป็นสารประกอบที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช จากโมเลกุลของน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งทำให้ได้โมเลกุลของน้ำตาลและสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว(Monosaccharides) ได้แก่ น้ำตาลไตรโอส (trioses) เทโทรส (tetroses) เพนโทส (pentoses) เฮกโซส (hexoses) และเฮพโทส (heptoses)

ส่วนสารโพลีแซคคาไรด์ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่นั้น ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายๆโมเลกุลเชื่อมต่อกัน ได้แก่ แป้ง(starch) ซึ่งเป็นอาหารสะสมของพืช และเซลลูโลส(cellulose) ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์

สารอนุพันธุ์ของโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ เด็กซ์ทริน (dextrins) ฟรุคแทน (fructans) กรดอัลจีนิก (algenic acid) วุ้น (agar) และยาง (gums)

2. ไขมัน (lipids)

2.1 น้ำมันพืช (Vegetable oils) เป็นแหล่งของสารที่มีประโยชน์ต่างๆ คือสารเบต้า-ซิโทสเตอรอล(b-sitosterol) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาสเตียรอยด์ สารเลซิทิน(lecithin) ที่พบเป็นปริมาณมากในน้ำมันถั่วลิสงช่วยทำหน้าที่ในการย่อยอาหาร กรดแกรมมา-ไลโนเลอิก(γ-linoleic acid) เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตพรอสทาแกลนดิน(prostaglandins) ลิวโคไทรอีน (leukotrienes) และทรอมบอกเซน(thromboxanes)

นอกจากนี้น้ำมันพืชยังถูกใช้เป็นตัวทำละลายสารจำพวกวิตามินและยาปฏิชีวนะ น้ำมันมะกอกและน้ำมันอัลมอนด์ถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางค์

2.2 อะซีโทเจนิน (Acetogenins) เป็นสารที่มีโมเลกุลสายยาวที่เกิดจากธาตุคาร์บอนมาเชื่อมรวมกัน 35-39 อะตอม ส่วนปลายของโมเลกุลประกอบด้วยสารแกมม่า-แลคโทน (γ-lactone)

สารAnonaceae พบในพืชวงศ์น้อยหน่า มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (antitumour) ได้แก่สารอะซิมัยซิน (asimicin) บุลลาทาซิน (bullatacine)

สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial) ได้แก่ เชอริโมลิน (cherimolin)

สารกำจัดแมลง(insecticidal) ได้แก่ แอซิมัยซิน(asimicin) แอนโนนิน(annonin) แอนโนนาซิน (annonacin)

3. กรดอะมิโนและสารอนุพันธ์ (Amino acids and their derivatives)

3.1 กรดอะมิโน (Amino acid) มีเพียงไม่กี่ชนิดที่พบว่ามีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค ได้แก่ คิวเคอร์บิทีน (cucurbitine) กรดอะมิโนบางชนิดพบว่าเป็นสารพิษได้แก่ มิโมซีน (mimosine) โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตช้า

3.2 ไซยาโนเจนิก กลัยโคไซด์ (Cyanogenic glycosides) เป็นสารอนุพันธ์ของกรดอะมิโนชนิดแอล (L-amino acids) พบในพืชวงศ์ กุหลาบ (ROSACEAE) วงศ์ถั่ว (LEGUMINOSAE) วงศ์ข้าว (GRAMINAE) วงศ์หมาก (ARECACEAE) วงศ์ยางพารา (EUPHORBIACEAE) วงศ์กะทกรก (PASSIFLORACEAE)

3.3 สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Sulphur containing - compounds) ได้แก่ อัลลีอิน (allein) อัลลิซิน (allicin) อะโจอีน (ajoene) และสารประกอบชนิดอื่นที่สกัดได้จากกลีบของหัวกระเทียม โดยสารอัลลิซินและอะโจอีนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างสารตั้งต้นของโคเลสเตอรอลและการตกตะกอนของเกร็ดเลือด ช่วยลดความดันโลหิต และยับยั้งการทำงานของเชื้อรา

3.4 เลกทิน (lectins) เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลคาร์โบไฮเดรต จะพบในเยื่อหุ้มเซลล์ของเมล็ดพืชชั้นสูง ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และถั่วชนิดต่าง ๆ แต่สารเลกทินบางชนิดเป็นสารพิษได้แก่ ไรซิน (ricin) ในเมล็ดละหุ่ง

2.6.2 สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite)

เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบได้ในส่วนต่างกันในพืชแต่ละชนิด โดยเกิดจากการนำสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ มาเข้าสู่กระบวนการชีวสังเคราะห์ เพื่อสร้างสารชนิดต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตอีกทอดหนึ่ง ได้แก่ สารพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟีนอลิก (phenolics) อะซีโทจีนิน (acetogenins) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids)

สารพวก Secondary metaboliteส่วนใหญ่ จะมีสรรพคุณทางยา แต่ในบางงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารพวก Primary metabolite บางตัวก็ออกฤทธิ์ในการรักษาได้

ประเภทของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ได้แก่

1. สารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) มีการจำแนกชนิดของสารกลุ่มโดยแบ่งตามคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาตามชนิดของสารตั้งต้นและตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

สารประกอบอัลคาลอยด์อิสระละลายในตัวทำละลายจำพวกอีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์มเมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับกรด จะอยู่ในรูปของเกลือที่สามารถละลายน้ำได้สารอัลคาลอยด์ในพืชบางสารเป็นของเสียที่พืชสร้างขึ้น และเป็นแหล่งของธาตุไนโตรเจน มีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ดพืช การป้องกันอันตรายจากโรคแลนแมลงในพืช และเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชมักพบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบมากในพืชวงศ์ว่านสี่ทิศ(AMARYLIIDACEAE) วงศ์ลิลี่ (LILIACEAE) วงศ์ลั่นทม (APOCYANACEAE) วงศ์ถั่ว(LEGUMIONSAE) วงศ์ฝิ่น (PAPAVERACEAE) วงศ์กาแฟ (RUBIACEAE) และวงศ์มะเขือ(SOLANACEAE) สารอัลคาลอยด์ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันมาก ได้แก่ มอร์ฟีน (morphine) ที่สกัดได้จากยางของผลฝิ่นใช้รักษาอาการเจ็บปวดบาดแผลขนาดใหญ่ โคลชิซีน (colchicine)ใช้รักษาโรคเก๊าท์ ควินีน (quinine) ใช้รักษาโรคมาลาเรีย

2.ฟีนอลและฟีนอลิกกลัยโคไซด์(Phenols and phenolic glycosides) สารประกอบฟีนอลมีลักษณะเป็นโมเลกุลรูปวงแหวนหกเหลี่ยมเชื่อมต่อกันเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ ได้แก่

2.1 สารประกอบฟีนอล (Simple phenolic compounds) โมเลกุลเป็นรูปวงแหวนหกเหลี่ยมเพียงวงเดียวที่มีหมู่แอลกอฮอล์หรือหมู่อัลดีไฮด์ หรือหมู่คาร์บอกซีลิกมาเชื่อมต่อกับวงแหวนรูปหกเหลี่ยมนี้ ได้แก่ แคปไซซิน(capsicin) ทีพบในพริก วานิลลา(vanillin)ที่พบในผลของวานิลลา

2.2 แทนนิน (Tannins) เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลซับซ้อน มักเป็นสารผสมของสารจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenols)ประกอบด้วยเอสเทอร์ที่เกิดจากกรดกัลลิก (gallic acid) หรือสารประกอบโพลีไฮดริก (polyhydric compound) จับกับน้ำตาลกลูโคสหรือเกิดจากสารประกอบฟีนอลิก(phenolic compound)จับกับสารคาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน ได้แก่ กรดแทนนิก(tannic acid) และฮามาเมลิแทนนิน (hamamelitannin) แทนนินสามารถทำปฏิกริยากับสารประกอบจำพวกโปรตีน สามรถดูดซับสีย้อมและใช้ในการฟอกหนังสัตว์ แทนนินเป็นสารประกอบที่พบในพืชหลายชนิด มีคุณสมบัติต่อต้านการทำลายของเชื้อราและแบคทีเรียมีรายงานว่าสารแทนนินที่พบในใบพืชเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโต และพบว่าแทนนินในพืชแต่ละชนิดทำหน้าที่แตกต่างกัน แทนนินถูกนำมาใช้เป็นยารักษาอาการของโรคท้องร่วงและอาการพิษที่เกิดจากโลหะหนัก และมีรายงานว่าแทนนินสามารถยับยั้งอาการของโรคมะเร็ง และโรคที่เกิดจากเชื้อเอชไอวี (HIV)

2.3 คูมารินและสารกลัยโคไซด์ของคูมาริน (Coumarins and their glycosides) คูมารินเป็นสารอนุพันธ์ของ เบนโซ-อัลฟ่า-ไพโรน(benzo-α-pyrone) ซึ่งอยู่ในรูปสารอิสระ และสารที่รวมกับโมเลกุลของน้ำตาลเป็นไกลโคไซด์ ถูกสร้างในพืชด้วยวิถีชิคิมิก (shikimic acid pathway)

ได้แก่ สารอัมเบลลิเฟอโรน(umbelliferone) เฮอร์นิอาริน (herniarin) เอสคูเลทิน(aesculetin) สโคโพเลทิน (scopoletin) แฟรกซิน (fraxin) และชิคอริน (chicorin)

2.4 ควิโนน (Quinones) เป็นสารประกอบที่มีธาตุออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล ได้แก่ พาราควิโนน (paraquinones) ออร์โทควิโนน (orthoquinones) เบนโซควิโนน (benzoquinones) แนพโทควิโนน (naphthoquinones) แอนทราควิโนน (anthraquinones) แอนทราไซคลิโนน (anthracyclinones)

2.5 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบที่ให้สีสันของดอกไม้ ผลไม้ และใบไม้หลายเฉดสีด้วยกันนอกจากนี้ยังช่วยป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตร้าไวโอเล็ต (UV) จากดวงอาทิตย์ด้วย สีสันจากสารสี (pigment) บนกลีบดอกยังทำหน้าที่ล่อแมลงให้มาช่วยในการถ่ายเรณูอีกด้วย การสร้างสารกลุ่มนี้ในพืช ถูกสร้างขึ้นจากวิถีของกรดชิคิมิก (shikimic acid pathway) และวิถีอะซีเทต (acetate pathway) มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยาเพื่อรักษาโรคท้องร่วง รักษาอาการฟกช้ำดำเขียวที่ส่วนต่างๆของร่างกาย

2.6 แอนโทไซยานิน (anthocyanins) สารกลุ่มนี้เป็นสารที่ให้สีแดง ชมพู บานเย็น ม่วงแดง น้ำเงิน และม่วงน้ำเงินในดอกไม้และผลไม้ เป็นสารสีที่สามารถละลายน้ำได้มีการนำมาเติมสีสันให้กับเครื่องดื่ม แยมและอาหารสำเร็จรูปต่างๆ

2.7 ฟลอโรกลูซินอล (Phloroglucinols) เป็นสารอนุพันธ์ของ วัน,ทรี,ไฟว์-ไทรไฮดรอกซีเบนซีน(1,3,5 – trihydroxybenzene) ถูกนำมาใช้ในการกระตุ้นระบบประสาท

2.8 ลิกแนนและสารอื่นที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกัน (Lignans and related compound) สารในกลุ่มนี้เกิดขึ้นจากการรวมตัวกันของหน่วยเฟนิลโพรเพน(phenylpropane units) เป็นสารประกอบในผนังเซลล์ปฐมภูมิและผนังเซลล์ทุติยภูมิในพืช เป็นสารประกอบโพลีเมอร์ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของแอลกอฮอล์กับโครงสร้างของสารพี-ไฮดรอกซีซินนามิก(p-hydroxycinnamic structure) มักมีการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลกับสารโพลีแซคคาไรด์ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาอาการปวดตามข้อ ยับยั้งการเติบโตของเนื้องอก

3. เทอร์พีนอยด์และสเตียรอยด์ (Terpenoids eroiandStds)

4. โมโนเทอร์พีน (Monoterpenes) เป็นสารประกอบที่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 10 อะตอม เกิดจากการรวมกันของหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 2 หน่วย ได้แก่สารไอริดอยด์ (iridoid) เมนทอล(menthol) ลินาลูล (linalool) ไพรีทรินวัน (pyrithrin I)

5.เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpenes) เป็นสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของพืชหลายชนิดทั้งในเห็ดรา ไบรโอไฟต์และพืชชั้นสูง ได้แก่ บิซาโบรอล (bisabolol) ฮิวมูลีน(humulene) และคารีโอฟิลลีน (caryophyllene) ไดเทอร์พีน (Diterpenes) เป็นสารประกอบที่มีธาตุคาร์บอน 20 อะตอม

ได้แก่ แทกซอล (taxol) ใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง และสตีวิโอไซด์ (stevioside) ใช้เป็นสารให้รสหวานแทนน้ำตาล

6.ไตรเทอร์พีนและสเตียรอยด์ (Triterpenes and steroids) เป็นสารประกอบที่มี 30 อะตอม สารที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ซาโพนิน (saponin) ในรากโสม และรากชะเอม (liquorice) ซึ่งยับยั้งอาการของโรคบางชนิดได้ คาร์ดิแอคไกลย์โคไซด์ (cardiac glycosides) ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคหัวใจ

7.แคโรทีนอยด์ (carotenoids)เป็นสารประกอบที่มีธาตุคาร์บอน 40 อะตอม เกิดจากโมเลกุลของไอโซพรีนรวมกัน 8 หน่วย ให้สีเหลือง หรือส้ม ในกลีบดอกไม้ เปลือกและเนื้อของผลไม้ ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ แคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) โดยพบว่าสารเบต้า-แคโรทีน (γ-carotene) มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งในร่างกายของมนุษย์และสัตว์ และยังถูกนำไปใช้ในการสร้างวิตามินเอ ซึ่งมีผลต่อการมองเห็นของตาหรือการมองในที่ซึ่งมีแสงน้อย และยังมีการนำสารสีแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากพืช ไปใช้ในการผสมอาหารและเครื่องสำอางค์ด้วย

2.7 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์ โดยมีหลักการคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสม แบ่งได้เป็น 3 วิธี คือ

1. Solid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของแข็ง มีหลักการไม่แตกต่างจากการหาตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสาร โดยทำการแช่ของแข็งที่ต้องการสกัดในตัวทำละลาย เป็นเวลานานโดยใช้ภาชนะที่เหมาะสม เครื่องมือสกัดแบบ Soxhlet เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาสำหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งนิยมใช้ในกรณีที่สารที่จะสกัดละลายได้ไม่ดีนักในตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะสกัด การสกัดทำโดยอาศัยหลักการการให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอจากนั้นกลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปในสาร (ของแข็งหรือของเหลว) จากนั้นตัวทำละลายที่ได้สัมผัสกับสารจะไหลลงสู่ขวดรองรับ ตัวทำละลายที่พาสารลงมาในขวดนี้จะถูกระเหยกลับขึ้นไป(ทิ้งสารที่สกัดออกมาไว้ในขวดรองรับ) แล้วกลั่นตัวลงบนสารซ้ำแล้วซ้ำอีกดังนี้ไปเรื่อยๆ การกระทำเช่นนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดในขวดรองรับในที่สุด

2. Liquid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดควรมีสมบัติเช่นเดียวกับตัว

ทำละลายที่เลือกสำหรับตกผลึกสาร ตัวทำละลายที่ดีควรละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี มีจุดเดือดไม่สูงนักเพื่อที่จะกำจัดออกไปจากสารที่ต้องการได้ง่ายหลังการสกัด ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารหรือกับตัวทำละลายอื่นที่จะใช้ร่วมกัน ไม่ควรติดไฟง่าย ไม่ควรมีพิษและราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารในห้องปฏิบัติการได้แก่ diethyl ether, dichloromethane, ethyl acetate และ 1-butanol ในทางปฏิบัติมักจะนิยมสกัดสารอินทรีย์ซึ่งอาจละลายหรือแขวนลอยอยู่ในวัฏภาคน้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการแยกชั้น สารทั้งหลายที่มีอยู่ในของผสมจะละลายอยู่ทั้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และชั้นน้ำมากน้อยตามความสามารถในการละลายของตัวทำละลายแต่ละชนิด หลักเกณฑ์การละลายของสารโดยทั่วไปคือ สารที่แตกตัวเป็นไอออนได้หรือสารที่มีพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้จะอยู่ในชั้นน้ำมาก ในขณะที่สารที่ไม่มีขั้วจะอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (ส่วนใหญ่มีขั้วน้อย)

3. Acid/Base Extraction เป็นการใช้ปฏิกิริยากรดเบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดแก่ กรดอ่อน กลาง และเบสออกจากกัน หลักการคือสารเหล่านี้อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดหรือเบสที่เหมาะสมก็จะเกิดเป็นเกลือ ซึ่งอยู่ในรูปของไอออนจึงละลายน้ำได้ดีทำให้สามารถแยกออกจากสารที่ไม่แตกตัวอื่นๆได้โดยง่าย ในที่นี้จะอธิบายโดยใช้ตัวอย่างของของผสมที่มี กรดเบนโซอิก (กรดแก่) ฟีนอล (กรดอ่อน) แนพทาลีน (เป็นกลาง) และอะนิลีน (เบสอ่อน) ผสมกันอยู่ เมื่อเริ่มต้นสารทั้งสี่ละลายอยู่ในอีเทอร์เมื่อเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (เบสอ่อน) ลงไปในสารละลาย จะทำปฏิกิริยาเฉพาะกับกรดแก่ ซึ่งในที่นี้คือกรดเบนโซอิกได้ผลิตภัณฑ์เป็นโซเดียมเบนโซเอต ซึ่งเป็นเกลือจึงละลายน้ำได้ดีทำให้แยกจากชั้นอีเทอร์ไปสู่ชั้นน้ำได้ ชั้นน้ำที่สกัดได้นี้สามารถทำให้ได้กรดเบนโซอิกตกผลึกออกมาโดยทำให้เป็นกรดในชั้นอีเทอร์จึงมีฟีนอล แนพทาลีน และอะนิลีนเหลืออยู่ เมื่อเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางลงไปเขย่ากับสารละลายอีเทอร์ดังกล่าว ไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นเบสแก่จะทำปฏิกิริยากับฟีนอลซึ่งเป็นกรดอ่อน เกิดเป็นโซเดียมฟีนอกไซด์ซึ่งแตกตัวเป็นไอออนได้ในน้ำจึงแยกจากชั้นอีเทอร์ออกไปสู่ชั้นน้ำ ขณะนี้ในชั้นอีเทอร์จะเหลือเพียง แนพทาลีน และอะนิลีน หลังจากนั้นจึงทำการเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจางลงไป กรดจะทำปฏิกิริยากับเบสซึ่งในที่นี้คืออะนิลีนได้เกลืออะนิลิเนียมคลอไรด์ ซึ่งละลายในน้ำได้ดีจึงแยกจากชั้นอีเทอร์ออกไปสู่ชั้นน้ำได้ชั้นอีเทอร์ที่เหลือจึงมีเพียงแนพทาลีนซึ่งสามารถแยกออกโดยการระเหยอีเทอร์ออก

2.8 หลักการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช

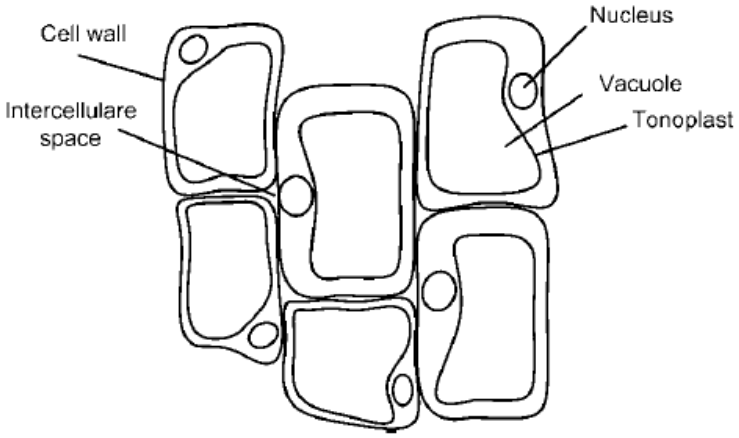
สำหรับการสกัดสารชีวภาพนั้น จะต้องพิจารณาถึงสารประกอบที่อยู่ในโครงสร้างของพืชตามธรรมชาติจำพวกเซลล์ ในเซลล์พืชนั้นจะล้อมรอบและมีการป้องกันโดยผนังเซลล์จะเป็นโครงสร้างให้กับพืชอีกด้วย ส่วนภายในของเซลล์รวมถึง แวคิวโอล แหล่งเก็บน้ำขนาดใหญ่ที่ถูกล้อมรอบด้วยเมมเบรน ในส่วนแวคิวโอลถือเป็นส่วนที่ภายในมีสารต่างๆบรรจุอยู่เพื่อแยกส่วนที่ต้องการจากโครงสร้างดังกล่าว ดังนั้นจะต้องพิจารณาความต้านทานการขนส่งหลักที่อยู่ภายในผนังเซลล์และโทโนพลาสต์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับช่องว่างระหว่างเซลล์ที่มีแวคิวโอลจำนวนมากในการจะสกัดสารชีวภาพออกจากพืชนั้นต้องทำให้พืชแห้งเพราะจะทำให้ช่องว่างระหว่างเซลล์เกิดช่องว่างสามารถทำให้ก๊าซไหลผ่านได้ ขั้นตอนการโอนโดยตัวทำละลายในการสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติที่สามารถอธิบายได้ด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) ตัวทำละลายเข้าทำลายผนังเซลล์

2) ตัวทำละลายจะกระจายเข้าไปในอนุภาคของแข็งในเซลล์

3) เกิดการถ่ายโอนสารผ่านพื้นผิวของอนุภาคของแข็งในเซลล์ที่ชั้นของเหลว

โดยขั้นตอนแรกและขั้นที่สองเป็นการพาอนุภาคภาคของแข็งภายในเซลล์โดยการแพร่ ทั้งสามขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับสัมประสิทธิการแพร่ ชนิดของตัวทำละลาย และการแพร่แบบเอ็ดดี้ จะส่งผลต่อการสกัดมากกว่าการแพร่เชิงโมเลกุล แต่เนื่องจากภายในโมเลกุลของแข็งอยู่กระจัดกระจายไม่เป็นระเบียบ การแพร่ของสารที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลจะเป็นการแพร่แบบสุ่ม (Random Molecular Diffusion) ที่เป็นอิสระจากกันจะมีผลอย่างมากในขั้นตอนการแพร่ของสารที่สกัดจากของแข็งไปยังตัวทำละลายใหม่ จึงกำหนดให้การแพร่เชิงโมเลกุลในของแข็งเป็นขั้นกำหนดอัตรา (Rate limiting step)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างภายในของเซลล์พืช (Schneider ,1980)

2.8.1 กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช

เทคนิคการสกัดเอาสารตั้งต้นออกจากของแข็งในพืชและสมุนไพร เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกมามากที่สุด จำเป็นต้องมีเทคนิคที่เหมาะสมโดยทั่วไปสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. การแช่ (Percolation) ใช้สำหรับการแช่ของแข็งตัวทำละลายสามารถผ่านได้ตามแรงโน้มถ่วงของโลกจากบนลงล่าง ทำให้ของเหลวไหลผ่านได้อย่างอิสระเพื่อเป็นการเพิ่มการสัมผัสระหว่างของแข็งที่ถูกแช่และตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังสามารถนำตัวทำละลายมารีไซเคิลใช้ได้หลายครั้ง การแช่ของแข็งให้อยู่กับที่ข้อดีของเทคนิคนี้คือมีความเกี่ยวข้องกับสมบัติเชิงกลของวัสดุเกิดแรงต้านภายในวัตถุ ทำให้ง่ายในการกรองเอาสารสกัดชีวภาพออกจากตัวทำละลาย ตัวทำละลายจะชะล้างองค์ประกอบที่ต้องการได้อย่างสมบูรณ์

2. การสกัดแบบหมุนเวียน (Immersion) เป็นการแช่อนุภาคของแข็งในตัวทำละลายที่ถูกกวน ทำให้เกิดการสัมผัสระหว่างของแข็งและตัวทำละลาย ของแข็งจะถูกแช่ในสารละลายอย่างสมบรูณ์ เทคนิคนี้สมบัติเชิงกลของของแข็งจะมีความเครียดสูงทำให้ง่ายต่อการกรองและแยกสารที่ถูกสกัดออกมาได้ง่าย สมดุลระหว่างสารละลายและของแข็งนั้นเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณมากจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย คุณสมบัติเฉพาะ และความต้องการสารสกัดชีวภาพที่อยู่ภายในของแข็งนั้นๆ ซึ่งเทคนิคนี้จะคล้ายกับการแช่ (Percolation)

3. การสกัดแบบหมัก (Maceration) เป็นเทคนิคการแช่แบบปล่อยให้ตัวทำละลายท่วมของแข็ง ใช้เวลาการหมักหลายวันโดยไม่มีแรงทางกลใดๆมาเกี่ยวข้อง

2.8.2 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม

ในการเลือกตัวทำละลายเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงจะต้องอาศัยหลักเกณฑ์ต่างๆดังต่อไปนี้

1. ตัวทำละลายจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ตัวทำละลายสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัดได้ง่าย มีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย

2. ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้

3. ตัวทำละลายจะต้องไม่ละลายสารอื่นๆที่เราไม่ต้องการสกัด

4. ไม่ควรมีพิษและราคาถูก

5. ไม่ควรติดไฟง่าย

2.8.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด

1. ส่วนประกอบของพืชที่ต้องการสกัด จะต้องคำนึงถึงความเสถียรของสารสกัดชีวภาพ เนื่องจากมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้การสกัดไม่ได้สารตามที่เราต้องการซึ่งเกี่ยวข้องกับเวลาที่ใช้ในการสกัดเพื่อสารสำคัญเสื่อมสลายไปก่อนระยะเวลาที่ต้องการนำไปใช้ และองค์ประกอบต้องมีความสอดคล้องกับตัวทำละลายด้วย

2. ระยะเวลาในการสกัด เป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลมากต่ออัตราการสกัด โดยสารในของแข็งจะแพร่เข้าสู่ของเหลวระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสกันของของเหลวจนถึงความเข้มข้นทั้งสองสถานะมีความเข้มข้นเข้าสู่จุดสมดุล ซึ่งถ้าเวลาน้อยกว่าระยะที่เข้าสู่จุดสมดุลจะสกัดสารสำคัญได้น้อยลง หรือหากนานเกินไปอาจทำให้สารสำคัญเสื่อมคุณภาพ

3. ขนาดของอนุภาคของแข็ง เป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่ออัตราการสกัดโดยที่ขนาดของอนุภาคเล็กจะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้นและปริมาณของตัวทำละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้ดีและง่ายกว่าอนุภาคที่ใหญ่กว่า ซึ่งมีผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด

4. ชนิดตัวทำละลายและความเข้มข้นตัวทำละลายมีผลต่อการสกัด โดยในการสกัดให้ได้ผลดีขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษและราคาไม่แพง จุดเดือดไม่สูงมากนัก

5. อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด กระบวนการสกัดทั่วไปจะกระทำที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากการละลายของตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูงเกิดขึ้นได้ดีกว่า จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายในส่วนที่สกัดสูงขึ้น สูงกว่าค่าที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้ได้สารที่ไม่ต้องการถูกสกัดออกมามากเกินไปหรือตัวทำละลายอาจสูญเสียไปมาก ดังนั้นจึงต้องอาศัยการพิจารณาความเหมาะสม อัตราการชะละลายจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากความหนืดของของเหลวลดลงและการแพร่ของตัวทำละลาย

6. การปั่นกวน การกวนเป็นการเพิ่มการแพร่แบบเอ็ดดี้ (eddy diffusion) ทำให้เพิ่มการเคลื่อนที่ของอนุภาคและสารละลาย ช่วยป้องกันการตกตะกอนและการเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับพื้นผิว

7. อัตราการป้อนตัวทำละลาย ในการสกัดแบบต่อเนื่องการป้อนตัวทำละลายจะส่งผลต่อการสกัด เนื่องจากการถ่ายเทมวลสารจะเกิดขึ้นมากเมื่อความแตกต่างความเข้มข้นของสารในบริเวณตัวทำละลายกับบริเวณพื้นที่ผิวของอนุภาคมีค่ามาก เมื่อป้อนตัวทำละลายใหม่แบบต่อเนื่องจะทำให้การถ่ายเทมวลสารโดยการพาเกิดขึ้นได้มากกว่าการสกัดแบบกะ แต่เมื่อเพิ่มอัตราการป้อนมากเกินไปอาจทำให้ไม่เกิดการถ่ายเทมวลสารที่มาก ดังนั้นควรเลือกใช้อัตราการป้อนที่เหมาะสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร (Azmir และคณะ, 2013)

ชนิด	**จุดเดือด** (°C)	**สภาพขั้ว**	**ความหนาแน่น** (กรัม/มิลลิลิตร)	**สารที่สกัดได้จากพืช**
นอน-โพลาร์				
เฮกเซน	69	2	0.655	อะลิฟาติค,ไขมัน, เทอร์ปีน,เบนซีน
เบนซีน	80	2.3	0.879	ไขมัน
คลอโรฟอร์ม	61	4.8	1.498	เทอร์พีนอยด์, ฟลาโว-นอยด์
ไดคลอโรมีเทน	40	9.1	1.326	เทอร์พีนอยด์
โพลาร์ อะโพรติก				
อะซิโตน	56	21	0.786	ฟลาโวนอยด์
อะซิโตไนไตรล์	82	37	0.786	ไขมัน,โปรตีน,แคโร-ทินอยด์
ไดเมทธิลซัล-ฟอกไซด์	189	47	1.092	คาร์โบไฮเดรต,ไขมัน
เอทานอล	79	24	0.789	แทนนิน,ซาปอนิน, เทอร์พีนอยด์, ฟลาโวนอยด์,โพลีฟีนอล,อัลคาลอยด์
เมทานอล	65	33	0.791	แอนโทไซยานิน, แทนนิน,ซาปอนิน ,เทอร์พี-นอยด์,ฟลาโวนอยด์,
น้ำ	100	80	0.998	โพลีฟีนอล

2.9 แบคทีเรีย

เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทใหญ่ประเภทหนึ่ง มีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียว และมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมาก มีรูปร่างแตกต่างกัน เช่น มีลักษณะเกลียวทรงกระบอก

และเป็นท่อนกลม อาจเกาะเรียงตัวกันเป็นสายหรือกลุ่ม มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์ เมื่ออยู่ในสภาวะเหมาะสมจะเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าทุก 20 ถึง 30 นาที หากในอาหารมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากจะทำให้อาหารเน่าเสียเกิดขึ้นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียอาจแบ่งเป็นกลุ่มได้ โดยอาจพิจารณาจากความสามารถในการย่อยสลายประเภทของอาหารและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เช่น

1. แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำตาล แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ช่วยย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง หรือ น้ำตาล

2. แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีน เช่น *Clostridium*, *Pseudomonas* และ *Proteus* แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดการเน่าเสีย แบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายโปรตีนในสรูปที่ไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นเหม็น เช่น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์

3. แบคทีเรียที่ย่อยสลายเพกทิน แบคทีเรียกลุ่มนี้มีน้อยชนิด เช่น *Bacillus*, *Clostridium* และ *Erwinia* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเพกทิน ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนทำให้อาหารประเภทผักและผลไม้เกิดการเสียหายและเน่าเสียได้

4. แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรด เช่น กรดแอซิติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร โดยเฉพาะเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ รสชาติจะเปลี่ยนไป เนื่องจากเกิดรสเปรี้ยวจากกรดแอซิติก ตัวอย่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter* และ *Gluconobacter* เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.10 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

วิธีการตรวจสอบที่นิยมใช้กับเซลล์เพาะเลี้ยงแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบซึ่งต่างก็เป็นการวัดความมีชีวิตของเซลล์หลังการบ่มเซลล์กับสารทดสอบ จากนั้นนาค่าความมีชีวิตของเซลล์มาสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นต่างๆของสารที่ทดสอบ ค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่ให้ผลยับยั้งความมีชีวิตลดลงเป็นครึ่งหนึ่งจากสภาวะที่ไม่มีสารทดสอบ คือ IC50

2.10.1 ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่เกิดจากการทำลายทางกายภาพเคมี (physical-chemical damage)

มีผลให้เซลล์ตายทันที วิธีการวัดความมีชีวิตของเซลล์จะสามารถทำได้รวดเร็วและมักเป็นวิธีที่เกี่ยวข้องกับ membraneintegrity จึงอาจตรวจความเป็นพิษโดยการบ่มเซลล์กับสารทดสอบในระยะเวลาสั้นๆ แล้ววัดความมีชีวิตของเซลล์ได้หลายวิธี ซึ่งเป็นวิธีที่วัดความสมบูรณ์ของเซลล์

เมมเบรนขณะนั้นเท่านั้น จึงไม่สามารถบอกความเป็นพิษที่ส่งผลกระทบต่อความบกพร่องส่วนอื่นของเซลล์ หรือพิษที่เกิดขึ้นภายหลังได้ (delay cytotoxicity)

2.10.2 ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ออกฤทธิ์ต่อเมตาโบลิซึม

มักออกฤทธิ์แสดงความเป็นพิษในช่วงเวลา 2-3 ชั่วโมง หลังการบ่มกับสารทดสอบ เป็นการตรวจความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ให้ผลชัดเจนกว่าวิธีแรกแต่การตรวจวัดความเป็นพิษจะต้องคำนึงถึงการออกฤทธิ์แบบผันกลับ-ไม่ผันกลับ (reversible-irreversible cytotoxicity) รวมทั้งระยะเวลาในการบ่มกับสารทดสอบด้วยเพื่อให้ครอบคลุมการออกฤทธิ์ของสาร แล้ววัดกิจกรรมเมตาโบลิซึมของเซลล์ เช่นการวัดความสามารถเจริญของเซลล์โดย plating efficiency หรือการวัดปริมาณ ATP เป็นต้น

2.11 ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

2.11.1 ประเภทของเซลล์เพาะเลี้ยง

เซลล์ที่ใช้เป็นแบบตรวจสอบการเป็นพิษควรเลือกให้เหมาะสมต่อการศึกษา โดยทั่วไปมักใช้เซลล์ไลน์ต่างๆ ส่วนการตรวจสอบความเป็นพิษที่มีความเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติ differentiation ของเซลล์จะใช้เซลล์ปฐมภูมิโดยเซลล์ที่ใช้ควรมีความแข็งแรงและมีระยะการเจริญอยู่ในช่วง log phase เพื่อให้ผลการตรวจสอบไม่มีความบกพร่องที่เกิดจากเซลล์เองมาเกี่ยวข้อง

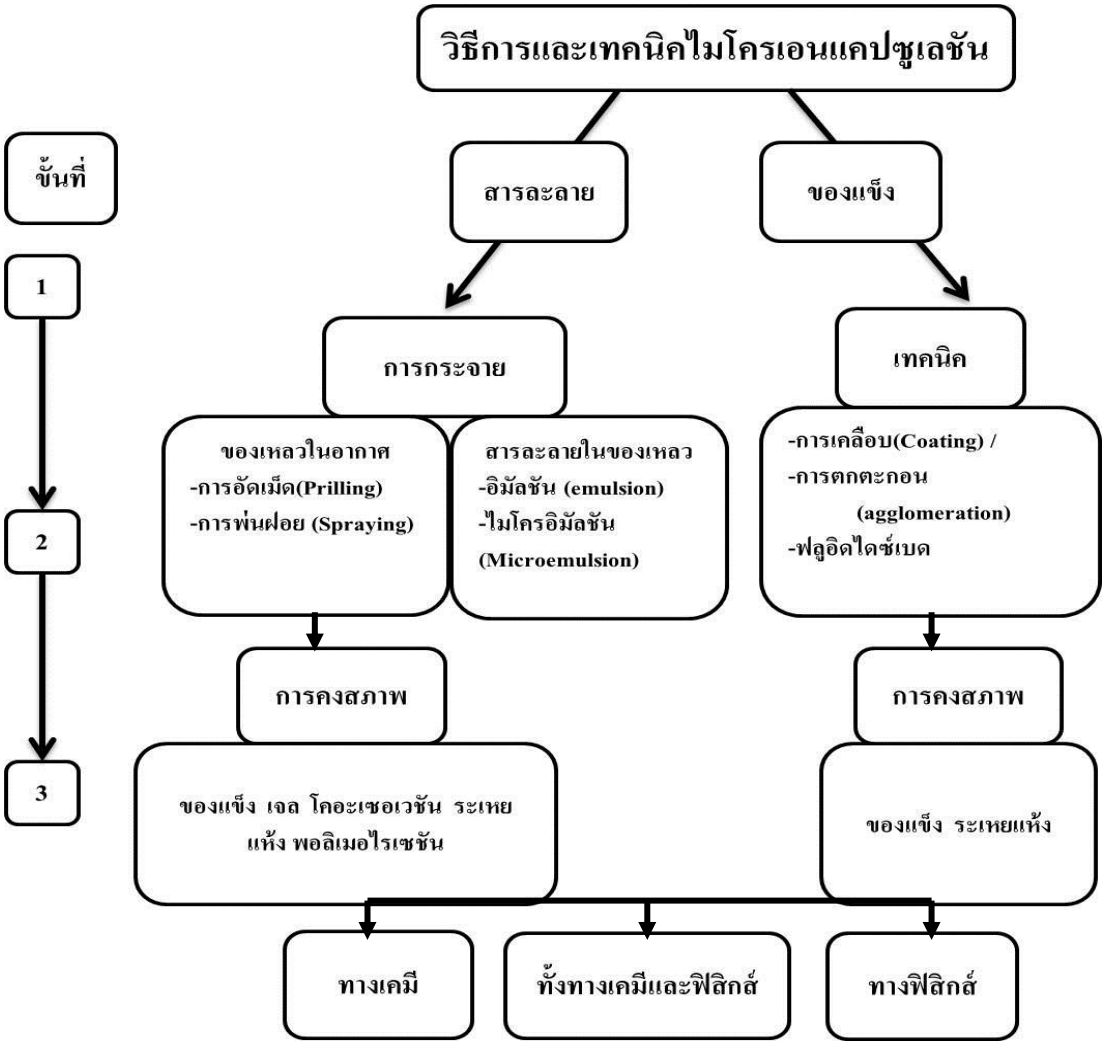
2.11.2 ความเข้มข้นและความเสถียรของสารทดสอบ

สารทดสอบไม่ควรตกตะกอนหรือทำปฏิกิริยาเคมีกับอาหารเลี้ยงเซลล์ ไม่เสียสภาพ ที่สภาวะและระยะเวลาบ่มที่ใช้ทดสอบ มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเหมาะสมและเซลล์สามารถสัมผัสกับสารได้ สารทดสอบที่ต้องละลายในตัวทำละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ควรใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ก่อความเป็นพิษต่อเซลล์ และควรใช้ปริมาณน้อย นอกจากนี้ควรมี negative control ที่มีตัวทำละลายอย่างเดียว เพื่อระบุความปลอดภัยจากความเป็นพิษต่อเซลล์ของตัวทำละลายนั้นๆ

2.11.3 ความหนาแน่นของเซลล์ที่ใช้ทดสอบ

ความหนาแน่นของเซลล์ในช่วงเวลาที่เซลล์สัมผัสกับสารทดสอบอาจมีผลต่อการตอบสนองฤทธิ์ยา เช่น Hela cell มีความไวต่อ alkylating agent ลดลงเมื่อเซลล์มีความหนาแน่นสูง ระยะเวลาการหยุดทดสอบควรเหมาะสมเพื่อที่จะให้ผลการทดสอบที่ชัดเจน แต่ควรครอบคลุมระยะเวลาที่สารสามารถออกฤทธิ์ นอกจากนี้เซลล์ที่ทดสอบควรอยู่ในระยะที่ตอบสนองต่อสารทดสอบได้

2.12 การเก็บกักสารด้วยเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูล



รูปที่ 2.7 เทคนิคการเอนแคปซูเลทสาร (Hammad และคณะ,2011)

ไมโครเอนแคปซูเลชั่น คือ การบรรจุสารขนาดเล็กเป็นหยดของของเหลว หรืออนุภาคของของแข็งที่มีฟิล์มบางๆเคลือบผิว โดยทั่วไปมีขนาดอนุภาคที่เล็กประมาณ 1 ไมโครเมตร ไมโครเอนแคปซูลประกอบด้วย สารที่ถูกห่อหุ้ม (core) และผนัง(ชั้นห่อหุ้ม) โครงสร้างภายนอกจะเป็นทรงกลมหรือรูปแบบอื่นๆ อาจอยู่ในรูปของสารละลาย ของแข็งแขวนลอย หรือตกตะกอน ประเภทของไมโครเอนแคปซูล แบ่งออกตามรูปร่างดังนี้

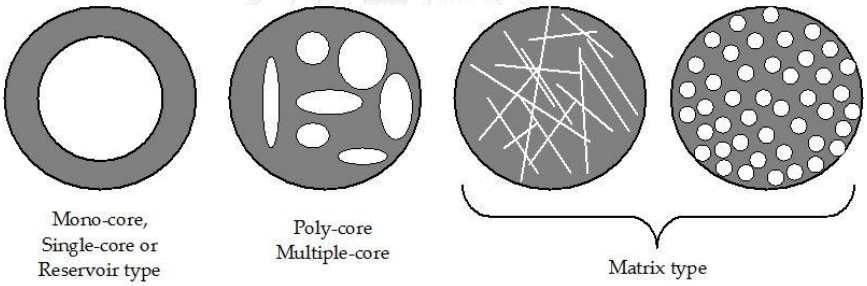
1) แคปซูลเดี่ยว คือมีสารที่ถูกห่อหุ้มภายในเพียงอย่างเดียว (Mononuclear)

2) แคปซูลรวมติดกัน คือ มีสารที่ถูกห่อหุ้มภายในหลายแกนรวมกัน (Polynuclear)

3) แคปซูลที่ภายใน มีสารที่ถูกห่อหุ้มหลายแกนอยู่แบบกระจัดกระจาย (Matrix types)

ของแข็งตามรูปทั่วไปของสารชนิดนั้นๆสัดส่วนของสารภายในจะขึ้นอยู่กับการกระจายตัว ค่าการละลาย สารที่ถูกห่อหุ้มหากอยู่ในรูปของแข็งจะต้องสามารถออกฤทธิ์ได้ตามการนำไปใช้ มีความเสถียร มีการปลดปล่อยสารอย่างช้าๆ นอกจากนี้สารห่อหุ้มนั้นจะต้องมีความยืดยุ่นได้ เพื่อก่อเกิดประโยชน์สูงสุดในการถูกคลือบเป็นไมโครเอนแคปซูลอย่างสมบรูณ์ ลักษณะของสารที่ถูกห่อหุ้มแสดงดังตารางที่2.2

สารเคลือบ (wall) การเคลือบนั้นจะดูลักษณะเฉพาะของวัสดุที่นำมาใช้ ดูความความต้องการของผลิตภัณฑ์ว่าต้องใช้ในรูปแบบใด ความคงตัว อายุการนำไปใช้งาน การระเหย ลักษณะการปลดปล่อยสาร สภาพแวดล้อม ความเหมาะสมของสารที่ถูกห่อหุ้ม และสมบัติทางเคมีและกายภาพ เพื่อให้เกิดการก่อตัวเป็นชั้นฟิล์มและเคลือบสารที่ถูกห่อหุ้มได้ ไม่ทำปฏิกิริยากัน โดยเมื่อเคลือบแล้วต้องพิจารณาถึงค่าความแข็ง ความยืดหยุ่น คุณสมบัติของสี ความเสถียรต่อสภาวะต่างๆ ด้วย ซึ่งเป็นสมบัติทั่วๆไปของไมโครเอนแคปซูล ทำให้รูปร่างเป็นทรงกลม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่2.8 โครงสร้างของไมโครแคปซูล (Rosa M,2011)

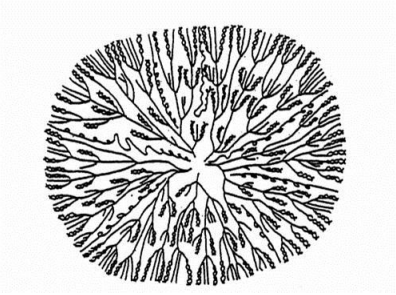
ตารางที่ 2.2 แสดงการใช้งานของสารที่ถูกห่อหุ้ม (Hemlata N. และคณะ,2011)

สารที่ถูกห่อหุ้ม	ลักษณะเฉพาะ	วัตถุประสงค์ในการเอนแคปซูล	ผลิตภัณฑ์ที่ได้
พาราเซตามอล	ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำเล็กน้อย	รสชาติ	เม็ดยา
ถ่านกัมมันต์	ตัวดูดซับ	เลือกการดูดซับ	ผงแห้ง
แอสไพริน	ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำเล็กน้อย	รสชาติ,ปล่อยสารอย่างช้าๆ,ลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร	เม็ดยา,แคปซูล
ฮอร์โมนจากไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์	เซลล์ที่มีชีวิต	ฟื้นฟูผู้ป่วยโรคเบาหวาน	ฉีด
ยาโรคหัวใจกลุ่มไนเตรท	ละลายน้ำได้บางส่วน	ปล่อยสารอย่างช้าๆ	แคปซูล
ผลึกเหลว	ของเหลว	เปลี่ยนของเหลวเป็นของแข็ง,เพิ่มความเสถียร	ฟิล์มมีความยืดหยุ่น
ยาหม่อง,น้ำมันมวย			
พิมเสน	สารละลายที่ระเหยง่าย	ลดการระเหย,ปล่อยสารอย่างช้าๆ	โลชั่น
ฮอร์โมนโพรเจสเทอโรน	ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำเล็กน้อย	ปล่อยสารอย่างช้าๆ	หลากหลาย
โพแทสเซียมคลอไรด์	ละลายน้ำได้เยอะ	ลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร	แคปซูล
ยูเรีย	น้ำ และละลายในเอนไซม์	เฉพาะเจาะจงเอนไซม์,ใช้เป็นผลิตภัณฑ์สารตั้งต้นและปฏิกิริยา	กระจายตัว
วิตามินเอปาลมิเตท	สารละลาย ไม่ระเหย	ความเสถียรของปฏิกิริยาออกซิเดชัน	ผงแห้ง

2.12.1 ชนิดของสารที่นำมาเคลือบที่ใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลท

1. คาร์โบไฮเดรต คาร์โบไฮเดรตที่สามารถนำมาใช้ในรูปของสารเคลือบ ได้แก่ สตาร์ช (starch), มอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin), corn syrup solids และ gum acacia คาร์โบไฮเดรต

2. สตาร์ช (starch) โมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพ็กตินจะอัดกันอยู่แน่นภายในเม็ดสตาร์ช ขนาดของอะไมโลสและอะไมโลเพ็กตินในสตาร์ชชนิดต่างๆ ซึ่งแสดงจากระดับในการเกิดพอลิเมอร์ (degree of polymerisation, DP)เฉลี่ย รวมทั้งปริมาณอะไมโลส อะไมโลเพกติน เม็ดสตาร์ชมีโครงสร้างเป็นแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) โดยโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินจัดเรียงตัวในเม็ดสตาร์ชเป็นโครงสร้างทั้งส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) และส่วนอสัณฐาน (amorphous) สตาร์ชจากพืชหัวหรือรากส่วนอะไมโลเพกตินจะมีโครงสร้างบางส่วนเป็นผลึก ส่วนอะไมโลส จะอยู่ในส่วนของอสัณฐาน สำหรับสตาร์ชจากธัญชาติส่วนอะไมโลเพกตินจะรวมตัวกันเป็นผลึก ส่วนอะไมโลสจะรวมตัวกับไขมันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะไมโลสและไขมันเกิดเป็นโครงสร้างผลึกอย่างอ่อนที่เสริมความแข็งแรงแก่เม็ดสตาร์ชจึงทำให้สตาร์ชจากธัญชาติพองตัวได้ช้าและเม็ดสตาร์ชมีช่องเปิดเล็กๆ บริเวณพื้นผิวที่สามารถทำให้น้ำและสารที่มีโมเลกุลเล็กๆ ผ่านได้ เป็นส่วนที่อยู่บริเวณอสัณฐาน

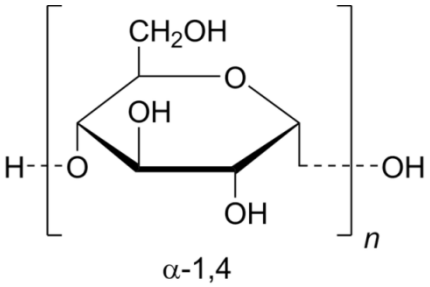


รูปที่ 2.9 โครงสร้างสตาร์ช (starch) (Lineback ,1984)

3. สตาร์ชดัดแปร(modified starch) เนื่องจากสตาร์ชที่ได้จากพืชทั่วไปมีคุณสมบัติเฉพาะตามองค์ประกอบและโครงสร้างของสตาร์ช ซึ่งทำให้การใช้งานมีข้อจำกัดหรือทำให้เกิดคุณลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์ จึงมีการดัดแปรสตาร์ชเพื่อใช้งานได้เหมาะสมกับความต้องการมากขึ้นเช่น แป้งดัดแปรทางเคมีมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับกัมอะระบิคมากที่สุด เป็นแป้งที่ได้จากธรรมชาติ ไม่มีแรงตึงผิว โดยปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชั่น กับกรดไดคาร์อกซิลิคแอนไฮไดร์ ทำให้แป้งเปลี่ยนหมูฟังก์ชันหรือแป้งถูกย่อย ทำเกิดแรงตึงผิว เหมาะสำหรับใช้เก็บกลิ่น หรือสามารถใช้แทนกัมได้เป็นอย่างดี (Varavinit,2001). การดัดแปรสตาร์ชทำได้หลายวิธีคือ

1. การดัดแปรโดยวิธีทางกายภาพ นำแป้งชนิดต่างๆ มาผสมกันเพื่อให้มีคุณภาพดีขึ้น วิธีที่สองคือการใช้ความร้อนแก่น้ำแป้งจนเม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวสูงสุดแล้วทำให้แห้งหรือที่เรียกว่าpregelatinized starch ซึ่งจะทำให้สุกได้ง่ายเพราะผ่านการทำให้สุกมาก่อนจึงนิยมใช้ทำแป้งกึ่งสำเร็จรูป เพียงเติมน้ำคนๆ ก็จะทำให้พองตัวได้ ที่สามคือการใช้แรงกล และความร้อนสูง หรือที่เรียกว่า extrusion แป้งที่ได้จากกระบวนการนี้ก็จะสุกง่ายเช่นเดียวกัน อีกวิธีคือการใช้ความร้อนไม่สูงนักคือความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน แต่ใช้ร่วมกับความชื้น โดยถ้าใช้ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 35 เรียกว่าวิธี heatmoisture treatment แต่ถ้าใช้ความชื้นสูงกว่าร้อยละ 40 เรียกวิธี annealing แต่วิธีนี้ใช้ความร้อนต่ำกว่าอีกวิธี ซึ่งทำให้ได้สตาร์ชที่มีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชันกว้างขึ้น และมีการคืนตัวเพิ่มขึ้นมีการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์จำพวกเส้น

2. การดัดแปรโดยวิธีทางเคมี การดัดแปรสตาร์ชโดยวิธีทางเคมีมีหลากหลายวิธี แล้วแต่คุณสมบัติของสตาร์ชที่ต้องการและวัตถุประสงค์ในการนำสตาร์ชไปใช้งานจะใช้สตาร์ชในรูปแบบสารแขวนลอยทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชัน สารเคมีจะทำปฏิกิริยากับเม็ดสตาร์ชที่พื้นผิวของส่วนผลึก และภายในส่วนสัณฐาน โดยเม็ดสตาร์ชยังไม่แตก สารเคมีที่ใช้มีหลายชนิดทำให้เกิดสตาร์ชที่มีสมบัติแตกต่างกันไปโดยมีการดัดแปรสตาร์ชต่าง ๆ คือ แป้งที่ดัดแปรโดยใช้กรด ,แป้งข้าวโพดดัดแปรโดยเอนไซม์ (enzyme-thinned starches) เช่น มอลโตเดกซ์ทริน มอลโตเดกซ์ทรินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งข้าวโพดบางส่วนโดยการใช้กรดหรือเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยา โดยผลิตจำหน่ายในรูป Dextrose Equivalent (DEs) DE value เป็นการวัดระดับ (degree) ของการย่อยสลายพอลิเมอร์ของสตาร์ชซึ่ง เป็นดัชนีบ่งบอกความสามารถในการทำให้เกิดเมทริกซ์ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิด การเคลือบผิว (Kenyon และ Anderson,1988; Shahidi และ Han,1993)

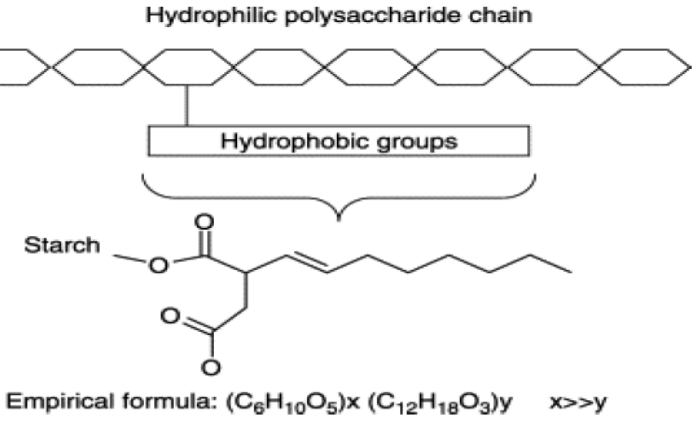


รูปที่ 2.10 โครงสร้างมอลโตเด็กซ์ทริน (Edgar,2009)

แป้งข้าวโพดดัดแปร HI-CAP 100 เป็นแป้งข้าวโพดดัดแปรประเภทต่อเติม โดยเกิดปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) เพื่อเปลี่ยนหมู่ฟังชัน (Functional group) ในโมเลกุลของแป้งจากหมู่ ไฮดรอกซิล (OH) ซึ่งชอบน้ำมาก Highly hydrophillic) มาเป็นหมู่เอสเทอร์(Ester group) ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เช่น ออคเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ด (Octenyl succinic anhydride,

OSA) ระดับความไม่ชอบน้ำขึ้นอยู่กับหมู่เอสเทอร์ และระดับการแทนที่ (Degree of substitution) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้แป้งจากธรรมชาติ(Native starch) ซึ่งชอบน้ำ มาเป็นแป้งที่โมเลกุลบางส่วนไม่ชอบน้ำ แต่ชอบไขมัน Lipophillic) ทำให้มีสมบัติของการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ Emulsifier ช่วยให้เกิดอิมัลชัน Emulsion) ป้องกันการแยกชั้นของน้ำและน้ำมัน จึงนิยมใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มในการกักเก็บสารที่มีปริมาณน้ำมันค่อนข้างสูง สามารถเตรียมสารที่มีความเข้มข้นสูงได้โดยมีค่าความหนืดต่ำ ทำให้สามารถอบแห้งได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งลักษณะการก่อตัวของแป้งจะเกิดในรูปแบบฟิล์ม ช่วยลดการสูญเสียของสารชั้นในระหว่างกระบวนการทำแห้งและในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ได้ดีเยี่ยม จึงนิยมนำมาใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มแทนกัมอาระบิคและ

เจลาตินที่มีราคาสูง



รูปที่ 2.11 โครงสร้างแป้งข้าวโพดดัดแปร HI-CAP 100

4. กัม (Gum) เป็นหนึ่งในที่เก่าแก่ที่สุดและแบบดั้งเดิมวัสดุเคลือบหรือมักนำมาใช้ในการอบแห้งสเปรย์ ซึ่งเป็นของเหลวธรรมชาติจากลำต้นและกิ่งก้านของพืชตระกูลถั่ววงศ์ Acacia แม้ว่ามันจะเป็นหนึ่งในที่ต้องการมากที่สุดวัสดุเลือบ ยังเป็นอีกทางเลือกที่มีการใช้ เครื่องปรุงแห้งและวัสดุหลักอื่น ๆ เนื่องจากการผลิตที่ต่ำ (300g/plant/year) และราคาสูง

5. โปรตีน (Protein) โปรตีนจัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติทางหน้าที่ของสารเคลือบ เช่น ค่าการละลาย (solubility), ความหนืด (viscosity), emulsification และ คุณสมบัติของการทำให้เกิด ฟิลม์ ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ได้ดีในกระบวนการเอนแคปซูเลชัน ระหว่างการเกิดอิมัลชัน โมเลกุลของโปรตีนจะดูดซับที่บริเวณ oil-water interface อย่างรวดเร็วทำให้เกิด stericstabilizing layer ขึ้นทันทีจึงสามารถปกป้องหยดน้ำมัน (oil droplets)จากการกลับมา รวมตัวอีกครั้ง (recoalescence) ทำให้เกิดความเสถียรทางกายภาพของอิมัลชันระหว่าง กระบวนการผลิตและการเก็บรักษา (Dalgleish, 1997; Dickenson, 2001)

6. เวย์โปรตีน (Whey protein) โปรตีนสกัดที่แยก เอาไขมัน และแลกโตสออกไป ส่วนที่เหลือจะนำมาใช้เป็นสารเคลือบ (Lin และคณะ, 1995) โครงสร้างของเวย์โปรตีนให้คุณสมบัติที่มีประสิทธิภาพถ้าปราศจาก ไขมันนม เวย์โปรตีนคือสารผสมของมอลโตสเดรกซ์ทรินและข้าวโพด พบว่าเป็นวัสดุห่อหุ้มที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการใช้เทคนิคสเปรย์พ่นฝอยแห้ง (Kenyon and Anderson, 1998)

7. โปรตีนชนิดอื่นๆ Protein-based material เช่น polypeptone, โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein) หรือ อนุพันธุ์ของเจลาทิน (gelatin derivative) มีคุณสมบัติในการทำให้เกิดอิมัลชันที่เสถียร กับสารให้กลิ่นรส เจลาทินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายคอลลาเจน (collagen) ถูกนำมาใช้ ในรูปของสารเคลือบในการเอนแคปซูเลทสารให้กลิ่นรสโดยเทคนิค complex coacervation และ เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Ducel และคณะ, 2004) เนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีและมีคุณสมบัติในการเคลือบผิว (Lee และคณะ, 1999) ไมโครแคปซูลของสารให้กลิ่นรสที่ได้โดยใช้เจลาทินเป็นสารเคลือบสามารถนำไปประยุกต์ใช้ใน ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส (seasoning) (Gourdel และ Tronel, 2001)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

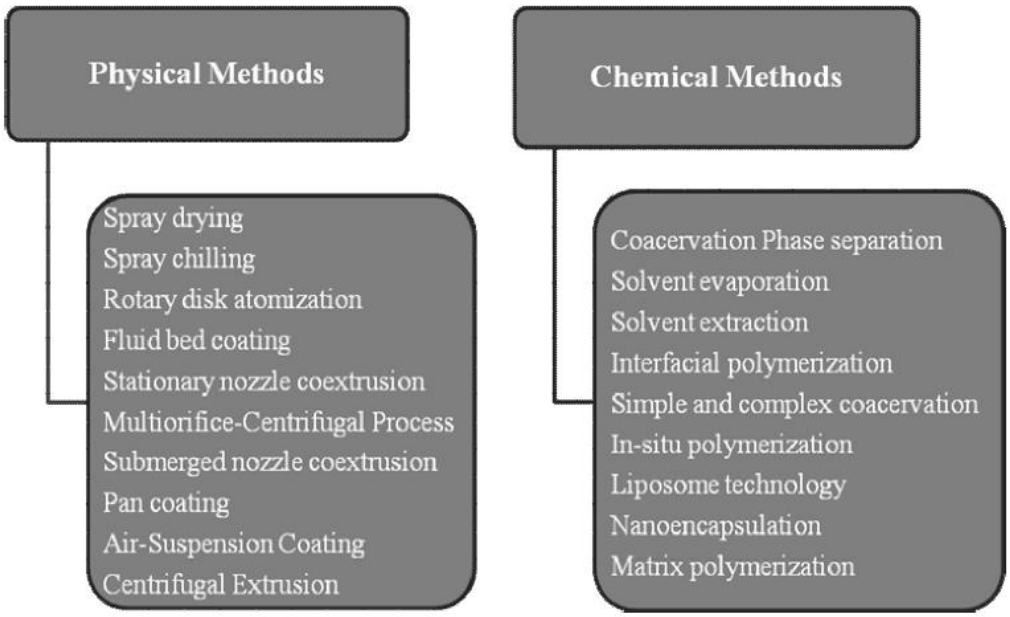
ตารางที่ 2.3 ตารางที่ใช้ในการเลือกเทคนิคการห่อหุ้มโดยกระบวนการทางกายภาพ (Hammad,2011)

Coating Materials	Multi-orifice centrifugal	Phase separation coacervation	Pan Coating	Spray drying	Air Suspension	Solvent Evaporation
			Water-soluble resins			
Gelatin	x	x	x	x	x	x
Gum arabic		x	x	x	x	x
Starch		x	x	x	x	
Polyvinylpyrrolidione	x	x	x	x	x	
Carboxymethylcellulose		x	x	x	x	
Hydroxyethylcellulose		x	x	x	x	x
Methyl cellulose		x	x	x	x	
Arabinogalactan		x	x	x	x	
Polyvinyl alcohol	x	x	x	x	x	x
Polyacrylic acid		x	x	x	x	x
Polyethylene	x				x	x
Polymethacrylate		x	x	x	x	x

ตารางที่2.3 สารที่ใช้เคลือบผิวในกระบวนการไมโครแคปซูเลท (ต่อ)

Coating Materials	Multi-orifice centrifugal	Phase separation coacervation	Pan Coating	Spray drying	Air Suspension	Solvent Evaporation
			Water-insoluble resins			
Ethyl cellulose		x	x	x	x	x
Polyethylene	x				x	x
Polymethacrylate		x	x	x	x	x
Polyamide (Nylon)					x	x
Poly (Ethylene-vinyl acetate)	x	x	x	x		x
Cellulose nitrate	x	x	x	x		x
Silicones			x	x		
Poly (Lactide-coglycolide)		x	x			x
			Enteric resins			
Shellac		X	X	X	X	X
Cellulose acetate phthalate		X	X	X	X	
Zein		X			X	

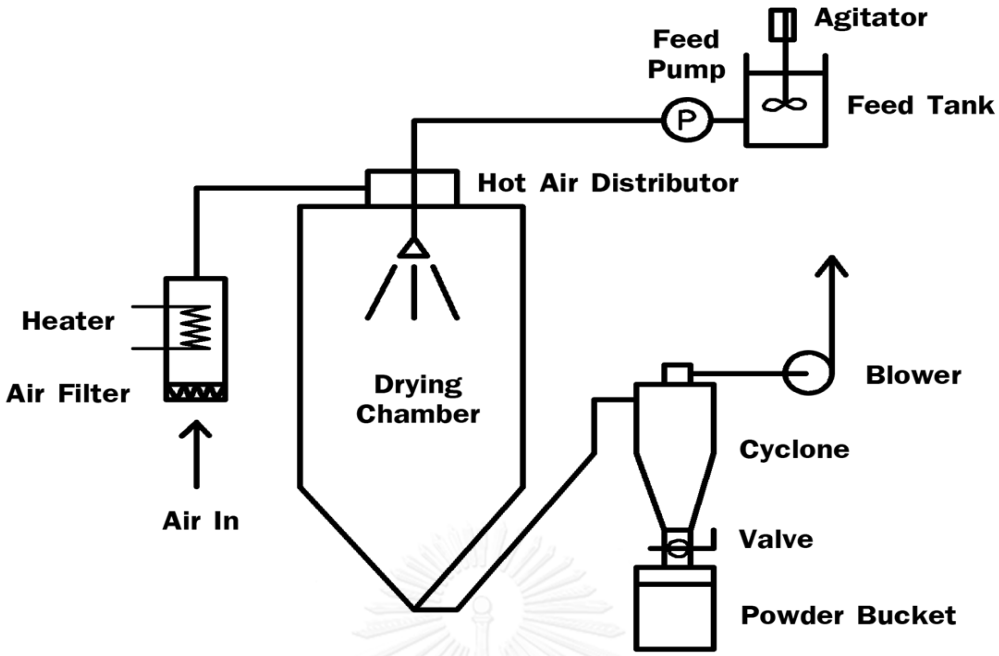
2.12.2 เทคนิคที่ใช้ในการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation techniques)



รูปที่ 2.12 เทคนิคที่ใช้ในการเอนแคปซูเลชันทางเคมีและฟิสิสกส์ **(**Hammad U,2011)

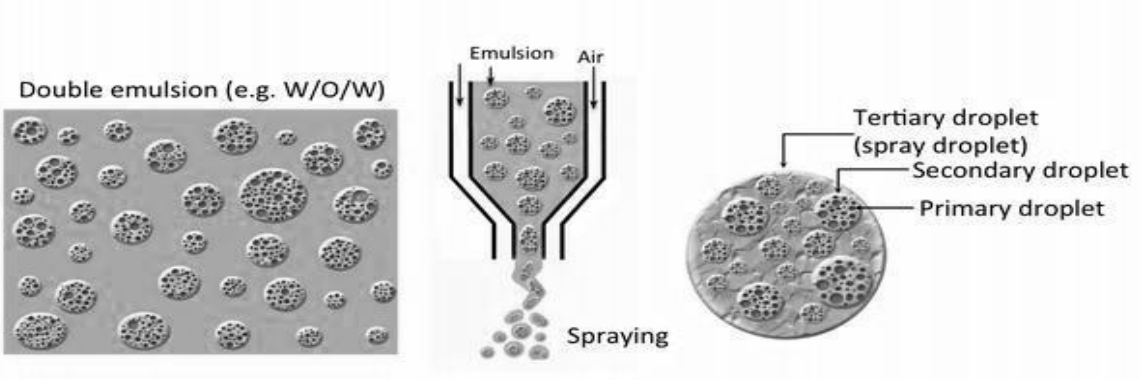
<u>วิธีทางฟิสิกส์</u>

1. เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Drying) สเปรย์แห้งเป็นเทคนิคไมโครที่พบมากที่สุดที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สเปรย์เทคนิคการอบแห้งในการผลิตเครื่องปรุงห่อหุ้มถูกค้นพบโดย Boake Roberts ในปี 1937เมื่ออะซิโตนถูกเพิ่มเข้ามาบังเอิญไปน้ำซุปข้นมะเขือเทศที่ช่วยให้รักษาสีและกลิ่นของผงมะเขือเทศอบแห้งในช่วงที่สเปรย์ ต่อจากนั้นฉีดสเปรย์ การอบแห้งได้กลายเป็นกระบวนการเชิงพาณิชย์ที่สำคัญที่สุดสำหรับการทำแห้งรส วิตามิน เกลือแร่ สี ไขมันและน้ำมันกลิ่นสารหอม oleoresins และเอนไซม์ ได้รับการห่อหุ้มการใช้เทคนิคนี้ มันเป็นประหยัดเช่นเดียวกับที่มีประสิทธิภาพ วิธีการในการป้องกันวัสดุและจะใช้กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับรสชาติ ซึ่งจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะ สารที่ใช้เคลือบได้แก่ มอลโต-เดรกซ์ทริน กัม และอื่นๆนำไปละลายน้ำโดยใช้วัสดุเหล่านี้เป็นสารเคลือบ อัตราส่วนที่ใช้สารเคลือบต่อสารที่ถูกห่อหุ้ม คือ 1:4 เป็นสารละลายผสมที่ถูกป้อนเข้าไปในเครื่องสเปรย์พ่นฝอยกับหัวฉีด โดยน้ำจะระเหยไปกับอากาศร้อน เมื่อไปสัมผัสกับอากาศร้อนแล้ว จะให้สารลายเปลี่ยนสถานะเป็นผงทำให้เกิดแคปซูลขนาดเล็กและตกลงมาที่ก้นขวดเป็นผงแห้ง ข้อดีของการใช้เทคนิคสเปรย์พ่นฝอยแห้งคือ ง่ายต่อการใช้งาน สะดวก ต้นทุนการผลิตต่ำ สามารถเลือกใช้ตัวเคลือบได้หลายชนิด (Gibbs,1999)



รูปที่ 2.13 การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (เปรม,2012)

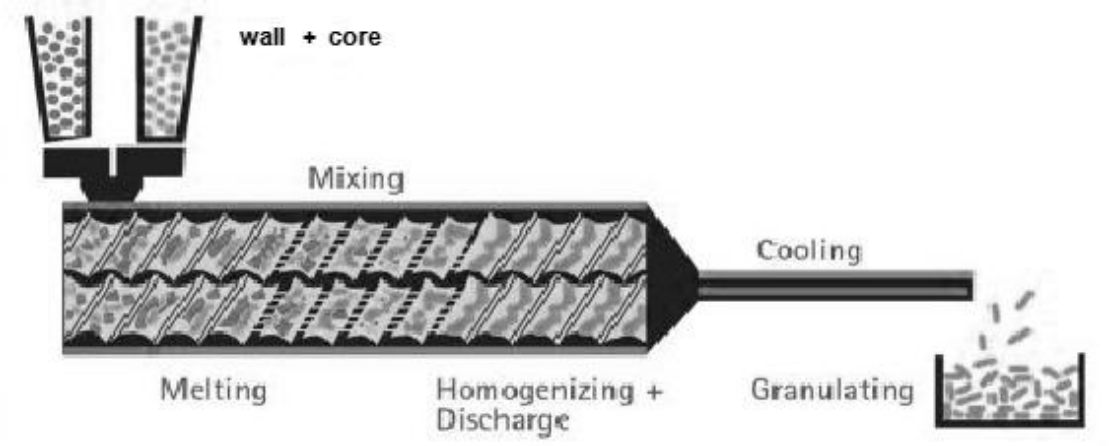
2.เทคนิคสเปรย์ ชิลลิง(Spray Chilling) เป็นเทคนิคที่ใช้สรที่ถูกห่อหุ้มผสมกับสารเคลือบจากนั้นเข้าเครื่องทำพ่นฝอยโดยผ่านอากาศเย็น ทำให้สารเคลือบแข็ง รอบผิวจะทำการยึดแกนกลางของสารที่ถูกหุ้ม (Risch,1995) วัตถุดิบที่นิยมใช้เทคนิคนี้คือน้ำมันพืช ที่อุณหภูมิ หรือสารชนิดอื่นที่มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 45 –122 องศาเซลเซียส และสารที่ไม่ละลายในตัวทำละลาย สารที่ง่ายต่อการเสื่อมสภาพเมื่อสัมผัสกับความร้อน เทคนิคนี้นิยมใช้กับการอนแคป สารให้กลิ่น รส วิตามิน แร่ธาตุ สารเพิ่มความเป็นกรด เอนไซม์ และสารที่ใช้เป็นเครื่องปรุงในอาหาร เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติ เพิ่มความเสถียร ทนต่อความร้อน ลดการปลดปล่อยสาร ทนต่อความชื้น เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะทำให้วัสดุง่ายต่อการนำไปใช้งานซึ่งอยู่ในรูปแบบผง



รูปที่ 2.14 การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคสเปรย์ ชิลลิง(Bipro ,2012)

3.เทคนิคสเปรย์คูลลิง (Spray cooling) คือการเอนแคปสารแบบเนื้อเมทริกซ์ เป็นการรวมตัวของโมโครเอนแคปซูลเลทเกิดการตกตะกอนเป็นเนื้อขนาดใหญ่ ซึ่งจะเป็นการชะลอการปลดปล่อยของสารภายใน ซึ่งหลักการการเคลือบนั้นมีลักษณะคล้ายกับเทคนิคสเปรย์ ชิลลิง(Spray Chilling) แต่อย่างไรก็ตามเพื่อประสิทธิภาพที่สูงสุดของการผลิตไมโครเอนแคปซูเลทจะต้องคำนึงถึงสารเคลือบโดยต้องมีคุณสมบัติคล้ายกับเทคนิคสเปรย์ ชิลลิงที่ได้กล่าวไปดังกล่าว หากเลือกสารเคลือบไม่เหมาะสมกับเทคนิคจะส่งผลให้สารที่ถูกห่อหุ้มภายในถูกทำลายไปตามสภาวะ ทำให้ไม่เกิดเป็นโครเอนแคปซูเลทตามต้องการ

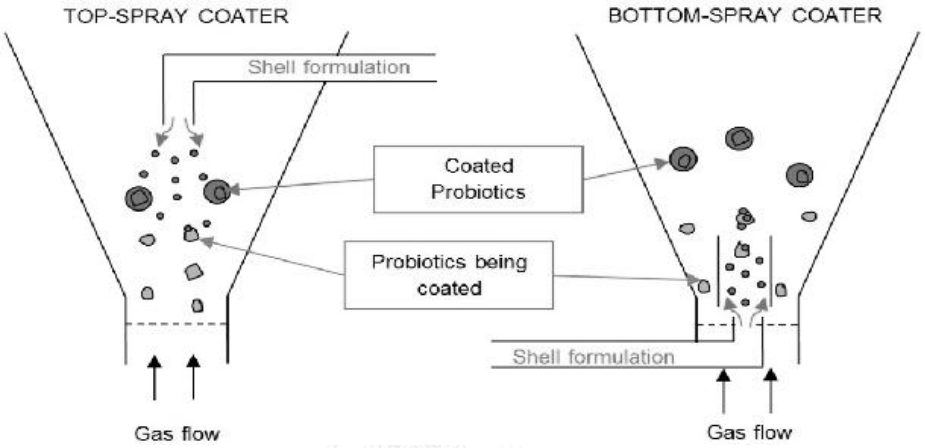
4. เทคนิดเอกทรูชัน (Extrusion) มักใช้กับสารที่ระเหยง่ายไม่เสถียร สารให้กลิ่นที่ใช้เคลือบมักใช้แป้ง ประโยชน์หลักของเทคนิคนี้คือ ทำให้ไมโครเอนแคปซูลเลทมีอายุการใช้งานที่ยาวนานขึ้น สำหรับสารประเภทที่เกิดออกซิเดชั่นได้ง่าย เช่น น้ำมันหอมระเหย โดยอากาศจะกระจายเข้าสารเคลือบผ่านน้ำอย่างช้าๆ จึงทำให้ออกซิเจนไม่สามารถผ่านมาได้ จึงลดการเกิดออกซิเดชั่นของน้ำมันหอมระเหย พบว่าเทคนิคนี้สามารถทำให้สารมีอายุการใช้งานได้ถึง 5 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคสเปรน์พ่นฝอยแห้งที่สามารถรักษาผลิตภัณฑ์ได้แค่ 1 ปี สารเคลือบชนิดคาร์โบไฮเดรตเหมาะสำหรับใช้ในเทคนิคเอกทรูชั่น ง่ายต่อการนำใช้ทำไมโครเอนแคปซูลเลท (Zasypkin and Porzio,2004) อาหารและยาก็ยังใช้เทคนิคนี้ในการผลิต หลักการใช้สารเคลือบคาร์โบไฮเดรตคล้ายกับเทคนิคฟลูอิไดซ์เบดด้วย การใช้อุณหภูมิที่ต่ำของเทคนิคนี้ทำให้ใช้แป้งมันสำปะหลัง กลีเซอรอลและน้ำเกิดเป็นเจลลาติน และสามารถใช้เครื่องอัดรีดตัดเจลที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำลดลงถึง 50 องศาเซลเซียส กลายเป็นผงแห้ง



รูปที่ 2.15 การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคเอกทรูชัน (Ulrich.,20013)

5. เทคนิคฟูลอิดไดส์เบด (fluidized bed coating) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพมากในการเคลือบแบบชั้นโดยสารเคลือบที่เหมาะสมคือ โพลีแซคคาไลด์ โปรตีน อิมัลติไฟเออร์ ไขมัน ยีสส์ และเซลล์สกัด โดยจุดเด่นของเทคนิคนี้คือ การปลดปล่อยสารที่ยาวนานกว่าเทคนิคอื่นๆ โดยสามารถนำ

ไมโครเอนแคปที่ทำจากสเปรย์พ่นฝอยแห้งแล้ว นำมาเคลือบอีกชั้นด้วยเทคนิคนี้โดยใช้สารเคลือบ เช่นไขมัน หรืออิมัลติไฟเออร์ จะทำให้ยืดอายุการใช้งานได้ ซึ่งเป็นเทคนิคที่น่าสนใจ เทคนิคนี้จะควบคุมอุณหภูมิและควบคุมความชื้น ซึ่งมีอากาศความเร็วสูงที่ใช้ในการเคลือบสาร (De Zarn,1995) ขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 50-500 ไมครอน การเคลือบสารจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการเคลือบ เทคนิคนี้สามารถประยุกต์ใช้กับ Hydrogenate oil สเตียรีนส์ กรดไขมัน แว๊กซ์ สารเลือบชนิดแป้ง กัม และมอลโตสเดรกซ์ทริน (Tsutsumi, และคณะ,1998;Matsuda, และคณะ, 2001; Gouin, 2004)

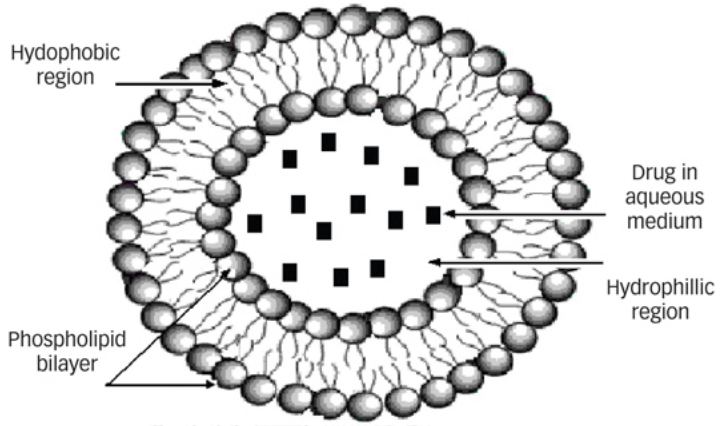


รูปที่ 2. 16 การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคฟูลอิดไดส์เบด (María ,2012)

<u>วิธีการเคมี</u>

1.เทคนิคไลโปโซม (Liposome) คืออนุภาคขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นถุงกลมๆของสารไขมัน ซึ่งโครงสร้างประกอบด้วย 2 ชั้นคือ ไขมันและที่ใส่ของเหลว ได้ถูกนำมาใช้สำหรับขนส่ง วัคซีน ฮอร์โมน เอนไซม์ และวิตามินเข้าไปในร่างกาย ประกอบด้วยหนึ่งชั้นหรือมากกว่านั้น ไขมันนี้จะปลอดสารพิษและเป็นที่ยอมรับสำหรับอาหาร การซึมผ่าน ความเสถียร พื้นผิว สมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กันและสามารถทำให้แตกต่างโดยผ่านทางรูปแบบขนาดและองค์ประกอบของไขมัน ขนาดโดยทั่วไปอยู่ในช่วง 25 นาโนเมตร ง่ายต่อการเก็บรักษาสารโดยการแช่แข็งแห้ง(freeze-drying) ฟอสโฟลิพิด (*phospholipid*) ถูกสร้างเป็นชั้นนอกหรือชั้นของไลโปโซม ส่วนน้ำของไขมันที่มีจะไปจับกับทางเฟสน้ำและไม่ชอบน้ำ เชื่อมส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลไขมันอื่น ๆ ซึ่งจะอยู่ในรูปทรงกลม และน้ำกับไขมันจะไม่ละลายรวมกันและจะทำหน้าที่คล้ายเมมเบรน ในการดัดแปลงนำมาใช้ในรูปอาหาร ไลโปโซมในการทำชีสที่รู้จักกันดี (Kirby, 1991) พบมากที่สุดฟอสโฟลิพิด ในเลคติน ชื่อเรียกทั่วไปคือ ฟอสฟาติดิล คอลีน ไม่ละลายในน้ำและ แยกได้จากถั่วเหลืองหรือไข่แดง กรดไขมันก็สามารถนำมาทำเป็นไลโปโซมได้ขึ้นอยู่กับชนิด เช่นไขมันจากสัตว์ อุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยน

รูปของไลโปโซมเป็นของเหลว หรือเกิดการรั่ว แม้น้ำตาลเป็นโมเลกุลที่มีขั้วก็ยังไม่สามารถผ่านชั้นของไลโปโซมได้ (Kim and Baianu และคณะ,1991) ซึ่งกระบวนการนี้จะไวต่อความร้อน สารใช้นำส่งคือจะเป็ฯสารที่ละลายน้ำ น้ำมันอโรมา หรือ ยา โดยจะนำไปแช่แข็ง และไม่สัมผัสน้ำเป็นเวลา 20 ชั่วโมง ซึ่งเทคนิคนี้ควรเลือกวัสดุให้เหหมาะสม และขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของสารนั้นๆด้วย (Kopelman และคณะ, 1977)



รูปที่ 2.17 การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคไลโปโซม (Priyabrata และ Tathagata,2009)

2. เทคนิคโคอะเซอเวชั่น (Coacervation) เรียกได้อีกอย่างคือ การแยกเฟส เพราะเมื่อสารที่ถูกห่อหุ้มถูกเอนแคปเข้าไปในสารเคลือบแล้วจะตกตะกอน หรือแยกออกเป็นคอลลอยด์ จากสารละลาย (Dziezak, 1988) (Bakan ,1973) ทั้งการเคลือบแบบชั้นเดียวและเคลือบหลายชั้นของเทคนิคโคอะเซอเวชั่น สามารถใช้ได้กับสารที่ละลายและไม่ละลายน้ำ พอลิเมอร์ที่ละลายได้เช่น เจลลาติน โปรตีน นำไปละลายกับสารที่มีขั้วไม่ชอบน้ำ Versic, (1988) โดยโครงสร้างที่เคลือบหลายชั้นนั้นจะมีโครงสร้างเป็นไอออนทำให้เกิดประจุระหว่างชั้นของพอลิเมอร์ โดยทั่วไปจะเป็นประจุบวกในชั้นของโปรตีน (Soper,1995) และประจุลบจะมีอนุภาคที่ใหญ่กว่า เช่น เจลลาติน และกัมอะราบิค (Brazel, 1999) โดยเทคนิคนี้เกี่ยวข้องกับการแยกของของเหลวของวัสดุเคลือบผิวพอลิเมอร์ตามด้วยการเคลือบรอบๆสารที่ถูกหุ้มเป็นอนุภาคแข็ง (Kirby,1991) มีขั้นตอนในการเคลือบทั้งหมด 3 ขั้นตอน โดยต้องกวนอย่างต่อเนื่อง (Pagington,1986)

2.1 การเกิดอนุภาคของเหลวแยกเฟสที่ไม่ละลายเข้าด้วยกัน

2.2 เกิดการเคลือบของสารที่นำมาเคลือบ

2.3 กลายเป็นของแข็งแยกเฟส เมื่อถูกเคลือบ

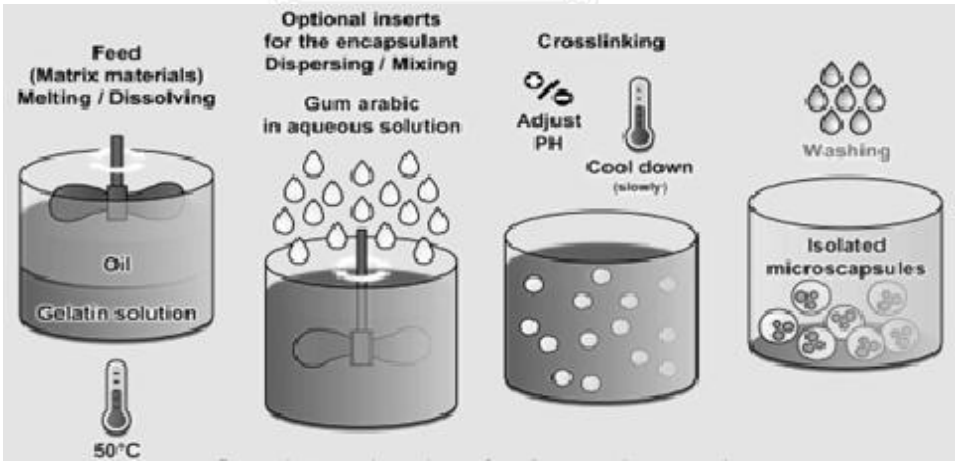
สารที่นำมาใช้เป็นสารเคลือบ มีมากมายหลายชนิดเช่น เจลลาติน, ไคโตซาน , โปรตีนถั่วเหลือง ,พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA), เฮพาริน/เจลลาติน, คารารจีแนน,

carboxymethylcellulose/เจลลาติน, B-lactoglobulin/กัมอาระบิค ,กัม/เดรกซ์ทริน (Gouin,2004) ต่อมาได้พัฒนานำเจลลาตินและกัมอะราบิคทำการเคลือบ 2 ชั้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการทนความร้อนมากยิ่งขึ้นและเหมาะ

กับนำมาห่อหุ้ม สารที่ระเหยง่าย หรือสารประเภทน้ำมันเป็นต้น (Arneodo, 1996; Ijichi และคณะ ,1997; Soper and Thomas,1997) การเกิด coacervation ทำได้โดย

1. การปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ
2. การปรับเปลี่ยน pH
3. การเติม ionic salt

การเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคนี้จะต้องทำการควบคุมการผสมเพื่อทำให้สาร เคลือบเคลือบบนผิวของสารแกนกลางอย่างสม่ำเสมอ สารเคลือบที่ใช้ได้แก่ เจลลาติน การ เคลือบผิวรอบๆสารแกนกลางเกิดจากการดูดซับ hydrophillic phase ที่บริเวณผิวของ สารแกนกลาง การเติม electrolyte เข้าไปในระบบจะทำให้เกิดการตกตะกอนของ คอลลอยด์โดย electrolyte จะไปทำให้ประจุเป็นกลางซึ่งจะช่วยให้เกิดการเคลือบที่ บริเวณผิวของสารแกนกลาง จากนั้นทำให้ไมโครแคปซูลที่ได้อยู่ในรูป solid microcapsule โดย desolvation หรือ thermal cross – linking (Korus, 2001)



รูปที่ 2.18 การเอนแคปซูเลทโดยเทคนิคคอมเพล็กซ์โคอะเซอเวชั่น **(**Swarbrick ,2007)

3.การตกผลึก(Cocrystallization) เป็นเทคนิคการเอนแคปซูเลชันแบบใหม่ โดยใช้ซูโครสเป็นสารเคลือบเคลือบสารที่ถูกห่อหุ้ม โดยซูโครสไซรัปที่มีความเข้มข้นจะอิ่มตัวที่อุณหภูมิสูงแล้วจะตกผลึก เมื่อกระบวนการตกผลึกจะทำการเติมสารที่ถูกห่อหุ้มเข้าไปและเติมซูโครสไวรัปเข้าไปด้วยจะเกิดการวมตัวกันเป็นอนุภาค เมื่อถึงอุณหภูมิค่าหนึ่งที่เหมาะสมแล้ว สารละลายจะอิ่มตัวและเกิดผลึก

จากนั้นกวนอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มการตกผลึก แล้วนำไประเหยให้แห้งและไปร่อนจะได้อนุภาคที่ต้องการ ซึ่งอัตราการตกตกตะกอนนั้นส่งผลถึงขนาดของผลึกด้วย นอกจากนี้อุณหภูมิยังแปรผันต่อสถานะของสารเคลือบ

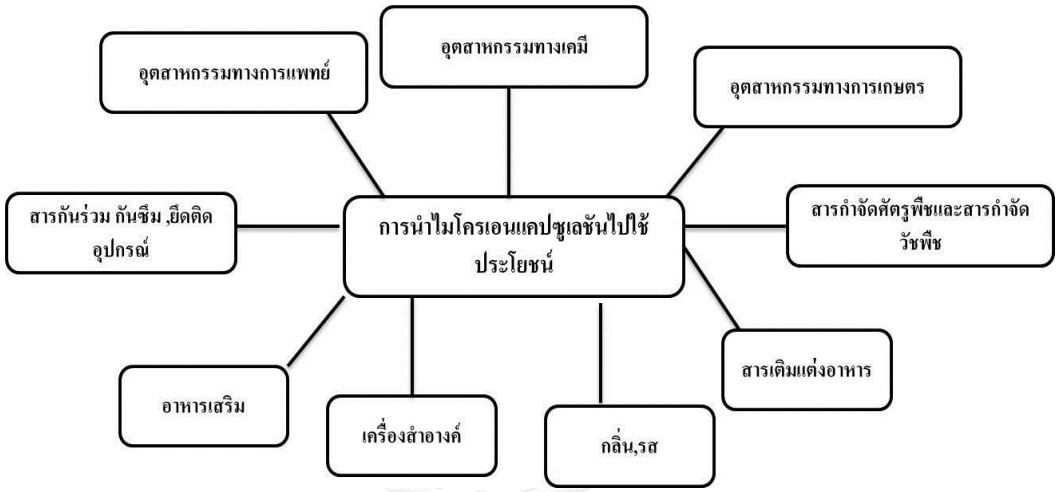
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.4 ขนาดทั่วไปอนุภาคของการเอนแคปสารด้วยเทคนิคต่างๆ (Particle Sciences ,2010)

กระบวนการ	ขนาดอนุภาค	โครงสร้าง	
		Matrix	core-shell
Solvent cast/grind	1 μm - 5 mm	X	
Spray chilling	1 μm - 100 μm	X	X
Spray drying	1 μm - 100 μm	X	
Vibrating-nozzle (narrow size distribution)	10 μm - 5 mm	X	X
Emulsification/solvent evaporation	100 nm – 5 mm	X	
Melt/emulsify/chill (forms solid lipid particles)	100 nm – 5 mm	X	X
Spray-coating/pan coating	100 μm – 5 mm		X
Polymer phase separation from solution	100 nm – 5 mm		X
Coacervation	1 μm - 5 mm	X	X
Interfacial polymerization	100 nm - 500 μm		X
Suspension polymerization	100 nm - 5 mm	X	
Extrusion/spheronization (extrusion/micropelletization)	1 mm - 5 mm	X	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.12.3 ประโยชน์ของเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่น



รูปที่ 2.19 การนำไปใช้เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่นไปใช้ประโยชน์

มีการนำเทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชั่นไปใช้ประโยชน์อย่างมากมายทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ และอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งประโยชน์หลักๆ ของเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั่น ได้แก่

1. ลดการทำปฏิกิริยาของสารสำคัญสารที่ถูกห่อหุ้ม (core) ต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อากาศ น้ำ หรือสารเคมี

2. ลดอัตราการระเหยหรือการปลดปล่อยสารที่ถูกห่อหุ้ม (core) สู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

3. ช่วยทำให้ง่ายต่อการนำสารที่ถูกห่อหุ้ม (core) ไปใช้ เช่น ช่วยทำให้ของเหลวอยู่ในรูปของแข็ง ง่ายต่อการนำไปผสมกับส่วนผสมอื่นโดยไม่เกิดการทำปฏิกิริยาต่อกัน

4. สามารถควบคุมการปลดปล่อยตัวยาหรือสารสำคัญให้ได้ตรงตามวัตถุประสงค์ออกฤทธิ์นาน

5. ช่วยกลบกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ของส่วนประกอบสารที่ถูกห่อหุ้ม

6. ช่วยเพิ่มปริมาณของสารที่ถูกห่อหุ้ม (core) ในกรณีที่ใช้สารที่ถูกห่อหุ้ม (core) ปริมาณเล็กน้อยในส่วนผสมจำนวนมาก เพื่อให้เกิดการผสมที่ทั่วถึงกันในปัจจุบันมีการทำให้ไมโครเอนแคปซูเลชั่นลดระดับไปถึงระดับนาโนคือ จะมีขนาดอนุภาคที่ได้ต่ำกว่าระดับไมครอน ซึ่งมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมกลิ่นรส (flavor) อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ อุตสาหกรรมสิ่งทอ

2.12.4 ระบบการปลดปล่อย

กลไกที่สำคัญของการปล่อยสารที่ถูกห่อหุ้มจากไมโครแคปซูลมีดังต่อไปนี้

1. ระบบการย่อยสลายควบคุมสารที่นำมาเคลือบ สารที่ถูกห่อหุ้มจะถูกละลายไปในสารที่นำมาเคลือบและ กระจายไปทั่ว ถูกปล่อยออกมาในการย่อยสลายของสารที่นำมาเคลือบการแพร่กระจายของสารที่ถูกห่อหุ้มถูกปล่อยอย่างช้าๆ เมื่อเทียบกับการย่อยสลายของสารที่นำมาเคลือบ

2. ระบบการแพร่ สารที่ออกฤทธิ์ที่ถูกบรรจุภายในจะต่อยๆแพร่ออกมาจากสารที่นำมาเคลือบในขณะเดียวกันนั้น สารที่นำมาเคลือบจะค่อยๆเสื่อมสลายโดยขึ้นอยู่กับอัตราการปลดปล่อย ซึ่งสารที่นำมาเคลือบอาจรวมเป็นเนื้อเดียวกัน หรือ เป็นเนื้อผสมขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่นำมาเคลือบ

3. ระบบการกระจายของสารถูกห่อหุ้ม สารที่ถูกห่อหุ้มจะค่อยๆกระจายด้วยการผ่านชั้นของสารที่นำมาเคลือบทำหน้าที่คล้ายเมมเบรน เมื่อเมมเบรนถูกทำลายจะทำให้สารถูกห่อหุ้มกระจายได้อย่างสมบรูณ์ ในกรณีการปลดปล่อยตัวยาจะได้รับผลกระทบของการเสื่อมของสารที่นำมาเคลือบ

4. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยโดยใช้ความดัน การควบคุมการปลดปล่อยโดยวิธีนี้จะแตกต่างจากวิธี การควบคุมการปลดปล่อย โดยการแพร่ โดยเทคนิคนี้ไม่ต้องการการปลดปล่อยอย่างช้าๆ เช่นในกรณีของน้ำหอม ปรับอากาศ (air refresher) ในรถยนต์ แต่ต้องการให้เกิดการปลดปล่อยอย่างสมบูรณ์ เมื่อมีการใช้แรงกด ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้เทคนิคนี้ในการปลดปล่อยกลิ่นรสได้แก่ หมากฝรั่ง และลูกกวาด เทคนิคการปลดปล่อยสารให้กลิ่นรสโดยการใช้ความดัน สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับ ผลิตภัณฑ์ธัญพืช(cereal) ซึ่งการใช้ความดันในระหว่างการเอกซ์ทรูชันจะทำให้เกิดการปลดปล่อย encapsulated material ออกมา

5. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยหลักการพอง การควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยหลักการพองตัว สารให้กลิ่นรสจะละลายหรือ กระจายตัวในพอลิเมอร์ในสารที่นำมาเคลือบ และไม่สามารถจะแพร่กระจายออก จากสารที่นำมาเคลือบได้ เมื่อพอลิเมอร์ในสารที่นำมาเคลือบสัมผัสกับตัวทำละลายจะเกิดการพองตัวเนื่องจาก ของเหลวถูกดูดซึมเข้าไปในสารที่นำมาเคลือบ สารให้กลิ่นรสจึงแพร่กระจายออกมา

6. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยโดยใช้ตัวทำละลาย การปลดปล่อยโดยวิธีนี้จะเกิดโดยสมบูรณ์เมื่อนำแคปซูล มาละลายในน้ำอย่าง รวดเร็วและทำให้เกิดการปลดปล่อยสารที่อยู่ภายในออกมา หรือโดยการทำให้แคปซูล มี การพองตัว จนทำให้เกิดการปลดปล่อย active ingredient ออกมาในอุตสาหกรรมอาหาร การควบคุมการปลดปล่อยโดยใช้ตัวทำละลาย encapsulating matrix จะเป็นสารที่ละลาย น้ำได้ ซึ่งจะใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มในรูปผง (dry beverage) หรือ dry cake mix

7. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยสารให้กลิ่นรสโดยวิธีการหลอมละลาย เทคนิคการควบคุมการปลดปล่อยโดยวิธีการหลอมละลายสารที่นำมาเคลือบทำให้สารแกนกลางถูกปลดปล่อยออกมานิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสารที่นำมาเคลือบหลายชนิด

(lipid, modified lipids หรือ waxes) สามารถหลอมละลายและผ่านการรับรองความปลอดภัยให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร สารให้กลิ่นรสที่ผ่านการเอนแคปซูเลทจะต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของสารที่นำมาเคลือบ การหลอมละลายของสารที่นำมาเคลือบและการปลดปล่อยสารแกนกลางจะเกิดเมื่อมีการให้ความร้อนระหว่างการเตรียมหรือการหุงต้ม (Sparks และคณะ,1995)

8. ระบบการควบคุมการปลดปล่อยโดย pH การควบคุมการปลดปล่อยโดย pH ใช้กันมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ เมื่อมีการ เปลี่ยนแปลงค่า pH แคปซูล จะเกิดการยุบตัว (collapse) และปลดปล่อยสารแกนกลางออกมา การควบคุมการปลดปล่อยวิธีนี้สามารถประยุกต์ใช้กับเอนไซม์ที่ผ่านการเอนแคปซูเลทโดยใช้ไลโปโซม การเปลี่ยนแปลงค่าpH จะทำให้โครงสร้างของ phospholipid – based liposome ไม่เสถียรจึงเกิดการปลดปล่อยเอนไซม์ออกจากแกนกลางของไลโปโซม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3

อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 การสกัดสมุนไพรและทดสอบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.1.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร (whatman)

3.1.1.2 กระบอกตวง

3.1.1.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) UV-2450, Shimadzu, Japan

3.1.1.4 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH Meter) MP220, Mettler Toledo, Switzerland

3.1.1.5 เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump)

3.1.1.6 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer LMS รุ่น VTX-3000L)

3.1.1.7 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator)

3.1.1.8 เครื่องกวนสาร (Manetic stirrer)

3.1.1.9 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.1.10 เตาอบ (Hot Air Oven) ULM 500, Memmert, Germany

3.1.1.11 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.1.12 ไมโครปิเปต

3.1.1.13 ปากคีบ

3.1.1.14 ปั้มแบบ Peristatic (Peristatic Pump) Watson Marlow, 505U, England

3.1.1.15 ลูปเขี่ยเชื้อ

3.1.1.16 สำลีพันก้าน

3.1.1.17 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave) SS-325, TOMY, Japan

3.1.1.18 พาราฟิล์ม (Parafilm)

3.1.1.19 หลอดทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.1.1.20 จานเพาะเชื้อ (Petri dish) ขนาด 90x15 มิลลิเมตร

3.1.1.21 Vertical Laminar flow VS-124, ISSCO, U.S.A.

3.1.1.22 เครื่องเขย่าสารละลาย (Incubator shaker)

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไมโครเอ็นแคปซูล

3.1.2.1 เครื่องไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (A&D,Model FX-2000i,Japan)

3.1.2.2 เครื่องไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (A&D,Model FX-202i,Japan)

3.1.2.3 เครื่องผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer,Silverson : L4RT,England)

3.1.2.4 ตู้แช่เยือกแข็ง (Freezer,SANYO,Thailand)

3.1.2.5 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer,OKATON,Chaina)

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาความคงตัวของสารเก็บกัก

3.1.3.1 ขวดแก้วพร้อมฝาปิดขนาด 7 ออนซ์ จากบริษัท อุตสาหกรรมเครื่องแก้วไทย จำกัด

3.1.3.2 แก้วขนาด 2 ออนซ์ (LG 42) จากบริษัท ลักกี้กลาส จำกัด

3.1.3.3 ถ้วยวุ้นพลาสติกรูปวงกลม

3.1.3.4 ตู้บ่มอุณหภูมิต่ำ (Incubator, Model MIR-553, Japan)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 เคมีภัณฑ์

3.2.1 สารเคมีที่ใช้การสกัดสมุนไพรและทดสอบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.2.1.1 เอทานอล (Methanol) (May & Baker, British)

3.2.1.2 ไดคลอโรมีเทน (Ethyl acetate) (May & Baker, British)

3.2.1.3 เฮกเซน (Hexane) (May & Baker, British)

3.2.1.4 อาหารวุ้นแข็ง Nutrient agar (Hi-media)

3.2.1.5 อาหารเหลว Nutrient broth

3.2.1.6 อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด MEM egal

3.2.1.7 สารละลาย MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)

3.2.1.8 สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต

3.2.1.9 ฟอลิน ซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin-ciocalteu) (Carlo Erba Reactifs SA, France)

3.2.1.10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)

3.2.1.11 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water, DI)

3.2.1.12 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

3.2.1.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

3.2 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

3.2.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฝวช. วว) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2.2 *Escherichia coli* ATCC 25922 จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฝวช. วว) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.3 สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ

3.3.1 เปล้าใหญ่ (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ) ใช้ส่วนเปลือกลำต้น

3.3.2 แห้วหมู (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ) ใช้ส่วนหัว

3.3.3 สะบ้า (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ) ใช้ส่วนเม็ด

3.3.4 คาง (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ) ใช้ส่วนเปลือกลำต้น

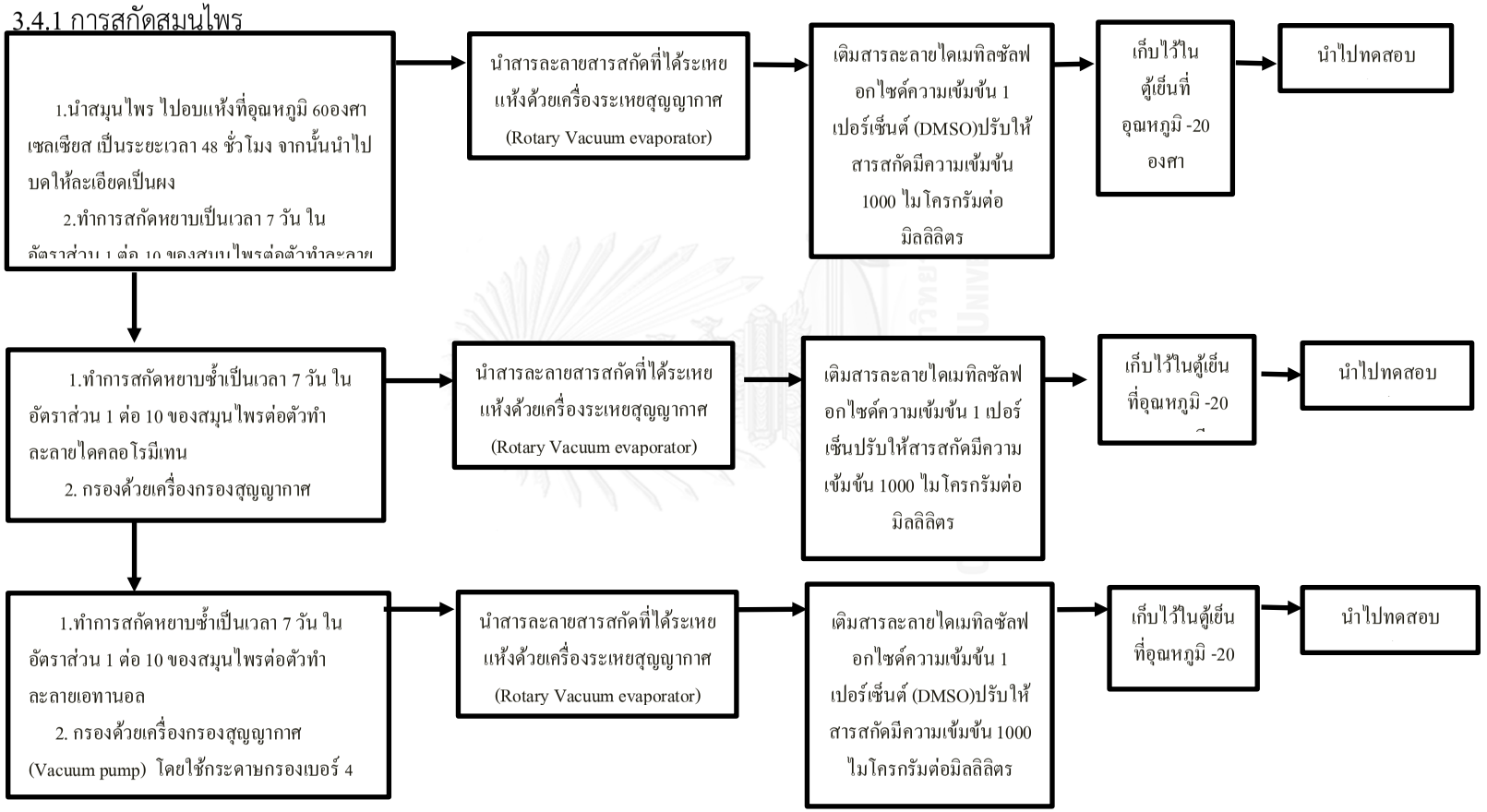
3.3.5 หว้า (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ) ใช้ส่วนผล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

<u>ตอนที่1</u> ขั้นตอนการสกัดสมุนไพรและทดสอบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.4.1 การสกัดสมุนไพร



3.4.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟินอลิกของสมุนไพรแต่ละชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟินอลิกเป็นการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) ทำการวิเคราะห์ตามวิธี Folin Ciocalteau micro method โดยนำตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.58 มิลลิลิตร และ Folin ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไปผสมเข้าด้วยกัน และปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อหาค่าความเข้มข้นฟินอลิกทั้งหมดที่ได้

3.4.3 การเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น

นำเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการเพาะในอาหารเหลวถ่ายลงในหลอดเลี้ยงเชื้อวุ้นเอียง (Slant) 1 ลูปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยสารละลายน้ำเกลือผสมซึ่งเตรียมได้จากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 800 มิลลิลิตร ปริมาณ 3 มิลลิลิตร เหวี่ยงผสมให้เข้ากันแล้วดูดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในขวดที่เตรียมน้ำเกลือไว้อยู่แล้ว 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10^6 เซลล์ ส่วนการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ทำการชั่งโมโนโซเดียมฟอสเฟต 27.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และชั่งไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 53.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายทั้งสองผสมกันในอัตราส่วน โมโนโซเดียมฟอสเฟต 39 มิลลิลิตร ต่อ ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 61 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3.4.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

3.4.4.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดสมุนไพร

นำเชื้อแบคทีเรียที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาปรับความขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากเชื้อ จนมีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 Mc farland และเตรียม 2-fold serial dilution โดยนำหลอดทดลองขนาดเล็กมา 10 หลอด ใช้ปิเปตดูด

อาหาร TSB ใส่ในหลอดที่ 2 จนถึงหลอดที่ 10 ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารสกัดสมุนไพรที่เตรียมไว้สำหรับทดสอบที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 ปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดที่ 2 ให้สารสกัดจากสมุนไพรรวมตัวกับอาหาร TSB จากนั้น ใช้ปิเปตดูดสารในหลอดที่ 2 ไปใส่ในหลอดที่ 3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอด และทำเจือจางต่อไปจนถึงหลอดที่ 9 จากนั้น ใช้ปิเปตดูดสารจากหลอดที่ 9 เขย่าแล้วทิ้งไป 1 มิลลิลิตร หลอดที่ 10 เป็นหลอดที่มีเฉพาะอาหาร TSB ใช้เป็นหลอดควบคุม ใช้ปิเปตดูดเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลอง หลอดที่ 1 ถึง 10 หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจากความขุ่นของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลอง ความเข้มข้นของหลอดทดลองสุดท้ายที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้ คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

3.4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยเทคนิค MTT assay

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดโดยใช้เซลล์ชนิด HaCaT ใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Modified Eagles Medium (MEM) ในการทดสอบโดยเตรียมเซลล์ที่ความเข้มข้น 10^4 เซลล์ ต่อ 1 well plate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดเอาอาหารเลี้ยงเซลล์ออกและเตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น (ปรับความเข้มข้นด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์) เติมลงใน well plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มไว้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดเอาสารละลายใน well plate ออกและเติม 0.04 N HCl-isopropanol และเขย่าให้ผลึก Formazan ละลายได้ดี ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

<u>ตอนที่2</u> การศึกษาการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปร ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ และเคมีของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพร

3.4.5 การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปร

ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดสมุนไพรโดยสารเคลือบมอลโตเดกซ์ทริน (oil in water) ด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นในอัตราส่วน 95:5 ของปริมาณสารเคลือบต่อสารสกัดสมุนไพร

1.นำมอลโตเดรกซ์ทริน ปริมาณ 30 กรัม ละลายในเอทานอลในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยมีเอทานอล 16.7 มิลลิลิตร และน้ำ 33.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

2.นำสารสกัดสมุนไพรปริมาณ 1.5 กรัม เทลงในสารละลายมอลโตเดกซ์ทริน ทำการคนเป็นเวลา 30 นาทีผสมให้เข้ากันและให้ความร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

3.ปรับ pH ที่ 4.4 ด้วยกรดไฮโดรคลอลิก (1 mol/l) พร้อมทั้งคนตลอดเวลา

4. จากนั้นหยุดให้ความร้อนทำการคนเป็นเวลา 4ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24ชั่วโมง

5.จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำส่วนที่กรองได้ ไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24ชั่วโมง

6. จากนั้นเก็บรักษาไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

สำหรับตัวอย่างไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรอัตราส่วนของแป้งข้าวโพดดัดแปร(Hi-Cap 100) ปริมาณ 10 กรัม ละลายในเอทานอลในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยมีเอทานอล 16.7 มิลลิลิตร และน้ำ 33.3 มิลลิลิตรต่อสารสกัดสมุนไพร 80:20, 85:15 , 90:10 , 93:7 และ 95:5 โดยดัดแปลงจากวิธีของ Talita และคณะ (2013) และบุญชัย (2552)

3.4.6 การหาปริมาณสารสกัดสมุนไพรทั้งหมด

ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Efficiency of encapsulation , EE) คือ ร้อยละของสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูล

นำไมโครแคปซูล 1 กรัม ละลายในเฮกเซน 10 มิลลิลิตร และเขย่าด้วยเครื่อง Votex นาน 1 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ดูดสารละลายส่วนใส่ที่กรองได้ 20 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin Ciocalteau micro method ในข้อ 3.4.2 คำนวณเป็นจำนวนมิลลิกรัมของสารประกอบฟีนอลิกต่อปริมาตร 2 ไมโครลิตร จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกักเก็บ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกักเก็บ หรือ ประสิทธิภาพของการกักเก็บด้วยไมโครแคปซูล(Efficiency of encapsulated phenolic compound, EE) คำนวณตามสมการต่อไปนี้ (Ziming และคณะ, 2014)

ประสิทธิภาพในการกักเก็บปริมาณฟีนอลิก $= \frac{C1}{C2}$

ประสิทธิภาพในการผลิตไมโครเอนแคปซูเลท (%) $= \frac{W3}{W4} \times 100$

C_1 = ความเข้มข้นของสารฟินอลิกที่ได้จากการทำไมโครเอนแคปซูเลทในสารละลายเฮกเซน

C_2 = ความเข้มข้นของผงไมโครเอนแคปซูเลทในสารละลายเฮกเซน

W3 = น้ำหนักของไมโครเอนแคปซูเลทที่ผลิตได้

W4= น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมดที่ใช้ในการผลิตไมโครเอนแคปซุเลท

3.4.7 การวัดสีของไมโครแคปซูล

นำไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพร มาวัดสีด้วยเครื่อง Chroma meter ใช้ต้นกำเนิดแสง Day light รายงานค่าในระบบ CIE L* a* b* โดยค่า L* คือค่าความสว่าง, a* คือ ค่าในช่วงสีเขียว-แดง โดยค่าติดลบ ให้ค่าสีเขียว ค่าเป็นบวก ให้ค่าสีแดง และ b* คือ ค่าในช่วงสีฟ้า-เหลืองโดยค่าติดลบ ให้ค่าสีฟ้า ค่าเป็นบวก ให้ค่าสีเหลืองและนำมาคำนวณหาค่าความขาว (whiteness)ตามสมการต่อไปนี้ (Riebroy et al., 2005)

$$\text{ค่าความขาว} = 100-[(100-L^*)2+(a^*)2+(b^*)2]^{1/2}$$

3.4.8 การศึกษาลักษณะโครงสร้างของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัด(Hi-Cap 100)

ไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพร มาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยส่งวิเคราะห์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4.9 การศึกษาการคงสภาพของไมโครเอนแคปซูเลท

นำผงไมโครเอนแคปซูเลชันเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในขวดสีชา จากนั้นนำไปวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลงเป็นเวลา 3 เดือน โดยในแต่สัปดาห์จะนำผงไมโครแคปซูล 0.5 กรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร และเขย่าด้วยเครื่อง Votex นาน 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin Ciocalteau micro method ในข้อที่ 3.5.2 เพื่อศึกษาการคงสภาพไมโครเอนแคปซูเลทที่เปลี่ยนไปในแต่ละสัปดาห์

บทที่ 4

ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 การสกัดสารจากสมุนไพร

เมื่อทำการสกัดสารจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด คือ คาง สะบ้า เปล้าใหญ่ แห้วหมูและหว้า ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล เรียงลำดับความมีขั้วจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว (non-polar solvent) สูง จนถึงตัวทำละลายมีขั้วสูง (polar solvent) ในอัตราส่วน 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากนั้น ทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบน้ำตาลแดงไปจนถึงสีเหลือง และเมื่อวิเคราะห์ค่าผลได้สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าตั้งแต่ 0.7 - 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การสกัดหว้าด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล จะได้ค่าผลได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 0.8, 2.3 และ 15.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มค่อนข้างเหนียว โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสาร รองลงมาคือ ไดคลอโรมีเทน ส่วนเฮกเซนมีการละลายสารได้สารสกัดน้อยที่สุด หรือเพียง 0.05 เท่าของการสกัดด้วยเอทานอล

การสกัดแห้วหมูด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล จะได้ค่าผลได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 15.7, 5.4 และ 11.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดงเข้มหนืด โดยเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสาร รองลงมาคือ เอทานอล ส่วนไดคลอโรมีเทนมีการละลายสารได้สารสกัดน้อยที่สุด หรือเพียง 1/3 เท่าของการสกัดด้วยเฮกเซน

การสกัดสะบ้าด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล จะได้ค่าผลได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 12.6, 3 และ 19.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีเหลืองอ่อนมันลื่น โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสาร รองลงมาคือ เฮกเซน ส่วนไดคลอโรมีเทนมี การละลายสารได้สารสกัดน้อยที่สุด

การสกัดคางด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล จะได้ค่าผลได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 0.7, 2.3, และ 15.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มหนืด โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด โดยคิดเป็น 8 เท่าของไดคลอโรมีเทน และคิดเป็น 20 เท่าของสารสกัดที่ได้จากเฮกเซนซึ่งให้สารสกัดน้อยที่สุด

การสกัดเปล้าใหญ่ด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล จะได้ค่าผลได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 0.56, 3, และ 4.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีเหลืองอ่อนมันลื่น โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด โดยคิดเป็น 9 เท่าของสารสกัดด้วยเฮกเซน ส่วนการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนให้สารสกัดมากเป็นอันดับสอง ทั้งนี้การสกัดเปล้าใหญ่ด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด จะให้สารสกัดน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับพืช 4 ชนิด ก่อนหน้านี้

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัด เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ในพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วยส่วนที่เป็นโมเลกุลไฮโดรคาร์บอนสายยาว ซึ่งมีหมู่
ไฮดรอกซิลที่มีขั้ว จึงสามารถละลายได้ดีในเอทานอล รองลงมานั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร โดยสมุนไพรที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบมากนั้น จะสามารถใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายได้ดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**สารสกัดหยาบที่ได้ (กรัม/100 กรัม นน. แห้ง)**
หว้า	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล	0.8 2.3 15.7
แห้วหมู	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล	15.7 5.4 11.5
สะบ้า	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล	12.6 3 19.9
คาง	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล	0.7 1.9 15
เปล้าใหญ่	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล	0.56 3 4.5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟินอลิกของสมุนไพร

เมื่อนำสารสกัดหยาบของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดคือ คาง สะบ้า เปล้าใหญ่ แห้วหมูและหว้า ที่ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟินอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.2

จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ได้มีค่าตั้งแต่ 9.56 ถึง 117.03 ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ

ในสมุนไพรคาง จะมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 100.04, 51.71 และ13.38 ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

ในสมุนไพรเปล้าใหญ่ จะมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 110.29, 84.90 และ9.56 ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

ในสมุนไพรหว้า จะมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 109.83, 64.40 และ34.42 ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

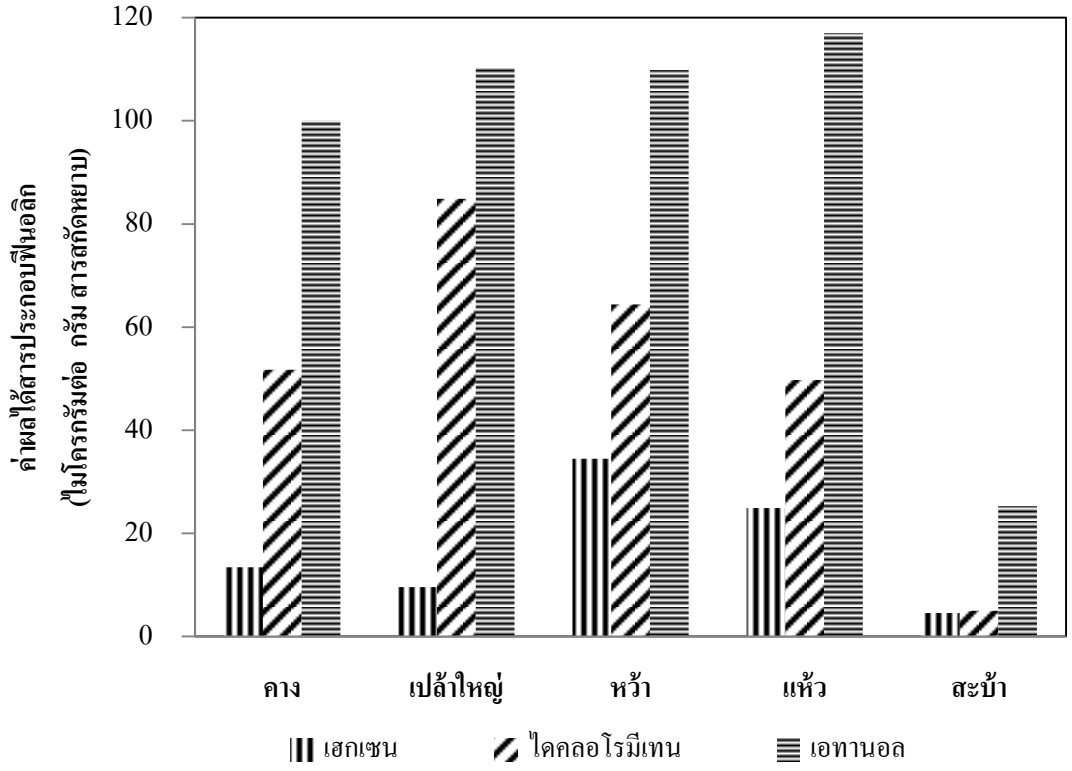
ในสมุนไพรแห้วหมู จะมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 117.03, 49.71 และ24.85ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

ในสมุนไพรสะบ้าจะมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกในสารสกัดหยาบจากเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 25.24, 4.92 และ4.51ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

จากผลที่ได้ แสดงให้เห็นว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารประกอบฟินอลิก รองลงมาคือ ไดคลอโรมีเทน ส่วนเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการสกัดได้น้อยที่สุด ดังนั้น สารประกอบหลักที่พบในสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด จึงเป็นกลุ่มสารประกอบฟินอลิก

Walter และคณะ (1979) ได้รายงานว่า สารประกอบฟินอลิกส่วนใหญ่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพความเป็นขั้วสูง

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยต่างๆ ที่ได้รายงานถึงการนำสารประกอบฟินอลิกไปใช้ทดสอบกับแบคทีเรีย พบว่า มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี (Zivanovic และคณะ, 2005) รวมทั้งยังเป็นฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยมักพบสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลบนวงเบนซีน (Hu และ Kitts, 2000) ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้ช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้



รูปที่ 4.1 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 สมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

4.3.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรคือ คือ คาง สะบ้า เปล้าใหญ่ แห้วหมูและหว้า ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ผลทดสอบแยกตามชนิดสมุนไพรได้ดังนี้ คือ

ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของคาง ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลมีผลยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนตามลำดับ เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย

เมื่อทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งแยกตามชนิดสมุนไพรให้ผลดังนี้ คือ

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของคาง พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S.aureus*) ได้ โดยสารสกัดเอทานอลจะให้ฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ สารสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์ยับยั้งน้อยมาก หรือ เกือบไม่มีการยับยั้ง เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย แกรมลบ (*E. coli*) พบว่า ไม่มีสารสกัดใดมีฤทธิ์ยับยั้งได้เลย (ตารางที่ 4.2)

จากงานวิฉัยของ Sze Kwan Lam และคณะ(2011) ได้รายงานถึง สารชีวภาพออกฤทธิ์ที่พบในคาง คือ สาร hemolysin ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดคาง

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]**	
		E. coli	***S. aureus***
คาง	เฮกเซน	0	0±0.5
	ไดคลอโรมีเทน	0	6±0.5
	เอทานอล	0	9±0.5

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของเปล้าใหญ่ พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ได้ดี โดยสารสกัดเอทานอลจะให้ฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด ส่วนสารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์ยับยั้งใกล้เคียงกัน เมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) พบว่า ไม่มีสารสกัดใดมีฤทธิ์ยับยั้งได้เลย (ตารางที่ 4.3)

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของSophon Roengsumran และคณะ (2001) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเปล้าใหญ่ พบว่า มี terpenoid เป็นสารชีวภาพออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบ

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเปล้าใหญ่

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]	
		E. coli	*S. aureus*
เปล้าใหญ่	เฮกเซน	0	8±0.75
	ไดคลอโรมีเทน	0	8±0.65
	เอทานอล	0	12±0.6

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของหว้า พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *(S. aureus)* ได้ดีมาก ทั้งสารสกัดเอทานอลและสารสกัดไดคลอโรมีเทนจะให้ฤทธิ์ยับยั้งสูงมาก โดยสารสกัดเอทานอลจะให้ฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ สารสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์ยับยั้งได้ดีปานกลาง เมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) พบว่า ส่วนสารสกัดหว้าที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ไม่มีประสิทธิภาพยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้เลยในทุกกรณี (ตารางที่ 4.4**)**

Vijay Kothari และคณะ (2011) ได้รายงานถึงสารสำคัญในหว้า พบว่า มีสาร tannin, saponin และ terpinoid ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ โดยการแพร่ผ่านเข้าผนังเซลล์ไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ทั้งสองสูญเสียความสามารถในการควบคุมการแพร่หรือขนส่งสารเข้าออกจากเซลล์ จึงส่งผลให้สารต่างๆที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์

Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหว้า

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]	
		E. coli	***S. aureus***
หว้า	เฮกเซน	0	7±0.6
	ไดคลอโรมีเทน	0	12±0.55
	เอทานอล	0	15±0.7

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสะบ้า พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S.aureus*) ได้ โดยสารสกัดเอทานอลจะให้ฤทธิ์ยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ สารสกัดไดคลอโรมีเทน

ส่วนสารสกัดเฮกเซนให้ฤทธิ์ยับยั้งน้อยมาก หรือ เกือบไม่มีการยับยั้ง เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E.coli*) พบว่า ไม่มีสารสกัดใดมีฤทธิ์ยับยั้งได้เลย (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสะบ้า

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]**	
		E. coli	***S. aureus***
สะบ้า	เฮกเซน	0	0±0.5
	ไดคลอโรมีเทน	0	7±0.5
	เอทานอล	0	11±0.5

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของแห้วหมู พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดสูงมาก ซึ่งสูงกว่าสมุนไพรอีก 4 ชนิดที่กล่าวมา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด อยู่ในช่วง 7 – 20 มิลลิเมตร โดยเมื่อทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* นั้น สารสกัดเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด หรือคิดเป็น 1.3 เท่าของสารสกัดไดคลอโรมีเทน และคิดเป็น 2.85 เท่าของสารสกัดเฮกเซน

นอกจากนั้นสารสกัดแห้วหมูยังเป็นสารสกัดสมุนไพรตัวเดียวในงานวิจัยนี้ ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ได้ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kilani-Jaziri และคณะ (2011) ได้รายงานว่า สารสกัดแห้วหมูด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อได้หลายชนิดเช่นกัน รวมถึงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ด้วย ซึ่งสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือ

ฟลาวานอยด์ แทนนิน และสเตียรอยด์ โดยสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ คือ สารกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 50-70

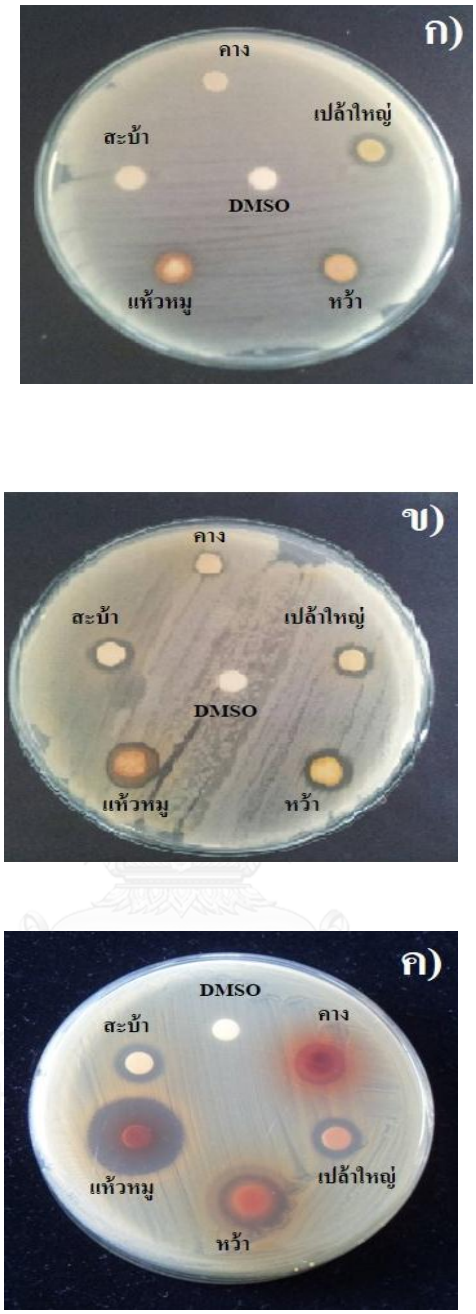
ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดแห้วหมู

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]**	
		E. coli	***S. aureus***
แห้วหมู	เฮกเซน	10±0.5	7±0.5
	ไดคลอโรมีเทน	9±0.5	14±0.45
	เอทานอล	10±0.5	20±0.5

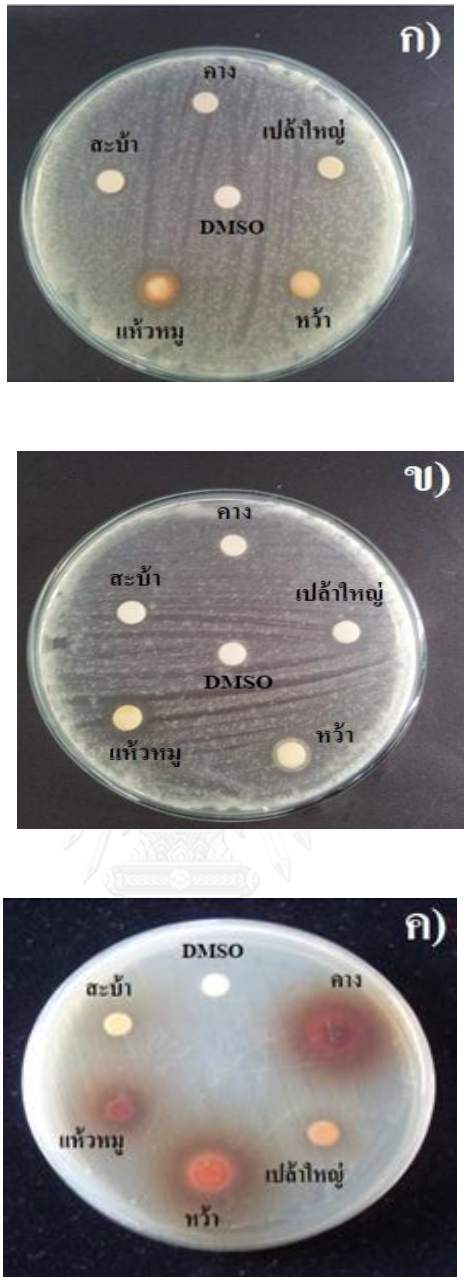
เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดของสมุนไพรแยกตามชนิดตัวทำละลายในตารางที่ จะพบว่า การสกัดสารจากสมุนไพรที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมี จะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อมากที่สุดสำหรับทุกๆชนิดสมุนไพร เนื่องจากเอทานอลสามารถสกัดเอาสารชีวภาพออกฤทธิ์ที่มีขั้วออกมา ซึ่งสารสำคัญกลุ่มต่างๆ เหล่านี้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี เช่น เทนนิน ฟลาโวนอย ซาโปนิน เทอปีนอย คูมาริน และควอเซติน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยสารเหล่านี้จะเข้าไปควบคุมการสร้างโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียโดยขัดขวางการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย รวมถึงละลายเยื่อหุ้มของแบคทีเรียบางชนิดได้ดี (Kilani-Jaziri และคณะ ,2011)

จากผลการทดลองส่วนนี้จะพบว่า ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีและเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในรูปแบบอื่นต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.2 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีผลต่อเชื้อ *S.aureus* ด้วยตัวทำละลาย ก) เฮกเซน ข) ไดคลอโรมีเทน ค) เอทานอล



รูปที่ 4.3 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีผลต่อเชื้อ *E.coli* ด้วยตัวทำละลาย ก) เฮกเซน ข) ไดคลอโรมีเทน ค) เอทานอล

4.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย คือ คาง เปล้าใหญ่ หว้า แห้วหมูและสะบ้าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง โดยวิธี broth dilution method เมื่อใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 10^6 เซลล์ ใน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 500 – 0.977 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพแตกต่างกันตามตารางที่ 4.7-4.11 คือ

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดคาง พบว่า ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด สารสกัดคางมีฤทธิ์ยั้บยั้งเฉพาะเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ โดยสารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเอทานอล มีค่าMIC เท่ากัน คือ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ฤทธิ์ยับยั้งที่สูงกว่าสารสกัดเฮกเซน ซึ่งมีค่า MIC 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Jean de Dieu Tamokou และคณะ (2012)

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดเปล้าใหญ่ พบว่า ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด สารสกัดเปล้าใหญ่ มีฤทธิ์ยั้บยั้งเฉพาะเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ โดยสารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเอทานอล มีค่าMIC เท่ากัน คือ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ฤทธิ์ยับยั้งที่สูงกว่า สารสกัดเฮกเซน ซึ่งมีค่า MIC 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดหว้า พบว่า ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด สารสกัดหว้ามีฤทธิ์ยั้บยั้งเฉพาะเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ โดยสารสกัดเอทานอล มีค่า MIC 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ฤทธิ์ยับยั้งที่สูงกว่า สารสกัดเฮกเซนและสารสกัดไดคลอโรมีเทน ซึ่งมีค่า MIC 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดแห้วหมู พบว่าสารสกัดแห้วหมูทุกชนิดมีความ สามารถยับยั้งทั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้พร้อมกันที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยสารสกัดเฮกเซนและสารสกัดเอทานอลมีค่าMIC ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่เท่ากัน คือ 62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ในส่วนของสารสกัดแห้วหมูไดคลอโรมีเทนมีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ E. coli และ S. aureus เท่ากับ 62.5 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ S. Kilani-Jaziri และคณะ (2011) ที่รายงานว่าสารสกัดแห้วหมู มีความสามารถในการยับยั้งทั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ (ตารางที่4.10)

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดสะบ้า พบว่า ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด สารสกัดสะบ้ามีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ โดยสารสกัดทุกชนิดมีค่า MIC 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกเป็นโมเลกุลของลิโปโพลีแซคคาไรด์ (Helander ,1998) เมื่อสารสกัดสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะต้องแพร่ผ่านชั้นของลิโปโพลีแซคคาไรด์ก่อนถึงจะสามารถเข้าไปทำลายเซลล์ได้ ทำให้การยับยั้งหรือฆ่าเชื้อทำได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.7 ค่าMICของสารสกัดคางในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	สารสกัดด้วยเฮกเซน		สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน		สารสกัดด้วยเอทานอล	
	E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
500.00	-	+	-	+	-	+
250.00	-	-	-	+	-	+
125.00	-	-	-	-	-	-
62.500	-	-	-	-	-	-
31.250	-	-	-	-	-	-
15.625	-	-	-	-	-	-
7.813	-	-	-	-	-	-
3.906	-	-	-	-	-	-
1.953	-	-	-	-	-	-
0.977	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย (+) คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต และ เครื่องหมาย (-) คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.8 ค่าMICของสารสกัดเปล้าใหญ่ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	สารสกัดด้วยเฮกเซน		สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน		สารสกัดด้วยเอทานอล	
	E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
500.00	-	+	-	+	-	+
250.00	-	+	-	+	-	+
125.00	-	-	-	+	-	+
62.500	-	-	-	-	-	-
31.250	-	-	-	-	-	-
15.625	-	-	-	-	-	-
7.813	-	-	-	-	-	-
3.906	-	-	-	-	-	-
1.953	-	-	-	-	-	-
0.977	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย (+) คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต และ เครื่องหมาย (-) คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.9 ค่าMICของสารสกัดหว้าในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	สารสกัดด้วยเฮกเซน		สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน		สารสกัดด้วยเอทานอล	
	E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
500.00	-	+	-	+	-	+
250.00	-	+	-	+	-	+
125.00	-	-	-	-	-	+
62.500	-	-	-	-	-	-
31.250	-	-	-	-	-	-
15.625	-	-	-	-	-	-
7.813	-	-	-	-	-	-
3.906	-	-	-	-	-	-
1.953	-	-	-	-	-	-
0.977	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย (+) คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต และ เครื่องหมาย (-) คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.10 ค่าMICของสารสกัดแห้วหมูในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	สารสกัดด้วยเฮกเซน		สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน		สารสกัดด้วยเอทานอล	
	E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
500.00	+	+	+	+	+	+
250.00	+	+	+	+	+	+
125.00	+	+	+	+	+	+
62.500	+	+	+	-	+	+
31.250	-	+	-	-	-	+
15.625	-	-	-	-	-	-
7.813	-	-	-	-	-	-
3.906	-	-	-	-	-	-
1.953	-	-	-	-	-	-
0.977	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย (+) คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต และ เครื่องหมาย (-) คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.11 ค่าMICของสารสกัดสะบ้าในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	สารสกัดด้วยเฮกเซน		สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน		สารสกัดด้วยเทานอล	
	E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
500.00	-	+	-	+	-	+
250.00	-	-	-	-	-	-
125.00	-	-	-	-	-	-
62.500	-	-	-	-	-	-
31.250	-	-	-	-	-	-
15.625	-	-	-	-	-	-
7.813	-	-	-	-	-	-
3.906	-	-	-	-	-	-
1.953	-	-	-	-	-	-
0.977	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย (+) คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต และ เครื่องหมาย (-) คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

4.5 ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรหว้าและแห้วหมู

จากผลการทดลองค่า MIC ในหัวข้อที่ผ่านมา ผบว่าสารสกัดสมุนไพรหว้าและแห้วหมู เป็นสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี อย่างไรก็ตาม ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เป็นหนึ่งในคุณสมบัติสำคัญเมื่อต้องการนำสมุนไพรใช้กับร่างกาย ในหัวข้อนี้จะเป็นการทดสอบค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรหว้าและแห้วหมูด้วยวิธี MTT assayโดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ชนิด HaCaT ซึ่งเป็นเซลล์ human epidermal keratinocytes ความเข้มข้น 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM Eagle ทำการทดสอบกับสารสกัดจากหว้าและแห้วหมูที่ได้จากตัวทำละลายเฮกเซน ความเข้มข้นสารสกัด 0.002 ถึง 15.811 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ต่อความมีชีวิตของเซลล์ HaCaT จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} (Inhibition concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสารสกัดที่ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ HaCaT ลดลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งเมื่อเทียบกับสภาวะปกตินั้นค่า IC_{50} ของสารสกัดหว้าและแห้วหมูจากมีค่าเป็น 0.02964±0.01 และ 0.7914 ±0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดหว้ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าสารสกัดแห้วหมู

จากงานวิจัยของ Soumaya Kilani และคณะ (2008) ได้รายงานว่า สารสกัดแห้วหมูที่ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อกรัม สามารถฆ่าเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ร้อยละ 55.06% นอกจากนั้นยังพบสาร ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมารินเป็นส่วนประกอบสำคัญ และมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดี

ในขณะที่ Ribeiro และคณะ (2014) ได้รายงานว่าสารสกัดหว้าจากเฮกเซนประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ มีความเป็นพิษต่อเซลล์อยู่ในช่วง 31.64±0.99 ไมโครกรัมต่อกรัมและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* และ *S.aureus* ได้ดี จึงเหมาะสมในการนำมาใช้ในทางการแพทย์

เนื่องจาก MTT assay เป็นการทดสอบการทำงานของเซลล์จาก ความสามารถในการทำงานของไมโทคอนเดรียในการรีดิวซ์สาร 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ในเซลล์ที่มีชีวิตนั้นไมโทคอนเดรียมีการทำงานปกติทำให้เอนไซม์ dehydrogenase และ cofactor ที่อยู่ในไมโทคอนเดรียมีการรีดิวซ์สาร MTT ให้กลายเป็นผลึก formazan ที่มีสีม่วง ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่มีชีวิตมีค่าสูง ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วจะไม่สามารถรีดิวซ์ MTT ให้กลายเป็นผลึก formazan ได้ จึงมีลักษณะใสไม่มีสี และมีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำกว่า โดยค่าความเข้มข้นของสีที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่

4.6 การผลิตไมโครเอนแคปซูเลทสารสกัดโดยใช้แป้งเป็นสารเคลือบ ด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น

สมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ เปล้าใหญ่ คาง หว้า สะบ้า และแห้วหมู พบว่าแห้วหมูมีปริมาณสารสกัดหยาบและค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดที่ได้จากการใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด มีค่าค่อนข้างสูง รวมทั้งเมื่อเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่า มีเพียงสารสกัดเฮกเซนของแห้วหมูเท่านั้น ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (*E.coli*) นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลและสารสกัดไดคลอโรมีเทนของแห้วหมู ยังให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับสมุนไพรชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงได้คัดเลือกเพื่อนำมาเตรียมไมโครเอนแคปซูเลทในขั้นตอนต่อไป

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารเคลือบเป็นแป้ง 2 ชนิด คือ แป้งมอลโตเดกซ์ทริน ที่มีคุณสมบัติไม่มีสี ใส ไม่มีกลิ่น และเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ถูกห่อหุ้มภายใน และแป้งข้าวโพดดัดแปรที่มีสมบัติทนต่อแรงเฉือน และทนอุณหภูมิที่สูงได้ดีกว่าแป้งธรรมชาติ โดยทำการเตรียมไมโครเอนแคปซูเลท ได้ ดัดแปลงจากวิธีของ Talita และคณะ (2013) และบุญชัย (2552) มีผลการทดลองดังนี้

4.6.1 ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น

ในการศึกษาประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น โดยการแปรผันอัตราส่วนของสารสกัดเฮกเซนต่อสารเคลือบที่ต่างๆ เป็น 5:95 ,7:93 ,10:90 , 15:85 และ 20:80 โดยน้ำหนักตามลำดับ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4

ที่อัตราส่วน 5:95 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าร้อยละ 82.24 และ77.24

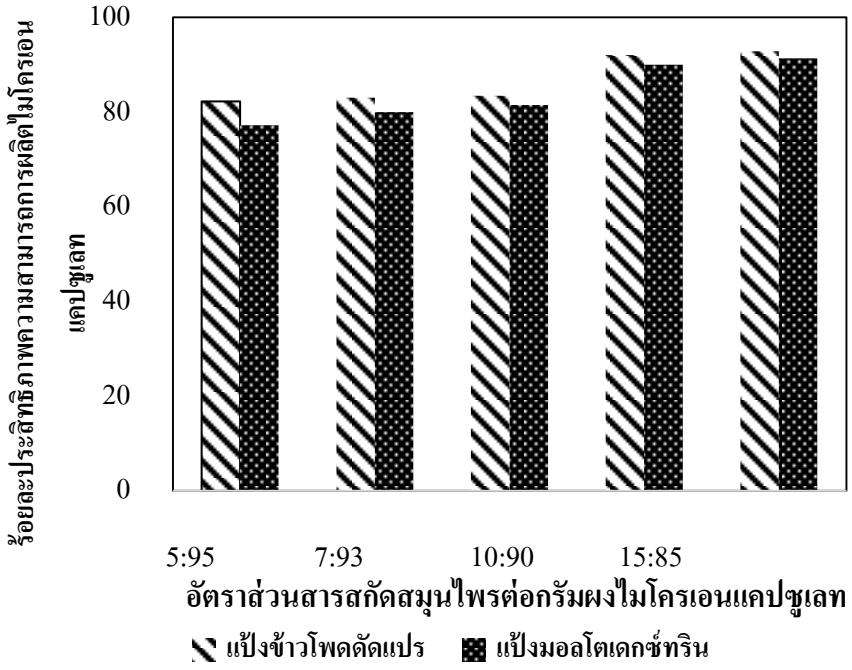
ที่อัตราส่วน 7:93 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าร้อยละ 83.01 และ80.01

ที่อัตราส่วน 10:90 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าร้อยละ 83.47 และ81.00

ที่อัตราส่วน 15:85 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าร้อยละ 92.01 และ90.00

ที่อัตราส่วน 20:80 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าร้อยละ 92.84 และ91.34

ในการใช้แป้งทั้งสองชนิดให้แนวโน้มเช่นเดียวกัน คือ เมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ร้อยละประสิทธิภาพการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากปริมาณสารสกัดที่มากขึ้น แต่ก็ดีเมื่อเพิ่มสัดส่วนโดยน้ำหนักของสารสกัดมากกว่า ค่าหนึ่ง พบว่าประสิทธิภาพของกระบวนการค่อนข้างคงที่และไม่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ประสิทธิภาพการในการผลิตสูงสุดของแป้งข้าวโพดดัดแปรแป้งและมอลโตเดกซ์ทรินมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารเคลือบ เป็น 15:85 ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Goran และคณะ (2010) ซึ่งได้ศึกษาอิทธิผลของของสัดส่วนของสารเคลือบที่เหมาะสมต่อการเคลือบน้ำมันสกัดของชินเนม่อนโดยวิธีการ complex coacervation ที่ให้แนวโน้มในทำนองเดียวกัน



รูปที่ 4.4 ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อกรัมผงไมโครเอนแคปซูเลทต่างๆ ต่อค่าประสิทธิภาพในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น

4.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenols assay) ในไมโครเอนแคปซูเลชั่น

ในส่วนของผลการทดลองนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณผลได้สารประกอบฟีนอลิกจากไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่ผลิตโดยแปรผันอัตราส่วนของสารสกัดต่อสารเคลือบ ที่5:95 ,7:93 ,10:90 , 15:85 และ 20:80 โดยน้ำหนักตามลำดับ ได้ผลดังแสดงดังรูปที่4.5

ที่อัตราส่วน 5:95 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บฟีนอลิกเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าเท่ากับ 5.86 และ5.34 ไมโครกรัมต่อกรัมไมโครเอนแคปซูเลท

ที่อัตราส่วน 7:93 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บฟีนอลิกเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าเท่ากับ 8.32 และ6.98 ไมโครกรัมต่อกรัมผไมโครเอนแคปซูเลท

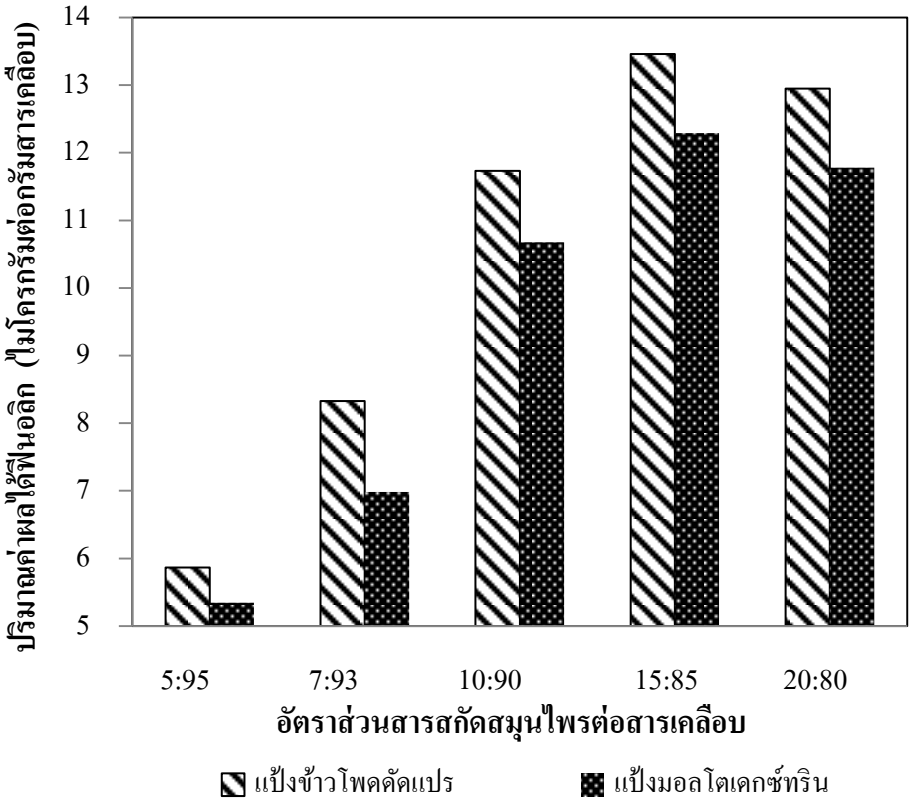
ที่อัตราส่วน 10:90 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บฟีนอลิกเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าเท่ากับ 11.73 และ10.67 6.98 ไมโครกรัมต่อกรัมผงไมโครเอนแคปซูเลท

ที่อัตราส่วน 15:85 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บฟีนอลิกเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าเท่ากับ 13.46 และ 12.29 ไมโครกรัมต่อกรัมผงไมโครเอนแคปซูเลท

ที่อัตราส่วน 20:80 โดยน้ำหนัก พบว่า ประสิทธิภาพการกักเก็บฟีนอลิกเมื่อใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ มีค่าเท่ากับ 12.94 และ 11.77 ไมโครกรัมต่อกรัมผงไมโครเอนแคปซูเลท

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพความสามารถการเก็บกักฟีนอลิกของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น พบว่าประสิทธิภาพมีแนวโน้มสูงขึ้นและมากสุดที่อัตราส่วน 15:85 และลดลงเมื่อมีปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นที่อัตราส่วน 20:80 เนื่องจากปริมาณแป้งลดลงจะเกิดการเคลือบสารแกนภายในลดลง จึงส่งผลทำให้ความสามารถในการเอนแคปสารสกัดนั้นมีประสิทธิภาพในการกักเก็บฟีนอลิกลดลงด้วยเช่นกัน (Goran และคณะ ,2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4.5 ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อสารเคลือบแป้งชนิดต่างๆ ต่อค่าผลได้สารประกอบค่าฟีนอลิกในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.6.3 การวัดสีของไมโครแคปซูล

เพื่อการอุปโภคบริโภคพบว่าสีมีความสำคัญในการดึงดูดความสนใจ สีสัน ความสม่ำเสมอของสีนั้นๆ เป็นสิ่งที่ผู้บริโภคจะใช้ในการพิจารณาผลิตภัณฑ์ซึ่งจะแสดงถึงคุณภาพ ส่งผลต่อการตัดสินใจในการนำไปใช้ ทั้งนี้เนื่องจากการมองเห็นสีสันด้วยตาและสมองรวมทั้งประสบการณ์ที่ไม่เหมือนกัน จึงได้มีการกำหนดการวัดสีในระบบตัวเลขขึ้นมา เพื่อควบคุมคุณภาพของสินค้าและสีที่ใช้ในทางอุตสาหกรรมให้เป็นไปตามาตรฐานในระดับสากล

เนื่องจากสารสกัดแห้วหมูมีสีน้ำตาลแดงเข้ม ลักษณะข้นและหนืดค่อนไปทางสีดำ และมีกลิ่นฉุนในลักษณะเฉพาะของสมุนไพร เมื่อทำการวัดสีผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่ผลิตโดยแปรผันอัตราส่วนของสารสกัดต่อสารเคลือบ ที่5:95 ,7:93 ,10:90 , 15:85 และ 20:80 โดยน้ำหนักตามลำดับ พบว่า สีของไมโครแคปซูลที่ได้จะมีความแตกต่างจากแป้งที่ใช้เป็นสารเคลือบ โดยแป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทรินบริสุทธิ์มีสีขาว แต่ไมโครแคปซูลของสารสกัดแห้วหมูมีสีเข้ม

ขึ้นตามปริมาณสารสกัดที่เป็นองค์ประกอบ อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถแยกความแตกต่างของสีไมโครแคปซูลที่เตรียมในแต่ละอัตราส่วนด้วยตาเปล่าได้

เมื่อทำการวัดสีไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูใช้เครื่อง Colour meter จะพบว่า สีของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูที่ใช้เทคนิคโคอะเซอเวชั่นนั้นจะให้สีที่แตกต่างกันด้วย ดังตารางที่ 4.12-4.13

เมื่อพิจารณาค่า L* คือค่าความสว่าง พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ค่าa* คือค่าที่แสดงค่าระหว่างสีเขียว (-) และสีแดง (+) โดยพบว่า สีของไมโครเอนแคปซูเลชั่นนั้น มีค่าค่อนข้างต่ำ ด้วยสีของแห้วหมูที่ได้กล่าวไปข้างต้น ดังนั้นค่าจึงค่อนไปทางสีเขียวและมีผลเป็นลบ ในขณะที่ค่า b* ค่าแสดงระหว่างสีฟ้า (-) และสีเหลือง (+) พบว่า ไมโครเอนแคปซูเลชั่นมีค่าไปทางบวกซึ่งสอดคล้องกับสีของไมโครเอนแคปซูลที่มองเห็นด้วยตาเปล่าและมีค่าสีเหลืองที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มของปริมาณสัดส่วนของสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูให้มากขึ้น ไมโครเอนแคปซูลที่ผลิตด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นที่เคลือบด้วยมอลโตเดกซ์ทรินมีค่า b*สูงสุดซึ่งค่อนไปทางสีน้ำตาลอ่อน ผลการวิเคราะห์ที่ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ สิทธารถ และคณะ (2008) ซึ่งทำการเคลือบน้ำผึ้งด้วยแป้งชนิดมอลโตรเดกซ์ทริน พบว่าค่าความสว่างคือ 43.0-59.7 และมีค่าสีเหลืองอยู่ที่ 3.7-5.1 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ อาภาภร (2551) ซึ่งทำการวิเคราะห์ค่าสีของผงเอนแคปซูเลชั่นที่เคลือบน้ำมันหอมระเหย พบว่ามีค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณสารสกัดมากขึ้น

นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความขาวของผงเอนแคปซูเลชั่นที่ใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรเป็นสารเคลือบ มีค่ามากกว่าผงเอนแคปซูเลชั่นที่ใช้มอลโตรเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ ซึ่งตรงกับลักษณะที่สังเกตได้ว่าผงเอนแคปซูเลชั่นที่ใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรเป็นสารเคลือบมีสีที่จางกว่าเมื่อที่กับผงเอนแคปซูเลชั่นที่ใช้มอลโตรเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ อย่างไรก็ตามเราพบว่าค่าความขาวของผงเอนแคปซูเลชั่นทั้งสองชนิดไม่ได้มีค่าลดลงเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารสกัด สาเหตุเนื่องมาจากอิทธิพลของค่าความสว่างของผงเอนแคปซูเลชั่นที่มีค่าน้อยส่งผลให้ค่าความขาวไม่ลดลงแม้จะมีสีเหลืองที่เข้มขึ้นก็ตาม

ตารางที่ 4.12 ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อสารเคลือบแป้งมอลโตรเดกซ์ทรินต่างๆต่อสีของไมโครเอนแคปซูเลชั่นแบบโคอะเซอเวชั่น

	ค่าสี			
ตัวอย่าง	L*	a*	b*	ค่าความขาว
95:5	54.2±0.02	-1.8±0.02	2.4±0.02	7.20±0.05
93:7	53.4±0.03	-1.7±0.02	3.1±0.08	4.04±0.06
90:10	54.3±0.06	-1.7±0.03	4.6±0.20	2.80±0.05
85:15	57.7±0.05	-1.7±0.03	4.9±0.06	9.02±0.09
80:20	58.3±0.03	-1.6±0.80	5.2±0.10	9.39±0.09

ตารางที่ 4.13 ผลของอัตราส่วนสารสกัดสมุนไพรต่อสารเคลือบแป้งข้าวโพดดัดแปรต่างๆต่อสีของไมโครเอนแคปซูเลชั่นแบบโคอะเซอเวชั่น

	ค่าสี			
ตัวอย่าง	L*	a*	b*	ค่าความขาว
95:5	58.8±0.03	-1.8±0.02	2.0±0.10	17.23±0.04
93:7	57.30.05	-1.7±0.02	2.8±0.06	12.42±0.06
90:10	59.7±0.06	-1.7±0.03	4.2±0.02	14.41±0.02
85:15	61.2±0.03	-1.7±0.02	3.9±0.03	18.01±0.03
80:20	61.3±0.02	-1.7±0.02	5.1±0.05	15.63±0.04

4.6.4 การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของไมโครแคปซูลของสารสกัดสมุนไพร

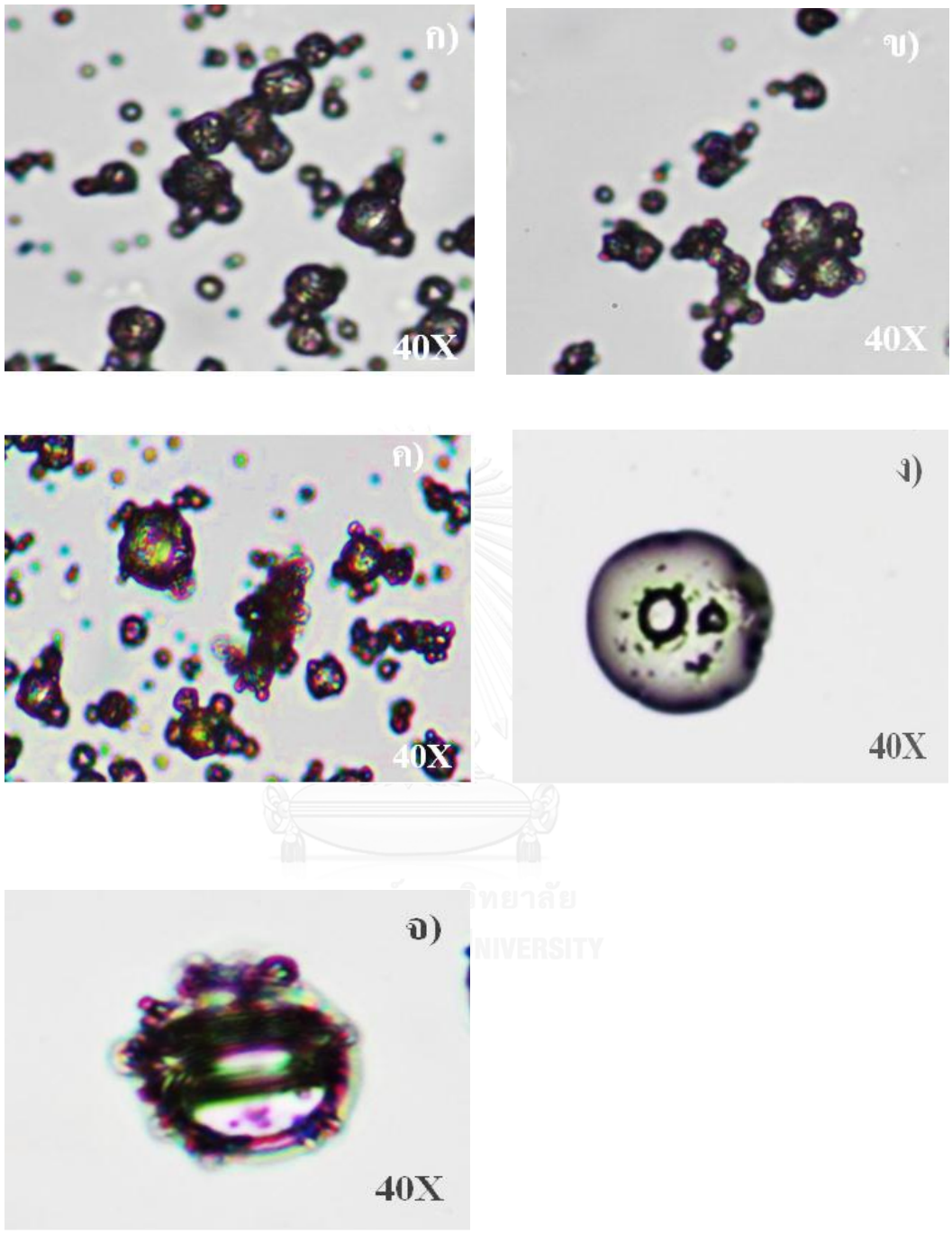
จากการวิเคราะห์สัดส่วนที่15:85 โดยน้ำหนักของสารสกัดสมุนไพรต่อสารเคลือบแป้งให้ค่าประสิทธิภาพการเก็บกักฟีนอลิกสูงที่สุด ดังนั้นจึงได้นำสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตไมโครเอนแคปซูเลททำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของสารเคลือบและสารที่ถูกห่อหุ้มด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น

จากรูปที่ 4.6 -4.7 แสดงลักษณะทางกายภาพของผงไมโครเอนแคปซูเลทที่เคลือบด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปรด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามอลโตเดกซ์ทรินมีรูปร่างเป็นผลึกและเกาะกลุ่มกันที่กำลังขยายด้วยกล้องจุลทรรศน์ 40X และมีขนาดที่เล็กกว่าแป้งข้าวโพดดัดแปรที่มีลักษณะเป็นทรงกลมที่กำลังขยาย 40X และจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของสารสกัดสมุนไพรเมื่อทำการห่อหุ้ม

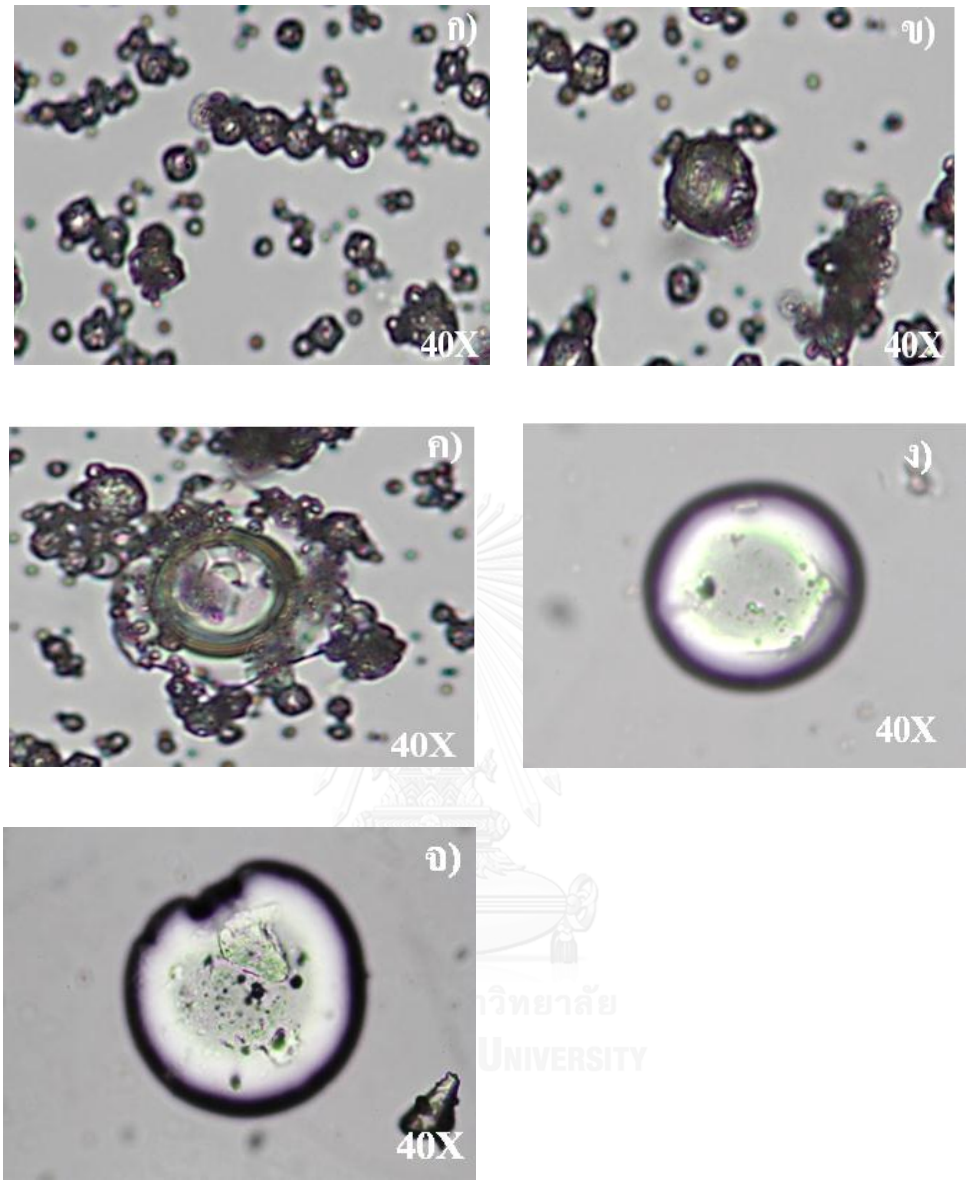
นอกจากนี้เมื่อเทียบลักษณะทางกายภาพที่ตาราง 4.14 พบว่าขนาดอนุภาคของผงไมโครเอนแคปซูเลทที่เคลือบด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปรคือ 71.00 และ 96.92 ไมโครเมตร ตามลำดับ จากรูปที่ 4.8-4.9 แสดงภาพกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 350 จะพบว่าผงไมโครเอนแคปซูเลทที่เคลือบด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรจะให้รูปที่มีขนาดใหญ่กว่าผง ไมโครเอนแคปซูเลทที่เคลือบด้วยมอลโตเดกซ์ทรินซึ่งมีผลสอดคล้องกับการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์และจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของสารสกัดสมุนไพรเมื่อทำการห่อหุ้ม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Renata V. Tonon และคณะ,2010)

ตารางที่ 4.14 ลักษณะทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูเลชั่นด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น

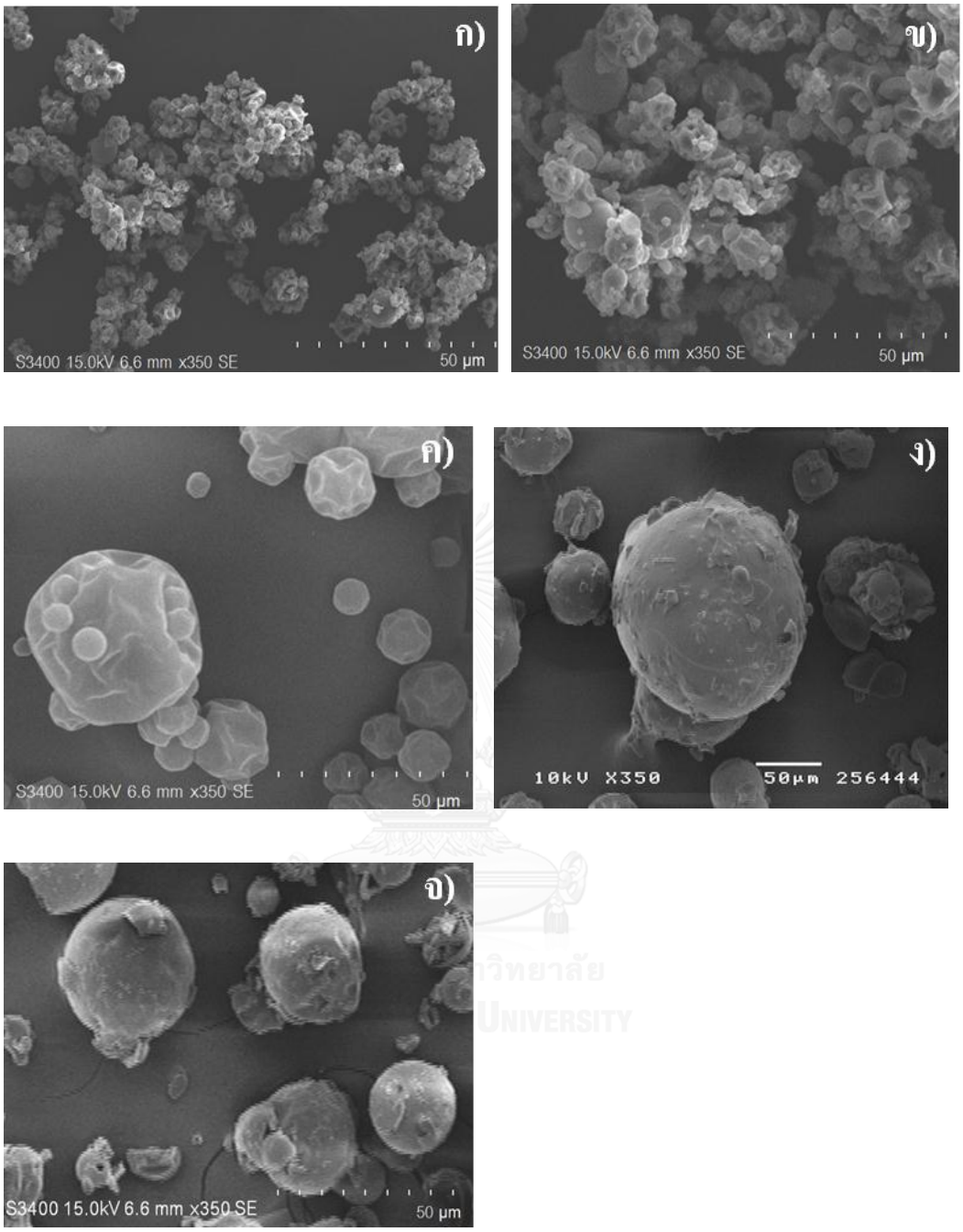
เทคนิค	ชนิดสารเคลือบ	ขนาดเฉลี่ยอนุภาค μm	พื้นที่ผิวจำเพาะ m^2/Kg
เทคนิคโคอะเซอเวชั่น	มอลโตเดกซ์ทริน	71.00	611.00
อัตราส่วน 15:85	แป้งข้าวโพดดัดแปร	96.92	118.6



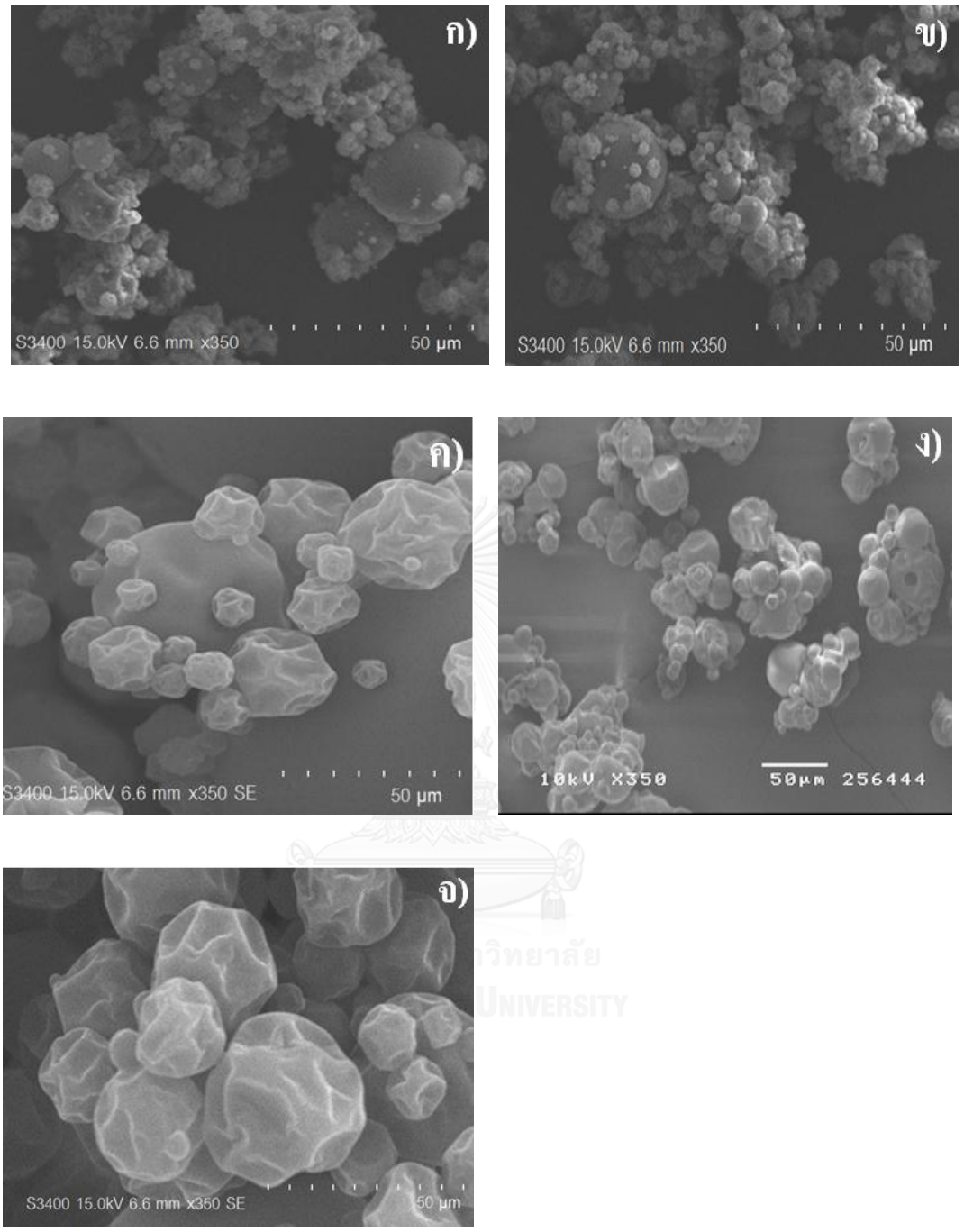
รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งมอลโตเดกซ์ทริน อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆโดยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ไมโครสโคปกำลังขยาย 40x โดย ก) 95:5 ข) 93:7 ค) 90:10 ง) 85:15 จ) 80:20



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปร อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆ โดยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ไมโครสโคปกำลังขยาย 40x โดย ก) 95:5 ข) 93:7 ค) 90:10 ง) 85:15 จ) 80:20

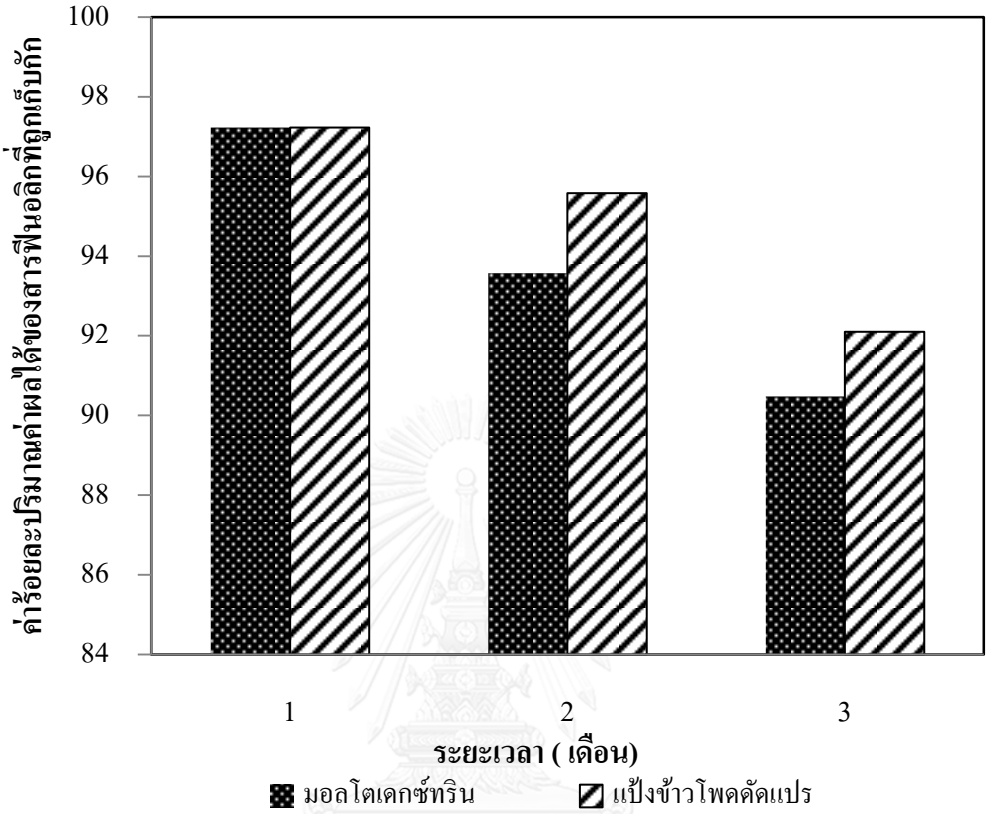


รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรที่อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบ*ส่อง*กราดกำลังขยาย 350โดย ก) 95:5 ข) 93:7 ค) 90:10 ง) 85:15 จ) 80:20



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของไมโครแคปซูลการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูด้วยแป้งมอลโตเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนแป้งต่อสารสกัดสมุนไพรต่างๆด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราดกำลังขยาย 350โดย ก) 95:5 ข) 93:7 ค) 90:10 ง) 85:15 จ) 80:20

4.6.5 การศึกษาผลของการคงสภาพของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น (stability)ด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น



รูปที่ 4.10 แสดงผลของการคงสภาพของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่นภายในระยะเวลา 3 เดือน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นด้วยเทคนิคการโคอะเซอเวชั่นสัดส่วนต่างๆโดยน้ำหนักของสารสกัดสมุนไพรต่อแป้งข้าวโพดดัดแปรและแป้งมอลโตเดกซ์ทริน พบว่าสัดส่วนที่ 15:85 ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดสำหรับการเก็บกักสารสกัดสมุนไพรแห้วหมู ดังนั้นจึงได้นำสัดส่วนดังกล่าวไปวิเคราะห์ความสามารถในการคงสภาพของสารประกอบฟีนอลิกในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่น

จากรูปที่ 4.10 เป็นผลการวิเคราะห์ปริมาณค่าผลได้ของสารฟีนอลิกที่ถูกเก็บกักภายในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่ลดลงในแต่ละเดือน โดยจะทดสอบโดยใช้เวลาทั้งหมด 3 เดือน ละแต่ละเดือนจะนำผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่บรรจุไว้ในขวดสีชา จำนวน 0.5 กรัม ซึ่งเก็บกักอยู่ในแป้งทั้ง 2 ชนิดที่สภาวะอุณหภูมิห้อง โดยจากนั้นจะนำมาละลายสารเคลือบด้วยสารละลายเฮกเซนจนได้

สารละลายเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นทำการวัดค่าปริมาณค่าผลได้ฟีนอลิกที่เหลืออยู่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณค่าผลได้ที่ได้จากการวัดในตอนเริ่มต้น ในอัตราส่วนของร้อยละของค่าผลได้ฟีนอลิกเริ่มต้น

ผลการทดลองพบว่าค่าร้อยละผลได้ฟีนอลิกจะค่อยๆลดลงเป็นอัตราส่วนค่อนข้างคงที่ โดยจะพบว่าสัดส่วนการลดลงของค่าผลได้ฟีนอลิกของผงไมโครเอนเคปซูเลชั่นที่ใช้แป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบจะมีอัตราส่วนการลดลงที่เร็วกว่าค่าผลได้ฟีนอลิกของผงเอนเคปซูเลทที่ใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารเคลือบเมื่อเวลาผ่านเป็น 3 เดือน โดยเดือนที่ 3 ผงไมโครเอนเคปซูเลชั่นที่ใช้แป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบมีค่าร้อยละผลได้ฟีนอลิกคือ 90.48 และผงไมโครเอนเคปซูเลชันที่ใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารเคลือบมีค่าร้อยละผลได้ฟีนอลิกคือ 92.1 ตามลำดับ ซึ่งผลงานวิจัยของ Riitta Partanen และคณะ (2002) ที่ได้รายงานผลศึกษาในการทดลองเปรียบเทียบการคงสภาพของสารสกัดในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นโดยใช้แป้งมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบและแป้งข้าวโพดดัดแปรเป็นสารเคลือบ ซึ่งพบว่าสภาพการคงตัวของ Sea Buckthorn Kernel Oil ในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่เคลือบด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรดีกว่ากว่าสารสกัดในผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่เคลือบด้วยมอลโตเดกซ์ทริน โดยพบสาเหตุของสภาพการคงตัวที่ดีกว่าของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่เคลือบด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรเกิดจากความสามารถในการต้านทานการออกซิไดซ์ได้ดีกว่ามอลโตเดกซ์ทริน จึงทำให้สามารถเก็บกักสารประกอบฟีนอลิกได้นานกว่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 จากการสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยเรียงลำดับความตัวทำละลายไม่มีขั้ว (non-polar solvent) จนถึงตัวทำละลายที่มีขั้วสูง (polar solvent) คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล พบว่าตัวทำละลายเอทานอลที่สมุนไพรทุกชนิดให้ปริมาณมากที่สุดคือ สะบ้า 19.9 กรัมต่อ100 กรัม น้ำหนักแห้ง

5.1.2 ปริมาณสารประกอบฟินอลิกที่สกัดได้จากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยสารสกัดแห้วหมูด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ปริมาณฟินอลิกมากที่สุด

5.1.3 การทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion method เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด พบว่า สารสกัดจากแห้วหมูด้วยตัวทำละลายเอทานอลความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ดีเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆโดยสามารถยับยั้ง *S.aureus* ได้ดีกว่า *E.coli*

5.1.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพร หว้าและแห้วหมู ที่มีผลต่อเซลล์ของมนุษย์ (HaCaT) พบว่า ค่าความเข้มข้นสารสกัดที่ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งเมื่อเทียบกับสภาวะปกติ (IC50) ของสารสกัดหว้าและแห้วหมูจากมีค่าเป็น 0.02964±0.010 และ 0.7914 ±0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

5.1.5 แห้วหมูเหมาะในการนำมาใช้การศึกษาการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและแป้งข้าวโพดดัดแปรด้วยเทคนิคโคอะเซอเวชั่น

5.1.6 จากการทดลองพบว่าความสามารถโคอะเซอเวชั่นในการเก็บกักสารสกัดสมุนไพรที่เคลือบด้วยแป้งข้าวโพดดัดแปรด้วยเทคนิคโคพบว่าประสิทธิภาพสูงสุดของแป้งข้าวโพดดัดแปรที่สัดส่วน 20:80 โดยน้ำหนักของสารสกัดสมุนไพรต่อแป้งข้าวโพดดัดแปร อยู่ในช่วงร้อยละ 92.84

5.1.7 ในการทดสอบหาปริมาณค่าผลได้ฟินอลิกของผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่สัดส่วนต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบฟินอลิกสูงสุดคือผงไมโครเอนแคปซูเลชั่นที่ใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรเป็นสารเคลือบ ซึ่งอยู่ที่ 13.46 ไมโครกรัมต่อกรัมผงไมโครเอนแคปซูเลท โดยใช้สัดส่วน 15:85

5.1.8 เนื่องจากผงไมโครเอนแคปซุเลทที่สัดส่วนของสมุนไพรต่อสารเคลือบที่ดีที่สุดอยู่ที่ 15:85 ในส่วนของการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ เราพบว่าแป้งข้าวโพดดัดแปรมีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 96.92 ไมโครเมตร ในขณะที่มอลโตเดกซ์ทรินมีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 71 ไมโครเมตร และพบว่าพื้นที่ผิวจำเพาะของแป้งข้าวโพดดัดแปรมีค่าเท่ากับ 118.6 m2/Kg ในขณะที่พื้นที่ผิวจำเพาะของมอลโตเดกซ์ทรินมีค่าเป็น 611 m2/Kg

5.1.9 ในการทดสอบวัดค่าสีของผงไมโครเอนแคปซูเลทที่ใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรและมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบ พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของสัดส่วนของสารสกัดต่อสารเคลือบ จะทำให้ค่าสีเหลืองของผงอนุภาคจะมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ และพบว่าแป้งข้าวโพดดัดแปรให้ค่าความขาวมากกว่ามอลโตเดกซ์ทริน

5.1.10 การทดสอบสภาพการคงตัวของผงไมโครเอนแคปซูเลท พบที่ว่าในช่วงเวลาสามเดือน พบว่าค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกของผงไมโครเอนแคปซูเลทที่ใช้แป้งข้าวโพดดัดแปรเป็นสารเคลือบจะลดลงเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 92 ของค่าผลได้ฟีนอลิกเริ่มต้น ในขณะที่ผงไมโครเอนแคปซูเลทที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารเคลือบจะลดลงเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 90 ของค่าผลได้ฟีนอลิกเริ่มต้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการพัฒนาวิธีการผลิตผงไมโครเอนแคปซูเลทโดยใช้การผสมกันของแป้งข้าวโพดดัดแปรและมอลโตเดกซ์ทริน โดยมีการปรับสัดส่วนโดยน้ำหนักของผงแป้งเพื่อหาสัดส่วนที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำไมโครเอนแคปซูเลชั่น

5.2.2 ควรมีศึกษาการปลดปล่อยค่าการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิก การตรวจสอบคุณสมบัติทางด้านความชื้นเพื่อจะนำข้อมูลไปใช้ในเชิงอุตสาหกรรม

5.2.3 ควรพัฒนาการใช้สารต้านแบคทีเรีย 2 ชนิด ร่วมกันในการทดสอบร่วมกับผงไมโครเอนแคปซูเลทเพื่อหาค่า MIC, Toxicity ของผงไมโครเอนแคปซูเลท รวมถึงนำมาใช้ร่วมกับชิ้นงานอื่นๆ เช่น นำไปใช้ในผ้าพันแผลหรือผสมร่วมกับอาหารสัตว์ เป็นต้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ลัดดา ศรีสุวรรณ.การศึกษาความสามารถในการกักเก็บกลิ่นบนกระดาษด้วยวิธีเอนแคปซูเลท. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต,สาขาเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,2552.

ดร.สุดารัตน์ หอมหวน และ **พลชาติ หอมหวล** .ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ ม. อุบลราชธานี,2554.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. สมุนไพรในอุทยานแห่งชาติ ภาคใต้. บริษัทสามเจริญพาณิชย์(กรุงเทพฯ) จำกัด:กรุงเทพมหานคร.(2549)

สำนักงานปลัดกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. โครงการสำรวจรวบรวมข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพระดับท้องถิ่น. สารานุกรม ทรัพยากรชีวภาพ ตำบลบุ่ง อำเภอเมือง จังหวัดอำนาจเจริญ. อภิชาติการพิมพ์:มหาสารคาม.(2551)

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, นงลักษณ์ เรืองวิเศษ. คุณภาพเครื่องยาไทย จากงานวิจัย สู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน. คอนเซ็พท์ เมดิคัส จำกัด: กรุงเทพมหานคร, 2551.

อุรชา รังสาดทอง. การเพิ่มการละลาย (Solubility Enhancement).หนังสือเภสัชกรรม2,2546.

ภาษาอังกฤษ

Ahmad, I ., Mehmood,Z. and Mohammad,F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. J. Ethno. 62 (1998):183–193.

Anjana S., Rani V. and Padmini R. Cyperus rotundus: a potential novel source of therapeutic compound against urinary tract pathogens. Journal of medicine,2013.

Archana B., Nabasree D.and Bratati D. In vitro study of antioxidant activity of Syzygium cumini fruit. Food Chemistry 90 (2005): 727-733.

Azmir J., Zaidul I.S.M. and Rahman M.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering 117(2013):426–436.

Ansel,H.C., Pharmaceutical dosage form and drug delivery system. Lippincott Williams and Wilkins (2000):233-234.

Alagusundaram M, Madhu Sudana chetty and C.Umashankari. Microspheres as a Novel drugdelivery system - A review. International J of chem. Tech (2009):526- 534.

Berger HL. Ultrasonic Liquid Atomization. 1st edition Hyde Park, NY: Partridge Hill Publishers; 1998.

Baker, R.W. Controlled release of Biologically Active Agents. John wiley and Sons, Inc., New York,1987.

Bhandari, B.R., B.R. D'Arcy and I. Padukka. Encapsulation of lemon oil by paste method using β-cyclodextrin: encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. J. Agr.Food Chem 47(1999):5194-5197.

Bansal R, Ahmad N, Kidwai JR. Effects of oral administration of *Eugenia* jambolana seeds and chloropropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Indian Journal* of Biochemistry and Biophysics,1981.

Blair, H.S., Guthrie, J., Law, T. and Turkington,P. Chitosan and modified chitosan membranesI, preparation and characterisation. J. App. Poly.Sci 33 (1987): 641-656.

Blanco MD and Alonso MJ. Development and characterization of protein-loaded poly (lactideco-glycolide) nanospheres. Eur J Pharm Biopharm 43(1997):287-294.

Capan Y, Jiang G, Giovagnoli S, Na K-H and DeLuca PP. Preparation and characterization of poly (D, L-lactide-co-glycolide) microspheres for controlled release of human growth hormone. AAPS PharmSciTech.,2003.

Dubey, B. N., Duxenneuner, M. R., Küchenmeister, C., Fischer, P., and Windhab, E. J. "Influences of rheological behavior of emulsions on the spraying process." 24th European Conference on Liquid Atomization and Spray Systems, Vol. 1, 86, Estoril, Portugal, September 5-7,2011.

Elizabeth, K. M. Antimicrobial Activity of Terminalia Bellerica. Indian Journal of Clinical Biochemistry 20(2005):150-153.

Finch CA, Polymers for microcapsule walls.Chem. Ind, 22(1985):752-756.

Godshall. Fat Reduces Volatiles Production in OilEmulsion System Analyzed by Purge-and- Trap Dynamic Headspace/Gas Chromatography.Journal of food science Chemistry and biochemistry.Volume 64, No.4 (1999):641-643.

Ghulam Murtaza, Mahmood Ahamd, Naveed Akhtar and Fatima Rasool. A comparativestudy of various microencapsulation techniques:effect of polymer viscosity on microcapsulecharacteristics. Pak. J. Pharm. Sci 3(2009):291-300.

Green BK and Schleicher L: US patent,2800457, CA, 51; 15842d (1957):13-627.

Hora MS, Rana RK, Nunberg JH, Tice TR,Gilley RM and Hudson ME. Release of human serum albumin from PLGA microspheres.Pharm Res 7(1990):1190-1194.

James, S. Encylopedia of Pharmaceutical Technology. 3rd edition.1325-1333.

List, P. H. and Schmidt, P. C. Phytopharmaceutical Technology. Heyden and son, London (1989):361-368.

Leela, T., and Satirapipathkul, C. Studies on the Antibacterial Activity of Quercus Infectoria Galls. Int. J. Biosci. Biochem. Bioinf . 11 (2011): 410-114.

Li SP, Kowarski CR, Feld KM and Grim WM .Recent advances in microencapsulation technology and equipment. Drug Dev. Ind.Pharm 14(1988): 353-37.

Lehman Leon, Lieberman A. Herbert and Kanig L.Josep. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. 3rd edition, Vargehese Publishing House (1976):412.

Lu W and Park TG, Protein release from poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres: protein stability problems. PDA J Pharm Sci Technol 49 (1995):13-19.

María C., Izaskun M. and María V., Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria, Probiotics, book edited by Everlon Cid Rigobelo, ISBN 978-953-51-0776-7, Published: October 3,2012.

Nack H, Microencapsulation techniques, application and problems. J.Soc.Cosmetic Chemists 21(1970):85-98.

N.K.Jain. Controlled and Novel drug delivery.4th edition. 236-237.

Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control 18.(2007):414-420.

Padukka, I, B. Bhandari and B. D'Arcy. Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from β -cyclodextrin-lemon oil complex powder. J. Food Compos. Anal 13(2000): 59-70.

Priyabrata P. and Tathagata R., Improving liposome integrity and easing bottlenecks to production. Phamarceutical Technology Europe Volume 22, Issue 6,2009.

Perez C, Castellanos IJ, Costantino HR, Al-Azzam W and Griebenow K. Recent trends instabilizing protein structure upon encapsulation and release from bioerodible polymers. Pharm Pharmacol 54(2002):301-313.

Pao-Chu Wua, Yaw-Bin Huanga, Jui-Sheng Changa, Ming-Jun Tsaib, Yi-Hung Tsaia.,Design and evaluation of sustained release microspheres of potassium chloride prepared by Eudragit. Eur. J. Pharm. Sci (2003):115-122.

Risch, S.J. and G.A. Reineccius. Encapsulation and controlled release of food ingredients.

Washington, DC. : American Chemical Society,1993.

Rasooli, I., M.B. Rezaei and A. Allameh. Growth inhibition and morphological alterationsof Aspergillus niger by essential oils from Thymus eriocalyx and Thymus x-porlock.

Food Control. 17 (2006):359-364.

Risch, S.J. and G.A. Reineccius. Flavor Encapsulation. American Chemical Society: Washington. DC, USA.,1988.

Shukla, Y. and M. Singh. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. Food Chem Toxicol 45(2007): 683-690.

Song, S.H., H.J. Lee, S.J. Chang and G.J. Wood. Microencapsulation of garlic oil with β-cyclodextrins. Food Biotechnol. 2 (1993):132-135.

Sophon R, Amorn P, Narupat K, Tirayut V, Nattaya N, Chaiyo C and Songchan P. Cytotoxic labdane diterpenoids from Croton oblongifolius. Phytochemistry 56 (2001):103-107.

Szejtli, J. Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes. Cyclolab Ltd., Budapest,1982.

Soumaya K and Aicha N. Relationship correlation of antioxidant and antiproliferative capacity of *Cyperus rotundus* products towards K562 erythroleukemia cells. Chemico-Biological Interactions 181(2009): 85–94.

Shafi P.M., Rosamma M.K., Kaiser J., Reddy P.S. Antibacterial activity of *Syzygium cumini*and *Syzygium tra_ancoricum* leaf essential oils. Fitoterapia 73 (2002):414-416.

Sharma SB, Nasir A, Prabhu KM, Murthy PS, Dev G. Hypoglycaemicand hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. Journal of Ethnopharmacology 85(2003):201-206.

Schneider , F.H. Extraktive Trennung Fest/Fl ü ssig – Untersuchungenü ber die Feinstruktur vegetabiler Feststoffe und ihren Einfl uss auf dasExtraktionsverhalten , Westdeutscher Verlag , Opladen, Germany ,1980.

Stockfl eth , R. and Fiebig , B. Dtsch.Lebensmitt. Rundsch (2004):343 – 347.

Sattler , K. ThermischeTrennverfahren – Grundlagen, Auslegung,Apparate , 3rd edn , Wiley - VCH Verlag GmbH , Weinheim, Germany,2001.

Swapan Kumar Ghosh. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective.WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA,Weinheim. ISBN 3- 527-31296-X.

Schwendeman SP. Recent advances in the stabilization of proteins encapsulated in injectable PLGA delivery systems. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 19(2002):73-98.

S.P.Vyas and R.K.Khar, Targeted and Controlled drug delivery. 7th edition. 418. Schugens C, Larvelle N, Nihantn.,Grandfils C.,Jerome R and Teyssie P J.Control.Rel 32(1994):161.

Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and J. Weiss. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. Lett. Appl. Microbiol. 39(2004):401-406.

W.G. Seo, H.O. Pae, G.S. Oh, K.Y. Chai, T.O. Kwon, Y.G. Yun, N.Y. Kim, H.T. Chung, Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264. 7 cells, J. Ethnopharmacol. 76 (2001): 59–64.

Winitsorn , A. and Douglas , P.L.,*Chem. Eng. Commun.* , 195(2008):1457 – 1464.

Yele SU, Veeranjaneyulu A. Toxicological assessments of aqueousextract of Eugenia jambolana stem bark. Pharmaceutical Biology 48(2010):849-54.

Yazici E, Oner, Kas HS, Hincal AA. Phenytoinsodium microcapsules: bench scale formulation, process characterization and release kinetics.Pharmaceutics Dev Technol 1(1996):175-183.

Yeo Y and Park K. A new microencapsulation method using an ultrasonic atomizer based on interfacial solvent exchange. J Control Release 100 (2004):379-88.

Zasypkin, D and Porzio, M.Glass encapsulation of flavours with chemically modified starch blends, Journal of Microencapsulation(2004):385-397.

Zhu G, Mallery SR and Schwendeman SP.Stabilization of proteins encapsulated in injectable PLGA. Nat Biotechnol 18 (2000):52-57.

Zivanovic, S., S. Chi and A.F. Draughon. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. J. Food Sci. 70 (2005) : 45-51.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก
การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากสมุนไพรนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก เพื่อหาปริมาณผลผลิตที่ได้ด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ คำนวณโดยใช้สูตร ดังนี้

%Yield (dry weight basis) = (W_1× 100) / W_2
W_1 = น้ำหนัก (กรัม) สารสกัดหลังระเหยตัวทำละลายออก
W_2 = น้ำหนัก (กรัม) ของตัวอย่าง

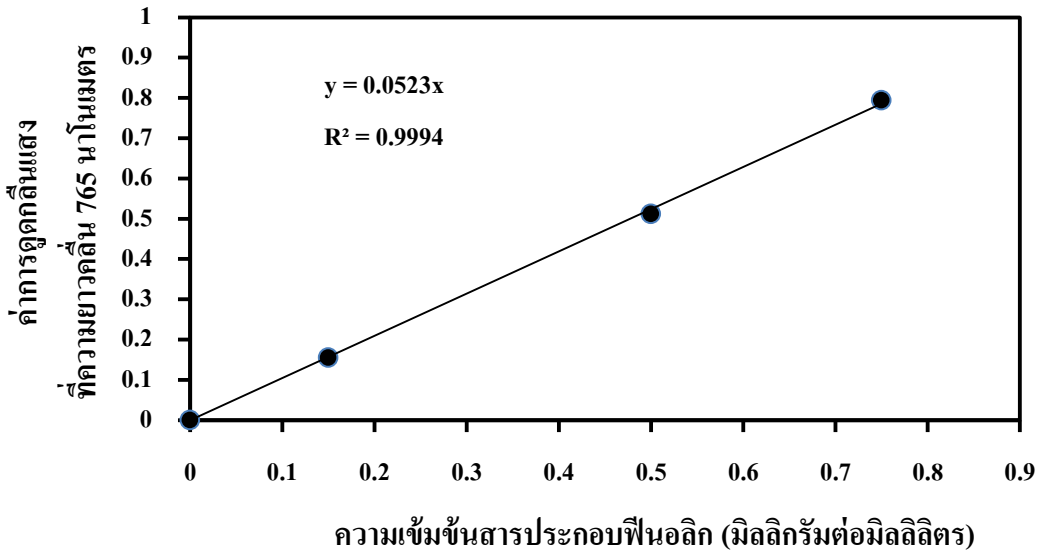
2. การวิเคราะห์หาความเข้นข้นของสารประกอบฟินอลิก

การวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟินอลิก จะเป็นการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟินอลิกรวม (Total phenolic compounds) วิเคราะห์ตามวิธี Folin Ciocalteau micro method โดยนำตัวอย่างสารสกัดที่กรองได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.58 มิลลิลิตร และ Folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ลงไปผสมเข้าด้วยกันและทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อหาค่าความเข้มข้นฟินอลิกทั้งหมดที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟินอลิก

การสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟินอลิก จะใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ ทำได้โดยเตรียมกรดแกลลิก 5 กรัมผสมกับเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (ปริมาตร ต่อปริมาตร) 10 มิลลิลิตรและทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในปริมาตร 1, 2, 5, 10 และ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 50, 100, 250, 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานแกลลิกที่เตรียมได้ จะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงตามวิธีข้างต้น ที่ความเข้มข้นกรดแกลลิกต่างๆ เมื่อทราบค่าความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงนั้นมาพลอตกราฟ จะได้กราฟมาตรฐานฟินอลิกแสดงดังรูปที่ ก-1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ ก-1 กราฟมาตรฐานสารประกอบฟินอลิก

4. การหาค่าผลได้สารประกอบฟินอลิก

$$C = c \cdot (V_2+V_3)\,(V_1/V_2) / M$$

โดยที่ C คือ ค่าผลได้สารประกอบฟินอลิก
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)
c คือ ความเข้มข้นสารสกัดฟินอลิก (มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อมิลลิลิตร)
V_1 คือ ปริมาตรที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)
V_2 คือ ปริมาตรที่ดึงมาเจือจาง (มิลลิลิตร)
V_3 คือ ปริมาตรที่เติมเพื่อเจือจาง (มิลลิลิตร)
M คือ น้ำหนักสมุนไพรแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

5. การหาปริมาณประสิทธิภาพในการกักเก็บปริมาณฟีนอลิกและประสิทธิภาพกระบวนการ

ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Efficiency of encapsulation , EE) คือ ร้อยละของสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดสมุนไพรที่ถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูล

นำไมโครแคปซูล 1 กรัม ละลายในเฮกเซน 10 มิลลิลิตร และเขย่าด้วยเครื่อง Votex นาน 1 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ดูดสารละลายส่วนใส่ที่กรองได้ 20 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin Ciocalteau micro method คำนวณเป็นจำนวนมิลลิกรัมของสารประกอบฟีนอลิกต่อปริมาตร 2 ไมโครลิตร จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกักเก็บ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกักเก็บ หรือ ประสิทธิภาพของการกักเก็บด้วยไมโครแคปซูล(Efficiency of encapsulated phenolic compound, EE) คำนวณตามสมการต่อไปนี้

ประสิทธิภาพในการกักเก็บปริมาณฟีนอลิก $= \frac{C1}{C2}$

C_1 = ความเข้มข้นของสารฟีนอลิกที่ได้จากการทำไมโครเอนแคปซูเลทในสารละลายเฮกเซน
C_2 = ความเข้มข้นของผงไมโครเอนแคปซูเลทในสารละลายเฮกเซน

โดยที่ความเข้มข้นของ ความเข้มข้นของสารฟีนอลิกที่ได้จากการทำไมโครเอนแคปซูเลทในสารละลายเฮกเซนหาได้จากค่า C โดยที่ C หาได้จากสมการต่อไปนี้

$$C = c \cdot (V_2+V_3)\ (V_1/V_2) / M$$

โดยที่ C คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)
c คือ ความเข้มข้นสารสกัดฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อมิลลิลิตร)
V_1 คือ ปริมาตรที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)
V_2 คือ ปริมาตรที่ดึงมาเจือจาง (มิลลิลิตร)
V_3 คือ ปริมาตรที่เติมเพื่อเจือจาง (มิลลิลิตร)
M คือ น้ำหนักสมุนไพรแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

ประสิทธิภาพในการผลิตไมโครเอนแคปซูเลท (%) $= \frac{W3}{W4} \times 100$

W3 = น้ำหนักของไมโครเอนแคปซูเลทที่ผลิตได้
W4= น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมดที่ใช้ในการผลิตไมโครเอนแคปซุเลท

6.การศึกษาการคงสภาพของไมโครเอนแคปซูเลท

นำผงไมโครเอนแคปซูเลชันเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในขวดสีชา จากนั้นนำไปวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลงเป็นเวลา 3 เดือน โดยในแต่สัปดาห์จะนำผงไมโครแคปซูล 0.5 กรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร และเขย่าด้วยเครื่อง Votex นาน 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin Ciocalteau micro method เพื่อศึกษาการคงสภาพไมโครเอนแคปซูเลทที่เปลี่ยนไปในแต่ละสัปดาห์

$$C = c \cdot (V_2+V_3)\ (V_1/V_2) / M$$

โดยที่ C คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)
c คือ ความเข้มข้นสารสกัดฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อมิลลิลิตร)
V_1 คือ ปริมาตรที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)
V_2 คือ ปริมาตรที่ดึงมาเจือจาง (มิลลิลิตร)
V_3 คือ ปริมาตรที่เติมเพื่อเจือจาง (มิลลิลิตร)
M คือ น้ำหนักสมุนไพรแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

สำหรับ % การคงสภาพหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ การคงสภาพ} = \frac{C_t}{C_0} \times 100$$

C_t คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ระยะเวลาในแต่ละสัปดาห์
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)
C_0 คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ระยะเวลาเริ่มต้น
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นางสาวนัสจรินทร์ ลิ้มเสรี

วัน เดือน ปีที่เกิด 30 ธันวาคม 2531

สถานที่เกิด จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา

-โรงเรียนดอนเมืองทหารอากาศบำรุง เมื่อปี พ.ศ.2549

-วศ.บ. (วิศวกรรมเคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปี พ.ศ. 2553

-ศึกษาในระดับปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2557

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์

Nasjarin Limseree and Chutimon Satirapipathkul.MICROENCAPSULATION OF FUNTIONNAL EXTRACT FROM SAUSSUREA LAPPA BY SPAY DRYING USING MALTODEXTRIN/PECTIN MATRIX. . International Conference on Interdisciplinary research and development in asean universite. . ;วันที่ 8-10 สิงหาคม 2556 ณ โรงแรมอิมพิเรียลแม่ปิง จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย

Nasjarin Limseree and Chutimon Satirapipathkul. ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF THAI NATIVE HERB EXTRACTS AGAINST SPOILAGE BACTERIA. International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology. ;วันที่ 8-10 มกราคม 2557 ณ โรงแรมเซนทราแกรนด์ จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University