

การผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION OF MULBERRY LEAF EXTRACT MICROCAPSULE



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

Department of Food Technology

FACULTY OF SCIENCE

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน
โดย	นายศุภสิทธิ์ อินทร์แสง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงษ์ อัครตรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

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

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีตา บรมพิชัยชาติกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงษ์ อัครตรกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวณิช)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)

ศุภสิทธิ์ อินทร์แสง : การผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน. (PRODUCTION OF MULBERRY LEAF EXTRACT MICROCAPSULE) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.กิติพงษ์ อัครกุล

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอล (60 80 และ 100% v/v) และระยะเวลา (10 20 และ 30 นาที) ในการสกัดใบหม่อนโดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction) ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหม่อน โดยออกแบบการทดลองแบบ 3^2 factorial in completely randomized design (CRD) ศึกษาผลของการเอนแคปซูลชันด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อเสถียรภาพของสารสกัดใบหม่อน และศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีน และถุง high density polyethylene, HDPE) ร่วมกับภาวะการบรรจุ 2 ภาวะ (ภายใต้ภาวะบรรยากาศ และภายใต้ภาวะสุญญากาศ) ต่อเสถียรภาพของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน จากผลการทดลองพบว่าภาวะในการสกัดด้วยความเข้มข้นเอทานอล 60% v/v เวลา 30 นาที สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (5.54 ± 0.17 mg quercetin equivalent/100 g dry basis (db)) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (1505.63 ± 4.79 mg gallic acid equivalent/100 g db) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (619.56 ± 2.12 μ M trolox/g db) และ FRAP (961.17 ± 59.72 μ M trolox/g db) สูงที่สุด และเลือกภาวะการสกัดนี้ในการศึกษาผลของการเอนแคปซูลชันด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้มอลโตเดกซ์ทริน มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย และกัมอารบิก เป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนสารสกัดและสารห่อหุ้มที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพพบว่า ไมโครแคปซูลที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีร้อยละของผลผลิตและประสิทธิภาพในการกักเก็บสูงที่สุด อีกทั้งผลของชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน โดยทุกตัวอย่างมีความสามารถในการละลายมากกว่า 90% ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนทุกตัวอย่างมีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วสูงกว่าอุณหภูมิห้อง (T_g) ในขณะที่ปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำของทุกตัวอย่างต่ำกว่า 8% และ 0.6 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง จากผลการวิเคราะห์ค่าสีของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนพบว่าทุกอย่างไม่ีสีเขียวอมเหลือง และจากการศึกษาลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มมีรูปร่างทรงกลม พื้นผิวเรียบมากกว่าการใช้สารห่อหุ้มชนิดอื่น ในขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มพื้นผิวมีรอยบุบโดยรอบ และเมื่อพิจารณาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (184.43 ± 2.70 μ M trolox equivalent/g db) และ FRAP (239.39 ± 1.91 μ M trolox equivalent/g db) สูงสุด และเลือกภาวะการเอนแคปซูลชันด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยนี้ไปใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ค่ากิจกรรมของน้ำ ค่าสี (L^* a^* b^* และ ΔE^*) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษาพบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าความแตกต่างของสี (ΔE^*) ปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลง และพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางกายภาพ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตและเก็บรักษาไมโครแคปซูลสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพื่อประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

5972157023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: MULBERRY LEAF, ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION, ANTIOXIDANT ACTIVITY, MICROCAPSULE

Supasit Insang : PRODUCTION OF MULBERRY LEAF EXTRACT MICROCAPSULE. Advisor: Asst. Prof. KITIPONG ASSATARAKUL, Ph.D.

The objectives of this research were to study the effect of ethanol concentration (60, 80 and 100% v/v) and time (10, 20 and 30 minutes) using ultrasound-assisted extraction on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activities by 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. This experiment was carried out in completely randomized design in a 3² factorial with three replications, to study the effect of encapsulation by spray drying on stability of mulberry leaf extract microcapsule and to study the effect of packaging types (laminated aluminium foil bag and high-density polyethylene plastic bag or HDPE) and packaging conditions (under vacuum and under atmospheric conditions) on the stability of mulberry leaf extract microcapsule during storage at room temperature for 60 days. The results showed that mulberry leaf extract at 60% v/v of ethanol and extraction time of 30 minutes exhibited the highest total phenolic content (1505.63±4.79 mg gallic acid equivalent/100 g dry basis (db)), total flavonoid content (5.54±0.17 mg quercetin equivalent/100 g db) and antioxidant activity by DPPH (619.56±2.12 µM trolox/g db) and FRAP (961.17±59.72 µM trolox/g db) assays. Therefore, this extraction condition was used for further experiment. After the extraction, the mulberry leaf extract was encapsulated by spray drying using coating materials namely, maltodextrin, resistant maltodextrin and gum arabic at different ratio of mulberry leaf extract to coating material. It was found that mulberry leaf extract microcapsule prepared by resistant maltodextrin with a coating material at ratio 1:1 showed the highest encapsulation yield and encapsulation efficiency. Additionally, mulberry leaf extract microcapsules prepared with different coating materials and ratio of mulberry leaf extract/coating material did not significantly affect the water solubility index and all microcapsule samples showed the water solubility index with the values higher than 90%. Glass transition temperature of all microcapsule samples were higher than ambient temperature whereas moisture content and water activity were lower than 8% and 0.6, respectively in all sample, indicating this product was considered as dry food. The results from scanning electron microscope (SEM) images clearly showed that the type of coating material used to prepare the mulberry leaf extract microcapsules caused significantly differences in their microstructure. Mulberry leaf extract microcapsule prepared by resistant maltodextrin as a coating material had a spherical shape, smooth surface and less shrinkage than mulberry leaf extract microcapsules prepared by maltodextrin and gum arabic which had a rough surface. Moreover, the highest antioxidant activity by DPPH and FRAP assays was obtained from mulberry leaf extract microcapsule prepared by gum arabic as a coating material at ratio 1:2 with the value of 184.43±2.70 µM trolox equivalent/g db and 239.39±1.91 µM trolox equivalent/g db, respectively. Consequently, mulberry leaf extract microcapsule prepared by gum arabic as a coating material at ratio 1:2 was used in storage experiment. During the storage of mulberry leaf extract microcapsule, it showed that moisture content, water activity, color difference (ΔE^*) of all samples tended to increase, while total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity by DPPH and FRAP assays decreased with increasing storage time. In addition, mulberry leaf extract microcapsule packed in laminated aluminium foil bag under vacuum condition had slightly changes in physical property and antioxidant activity of mulberry leaf extract microcapsule during storage (60-day) compared to other samples. This research could be used as a guideline for the development of microencapsulation of bioactive compounds with preserved antioxidant activity and can be valuable for application of healthy food product.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study: Food Technology

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

งานวิทยานิพนธ์เรื่อง “การผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน” นี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัครกุล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ผู้ให้คำแนะนำ และสั่งสอนด้วยความเอาใจใส่ อีกทั้งคอยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้ข้าพเจ้าตระหนักถึงความรัก ความตั้งใจ และความทุ่มเทของอาจารย์ จึงขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีตา บรมพิชัยชาติกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช และรองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังให้คำแนะนำ ทั้งด้านวิชาการและด้านอื่น ๆ รวมทั้งตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวก การให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ต่าง ๆ ขอขอบคุณเพื่อนๆ ในหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต และพี่ๆ ในหลักสูตรปริญญาตรีบัณฑิตทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ ดูแล รวมทั้งให้กำลังใจเพื่อฝ่าฟันอุปสรรคต่าง ๆ ผู้ทำวิจัยจะไม่สามารถทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงได้ หากไม่มีทุกท่านคอยช่วยเหลือ ขอกราบขอบพระคุณพ่อแม่ และครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนเสมอมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ศุภสิทธิ์ อินทร์แสง

2.2.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ.....	23
2.2.5.1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay	23
2.2.5.2 Ferric reducing power (FRAP) assay	24
2.2.6 วิธีสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช	25
2.2.6.1 มาเชอเรชัน (maceration).....	25
2.2.6.2 เพอร์โคเลชัน (percolation).....	27
2.2.6.3 การสกัดด้วยซอกซ์เลตเอ็กซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor)	27
2.2.6.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction).....	29
2.3 การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE)	30
2.3.1 คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound).....	33
2.3.2 ปรากฏการณ์คาวิตีชัน	34
2.3.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด	36
2.3.3.1 ชนิดของตัวทำละลาย.....	37
2.3.3.2 อุณหภูมิ.....	39
2.3.3.3 เวลา.....	40
2.3.4 ประโยชน์ของการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วย	41
2.4 การทำแห้งแบบพ่นฝอย	41
2.4.1 หลักการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	42
2.5 เอนแคปซูลชัน.....	43
2.6 สารเคลือบ	46
2.6.1 มอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin).....	47
2.6.2 มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย.....	49
2.6.3 กัมอารบิก.....	52
2.7 บรรจุภัณฑ์ในอาหาร.....	57

2.7.1 ถุง HDPE (High-density polyethylene)	60
บทที่ 3	68
3.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction, UAE)	70
3.2 การศึกษาการเอนแคปซูลชันของสารสกัดใบหม่อน	72
3.3 การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา	73
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	74
บทที่ 4	75
4.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction, UAE)	75
4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย	75
4.1.2 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย	79
4.1.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย	82
4.1.4 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย	85
4.2 การศึกษาการเอนแคปซูลชันของสารสกัดใบหม่อน	88
4.2.1 การศึกษาร้อยละของผลผลิตที่ได้ และประสิทธิภาพในการกักเก็บของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย	88
4.2.2 การศึกษาความสามารถในการละลายและอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย	90

4.2.3 การศึกษาปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	93
4.2.4 การศึกษาค่าสี L^* a^* b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่น ฝอย.....	95
4.2.5 การศึกษาลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้ง แบบพ่นฝอย.....	96
4.2.6 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้ง แบบพ่นฝอย.....	101
4.2.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้ง แบบพ่นฝอย.....	103
4.2.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำ แห้งแบบพ่นฝอย.....	104
4.2.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำ แห้งแบบพ่นฝอย.....	106
4.3 การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	108
4.3.1 กิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	109
4.3.2 ปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	110
4.3.3 ค่าสี L^* a^* b^* และความแตกต่างของสี (ΔE^*) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน ระหว่างการเก็บรักษา.....	112
4.3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการ เก็บรักษา.....	117
4.3.5 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บ รักษา.....	118
4.3.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการ เก็บรักษา.....	120

4.3.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการศึกษา เก็บรักษา	122
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	125
บรรณานุกรม.....	127
ภาคผนวก.....	143
ภาคผนวก ก. วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี	144
ก.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry ตามวิธีของ Slinkard และคณะ (1997)	144
ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetry ดัดแปลงตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)	146
ก.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)	148
ก.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)	151
ภาคผนวก ข. สมบัติทางกายภาพ.....	154
ข.1 การวิเคราะห์ค่าความชื้น (% moisture content) ตามวิธีของ AOAC (2000)	154
ข.2 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity, a_w) ตามวิธีของ AOAC (2000)	154
ข.3 การวิเคราะห์ค่าสี ระบบ CIE LAB ด้วยเครื่อง chroma meter	154
ข.4 การวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% encapsulation yield) ตามวิธีของ Ramakrishnan และคณะ (2018).....	155
ข.5 การวิเคราะห์ร้อยละประสิทธิภาพการกักเก็บ (% encapsulation efficiency) ดัดแปลงจากวิธี Saénz และคณะ (2009)	155
ข.6 การวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูล ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM).....	156
ข.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (water solubility index, WSI) ดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed และคณะ (2010).....	156

ข.8 การวิเคราะห์อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ตามวิธีของ Ramakrishnan และคณะ (2018).....	157
ข.9 การหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) ดัดแปลงตามวิธี AOAC (2006) ...	157
ภาคผนวก ค. ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม.....	161
ประวัติผู้เขียน.....	169



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกหมวดหมู่ของหม่อน..... 3

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของสารอาหารที่พบในหม่อน..... 7

ตารางที่ 3 วิตามินและเกลือแร่ที่พบในใบหม่อน..... 8

ตารางที่ 4 การจำแนกสารประกอบฟีนอลิกจากจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล..... 14

ตารางที่ 5 การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชชนิดต่าง ๆ 32

ตารางที่ 6 ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ.....38

ตารางที่ 7 ตัวอย่างการใช้มัลติเตคซัทรินในการทำเอนแคปซูลชันด้วยเทคนิคการทำแห้ง..... 49

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางชีวเคมีของกัมอาร์บิกจาก *A. senegal* และ *A. seyal* โดยน้ำหนักแห้ง..... 55

ตารางที่ 9 ข้อกำหนดสากลของคุณภาพกัมอาร์บิก..... 55

ตารางที่ 10 คุณสมบัติของพลาสติกที่นิยมใช้บรรจุภัณฑ์อาหาร..... 59

ตารางที่ 11 ระดับของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดโดยใช้วิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.... 70

ตารางที่ 12 การออกแบบการทดลองแบบ 3^2 full factorial in completely randomized design (CRD)..... 71

ตารางที่ 13 อัตราส่วนของสารสกัดและสารห่อหุ้ม ในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย..... 72

ตารางที่ 14 ชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุ ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน..... 73

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.....78

ตารางที่ 16 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย..... 78

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.....81

ตารางที่ 18 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย..... 81

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.....84

ตารางที่ 20	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย	84
ตารางที่ 21	การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.....	87
ตารางที่ 22	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย.....	87
ตารางที่ 23	ร้อยละของผลผลิตที่ได้ และประสิทธิภาพในการกักเก็บของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย	90
ตารางที่ 24	ความสามารถในการละลาย และอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	92
ตารางที่ 25	ปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย	95
ตารางที่ 26	ค่าสี $L^* a^* b^*$ ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	96
ตารางที่ 27	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม	102
ตารางที่ 28	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม	104
ตารางที่ 29	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม	106
ตารางที่ 30	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม	108
ตารางที่ 31	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	118
ตารางที่ 32	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	120
ตารางที่ 33	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	122
ตารางที่ 34	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	124
ตารางที่ ก.1	การเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox.....	149

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 ส่วนประกอบของต้นหม่อน	4
รูปที่ 2 หม่อนพันธุ์ต่าง ๆ	6
รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มพอลิฟีนอลิก	9
รูปที่ 4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก	12
รูปที่ 5 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีซิดิเมต.....	13
รูปที่ 6 การจัดกลุ่มประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่มาจากอาหาร	15
รูปที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์	17
รูปที่ 8 โครงสร้างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์	18
รูปที่ 9 สูตรโครงสร้างของ DPPH.....	23
รูปที่ 10 การเกิดปฏิกิริยาของ DPPH assay.....	24
รูปที่ 11 การเกิดปฏิกิริยาของ FRAP assay	25
รูปที่ 12 การสกัดแบบมาเซอร์ชัน	26
รูปที่ 13 เพอร์โคเลชัน.....	27
รูปที่ 14 การสกัดด้วยซอกซ์เลตเอ็กซ์แทรกเตอร์.....	28
รูปที่ 15 การสกัดด้วยตัวทำละลาย	29
รูปที่ 16 ปรากฏการณ์ควาเวชันในเซลล์พืช	30
รูปที่ 17 การเกิดปรากฏการณ์ควาเวชัน	31
รูปที่ 18 ขั้นตอนสำคัญในการสกัดสารสำคัญจากพืชด้วยคลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยสกัด	32
รูปที่ 19 คลื่นเสียงความถี่สูง	34
รูปที่ 20 องค์ประกอบของคลื่นอัลตราโซนิก	34
รูปที่ 21 การเกิดควาเวชัน	35
รูปที่ 22 การเกิดควาเวชันและชะสารถายในเนื้อเยื่อจากการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด	36
รูปที่ 23 การทำแห้งแบบพ่นฝอย	42
รูปที่ 24 โครงสร้างเอนแคปซูลเลชันแคปซูล.....	44
รูปที่ 25 ไมโครแคปซูลชนิดต่าง	44
รูปที่ 26 ขั้นตอนการทำเอนแคปซูลเลชันด้วยการทำแห้ง	45
รูปที่ 27 สมบัติทางเคมีกายภาพของมอลโตเดกซ์ทรินที่สัมพันธ์กับค่า dextrose equivalent	48
รูปที่ 28 กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย	50
รูปที่ 29 โครงสร้างทางเคมีของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย.....	51
รูปที่ 30 กัมอาร์บิกจากต้นอะคาเซีย	53

รูปที่ 31	โครงสร้างทางเคมีของกัมอาร์บิก.....	54
รูปที่ 32	เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน และน้ำ ในบรรจุภัณฑ์พลาสติกชนิดต่าง ๆ ...	62
รูปที่ 33	คุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ลามิเนตชนิดต่าง ๆ	66
รูปที่ 34	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของบรรจุภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ	67
รูปที่ 35	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500 เท่า และ 1000 เท่า (ซ้ายไปขวา ตามลำดับ) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน a) มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1, b) มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และ c) มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1.....	99
รูปที่ 36	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500 เท่า และ 1000 เท่า (ซ้ายไปขวา ตามลำดับ) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน d) มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2, e) กัมอาร์บิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และ f) กัมอาร์บิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:3	100
รูปที่ 37	ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	110
รูปที่ 38	ร้อยละปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	112
รูปที่ 39	ค่า L^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	115
รูปที่ 40	ค่า a^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	115
รูปที่ 41	ค่า b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	116
รูปที่ 42	ค่า ΔE^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา.....	116
รูปที่ ค.1	กราฟสารละลายมาตรฐาน gallic acid สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	162
รูปที่ ค.2	กราฟสารละลายมาตรฐาน quercetin สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์... ..	162
รูปที่ ค.3	กราฟมาตรฐาน trolox สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	163
รูปที่ ค.4	กราฟมาตรฐาน trolox สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	163
รูปที่ ค.5	กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน MD 1:1	164
รูปที่ ค.6	กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของไมโครแคปซูล สารสกัดใบหม่อน MD 1:2.....	165
รูปที่ ค.7	กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน RMD 1:1	166
รูปที่ ค.8	กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของสารไมโครแคปซูลสกัดใบหม่อน RMD 1:2.....	167

รูปที่ ค.9 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)
 ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน GA 1:2 168

รูปที่ ค.10 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature,
 T_g) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน G:A 1:3 169



บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพมีอัตราการเติบโตที่เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากสมุนไพร เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารเหล่านี้สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็ง เป็นต้น ประเทศไทยมีสมุนไพรหลากหลายและผู้บริโภคนิยมเลือกอาหารที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มผู้สูงอายุและผู้ที่มีสุขภาพ โดยคาดหวังประโยชน์เพื่อดูแลรักษาสุขภาพ ตัวอย่างสมุนไพรที่นำมาทำชาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ มะตูม กระเจี๊ยบ ใบหม่อน ดอกคำฝอย ใบบัวบก เตยหอม ดอกเก๊กฮวย มะขามป้อม และหญ้าหวาน เป็นต้น โดยสมุนไพรหลายชนิดมีสรรพคุณทางยา อาทิ ฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาท ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มระบบหมุนเวียนเลือด สมุนไพรที่น่าสนใจคือ หม่อน (*Morus alba* L.) ซึ่งเป็นพืชตระกูล Moraceae เป็นไม้พุ่มขนาดกลาง และเป็นพืชเศรษฐกิจที่เป็นที่รู้จักกันดีชนิดหนึ่ง มีการปลูกมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงหนอนไหม ใบหม่อนนอกจากจะใช้เป็นอาหารเลี้ยงหนอนไหมแล้วยังใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิดและสามารถช่วยเพิ่มรสชาติของอาหารรวมทั้งมีคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากมีกรดอะมิโนหลายชนิดและแร่ธาตุต่าง ๆ หม่อนถือว่าเป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือเภสัชโภชนาภัณฑ์ (nutraceutical) เนื่องจากอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย โดยสารสกัดจากเปลือกต้นหม่อนมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติป้องกันไขมันในเลือดสูง อีกทั้งลูกหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง เป็นต้น ในขณะที่ใบมีสารออกฤทธิ์หลักที่สำคัญ ได้แก่ สารดีออกซินอิจิริมายซิน ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอลคาลอยด์ มีสมบัติช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านโรคอ้วน สารเคอเวอซิทิน สารเคมเพอรอลซึ่งเป็นสารกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลในลำไส้เล็กทำให้กระแสเลือดหมุนเวียนดี และหลอดเลือดแข็งแรง ยับยั้งการเกิดสารก่อมะเร็งเลือด มะเร็งเต้านม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ลดอาการแพ้ต่าง ๆ และยืดอายุเม็ดเลือดขาว สารเคอเวอซิทินและไอโซเคอเวอซิทิน เป็นสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของ low-density lipoprotein (LDL) และมีไฟโตสเตอรอล ซึ่งช่วยลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล

กรดคลอโรจีนิกซึ่งอยู่ในกลุ่มกรดฟีนอลิก เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่จะช่วยลดการอักเสบในหลอดเลือดของผู้ที่เป็นโรคไขมันพอกในเส้นเลือด นอกจากนี้สารสกัดจากใบหม่อนยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ลดการเกิดโรคเบาหวาน (type 2) กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และลด

ปริมาณคอเลสเทอรอลได้ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์จากไบโหม่อนได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์ชาเขียวไบโหม่อน แม้ว่าวิธีสกัดไบโหม่อนด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมให้ปริมาณสารเคอซิทิน เคมเฟอรอล และสารพอลิฟีนอลในปริมาณสูง แต่สารออกฤทธิ์ที่สำคัญในไบโหม่อนนั้นก็ไม่สามารถถูกสกัดออกมาได้หมดในกระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อน การใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยสกัดจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญออกจากไบโหม่อน ซึ่งการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction) เป็นวิธีสกัดที่เพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดสารสำคัญจากวัตถุดิบ ข้อดีของการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยคือลดระยะเวลาในการสกัด ลดการใช้เครื่องมือ ลดค่าใช้จ่าย ลดขั้นตอนการทำงาน และลดการใช้อุณหภูมิและพลังงาน เป็นต้น โดยปัจจัยในการสกัด เช่น อัตราส่วนสารละลาย อุณหภูมิ และเวลาสามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด เนื่องจากไบโหม่อนมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก ซึ่งสารเหล่านี้มีความไวต่อสภาวะแวดล้อม ส่งผลให้สารนั้นไม่คงตัว จึงต้องมีกระบวนการในการกักเก็บสารนั้นไว้ไม่ให้เกิดการสูญเสียในระหว่างกระบวนการผลิตหรือกระบวนการเก็บรักษา ไมโครเอนแคปซูลชันเป็นกระบวนการที่สารแกนกลาง เช่น สารสกัดจากธรรมชาติ หรือยาถูกห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้ม ทำให้สารที่ไวต่อสภาวะแวดล้อม มีความคงตัวดีขึ้นและเก็บรักษาได้นานขึ้น ดังนั้นการเอนแคปซูลชันจึงช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสารเหล่านี้ อย่างไรก็ตามภาวะการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสมอาจส่งผลทำให้ประสิทธิภาพของสารสำคัญลดลงได้ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไบโหม่อนจะมีเสถียรภาพลดลงเมื่อเก็บในภาวะที่มีแสง อากาศ หรือออกซิเจน เนื่องด้วยออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบพอลิฟีนอล

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปัจจัย (อัตราส่วนสารละลาย และเวลา) ในการสกัดสารสกัดจากไบโหม่อนด้วยคลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาวิธีการเอนแคปซูลชัน (encapsulation) ด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) โดยแปรชนิดของสารห่อหุ้มและอัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม ต่อเสถียรภาพของผงสารสกัดไบโหม่อนระหว่างการเก็บรักษา รวมทั้งการศึกษาค่าผลของภาวะการเก็บรักษา (ชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุ) ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่าง ๆ ของไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 หม่อน (white mulberry)

2.1.2 ลักษณะของหม่อน

หม่อน (white mulberry) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Morus alba* Linn ถูกจำแนกอยู่ในวงศ์ Moraceae (ตารางที่ 1) หม่อนจัดเป็นไม้พุ่มขนาดกลางหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 2.5 เมตร บางพันธุ์สูงประมาณ 3-7 เมตร แตกกิ่งก้านไม่มากนัก เปลือกลำต้นเรียบเป็นสีน้ำตาลแดง สีขาวปนสีน้ำตาล หรือสีเทาปนขาว ส่วนเปลือก รากเป็นสีน้ำตาลแดงหรือสีเหลืองแดง มีเส้นร้อยแตกที่เปลือกผิว พบได้ทั่วไปในป่าดิบในประเทศไทยและปลูกกันมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ใบหม่อนเป็นใบเดี่ยว ตำแหน่งของใบออกเรียงสลับกัน ใบเป็นรูปไข่ ปรากฏปลายใบแหลมยาว โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจหรือค่อนข้างตัด ขอบใบเรียบหรือหยักเว้า (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ปลูก) ขนาดใบกว้างประมาณ 8-14 เซนติเมตร และยาวประมาณ 12-16 เซนติเมตร แผ่นใบเป็นสีเขียวเข้มผิวเรียบเงา ท้องใบเป็นสีเขียวอ่อน ใบค่อนข้างหนา หลังใบสากระคายมือ เส้นใบมี 3 เส้น ออกจากโคนทอดยาวไปถึงกลางใบ และเส้นใบออกจากเส้นกลางใบอีก 4 คู่ เส้นร่างแหปรากฏชัดเจนจากด้านล่าง ก้านใบเรียวยาวเล็ก ความยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 1

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกหมวดหมู่ของหม่อน

ลำดับ	ชื่อเรียก
อาณาจักร (kingdom)	Plantae–Plants
หมวด (phylum/division)	Magnoliophyta – Flowering plants
ชั้น (class)	Magnoliopsida – Dicotyledons
ชั้นย่อย (subclass)	Hamamelididae
อันดับ (order)	Urticales
วงศ์ (family)	Moraceae – Mulberry family
สกุล (genus)	<i>Morus</i> L. – mulberry
ชนิด (species)	<i>Morus alba</i> L. – white mulberry

ที่มา: Devi และคณะ (2013)



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของต้นหม่อน (1) ลำต้น (2) ใบ (3) ราก (4) ดอก (5) ผล
ที่มา: สุดารัตน์ (2553)

ใบหม่อนถือเป็นพืชอาหารตามธรรมชาติของหนอนไหม ซึ่งคุณภาพของรังไหมจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับคุณภาพของใบหม่อนที่ตัวไหมกินเข้าไป หม่อนเป็นอาหารชนิดเดียวที่ดีที่สุดของหนอนไหม เป็นหัวใจสำคัญที่จะนำไปสู่การประกอบอาชีพปลูกหม่อนเลี้ยงไหมให้ประสบผลสำเร็จ จำนวนรังไหม คุณภาพรังไหม และเปอร์เซ็นต์เปลือกรังไหม จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับคุณค่าทางอาหารของใบหม่อนที่หนอนไหมจะเปลี่ยนให้เป็นเส้นใยไหม ดังนั้นคุณค่าทางอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และคุณภาพทางกายภาพก็มีความจำเป็น เช่น ขนาดของใบไม่ใหญ่หรือเล็กเกินไป หรือใบที่มีขนใบมากหนอนไหมจะไม่ชอบกิน ใบที่มีผิวใบเรียบมากอาจจะเป็นใบที่เย็บเร็ว ซึ่งไม่เหมาะแก่การเลี้ยงไหม (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2517) ปัจจุบันนักวิชาการเกษตรได้รับรองพันธุ์หม่อนให้เป็นพันธุ์รับรองและพันธุ์แนะนำจำนวน 4 พันธุ์ (รูปที่ 2) ซึ่งทุกพันธุ์ได้รับการพัฒนาเพื่อผลิตใบสำหรับเลี้ยงไหมทั้งสิ้น ลักษณะเด่นของแต่ละพันธุ์มีดังนี้

หม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 ลักษณะเด่นคือ เป็นหม่อนเทศเมีย ให้ผลผลิตใบเฉลี่ย 3,600 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่ราบจนถึงพื้นที่สูงมีความสามารถในการแตกกิ่งหลังการตัดแต่งดี ใบหนาปานกลางและเหี่ยวช้า ต้นตั้งตรงต้านทานต่อโรคราแป้งและเพลี้ยไฟได้ระดับปานกลาง ข้อจำกัดคือท่อนพันธุ์ออกรากยาก และไม่ต้านทานต่อโรคใบด่าง

หม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 เป็นหม่อนเทศเมียให้ผลผลิตใบรวมเฉลี่ย 4,300 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี มีการเจริญเติบโตและตอบสนองต่อปุ๋ยดี แตกกิ่งเร็วหลังตัดแต่ง ลำต้นตั้งตรง ใบใหญ่หนาอ่อนนุ่มไม่เหี่ยวง่าย ต้านทานโรคใบด่างและโรคราแป้งปานกลาง ออกรากได้ดี แต่มีข้อจำกัดคือไม่เหมาะกับการปลูกในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ไม่เหมาะกับเขตเกษตรน้ำฝน และไม่ต้านทานต่อโรคราสนิม

หม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 51 ลักษณะเด่นคือ เป็นหม่อนเทศเมีย จากการทดสอบผลผลิตในสภาพแห้งแล้ง พบว่าให้ผลผลิตใบรวมเฉลี่ยในศูนย์วิจัยสถานีทดลองและไร่เกษตรกร 1,970 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดีกว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ออกรากได้ดี ข้อดี ก้านใบสั้น ใบค่อนข้างหนา อ่อนนุ่มคุณภาพใบดีเหมาะสำหรับเลี้ยงไหม ต้านทานโรคใบด่างปานกลาง แต่มีข้อจำกัดคือไม่ต้านทานต่อเพลี้ยไฟ

หม่อนพันธุ์ศรีสะเกษ 33 ลักษณะเด่นคือ เป็นหม่อนเทศเมีย ต้านทานต่อโรคใบด่างได้ดีกว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และนครราชสีมา 60 ผลผลิตใบรวมเฉลี่ย 2,700 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี มีโปรตีนในใบหม่อนสูงกว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และนครราชสีมา 60 ใบหม่อนมีการร่วงช้ากว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ทำให้มีอายุการเก็บเกี่ยวได้นาน แต่มีข้อจำกัดคือ ออกรากยาก และต้องใช้สารกระตุ้นการออกราก ในการขยายพันธุ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2517)

นอกจากสายพันธุ์หม่อนที่ปลูกเพื่อเก็บใบหม่อนไว้ใช้สำหรับในการเลี้ยงไหมยังสามารถเก็บผลหม่อนเป็นผลพลอยได้ เนื่องจากปัจจุบันมีการผลิตผลหม่อนเพื่อรับประทานผลสดแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อีกด้วย หม่อนยังมีประโยชน์ทางด้านสมุนไพร เช่น ยอดหม่อนนำมาต้มใช้ดื่มและล้างตาเพื่อบำรุงสายตา ใบหม่อนสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอล ลดปริมาณน้ำตาลในเลือด และลดความดันโลหิต กิ่งหม่อนช่วยให้เลือดไหลเวียนสะดวก รากมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อเอชไอวี โดยในอดีตชาวจีนนิยมใช้หม่อนในทางการแพทย์เนื่องจากมีความเชื่อว่าหม่อนช่วยรักษาอาการของโรคต่าง ๆ รวมทั้งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ดังนั้นจึงมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายถึงประโยชน์ของหม่อน และมีการรายงานว่าองค์ประกอบเชิงหน้าที่ (functional component) ที่สำคัญของหม่อนคือ แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ฟีนอลิก (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และอัลคาลอยด์ (alkaloids) (กรมหม่อนไหม, 2538)



รูปที่ 2 หม่อนพันธุ์บุริรัมย์ 51 (ก.) หม่อนพันธุ์ศรีสะเกษ 33 (ข.) หม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 (ค.)
หม่อนพันธุ์บุริรัมย์ 60 (ง.)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ที่มา: กรมหม่อนไหม (2538)

จากงานวิจัยพบว่าลูกหม่อนมีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) หลากหลาย เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด (anti-thrombotic) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง ในขณะที่ยังมีส่วนของลำต้นและรากของหม่อนจัดเป็นสมุนไพร ตามความเชื่อของชาวจีนโบราณ โดยเชื่อว่าหม่อนมีสมบัติในการระบายความร้อนในตับ บรรเทาอาการหอบหืด และกระตุ้นการขับปัสสาวะ เป็นต้น (Wen และคณะ, 2019) โดยสารสกัดจากเปลือกต้นหม่อนมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติป้องกันไขมันในเลือดสูง (anti-hyperlipidemia) นอกจากนี้ใบหม่อนยังถูกใช้ในการรักษาโรคหวัด บำรุงสายตา บำรุงตับ และบำรุงข้อเข่า โดยปัจจุบันมีการรายงานว่ ใบหม่อนสามารถใช้ในการป้องกันโรคอ้วน ป้องกันโรคเบาหวาน (Kim และคณะ, 2017) ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ หม่อนอุดมไปด้วยสารสำคัญ

หลายชนิด ซึ่งสารเหล่านี้มีสามารถนำไปประยุกต์ใช้การเชิงโภชนเภสัช โดยใช้เป็นสารเชิงหน้าที่ (functional ingredient) การประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน อันเป็นผลมาจากการที่ผู้บริโภคให้ความห่วงใยในสุขภาพมากขึ้น การศึกษาในปัจจุบันพบว่าไบโหม่อนและสารสกัดจากไบโหม่อนเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสาร 1-deoxynogirimycin ตามธรรมชาติ ซึ่งทราบกันว่ามียฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase โดยการเข้าจับกับ active site ของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติทำให้ความสามารถในการดูดซึมน้ำตาลในเลือดลดลง และส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำลง (Ma และคณะ, 2018)

องค์ประกอบของไบโหม่อน ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร และอุดมไปด้วยกรดอะมิโนวาเลีน กรูตามีน ลิวซีน ไกลซีน และไลซีน ดังแสดงในตารางที่ 1 เนื่องจากไบโหม่อนประกอบด้วยโปรตีนสูงและมีคุณภาพดีกว่าโปรตีนถั่วเหลือง ดังนั้นจึงนิยมใช้ไบโหม่อนในการเลี้ยงสัตว์ เช่น วัว ควาย หมู และแกะ เป็นต้น ในขณะที่ไบโหม่อนยังประกอบด้วยแร่ธาตุและวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินดี แคลเซียม และฟอสฟอรัส ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยปริมาณสารอาหารหลักและสารอาหารรองของไบโหม่อน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาพภูมิอากาศ และสภาพภูมิประเทศของการปลูก

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของสารอาหารที่พบในไบโหม่อน

องค์ประกอบ	ปริมาณ (มก. / 100 ก. น้ำหนักแห้ง)
สารอาหารหลัก	
โปรตีน	12.70-14.70
คาร์โบไฮเดรต	9.70-39.70
ไขมัน	0.11-0.15
ใยอาหาร	9.9-36.66
น้ำ	5.12-5.40

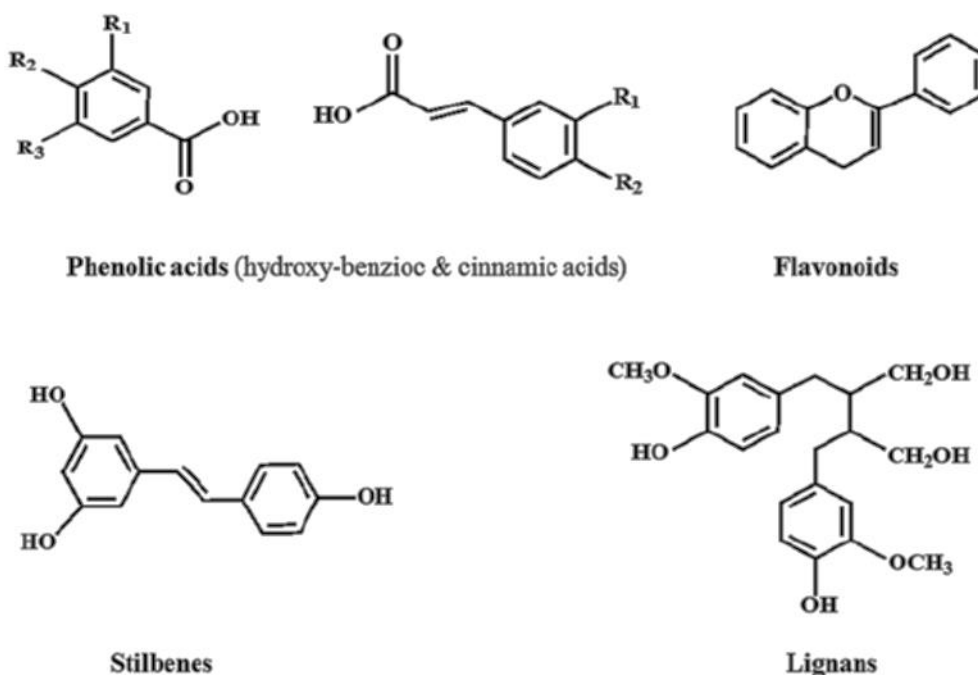
ตารางที่ 3 วิตามินและเกลือแร่ที่พบในใบหม่อน

สาร	ปริมาณ (มก. / 100 ก. น้ำหนักแห้ง)
วิตามินซี	6.45 - 300
เบต้า แคโรทีน	8.44 - 13.13
วิตามินดี	-
แคลเซียม	380 - 2726.66
ฟอสฟอรัส	970
แมกนีเซียม	720
สังกะสี	0.22 - 3.65
เหล็ก	4.70 - 50

2.1.2 การใช้ประโยชน์จากใบหม่อนในด้านผลิตภัณฑ์อาหาร

องค์ประกอบหลักของสารสกัดใบหม่อนประกอบด้วยสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ได้แก่ เควอซิทิน แอสทากาลิน ไอโซเคสอซิทริน และรูทีน (Kim และคณะ, 1999) โพลีฟีนอลิก คือ แอลกอฮอล์ที่ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนมากกว่าหรือเท่ากับ 2 วงต่อเข้าด้วยกัน โดยแต่ละวงจะมีหมู่ไฮดรอกซี (-OH) เกาะอยู่อย่างน้อย 1 หมู่ สารกลุ่มนี้มีความหลากหลายอย่างมากทางโครงสร้าง โดยมีโครงสร้างตั้งแต่โมเลกุลง่ายๆ เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนอลิกโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อนและขนาดใหญ่ เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 3 จากสารประกอบเหล่านี้กลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มที่พบได้บ่อยและมีกลุ่มย่อยมากที่สุดในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Bravo, 1998) มีรายงานว่าสารฟลาโวนอยด์เป็นสารในกลุ่มนี้ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายมากกว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ด้านการเกิดภูมิแพ้ ฤทธิ์ต้านภาวะเส้นเลือดอุดตัน ฤทธิ์ต้านสารก่อมะเร็ง ฤทธิ์ต้านสารพิษในตับ และฤทธิ์ช่วยขยายหลอดเลือด (Kähkönen และคณะ, 1999; Middleton และคณะ, 2000) Doi และคณะ (2000) รายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดใบหม่อนที่ได้จากการสกัดด้วยบิวทานอลเป็นตัวทำละลาย และสารไอโซเคอซิทริน พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) อีกทั้งยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในกระต่ายและต้านออกซิเดชันของ low-density lipoprotein (LDL) ในมนุษย์ ทั้งนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับ

ปริมาณของสารสกัดใบหม่อนที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ รุทีน (rutin) ไอโซควิเชอซีตริน (isoquercetrin) และแอสทากาลิน (astagalın)



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มพอลิฟีนอลิก

ที่มา: Pandey และ Rizvi (2009)

ในปี 2014 Kim และคณะ ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และชนิดของฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดใบหม่อนจากหลากหลายภูมิภาคในประเทศไทยได้ และพบว่าสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าระหว่าง 23.2-55.4 มิลลิกรัมต่อกรัม มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 584-139 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบสารฟลาโวนอยด์หลักที่มีมากในสารสกัดใบหม่อน ได้แก่ รุทีน ไอโซควิเชอซีตริน และแอสทากาลิน ซึ่งมีปริมาณ 0.68-12.7, 0.69-9.86 และ 0.05-3.55 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดใบหม่อนที่ขายตามท้องตลาด มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 0.58

มิลลิกรัมต่อกรัม และปริมาณรูทีน (3.1 มิลลิกรัมต่อกรัม) แอสทากาลิน (2.4 มิลลิกรัมต่อกรัม) และไอโซเคอควิตรินมากที่สุด (5.68 มิลลิกรัมต่อกรัม)

2.1.3 หม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60

ถือกำเนิดตั้งแต่ ปี 1883 จากการทดลองผสมพันธุ์หม่อนของสถานีทดลองหม่อนไหมศรีสะเกษและบุรีรัมย์ โดยการนำท่อนพันธุ์หม่อนหมายเลข 44 ที่มีถิ่นมาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน มีลักษณะเฉพาะสายพันธุ์ คือเจริญเติบโตได้ดี ใบหนา ขนาดใบใหญ่ ข้อปล้องถี่ ให้ผลผลิตต่อไร่สูง แต่ข้อเสียคือ ต้องขยายพันธุ์ด้วยการเสียบกิ่งหรือติดตา ผสมกับหม่อนอีกสายพันธุ์คือ หม่อนน้อย เนื่องจากมีคุณภาพใบดี ขยายพันธุ์ง่าย แต่มีข้อเสียคือ ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ จากการผสมสายพันธุ์ของหม่อนหมายเลข 44 (เพศเมีย) กับหม่อนน้อย (เพศผู้) เพื่อรวมลักษณะที่ดีของแต่ละสายพันธุ์เข้าด้วยกัน จนกระทั่งได้พันธุ์หม่อนที่ให้ผลผลิตใบสูง ใบมีขนาดใหญ่ หนา อ่อนนุ่ม ไม่เหนียวง่าย นอกจากนี้พบว่าใบมีคุณค่าทางอาหารสูง ด้านทานต่อโรคใบด่างและด้านทานต่อโรคราแป้งได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับพันธุ์หม่อนน้อย (กรมหม่อนไหม, 2538)

เทียนทิพย์ และคณะ (2562) วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และเมลาโทนินในใบหม่อน 5 สายพันธุ์ คือ บุรีรัมย์ 60 ใหญ่บุรีรัมย์ สกลนคร คุณไผ่ และศรีสะเกษ พบว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด 37.19 ± 0.53 mg QCE/g extract พันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและเมลาโทนินสูงสุด คือ 390.89 ± 3.90 mg GAE/g extract และ 9.77 ± 0.32 g/g extract ตามลำดับ ขณะที่ Pulbutr และคณะ (2018) ศึกษาการพัฒนาหมากฝรั่งที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบหม่อน (สายพันธุ์บุรีรัมย์ 60) ต่อฤทธิ์การต้านฟันผุที่เกิดจากไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี Biofilm formation และ glycolytic pH drop assays และพบว่าสารสกัดใบหม่อนด้วย 95% เอทานอล (อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง) และสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยน้ำ (ต้มจนเดือด เป็นเวลา 3 ชั่วโมง) มีฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่ทดสอบด้วยวิธี MICs ที่ 0.14 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน พบว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณของกรดคลอโรจีนิก และรูทีนมากกว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยน้ำ โดยสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างกรด และการเกิด

ไบโอฟิล์มจากเชื้อ *Streptococcus mutans* มากกว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญ

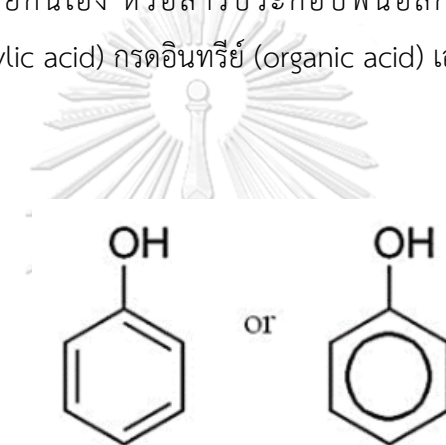
Pothinuch และคณะ (2019) ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกสำหรับจำแนกสายพันธุ์ และอายุใบของหม่อน (*Morus spp.*) โดยการเก็บตัวอย่างใบหม่อนจาก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 สายพันธุ์สกนคร และสายพันธุ์คุณไพ ที่อายุใบต่าง ๆ (ยอด ใบอ่อน ใบแก่) โดยทำการสกัดใบหม่อนด้วย 80% เอทานอล และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกด้วย HPLC-DAD และ HPLC-ESI/MS และพบว่าใบหม่อนมีจำนวนของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 13 ชนิด โดยกลุ่มที่พบมาก คือ caffeoylquinic acids และ flavonol glycosides โดยชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมาก ได้แก่ 5-O-caffeoylquinic acid (3.5-13.1 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง), 4-O-caffeoylquinic acid (1.3-2.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง) และ quercetin-3-O-rutinoside (1.0-4.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง) อีกทั้งสามารถจำแนกสายพันธุ์และอายุใบของหม่อนจากตัวอย่างที่มีสารประกอบฟีนอลิกชนิดเดียวกันได้เป็น 3 กลุ่ม ประกอบด้วย ยอดอ่อน ใบหม่อนจากทุกสายพันธุ์ ใบอ่อนและใบแก่ของหม่อนสายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 และใบอ่อนและใบแก่ของหม่อนสายพันธุ์สกนครและคุณไพ

2.2 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารธรรมชาติที่สามารถสร้างได้โดยพืชชั้นสูงและสิ่งมีชีวิตทั่วไป โดยปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกมีประโยชน์ต่อสุขภาพด้านต่าง ๆ เมื่อบริโภคเป็นประจำ (Cardona และคณะ, 2013) สารประกอบจากพืชที่ถูกสร้างขึ้นด้วยกระบวนการเมแทบอลิซึม แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ สารเมแทบอลิท์ปฐมภูมิ (primary metabolite) ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) และการหายใจ (respiration) ที่มีสารประกอบต่าง ๆ เกิดขึ้น และมีการสร้างพลังงานได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดอะมิโน โปรตีน เพียวรีน และ ไพริมิดีน และสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากการนำสารเมแทบอลิท์ปฐมภูมิมาเข้าสู่กระบวนการชีวสังเคราะห์เพื่อสร้างสารชนิดต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟีนอลิก (phenolics) อะซีโทเจนิน (acetogenins) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในอาหารและเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูป โดยเป็นสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งถูกสร้างมาจาก

วิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) วิถีของชิคิเมท (shikimate pathway) และวิถีฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid pathway) ในส่วนต่าง ๆ ของพืช มีสูตรเคมีคือ C_6H_5OH โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) 1 หมู่ หรือมากกว่าต่ออยู่กับวงแหวนอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (เบนซีน) (รูปที่ 4) โครงสร้างพื้นฐานของสารฟีนอลิกจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุล ขึ้นไป รวมกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดไนโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกคือ กลูโคส (glucose) นอกจากนี้ ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) เอมีน (amine) และไขมันอีกด้วย (Randhir และคณะ, 2004)

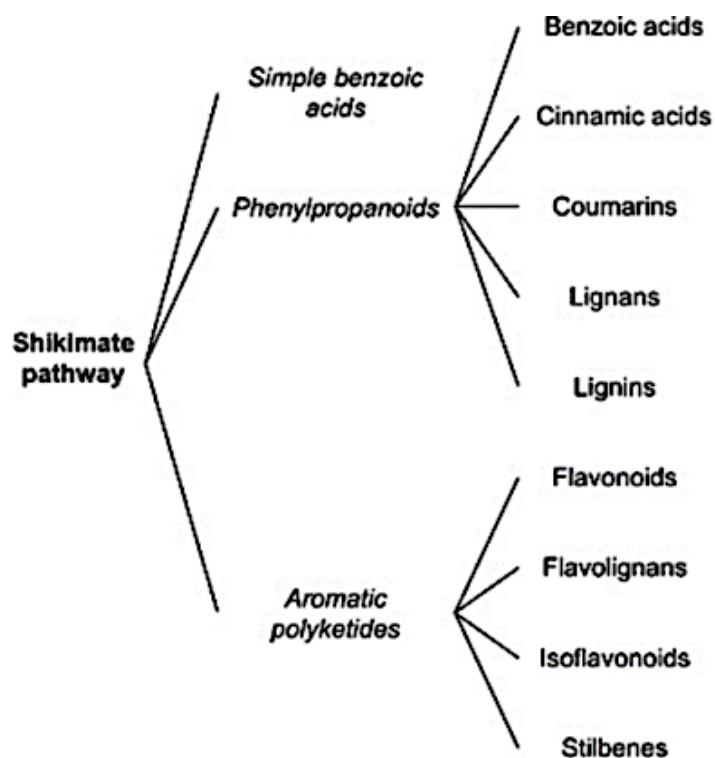


รูปที่ 4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: Vermerris และ Nicholson (2007)

สารประกอบฟีนอลิกถูกแบ่งกลุ่ม 9 กลุ่ม ดังนี้ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acid) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) แซนโทน (xanthenes) ชาล์โคน (chalcones) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ลิกนิน (lignins) เคอมาริน (coumarins) และสติลบิน (stilbenes) โดยสารเหล่านี้สังเคราะห์มาจาก วิถีชิคิเมท หรือ shikimate pathway (Crozier และคณะ, 2009) กรดชิคิมิกเป็นสารอินเตอร์มีเดียตในวิถีชิคิเมท (รูปที่ 5) โดยกรดเบนโซอิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และโพลีคีไทด์วงแหวน เป็นสารตั้งต้น 3 ตัวแรกที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ ที่พบได้ทั้งในพืชและสิ่งมีชีวิต กรดเบนโซอิกเป็นสารตัวแรกที่ถูกสร้างและเป็นโครงสร้างพื้นฐานในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ต่าง ๆ อนุพันธ์สารฟีนิลโพรพานอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานคือ C_6C_3 ฟีนิลโพรเพน ซึ่งพบได้ตามธรรมชาติและสามารถสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

ต่าง ๆ เช่น กรดซินนามิก ลิกนิน ลินแนน กรดเบนโซอิก และเคอมาริน นอกจากนี้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสตีลเบน เป็นสารที่สังเคราะห์จากโพลีคีไทด์วงแหวน (Dewick, 2009)



รูปที่ 5 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิถีชิคิเมต

ที่มา: Ferreira และคณะ (2017)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารเคมีที่มีขนาดใหญ่และหลากหลาย ดังนั้นจึงสามารถจำแนกได้หลายวิธี ซึ่งได้จำแนกสารประกอบฟีนอลิกจากจำนวนของคาร์บอนในโมเลกุลได้ดังตารางที่ 4 (Vermerris และ Nicholson, 2007)

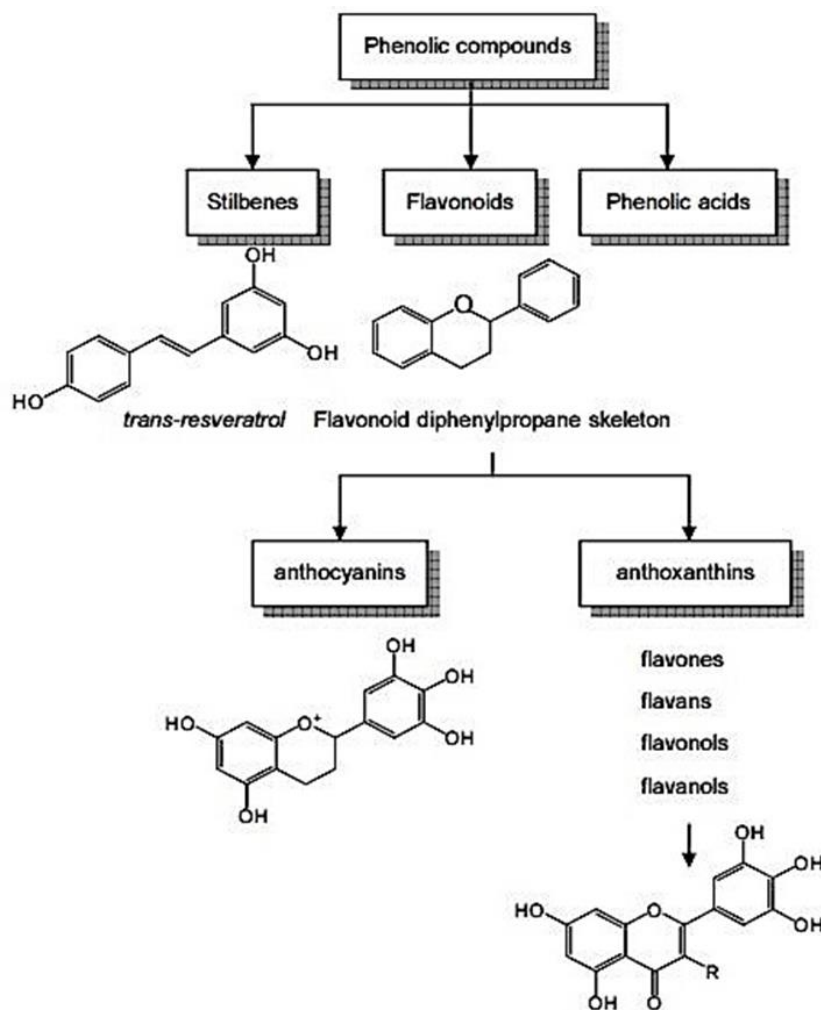
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารเคมีกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พืชสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต พบมากในอาหารและเครื่องดื่มที่มาจากพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง และเมล็ดธัญพืช เป็นต้น การบริโภคผัก ผลไม้โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และเครื่องดื่ม เช่น ไวน์แดง ชา ที่อุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก จึงมีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพเนื่องจากมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Randhir และคณะ, 2004)

ตารางที่ 4 การจำแนกสารประกอบฟีนอลิกจากจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล

โครงสร้าง	สารประกอบฟีนอลิก
C6	simple phenolics
C6-C1	phenolic acids และ related compounds
C6-C2	acetophenones และ phenylacetic acids
C6-C3	cinnamic acids, cinnamyl aldehydes และ cinnamyl alcohols
C6-C3	coumarins, isocoumarins และ chromones
C15	chalcones, aurones และ dihydrochalcones
C15	flavans
C15	flavones
C15	flavanones
C15	flavanols
C15	anthocyanidins
C15	anthocyanins
C30	biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	benzophenones, xanthenes และ stilbenes
C6, C10, C14	quinines
C18	betacyanins Lignans, neolignans dimers หรือ oligomers Lignin polymers tannins oligomers หรือ polymers phlobaphenes polymers

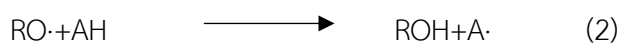
ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในใบหม่อน โดยในใบหม่อนสามารถพบสารเรสเวราทรอล (resveratrol) สารออกซีเรสเวราทรอล (oxyresveratrol) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) และสารมัลเบอร์โรไซด์เอ (mulberroside A) เป็นต้น (Wen และคณะ, 2019) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชซึ่งมีสมบัติทางชีวภาพโดยเฉพาะสมบัติเชิงเภสัช โดยสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ให้สี รสชาติ และกลิ่นรสในส่วนต่าง ๆ ของผักผลไม้ และเช่น ผล ดอก และใบ เป็นต้น นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังเป็นสารที่สำคัญในพืชที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเอง (defence mechanism) และการเจริญเติบโต (Viuda-Martos และคณะ, 2010; Dagar และคณะ, 2015) โดยสามารถจัดกลุ่มประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่จากพืชและอาหารได้ (รูปที่ 6) ซึ่งได้แก่ กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoicacids ได้แก่

gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid กลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งประกอบด้วยกลุ่ม ฟลาโวนส์ไอโซ ฟลาโวนส์ ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และ ฟลาโวนอล และกลุ่มสติลบิน (stilbenes) (ลือชัย, 2555)



รูปที่ 6 การจัดกลุ่มประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่มาจากอาหาร
ที่มา: ลือชัย (2555)

สารประกอบฟีนอลิก (AH) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน จากการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 1 และ 2



เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีความเสถียร เนื่องจากเกิดการเคลื่อนย้ายของอิเล็กตรอนในวงแหวนเบนซีนและทำให้ไม่มีตำแหน่งที่เหมาะสมต่อการเข้าจับของโมเลกุลออกซิเจน (Naczka และ Shahidi, 2004) นอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย ดังสมการที่ 3 และ 4



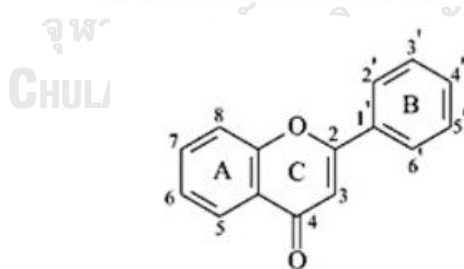
โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกนั้นขึ้นอยู่กับตำแหน่งและหมู่แทนที่บนวงแหวนเบนซีน เช่น การมีหมู่ไฮดรอกซิลลำดับที่ 2 ที่ตำแหน่งออร์โท (ortho-) และ พารา (para-) ของสารประกอบฟีนอลิกจะไปเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยการแทนที่ตรงตำแหน่งของออร์โทและพารา ซึ่งหมายถึง หมู่แทนที่ทั้งสองหมู่นั้นอยู่ที่ตำแหน่ง 1,2- และ 1,4- ของกัน และกันในวงแหวนเบนซีน ตามลำดับ นอกจากนี้ การแทนที่ของหมู่แอลคิลที่ตำแหน่งออร์โทและพาราก็มีผลต่อการเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน (Naczka และ Shahidi, 2004) โดยสารประกอบที่สำคัญและพบมากที่สุดในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์

ในปัจจุบันมีการใช้พืชหรือผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูงในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะการป้องกัน โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความจำเสื่อม โรคมะเร็ง อีกทั้งใช้ในการชะลอความเสื่อมของเซลล์ต่าง ของร่างกายซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกในพืช ผัก และผลไม้ (สุวรรณี และคณะ, 2555) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ สมุนไพรบางชนิด โดยศึกษาปัจจัย A วิธีการสกัด 2 ระดับ (ผงหยาบและสกัดด้วยเอทานอล 70% v/v) ปัจจัย B ชนิดของพืชสมุนไพรพื้นบ้าน 5 ชนิด (ใบบัวบก ใบขี้เหล็ก ใบตำลึง ใบแมงลัก และ ใบกระเพรา) จากการศึกษาพบว่า ใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70% v/v มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดคือ 56.254 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง ($p < 0.01$) และมีค่า IC_{50} (Inhibitory Concentration) ดีที่สุดคือ 2.51 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง นอกจากนี้ เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรื่องวิริยะชัย (2004) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดย ใช้วิธี Folin-Ciocalteu และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity หรือ DPPH และวิธี 1, 10-Phenanthroline หรือ Phen ในเครื่องตีน้ำผลไม้ ผลการศึกษาพบว่าเครื่องตีน้ำสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (2765.00 ± 0.01)

ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) รองลงมาคือ เครื่องดื่มน้ำมะตูม กลิ่นตะไคร้ และ ใบเตย (1749.76 ± 0.02 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) และน้ำองุ่นแดง (1501.80 ± 0.02 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ Phen พบว่าเครื่องดื่มน้ำสมไทยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมา คือน้ำองุ่นแดงและเครื่องดื่มน้ำมะตูมกลิ่นตะไคร้ และใบเตย ตามลำดับ

2.2.1 สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

สารฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก และเป็นสารทุติยภูมิที่มีความหลากหลายมากที่สุดที่พบในพืช สารฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานคือ โครงสร้างแกนที่มีคาร์บอน 15 อะตอมที่เป็นวงแหวนเบนซีน 2 วง แหวน (ring A และ ring B) ต่อกับสายที่ประกอบด้วยคาร์บอน 3 อะตอม (3-carbon linking chain) ดังแสดงในรูปที่ 7 ดังนั้นโครงสร้างทั่วไปของสารฟลาโวนอยด์คือ C6-C3-C6 ถ้าในโครงสร้างไม่มีวงแหวน C (ring C) สารนั้นจะถูกจัดในกลุ่มชาลิโคนซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ต่าง ๆ (Corradini และคณะ, 2011) ชีวสังเคราะห์ของสารฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็น 2 วิธี คือ วิถีอะซีเตท (ring A) และวิถีชิคิเมต (ring B และ ring C) ซึ่งสาร ฟลาโวนอยด์สามารถบางกลุ่มเป็น 9 กลุ่ม ดังนี้ ฟลาโวน ฟลาโวนอยด์ ฟลาวาโนน ฟลาวาโนนอล ฟลาแวน ฟลาวานอล ไอโซฟลาโวน และชาลิโคน โดยโครงสร้างของสารกลุ่มต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 8

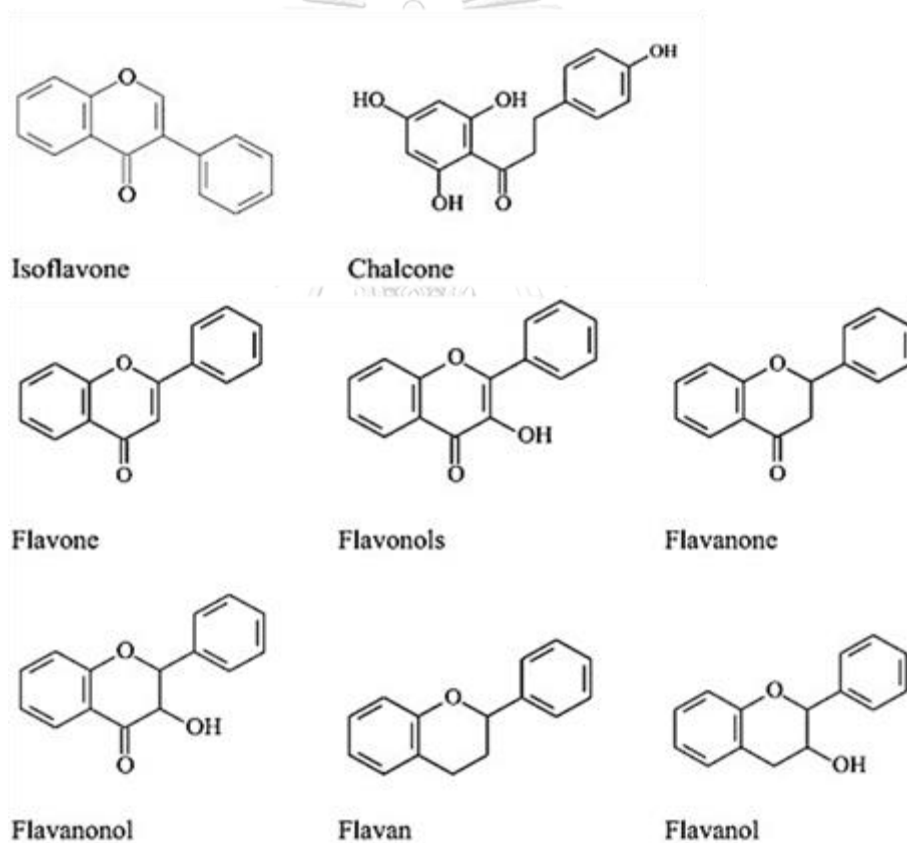


รูปที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์

ที่มา: Nabavi และคณะ (2020)

สารฟลาโวนอยด์เป็นสารสำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และเครื่องสำอาง เนื่องจากสารฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีประโยชน์ต่อคน โดยสารฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านการแพ้ สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ สารต้านการอักเสบ และสารต้านมะเร็ง เป็นต้น

(Srivastava และ Bezwada, 2015) แต่สมบัติที่สำคัญที่สุดของสารฟลาโวนอยด์ คือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยทั่วไปสารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินอี และวิตามินซี (Prior และ Cao, 2000) สารฟลาโวนอยด์สามารถลดสารไวต่อออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารฟลาโวนอยด์สามารถให้อะตอมไฮโดรเจน และสามารถยับยั้งเอนไซม์บางชนิดได้ เช่น NADH oxidase (NOX), glutathione-S-transferase, mitochondrial succinoxidase และ microsomal monooxygenase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้าง ROS (Brown และคณะ, 1998) ในขณะที่งานวิจัยต่าง ๆ รายงานว่าสารฟลาโวนอยด์สามารถลดอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ลดความเสียหายของระบบประสาท และช่วยเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้ เป็นต้น (Vauzour และคณะ, 2008)



รูปที่ 8 โครงสร้างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา: Nabavi (2020)

2.2.2 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่ อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา ดังสมการที่ 5 และ 6



อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภททั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหน็บชา โรคเกี่ยวกับ สายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด เป็นต้น (Ames และคณะ, 1993) อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถสรุปได้ว่าอนุมูลอิสระทุกชนิดเป็นสารพิษต่อร่างกายน ควรต้องพิจารณาระดับความเป็นพิษและความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายด้วย สารที่มีความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ reactive chlorine species และ reactive nitrogen species ตามโมเลกุลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อาจจะพบได้ในรูปของ lipid radical หรือ genetic radical RS นั้นไม่จำเป็นว่าจะต้องอยู่ในรูปของ free radical เสมอไป สารประกอบบางโมเลกุลที่อยู่ในรูป non-radical แต่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น H_2O_2 ก็จัดเป็น RS เช่นกัน

ROS เป็นกระบวนการสร้างพลังงานการหายใจระดับเซลล์มีทั้งผลดี คือช่วยเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย และมีผลเสียทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน โปรตีน หรือดีเอ็นเอ เพื่อลดผลกระทบทางด้านผลเสีย จึงต้องมีการปกป้องที่มีประสิทธิภาพ คือ

ระบบการต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant system) ระบบนี้ประกอบด้วยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น วิตามินอี วิตามินเอ วิตามินซี กลูต้าไธโอน ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และกรดยูริก รวมไปถึงเกิดขึ้นในกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายจากเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เมื่อร่างกายมีกระบวนการดังกล่าวที่มากเกินไป หรือการที่ร่างกายขาดสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้มีการสะสมของ ROS มากขึ้นและทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ขึ้นได้ (Nimse และ Pal, 2015) หากเกิดภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานจะส่งผลให้เกิดความเสี่ยงที่มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ นำไปสู่การเกิดโรคได้ เช่น โรคในระบบหัวใจ และหลอดเลือด โรคทางสมองและระบบประสาท เช่น Parkinson และ Alzheimer รวมไปถึงส่งผลต่อความยืดหยุ่นของผิวหนัง (Cornelli, 2009) จากการศึกษาพบว่าภาวะ oxidative stress นั้นเป็นสาเหตุของโรค และร่างกาย ตลอดจนเป็นปัญหาหลักที่สำคัญอย่างหนึ่งในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากอนุมูลอิสระก่อให้เกิดการเหม็นหืน (rancid) ของผลิตภัณฑ์ ซึ่งทำให้อายุการเก็บรักษาน้อยลง

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเหล่านั้น สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่มีความสามารถจับกับอนุมูลอิสระ แล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ที่มีความเสถียรมากกว่าเดิม ส่งผลทำให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ ซึ่งมีรายงานว่า สารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสามารถหาได้จากธรรมชาติ และพบมากในพืชผักและผลไม้ รวมทั้งธัญพืช ชา สมุนไพร (Denisov และ Afanas, 2005)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติ ได้แก่ สารเคมีจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ชา เช่น สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ วิตามินซี วิตามินอี และแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระ (Halliwell, 2008) มีกลไกการยับยั้งอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (preventive antioxidant) ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (scavenging antioxidant) และทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง หรือการช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชัน (chain breaking antioxidant) สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ (Chattopadhyay และ Chattopadhyay, 2008)

หน้าที่สำคัญที่สุดของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร คือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่องดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง โดยทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ

สารประกอบฟีนอลิกมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เนื่องจากเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidant) สามารถลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งต้านภาวะการอักเสบ ช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกันและช่วยปรับสมดุลระบบหมุนเวียนโลหิต เป็นต้น ในปัจจุบัน สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจ และมีการค้นคว้าวิจัยเพิ่มมากขึ้น โดย วาทีนี (2559) ศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากส่วนใบและเปลือกต้นของทุเรียนเทศ (*Annona muricata*) ด้วยการแช่อย่างต่อเนืองด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล (ได้สารสกัดหยาบ 6 ตัวอย่าง) และศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH จากการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบของทุเรียนเทศ ประกอบด้วยสารที่มีความสำคัญทางเภสัชวิทยา 7 กลุ่มคือ อัลคาลอยด์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซึ่งสามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายเมทานอลจากส่วนเปลือกต้นได้สูงสุด 5 กลุ่ม และพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบในส่วนใบมีปริมาณมากกว่าเปลือกต้นของทุเรียนเทศ นอกจากนี้ กมลลักษณ์ และ วรพจน์ (2557) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกแก้วมังกรสายพันธุ์ *Hylocercus undatus* (Haw) โดยพบว่าเปลือกแก้วมังกรมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและเบต้าไซยานินเท่ากับ 29.98 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง และ 0.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ หลังการสกัดเปลือกแก้วมังกรด้วยน้ำกลั่นพบว่าสารสกัดที่ได้มีสีแดงเข้ม มีค่า pH ระหว่าง 4.0-4.5 นอกจากนี้สารสกัดเปลือกแก้วมังกรมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS+ และแสดงความสามารถในการฟอกจางสีเบต้าแคโรทีน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04 0.20 และ 1.96 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

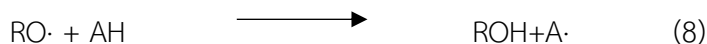
2.2.4 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีหลายกลไกดังนี้

2.2.4.1 ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ จากการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดจากการให้ไฮโดรเจนหรือ

อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้ให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนไปแล้วจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่าอนุมูลอิสระเดิม อาจไปรวมตัวกันกับอนุมูลอิสระอีกโมเลกุลหนึ่ง เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรมากขึ้น หรือมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ มาให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียรต่อไป ดังสมการที่ 7 ถึง 10 (Valacchi และคณะ, 2004)



2.2.4.2 ยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทออกซิเจน (singlet oxygen quenching, $^1O_2^*$)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทออกซิเจน โดยการเปลี่ยน ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูปทริปเปิร์ต (triplet oxygen, 3O_2) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน ดังสมการที่ 11 ถึง 12 โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิ้ลทออกซิเจน ได้ถึง 1,000 โมเลกุล (Sies และคณะ, 1992)



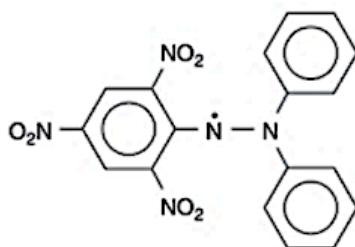
2.2.4.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation)

โลหะหนักเช่น Fe^{2+}/Fe^{3+} และ Cu^{2+} มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ใน ร่างกายซึ่งโลหะหนักดังกล่าวจะไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระหลายประเภทเช่น peroxy radical, hydroxyl radical และ alkyl radical รวมถึง singlet oxygen ดังนั้นการที่มีสารไปจับกับโลหะหนักเหล่านี้จะช่วยชะลอ การเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้ สารที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดพอสฟอลิก กรดซิตริก และ กรดแอสคอร์บิก เป็นต้น

2.2.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.2.5.1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

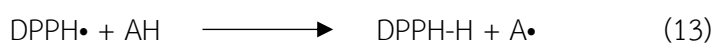
DPPH คือ อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) (รูปที่ 9) เป็นสารที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ ใช้หลักการของ DPPH• ในรูปอนุมูลอิสระที่อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้ม และดูดกลืน คลื่นแสงที่มีความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

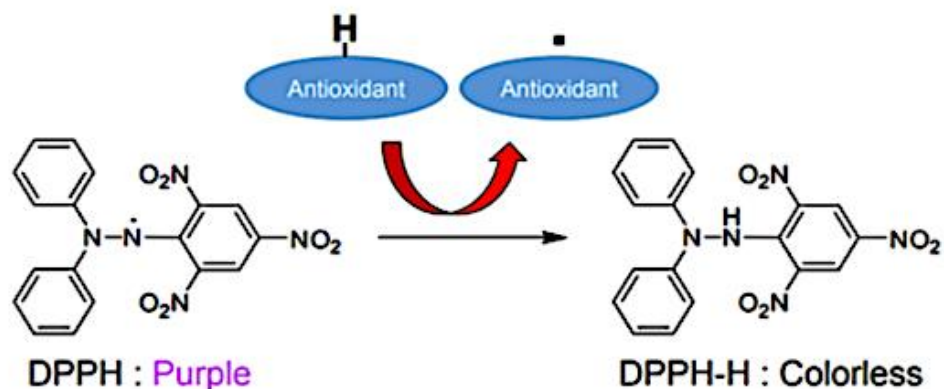


รูปที่ 9 สูตรโครงสร้างของ DPPH

ที่มา: Proestos และ Komaitis (2009)

โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ดังสมการที่ 13 การสูญเสียอิเล็กตรอนให้กับโมเลกุลอื่น โดยมีตัวรับอิเล็กตรอนคือ สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารสกัดจากสมุนไพร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่รูปของออกซิไดซ์ (DPPH) ซึ่งการลดลงของอนุมูลอิสระดังกล่าวจะสังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงในสารละลาย สามารถวัดการค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร (รูปที่ 10) เป็นตัวชี้วัดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น หรือก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ



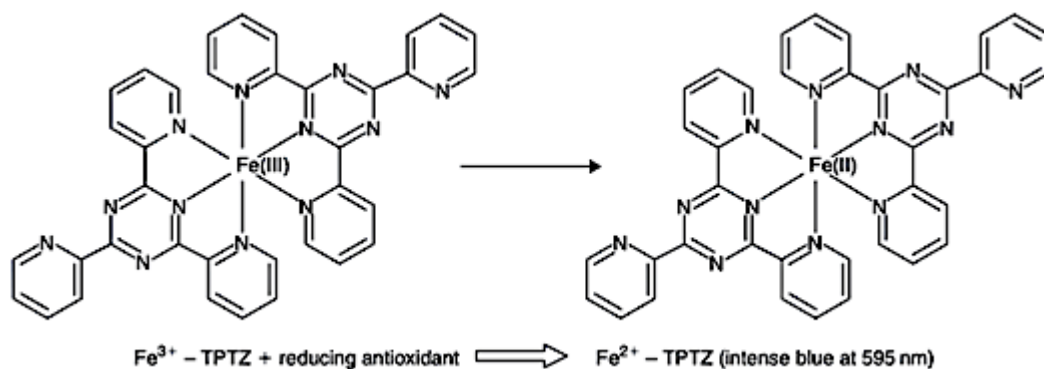


รูปที่ 10 การเกิดปฏิกิริยาของ DPPH assay

ที่มา: Xiao และคณะ (2020)

2.2.5.2 Ferric reducing power (FRAP) assay

เป็นวิธีตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน หลักการของวิธีนี้จะวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติเป็น reductant โดยที่สารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} และ 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ในสถานะที่เป็นกรด คือคือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ซึ่งดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (รูปที่ 11) การวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ วัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อน โดยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่นดังกล่าวนี้ ใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น



รูปที่ 11 การเกิดปฏิกิริยาของ FRAP assay

ที่มา: Proestos และ Komaitis (2009)

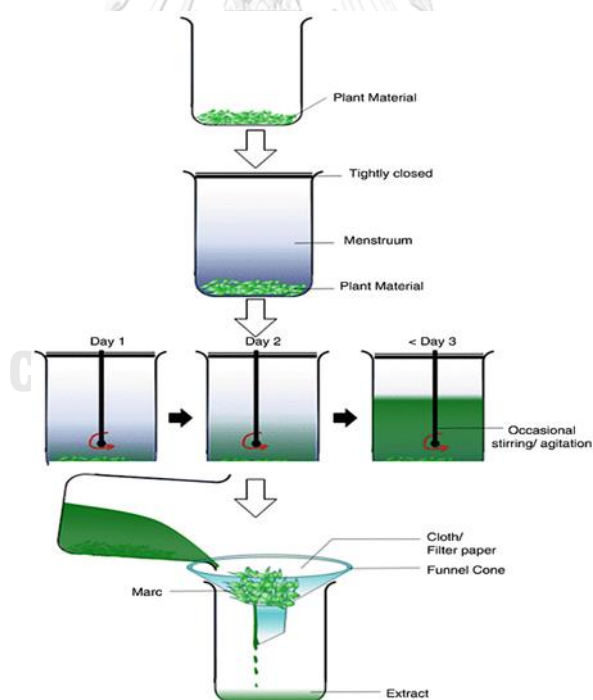
2.2.6 วิธีสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช

ผักและผลไม้พื้นบ้านไทยหลายชนิดถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา เนื่องจากมีฤทธิ์ทางยาต่างๆมากมาย ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่มักจะพบเป็นส่วนใหญ่ คือ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากส่วนต่างๆของพืชทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นด้วยวิธีการสกัดไคหรือใช้ตัวทำละลายใดก็ตาม จะต้องใช้ประกอบเป็นของผสมหรือ สารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากพืชโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent) โดยสารสกัดที่ได้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของพืชซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเรียกว่า “สารสำคัญ” และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เรียกว่า “สารเฉื่อย” ซึ่งวิธีการสกัดสารสำคัญขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันออกไป

2.2.6.1 มาเชอเรชัน (maceration)

แสดงวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักพืชกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปخمพู่ โดยนำตัวอย่างพืชที่บดละเอียด เติมน้ำหรือตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีในการสกัดพืชแล้วแต่อัตราส่วนตามที่ต้องการ ทิ้งไว้ 12-24 ชั่วโมง หรือมากกว่านั้นแต่ไม่เกิน 2 วัน หรือพืชบางชนิดอาจทิ้งไว้ 7 วัน เพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในตัวอย่างออกมา ระหว่างที่แช่ควรคนหรือเขย่าเป็นครั้งคราวเพื่อ

เพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาทำการกรองเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (marc) ให้มากที่สุด (รูปที่ 12) โดยวิธีนี้เหมาะสมกับพืชส่วนที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่ใช้ตัวทำละลายมาก (กิตติพัฒน์ และ ปานทิพย์, 2560) เนื่องจากกระบวนการสกัดโดยวิธีการหมักช้า จึงมีผู้ดัดแปลงใช้ mixer หรือ homogenizer มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออก การสกัดจึงเร็วขึ้น เรียกวิธีการสกัดนี้ว่า vortical (turbo) extraction โดยใช้ความถี่ที่มีความสูงเกิน 20,000 เฮิร์ตซ์ แต่การใช้เสียงช่วยในการสกัด อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็น peroxide ซึ่งอาจมีผลต่อสารที่สกัด และยังอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้ ultrasound จะเกิดช่องว่างและมีอากาศเข้าไปแทรกในตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังอาจเพิ่มความเร็วในการสกัด โดยเพิ่มอุณหภูมิ แต่ต้องระวังการสลายตัวของสารสำคัญเนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้น (นพมาศ, 2544)

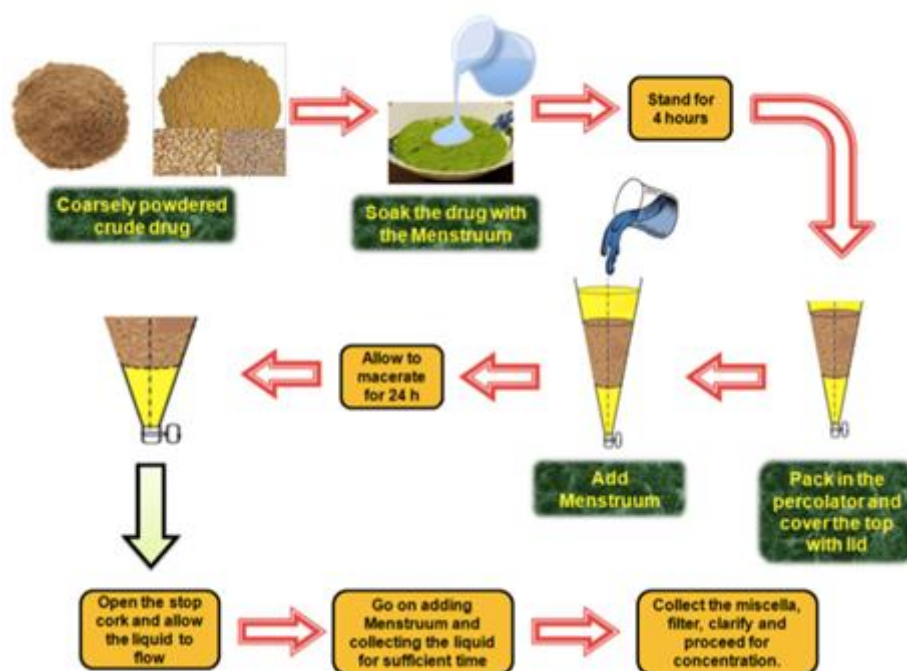


รูปที่ 12 การสกัดแบบมาเซอเรชัน (maceration)

ที่มา: Sasidharan และคณะ (2018)

2.2.6.2 เพอร์โคเลชัน (percolation)

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (percolator) นำวัตถุดิบมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยบรรจุวัตถุดิบที่ละเอียด เป็นชั้นลงใน เพอร์โคเลเตอร์ เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือผงตัวอย่าง ประมาณ 0.5 เซนติเมตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงเริ่มเอาสารสกัดออก โดยคอยเติม ตัวทำละลายให้เหนือตัวอย่างอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนสารสกัดสมบูรณ์ ปิดปาก เอาดสารสกัดออกมาให้มากที่สุด นำเอาสารสกัดที่ได้ไปกรอง วิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ต้องใช้ ความร้อน แต่มีข้อเสียคือ ใช้ตัวทำละลายมากและใช้เวลานานในการสกัด (นพมาศ, 2544) โดยการสกัดแบบมาเพอร์โคเลชัน แสดงดังในรูปที่ 13



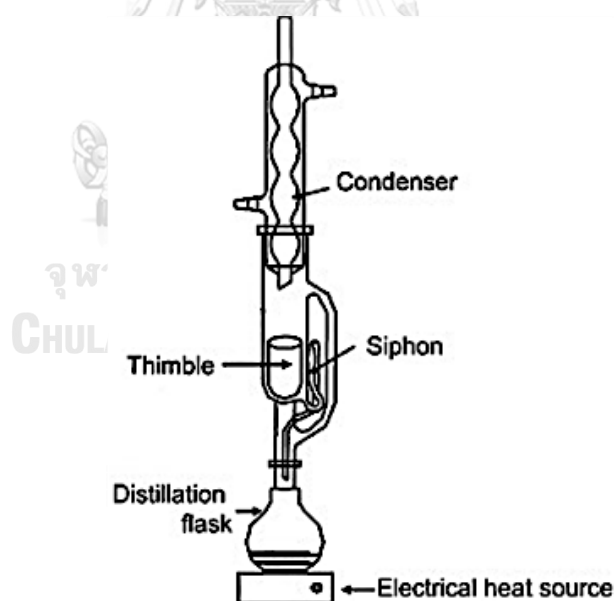
รูปที่ 13 เพอร์โคเลชัน (percolation)

ที่มา: Handa และคณะ, (2008)

2.2.6.3 การสกัดด้วยซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor)

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญทำนองเดียวกับเพอร์โคเลชัน แต่ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ในระบบปิด โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ ทำได้โดยใช้ความร้อน ทำให้ตัวทำละลายใน

flask ระเหยตัวขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาใน thimble ซึ่งบรรจุตัวอย่างไว้ เมื่อตัวทำละลายใน extracting chamber สูงถึงระดับ จะเกิดการลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงใน flask ด้วยวิธีการลักน้ำ flask นี้จะได้รับความร้อนจาก heating mantle หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไป ทั้งสารสกัดไว้ใน flask ตัวทำละลายเมื่อกระทบ condenser จะกลั่นตัวกลับลงมาเป็นสารสกัดใหม่วนเวียน เช่นนี้ จนกระทั่งสารสกัดสมบูรณ์ การสกัดวิธีนี้ใช้ความร้อน อาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว วิธีการนี้ใช้ได้ผลดีกับตัวอย่างที่เป็นผงบดละเอียด วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสมสำหรับสารสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อน และใช้น้ำยาสกัดน้อย ไม่สิ้นเปลืองแต่มีข้อเสีย คือ ไม่เหมาะที่จะใช้กับองค์ประกอบที่ไม่ทนความร้อน และน้ำยาสกัดที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกของตัวทำละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของน้ำยาสกัดแตกต่างไปจากเดิม และผลของน้ำยาสกัดไม่ดีเท่าที่คาดเอาไว้ (รัตนา, 2559) โดยการสกัดด้วยซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ แสดงดังในรูปที่ 14



รูปที่ 14 การสกัดด้วยซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (Soxhlet extractor)

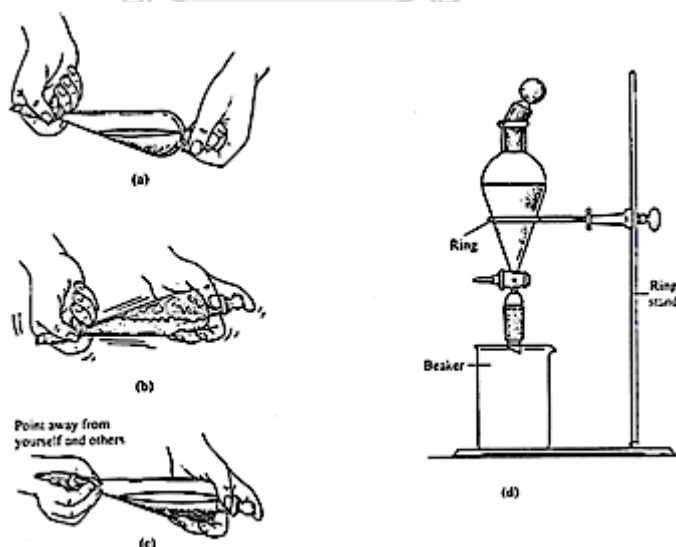
ที่มา: López-Bascón (2015)

2.2.6.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

เป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออกจากแหล่งที่พบในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ และพืชสมุนไพร การสกัดแยกสารออกจากของผสมหลังทำปฏิกิริยา หลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสม เช่น

- การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid/liquid extraction) เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกจากของแข็ง เช่น เปลือกไม้ ใบไม้ ดอกไม้ เป็นต้น โดยการแช่ตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้อง หรือต้มด้วยความร้อน

- การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid/liquid extraction) มีหลักการคือ ทำให้ตัวทำละลายที่ละลายในตัวทำละลายที่ 1 (ปกติคือตัวทำละลายของน้ำ) กระจายไปสู่ตัวทำละลายที่ 2 (ปกติคือตัวทำละลายอินทรีย์) โดยที่ตัวทำละลายทั้งสองไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วิธีการสกัดสามารถทำได้ง่าย ๆ คือ นำสารละลายของน้ำที่มีตัวถูกละลายที่ต้องการแยกใส่ในกรวยแยก (separatory funnel) แล้วเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปในกรวยแยก จากนั้นเขย่ากรวยแยก 2-3 นาที ให้คว่ำกรวยแล้วเปิดจุกกรวยแยกเพื่อระบายความดัน แล้วทำการเขย่าต่อ จนกระทั่งการกระจายของตัวของตัวถูกละลายระหว่างตัวทำละลายทั้งสองถึงจุดสมดุล ตั้งกรวยแยกทิ้งไว้ จนกระทั่งตัวทำละลายทั้งสองแยกชั้น (Handley, 1999) (รูปที่ 15)



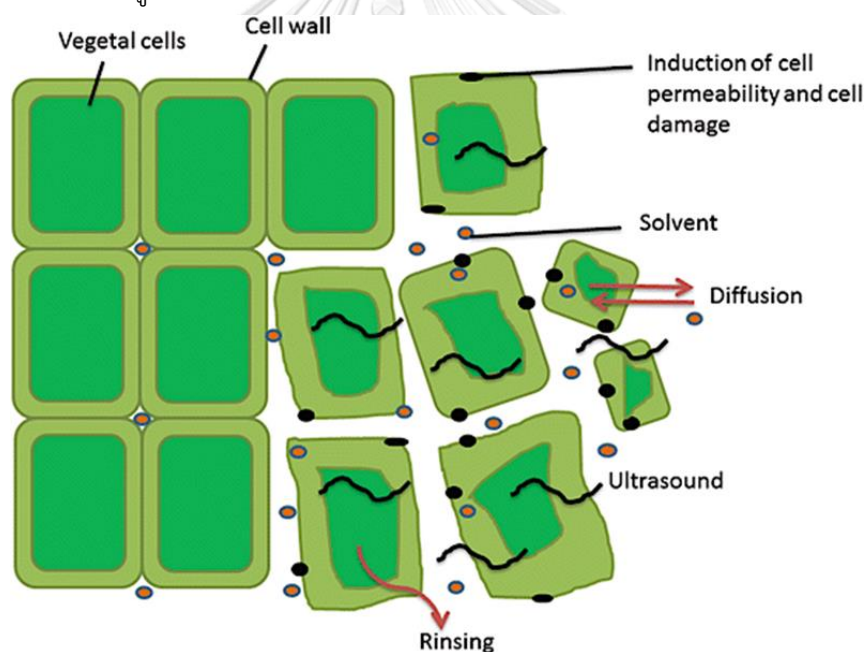
รูปที่ 15 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (a), (b) และ (c) วิธีการจับกรวยแยก และขณะทำการสกัด

(d) การไขสารละลายออกจากกรวยแยก

ที่มา: ไพลิน ลิมตระกูล (2546)

2.3 การใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยในการสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE)

คลื่นอัลตราซาวนด์เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่มากกว่า 20 กิโลเฮิรตซ์ ซึ่งเป็นระดับที่คนสามารถรับรู้ได้ โดยแหล่งของคลื่นอัลตราซาวนด์คือวัตถุที่สั่น (vibrating body) ที่สามารถทำให้ตัวกลางเกิดการสั่นสะเทือนและคลื่นอัลตราซาวนด์จะส่งผ่านพลังงานไปยังอนุภาคข้างเคียง พารามิเตอร์ที่สำคัญในการเกิดคลื่นอัลตราซาวนด์คือพลังงาน ความถี่ และแอมพลิจูด (Sanderson, 2004) โดยพลังงานที่คลื่นอัลตราซาวนด์สามารถเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางสามารถแสดงได้ด้วยค่าพลังงานคลื่นอัลตราซาวนด์ (ultrasound power, W) ความเข้มคลื่นอัลตราซาวนด์ (ultrasound intensity, W/cm²) การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยเป็นเทคโนโลยีที่ช่วยเร่งการถ่ายเทมวลสารและพลังงานในการสกัด เมื่อคลื่นอัลตราซาวนด์ทำปฏิกิริยากับวัตถุหรือชิ้นส่วนของพืชจะส่งผลกระทบต่อสมบัติทางกายภาพและเคมี ซึ่งเป็นผลมาจากปรากฏการณ์คาวิตีชัน (cavitation phenomenon) โดยปรากฏการณ์คาวิตีชันสามารถช่วยปลดปล่อยสารที่อยู่ภายในเซลล์ให้ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น และง่ายขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 16



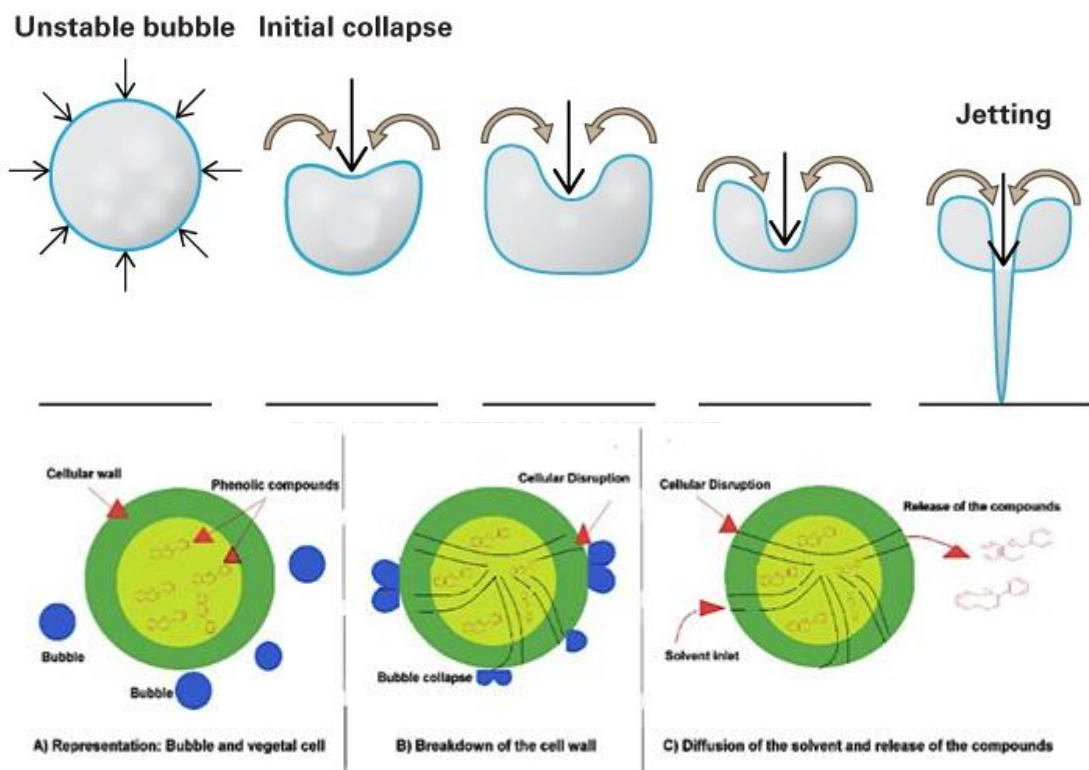
รูปที่ 16 ปรากฏการณ์คาวิตีชันในเซลล์พืช

ที่มา: Sasidharan และคณะ (2018)

เมื่อคลื่นอัลตราซาวนด์เคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง เช่น น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ จะทำให้เกิดการหดตัวและขยายตัวของฟองแก๊สเป็นวัฏจักรซ้ำไปซ้ำมา ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านเคมีและกายภาพจากแรงกล เมื่อฟองแก๊สขยายตัวจะสามารถพาสารที่อยู่ภายในเซลล์ให้ละลาย

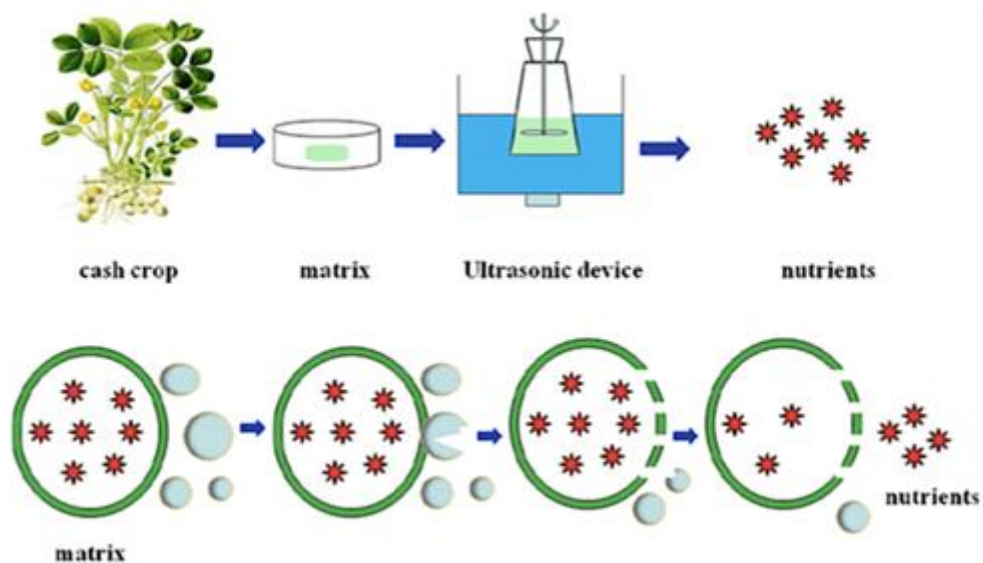
ออกมาในตัวทำละลาย ซึ่งเป็นการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer) และในขณะที่ฟองแก๊สหดตัวหรือแตกออกจะทำให้เกิดความดันและความร้อนปริมาณมากบริเวณดังกล่าว ส่งผลให้เซลล์แตก และช่วยให้สารภายในเซลล์ถูกสกัดออกมาได้ง่ายขึ้น (Wen และคณะ, 2018) (รูปที่ 17 และ 18) ปรากฏการณ์ควิเตชันส่งผลให้ผนังเซลล์แตก ลดขนาดอนุภาค และเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา โดยไม่ส่งผลให้โครงสร้างหรือสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเกิดการเปลี่ยนแปลง (Ashokkumar, 2015)

การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัดสามารถใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชต่าง ๆ เช่น พอลิฟีนอลิก สารให้กลิ่นรส สารสี และโปรตีน เป็นต้น (ดังตารางที่ 5) ซึ่งการสกัดด้วยวิธีนี้สามารถได้ปริมาณสารสกัดที่มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์เพียงอย่างเดียว ข้อดีของการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยคือ ลดระยะเวลาในการสกัด ลดการใช้เครื่องมือ ลดค่าใช้จ่าย ลดขั้นตอนการทำงาน ลดการใช้อุณหภูมิและพลังงาน เป็นต้น (Esclapez และคณะ, 2011)



รูปที่ 17 การเกิดปรากฏการณ์ควิเตชัน (A) สารสำคัญภายในเซลล์พืชและฟองอากาศ (B) ฟองอากาศหดตัวและแตกออก ทำลายผนังเซลล์พืชฉีกขาด (C) ส่งผลให้สารสำคัญถูกตัวทำละลายชะออกมาภายนอกเซลล์

ที่มา: Shirasath และคณะ (2012)



รูปที่ 18 ขั้นตอนสำคัญในการสกัดสารสำคัญจากพืชด้วยคลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยสกัด
ที่มา: Wen และคณะ (2018)

ตารางที่ 5 การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชชนิดต่าง ๆ

พืช	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เครื่องมือ	ภาวะการสกัด	เอกสารอ้างอิง
แก้วมังกร (เปลือก)	สารต้านอนุมูลอิสระ	US probe	$P=59.2 \text{ W/cm}^2$, $T=25^\circ\text{C}$, $t=60 \text{ min}$	Pan และคณะ, 2011
ลำไย	พอลิแซ็กคาไรด์	US bath	$T=60^\circ\text{C}$, $t=22\text{min}$, $P=120 \text{ W}$	Yang และคณะ, 2008
ส้ม (เปลือก)	ฟลาโวนอน โกลโคไซด์	US probe	$T=40^\circ\text{C}$, $P=150 \text{ W}$, ethanol:water=4:1 (v/v)	Khan และคณะ, 2010
พริกไทย	แคปไซซินอยด์	US bath	$t=2-25 \text{ min}$, $T=10-60^\circ\text{C}$	Barbero และคณะ, 2008
แซฟฟรอน	สารระเหยง่าย	US bath	Solvent:acetonitrile, $t=22 \text{ min}$	Sereshti และคณะ, 2014
กระเทียม	สารให้กลิ่น	US bath	$T=25^\circ\text{C}$, $t=30 \text{ min}$, solvent:ethyl acetate	Kimbaris และคณะ, 2006
ราสเบอร์รี่	แอนโทไซยานิน	US probe	Solvents:materials=4:1, $t=200 \text{ s}$, $P=400 \text{ W}$	Chen และคณะ, 2007

2.3.1 คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound)

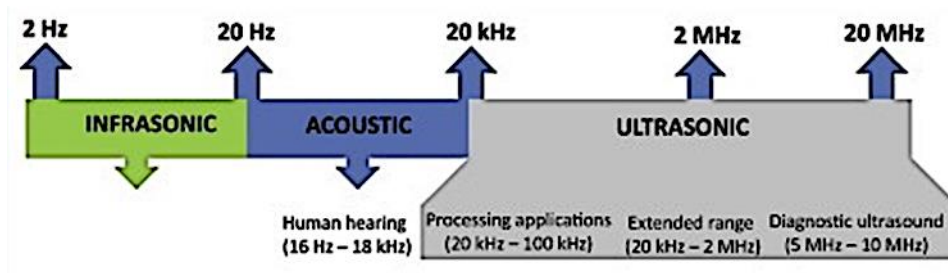
คลื่นเสียงอัลตราซาวนด์หรืออัลตราโซนิกเป็นคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่หูมนุษย์จะได้ยิน โดยมีความถี่สูงกว่า 16-18 กิโลเฮิร์ตซ์ มีช่วงคลื่นอยู่ที่ 18 กิโลเฮิร์ตซ์-100 เมกะเฮิร์ตซ์ และสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ power ultrasound (20-100 กิโลเฮิร์ตซ์) ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และ diagnostic ultrasound (2-10 เมกะเฮิร์ตซ์) ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ (รูปที่ 19) คลื่นอัลตราซาวนด์มีองค์ประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 20 โดยมีองค์ประกอบดังนี้

- สันคลื่น คือ ตำแหน่งสูงสุดของคลื่น (C)
- ท้องคลื่น คือ ตำแหน่งต่ำสุดของคลื่น (R)
- แอมพลิจูด คือ ระยะจัดสูงสุดของคลื่นวัดจากตำแหน่งสมดุล
- คาบ (period) คือ ช่วงเวลาในการสั่น 1 รอบของอนุภาค มีหน่วยเป็นวินาที
- ความถี่ (frequency) คือ จำนวนรอบที่อนุภาคสั่นใน 1 วินาที มีหน่วยเป็นรอบต่อวินาที หรือเฮิร์ตซ์ (hertz, Hz) โดยที่คาบและความถี่มีความสัมพันธ์ดังนี้

$$f = \frac{1}{T} \quad \text{หรือ} \quad T = \frac{1}{f}$$

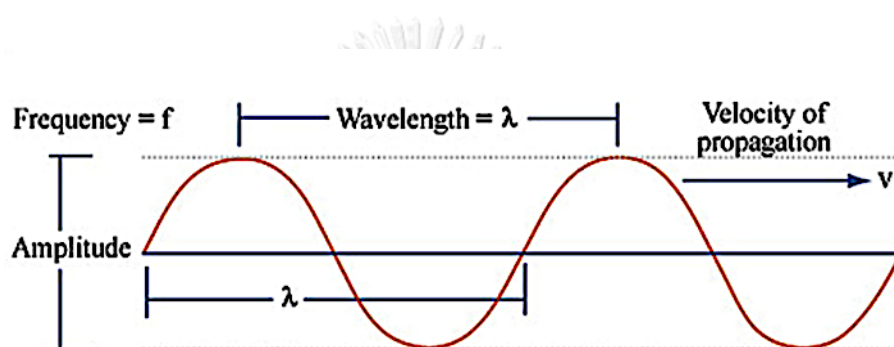
- ความยาวคลื่น (wavelength) คือ ระยะทางที่คลื่นไปได้ในเวลาของ 1 คาบ แทนด้วยแลมบ์ดา (λ) บางทีความยาวคลื่นคือระยะจากระหว่างจุด 2 จุดที่อยู่ติดกันซึ่งมีลักษณะเหมือนกัน
- อัตราเร็วคลื่นหรืออัตราเร็วเฟส คือ ระยะทางที่คลื่นเคลื่อนที่ได้ 1 ความยาวคลื่น ในเวลา 1 คาบ มีหน่วยเป็นเมตรต่อวินาที (m/s) โดย

$$v = \frac{s}{t} = \frac{\lambda}{T} = \lambda f$$



รูปที่ 19 คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound)

ที่มา: Ojha และคณะ (2017)



รูปที่ 20 องค์ประกอบของคลื่นอัลตราโซนิก

ที่มา: ฐานข้อมูลออนไลน์ สืบค้นเมื่อ 9 สิงหาคม 2563, จาก

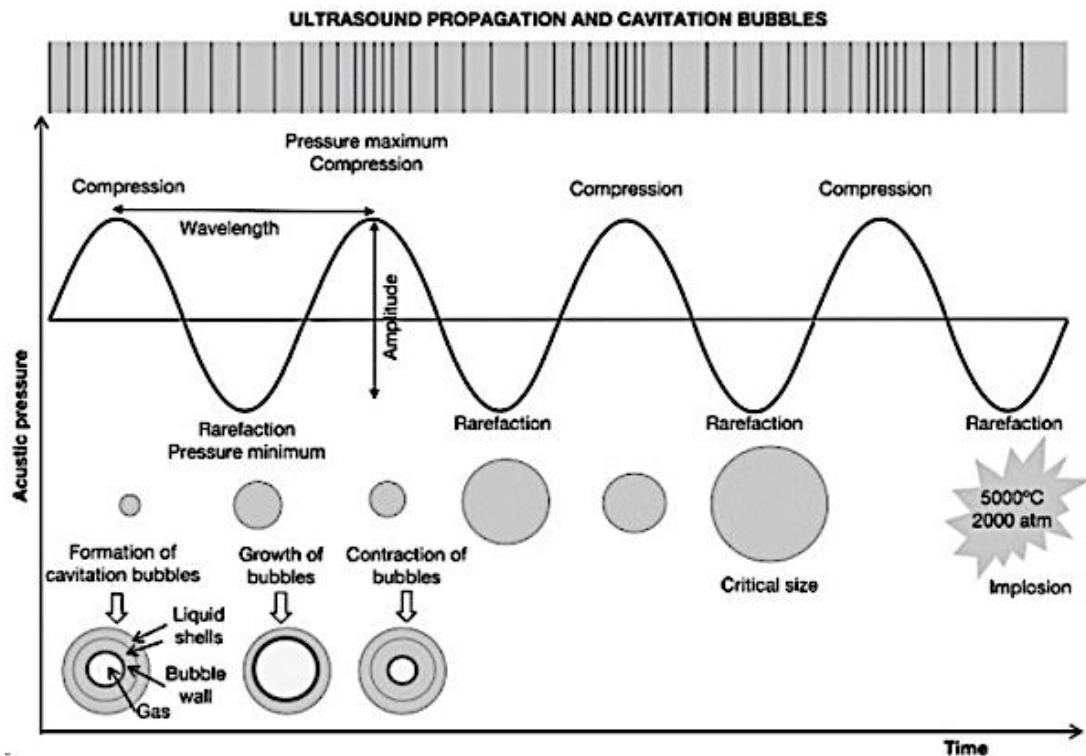
<http://www.tamingthesru.com/physics>.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.3.2 ปรากฏการณ์คาวิเทชัน

คาวิเทชัน คือ การเกิดโพรงอากาศในของเหลวโดยจะเกิดขึ้นเมื่อแรงดันในของเหลวที่อุณหภูมิกำลังลดลงต่ำกว่าจุดแรงดันไอ น้ำอัมมัตว (จุดเดือด) ซึ่งการเกิดคาวิเทชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ คาวิเทชันแบบถาวร (stable cavitation) และคาวิเทชันแบบชั่วคราว (transient cavitation)



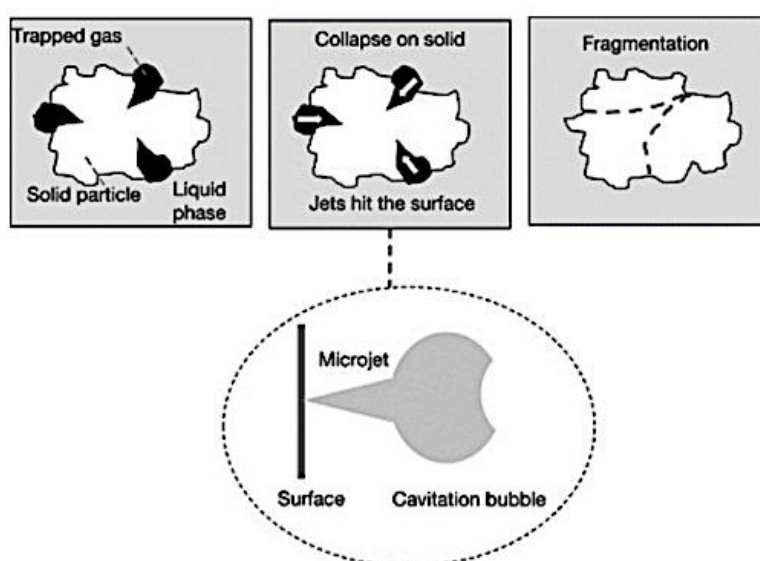
รูปที่ 21 การเกิดคาวิตชัน

ที่มา: Bendicho และ Lavilla (2018)

โดยคาวิตชันแบบถาวรจะเกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศได้รับคลื่นอัลตราโซนิกเป็นจำนวนหลายรอบของการสั่นแต่ไม่เกิดการแตกของฟองอากาศ และฟองอากาศอาจจะเพิ่มขนาดขึ้นจนถึง ขนาดเรโซแนนซ์โดยมีความถี่ธรรมชาติเท่ากันกับความถี่ในการสั่นแบบบังคับ และแตกออก ส่วนคาวิตชันแบบชั่วคราวนั้นเกิดจากฟองแก๊สเกิดการสั่นและขยายขนาดเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ใน ระยะเวลาหนึ่ง ก่อนที่จะแตกออกอย่างรวดเร็วเมื่อถึงขนาดหนึ่ง โดยการเกิดคาวิตชัน ดังแสดงในรูปที่ 21 (Vardanega และคณะ, 2014)

การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดจะเกี่ยวข้องกับการเกิดคาวิตชัน โดยเกิดจากอัลตราโซนิกทรานสดิวเซอร์จะแปลงพลังงานไฟฟ้าที่ได้จากแหล่งกำเนิด (power generator) มาเป็นพลังงานทางกลโดยการสั่นสะเทือนซึ่งทำให้เกิดคลื่นในช่วงอัลตราโซนิกกระจายไปในตัวทำละลาย และเกิดเป็นคลื่นและฟองอากาศ เมื่อคลื่นอัลตราโซนิกเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายจะเกิด การถ่ายทอดพลังงานอย่างต่อเนื่องทำให้ความดันมีการเปลี่ยนแปลงคือ เมื่อความดันลดลงจะเกิดเป็น ช่วงขยาย (rarefaction) ส่งผลให้ตัวทำละลายแตกตัวและเกิดฟองอากาศขึ้น ต่อมาเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านไป ความดันจะเพิ่มขึ้นเกิด

เป็นช่วงอัด (compression) ทำให้ฟองอากาศหดตัวลงและมีขนาดไม่แน่นอน เมื่อคลื่นในสารละลายมีความถี่เท่ากับความถี่เรโซแนนซ์ที่ฟองอากาศจะเกิดการแตกตัวในลักษณะที่พุ่งออกมาเป็นลำแคบ มีขนาดหนึ่งในสิบของขนาดฟอง เรียกว่าเซนทรัลเจท (central jet) ผ่านผิวของตัวอย่างด้วยความดัน อุณหภูมิและความเร็วที่สูง ทำให้เกิดพลังงานสูงในบริเวณจุดที่เกิด คลื่นกระแทก (shock waves) ส่งผลให้น้ำเยื่อฉีกขาดและสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดใน ตัวอย่างออกมาได้ (mass transfer) (Vardanega และคณะ, 2014) (รูปที่ 22)



รูปที่ 22 การเกิดควิเตชันและชะสสารภายในเนื้อเยื่อจากการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยสกัด
ที่มา: Bendicho และ Lavilla (2018)

2.3.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยเป็นสิ่งสำคัญต่อการสกัด เนื่องจากจะส่งผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพสูงขึ้น นอกจากนี้ยังรวมถึงความเหมาะสมของระดับปัจจัยต่าง ๆ ด้วย โดยขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและสมบัติทางเคมีของสารที่ต้องการสกัด

2.3.3.1 ชนิดของตัวทำละลาย

การสกัดนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกัน โดยอาจสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มี ขั้วต่ำไปยังขั้วสูง ตัวถูกละลายจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้เมื่อความเป็นขั้วของตัวทำละลาย กับตัวถูกละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (like dissolve like) ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วไม่เท่ากันจึงมีความสามารถในการละลายสารชนิดเดียวกันได้ไม่เท่ากัน ประสิทธิภาพของสารสกัดขึ้นอยู่กับ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่าง แสดงดังตารางที่ 6 โดยน้ำ จะมีสภาพขั้วสูงสุด ซึ่งตัวทำละลายแต่ละชนิดควรมีสมบัติในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป ไม่ติดไฟง่าย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด และไม่เป็นพิษต่อ ร่างกาย เช่น เฮกเซน เป็นตัวทำละลายที่มีราคาถูกเหมาะสมสำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับการกำจัดไขมันการสกัดสารจากส่วนต่าง ของพืชโดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร (ประเสริฐ, 2528; Ramamoorthy และ Bono, 2007)

การสกัดสารประกอบฟีนอลิก ชนิดของตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด และฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากตัว ทำละลายแต่ละชนิดมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน จากการศึกษาที่ผ่านมาการสกัดสารประกอบฟีนอลิก นิยมใช้เมทานอล เอทานอล เอทิลอะซิเตต เฮกเซน อะซิโตน น้ำ และสารละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายดังกล่าว โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ เมทานอล เอทานอล และสารละลายที่ผสมกัน ระหว่างเมทานอลกับน้ำ และเอทานอลกับน้ำ เนื่องจากสภาพขั้วที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถสกัดองค์ประกอบทางเคมีได้แตกต่างกัน โดย (อรชร และ กาญจนา, 2558) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay และวิธี aluminium chloride colorimetric assay ตามลำดับ และพบว่าระบบ 60% water/EtOH สามารถสกัดสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสุด (510.5±001 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่างสารสกัดหยาบ และ 21.36 มิลลิกรัม เควอซิทรินต่อ 1 กรัม ของตัวอย่างสารสกัดหยาบตามลำดับ) และจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH พบว่าการสกัดด้วยละลาย 60% น้ำต่อเอทานอล ส่งให้ให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สูงสุดโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.84±0.05 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่าง

ตารางที่ 6 ความมีขี้ของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ความมีขี้	ตัวทำละลาย
<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="margin-bottom: 10px;">มีขี้</div> <div style="margin-bottom: 10px;">↓</div> <div>ไม่มีขี้</div> </div>	water
	methanol
	ethanol
	acetone
	ethyl acetate
	ethyl ether
	chloroform
	dichloromethane
	benzene
	toluene
	ethylene trichloride
	carbon tetrachloride
	cyclohexane

ที่มา: ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ (2528)

ชลธิรา และคณะ (2558) ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกและเมล็ดองุ่นที่เป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตไวน์และน้ำองุ่น โดยสกัดเปลือกและเมล็ดองุ่นด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ (pH 3) เอทานอล และอะซิโตน แล้ววิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกด้วยน้ำ (pH 3) และการสกัดเมล็ดองุ่นด้วยเอทานอลให้ปริมาณผลได้ (yields) สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 10.032 ± 0.104 และ 9.765 ± 0.144 w/w ตามลำดับ และการสกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด โดยสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 34.2 ± 0.01 และ 32.16 ± 0.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดองุ่น

พบว่าสารสกัดจากเมล็ดด้วยเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเปลือก โดยค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กับ IC_{50} และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นอกจากนี้ จันทนา (2559) ศึกษาการสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* L.) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ เมทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน และพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือ มีปริมาณ 83.17 ± 0.03 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง รองลงมาเป็นสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตโดย (57.40 ± 0.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง) และสารสกัดด้วยเฮกเซน (21.94 ± 0.06 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH สูงสุด รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และสารสกัดด้วยเฮกเซน ตามลำดับ สารสกัดจากเมทานอลมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อาจเป็นเพราะสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบมีสมบัติมีขั้วจึงละลายได้ดีในเมทานอล ดังนั้นการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญในการสกัดสารแต่ละชนิด

2.3.3.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญในการพิจารณาถึงการเพิ่มความหนาแน่นของการเกิดและหายไปของฟองอากาศในตัวกลางและสามารถส่งผลต่อการเกิดคาวิตีชัน โดย Ghafoor และคณะ (2009) ได้ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera*) ในช่วงอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและจะมีปริมาณมากที่สุดที่อุณหภูมิสูงสุดของการศึกษา นอกจากนี้ Corbin และคณะ (2015) ได้ศึกษาการสกัด lignin (secoisolariciresinol diglucoside, SDG) flavonol (herbacetin diglucoside, HDG) และ hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric, caffeic และ ferulic acid glucosides) ในช่วง อุณหภูมิ 25-60 องศาเซลเซียส จากเมล็ดแฟลกซ์ (*Linum usitatissimum* L.) และพบว่า ปริมาณ lignin (secoisolariciresinol diglucoside, SDG) และ

flavonol (herbacetin diglucoside, HDG) จะลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณ hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric, caffeic และ ferulic acid glucosides) จะมากที่สุดที่อุณหภูมิปานกลางของการศึกษาคือ 40 องศาเซลเซียส จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าปริมาณ yield ที่เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เกิดจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นสามารถลดความหนืด (viscosity) เพิ่มการละลาย (solubility) อัตราการแพร่ (diffusion rate) และความดันไอ (vapor pressure) ทำให้การเกิดควิเตชันดีขึ้นส่งผลให้มีปริมาณผลได้สูงขึ้นและอาจจะลดลงเมื่อถึงอุณหภูมิหนึ่งเนื่องจากการทนต่อความร้อนลดลงประกอบกับสารที่ต้องการสกัดเริ่มหมดหรือเปลี่ยนแปลงสภาพไป (denature) ดังนั้นปริมาณผลได้ที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดได้ทั้งในกรณีที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นหรือลดลง โดยขึ้นอยู่กับสมบัติทางเคมีของสารนั้น

2.3.3.3 เวลา

เวลาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการสกัดเนื่องจากเป็นปัจจัยที่ทำให้ตัวทำละลายมีโอกาสสัมผัสกับตัวถูกละลาย ซึ่งมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของเวลาต่อการสกัดมากมาย (รัตนา และคณะ, 2559) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ และพบว่า ที่อัตราส่วนระหว่างเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดย น้ำหนักเท่ากับ 1:1) เท่ากับ 1:25 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงนำภาวะดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาเวลาในการสกัด (5, 15, 30 และ 60 นาที) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาในการสกัดนานขึ้น (มากกว่า 15 นาที) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีปริมาณลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ (Ghafoor และคณะ, 2009) ที่ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera*) ในช่วงเวลา 20-30 นาที และวิเคราะห์ผลโดย RSM จากการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นของเวลาจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยจะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดที่เวลาหนึ่ง และจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้นพบว่าในระยะเวลาช่วงแรกของการสกัดเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของเวลา จะเพิ่มโอกาส

ให้ตัวทำละลายได้สัมผัสกับตัวถูกละลายมากขึ้น แต่เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งการสกัด จะเริ่มเข้าสู่สมดุลหรืออาจจะเกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากได้รับปริมาณความร้อนเพิ่มขึ้น

2.3.4 ประโยชน์ของการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วย

การสกัดแบบดั้งเดิมเป็นวิธีที่ง่ายแต่สิ้นเปลืองตัวทำละลายและเวลา ทำให้มีการพัฒนาวิธีการสกัดขึ้นมาอย่างต่อเนื่อง โดยทางเลือกหนึ่งคือการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดซึ่งเป็นการ สกัดโดยไม่ใช้ความร้อน ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น จึงมีประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer) เพิ่มขึ้นเนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิคสามารถทำลายพื้นผิวบริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์ทำให้สารที่ต้องการสกัดสามารถถูกชะออกมาได้ง่ายขึ้น ตัวอย่างการสกัดด้วยวิธีนี้ เช่น การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด ใบ และราก เป็นต้น โดยการสกัดด้วยเทคนิคนี้มีข้อดีคือ เพิ่มปริมาณผลผลิตที่ได้ (yields) ลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ลดการใช้อุณหภูมิและเวลาในการสกัด และสารสกัดที่ได้มีคุณภาพสูง (Vardanega และคณะ, 2014)

2.4 การทำแห้งแบบพ่นฝอย

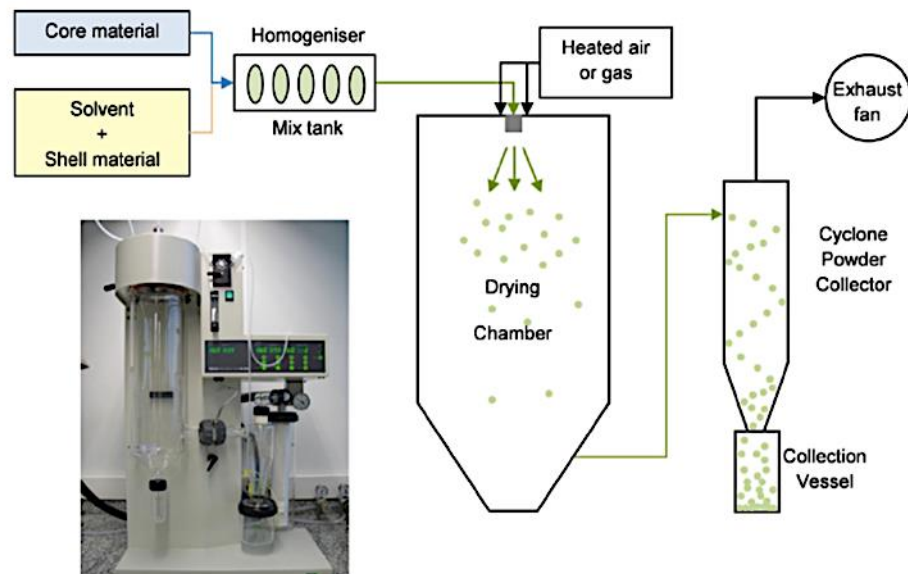
ผัก ผลไม้ และสมุนไพร เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่อุดมด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย แต่อย่างไรก็ตามอายุการเก็บของผลิตผลทางการเกษตรเหล่านี้มักจะสั้นเนื่องจากมีองค์ประกอบของน้ำที่สูง ดังนั้นการลดปริมาณน้ำในตัวอย่าง เช่น การทำแห้ง จึงเป็นวิธีที่สามารถยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้ การทำแห้งแบบพ่นฝอยมีประโยชน์หลายด้าน เช่น สะดวกในการขนส่ง การบรรจุ และชะลอการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้นานหลายเดือน (Walkling-Ribeiro และคณะ, 2009)

วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีหลายวิธี แต่วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีที่คุ้มทุนที่สุดสำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอยผลิตผลทางการเกษตรเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ โดยการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยสามารถรักษาคุณภาพของตัวอย่างได้อย่างดีเพราะใช้เวลาในการทำให้แห้งน้อย หลักการของการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยคือการเพิ่มพื้นที่ผิวของตัวอย่างโดยการพ่นฝอยด้วย atomizer เมื่อได้ละอองพ่นฝอยละอองจะสัมผัสกับอากาศร้อนที่พ่นจาก chamber ส่งผลให้ได้ผงตัวอย่างที่แห้งและมีขนาดเล็ก (Fazaeli และคณะ, 2012) โดยทั่วไปคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะขึ้นอยู่กับภาวะในการทำให้แห้ง

ซึ่งรวมถึงกระบวนการทำแห้ง ความเข้มข้นของตัวอย่าง (feed) อุณหภูมิอากาศเข้าและออก (inlet-outlet air temperature) อัตราเร็วของอากาศร้อน (drying air flow rate) ชนิดและความเร็วของ atomizer เป็นต้น (Kha และคณะ, 2010)

2.4.1 หลักการทำแห้งแบบพ่นฝอย

การทำแห้งแบบพ่นฝอยประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1. ขั้นตอนพ่นฝอยตัวอย่าง 2. ขั้นตอนทำแห้งละอองตัวอย่าง และ 3. ขั้นตอนเก็บตัวอย่างผงแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 23 โดยระหว่างการพ่นฝอย ตัวอย่างเหลวจะผ่าน atomizer ไปยังตุ้มลมร้อนที่มีอากาศร้อนไหลเวียนอยู่ เมื่อตัวอย่างเหลวที่มีความชื้นสูงสัมผัสกับความร้อนจะเกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนส่งผลให้ตัวอย่างเหลวแห้งเป็นผงละเอียดและตกลงไปยังถังเก็บตัวอย่าง



รูปที่ 23 การทำแห้งแบบพ่นฝอย

ที่มา: María และคณะ (2012)

การทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามที่ต้องการนั้น ต้องมีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ในกระบวนการผลิต เช่น ความเข้มข้นของตัวอย่าง

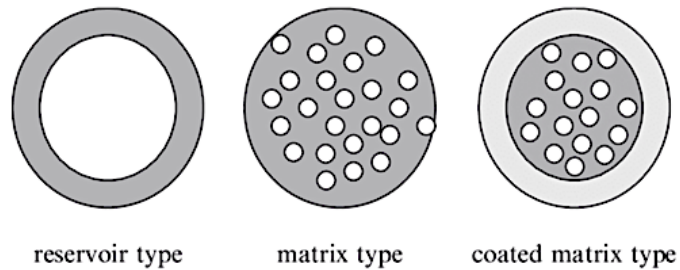
อัตราเร็วของตัวอย่าง อุณหภูมิอากาศเข้าและออก (inlet-outlet air temperature) และการกระจายตัวของอนุภาค เป็นต้น ความเข้มข้นของตัวอย่าง หมายถึง สัดส่วนของอนุภาคของแข็งในสารละลาย โดยมีการรายงานว่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่สูงนั้นส่งผลให้ละอองฝอยมีตัวทำละลายน้อย ซึ่งทำให้เวลาในการระเหยลดลง และได้อนุภาคที่มีรูพรุนและความหนาแน่นต่ำ (Tomasko และ Timko, 1999)

ในขณะที่อัตราการไหลของตัวอย่างนิยมรายงานเป็นมวลของตัวอย่างผงที่ผ่านการเคลื่อนที่ต่อหน่วยเวลา ซึ่งใช้ในการควบคุมปริมาณสารละลายและปริมาณของแข็งที่ผ่านเข้าสู่ตู้ลมร้อน ดังนั้นสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น อัตราการระเหยของสารละลาย ขนาดอนุภาค และความหนาแน่น สามารถถูกกำหนดได้โดยการปรับอัตราการไหลของตัวอย่าง โดยพบว่าอัตราการไหลของตัวอย่างที่สูงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้นเพิ่มขึ้น และการลดอัตราการไหลของตัวอย่างส่งผลให้ผลได้มีค่าเพิ่มขึ้น (Tonon และคณะ, 2009) นอกจากนี้อุณหภูมิอากาศเข้าของลมร้อนยังส่งผลโดยตรงกับการแลกเปลี่ยนมวลสารและการแลกเปลี่ยนความร้อนระหว่างกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยมีการรายงานว่า การเพิ่มอุณหภูมิอากาศเข้าของลมร้อนส่งผลต่อการเกิดอนุภาคเนื่องจากอัตราเร็วของการระเหยตัวทำละลายที่สูง และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของความดันภายในและภายนอกของละอองฝอย ซึ่งทำให้ลักษณะทางสัญญาณวิทยาของผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีลักษณะผิวหยาบ และพบว่าอุณหภูมิอากาศเข้าของลมร้อนที่สูงส่งผลให้เกิดชั้นแข็งบนผิวชั้นนอกของละอองฝอยซึ่งกักเก็บไอของตัวทำละลาย (Singh และ Mooter, 2016)

2.5 เอนแคปซูลชัน

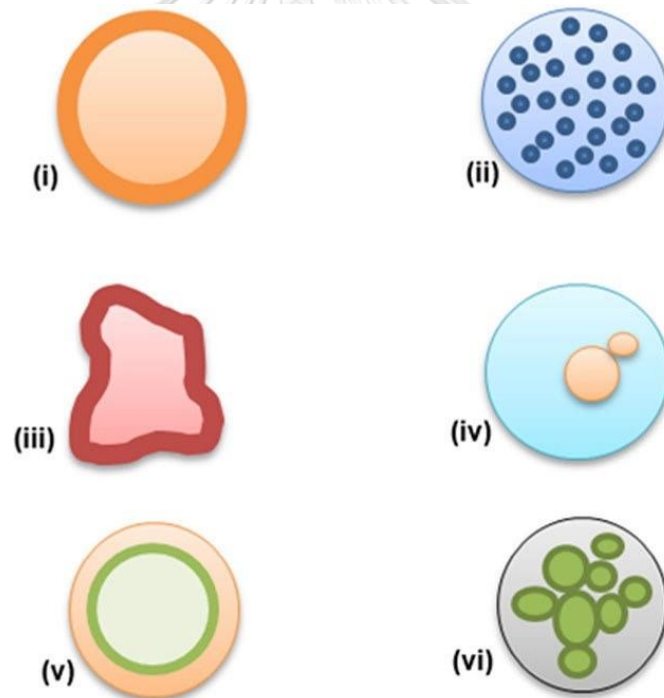
เอนแคปซูลชัน (encapsulation) เป็นกระบวนการที่กักเก็บสาร (สารสำคัญ) ในชั้นห่อหุ้ม (wall material) ที่มีอนุภาคขนาดนาโนเมตร (nanoencapsulation) ไมโครเมตร (micro-encapsulation) หรือมิลลิเมตร (Burgain และคณะ, 2011) สารที่อยู่ภายในชั้นห่อหุ้มสามารถเรียกได้หลายอย่าง เช่น core, fill, active, internal หรือ payload phase ในขณะที่ชั้นที่ห่อหุ้มสารสำคัญสามารถเรียก coating, membrane, shell, capsule, carrier material, external phase, หรือ matrix (Fang และ Bhandari, 2010) เทคโนโลยีเอนแคปซูลชันถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อใช้ส่วนผสมที่เป็นของแข็งหรือของเหลวเป็นชั้นป้องกันสารสำคัญต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก

เช่น อากาศ ออกซิเจน แสง เป็นต้น (Desai และ Park, 2005) เอนแคปซูเลตมีหลายชนิด เช่น reservoir, matrix และ coated matrix ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างตามรูปที่ 24 และ 25



รูปที่ 24 โครงสร้างเอนแคปซูเลชันแคปซูล

ที่มา: Zuidam และ Shimoni (2010)

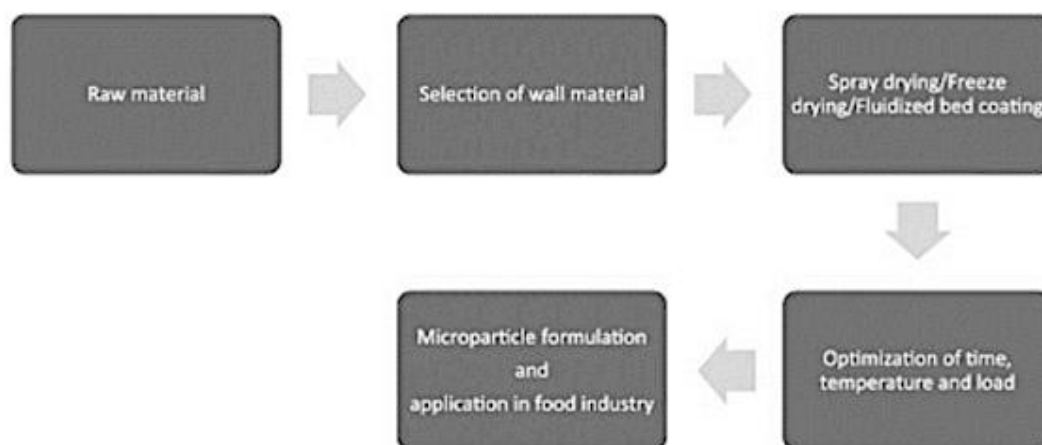


รูปที่ 25 ไมโครแคปซูลชนิดต่าง ๆ (i) simple microcapsule, (ii) matrix (microsphere), (iii) irregular microcapsule, (iv) multicore microcapsule, (v) multiwall microcapsule และ (vi) assembly of microcapsule

ที่มา: Bakry และคณะ (2015)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่จะสูญเสียสมบัติหรือฤทธิ์ชีวภาพเมื่ออยู่ในสภาวะไม่เหมาะสม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความแตกต่างกันในด้านน้ำหนักโมเลกุล ความมีขั้ว (polarity) และการละลายน้ำ (solubility) ดังนั้นการเอนแคปซูลจึงช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสารเหล่านี้ เทคโนโลยีเอนแคปซูลสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด รวมทั้งอุตสาหกรรมเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ และอุตสาหกรรมสิ่งทอ แต่การประยุกต์ใช้เทคนิคเอนแคปซูลในอุตสาหกรรมอาหารเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น โดยสามารถใช้เทคนิคเอนแคปซูลเพื่อห่อหุ้มสารสี (colorant) กลิ่นรส (flavor) วิตามิน และส่วนประกอบอื่นของอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา (Shahidi และ Han, 1993)

อุตสาหกรรมอาหารเลือกใช้เทคนิคเอนแคปซูลในกระบวนการผลิตอาหารเนื่องจากเอนแคปซูลสามารถป้องกันสารสำคัญจากการสูญเสียจากการทำปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมภายนอก อัตราการระเหยของสารสำคัญลดลง สามารถปกปิดกลิ่นรสของสารสำคัญ สารสำคัญสามารถถูกทำให้เจือจางความเข้มข้นลง สามารถออกแบบให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญในภาวะหรือเวลาที่เหมาะสม ปัจจุบันมีเทคนิคการทำเอนแคปซูลมากมาย หลายเทคนิคได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อให้สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสำหรับการเอนแคปซูลสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ แต่ไม่ใช่ทุกวิธีที่สามารถประยุกต์ใช้ได้จริง เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแต่ละชนิดมีลักษณะสมบัติและโครงสร้างที่แตกต่างกัน (Augustin และ Hemar, 2009)



รูปที่ 26 ขั้นตอนการทำเอนแคปซูลด้วยการทำแห้ง

ที่มา: Ray และคณะ (2016)

โดยทั่วไปเอนแคปซูลเลตมักจะอยู่ในรูปของของเหลว ดังนั้นเทคนิคต่าง ๆ จึงเน้นที่การทำแห้ง เช่น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เป็นต้น (Zuidam และ Heinrich, 2010) รูปที่ 26 แสดงถึงขั้นตอนพื้นฐานในการทำเอนแคปซูลเลชันด้วยการทำแห้ง โดยเริ่มจากการเลือกสารห่อหุ้มที่เหมาะสม จากนั้นทำเอนแคปซูลเลชันด้วยการทำแห้ง ซึ่งต้องควบคุมอุณหภูมิ เวลา และปริมาณให้เหมาะสม หลังจากการทำแห้งจะได้ไมโครแคปซูลที่สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้

2.6 สารเคลือบ

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นกระบวนการทำเอนแคปซูลเลชันที่นิยมในอุตสาหกรรมอาหาร เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ง่าย เป็นระบบต่อเนื่อง แต่ต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่น การเอนแคปซูลเลชันโดยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญในรูปแบบผง ซึ่งมีข้อดีหลายประการ เช่น สมบัติการปกป้องที่ดี เสถียรภาพที่ดี สมบัติการละลายน้ำที่ดี และสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญได้ (Zuidam และ Heinrich, 2010) สารที่ใช้เป็นชั้นห่อหุ้ม (encapsulating agent) มีหลายประเภท รวมทั้ง คาร์โบไฮเดรต (แป้ง มอลโตเดกซ์ทริน และ กัมอารบิก) โปรตีน (เจลาติน เคซีน และโปรตีนถั่วเหลือง) และไขมัน (กรดสเตียริก และกลีเซอไรด์) (Saenz และคณะ, 2009) โดยทั่วไปสารห่อหุ้มจะถูกโฮโมจีไนซ์กับสารสำคัญด้วยอัตราส่วน 1:4 จากนั้นนำสารผสมนี้ไปใส่เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย หลังจากกระบวนการเสร็จสิ้นจะได้แคปซูล (Gibbs และคณะ, 1999)

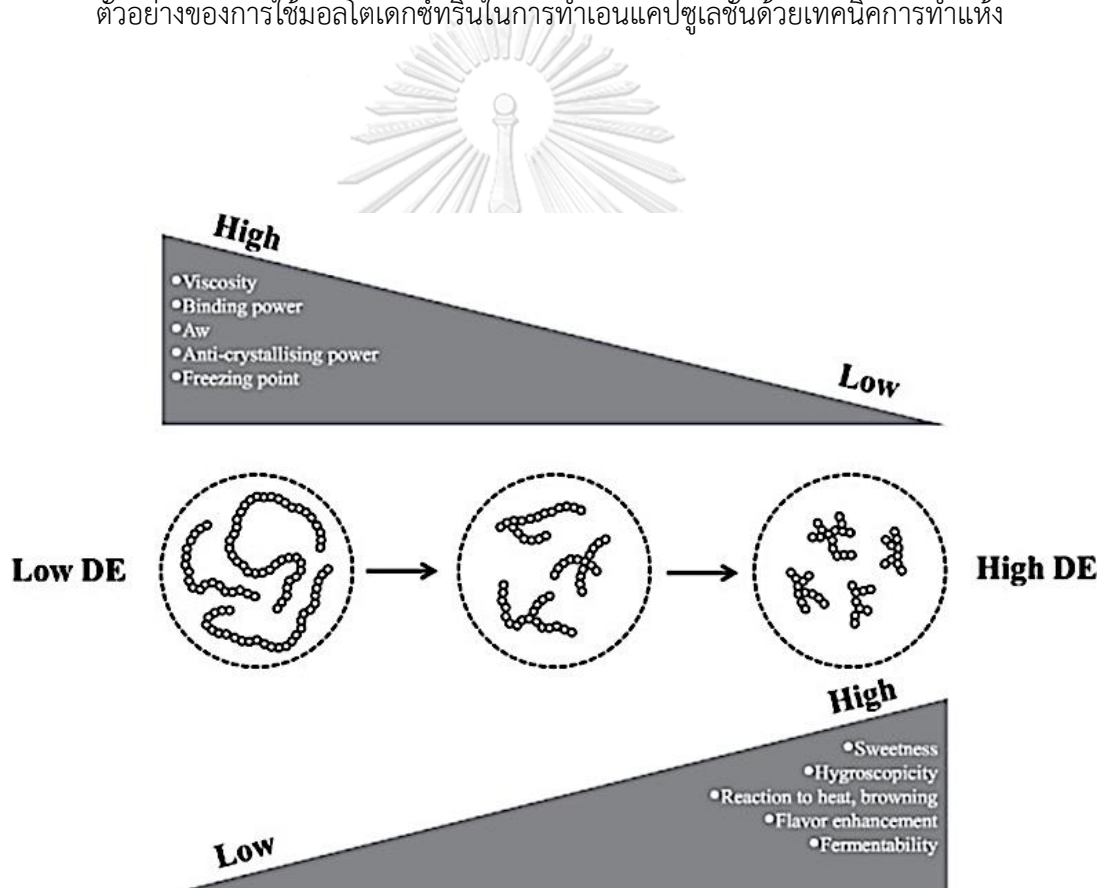
การเลือกสารห่อหุ้มที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่สำคัญในการทำเอนแคปซูลเลชันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารห่อหุ้มจำเป็นต้องเป็นสารที่มีการระบุว่าเป็น GRAS (generally recognized as safe) ที่มีความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค รวมถึงต้องสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) ภายใต้ภาวะแวดล้อมปกติ (Robin และ Sankhla, 2013) เมื่อพิจารณาสมบัติเชิงหน้าที่ของสารห่อหุ้ม สารห่อหุ้มต้องมีสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี มีความหนืดต่ำที่อุณหภูมิสูง มีสมบัติการละลายที่ดี และสามารถสร้างโครงร่างได้ดี นอกจากนี้สารห่อหุ้มควรมีสมบัติที่จะรักษาสารสำคัญภายใต้ภาวะต่าง ๆ ระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บเพื่อป้องกันหรือลดโอกาสการเกิดปฏิกิริยาของสารสำคัญกับสิ่งแวดล้อมภายนอก และสารห่อหุ้มควรทนต่อภาวะต่าง ๆ ในลำไส้ของคน เช่น ทดภาวะความเป็นกรดสูง และทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้ สารห่อหุ้มควรมีความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญในบริเวณเป้าหมาย โดยเฉพาะระบบทางเดินอาหาร (Jain และคณะ, 2016) แต่อย่างไรก็ตามราคาของสารห่อหุ้มถือเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งในการเลือกใช้สำหรับการเอนแคปซูลเลชันในอุตสาหกรรมอาหาร

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นพอลิเมอร์คาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์หลายตัวต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก และพบมากในพืช สัตว์ สาหร่าย และจุลินทรีย์ ความแตกต่างทางโครงสร้างทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ส่งผลให้พอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติเชิงโมเลกุลที่แตกต่างกัน เช่น สมบัติการละลายน้ำ ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ความสามารถในการถูกย่อย และความสามารถในการกักเก็บน้ำ เป็นต้น (Fathi, Martin และ McClements, 2014) เดกซ์ทรินเป็นแป้งที่ถูกย่อยและมีสมบัติในการละลายน้ำ โดยสามารถแบ่งประเภทของเดกซ์ทรินซ์ตามค่า dextrose equivalent (DE) เดกซ์ทรินซ์ที่มีค่า DE น้อยกว่า 20 ถูกจัดเป็นมอลโตเดกซ์ทริน ในขณะที่ถ้าเดกซ์ทรินซ์ที่มีค่า DE มากกว่า 20 ถูกจัดเป็นน้ำเชื่อมกลูโคส (glucose syrup) หรือน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลข้าวโพด (corn syrup solid) เดกซ์ทรินซ์ที่มีค่า DE เท่ากันอาจมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแป้ง (เช่น ข้าวโพด มันฝรั่ง) และวิธีการถูกย่อย (White และคณะ, 2003) เดกซ์ทรินซ์ที่ถูกผลิตด้วยความร้อนถูกเรียกว่า ไพโรเดกซ์ทรินซ์ (pyrodextrins) และอาจมีสีที่แตกต่างกัน เช่น สีขาว สีเหลือง หรือสีน้ำตาล (British gum) เดกซ์ทรินซ์ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเป็นสารเชื่อม (binder) สารเคลือบ (coating) ในขณะที่เดกซ์ทรินซ์สีเหลืองและสีน้ำตาลมีความสามารถในการละลายที่สูงและสามารถใช้เป็นสารพาหะ (carrier) หรือสารทำให้เจือจาง (diluent) สำหรับสารให้กลิ่นรส เครื่องเทศ และสี นอกจากนี้เดกซ์ทรินซ์สีเหลืองยังนิยมใช้ในการเอนแคปซูเลชันสารให้กลิ่นรสที่ไม่สามารถละลายน้ำได้และน้ำมัน (Alvani และคณะ, 2011)

2.6.1 มอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin)

มอลโตเดกซ์ทรินซ์เป็นเดกซ์ทรินซ์ประเภทหนึ่งที่มีค่า DE น้อยกว่า 20 มีสมบัติการละลายน้ำที่สูงและมีความหนืดต่ำในสารละลาย สามารถลดการติดกัน (sticking) ของของแห้งได้ (Alvani และคณะ, 2011) มอลโตเดกซ์ทรินถูกใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากสมบัติที่หลากหลาย เช่น การเป็นสารให้ปริมาตร (bulking agent) สารเคลือบ (coating) สารเชื่อม (binding) กับสารให้กลิ่นรสและไขมัน สารลดการผ่านของออกซิเจน ซึ่งสามารถป้องกันสารสี สารต้านอนุมูลอิสระ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือการสูญเสียจากความร้อนระหว่างการทำให้แห้งและการเก็บรักษา (Shishir และคณะ, 2016) มอลโตเดกซ์ทรินที่มีค่า DE ต่ำจะมีค่าความหนืด ความสามารถในการเป็นสารเชื่อม ค่า Aw ความสามารถในการป้องกันการเกิดคริสตัล และจุดเยือกแข็งต่ำ และมีความหวาน สมบัติการดูดน้ำ ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาภายใต้ภาวะที่มีความร้อน ความสามารถในการเพิ่มกลิ่นรส และความสามารถในการหมักสูง (รูปที่ 27)

โดยทั่วไปมอลโตเดกซ์ทรินที่มีค่า DE มากกว่าจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่น้อยกว่าและความสามารถในการละลายน้ำมากกว่า แต่มอลโตเดกซ์ทรินที่ความค่า DE มากจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้นมากกว่าเนื่องจากมีกลุ่มที่สามารถจับกับน้ำได้มากกว่า (Tonon และคณะ, 2009) ดังนั้นมอลโตเดกซ์ทรินที่มีค่า DE เท่ากับ 10 นิยมใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลชัน และมอลโตเดกซ์ทรินยังสามารถผสมกับกัม เพกติน แอลจิเนต หรือเวย์โปรตีนเพื่อใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลชันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อเพิ่มสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ลดการซึมผ่านของออกซิเจน เพิ่มเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ (Assadpour และคณะ, 2017) โดยตารางที่ 7 แสดงตัวอย่างของการใช้มอลโตเดกซ์ทรินในการทำเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้ง



รูปที่ 27 สมบัติทางเคมีกายภาพของมอลโตเดกซ์ทรินที่สัมพันธ์กับค่า dextrose equivalent
ที่มา: Hofman และคณะ (2016)

ตารางที่ 7 ตัวอย่างการใช้มอลโตเดกซ์ทรีนในการทำเอนแคปซูลชันด้วยเทคนิคการทำแห้ง

สารห่อหุ้ม	สารสำคัญ	เอกสารอ้างอิง
มอลโตเดกซ์ทรีน	สารสกัดจากแครอท	Ersus และ Yurdagel, 2007
มอลโตเดกซ์ทรีนและกัมอารบิก	โพรไซยานิดิน	Zhang และคณะ, 2007
มอลโตเดกซ์ทรีนและแป้ง	สารสกัดถั่วเหลือง	Georgetti และคณะ, 2008
มอลโตเดกซ์ทรีน DE 20	แอนโทไซยานิดิน	Delgado-Vargas และคณะ, 2000
มอลโตเดกซ์ทรีน	คลาวด์เบอร์รี่	Laine และคณะ, 2008

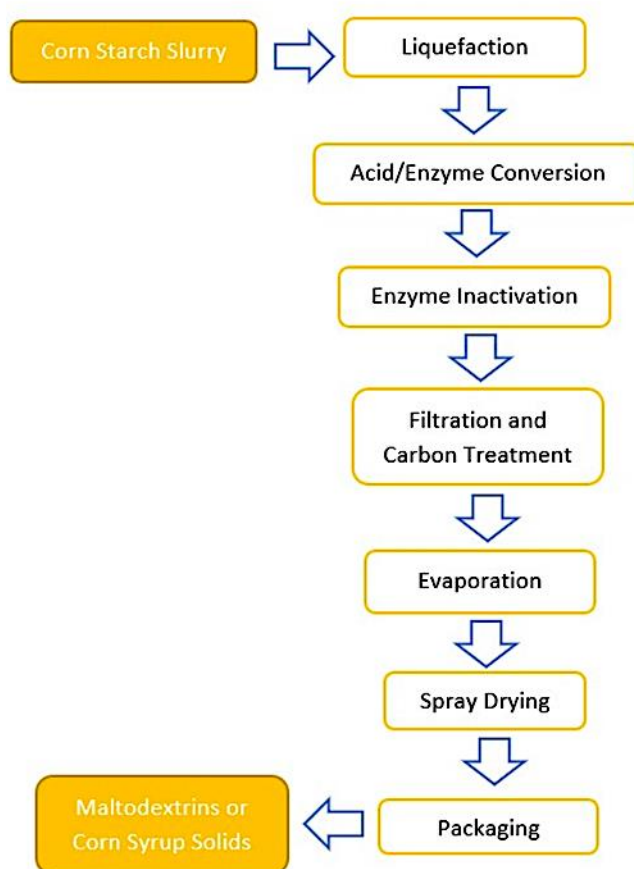
2.6.2 มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย

ใยอาหารถือเป็นสารอาหารที่จำเป็น จากการวิจัยอย่างต่อเนื่องแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ต่อสุขภาพ ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น กรดไขมันที่จำเป็น รวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุ โดยพบว่าใยอาหารนั้นมีความสำคัญเท่าเทียมกันกับสารอาหารที่จำเป็นอื่น ๆ การบริโภคอาหารที่อุดมด้วยใยอาหารสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ และฟื้นฟูการทำงานของระบบลำไส้ให้ทำงานได้อย่างปกติ อีกทั้งยังมีงานวิจัยที่แสดงความสัมพันธ์ของการบริโภคอาหารที่อุดมด้วยใยอาหารมีส่วนช่วยลดโอกาสความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Hashizume และ Okuma, 2009)

แม้ว่าในปัจจุบันผู้บริโภคต่างตระหนักถึงความสำคัญในประโยชน์ของการบริโภคใยอาหารมากขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของผู้ที่บริโภคใยอาหารในชีวิตประจำวันนั้นกลับมีปริมาณลดลง พฤติกรรมการบริโภคที่เปลี่ยนไปของผู้บริโภค โดยเลือกบริโภคอาหารแปรรูปหรืออาหารสำเร็จรูปบรรจุกล่องพร้อมรับประทาน โดยอาหารเหล่านี้มักจะมีปริมาณของใยอาหารน้อยกว่าที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณการบริโภคใยอาหารเพื่อให้สัดส่วนของปริมาณใยอาหารที่บริโภคเพียงพอต่อปริมาณที่แนะนำ การเพิ่มใยอาหารลงไปในการแปรรูปต่าง ๆ จึงเป็นวิธีที่แนะนำ

มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย ถูกคิดค้นโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น และผลิตภายใต้บริษัท Matsutani Chemical Industry โดยมอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อยนี้มีคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกันกับใยอาหาร คือ 1) ฟื้นฟูการทำงานของระบบลำไส้ให้ทำงานได้อย่างปกติ 2) รักษาระดับน้ำตาลในเลือด 3) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (รูปที่ 28) ประกอบไปด้วยกระบวนการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) และทรานสกลูโคซิเดชัน (transglucosidation) ของแป้ง โดยเรียกทั้งหมดนี้ว่ากระบวนการเดกซ์ทรีนไนเซชัน (dextrinization) เป็นการลดขนาดหรือ

การเปลี่ยนการจับเกาะ (depolymerization หรือ transglycosylation) โดยใช้ความร้อนหรือความร้อนกับกรด จากการนำแป้ง (ข้าวโพด และมันสำปะหลัง เป็นต้น) มาผ่านการให้ความร้อนที่ 140-160 องศาเซลเซียส ร่วมด้วยกับการเติมกรดเล็กน้อย จากนั้นส่วนของเดกซ์ทรินจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ก่อนที่จะถูกกรองด้วย activated carbon และ ion-exchange resin จากนั้นเดกซ์ทรินที่ไม่ถูกย่อยจะถูกทำให้เข้มข้นและถูกทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry) จนกระทั่งได้มอลโตเดกซ์ทรินที่มีคุณสมบัติทนความร้อน ทนกรด และการย่อยของเอนไซม์

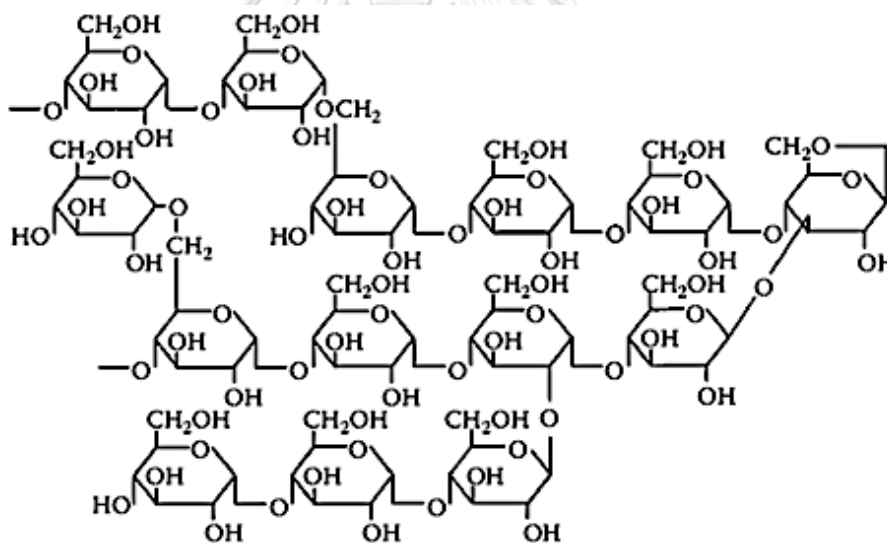


รูปที่ 28 กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย
ที่มา: Hashizume และ Okuma (2009)

มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย ประกอบด้วยส่วนของแซคคาไรด์ที่มีค่า degree of polymerization (DP) ระหว่าง 1-9 และพอลิแซคคาไรด์ที่มีค่า DP ที่ 10 หรือมากกว่า โดยพบว่าในมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยมีสัดส่วนของพอลิแซคคาไรด์มีมากกว่าแซคคาไรด์ ในปี 1990 มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยถูกจัดอยู่ใน GRAS

(generally recognized as safe / GRAS; 21 CFR 184.1444) โดยองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration, FDA) ว่าสามารถใช้เติมลงในอาหารได้อย่างปลอดภัย

โครงสร้างโมเลกุลและพันธะไกลโคไซด์ของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย แสดงดังในภาพที่ 29 โดยโครงสร้างโมเลกุลมีจำนวนของพันธะ 1-6 มากกว่าเมื่อเทียบกับมอลโตเดกซ์ทรินที่ค่า DE เดียวกัน มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยไม่ได้มีเพียงพันธะ 1-4 และ 1-6 ที่พบได้ในแป้ง (starch) แต่ยังประกอบด้วยพันธะ 1-2 และ 1-3 ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเดกซ์ทรินไนเซชัน (dextrinization) จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้นทำให้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยสามารถถูกย่อยและดูดซึมได้เพียง 10% ที่ลำไส้เล็ก และอีก 50% อยู่ภายในลำไส้ใหญ่ ส่วนที่เหลือ 40% จะปนมาออกมากับอุจจาระ ด้วยเหตุนี้มอลโตเดกซ์ทรินชนิดนี้จึงแตกต่างจากมอลโตเดกซ์ทรินทั่วไป และถูกจัดกลุ่มว่าเป็น “digestion-resistant maltodextrin” หรือ “indigestible dextrin”



รูปที่ 29 โครงสร้างทางเคมีของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย

ที่มา: Hashizume และ Okuma (2009)

ลักษณะของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย คือ มีความหนืดต่ำ ไม่มีรสชาติ และไม่มีกลิ่น อีกทั้งยังทนความร้อน ทนกรด ทำให้สามารถใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยกับงานทางด้านอาหารได้เหมือนกับการเติมเกลือหรือน้ำตาล ก่อนหน้าที่จะมีการคิดค้นโยอาหารชนิดนี้ กระบวนการผลิตอาหารโดยทั่วไปมักจะได้แหล่งของโยอาหารจาก

ธัญพืช ผัก ผลไม้ เป็นต้น ในเชิงของการเป็นส่วนผสมในอาหาร มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยสามารถถูกเติมลงไปในการแปรรูปต่างได้เพื่อเป็นการเพิ่มใยอาหารให้กับผลิตภัณฑ์ทางอาหารนั้น ๆ ยิ่งไปกว่านั้นมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยที่มีปริมาณแคลอรีเพียง 1.0 กิโลแคลอรีต่อกรัม อีกทั้งยังมีค่า GI ต่ำ (low-glycemic index) มีค่า dextrose equivalent (D.E.) เท่ากับ 12.0 และเมื่อนำไปใช้ในกระบวนการผลิตอาหารแคลอรีต่ำ (low-calories food) ร่วมกับสารให้ความหวาน เช่น แอสปาแตม ซูคาโลส สตีเวีย หรือ อะซีซิมเฟม-เค เป็นต้น มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยมีส่วนช่วยทำอาหารผลิตภัณฑ์อาหารมีเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นโดยไม่ทำให้รสชาติเปลี่ยนไป (Hashizume และ Okuma, 2009)

มีการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยร่วมกับสารหอมหุ่มชนิดอื่น ๆ ต่อคุณภาพของตัวอย่างสารสกัด *Elsholtzia ciliata* และพบว่าไมโครแคปซูลที่ได้จากการบวกรวมกันแบบพ่นฝอยด้วยมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยมีประสิทธิภาพการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกได้ดีกว่ามอลโตเดกซ์ทรินทั่วไป อย่างไรก็ตามการใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยในสัดส่วนที่มากกว่าร่วมกับสารหอมหุ่มชนิดอื่น ๆ เช่น กัมอารบิก เบต้า-ไซโคเดกซ์ทริน โซเดียมเคซีเนต จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บ ความสามารถในการละลาย ให้ดียิ่งขึ้นมากกว่าการใช้สารหอมหุ่มเพียงชนิดเดียวในการผลิตไมโครแคปซูลด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Pudziuelyte และคณะ, 2019)

นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่ามีมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยมีบทบาทในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (Hashizume และคณะ, 2012) และการประยุกต์ใช้เป็นสารหอมหุ่มสารนารินจีน (naringin) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชที่สำคัญด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Pai และคณะ, 2015) รวมไปถึงการใช้ร่วมกับสารหอมหุ่มอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดสมุนไพร *Elsholtzia ciliata* ที่สกัดด้วยเอทานอล (Pudziuelyte และคณะ, 2019)

2.6.3 กัมอารบิก

นิยามของกัมอารบิก (gum arabic) กำหนดโดย the joint expert committee for food additives (JECFA) คือ ยางไม้จากส่วนของลำต้นและกิ่งของ *Acacia senegal* หรือ *Acacia seyal* ดังแสดงในรูปที่ 30

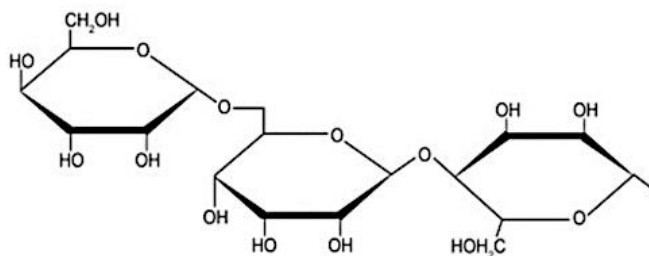


รูปที่ 30 กัมอารบิกจากต้นอะคาเซีย

ที่มา: Sanchez และคณะ, (2018)

ก่อนคริสต์ศักราชสองพันปี เมชาวอียิปต์โบราณใช้กัมอารบิกเป็นกาวเพื่อทอผ้าและใช้สีน้ำที่ได้จากแร่เพื่อทำอักษรอียิปต์โบราณ (Verbeken และคณะ 2003) แต่ในปัจจุบันกัมอารบิกถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และอุตสาหกรรมอื่น ๆ พืชสกุลอะคาเซีย (Acacia) เช่น *Acacia senegal* และ *Acacia seyal* เป็นพืชที่พบมากในทวีปแอฟริกา ในแอฟริกากลางกับแอฟริกาตะวันออก และส่วนตอนกลางของประเทศซูดาน (central of Sudan) ทำให้ประเทศซูดานกลายเป็นประเทศผู้นำในการผลิตและส่งออกกัมอารบิกที่ใหญ่ที่สุดประเทศหนึ่งของตลาดการค้ากัมอารบิกโลก โดยพบว่ายุโรปและอเมริกาเป็นตลาดการค้ากัมอารบิกที่สำคัญที่สุด ในขณะที่ประเทศญี่ปุ่นเป็นตลาดการค้าที่ใหญ่ที่สุดในฝั่งเอเชีย (Lineback และคณะ 1982; Rodge และคณะ 2012)

กัมอารบิกที่ผลิตจาก *Acacia senegal* จัดว่าเป็นกัมอารบิกที่ได้รับความสนใจในตลาดการค้ายางอะคาเซียของโลกมากที่สุด เนื่องจากผลผลิตที่ได้มีส่วนประกอบของแทนนินน้อย ในขณะที่ *Acacia seyal* จะผลิตยางอะคาเซียที่มีคุณภาพต่ำกว่า โครงสร้างของกัมอารบิกเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์โมเลกุลใหญ่และซับซ้อน ประกอบไปด้วยน้ำตาลดีกาแลคโตไพราโนส (D-galactopyranose) เชื่อมกันด้วยพันธะเบต้าไกลโคซิดิก และอนุพันธ์ของน้ำตาลอื่น เช่น แรมโนส (L-rhamnose) แอราบินอฟูราโนส (arabinofuranose) และ กรดกาแลคทูโรนิก (D-galacturonic acid) ดังรูปภาพที่ 31 (BeMiller และ Whistler, 1996) โดยที่กัมอารบิกนิยมใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารด้วยความที่ไม่เป็นพิษ ไม่มีกลิ่นและรส อีกทั้งคุณสมบัติด้านความหนืด ความสามารถในการละลาย และส่งผลให้อิมัลชันคงตัวซึ่งสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย จึงนิยมใช้ในการทำแอนแคปซูลเลชันด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย (Charve และ Reineccius, 2009)



รูปที่ 31 โครงสร้างทางเคมีของกัมอารบิก

ที่มา: Kadajji และ Betageri, (2011)

สมบัติทางเคมีของกัมอารบิกนั้นมีความซับซ้อนของสารโมเลกุลใหญ่ที่ขนาดต่าง ๆ และองค์ประกอบที่ถูกแบ่งแยกเป็นสัดส่วนของคาร์โบไฮเดรต (~97%) และโปรตีน (<3%) โดยที่องค์ประกอบทางเคมีจะแตกต่างกันเล็กน้อยขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิด สภาพอากาศ ฤดูเก็บเกี่ยว อายุต้นไม้ และสถานะของกระบวนการผลิต เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Hassan และคณะ 2005) หลายงานวิจัยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของกัมอารบิกที่ได้จากต้น *Acacia senegal* และ *Acacia seyal* โดยพบว่ากัมอารบิกที่ได้จากทั้งสองแหล่งมีชนิดของกรดอะมิโนเหมือนกัน โดยที่พบองค์ประกอบของโปรตีนมากกว่าใน *Acacia senegal* (2.7%) เมื่อเทียบกับ *Acacia seyal* (1.0%) ดังแสดงในตารางที่ 8

สมบัติทางกายภาพของกัมอารบิกที่ใช้เป็นเครื่องมือชี้วัดคุณภาพ ได้แก่ ความชื้น เถ้า สารระเหย พลังงานภายใน ดังแสดงในตารางที่ 9 โดยหลักเกณฑ์นี้ถูกใช้สำหรับบ่งชี้ตัวอย่างกัมอารบิกตามมาตรฐานของการใช้เป็นสิ่งเจือปนในอาหาร โดยทั่วไปกัมอารบิกประกอบไปด้วยส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำ โดยส่วนที่ชอบน้ำคือส่วนของคาร์โบไฮเดรตและส่วนที่ไม่ชอบน้ำคือส่วนของโปรตีน ซึ่งองค์ประกอบของโปรตีนที่ไม่ชอบน้ำจะทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในการดูดซับบนพื้นผิวของน้ำมัน ในขณะที่องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ชอบน้ำจะยับยั้งการตกตะกอนและการรวมตัวกันของโมเลกุลผ่านไฟฟ้าสถิตและการผลึกกันของอนุภาคในวัตถุเจือปนอาหาร

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางชีวเคมีของกัมอาร์บิกจาก *A. senegal* และ *A. seyal* โดยน้ำหนักแห้ง

องค์ประกอบ (มก./ก.)	<i>A. senegal</i>	<i>A. seyal</i>
น้ำตาล ^a	940.0	950.0
กาแลคโทส (%) ^b	35.8 ± 1.20	36.9 ± 1.05
อะราบิโนส (%) ^b	30.3 ± 2.50	47.6 ± 0.60
แรมโนส (%) ^b	15.5 ± 0.35	3.0 ± 0.30
กรดกลูโคโรนิก (%) ^b	17.4 ± 1.15	6.7 ± 0.40
4-O-Me-glucuronic acid (%) ^b	1.0 ± 0.05	5.8 ± 0.55
โปรตีน	27.0 ± 0.01	10.0 ± 0.04
เกลือแร่	33.0 ± 0.24	40.0 ± 0.07

^aปริมาณน้ำตาลทั้งหมดคำนวณจากน้ำหนักแห้ง

^bองค์ประกอบของน้ำตาลวิเคราะห์ด้วย GC-MS

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 9 ข้อกำหนดสากลของคุณภาพกัมอาร์บิก

คุณสมบัติ	ค่าที่กำหนด
ความชื้น (%)	13-15
เถ้า (%)	2-4
พลังงานภายใน (%)	30-39
สารระเหย (%)	51-65
การหมุนระนาบของแสง (degrees)	(-26)-(-34)
ไนโตรเจน	0.26-0.39
องค์ประกอบของไอออนลบของเถ้าที่อุณหภูมิ 500 (°C)	
ทองแดง (ppm)	52-66
เหล็ก (ppm)	730-2490
แมงกานีส (ppm)	69-117
สังกะสี (ppm)	45-111

ที่มา: Dauqan และ Abdullah, (2013)

ปริมาณความชื้นช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายขององค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตในกัมอาร์บิกที่ชอบน้ำและโปรตีนในกัมอาร์บิกที่ไม่ชอบน้ำ ปริมาณเถ้าถูกใช้เพื่อบ่งชี้ระดับขององค์ประกอบที่ไม่ละลายในกรด แคลเซียม โปแทสเซียม และแมงกานีส (Mocak และคณะ, 1998) ส่วนองค์ประกอบของไอออนลบที่ตกค้างในเถ้าถูกใช้เพื่อบอกปริมาณของโลหะหนักที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของกัมอาร์บิก การวิเคราะห์สารระเหยได้ในตัวอย่างกัมอาร์บิกใช้ระดับของการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันขององค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตในกัมอาร์บิก (อะราบิโนส กาแลคโทส และแรมโนส) ซึ่งแสดงสมบัติของการเป็นสารเชื่อมข้ามทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟายเออร์ และสารให้ความคงตัวในการผลิตน้ำเชื่อมแก้ไอของอุตสาหกรรมยา (Phillips และ Williams, 2001) ในขณะที่ปริมาณพลังงานภายนอกของกัมอาร์บิกแสดงถึงปริมาณพลังงานที่ใช้ในการปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส สำหรับการระบุแหล่งที่มาของน้ำตาลในโครงสร้างของกัมอาร์บิกนั้นสามารถหาได้โดยใช้การหมุนระนาบของแสง (degrees) เข้ามาช่วย สุดท้ายปริมาณไนโตรเจนถูกใช้เพื่อหาจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกัมอาร์บิกที่อยู่ในช่วง 0.26-0.39%

กัมอาร์บิกเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ที่มีสายโซ่พอลิแซคคาไรด์เชื่อมกับสัดส่วนของโปรตีนประมาณ 2% ซึ่งทำให้กัมอาร์บิกมีคุณสมบัติที่ค่อนข้างจะไม่ดูดความชื้นจึงช่วยแก้ปัญหาเรื่องเนื้อสัมผัสที่เหนียวได้ อีกทั้งกัมอาร์บิกยังช่วยในการห่อหุ้มองค์ประกอบที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี เช่น สารประกอบฟีนอลิก วิตามิน แอนโทไซยานินส์ เป็นต้น เนื่องด้วยความสามารถในการเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี มีความหนืดต่ำในสารละลายที่เป็นน้ำ ด้วยคุณสมบัติด้านการดูดความชื้นต่ำและความคงตัวของอิมัลชันในข้างต้น จึงมีงานวิจัยที่ใช้กัมอาร์บิกในการกระบวนการผลิตผงเมล็ดและผงมะขามเพื่อศึกษาสมบัติทางด้านความคงตัวของผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้กัมอาร์บิกเป็นสารห่อหุ้มให้ประสิทธิภาพช่วยลดสมบัติในการดูดความชื้นจากบรรยากาศได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการใช้มอลโตเดกซ์ทรินในกระบวนการผลิตผงอะเซลโรล่าเชอริ (Suhag และคณะ, 2016)

Suhag และคณะ (2016) ศึกษาผลของความเข้มข้นของกัมอาร์บิก และอุณหภูมิผลร้อนขาเข้าระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย ต่อสมบัติทางกายภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้ง พบว่า ร้อยละผลผลิตที่ได้ อุณหภูมิของการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของตัวอย่างที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิผลร้อนขาเข้ามีค่าสูงขึ้น ในขณะที่สมบัติในการดูดความชื้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณวิตามินมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิผลร้อนขาเข้าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของกัมอาร์บิกส่งผลให้ค่า T_g ร้อยละผลผลิตที่ได้ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณวิตามินที่ได้เพิ่มขึ้น กัมอาร์บิกมีสมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี เพราะกัมอาร์บิกประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน (D-glucuronic acid, L-rhamnose, D-galactose และ L-arabinose ในอัตราส่วน 4:2:2:1) (Swenson และคณะ, 1968)

โดยองค์ประกอบของโปรตีนในกัมอารบิกเป็นตัวทำให้กัมอารบิกมีสมบัติ เป็นอิมัลซิฟายเออร์ กัมอารบิกสามารถเกิดโครงสร้างฟิล์มของพื้นผิวได้เช่นเดียวกับโปรตีน และมอลโตเดกซ์ทริน แต่ด้วยคุณสมบัติในเรื่องของความเป็นกรด-เบสที่มีช่วงที่กว้างกว่าในการเกิดอิมัลชัน จึงทำให้กัมอารบิกจึงเป็นตัวเลือกที่ได้รับการยอมรับ สำหรับกระบวนการผลิตอาหารผงกลุ่มที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน (Minemoto และคณะ, 2002)

งานวิจัยของ (Krishnan และคณะ, 2005) ระบุว่ากัมอารบิกมีสมบัติการเป็นสารหล่อลื่น สำหรับการผลิตไมโครแคปซูลของสารสกัดจากกระวาน (cardamom oleoresin) ได้ดีกว่ามอลโตเดกซ์ทรินและแป้งดัดแปร นอกจากนั้นงานวิจัยในปัจจุบันยังพบอีกว่ากัมอารบิกเป็นสารหล่อลื่นที่ดีสำหรับการทำไมโครแคปซูลสารสกัดยี่หระด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry technique) (Kanakdande และคณะ, 2007)

2.7 บรรจุกัญชีในอาหาร

บรรจุกัญชี หมายถึง วัสดุหรือสิ่งที่ใช้ในการรับรองสินค้าเพื่อการจัดการกับสินค้านั้น หรือเพื่อการขนส่งหรือเพื่อการวางขาย (ปูน และ สมพร, 2541) บรรจุกัญชีเป็นทั้งศาสตร์และศิลป์ที่ใช้ในการบรรจุสินค้าในการจำหน่าย เพื่อสนองความต้องการของผู้ซื้อและผู้บริโภคด้วยต้นทุนที่เหมาะสม ดังนั้นจึงต้องใช้ความรู้ทางเทคโนโลยีอาหารเฉพาะทาง เช่น อาหารแห้ง อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ เป็นต้น เพื่อวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาระหว่างอาหารและบรรจุกัญชี พร้อมทั้งศึกษาวิธีการถนอมรักษาอาหารให้ได้ตามกำหนดเวลาที่ต้องการ หรือที่เรียกว่า shelf-life นอกจากนี้การกำหนดอายุของอาหารต้องรวมเวลาที่สินค้าอาหารอยู่ในตลาดและสามารถบริโภคได้หมดก่อนอาหารจะเปลี่ยนสภาพจนบริโภคไม่ได้

ปัจจุบันบรรจุกัญชีจากพลาสติกเข้ามามีบทบาทในการบรรจุหีบห่อมากขึ้น อาจเป็นเพราะว่าบรรจุกัญชีจากพลาสติกมีหลายรูปแบบ สามารถทำความสะอาดได้ง่าย และยังสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ พลาสติก (plastics) คือ สารประกอบของไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วย โมเลกุลซ้ำ ๆ ต่อกันเป็นโมเลกุลสายยาว ๆ ประกอบด้วยธาตุสำคัญ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน นอกจากนี้ยังมีธาตุอื่น ๆ เช่น ส่วนประกอบย่อย ซึ่งได้แก่ ไนโตรเจน ฟลูออรีน คลอรีน และกำมะถัน เป็นต้น พลาสติกจัดเป็นพอลิเมอร์ (polymer) ที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์หนึ่งชนิด หรือมากกว่าและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง สารพอลิเมอร์จะเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) ซึ่งเป็นการรวมตัวของโมโนเมอร์ (monomer) เข้าด้วยกันเป็นลักษณะโซ่ยาว และจำเป็นต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาด้วย พลาสติกเป็นวัสดุสังเคราะห์ที่มนุษย์รู้จักมานานกว่า 130 ปี พลาสติกเกิดมาในศตวรรษที่ 18 มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์จากปฏิกิริยาเคมี และทำ

พลาสติกขึ้นมาใช้เป็นครั้งแรก เมื่อ ค.ศ. 1868 โดย John Wesley Hyatt นักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกัน โดยมีจุดเริ่มต้นจากที่ความต้องการหาวัสดุเพื่อทำลูกบิลเลียดเพื่อนำมาแทนงาช้างซึ่งมีราคาแพง โดยวัสดุที่มาแทนนั้น คือ ไนโตรเซลลูโลส ดังนั้น celluloid จึงเป็นพลาสติกกึ่งสังเคราะห์ชนิดแรก นับว่า celluloid เป็นพลาสติกกึ่งสังเคราะห์ชนิดแรกของโลกที่เกิดจากการปรับปรุงของเซลลูโลสซึ่งเป็นวัสดุธรรมชาติ จึงนับว่าเป็นจุดเริ่มต้นของวงการพลาสติก ส่วนในปี ค.ศ. 1935 มีการค้นพบ low density polyethylene (LDPE) โดย Reginald Gibson และ Eric Fawcett และในปี ค.ศ. 1951 ค้นพบ high density polyethylene (HDPE) ภายใต้ชื่อการค้า Marlex โดย Paul Hogan และ Robert Banks ต่อมาในปี ค.ศ. 1978 ค้นพบ liner low density polyethylene (LLDPE)

พลาสติกทำมาจาก น้ำมันดิบ ก๊าซธรรมชาติ โดยการกลั่นน้ำมันดิบออกมาเป็น ethylene propylene เป็นต้น แล้วเอาผลิตเป็น HDPE LLDPE LDPE โดย 4% ของปริมาณน้ำมัน เอามาทำพลาสติก HDPE โดยวิธีทำพลาสติก เริ่มต้นจากการนำมาผ่านกระบวนการ crack แล้วทำออกมาเป็นเม็ด เรียกว่า plastic granules แล้วเอาเข้าเครื่องจักรกลสำหรับฉีด หรือเป่าเม็ดพลาสติก ออกมาเป็นฟิล์ม แล้วนำไปผลิตเป็นถุงพลาสติก หรือนำไป molding (เป่า) ฉีดเป็นรูปร่างต่าง ๆ เช่น ขวดน้ำ ภาชนะใส่อาหาร ชิ้นส่วนรถยนต์ เป็นต้น

ในปัจจุบันนี้มีพลาสติกที่กันอยู่เป็นร้อย ๆ จำพวก และแต่ละจำพวกยังอาจแยกตามน้ำหนัก โมเลกุลและความหนาแน่น ตัวอย่างพลาสติก PE (polyethylene) สามารถแยกได้ตั้งแต่ LLDPE (linear low density polyethylene), LDPE (low density polyethylene), MDPE (medium density polyethylene) และ HDPE (high density polyethylene) พลาสติกแต่ละประเภทยังสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติโดยการทำปฏิกิริยากับพลาสติกอีกตัวทำให้เกิดพลาสติกใหม่เกิดขึ้น นอกจากนี้กระบวนการผลิตที่แตกต่างกันจะได้พลาสติกที่มีคุณสมบัติที่ต่างกันไป เช่น PP กับ OPP เป็นต้น โดยตารางที่ 10 แสดงคุณสมบัติของพลาสติกที่นิยมใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

ฟิล์มโพลิโพรพิลีน (polypropylene, PP) เป็นฟิล์มที่จัดอยู่ในกลุ่มโพลิโอเลฟิน (polyolefin) เช่นเดียวกับพอลิเอทิลีน จึงมีคุณสมบัติคล้ายกัน การผลิตนิยมกระทำโดยวิธีการเป่าให้โมเลกุลมีการจัดเรียงตัวกัน สองทิศทางคือ ในแนวขนานและแนวขวางเครื่อง จึงเรียกว่า biaxial orientation polypropylene หรือ oriented polypropylene (BOPP หรือ OPP) คุณสมบัติเด่นของฟิล์ม PP คือ มีความใสและป้องกันความชื้นได้ดี อย่างไรก็ตามการป้องกันอากาศซึมผ่านของ PP ยังไม่ดีเท่ากับ พลาสติกบางชนิด เนื่องจากช่วงอุณหภูมิในการหลอมละลายมีช่วงทิศทางเดียวกัน คุณสมบัติเด่นอีกประการหนึ่งของ PP คือ มีจุดหลอมเหลวสูง ทำให้สามารถใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารในขณะร้อน (ปูน และสมพร, 2541) นอกจากนี้ PP ยังมีความสามารถทนทานต่อการขีดข่วนสูง ทนทานต่อการพับ มีความคงรูป และ มีความปลอดภัย จึงนิยมใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

ตารางที่ 10 คุณสมบัติของพลาสติกที่นิยมใช้บรรจุภัณฑ์อาหาร

คุณสมบัติ	PET	HDPE	LDPE	PP	PS	PVC
จุดหลอมเหลว (°C)	260	120	115	165	240	80
ความหนาแน่น (kg/m ³)	1370	941	920	855-946	1050	1380
ความใส	ใส	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น	ใส	ใส
ความแข็ง	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	สูงแต่เปราะ	สูง
ทนทานต่อแรงกระแทก	ดีมาก	ดีมาก	ดีมาก	ดี	พอใช้	ดี
ทนทานต่อความร้อน	พอใช้	ดี	พอใช้	ดี	พอใช้	พอใช้
ป้องกันการแพร่ผ่านของ ความชื้น	ดี	ดีมาก	ดี	ดีมาก	พอใช้	พอใช้

ที่มา: คุณสมบัติและผลิตภัณฑ์จากพลาสติก (2547) [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 6 สิงหาคม 2563, จาก <http://www.guangleeplastic.com/Article/Detail/87584>

ฟิล์มโพลีเอทิลีน (polyethylene, PE) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่เกิดจากการรวมตัว ของโมโนเมอร์ที่เป็นเอทิลีน นับเป็นฟิล์มพลาสติกที่นำมาใช้งานมากที่สุดชนิดหนึ่งและมีราคาถูก เนื่องจาก PE มีจุดหลอมเหลวต่ำ เมื่อเทียบกับพลาสติกอื่น ๆ ทำให้มีต้นทุนการผลิตต่ำฟิล์ม PE มีอยู่หลายชนิดและหลายชั้นคุณภาพ จึงนิยมแบ่งออกตามความหนาแน่น คือ ชนิดความหนาแน่นสูง (HDPE) มีความหนาแน่น 0.941–0.959 กรัมต่อเซนติเมตร ชนิดความหนาแน่นปานกลาง (MDPE) มีความหนาแน่น 0.926–0.940 กรัมต่อเซนติเมตร ชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDPE) มีความหนาแน่น 0.910–0.925 กรัมต่อเซนติเมตร และชนิดความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) มีความหนาแน่น 0.910–0.925 กรัมต่อเซนติเมตร ซึ่ง LDPE เป็นพลาสติกที่นิยมใช้มาก เนื่องจากยืดตัวได้ดี ทนต่อการที่มทะเล และ การฉีกขาด สามารถใช้ความร้อนเชื่อมปิดผนึกได้ดี มีความปลอดภัย และใช้กับสิ่งของที่นำไปบริโภคได้ทันที โครงสร้าง ของ PE สามารถป้องกันความชื้นได้ดีพอสมควร ส่วนข้อเสียของ LDPE คือ ไขมันและอากาศสามารถซึมผ่านได้ง่าย (ปูน และ สมพร, 2541)

จากการทดลองของ (Wang และ Qi, 1997) พบว่าแสงกว่าที่เก็บรักษา ในถุง LDPE มีอาการสัท้านหนาน้อยกว่าแสงกว่าที่ไม่ได้บรรจุถุง เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% เป็นเวลา 18 วัน โดยมีการสูญเสียน้ำประมาณ 1% หรือการเก็บรักษาผล Loquat ในถุง PE ที่มีความหนา 20 ไมโครเมตร ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลา 2 เดือน ในขณะที่ Nylon-PE ผลิตจากฟิล์มพลาสติกโพลีเอไมด์ (nylon) และฟิล์มโพลีเอทิลีน (PE) ที่ผ่านวิธีการประกบ (lamination) เข้าด้วยกัน คุณสมบัติของ nylon-PE มี

คุณสมบัติคล้ายกับฟิล์มโพลีเอไมด์ และฟิล์มพลาสติกโพลีเอทิลีน คือ มีความเหนียว สามารถต้านทานแรงทิ่มได้ดี โปรงใส มีความคง รูป ต้านทานต่อการขีดสี ทนทานต่อกรดได้ดี แต่ไม่สามารถทนต่อต่าง มีความสามารถดูดซึมน้ำได้สูง ป้องกัน การซึมผ่านของก๊าซได้มาก ทั้งก๊าซออกซิเจน ไนโตรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ป้องกันการซึมผ่านของไขมันหรือน้ำมันได้สูง สามารถปิดผนึกด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 130 ถึง 180 องศาเซลเซียส มีความทนทานต่ออุณหภูมิ ร้อนหรือเย็นจัดได้ โดยสามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ -40 ถึง 160 องศาเซลเซียส มีประโยชน์หรือใช้บรรจุอาหารที่ต้องการรักษา กลิ่นและรส เช่น กาแฟ ปลาเค็ม เนย และเนื้อแปรรูป ซึ่งนิยมใช้ทั้งแบบสุญญากาศ (vacuum pack) และแบบบรรยากาศปกติ โดยการบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้สุญญากาศคือการบรรจุโดยการดึงเอา อากาศภายในภาชนะหรือภายในผลิตภัณฑ์ออก และไม่มีการพ่นก๊าซใด ๆ เข้าไปแทนที่ ซึ่งทำให้เกิด ความแตกต่างระหว่างความดันภายในและภายนอกภาชนะ สังเกตได้จากการหดตัวของภาชนะ บรรจุชนิดอ่อนตัว (flexible form) หรือการยุบตัวของภาชนะประเภทกึ่งคงรูป (semi-rigid) ทั้งนี้ ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์และระบบการบรรจุ (งามทิพย์, 2538)

2.7.1 ถุง HDPE (High-density polyethylene)

พลาสติกที่ใช้กันในชีวิตประจำวันแบ่งเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 2 กลุ่ม ตามสมบัติ ได้แก่ เทอร์โมพลาสติก (thermos-plastics) และเทอร์โมเซตติงพลาสติก (thermosetting plastic) โดยเทอร์โมเซตติงพลาสติกเป็นพลาสติกที่มีสมบัติพิเศษ คือ ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และทนปฏิกิริยาเคมีได้ดี เกิดคราบและรอยเปื้อนได้ยาก พลาสติกแบบนี้เมื่อหลอมตัวแล้วจะเป็นรูปแบบนั้นอย่างถาวร โดยจะเอามาหลอมใช้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ไม่ได้ เช่น เมลามีนฟอร์มาลดีไฮด์ ฟีนอลิกฟอร์มาดีไฮด์อีพ็อกซี พอลิเอสเตอร์ ยูรีเทน และพอลิยูรีเทน เป็นต้น ส่วนพลาสติกชนิดพอลิเอทิลีน จัดอยู่ในกลุ่มเทอร์โมพลาสติก (thermoplastics) กล่าวคือเมื่อขึ้นรูปแล้วสามารถนำกลับมาหลอมและใช้ใหม่ได้ นับเป็นพลาสติกที่มีการใช้มากที่สุดและราคาถูก

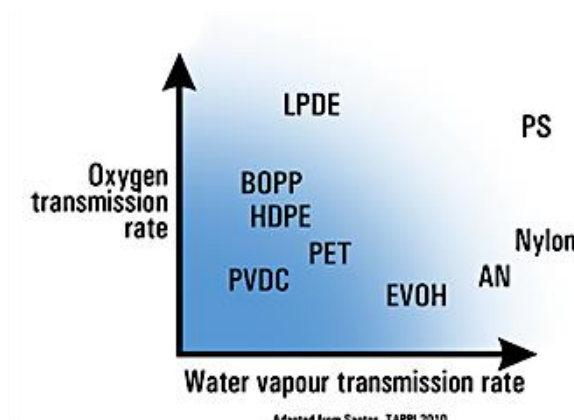
ลักษณะโดยทั่วไปของพลาสติกพอลิเอทิลีน คือ มีสีขาวขุ่น (milky white) ลักษณะคล้ายขี้ผึ้งไม่เกาะติดน้ำ สามารถทำเป็นสีต่าง ๆ ได้ตามความต้องการ มีน้ำหนักเบา มาก และมีจุดหลอมเหลวต่ำเมื่อเทียบกับพลาสติกอื่น ๆ ทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ พอลิเอทิลีนผลิตจากกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ของก๊าซเอทิลีน (ethylene) ภายใต้ความดัน อุณหภูมิสูงโดยอยู่ในสภาวะปราศจากตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะ (metal catalyst) การจับตัวของโมเลกุลในลักษณะโซ่สั้นและยาวจะส่งผลให้พอลิเอทิลีนที่ได้ออกมามีความหนาแตกต่างกัน พอลิเอทิลีนแบ่งเป็น 3 ประเภทตามค่าความหนาแน่น คือ 1)

พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) ความหนาแน่น 0.910 - 0.925 กรัมต่อลูกบาศก์ เซนติเมตร 2) พอลิเอทิลีนความหนาแน่นปานกลาง (MDPE) ความหนาแน่น 0.926 - 0.940 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 3) พอลิเอทิลีนความหนาแน่นสูง (HDPE) ความหนาแน่น 0.941 - 0.965 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และได้พัฒนาใหม่ให้มีคุณสมบัติยิ่งขึ้น นิยมใช้มาก คือ linear low density polyethylene (LLDPE) กับ ultra-high molecule weigh polyethylene (UHMWPE) โดยพลาสติกแต่ละชนิดก็จะมีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน และน้ำที่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 34

พลาสติกชนิด HDPE (high density polyethylene) เป็นเม็ดพลาสติกที่มีคุณสมบัติเหนียว แข็ง มีสีขุ่น ทนต่อสารเคมี รักษารูปทรงได้ดีและสามารถทนอุณหภูมิได้ถึง 105 องศาเซลเซียส เม็ดพลาสติก HDPE ได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตสินค้า พลาสติกต่าง ๆ ในหลายรูปแบบ พลาสติกชนิด HDPE ส่วนใหญ่จะเป่าเป็นขวด เนื่องจากความหนาแน่นที่สูง (ตั้งแต่ 0.940 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรขึ้นไป) ทำให้ HDPE มีความเหนียวและทนต่อการซึมผ่านได้ดีกว่า PE ที่มีความหนาแน่นต่าง ๆ กัน แต่ยังไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีนัก การใช้งานพลาสติก HDPE มาแทนที่ LDPE พบว่าสามารถลดน้ำหนักของขวดลงได้มากกว่า 40% เนื่องจากสามารถเป่าขวดที่มีผิวบางกว่า นอกจากขวดแล้ว HDPE ยังสามารถใช้เป่าเป็นฟิล์ม หรือทำเป็นถาดที่ไม่ต้องการความใสมากนัก พลาสติกชนิด HDPE มีโครงสร้างทางเคมีที่เป็นกิ่งสาขาน้อย จึงมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลค่อนข้างสูง สามารถนำกลับมาหลอมใช้ได้ใหม่ เป็นพลาสติกที่ได้รับสัญลักษณ์เลข 2 ทนทานต่อสารเคมี และตัวทำละลายหลายชนิด จึงเหมาะสำหรับใช้ทำบรรจุภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ขวด แฝงบรรจุยา ภาชนะบรรจุเครื่องสำอาง เครื่องใช้ในบ้าน ของเด็กเล่น รองเท้า เสื้อ เชือก แห อวน ฉนวน หุ้มสายไฟ สายเคเบิล วัสดุเคลือบผิว ท่อน้ำชนิดแข็ง ท่อน้ำมัน ถุงหูหิ้ว ถุงขยะ ชิ้นส่วนรถยนต์ และชิ้นส่วนอุปกรณ์ไฟฟ้า เป็นต้น

Tripetch และ Borompichaichartkul (2019) ศึกษาผลของชนิดของบรรจุภัณฑ์ (กระสอบ และ ถุง HDPE) และอายุการเก็บรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงของสี สารประกอบฟีนอลิก กรดคลอโรจีนิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในเมล็ดกาแฟอาราบิก้า (*Coffea arabica L. cv. Catimor*) และพบว่า ถุง HDPE มีความสามารถป้องกันความชื้น สี ปริมาณกรดคลอโรจีนิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับการใช้กระสอบในการบรรจุเมล็ดกาแฟอาราบิก้า ขณะที่ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการเก็บ 4 เดือน ของเมล็ดกาแฟ พบว่าบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน ผลของอายุการเก็บในช่วง 10 เดือนแรก แสดงให้เห็นว่าการใช้ถุง HDPE ส่งผลให้เมล็ดกาแฟมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการบรรจุเมล็ดกาแฟในกระสอบ อย่างไรก็ตามที่อายุการเก็บ 1

ปี พบว่าเมล็ดกาแฟที่บรรจุในกระสอบมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการใช้ถุง HDPE อันเนื่องมาจากผลของความแปรปรวนของค่าความชื้น ส่งผลต่อภาวะความเครียดของเมล็ดกาแฟ และอาจส่งผลให้เกิดการก่อตัวของสารอนุมูลอิสระขึ้น



รูปที่ 32 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน และน้ำ ในบรรจุภัณฑ์พลาสติกชนิดต่าง ๆ
ที่มา: Carbonated drinks & Vapour Permeability [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 6 สิงหาคม 2563,
จาก <https://www.versaperm.com/applications/carbonated-drinks.php>

Swain และคณะ (2013) ศึกษาผลของการใช้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกันต่อคุณภาพของผงพริกหวาน ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 เดือน และพบว่าอายุการเก็บส่งผลต่อการเปลี่ยนของ browning index ค่าการเปลี่ยนแปลงสี ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ ค่าความชื้น ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการประเมินทางประสาทสัมผัส ในช่วงอายุการเก็บ 40-60 วัน ในขณะที่ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษามากที่สุด ได้แก่ อะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต ถุงพลาสติก HDPE และถุงพลาสติก PP ตามลำดับ

2.7.2 ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil bag)

นอกจากบรรจุภัณฑ์จากพลาสติกแล้ว ปัจจุบันมีบรรจุภัณฑ์จากอะลูมิเนียมฟอยล์สำหรับบรรจุอาหาร โดยคุณสมบัติของอะลูมิเนียมฟอยล์ในการนำไปใช้ในบรรจุภัณฑ์ ได้แก่ อะลูมิเนียมฟอยล์เป็นวัสดุที่สะอาดหลังจากการให้ความร้อนแล้ว และเชื้อโรคไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตได้ ไม่มีรสกลิ่น และไม่มีสารพิษซึ่งปลอดภัยเมื่อนำไปใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร

อะลูมิเนียมพอยล์มีความหนาตั้งแต่ 0.001 นิ้วขึ้นไป มีคุณสมบัติในการป้องกันการไหล ผ่านของตัวกลางต่าง ๆ อะลูมิเนียมพอยล์ที่มีความหนาน้อย ๆ เมื่อนำไปปิดผนึกหรือเคลือบกับวัสดุอื่นจะมีคุณสมบัติในการอุดรูเข็ม (pinholes) ที่เกิดขึ้นในแผ่นอะลูมิเนียมได้ดี อะลูมิเนียมพอยล์ไม่มีการระเหยเป็นไอและไม่มีการหดตัว มีคุณสมบัติในการรักษาขนาดให้คงที่จากอุณหภูมิ -100 องศาฟาเรนไฮต์ ถึง 700 องศาฟาเรนไฮต์ สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซและน้ำมันได้ทั้งในอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำ และมีคุณสมบัติในการป้องกันการไหลผ่านของแสง ซึ่งอาจจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในภาชนะบรรจุเสีย มีรสเน่าเสีย เหม็นหืน หรือเปลี่ยนสีได้ อะลูมิเนียมพอยล์สามารถสะท้อนการแผ่ความร้อนได้ถึงร้อยละ 99 ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำหน้าที่เป็นฉนวนที่ดี ในการนำไปห่อภาชนะบรรจุภัณฑ์ภายนอกและภายในได้ อะลูมิเนียมพอยล์มีคุณสมบัติในการนำความร้อนได้ดี ซึ่งสามารถที่จะทำให้ร้อนหรือทำให้เย็นลงได้อย่างรวดเร็ว

อะลูมิเนียมพอยล์มีบทบาทสำคัญในบรรจุภัณฑ์ยุคปัจจุบัน ด้วยคุณสมบัติเชิงกลทางเคมี และกายภาพที่ดี เช่น การเป็นวัสดุที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน ความชื้น และแสง รวมไปถึงความปลอดภัยของการสัมผัสกับอาหารและสามารถประยุกต์ใช้ได้กับหลากหลายผลิตภัณฑ์ อะลูมิเนียมพอยล์มีน้ำหนักเบาแต่แข็งแรง ขึ้นรูปได้หลากหลายรูปแบบ และยังต้านทานการกัดกร่อนและอุณหภูมิได้ดี ในปัจจุบันอะลูมิเนียมพอยล์ถูกนำมาเคลือบร่วมกับวัสดุชนิดอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้งาน เช่น การเคลือบอะลูมิเนียมพอยล์ด้วยพลาสติก PE เพื่อเพิ่มความสามารถในการปิดผนึกด้วยความร้อนให้สนิทมากขึ้น

อะลูมิเนียมพอยล์มีคุณสมบัติในการผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับฟิล์มพลาสติกชนิดอื่น ๆ แต่มีราคาที่แพง อะลูมิเนียมพอยล์สามารถใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารและยา ทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว โดยฟิล์ม PET ที่นำมาใช้ในการเคลือบ (laminated) คือ ฟิล์ม BOPET (biaxially oriented polyethylene terephthalate) มีผิวที่เงางาม เรียบ มีความใส ทนทานต่อการฉีกขาดหรือการกดกระแทก รักษารูปทรงได้ดีในอุณหภูมิระดับต่าง ๆ ทนความร้อนสูงสามารถใช้กับไมโครเวฟได้ ทนทานต่อความชื้น ทนสารเคมีและตัวทำละลายได้ หลากหลายประเภท สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซต่าง ๆ ได้ดี และมีคุณสมบัติในการถนอมและรักษากลิ่นของอาหารได้ดีกว่าฟิล์ม BOPP (biaxially oriented polypropylene film) ในผลิตภัณฑ์เกิดการกัดกร่อนได้มักนิยมเคลือบอะลูมิเนียมพอยล์ด้วยพลาสติกชนิดอื่น ๆ ได้ เช่น BOPET+Aluminium+LLDPE หรือ BOPP+Aluminium +LLDPE เป็นต้น โดยรูปที่ 33 และ 34 แสดงชนิด องค์ประกอบ การใช้งาน สมบัติต่าง ๆ ข้อดี และข้อเสียของบรรจุภัณฑ์ลามิเนตชนิดต่าง ๆ

Chikkanna และคณะ (2020) ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ระหว่างอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตและพลาสติก LDPE ต่อคุณภาพของซีเรียลที่ผลิตด้วยกระบวนการบีบอัด ผลจากการทดลองเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 90 วัน พบว่าปริมาณความชื้นของซีเรียลที่บรรจุภายในถุง LDPE (5.1%) มีค่ามากกว่าบรรจุด้วยถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต (4.32%) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sowbhagya และคณะ (2005) ซึ่งทำการศึกษาปริมาณความชื้นในตัวอย่างข้าวโพดอบ (corn flakes) ที่ผ่านกระบวนการผลิตแบบบีบอัด และบรรจุด้วยถุง LDPE ก่อนจะเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่าข้าวโพดอบมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นจาก 6% เป็น 11% ภายในระยะเวลา 10 สัปดาห์ระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่ตัวอย่างข้าวโพดอบที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตมีการเปลี่ยนแปลงของสีน้อยกว่าการใช้ถุงพลาสติก LDPE ระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งอาจเป็นผลมาจากข้าวโพดอบที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล หรือ browning reaction แบบไม่มีเอนไซม์น้อยกว่าตัวอย่างที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์พลาสติก LDPE เนื่องจากข้าวโพดอบที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต มีปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำอิสระน้อยกว่าตัวอย่างที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์พลาสติก LDPE นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดภายหลังการเก็บรักษาอีกด้วย โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณลดลงมากที่สุดในตัวอย่างเก็บในบรรจุภัณฑ์พลาสติก LDPE เพราะบรรจุภัณฑ์แบบอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตสามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีจึงช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของสารประกอบฟีนอลิกได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการใช้บรรจุภัณฑ์อีกชนิดที่มีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนมากกว่า

Gomez และคณะ (2006) ศึกษาอายุการเก็บของมะม่วงแผ่นพลาสติกเจาะรูที่อุณหภูมิ 2 10 และ 20 องศาเซลเซียส โดยบรรจุตัวอย่างภายในถุงอะลูมิเนียมพอยล์เทียบกับถุงพลาสติกแบบโปร่งแสง เป็นเวลา 5 เดือน และพบว่าตัวอย่างที่บรรจุภายในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ มีกลิ่นรส สี จุลินทรีย์ในระดับที่ดีกว่าการใช้ถุงพลาสติกแบบโปร่งแสง ยิ่งไปกว่านั้นตัวอย่างที่บรรจุภายในถุงอะลูมิเนียมพอยล์มีอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่เวลา 5 เดือน โดยไม่ส่งผลต่อคุณภาพตัวอย่าง ขณะที่การบรรจุด้วยถุงพลาสติกแบบโปร่งแสงส่งผลให้ตัวอย่างมีอายุการเก็บที่สั้นกว่ามาก แม้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ขณะที่ Heidelbaugh และ Karal (1970) รายงานว่า ค่าการซึมผ่านของออกซิเจนมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ จากผลการทดลองเก็บอาหารในบรรจุภัณฑ์ที่มีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนมาก ทำให้อาหารเกิดสีน้ำตาล และมีปริมาณวิตามินซีในอาหารลดลง เมื่อเทียบกับการเก็บอาหารในบรรจุภัณฑ์ที่มีค่าการซึมผ่านออกซิเจนที่น้อยกว่า (Hong และคณะ, 1995) ในการศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ซีส พบว่า ซีส

ที่บรรจุในถุงพลาสติกที่มีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนสูง ส่งผลให้ค่าสีเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ และเกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในชีส เมื่อเทียบกับการบรรจุชีสในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ที่มีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำกว่า



Layer structure	Area of application	Permeability ¹
Paper	- all-border sealing pouch	water vapour: <0.1 g/t
Al foil	- mostly for dry products	O ₂ : <0.1 cr
PE	- all-rounder	aroma: high
Paper	- all-border sealing pouch	water vapour: <0.5 g/t
PET _{SiOx}	- self-standing pouch	O ₂ : <2.0 cr
PE	- ecological products	aroma: medium
PET	- tube-shaped pouch	water vapour: <3.5 g/t
PE	- refilling pouch	O ₂ : <500 cr
	- inside-liner	aroma: poor
PET _{SiOx}	- tube-shaped pouch	water vapour: <0.4 g/t
PE	- refilling pouch	O ₂ : <2.0 cr
	- hygroscopic products	aroma: medium
PET	- tube-shaped pouch	water vapour: <2.0 g/t
PE ^{EVOH}	- refilling pouch	O ₂ : <2.0 cr
	- vacuum pouch	aroma: high
PET	- various pouches	water vapour: <0.1 g/t
Al foil	- maximum tightness	O ₂ : <0.1 cr
PE	- high strength	aroma: high
OPP _{transparent}	- good presentation	water vapour: <0.5 g/t
OPP _{metallised}	- low package weight	O ₂ : <100 cr
	- typical for snacks	aroma: medium

¹Data at 25°C, quantity of water vapor at 85 → 0 % relative humidity, volume of oxygen at STP.

รูปที่ 33 คุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ลามิเนตชนิดต่าง ๆ

ที่มา: Manuela และ Felix (2007)

Water vapour permeability at 23°C and 85→0% relative humidity [g/m²d]

Material and thickness [μm]	12	15	20	23	30	40	50	O ₂
HDPE	3.5	2.8	2.0	1.7	1.3	1.0	0.8	- ³
LDPE	8.0	7.0	5.0	4.5	3.5	2.5	2.0	- ³
LDPE ^{EVOH}	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	4.0	2.9	+
OPP ^{PVDC/Acryl}	nc ²	nc ²	1.2	0.9	0.8	0.5	nc ²	0
OPP ^{metallised}	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	nc ²	nc ²	0
OPP ^{transparent}	<2.0	<1.7	<1.5	<1.2	<1.0	<0.75	nc ²	- ³
PA	130	100	75	60	50	38	30	+
PET	16	13	9.5	7.5	6.0	4.8	3.9	0
PET ^{metallised}	<1.0	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	+
PET ^{SiOx}	<0.5	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	nc ²	+
Aluminium foil	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	++
PVC	available from ~90 μm: 5.0						<0.1	- ³

¹++ = very good; + = good; 0 = poor barrier property.

²nc = not customary.

³not analyzed.

รูปที่ 34 อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของบรรจุภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

ที่มา: Manuela และ Felix (2007)

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

ใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 (กาญจนบุรี, ประเทศไทย)
 มอลโตเดกซ์ทริน DE 10-12 (Zhucheng dongxiao, China)
 มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (Fibersol[®]-2, DE12) (Matsutani, Japan)
 กัมอาระบิก (Agrium, UK)

สารเคมี

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, U.S.A)
 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Fluka, Denmark)
 Aluminium chloride (AlCl₃) (Ajax Finechem, New Zealand)
 Ethanol (CH₃CH₂OH) (EMSURE[®], Germany)
 Ethanol (CH₃CH₂OH) (Giant Leo, Thailand)
 Ferric chloride (FeCl₃) (Fisher Scientific, UK)
 Folin-Ciocalteu reagent (Carlo Erba, France)
 Gallic acid (C₇H₆O₅) (Fluka, Spain)
 Glacial acetic acid (CH₃COOH) (A.R. grade, QR[®]C, New Zealand)
 Hydrochloric acid 0.1 M (HCl) (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)
 Methanol (CH₃OH) (Fisher Scientific, UK)
 Quercetin (C₁₅H₁₀O₇) (Sigma-Aldich, Germany)
 Sodium acetate trihydrate (CH₃COONa.3H₂O) (A.R. grade, KemAus, Australia)
 Sodium carbonate (Na₂CO₃) (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)
 Sodium nitrite (NaNO₂) (Ajax Finechem, New Zealand)
 Tripyridyltriazine (TPTZ) (Merck, Germany)

เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometer) (JEOL, รุ่น JSM-IT300, Japan)

เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) (BÜCHI, รุ่น R-114, Switzerland)

เครื่องกวนผสมสารละลายพร้อมเตาให้ความร้อน Hotplate Stirrer (SCIOLOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A)

เครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic processor) (Hielscher, รุ่น UP400S, Germany)

เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) (Scientific Industries, รุ่น GENIE2, U.S.A)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น New Classic MF, Switzerland)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น MS304S, Switzerland)

เครื่องซีลกิ่งอัตโนมัติแบบเท้าเหยียบ (Semi Auto Impulse Sealer) (TUPACK, รุ่น PHS 450/10D, Thailand)

เครื่องซีลสุญญากาศ (Vacuum sealer) (Multivac, รุ่น A300/16, Germany)

เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยขนาดเล็ก (Mini spray dryer) (BUCHI, รุ่น B-290, Switzerland)

เครื่องปั่นผสม (Laboratory blender) (Waring รุ่น 8010BU, U.S.A)

เครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Homogenizer Laboratory) (Ystral, รุ่น X10, Germany)

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (Kubota, รุ่น 6000, Japan)

เครื่องวัดกิจกรรมของน้ำอิสระ (Water activity analyzer) (AquaLab, รุ่น series3 TE, U.S.A)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible Spectrophotometer) (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYS 20 Visible, U.S.A)

เครื่องวัดค่าความต่างความร้อนของสาร (Differential Scanning Calorimeter) (NETZSCH, รุ่น 204 F1 Phoenix, Germany)

เครื่องวัดสี (Chroma meter) (Konica Minolta, รุ่น CR-400, Japan)

เครื่องวัดอุณหภูมิแบบดิจิตอล (Thermometer) (Testo, รุ่น 925, UK)

ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert, รุ่น DO 6062, Germany)

ถุง high density polyethylene (HDPE bag) ขนาด 7 x 11 นิ้ว

ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil bag) ขนาด 6 x 9 นิ้ว

โพรบวัดอุณหภูมิ (Waterproof Immersion/Penetration Probe) (Testo, รุ่น Type KThermocouple, UK)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath) (Julabo, รุ่น SW33, Germany)

การเตรียมตัวอย่างใบหม่อน

ล้างใบหม่อนสดอายุประมาณ 2 เดือนที่ได้จากจังหวัดกาญจนบุรีให้สะอาด และทำแห้งด้วยการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมงหรือจนกว่าความชื้นจะไม่เกิน 5% จากนั้นบดและกรองผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 เมช (mesh) จะได้ผงใบหม่อนแห้ง เก็บรักษาไว้ในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนแบบภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยดัดแปลงตามวิธีของ Arabshah และ Urooj (2007)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction, UAE)

ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหม่อน ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (กำหนดความเข้มข้นของแอมพลิจูด 55% คาบ 0.7 วินาที และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวในการสกัดที่ 1:40 w/v) โดยแต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 11 และออกแบบการทดลองแบบ 3^2 factorial in completely randomized design (CRD) ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ระดับของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดโดยใช้วิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

ปัจจัย	หน่วย	ระดับ		
ความเข้มข้นของเอทานอล (ethanol concentration)	ร้อยละ	60	80	100
เวลาที่ใช้ในการสกัด (extraction time)	นาที	10	20	30

ตารางที่ 12 การออกแบบการทดลองแบบ 3^2 full factorial in Completely Randomized Design (CRD)

ลำดับ	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)
1	10	60
2	10	80
3	10	100
4	20	60
5	20	80
6	20	100
7	30	60
8	30	80
9	30	100

หลังจากการสกัดตามภาวะต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว นำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และเก็บตัวอย่างส่วนใส (supernatant) ไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นระเหยเอทานอลในส่วนที่เป็นของเหลวออกภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 °C ด้วย rotary evaporator แล้วจึงปรับปริมาตรตัวอย่างสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และเก็บตัวอย่างหลังจากการสกัดตามภาวะต่าง ๆ ข้างต้นภายในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยดัดแปลงตามวิธีของ Wang และคณะ (2008) ก่อนการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหม่อนในภาวะต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 11 โดยวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ดังนี้

- 3.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดย Folin-Ciocalteu colorimetry ตามวิธีของ Slinkard และคณะ (1997) (ภาคผนวก ก.1)
- 3.1.2 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดย Aluminium chloride colorimetry ดัดแปลงตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007) (ภาคผนวก ก.2)
- 3.1.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995) (ภาคผนวก ก.3)
- 3.1.4 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996) (ภาคผนวก ก.4)

จากนั้นเลือกภาวะการสกัดสารสกัดใบหม่อนโดยพิจารณาจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 1 ภาวะ เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.2 การศึกษาการเอนแคปซูลชั้นของสารสกัดใบหม่อน

เตรียมสารละลายของสารห่อหุ้มแต่ละชนิด ด้วยเครื่องกวนผสม (SCIOLOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นผสมสารสกัดจากใบหม่อนกับสารละลายของสารห่อหุ้ม (ตามอัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 13) ด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (รายละเอียดตามภาคผนวก ข.10-12) นำของผสมที่ได้เข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยกำหนดอุณหภูมิอากาศขาเข้า 155 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิอากาศขาออก 90 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 13 อัตราส่วนของสารสกัดและสารห่อหุ้ม ในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดของสารห่อหุ้ม	ร้อยละความเข้มข้น ของสารห่อหุ้ม (w/w)	อัตราส่วนสารสกัด :	
		สารห่อหุ้ม	(w/w)
มอลโตเดกซ์ทรีน DE10-12	40	1:1	1:2
มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อย DE12	40	1:1	1:2
กัมอารบิก	20	1:2	1:3

เก็บตัวอย่างหลังจากการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนเพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีทางกายภาพ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากภาวะต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 13 ดังนี้

- 3.2.1 สมบัติตามข้อ 3.1.1-3.1.4
- 3.2.2 ปริมาณความชื้น (% moisture content) (ภาคผนวก ข.1)
- 3.2.3 ค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity, aw) (ภาคผนวก ข.2)
- 3.2.4 ค่าสี ระบบ CIE LAB ด้วยเครื่อง chroma meter (ภาคผนวก ข.3)
- 3.2.5 ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% encapsulation yield) (ภาคผนวก ข.4)
- 3.2.6 ประสิทธิภาพการกักเก็บ (% encapsulation efficiency) (ภาคผนวก ข.5)
- 3.2.7 ลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูล ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron microscope, SEM) (ภาคผนวก ข.6)
- 3.2.8 ความสามารถในการละลาย (water solubility index, WSI) (ภาคผนวก ข.7)
- 3.2.9 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, Tg) (ภาคผนวก ข.8)

เลือกภาวะการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยพิจารณาจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 1 ภาวะ เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.3 การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

บรรจุไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน (จากข้อ 3.2) น้ำหนัก 10 g ในภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ โดยแปรบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตและถุงพลาสติก HDPE) และแปรภาวะการบรรจุ 2 ชนิด (บรรจุภายใต้สุญญากาศและบรรจุภายใต้บรรยากาศ) (ดังแสดงในตารางที่ 14) เก็บตัวอย่างในที่มีที่อุณหภูมิห้อง และติดตามการเปลี่ยนแปลงทุก 15 วัน เป็นเวลา 60 วัน โดยวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ตามข้อ 3.2.1-3.2.4

ตารางที่ 14 ชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุ ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน

ชนิดของบรรจุภัณฑ์	ชนิดของการบรรจุ	
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil bag)	ภายใต้ภาวะบรรยากาศ	ภายใต้ภาวะสุญญากาศ
ถุงพลาสติก HDPE (high density polyethylene bag)	ภายใต้ภาวะบรรยากาศ	ภายใต้ภาวะสุญญากาศ

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ 3^2 full factorial designs in completely randomized design (CRD) สำหรับการทดลองในข้อที่ 3.1 (การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด) และออกแบบการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (statistical package for social sciences) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับการทดลองในข้อที่ 3.2 และข้อที่ 3.3 (การศึกษาการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดจากใบหม่อนและการศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา)



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction, UAE)

4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่พบใน ผัก ผลไม้ และ สมุนไพร เช่น ใบหม่อน สารประกอบฟีนอลิกที่พบในใบหม่อนประกอบด้วยกรดคลอโรจีนิก รุทีน ไอโซเคอควิทริน เคอควิทริน แอสทรากาลิน และแคมเฟอร์อล เป็นต้น (Sánchez และ คณะ, 2015) จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการสกัด สารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยต่อปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบหม่อน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่า ระหว่าง 378.97 ± 0.96 ถึง 1505.63 ± 4.79 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry basis (db))

เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอล พบว่า อิทธิพลร่วมมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 15 โดยระยะเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอลส่งผลถึงการ เปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ และพบว่าที่ระยะเวลาการ สกัด 10 นาที ร่วมกับความเข้มข้นของเอทานอล 60% และ 80% (v/v) ส่งผลให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลเป็น 100% (v/v) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณลดลงอย่างมาก ในขณะที่ระยะเวลาการ สกัด 20 นาที การเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 60% เป็น 100% (v/v) ทำให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาการสกัดที่ 10 นาที เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการสกัดที่ 30 นาที พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 60% เป็น 80% (v/v) ทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 80% เป็น 100% (v/v) โดย ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของตัวทำ ละลายเอทานอลเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาแต่ละปัจจัย (ความเข้มข้นของเอทานอล และเวลาในการสกัด) พบว่า สารสกัดใบหม่อนที่ใช้เอทานอลความเข้มข้น 60% (v/v) และระยะเวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 955.22 ± 2.44 , 1080.63 ± 8.42 และ 1505.63 ± 4.79 mg GAE/100 g db ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลที่ 80% ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 950.22 ± 6.04 เป็น 1063.97 ± 5.68 และ 1295.77 ± 0.48 mg GAE/100 g db ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 60% และ 80% (v/v) การสกัดใบหม่อนที่ 100% (v/v) ที่ระยะเวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 378.97 ± 0.96 , 1050.77 ± 1.68 และ 1136.88 ± 4.04 mg GAE/100 g db ตามลำดับ จากผลการศึกษาดังกล่าวพบว่า การสกัดใบหม่อนที่เวลา 10 นาที ด้วยความเข้มข้นของเอทานอลที่ 60 และ 80% (v/v) ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สารสกัดใบหม่อนที่ใช้ระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลลดลง (100 80 และ 60% v/v) ส่งผลให้ความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีค่าเพิ่มขึ้น โดยการสกัดที่ระยะเวลา 10 นาที สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 378.97 ± 0.96 เป็น 950.22 ± 6.04 และ 955.22 ± 2.44 mg GAE/100 g db ตามลำดับ และเวลาในการสกัดใบหม่อนที่ 20 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เพิ่มขึ้นเท่ากับ 1050.77 ± 1.68 , 1063.97 ± 5.68 และ 1080.63 ± 8.42 mg GAE/100 g db ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดโดยใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ 30 นาที พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มจาก 1136.88 ± 4.04 เป็น 1295.77 ± 0.48 และ 1505.63 ± 4.79 mg GAE/100 g db ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยเป็นวิธีที่ช่วยเร่งการถ่ายเทมวลสารและพลังงานในการสกัด เนื่องจากเมื่อคลื่นอัลตราซาวนด์ทำปฏิกิริยากับชิ้นส่วนของพืชจะส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพและเคมี อันเนื่องมาจากปรากฏการณ์คาวิเทชัน (cavitation) ซึ่งสารปลดปล่อยสารภายในเซลล์ที่ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น โดยเมื่อคลื่นอัลตราซาวนด์เคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะเกิดการหดและขยายตัวของฟองแก๊สหมุนเวียนเป็นวัฏจักรซ้ำ ๆ และเมื่อฟองแก๊สขยายตัวจะช่วยพาสารภายในเซลล์แพร่ไปยังตัวทำละลาย ซึ่งเป็นการถ่ายเทมวลสาร จากนั้นเมื่อฟองแก๊สหดตัวหรือแตกออกจะทำให้เกิดความดันและความร้อนปริมาณมาก

ในบริเวณนั้น ๆ ส่งผลให้เซลล์ที่อยู่ใกล้ฟองแก๊สแตกออก สารที่อยู่ภายในเซลล์จึงถูกสกัดออกมาได้ง่ายขึ้นและมากขึ้น (Wen และคณะ, 2018) ดังนั้นการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ ให้มีปริมาณมากยิ่งขึ้น

Rostango และคณะ (2004) พบว่าการเลือกอัตราส่วนของน้ำในตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากอัตราส่วนของน้ำที่เหมาะสม ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ และยังพบอีกว่าหากในตัวทำละลายมีสัดส่วนของน้ำมากกว่า 60% (v/v) ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง ในขณะที่หากใช้เอทานอลเพียงชนิดเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัด ประสิทธิภาพในการสกัดที่ได้ก็ลดลงเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลเป็นสารที่ชอบน้ำ เนื่องจากมีหมู่ของไฮดรอกซิล (เช่น สารฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะตัวที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล) และมีความสามารถในการละลายได้ดีกว่าในตัวทำละลายที่มีองค์ประกอบของเอทานอลกับน้ำ เมื่อเทียบการใช้เอทานอลเพียงชนิดเดียว

จากการศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกจากแบล็คเคอร์แรนท์ของ Cacace และ Mazza (2003) พบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ที่ระดับความเข้มข้น 67% (v/v) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้สูงที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Radojkovic และคณะ (2012) ที่ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไบโหม่อนโดยใช้วิธีพื้นผิวดูดซับสอง ซึ่งแปรระดับความเข้มข้นของเอทานอลที่ 40-80% (v/v) และพบว่าการใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 68.30% (v/v) เป็นตัวทำละลายในการสกัดให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกดีที่สุด

ผลของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่าการสกัดไบโหม่อนที่ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอล 60% (v/v) ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1505.63 ± 4.79 mg GAE/100 g db

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TPC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2237404.27 ^a	8	279675.534	13313.812	.000
Intercept	29566938.27	1	29566938.27	1407519.155	.000
TIME	1372381.493	2	686190.746	32665.764	.000
EtOH	518834.532	2	259417.266	12349.428	.000
TIME * EtOH	346188.244	4	86547.061	4120.029	.000
Error	378.116	18	21.006		
Total	31804720.65	27			
Corrected Total	2237782.384	26			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

ตารางที่ 16 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สิ่งทดลอง	เวลา (นาที)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%) (v/v)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 g db)
1	10	60	955.22±2.44 ^s
2	10	80	950.22±6.04 ^s
3	10	100	378.97±0.96 ^h
4	20	60	1080.63±8.42 ^d
5	20	80	1063.97±5.68 ^e
6	20	100	1050.77±1.68 ^f
7	30	60	1505.63±4.79 ^a
8	30	80	1295.77±0.48 ^b
9	30	100	1136.88±4.04 ^c

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสดมภ์ (a,b,c...) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

* mg GAE/100 g db = mg gallic acid equivalent /100 g dry basis

4.1.2 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สารฟลาโวนอยด์เป็นสารเมทาบอลิท์ทุติยภูมิที่พบได้ทั่วไปในพืช เช่น ผัก ผลไม้ โดยมีโครงสร้างเป็นวงแหวน มีบทบาทในการช่วงตรึงไนโตรเจน และกรองรังสีอัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์ยังมีความสำคัญ เนื่องจากถือว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาและความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าระหว่าง 0.33 ± 0.01 ถึง 5.54 ± 0.17 mg quercetin equivalent (QCE)/100 g db เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าอิทธิพลร่วมมีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 17 เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าการสกัดที่ระยะเวลา 10 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล 60% และ 80% (v/v) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการสกัด 20 นาที พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 60% เป็น 100% (v/v) ส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงอย่างมาก ขณะที่ระยะเวลาการสกัด 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 60% (v/v) พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกับการใช้เอทานอลที่ความเข้มข้น 80% (v/v) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการสกัด 10 และ 30 นาที เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 60% เป็น 80% (v/v) ส่งผลให้มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงเล็กน้อย ขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 80% เป็น 100% (v/v) ส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงอย่างมาก

จากการพิจารณาผลของระยะเวลาในการสกัด ต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากการสกัดใบหม่อนที่ระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล 60% (v/v) พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการสกัดมากขึ้น ส่งผลให้สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 0.83 ± 0.01 เป็น 2.57 ± 0.08 และ 5.54 ± 0.17 mg QCE/100 g db ตามลำดับ นอกจากนี้ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล 80% (v/v) มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.72 ± 0.02 เป็น 1.95 ± 0.01 และ 5.51 ± 0.03 mg QCE/100 g db ตามลำดับ และสอดคล้องกับการสกัดใบหม่อนที่ระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล 100% (v/v) ที่พบว่าสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.33 ± 0.01 0.88 ± 0.02 และ 5.11 ± 0.43 mg QCE/100 g db ที่ระยะเวลา

การสกัด 10 นาที 20 นาที และ 30 นาที ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดยังแปรผันตามระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล โดยที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับ 60% 80% และ 100% (v/v) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงโดยมีค่าเท่ากับ 0.83 ± 0.01 , 0.72 ± 0.02 และ 0.33 ± 0.01 mg QCE/100 g db ตามลำดับ ในขณะที่ระยะเวลาในการสกัดใบหม่อนที่ 20 นาที พบว่ามีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 2.57 ± 0.08 , 1.95 ± 0.01 และ 0.88 ± 0.02 mg QCE/100 g db ตามลำดับ และที่เวลาการสกัด 30 นาที ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 60% (v/v) พบว่า สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับ 80 และ 100% (v/v) โดยมีค่าเท่ากับ 5.54 ± 0.17 , 5.51 ± 0.03 และ 5.11 ± 0.43 mg QCE/100 g db ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า หากเพิ่มระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดให้มากขึ้น ประสิทธิภาพในการสกัดสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากใบหม่อนจะมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 18)

สารฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบอยู่หลายตำแหน่งซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระได้ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น จึงช่วยลดโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นการสกัดสารฟลาโวนอยด์ให้ได้ปริมาณมาก จะยิ่งได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดสารฟลาโวนอยด์เป็นเรื่องสำคัญ ความมีขี้ของตัวทำละลายมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการสกัดสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายมีขี้ที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ แคทีคอล และแทนนินจากพืช (Shi และคณะ, 2003) จากการศึกษาของ Radojkovic และคณะ (2012) พบว่าปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ส่งผลเช่นเดียวกับความสามารถในการสกัดสารฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ ยังรายงานเพิ่มเติมอีกว่า การใช้ตัวทำละลายร่วมกันของน้ำและเอทานอลสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของสารฟลาโวนอยด์ได้ โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดจาก 40% เป็น 60% (v/v) ส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เพิ่มมากขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของเอทานอลที่มากกว่า 60% (v/v) ส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีแนวโน้มลดลง เช่นเดียวกับในงานวิจัยนี้

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TFC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	115.748 ^a	8	14.468	3092.219	.000
Intercept	183.781	1	183.781	39277.745	.000
TIME	110.599	2	55.300	11818.702	.000
EtOH	3.634	2	1.817	388.363	.000
TIME * EtOH	1.514	4	.379	80.904	.000
Error	.084	18	.005		
Total	299.613	27			
Corrected Total	115.832	26			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

ตารางที่ 15 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สิ่งทดลอง	เวลา (นาที)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%) (v/v)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QCE/100 g db)
1	10	60	0.83±0.01 ^e
2	10	80	0.72±0.02 ^e
3	10	100	0.33±0.01 ^f
4	20	60	2.57±0.08 ^c
5	20	80	1.95±0.01 ^d
6	20	100	0.88±0.02 ^e
7	30	60	5.54±0.17 ^a
8	30	80	5.51±0.03 ^a
9	30	100	5.11±0.43 ^b

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสดมภ์ (^{a,b,c...}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

* mg QCE/100 g db = mg quercetin equivalent/100 g dry basis

4.1.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดใบหม่อน ด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการ ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) กลไกของปฏิกิริยาเกิดขึ้น โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอน แก่อนุมูลอิสระ เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนไปจะเกิดเป็นอนุมูลตัวใหม่ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่าอนุมูลอิสระเดิม อาจรวมตัวกับอนุมูลอิสระอีกโมเลกุลหนึ่งเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียร หรือมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ มาให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียรต่อไป จากการศึกษาภาวะในการสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จากการสกัดใบหม่อนที่ภาวะต่าง ๆ พบว่า สารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ระหว่าง 375.59 ± 3.47 ถึง $619.56 \pm 2.12 \mu\text{M}$ trolox/g db เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างเวลาและความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสารสกัดใบหม่อนพบว่า อิทธิพลร่วมมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 19 และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ต่อระยะเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอล พบว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เมื่อระดับความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการสกัดที่ 20 นาที พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 60% เป็น 80% (v/v) ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลจาก 80% เป็น 100% (v/v) นอกจากนี้ที่ระยะเวลาการสกัด 30 นาที พบว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้น 80% และ 100% ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หากพิจารณาที่แต่ละระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยความเข้มข้นของเอทานอล 60% (v/v) ในระยะเวลาการสกัดที่ 10, 20 และ 30 นาที มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 439.18 ± 1.17 , 550.08 ± 1.39 และ $619.56 \pm 2.12 \mu\text{M}$ trolox/g db ตามลำดับ ในทางเดียวกัน ภาวะในการสกัดใบหม่อนด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80% (v/v) ที่ระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพิ่มมากขึ้นจาก 426.10 ± 0.44 เป็น 540.08 ± 5.77 และ 570.07 ± 0.43 ตามลำดับ นอกจากนี้ภาวะการสกัดใบหม่อนที่ระดับความเข้มข้นของ

ตัวทำละลายเอทานอล 100% (v/v) ที่ระยะเวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที ส่งผลให้ สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพิ่มขึ้นจาก 375.59 ± 3.47 เป็น 489.94 ± 4.04 และ 565.33 ± 8.53 μM trolox/g db ตามลำดับ โดยการสกัดใบหม่อนโดยใช้คลีนอัลตราซาวนด์ช่วยที่ระยะเวลา 30 นาที ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล 60% (v/v) ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 619.56 ± 2.12 μM trolox/g db (ตารางที่ 20) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH นั้น มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก จำนวนหมู่ไฮดรอกซิล รวมไปถึงความสามารถในการเกิดคอนจูเกชัน (conjugation) และเรโซแนนซ์ (resonance) ในโมเลกุล ส่งผลให้สารสกัดใบหม่อนที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงจึงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงขึ้นด้วย

ในปัจจุบัน หม่อนเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความสนใจในงานวิจัยอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีหลักฐานจากงานวิจัยที่พบว่า หม่อนมีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ให้สรรพคุณทางยา (Katsube และคณะ, 2006) การศึกษาของ Doi และคณะ (2000) เกี่ยวกับสมบัติของสารสกัดใบหม่อนต่อฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันชนิด low-density lipoprotein ในกระต่ายและมนุษย์ พบว่าสารสกัดใบหม่อนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายบิวทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low-density lipoprotein ได้ ในขณะที่ Andallu และคณะ (2001) รายงานว่า ผงสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยเชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าว เกี่ยวข้องกับสารรูทีน เคอซิทีน ไอโซเคอซิทีน และสารฟลาโวนอยด์ที่พบในใบหม่อน (Zhishen และคณะ, 1999)

Bunleu และคณะ (2014) ศึกษาปัจจัยในการสกัดใบหม่อนแบบใช้คลีนอัลตราซาวนด์ช่วยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยแปรปัจจัยของความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล (30-60%) ระยะเวลา (20-40 นาที) และอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (20:1-40:1 v/w) ผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) มีค่าระหว่าง 47.67-89.88 และภาวะการสกัดที่ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่สูงที่สุดคือ การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 60% (v/v) เป็นเวลา 25.5 นาที โดยใช้อัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลวที่ 40:1 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลและอัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลวในการสกัดเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงขึ้น

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DPPH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	155073.474 ^a	8	19384.184	1221.227	.000
Intercept	6979891.776	1	6979891.776	439741.433	.000
TIME	136668.253	2	68334.127	4305.131	.000
EtOH	16014.333	2	8007.167	504.461	.000
TIME * EtOH	2390.888	4	597.722	37.657	.000
Error	285.709	18	15.873		
Total	7135250.959	27			
Corrected Total	155359.183	26			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ตารางที่ 20 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารสกัด ใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สิ่งทดลอง	เวลา (นาที)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%) (v/v)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (μM trolox/g db)
1	10	60	439.18±1.17 ^e
2	10	80	426.10±0.44 ^f
3	10	100	375.59±3.47 ^g
4	20	60	550.08±1.39 ^c
5	20	80	540.08±5.77 ^c
6	20	100	489.94±4.04 ^d
7	30	60	619.56±2.12 ^a
8	30	80	570.07±0.43 ^b
9	30	100	565.33±8.53 ^b

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์ (a,b,c...) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

งานวิจัยนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liyana-Pathirana และ Shahidi (2005) ที่รายงานว่าการใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 50-60% (v/v) เป็นตัวทำละลายในการสกัด ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากกว่าที่การสกัดที่

ระดับความเข้มข้นเอทานอลอื่น ๆ ในขณะที่การใช้ระยะเวลาในการสกัดนานเกินไป อาจส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง โดยอธิบายได้ว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแพร่จากเซลล์พืชสู่ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการสกัดต้องอยู่ในช่วงเวลาที่เหมาะสม เพราะหากใช้ระยะเวลาในการสกัดที่นานเกินไป ส่งผลทำให้เกิดการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้ในช่วงแรกจึงอาจทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลง (Bunleu และคณะ, 2014)

4.1.4 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยหลักการในการถ่ายเทอิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระให้กับสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} -TPTZ และเกิดการเปลี่ยนรูปเป็น Fe^{2+} -TPTZ และสามารถวัดการเพิ่มขึ้นของสารตัวดังกล่าวได้ด้วยการวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอล พบว่า อิทธิพลร่วมมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 21 เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการสกัดและความเข้มข้นของเอทานอลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าที่ระยะเวลาสกัด 10 20 และ 30 นาที ร่วมกับความเข้มข้นของเอทานอล 100% ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทานอล 60% (v/v) เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของเอทานอล 60 และ 80% (v/v) ที่ระยะเวลา 10 20 และ 30 นาที พบว่าสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งนี้เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ขณะที่เมื่อระดับความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลง

จากตารางที่ 22 แสดงให้เห็นว่าที่เวลาการสกัด 10 นาที และความเข้มข้นเอทานอล 60% สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ $418.37 \pm 2.59 \mu\text{M trolox/g db}$ และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นถึง 100% (v/v) พบว่าสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงและมีค่าเท่ากับ $346.12 \pm 4.22 \mu\text{M trolox/g db}$ เมื่อพิจารณาระยะเวลาเวลาการสกัดที่ 20 นาที และความเข้มข้นเอทานอล

60% สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ $751.69 \pm 1.41 \mu\text{M trolox/g db}$ และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นถึง 100% (v/v) พบว่า สารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงเท่ากับ $430.13 \pm 4.61 \mu\text{M trolox/g db}$ และระยะเวลาเวลาการสกัดที่ 30 นาที และความเข้มข้นเอทานอล 60% สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ $961.17 \pm 59.72 \mu\text{M trolox/g db}$ ในขณะที่ความเข้มข้นเอทานอลเท่ากับ 100% (v/v) สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงและมีค่าเท่ากับ $890.39 \pm 13.04 \mu\text{M trolox/g db}$

Radojkovic และคณะ (2012) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของใบหม่อน (black mulberry leaves) โดยพบว่าสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดจาก 40% เป็น 60% และพบว่าสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของเอทานอลมีค่ามากกว่า 60% (v/v) ซึ่งส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงเช่นกัน จากงานวิจัยของ Cacace และ Mazza (2003) ซึ่งศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากผลไม้กลุ่มเบอร์รี่ พบว่าในภาวะการสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 67% (v/v) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ในขณะที่ Shi และคณะ (2003) กล่าวว่า ตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขี้้ว จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการสกัดสารฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ แทนนิน จากพืชให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสารที่มีขี้้ว นอกจากนี้ Pinelo และคณะ (2005) พบว่าการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย จะทำให้เกิดพลังงานความร้อนและความดันสูงขึ้น ส่งผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusion coefficient) และความสามารถในการละลาย (solubility) ทำให้ความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิกในตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้นด้วย สารสกัดที่ได้จึงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เพิ่มขึ้น แต่การใช้อุณหภูมิในการสกัดที่สูงเกินไปจะทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกทำลายได้ (Spigno และคณะ, 2007)

ตารางที่ 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: FRAP

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1527910.92 ^a	8	190988.865	397.991	.000
Intercept	11421484.48	1	11421484.48	23800.564	.000
TIME	1326234.297	2	663117.149	1381.831	.000
EtOH	124296.793	2	62148.396	129.507	.000
TIME * EtOH	77379.829	4	19344.957	40.312	.000
Error	8637.893	18	479.883		
Total	12958033.30	27			
Corrected Total	1536548.812	26			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .992)

ตารางที่ 22 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย

สิ่งทดลอง	เวลา (นาที)	ความเข้มข้นของเอทานอล (%) (v/v)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP (μM trolox/g db)
1	10	60	418.37 \pm 2.59 ^d
2	10	80	409.77 \pm 6.98 ^{de}
3	10	100	346.12 \pm 4.22 ^e
4	20	60	751.69 \pm 1.41 ^c
5	20	80	713.46 \pm 2.48 ^c
6	20	100	430.13 \pm 4.61 ^d
7	30	60	961.17 \pm 59.72 ^a
8	30	80	940.44 \pm 17.42 ^{ab}
9	30	100	890.39 \pm 13.04 ^b

* ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์ (^{a,b,c...}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P \leq 0.05)

จากผลการทดลองพบว่า ภาวะในการสกัดด้วยความเข้มข้นเอทานอล 60% v/v เวลา 30 นาที สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (5.54 \pm 0.17 mg quercetin equivalent/100 g dry basis (db)) สารประกอบฟีนอลิก (1505.63 \pm 4.79 mg gallic

acid equivalent/100 g db) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ($619.56 \pm 2.12 \mu\text{M}$ trolox/g db) และ FRAP ($961.17 \pm 59.72 \mu\text{M}$ trolox/g db) สูงที่สุด และเลือกภาวะการสกัดนี้ในการศึกษาผลของการเอนแคปซูเลชันด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยในขั้นตอนถัดไป

4.2 การศึกษาการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดใบหม่อน

4.2.1 การศึกษาร้อยละของผลผลิตที่ได้ และประสิทธิภาพในการกักเก็บของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการหนึ่งของการห่อหุ้มสารสำคัญเพื่อปกป้องสารสำคัญจากการสลายตัวหรือการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่ต้องการระหว่างการเก็บรักษา อันเนื่องมาจากแสง ความชื้น หรือออกซิเจน การทำแห้งแบบพ่นฝอยสามารถประยุกต์ใช้กับงานได้หลากหลาย เช่น เกษษกรรม อาหารและเครื่องดื่ม และอาหารสัตว์ เป็นต้น การประยุกต์ใช้กับงานด้านอาหารและเครื่องดื่มมีวัตถุประสงค์เพื่อการห่อหุ้มสารเติมแต่ง การควบคุมการปลดปล่อยอาหารที่มีฤทธิ์ทางยา อาหารเพื่อสุขภาพ สารให้กลิ่นรส วิตามิน โปรตีน แบททีเรียโพรไบโอติก น้ำผลไม้เข้มข้น และนมผง เป็นต้น จากการศึกษาผลของชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม ต่อร้อยละผลผลิตที่ได้ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน โดยกำหนดอุณหภูมิร้อนชาเข้า 155 องศาเซลเซียส อุณหภูมิร้อนชาออก 90 องศาเซลเซียส และควบคุมอัตราการไหลของตัวอย่างที่ 3 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าร้อยละของผลผลิตที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดใบหม่อนมีค่าระหว่าง 37.87 ± 2.77 ถึง 73.99 ± 2.93 % ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนสารสกัดและสารหุ้มหุ้มต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อร้อยละของผลผลิตที่ได้ ขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มในอัตราส่วนที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันของร้อยละของผลผลิตที่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 ให้ร้อยละผลผลิตที่ได้มากที่สุด (73.99 ± 2.93 %) (ตารางที่ 18) ขณะที่ตัวอย่างที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:3 ให้ร้อยละผลผลิตที่ได้น้อยที่สุด (37.87 ± 2.77 %) โดยทั่วไปกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่มีสมบัติของความหนืดต่ำ ละลายน้ำได้ดีเนื่องจากมีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์สายสั้นที่มีลักษณะเป็นกิ่งก้านแตกแขนง อีกทั้งมีหมู่ของไฮดรอกซิลมากจึงละลายน้ำและเกาะติดกับพื้นผิวด้านในของโถทำแห้งแบบพ่นฝอย ส่งผลให้ร้อยละผลผลิตที่ได้ในการผลิตน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Muragesan และ Orsat (2011) ที่ศึกษาการผลิตผงแห้งจากน้ำ elderberry (*Sambucus nigra* L.) เพื่อกักเก็บ

สารประกอบฟีนอลิก โดยพบว่ากัมอาร์บิกให้ร้อยละผลผลิตที่ได้น้อยที่สุดที่ 59.26% เมื่อเทียบกับการใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้ม

การห่อหุ้มตัวอย่างด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสูงเกี่ยวข้องกับอิทธิพลของชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม เนื่องจากสารห่อหุ้มแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันในการเกิดโครงสร้างไมโครแคปซูล รวมถึงอุณหภูมิอากาศลมร้อนขาเข้าและขาออก และอัตราการไหลของตัวอย่าง เป็นต้น จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บ (% encapsulation efficiency) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้ม และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอาร์บิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนแตกต่างกัน ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนแตกต่างกัน ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีประสิทธิภาพในการกักเก็บแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ประสิทธิภาพในการกักเก็บของสารห่อหุ้มสำหรับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่าอยู่ในช่วง 88.22 ± 1.37 ถึง 96.97 ± 1.94 (%) ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูงที่สุด และประสิทธิภาพในการกักเก็บที่น้อยที่สุดพบในไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 ดังแสดงในตารางที่ 23

Pudziuelyte และคณะ (2019) ศึกษาผลของการใช้ชนิดของสารห่อหุ้มที่ต่างกันต่อคุณภาพของการทำแห้งผงสมุนไพร *Elsholtzia ciliata* และพบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย และกัมอาร์บิก ในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นในการเป็นสารห่อหุ้ม ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกลดลง ในขณะที่ Pai และคณะ (2015) ที่ศึกษาการผลิตไมโครแคปซูลโดยการใช่มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มสารนารินจิน พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยที่เป็นสารห่อหุ้มที่ 20% เป็น 40% (w/w) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บสารนารินจินจาก 60% เป็น 80% ตามลำดับ ซึ่งอธิบายได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารห่อหุ้มมีผลในการเพิ่มความหนาของไมโครแคปซูลจึงมีความสามารถในการห่อหุ้มสารภายในแกนกลางได้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 23 ร้อยละของผลผลิตที่ได้ และประสิทธิภาพในการกักเก็บของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ผลผลิตที่ได้ (%)	ประสิทธิภาพการกักเก็บ (%)
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:1	52.50±3.81 ^b	92.26±1.43 ^{ab}
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:2	54.65±4.37 ^b	70.28±2.28 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	73.99±2.93 ^a	96.97±1.94 ^a
40% มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	60.10±2.52 ^b	93.88±0.58 ^{ab}
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	46.00±4.41 ^c	88.22±1.37 ^c
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	37.87±2.77 ^c	89.27±3.49 ^{bc}

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์ (^{a,b,c...}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

4.2.2 การศึกษาความสามารถในการละลายและอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ความสามารถในการละลายบ่งบอกคุณภาพของไมโครแคปซูลต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ กล่าวคือ หากความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสูง ทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญภายในโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในทางกลับกันหากความสามารถในการละลายต่ำส่งผลให้การปลดปล่อยสารสำคัญภายในโครงสร้างไมโครแคปซูลน้อยลง อีกทั้งอาจเกิดการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จากการศึกษาความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มแตกต่างกันไม่ส่งผลต่อความสามารถในการละลาย โดยความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่าระหว่าง 91.62±1.77 ถึง 93.23±0.86 % (ตารางที่ 24) และการใช้มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีความสามารถในการละลายสูงสุด อธิบายได้ว่าโครงสร้างของมอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเกิดจากการใช้

ความร้อนและเอนไซม์ในการตัดพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง α -1,4 และ 1,6 ระหว่างโมเลกุลของกลูโคส จากนั้นจึงเกิดการจัดเรียงโครงสร้างใหม่ด้วยการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง α - และ β -(1,2), (1,3) และ (1,6) โครงสร้างของมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยจึงแตกแขนงมากกว่ามอลโตเดกซ์ทริน โครงสร้างจึงมีความหนาแน่นและมีหมู่ไฮดรอกซิลที่สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำมากขึ้น ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนที่ใช่มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มมีประสิทธิภาพในการละลายที่ดี ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pudziuvelyte และคณะ (2019) ที่รายงานว่ามอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยมีความสามารถในการละลายสูงที่สุดเมื่อเทียบกับมอลโตเดกซ์ทริน โซเดียมเคซีเนต นมพร่องมันเนย เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน และกัมอารบิกที่ใช้เป็นสารห่อหุ้มในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัด *Elsholtzia ciliate* อีกทั้งการเพิ่มความเข้มข้นของสารห่อหุ้มในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนจากอัตราส่วน 1:1 เป็น 1:2 ส่งผลให้ความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนเพิ่มขึ้น

อุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ถือเป็นคุณสมบัติหนึ่งของการผลิตไมโครแคปซูลด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย อุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วแสดงถึงระดับอุณหภูมิที่ตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนสถานะจากสถานะคล้ายแก้วเป็นสถานะคล้ายยาง โดยที่อุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วในตัวอย่างจะมีค่าแตกต่างกันไป ในภาวะการเก็บรักษาไมโครแคปซูล หากเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว ไมโครแคปซูลจะยังคงสภาพปกติ แต่หากเก็บรักษาไมโครแคปซูลที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลส่วนโครงสร้างของไมโครแคปซูลที่เป็นอัญฐาน จะเปลี่ยนสถานะจากสถานะคล้ายแก้ว ซึ่งมีความแข็งเปราะกลายเป็นสถานะคล้ายยางซึ่งมีลักษณะเหนียวหนืด และโครงสร้างจัดตัวกันไม่เป็นระเบียบ (Truong และคณะ, 2005) ตารางที่ 24 แสดงอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนที่แปรชนิดและอัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้มต่าง ๆ โดยมีค่าระหว่าง 52.8 ถึง 68.1 องศาเซลเซียส หมายความว่า ไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนอยู่ในสถานะคล้ายแก้วหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($T_{\text{การเก็บรักษา}} < T_g$) และพบว่าอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนที่มีค่าสูงที่สุด พบในไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนที่ใช่มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 และอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดไบโหม่อนที่มีค่าต่ำที่สุด พบในตัวอย่างที่ใช่มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 อุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของตัวอย่างที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยสามารถเป็นตัวชี้วัดความคงตัวของตัวอย่างที่มักเก็บรักษาเป็นเวลานาน ในขณะที่

Ferrari และคณะ, (2013) พบว่าตัวอย่างใช้มอลโตเดกซ์ทริน และกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มในการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วระหว่าง 51-60 องศาเซลเซียส แสดงว่าตัวอย่างอยู่ในสถานะคล้ายแก้วที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ผลการศึกษานี้ยังสอดคล้องกับการใช้มอลโตเดกซ์ทริน และกัมอารบิก ในการผลิตอาเซอิมงด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ตารางที่ 24 ความสามารถในการละลายและอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ความสามารถในการละลาย ^{ns}	อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:1	92.00±0.07	52.8
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:2	92.72±0.85	ND
40% มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	93.19±1.48	66.2
40% มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	93.23±0.86	68.1
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	92.57±0.57	ND
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	91.62±1.77	66.2

* ND: not detected

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษร (^{ns}) ในแนวสทมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P>0.05)

มีรายงานเพิ่มเติมว่า ตัวอย่างที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มในการผลิตผงอะเซโรลาเซอร์รีมีอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วต่ำกว่าในการผลิตผงน้ำแบล็คเบอร์รี เนื่องจากปริมาณน้ำตาลและกรดที่เป็นองค์ประกอบในผงน้ำแบล็คเบอร์รีที่มีมากกว่าในอะเซโรลาเซอร์รี และยังพบว่าอุณหภูมิในการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วในทุกตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน เนื่องจากในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยใช้ปริมาณของสารห่อหุ้ม (56%) ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำเบอร์รี (44%) และปริมาณของน้ำที่ใช้เท่ากัน

4.2.3 การศึกษาปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของไมโครแคปซูล ปริมาณน้ำที่มีในอาหารทั้งหมดประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนของน้ำที่เกาะติดกับอาหาร หรือถูกใช้ในการสร้างพันธะ เช่น พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก เป็นต้น และอีกส่วนคือ ปริมาณน้ำอิสระที่ไม่ได้ใช้ในการสร้างพันธะ แต่จะอยู่ภายในช่องว่างของอาหาร ทั้งนี้ปริมาณความชื้นคือ การรวมน้ำทั้งสองส่วนเข้าด้วยกันจึงหมายถึงปริมาณน้ำทั้งหมดในอาหาร ปริมาณน้ำอิสระเป็นโมเลกุลของน้ำที่พร้อมจะเปลี่ยนสถานะจากของเหลวไปเป็นไอ การถนอมอาหารด้วยวิธีการดั้งเดิมที่ใช้หลักการทำให้แห้งหรือทำให้ชื้นถือเป็นการกำจัดปริมาณน้ำอิสระออกไปด้วยวิธีการระเหย ส่วนการเติมเกลือ น้ำตาล หรือส่วนผสมอื่น ๆ ลงไป เพื่อให้โมเลกุลของสารนั้นสร้างพันธะกับน้ำอิสระ ส่งผลให้ค่ากิจกรรมของน้ำลดลง โดยค่ากิจกรรมของน้ำมีค่าระหว่าง 0-1 โดยพบว่าค่ากิจกรรมของน้ำแสดงความสัมพันธ์กับการ เจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร โดยเฉพาะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และเนื่องจากค่ากิจกรรมของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว ดังนั้นการควบคุมค่ากิจกรรมของน้ำจึงเป็นวิธีที่นิยมในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทางอาหาร โดยควบคุมให้ค่ากิจกรรมของน้ำมีค่าต่ำกว่าค่าที่เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ เจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ ค่ากิจกรรมของน้ำยังเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาเคมีและชีวเคมีในอาหารด้วย อาทิ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ขณะที่ปริมาณความชื้นแสดงถึงองค์ประกอบของน้ำในระบบอาหารโดยทั่วไป อาหารแห้งโดยเฉพาะอาหารผงควรมีปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำน้อยเพื่อลดโอกาสในการเกิดเกาะตัว (agglomeration) และรวมกลุ่มกันเป็นก้อน (caking) โดยหากตัวอย่างผงแห้งมีปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำสูงจะส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาได้ เนื่องจากผงแห้งที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีรูปร่างไม่เสถียร หากมีความชื้นมากพอจะทำให้ผงที่ได้พยายามเคลื่อนที่เข้าหากัน แล้วเกิดการดูดความชื้นเข้าสู่พื้นผิว ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายในได้ (Ramakrishnan และคณะ, 2018)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (% moisture content) และค่ากิจกรรมของน้ำของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มพบว่า ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้ชนิดและอัตราส่วนของของสารห่อหุ้มแตกต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำ โดยไมโครแคปซูลสาร

สกัดใบหม่อนมีปริมาณความชื้น (%) ระหว่าง 3.70 ± 0.63 ถึง 5.09 ± 0.43 และมีค่ากิจกรรมของน้ำในช่วง 0.21 ± 0.01 ถึง 0.31 ± 0.05 ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของอาหารแห้ง (dried food) โดยผลิตภัณฑ์อาหารแห้งจะต้องมีปริมาณความชื้นไม่เกิน 8% และค่ากิจกรรมของน้ำต้องต่ำกว่า 0.6 จากตารางที่ 25 แสดงให้เห็นว่า เมื่ออัตราส่วนของสารห่อหุ้มเพิ่มขึ้นส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำลดลง Pudziuvelyte และคณะ (2019) พบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทริน มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย และกัมอารบิกที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณความชื้นของตัวอย่างจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณลดลง นอกจากนี้การศึกษาการผลิตผงน้ำแบล็คเบอร์รี่ด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้ม พบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดมีปริมาณความชื้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้กัมอารบิก และของผสมระหว่างมอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิก (Ferrari และคณะ, 2013) ในขณะที่ Righetto และ Netto (2005) รายงานว่า มอลโตเดกซ์ทริน (DE 25) มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณความชื้น ในตัวอย่างจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยอะเซโรล่า เซอร์รี่มากกว่าใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้ม เพราะความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีของสารห่อหุ้มทั้ง 2 ชนิด เนื่องจากกัมอารบิกเป็นเฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน มีกิ่งแขนง และมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี

ตารางที่ 25 ปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ปริมาณความชื้น (%) ^{ns}	ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ ^{ns}
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:1	4.39 ± 0.70	0.29 ± 0.04
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:2	3.70 ± 0.63	0.25 ± 0.07
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	5.09 ± 0.43	0.31 ± 0.05
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	4.26 ± 0.60	0.22 ± 0.04
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	4.53 ± 0.40	0.29 ± 0.06
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	4.16 ± 0.51	0.21 ± 0.01

* ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษร (^{ns}) ในแนวสทมภ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

4.2.4 การศึกษาค่าสี L^* a^* b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย

จากการวิเคราะห์ค่าสีของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยโดยแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม (ตารางที่ 22) พบว่าการแปรชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มส่งผลต่อ ค่า L^* , a^* และ b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่า L^* , a^* และ b^* อยู่ในช่วง 75.56 ± 0.12 ถึง 87.98 ± 0.86 , -12.20 ± 1.14 ถึง -6.29 ± 0.03 และ 15.53 ± 0.03 ถึง 22.31 ± 2.38 ตามลำดับ (ตารางที่ 26) โดยค่า L^* บ่งบอกถึงความสว่างมีค่าตั้งแต่ 0-100 ซึ่ง 0 หมายถึงสีดำ และ 100 หมายถึงสีขาว (สว่างมาก) ซึ่งไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีค่าความสว่างสูงสุด และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีค่าความสว่างน้อยที่สุดในขณะที่ค่า a^* บ่งบอกถึงค่าความเป็นสีเขียว ($-a^*$) ไปจนถึงสีแดง ($+a^*$) โดยค่า a^* ในทุกตัวอย่างมีค่าเป็นลบซึ่งบ่งบอกถึงค่าความเป็นสีเขียวของตัวอย่าง โดยไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีค่าความเป็นสีเขียวมากที่สุด (-12.20 ± 1.14) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 นอกจากนี้ค่า b^* สามารถบ่งบอกถึงค่าความเป็นสีน้ำเงิน ($-b^*$) ไปจนถึงสีเหลือง ($+b^*$) โดยพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนทุกตัวอย่างมีค่าสีไปทางสีเหลือง โดยสิ่งทดลองที่มีค่าความเป็นสีเหลืองมากที่สุดคือ ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 จากค่า a^* และ b^* สามารถสรุปได้ว่าไมโครแคปซูลใบหม่อนในทุกตัวอย่างมีสีเขียวอมเหลือง

ตารางที่ 26 ค่าสี L* a* b* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	L*	a*	b*
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:1	82.2±1.07 ^c	-12.20±1.14 ^c	22.31±2.38 ^a
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:2	87.98±0.86 ^a	-9.45±0.79 ^b	16.11±0.56 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	75.56±0.12 ^d	-12.17±0.80 ^c	21.14±0.82 ^{ab}
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	85.01±1.07 ^{bc}	-8.45±0.32 ^b	19.64±1.29 ^{ab}
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	84.17±1.73 ^{bc}	-9.90±0.16 ^b	18.65±1.03 ^{bc}
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	85.647±0.51 ^{ab}	-6.29±0.03 ^a	15.53±0.03 ^c

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์ (a,b,c...) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

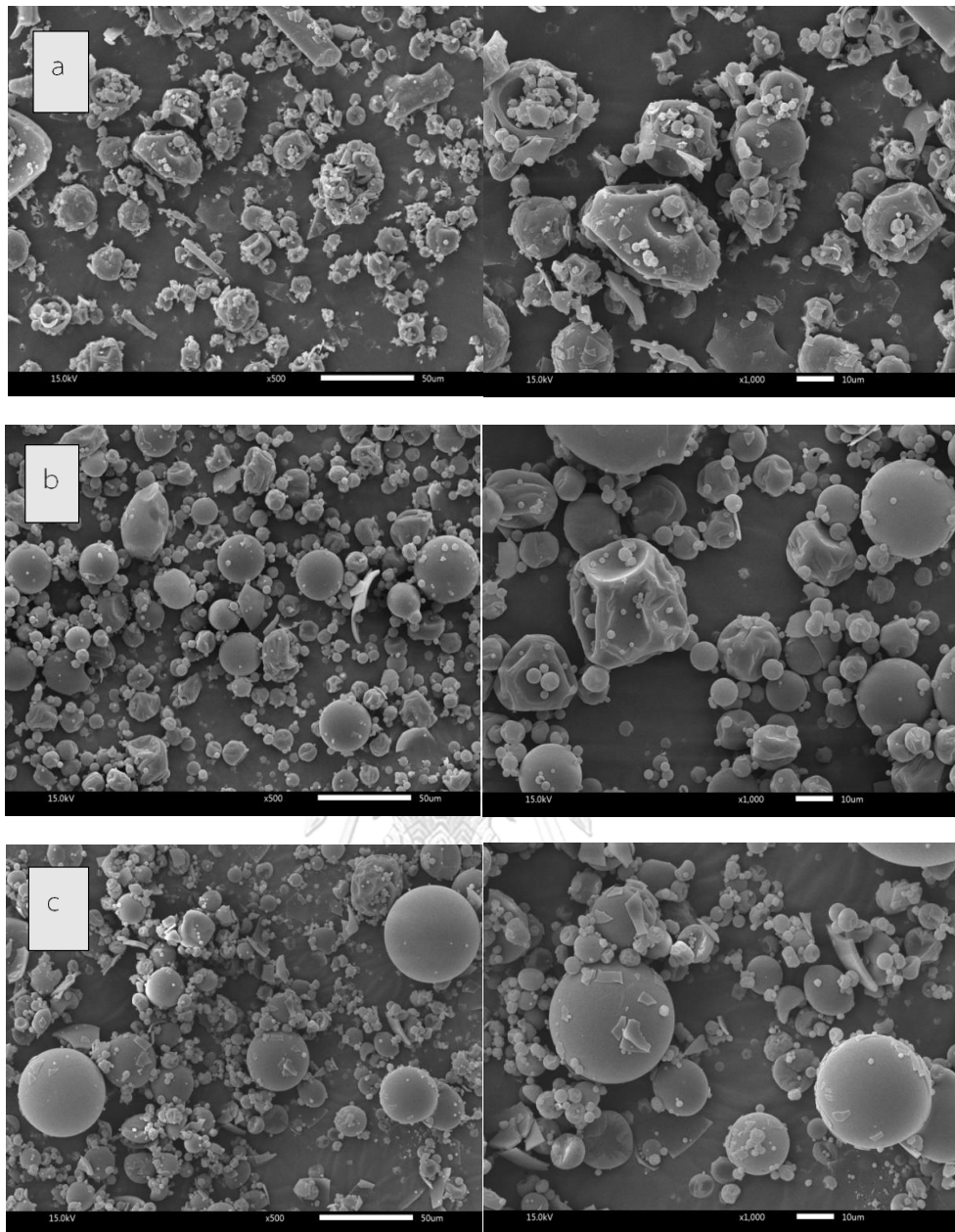
4.2.5 การศึกษาลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลที่ดีควรมีพื้นผิวเรียบ มีรูปร่างทรงกลม ไม่ควรมีรอยจีบ หรือรอยบุบ จากรูปที่ 35-36 แสดงผลการศึกษาลักษณะรูปร่างภายนอกด้วยเครื่องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope-SEM) ที่กำลังขยาย 500 และ 1,000 เท่า ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ผ่านการเอนแคปซูลขึ้นด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้มอลโตเดกซ์ทรีน มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย และกัมอารบิก ที่อัตราส่วนแตกต่างกันเป็นสารห่อหุ้ม และพบว่ารูปร่างของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีรูปร่างทรงกลม พื้นผิวไมโครแคปซูลปรากฏรอยบุบ (รูปที่ 35a) เนื่องจากไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนเมื่อถูกทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้เกิดแรงดันของไอน้ำต่อโครงสร้างภายในของไมโครแคปซูล ส่งผลให้เกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วของพื้นผิวจากการสูญเสียความชื้น ทำให้โครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลมีรอยจีบและรอยบุบ เมื่อเพิ่มปริมาณอัตราส่วนของมอลโตเดกซ์ทรีนที่ใช้เป็นสารห่อหุ้มเป็น 1:2 พบว่าบริเวณพื้นที่ผิวของไมโครแคปซูลมีลักษณะทรงกลมและผิวเรียบมากขึ้น ขณะที่รอยบุบมีปริมาณลดลง ดังแสดงในรูปที่ 35b เนื่องจากการเพิ่มอัตราส่วนของ

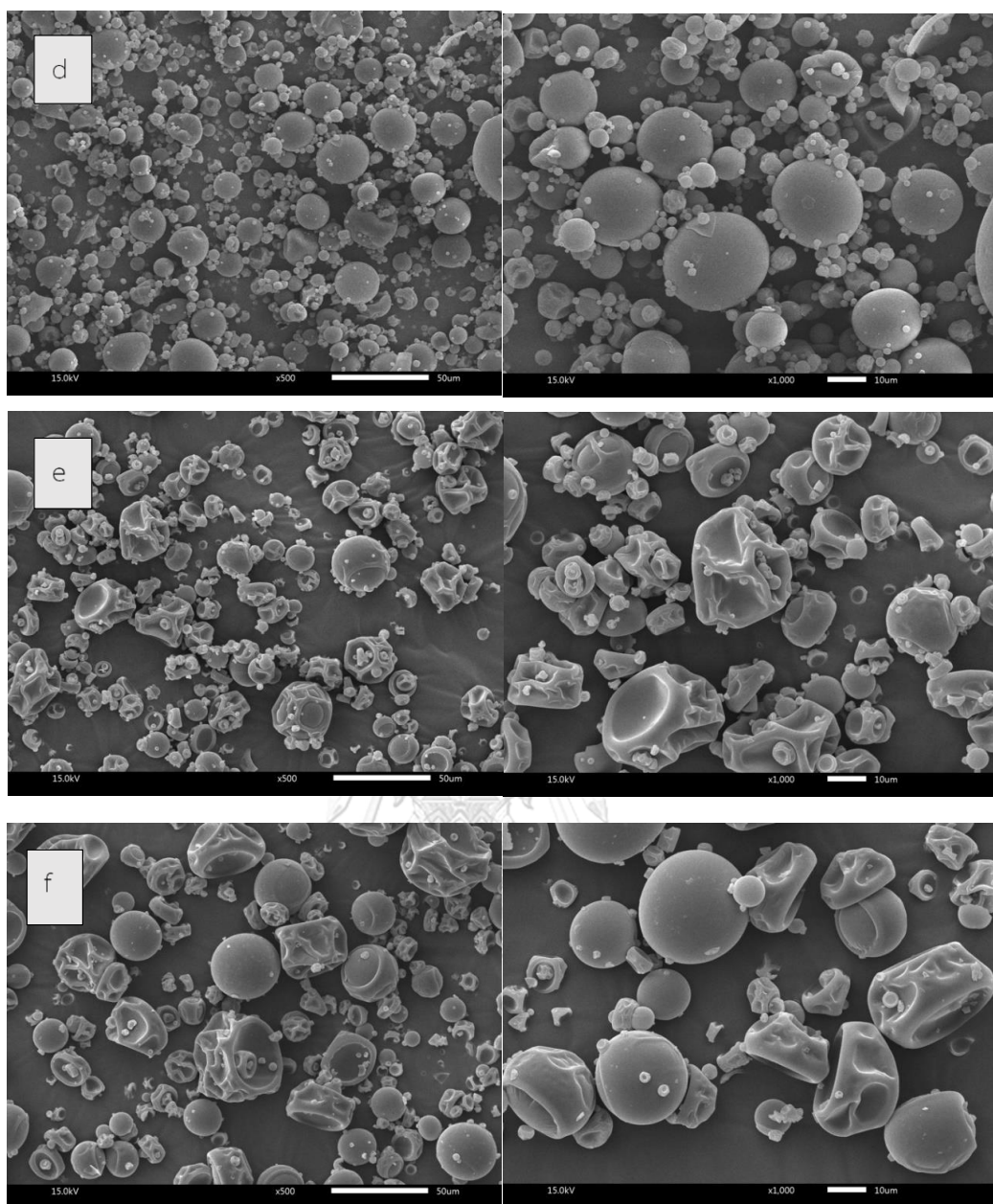
มอลโตเดกซ์ทรินที่ใช้ในการเป็นสารหล่อหุ้ม สามารถเพิ่มความหนาของชั้นสารหล่อหุ้มส่งผลให้รูปร่างของไมโครแคปซูลที่ได้มีพื้นผิวด้านนอกเรียบ และรูปร่างทรงกลมมากกว่าไมโครแคปซูลที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินอัตราส่วน 1:1 ขณะที่การใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 (รูปที่ 35c) และ 1:2 (รูปที่ 36d) ส่งผลให้โครงสร้างพื้นผิวภายนอกของไมโครแคปซูลไม่แตกต่างกัน โดยพบว่าไมโครแคปซูลมีรูปร่างเป็นทรงกลม พื้นผิวเรียบ แต่ไมโครแคปซูลที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีหลายขนาด และพบไมโครแคปซูลที่มีขนาดเล็กเกาะติดล้อมรอบไมโครแคปซูลที่มีขนาดใหญ่ เมื่อพิจารณาการใช้กัมอารบิกเป็นสารหล่อหุ้ม พบว่าไมโครแคปซูลที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 (รูปที่ 36e) และ 1:3 (รูปที่ 36f) ปรากฏรูปร่างของไมโครแคปซูลที่คล้ายคลึงกัน แต่พบรอยบวมและรอยจีบมากกว่าในไมโครแคปซูลที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 และลักษณะรูปร่างของ ไมโครแคปซูลมีความใกล้เคียงกับการใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 แต่ปรากฏรอยจีบและรอยบวมน้อยกว่า ทั้งนี้พบว่ารูปร่างและลักษณะพื้นผิวของไมโครแคปซูลที่ได้มีความสอดคล้องกับประสิทธิภาพการกักเก็บ เนื่องจากไมโครแคปซูลที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารหล่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:2 มีรูปร่างทรงกลม พื้นผิวเรียบ ไม่มีรอยบวมและรอยจีบ พบว่ามีประสิทธิภาพในการหล่อหุ้มสูง โดยอุณหภูมิของอากาศขาเข้า และชนิดของสารหล่อหุ้ม รวมไปถึงอัตราส่วนที่ใช้อาจส่งผลต่อรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน โดยจากรายงานวิจัยพบว่าสารที่มีมวลโมเลกุลมากกว่าในการใช้เป็นสารหล่อหุ้มสามารถช่วยเพิ่มความหนาของชั้นฟิล์มให้มากขึ้น โดยมวลโมเลกุลของกัมอารบิก มอลโตเดกซ์ทริน และมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย มีค่าเท่ากับ 617,320 g/mol 41,640 g/mol และ 4,230 g/mol ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามวลโมเลกุลของมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยมีค่าน้อยกว่ามอลโตเดกซ์ทริน งานวิจัยของ Ramakrishan และคณะ (2018) อธิบายว่าการเพิ่มอัตราส่วนของสารหล่อหุ้มที่มีมวลโมเลกุลมากขึ้นสามารถส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีชั้นฟิล์มของสารหล่อหุ้มหนาขึ้น ปรากฏรอยบวมและรอยจีบน้อยลง และอธิบายเพิ่มเติมว่า การใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยซึ่งมีมวลโมเลกุลน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับมอลโตเดกซ์ทริน แต่กลับมีพื้นผิวที่เรียบและรูปร่างทรงกลมมากกว่า จากการใช้กัมอารบิกและมอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารหล่อหุ้มของการผลิตผงน้ำแบล็คเบอร์รี่ พบว่าการใช้กัมอารบิกเป็นสารหล่อหุ้มส่งผลให้ไมโครแคปซูลของผงน้ำแบล็คเบอร์รี่มีขนาดเล็ก มีรอยบวมและรอยจีบ ในขณะที่มอลโตเดกซ์ทรินส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีลักษณะใหญ่ และพื้นผิวเรียบกว่าการใช้กัมอารบิก (Ferrari และคณะ, 2013) จากการศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยในตัวอย่างน้ำหม่อน พบว่าไมโครแคปซูลที่ได้จากการใช้

มอลโตเดกซ์ทริน DE 20 เป็นสารห่อหุ้มมีขนาดใหญ่ รูปร่างอัญฐาน และยึดเกาะกันระหว่างไมโครแคปซูลอย่างแน่นหนา ในขณะที่กัมอารบิกสามารถก่อตัวเป็นไมโครแคปซูลที่มีรูปร่างทรงกลม และจัดกระจายตัวมากกว่า (Fazaeli และคณะ, 2012) ในทางตรงกันข้าม Tonon และคณะ (2009) รายงานว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยในตัวอย่างอาเซอิเบอร์รี่โดยใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้ม ส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูลไม่แตกต่างกัน โดยมีรูปร่างทรงกลม และพื้นผิวมีรอยจีบ





รูปที่ 33 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500 เท่า และ 1000 เท่า (ซ้ายไปขวา ตามลำดับ) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน a) มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1, b) มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และ c) มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1



รูปที่ 34 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500 เท่า และ 1000 เท่า (ซ้ายไปขวา ตามลำดับ) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน d) มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2, e) กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และ f) กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:3

นอกจากนี้ Saénz และคณะ (2009) อธิบายว่ารอยบุบและรอยจีบที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของไมโครแคปซูลเป็นผลเนื่องมาจากการหดตัวของไมโครแคปซูลที่มีโครงสร้างทรงกลมกลวงที่อยู่ตัวลง เนื่องจากการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วระหว่างการทำให้แห้ง ส่งผลให้พื้นผิวเกิดเป็นรอยบุบและรอยจีบขนาดเล็ก (Re, 1998) ซึ่งลักษณะของไมโครแคปซูลที่ดีควรมีผิวเรียบ รูปร่างทรงกลม จึงถือว่าเป็นไมโครแคปซูลที่มีความเสถียรในการกักเก็บ และสามารถควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญภายในได้ดี (Osorio และคณะ, 2010) โดยลักษณะของไมโครแคปซูลที่พบรอยจีบและรอยบุบค่อนข้างมากมีแนวโน้มในการลดประสิทธิภาพในการกักเก็บสารแอนโทไซยานินลง (Ferrari และคณะ, 2013)

4.2.6 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย

สารฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานคือ โครงสร้างแกนที่มีคาร์บอน 15 อะตอมที่เป็นวงแหวนเบนซีน 2 วง แหวน (ring A และ ring B) ต่อกับสายที่ประกอบด้วยคาร์บอน 3 อะตอม (3-carbon linking chain) ดังนั้นโครงสร้างทั่วไปของสารฟลาโวนอยด์คือ C₆-C₃-C₆ ถ้าในโครงสร้างไม่มีวงแหวน C (ring C) สารนั้นจะถูกจัดในกลุ่มซาลิโคนซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ต่าง ๆ (Corradini และคณะ, 2011) องค์ประกอบหลักของสารสกัดใบหม่อนประกอบด้วยสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เช่น เควอซิทิน แอสทากาลิน ไอโซเคสอซิทริน และรูทีน (Kim และคณะ, 1999) ซึ่งสารฟลาโวนอยด์จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่พบจากไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจึงสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากการศึกษาผลของการใช้ชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าการใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนแตกต่างกัน ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มอัตราส่วนของสารห่อหุ้มแต่ละชนิด ส่งผลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารห่อหุ้มพบว่า ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.81 ± 0.04 mg QCE/100 g db ขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด (0.26 ± 0.04 mg QCE/100 g db) (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QCE/100 g db)
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:1	0.69±0.02 ^b
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:2	0.26±0.04 ^e
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	0.57±0.06 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	0.34±0.01 ^d
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	0.81±0.04 ^a
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	0.74±0.01 ^{ab}

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสทมภ์^(a,b,c...) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

* mg QCE/100 g db = mg quercetin equivalent/100 g dry basis

กัมอารบิกเป็นโมเลกุลที่มีประจุสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบทั้งชนิดที่ละลายในน้ำและละลายในไขมัน กัมอารบิกทำหน้าที่ป้องกันการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย ส่งผลให้มีการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไว้ในโครงสร้างได้มาก ผลของการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่า สารห่อหุ้มที่มีมวลโมเลกุลสูงมีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบที่ละลายในน้ำและในน้ำมันได้ดี (มวลโมเลกุลของกัมอารบิก = 617,320 g/mol มอลโตเดกซ์ทริน = 41,640 g/mol และมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย = 4,230 g/mol) เนื่องจากสารห่อหุ้มที่มีมวลโมเลกุลสูงช่วยเพิ่มอัตราการก่อตัวของฟิล์มแห้งที่พื้นผิวของผงได้ (Bangs และคณะ, 1990)

4.2.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

สารประกอบฟีนอลิกมีความสำคัญกับมนุษย์ เนื่องจากเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ สารประกอบฟีนอลิกหลายตัวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็งได้ สารประกอบฟีนอลิกช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนโดยแปรชนิดและอัตราส่วนสารห่อหุ้ม พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าระหว่าง 45.77 ± 1.73 ถึง 163.83 ± 5.00 mg GAE/100 g db และพบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรีนและมอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยที่อัตราส่วนเดียวกัน ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกันกับการใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 และกัมอารบิก 1:3 ที่ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่าไมโครแคปซูลสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดในตัวอย่างที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 รองลงมาคือการใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:3 การใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรีนด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และการใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 ตามลำดับ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 163.83 ± 5.00 , 154.94 ± 2.92 , 58.27 ± 2.54 , 56.61 ± 4.73 , 54.94 ± 2.54 และ 45.77 ± 1.73 mg GAE/100 g db ตามลำดับ (ตารางที่ 28) Rajabi และคณะ (2015) รายงานว่าการใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มในการผลิตผงน้ำผึ้งที่มีการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมและใบโหระพา ส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติของกัมอารบิกที่มีความสามารถในการละลายสูง ความหนืดต่ำ และเกิดเป็นอิมัลชันเคลือบที่พื้นผิวของไมโครแคปซูลได้ดี จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลของกัมอารบิกอย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกันกับผลการศึกษาของ Murli และคณะ (2015) ที่ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดจากหญ้าฝรั่น (saffron extract) และน้ำแครอทดำ (black carrot juice)

ตารางที่ 28 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารที่หุ้ม (w/w)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 g db)
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:1	58.27±2.54 ^b
40% มอลโตเดกซ์ทริน (MD) อัตราส่วน 1:2	45.77±1.73 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	56.61±4.73 ^b
40% มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	54.94±2.54 ^{bc}
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	163.83±5.00 ^a
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	154.94±2.92 ^a

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสดมภ์ (^{a,b,c}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

* mg GAE/100 g db = mg gallic acid equivalent /100 g dry basis

4.2.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร สามารถรับอิเล็กตรอนเพิ่มได้แล้วกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ เมื่อรับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นทำให้มีโครงสร้างเปลี่ยนไปจึงหมดความเป็นอนุมูลอิสระ จากการศึกษาผลของชนิดของสารที่หุ้มและอัตราส่วนที่แตกต่างกันในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ผลิตจากชนิดของสารที่หุ้มและอัตราส่วนที่แตกต่างกัน มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 43.15±3.84 ถึง 184.43±2.70 μM trolox equivalent/g db และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ผลิตจากการใช้กัมอาราบิกเป็นสาร

ห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่สูงที่สุด (184.43 ± 2.70) รองลงมาคือ การใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:3 การใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และ การใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 โดยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 167.76 ± 3.35 , 88.28 ± 4.37 , 83.92 ± 3.35 , 67.51 ± 1.77 และ 43.15 ± 3.84 $\mu\text{M trolox equivalent/g db}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 29)

Ferrari และคณะ (2013) รายงานว่าตัวอย่างที่ได้จากการใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินหรือของผสมระหว่างกัมอาราบิกและมอลโตเดกซ์ทรินในการทำแห้งแบบพ่นฝอยน้ำแบบสปีดเบอร์รี่ เนื่องจากส่วนของโปรตีนในกัมอาราบิกอาจมีส่วนทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non enzymatic browning reaction) ในระหว่างขั้นตอนการทำแห้ง ส่งผลให้ตัวอย่างที่ได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ในขณะที่ Pitalua และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผงน้ำปีทรูทจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้ม และพบว่าสัดส่วนโปรตีนของกัมอาราบิกช่วยให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งส่งผลให้เกิดสารประกอบตัวกลางและอาจเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ได้

ตารางที่ 29 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (μM trolox equivalent/g db)
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:1	88.28 \pm 4.37 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:2	43.15 \pm 3.84 ^e
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	83.92 \pm 3.35 ^c
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	67.51 \pm 1.77 ^d
20% กัมอาราบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	184.43 \pm 2.70 ^a
20% กัมอาราบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	167.76 \pm 3.35 ^b

* ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสดมภ์ (a,b,c...) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P \leq 0.05)

4.2.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

สารสกัดจากพืชสมุนไพรมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย แต่เนื่องจากสารดังกล่าวมักมีความไม่เสถียรต่อแสง ออกซิเจน และความชื้น จึงมีการคิดค้นวิธีต่าง ๆ เพื่อรักษาคุณภาพของสารสกัด รวมถึงยืดอายุการจับเก็บ การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นการใช้ความร้อนในการทำแห้งตัวอย่างเพื่อลดความชื้นในตัวอย่างและง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกับการใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่การใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 239.39 \pm 1.91 μM trolox equivalent/g db (ตารางที่ 30) รองลงมาคือการใช้กัมอาราบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:3 การใช้มอลโตเดกซ์ทรีนเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อยเป็น

สารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:1 การใช้มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 และการใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 โดยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 236.27 ± 1.30 , 113.77 ± 10.61 , 102.52 ± 2.01 , 72.72 ± 2.35 และ 54.70 ± 9.83 $\mu\text{M trolox equivalent/g db}$ ตามลำดับ เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองนี้พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มอัตราส่วน 1:2 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด จึงสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เมื่อสารทั้งสองที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณมาก จึงมีความเป็นไปได้ว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ผลิตจากชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มชนิดนั้นมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงจากการรายงานพบว่า ไมโครแคปซูลพรอปโพลิสที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้ม (Busch และคณะ, 2017) Ramakrishnan และคณะ (2018) กล่าวว่า การใช้กัมอารบิกมีประสิทธิภาพในการเป็นสารห่อหุ้มที่ดีกว่ามอลโตเดกซ์ทริน เนื่องจากตัวอย่างที่ห่อหุ้มด้วยกัมอารบิกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากัมอารบิกมีปฏิสัมพันธ์กับสารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วได้ดีจึงเกิดเป็นโครงสร้างที่สามารถป้องกันความร้อนระหว่างการสัมผัสกับอุณหภูมิที่สูงขึ้นในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

เมื่อพิจารณาจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่า ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (184.43 ± 2.70 $\mu\text{M trolox equivalent/g db}$) และ FRAP (239.39 ± 1.91 $\mu\text{M trolox equivalent/g db}$) สูงสุด และเลือกภาวะการเอนแคปซูลเลชันด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยนี้ไปใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ค่ากิจกรรมของน้ำ ค่าสี (L^* a^* b^* และ ΔE^*) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 30 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ชนิดและความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม (w/w)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (μM trolox equivalent/g db)
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:1	113.77 \pm 10.61 ^b
40% มอลโตเดกซ์ทรีน (MD) อัตราส่วน 1:2	54.70 \pm 9.83 ^d
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:1	102.52 \pm 2.01 ^b
40% มอลโตเดกซ์ทรีนต้านทานการย่อย (RMD) อัตราส่วน 1:2	72.72 \pm 2.35 ^c
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:2	239.39 \pm 1.91 ^a
20% กัมอารบิก (GA) อัตราส่วน 1:3	236.27 \pm 1.30 ^a

* ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวสดมภ์ (^{a,b,c...}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

4.3 การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

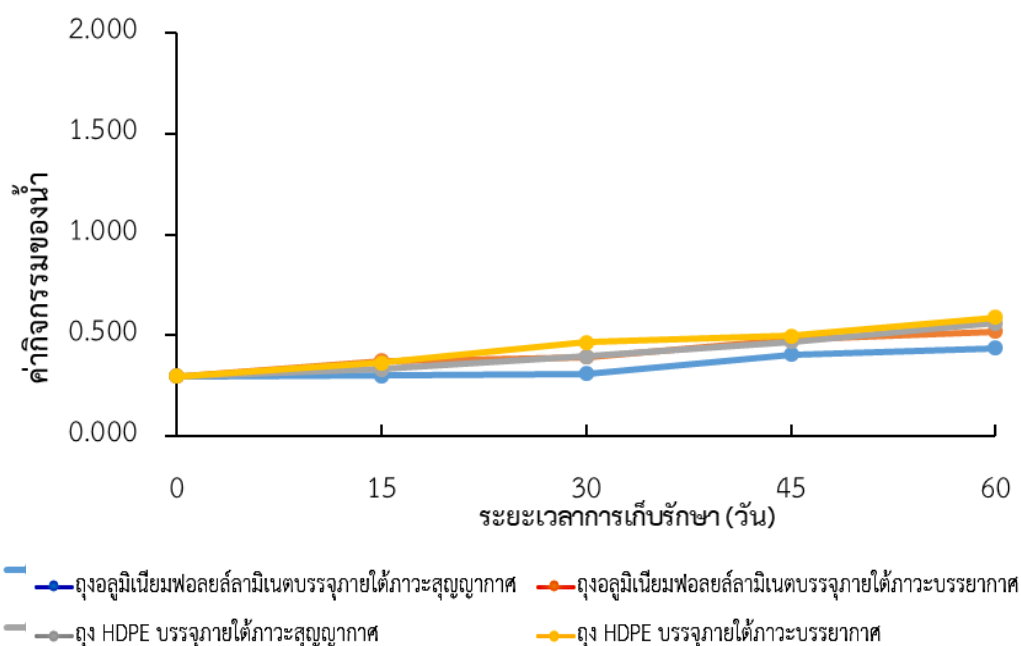
บรรจุภัณฑ์ทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ที่บรรจุภายใน ชะลอการเสื่อมเสียคุณภาพซึ่งอาจเกิดจากการเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านความปลอดภัย รวมไปถึงเกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ หรือการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส จนผู้บริโภคไม่ยอมรับ การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเหมือนเพิ่งผลิตมาใหม่ และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นช่วยลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งยังช่วยเพิ่มมูลค่าและเป็นสื่อแนะนำเสนอข้อมูลผลิตภัณฑ์สร้างความดึงดูดใจต่อผู้บริโภคการเลือกบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม นอกจากจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาแล้วยังช่วยลดต้นทุนการใช้บรรจุภัณฑ์ได้อีกด้วย

ถุงอะลูมิเนียมพอยล์มีคุณสมบัติสำหรับการผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ดีที่สุดถ้าเทียบกับฟิล์มพลาสติกชนิดอื่น ๆ ตามที่กล่าวมาข้างต้น แต่ก็มีราคาแพงที่สุดเช่นกัน โดยถุงอะลูมิเนียมพอยล์มีคุณสมบัติในการป้องกันได้ทั้งแก๊สต่าง ๆ ป้องกันการซึมผ่านของ กลิ่น น้ำมัน และแสงได้อย่างดีเยี่ยม

ทำให้สามารถปกป้องและถนอมผลิตภัณฑ์ที่บรรจุอยู่ภายในได้ยาวนานกว่าฟิล์มชนิดอื่น ๆ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ใช้ได้กับบรรจุภัณฑ์อาหาร ยา เป็นต้น ทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว และยัง สามารถเคลือบอะลูมิเนียมพอยล์ด้วยสารชนิดอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติทนการกัดกร่อนได้ นอกจากนี้ ลักษณะผิวที่มันวาวของอะลูมิเนียมพอยล์ยังให้ความสวยงามกับบรรจุภัณฑ์เช่นเดียวกับการใช้ฟิล์ม Metalized อีกด้วย นิยมใช้บรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมพอยล์กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการปกป้องจากแสง ความชื้น และต้องการรักษากลิ่นหอมให้ยาวนาน อาทิเช่น บรรจุอาหารเสริม ยา เครื่องสำอาง ขนมอบิสกิต ซีออคโกแลต ชา กาแฟ ขนมอบื่น ๆ ที่ต้องการคงความสมบูรณ์ของคุณภาพ

4.3.1 กิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต (laminated aluminium foil bag) และถุงพลาสติกชนิด HDPE (high-density polyethylene) ภายใต้ภาวะการบรรจุแบบบรรยากาศ (atmospheric air condition) และภายใต้ภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ (vacuum condition) ผนวกรวมห้อง ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาแตกต่างกัน พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุมีผลต่อสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่าง ๆ พบว่า ค่ากิจกรรมของน้ำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่าง (รูปที่ 37) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่ากิจกรรมของน้ำในไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในภาวะการบรรจุต่าง ๆ พบว่า ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของตัวอย่างที่บรรจุในถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ (0.58 ± 0.02) มีค่าสูงกว่าค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของตัวอย่างที่บรรจุใน ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ (0.56 ± 0.02) และค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของตัวอย่างที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ (0.51 ± 0.01) มีค่าสูงกว่าค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของตัวอย่างที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ (0.43 ± 0.02) จากการทดลองพบว่าการใช้บรรจุภัณฑ์ชนิด HDPE ส่งผลให้ตัวอย่างมีค่ากิจกรรมของน้ำอิสระสูงกว่าการใช้บรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต ทั้งนี้อธิบายได้ว่า ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต มีคุณสมบัติในการป้องกันความชื้นและแสงได้ดี ทำให้มีความสามารถในการควบคุมระดับความชื้นของตัวอย่างไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ถุง HDPE



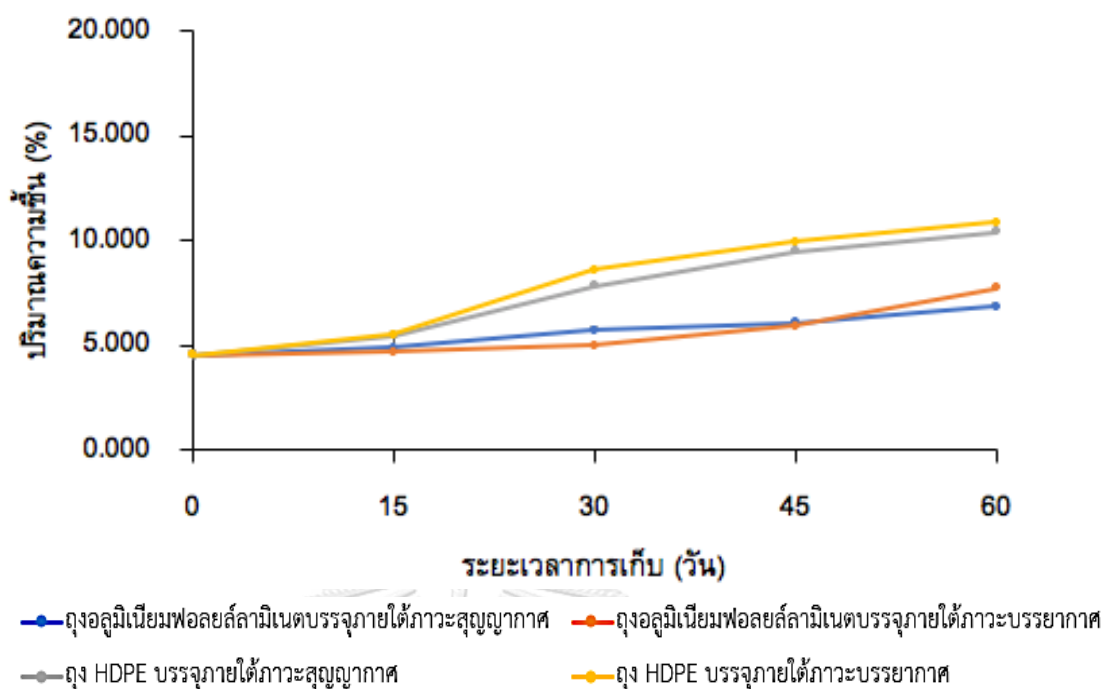
รูปที่ 37 ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

Udomkun และคณะ (2016) รายงานว่าบรรจุภัณฑ์อะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนในบรรจุภัณฑ์ที่มีความสามารถในการป้องกันความชื้นได้ดี อีกทั้งยังพบว่าตัวอย่างที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์อะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนในบรรจุภัณฑ์ที่มีความสามารถในการป้องกันความชื้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับบรรจุภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ลามิเนตชนิดพอลิเอทิลีนและพอลิเอทิลีน ในการเก็บรักษาเมื่อเวลาผ่านไป

4.3.2 ปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

ปริมาณความชื้นของตัวอย่างจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นปัจจัยที่สำคัญในการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติ เนื่องจากความชื้นมีส่วนช่วยให้เกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสารสกัด จึงสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการเก็บรักษาได้ ผลการทดลองของปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในภาชนะการบรรจุต่าง ๆ (แปรชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุ) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีร้อยละปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 4.53 ± 0.27 และปริมาณความชื้นในตัวอย่างที่บรรจุในทุกภาวะการบรรจุมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุง HDPE มีอัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้น

มากกว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต (รูปที่ 38) จากการพิจารณาปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในภาวะการบรรจุที่แตกต่างกันทั้ง 4 แบบ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา (60 วัน) ปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่าเรียงจากค่าน้อยสุดไปยังค่ามากที่สุด ดังนี้ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ โดยมีค่าปริมาณความชื้นเท่ากับ 6.92 ± 6.85 , 7.93 ± 7.70 , 9.85 ± 10.37 และ 10.53 ± 10.84 ตามลำดับ เนื่องจากคุณสมบัติของถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตมีการป้องกันการซึมผ่านของแสง แก๊ส และไอน้ำ ได้ดีกว่าถุง HDPE (Gvozdenovic และคณะ, 2007) ทั้งนี้ปริมาณความชื้นมีผลต่อการลดลงของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยจากการศึกษาอายุการเก็บผงชาเขียว พบว่าปริมาณคาเทชินในผงชาเขียวมีปริมาณลดลง เมื่อปริมาณความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้น (Komatsu และคณะ, 1992; Li และคณะ, 2011) เนื่องจากน้ำจะถูกดูดซึมเข้าไปที่ผิวของตัวอย่าง และทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ และเร่งการเกิดปฏิกิริยาเคมีโดยการเพิ่มโอกาสในการเคลื่อนที่ของโมเลกุล ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพขึ้น (Ortiz และคณะ, 2009) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Suhag และคณะ (2017) ที่ศึกษาความคงตัวของผงน้ำผึ้งแห้งต่อระยะเวลาการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ laminated aluminium polyethylene (ALP) และ high-density polyethylene (HDPE) พบว่าความสามารถในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกของผงน้ำผึ้งมีค่าสูงในบรรจุภัณฑ์ชนิด ALP เมื่อเทียบกับบรรจุภัณฑ์ชนิดถุง HDPE เนื่องจากถุง HDPE มีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของแสงและออกซิเจนน้อยกว่า



รูปที่ 38 ร้อยละปริมาณความชื้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

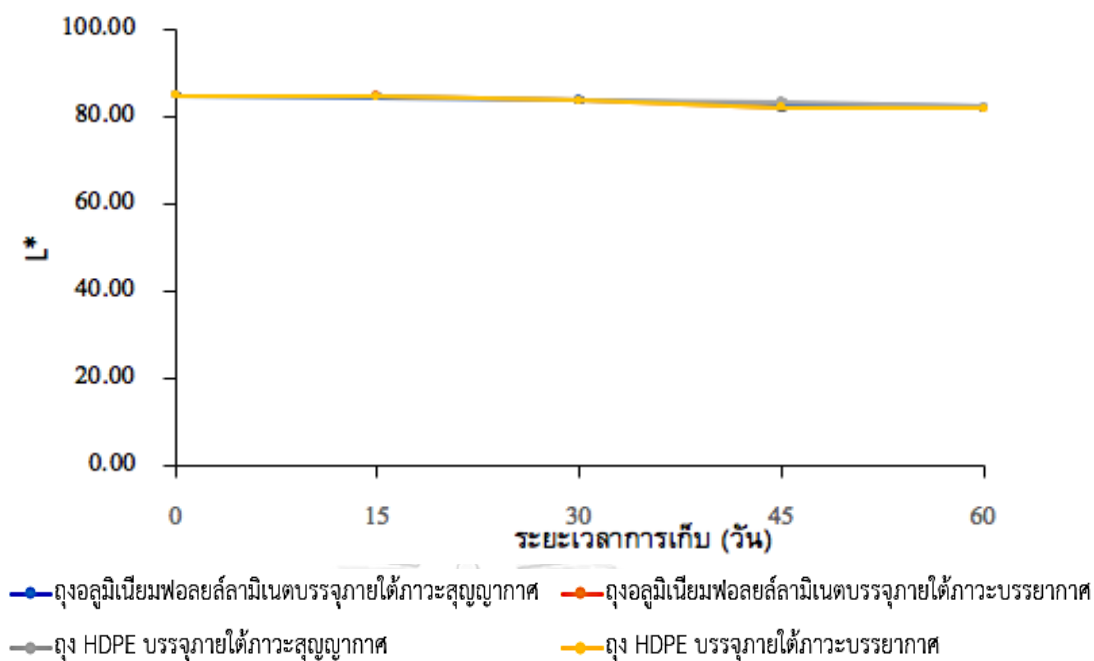
4.3.3 ค่าสี L^* a^* b^* และความแตกต่างของสี (ΔE^*) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

การวัดค่าสีเป็นการวัดสมบัติทางกายภาพของตัวอย่าง ค่าสีของตัวอย่างไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนเริ่มต้นและระยะเวลาสุดท้ายของการศึกษาอายุการเก็บสามารถใช้เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่าง หากตัวอย่างมีสีเปลี่ยนไปจากเดิมมากอาจส่งผลกระทบต่อการยอมรับของผู้บริโภคได้ การเปลี่ยนแปลงของสีของตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษาเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย เช่น ภาวะการบรรจุ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ รวมถึงสภาวะแวดล้อมระหว่างการเก็บรักษา จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุที่แตกต่างกัน พบว่าค่า L^* เริ่มต้นของตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 84.17 ± 1.73 และค่า L^* ของทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน (รูปที่ 39) และ ค่า L^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และพบว่าที่เวลาการเก็บรักษา 60 วัน ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ

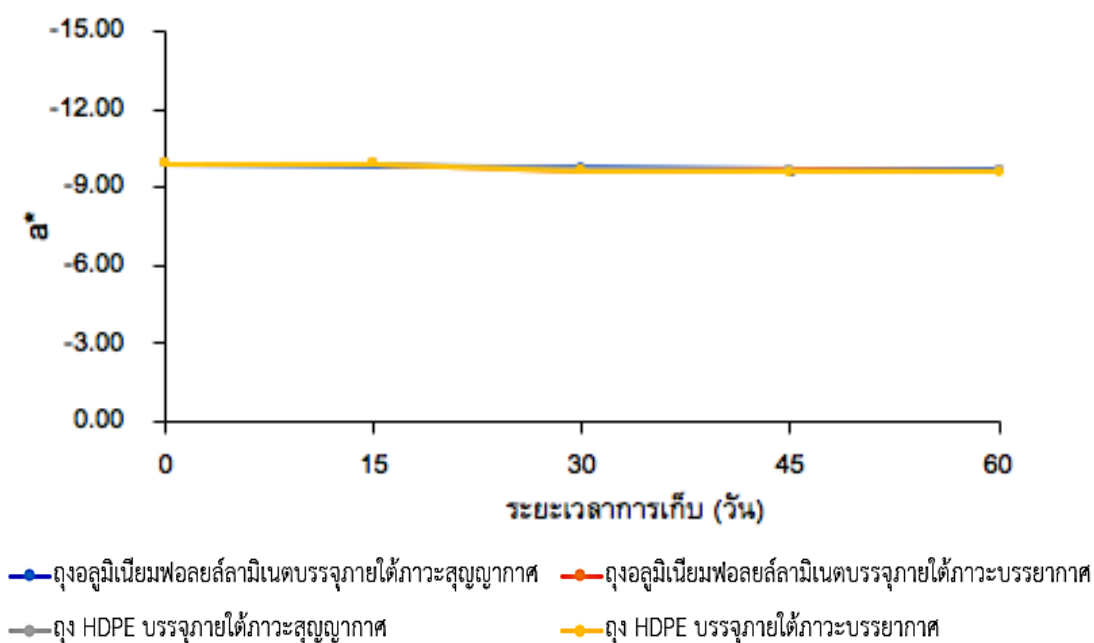
ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศมีค่า L^* เท่ากับ 82.31 ± 0.09 , 81.87 ± 0.10 , 82.29 ± 0.47 และ 81.73 ± 0.36 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลของชนิดบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุต่อค่า a^* โดยค่า a^* เริ่มต้นของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน เท่ากับ -9.89 ± 0.16 ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 60 วัน (รูปที่ 40) พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุไม่มีผลต่อค่า a^* ของตัวอย่าง และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศมีค่า a^* เท่ากับ -9.66 ± 0.03 , -9.61 ± 0.02 , -9.61 ± 0.01 และ -9.59 ± 0.09 ตามลำดับ และค่า a^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ยังมีค่าเป็นลบ แสดงว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนยังคงเป็นสีเขียว ในขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่า b^* เริ่มต้นเท่ากับ 18.65 ± 1.03 และพบว่าค่า b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในภาวะการบรรจุทุกภาวะการบรรจุมีค่าไม่แตกต่างกัน ที่อายุการเก็บรักษา 60 วัน โดยไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีค่า b^* เท่ากับ 19.39 ± 0.01 , 19.54 ± 0.01 , 19.49 ± 0.04 และ 19.59 ± 0.19 ตามลำดับ (รูปที่ 41)

ค่าความแตกต่างของสี หรือ ΔE^* คือค่าความแตกต่างของสีตัวอย่างก่อนการเก็บรักษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการเก็บรักษา 60 วัน โดยถ้า ΔE^* มีค่ามาก แสดงว่าตัวอย่างมีสีแตกต่างจากค่าเริ่มต้นมาก เมื่อพิจารณาค่า L^* และค่า b^* ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 60 วัน พบว่า มีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการเก็บรักษาเริ่มต้น และมีค่า b^* เป็นบวกแสดงว่าตัวอย่างมีค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าสีน้ำเงิน ในขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่า a^* เพิ่มขึ้นแต่มีค่าเป็นลบ หมายความว่า อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีสีเขียวลดลง จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนเพิ่มขึ้น (รูปที่ 42) โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 60 วัน

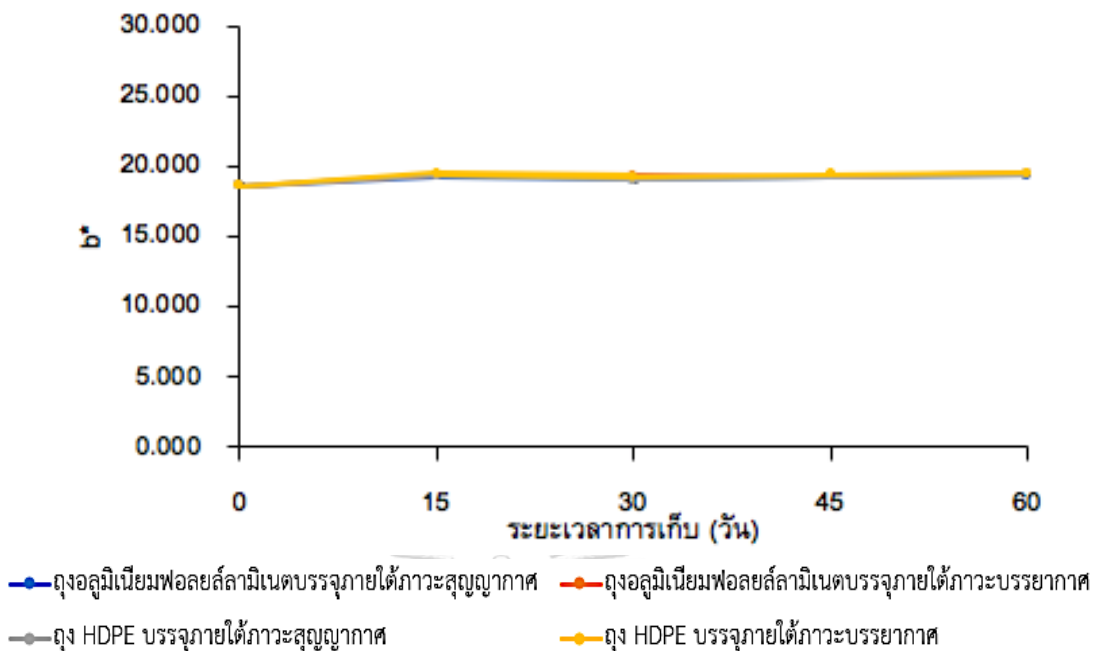
พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนในบรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีค่า ΔE^* เท่ากับ 1.47 ± 1.38 , 1.37 ± 1.68 , 1.44 ± 0.94 และ 1.70 ± 0.99 ตามลำดับ เนื่องจากตัวอย่างไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าสี a^* หรือการลดลงของสีเขียวระหว่างอายุการเก็บรักษาจึงไม่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยเอนไซม์ (enzymatic reaction) แต่อาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Muzaffar และ Kumar, 2016) โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนเพิ่มขึ้น Wong และ Lim (2016) พบว่า ค่า ΔE^* ของตัวอย่างมะละกอผงเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บมะละกอผงเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างทำให้ค่าสีเปลี่ยนแปลงไป



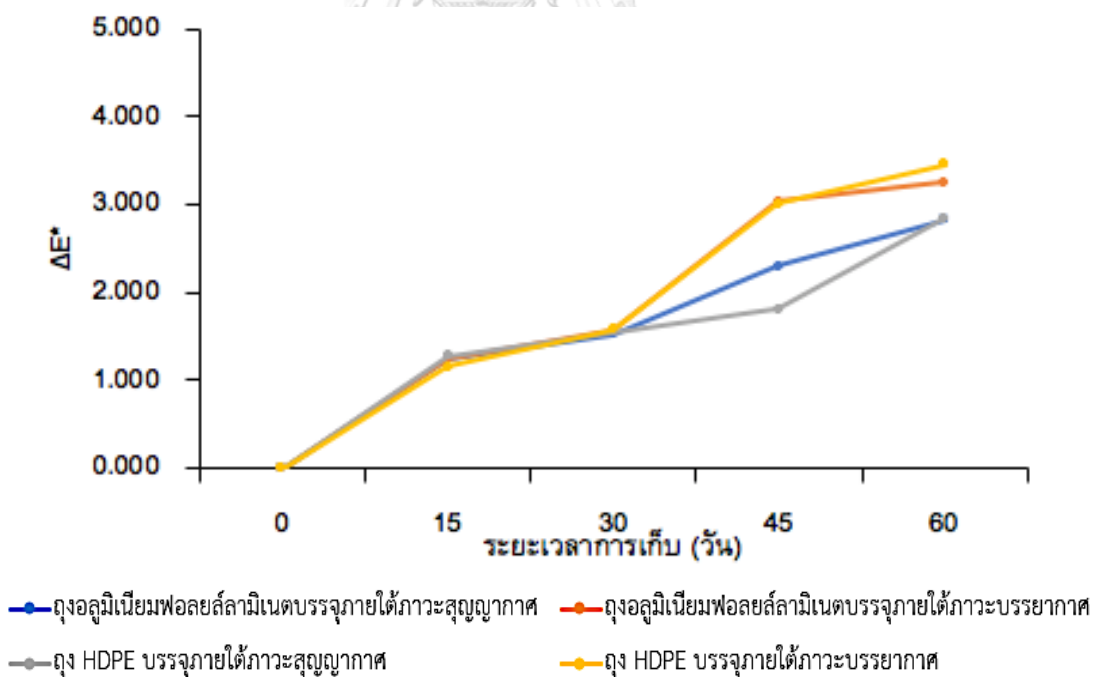
รูปที่ 39 ค่า L^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา



รูปที่ 40 ค่า a^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา



รูปที่ 41 ค่า b* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา



รูปที่ 42 ค่า ΔE* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

4.3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นต้องให้ความสำคัญกับภาวะการบรรจุและชนิดของบรรจุภัณฑ์ เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงอายุการเก็บรักษาได้ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ดีควรช่วยรักษาความเสถียรภาพของสารสกัดได้ และยืดอายุการเก็บรักษาได้นานโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติการมีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด หรือส่งผลน้อยที่สุด จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 163.83 ± 5.00 mg GAE/100 g db และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 15-30 วัน เมื่อพิจารณาที่อายุการเก็บรักษา 45 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม ที่อายุการเก็บรักษา 60 วัน ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (73.55 ± 5.09 mg GAE/100 g db) แต่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 66.33 ± 2.20 และ 68.55 ± 3.46 mg GAE/100 g db ตามลำดับ ในขณะที่การใช้ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ส่งผลให้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเหลือน้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 59.11 ± 2.09 mg GAE/100 g db (ตารางที่ 31) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน การสลายตัว อีพิเมอร์ไรเซชัน และพอลิเมอร์ไรเซชัน (Norkaew และคณะ, 2017) และการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกที่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ ค่า pH รวมไปถึงการสัมผัสกับออกซิเจน และแสง ระหว่างการเก็บรักษา และการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้นของตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา สามารถเร่งการสลายตัว (degradation) ของ

สารประกอบฟีนอลิกได้ (Sablani, 2006) สารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด รวมไปถึงสารฟลาโวนอยด์ ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลใน A ring และ B ring ซึ่งทำให้มีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นภาวะและเวลาในการเก็บรักษาจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการลดลงของสารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งสัมพันธ์กับศักยภาพของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Katuszewicz และคณะ, 2012) ทั้งนี้การลดลงของสารประกอบฟีนอลิก จึงส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง (Korus, 2011)

ตารางที่ 31 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (วัน)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์			
	ถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีน		ถุง HDPE	
	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ
0	163.83±5.00 ^a	163.83±5.00 ^a	163.83±5.00 ^a	163.83±5.00 ^a
15	138.83±5.00 ^a	131.88±1.27 ^a	133.27±2.09 ^a	119.38±2.92 ^b
30	106.05±4.73 ^a	101.33±4.64 ^a	103.00±2.50 ^a	89.38±3.47 ^b
45	93.83±5.00 ^a	77.16±4.64 ^c	88.27±2.54 ^b	71.61±2.09 ^c
60	73.55±5.09 ^a	66.33±2.20 ^{ab}	68.55±3.46 ^a	59.11±2.09 ^c

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแถว (a,b,c) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

4.3.5 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

สารฟลาโวนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมักไวต่อแสง ออกซิเจน และความชื้น ดังนั้นการใช้บรรจุภัณฑ์สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสารฟลาโวนอยด์ได้ จากการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษาพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 0.81±0.04 mg QCE/100 g db เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่อายุการเก็บรักษา 45 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเก็บรักษาที่ 60 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.56 ± 0.01 mg QE/100 g db ขณะที่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.50 ± 0.01 , 0.52 ± 0.01 และ 0.44 ± 0.02 mg QE/100 g db ตามลำดับ (ตารางที่ 32) ฟลาโวนอยด์จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ที่พบใน ผลไม้ ผัก และสมุนไพร และฟลาโวนอยด์สามารถจำแนกได้เป็น 6 กลุ่มย่อย ได้แก่ ฟลาโวนอลส์ ฟลาวานอนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาวานอลส์ ฟลาโวนส์ และแอนโทไซยานิน (Haminiuk และคณะ, 2012) บทบาทที่สำคัญของสารฟลาโวนอยด์ ไม่ใช่เพียงแค่เป็นรงควัตถุให้สีในพืช แต่สารฟลาโวนอยด์ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านไวรัส และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Ross และ Kasum, 2002) ดังนั้นการลดลงของปริมาณสารฟลาโวนอยด์จึงสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Carmen และคณะ, 2015)

ตารางที่ 32 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (วัน)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์			
	ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต		ถุง HDPE	
	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ
0	0.81±0.04 ^a	0.81±0.04 ^a	0.81±0.04 ^a	0.81±0.04 ^a
15	0.76±0.01 ^a	0.66±0.01 ^c	0.72±0.02 ^b	0.68±0.01 ^{bc}
30	0.68±0.01 ^a	0.59±0.01 ^c	0.65±0.01 ^b	0.62±0.01 ^c
45	0.63±0.01 ^a	0.55±0.01 ^b	0.61±0.01 ^a	0.51±0.02 ^b
60	0.56±0.01 ^a	0.50±0.01 ^b	0.52±0.01 ^b	0.44±0.02 ^c

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแถว (^{a,b,c}) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

4.3.6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน ระหว่างการเก็บรักษา

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อาศัยหลักการการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (scavenging) โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ DPPH โดยการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ ทำโดยการวัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระภายในสารสกัดใบหม่อนกับอนุมูลอิสระที่คงตัว (DPPH) โดยที่อนุมูลอิสระ DPPH จากเดิมจะมีสีม่วงเข้ม เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว จะทำให้มีสีจางลงจนถึงสีเหลือง และสามารถวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีนี้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 515 nm และคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานของ trolox โดยรายงานค่าเป็น $\mu\text{M trolox equivalent/g db}$ จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเริ่มต้นเท่ากับ $184.43 \pm 2.70 \mu\text{M trolox equivalent/g db}$ โดยเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง จากการพิจารณาที่อายุการเก็บรักษา 15 วัน พบว่า ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะ

สุญญากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าไม่โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่อายุการเก็บรักษา 30 วัน ไม่โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม ที่อายุการเก็บรักษา 45 วัน ไม่โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ไม่แตกต่างกันกับการบรรจุในถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศและถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าไม่โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุดตามด้วยถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ โดยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 95.97 ± 6.63 , 91.35 ± 4.23 , 90.33 ± 1.93 และ 79.56 ± 3.11 ตามลำดับ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 60 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 33) Giao และคณะ, 2013 ศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกจากสมุนไพร 4 ชนิด ประกอบด้วย sage, thyme, savory และ sweet-amber และพบว่าการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เป็นผลของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกกระตุ้นด้วยอุณหภูมิ แสง และความชื้น โดยพบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างลดลงมากกว่า 30% ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 ปี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ramakrishnan และคณะ (2018) ที่ศึกษาอายุการเก็บผงน้ำตาลทามาริลโล (tamarillo) ที่ระยะเวลา 28 วัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลง เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน และแคโรทีนอยด์

ตารางที่ 33 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (วัน)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์			
	ถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีน		ถุง HDPE	
	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ
0	184.43±2.70 ^a	184.43±2.70 ^a	184.43±2.70 ^a	184.43±2.70 ^a
15	161.61±4.07 ^a	148.28±4.37 ^c	156.48±3.20 ^{ab}	145.20±5.56 ^c
30	130.59±3.46 ^a	123.66±1.93 ^a	125.20±3.46 ^a	112.12±2.47 ^b
45	118.02±5.56 ^a	100.07±2.77 ^{bc}	107.76±3.07 ^{ab}	93.92±4.28 ^c
60	95.97±6.63 ^a	90.33±1.93 ^{ab}	91.35±4.23 ^a	79.56±3.11 ^b

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแถว (a,b,c) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

4.3.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

นอกจากวิธีวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ข้างต้นแล้ว วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ โดยหลักการของวิธี FRAP นั้นจะแตกต่างจากวิธี DPPH ซึ่งการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนกับ Fe^{3+} กล่าวคือในสารละลาย FRAP จะประกอบไปด้วย Fe^{3+} และ TPTZ ในสภาพที่เป็นกรด เมื่อ Fe^{3+} -TPTZ ในปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระจะให้อิเล็กตรอนกับ Fe^{3+} เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} -TPTZ ซึ่งสามารถวัดการเพิ่มขึ้นของ Fe^{2+} -TPTZ ได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 nm จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษา โดยไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นเท่ากับ $239.40 \pm 1.91 \mu\text{M trolox equivalent/g db}$ และพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาที่ 30 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนบรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลการทดลองที่อายุการเก็บรักษา 45 วัน พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกันกับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อพิจารณาการเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงที่สุด ตามด้วยไมโครแคปซูลที่บรรจุในถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนตบรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ และถุง HDPE บรรจุภายใต้ภาวะบรรยากาศ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 168.97 ± 1.26 , 159.19 ± 1.43 , 154.08 ± 2.30 และ 135.44 ± 1.43 ตามลำดับ (ตารางที่ 34) Bhattacharjee และคณะ (2014) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและคุณภาพของน้ำมะขามป้อมและผงมะขามป้อมจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยระหว่างการเก็บรักษา และพบว่าผงมะขามป้อมจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีรูปแบบการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP คล้ายคลึงกับน้ำมะขามป้อม โดยที่อายุการเก็บรักษา 5 เดือน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มค่อย ๆ ลดลง จากนั้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มลดลงอย่างมากหลังจากเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน และที่อายุการเก็บรักษา 9 ถึง 12 เดือน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มค่อย ๆ ลดลง เมื่อวิเคราะห์ที่อายุการเก็บรักษา 1 ปี พบว่าผงมะขามป้อมจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยกว่าน้ำมะขามป้อม โดยมีการลดลงเท่ากับ 41.9% และ 56.9% ตามลำดับ และพบว่า การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สอดคล้องกับปริมาณของกรดแอสคอร์บิกที่ลดลง

ตารางที่ 34 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการศึกษา

ระยะเวลา (วัน)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์			
	ถุงอะลูมิเนียมพอยล์ลามิเนต		ถุง HDPE	
	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ สุญญากาศ	บรรจุภายใต้ภาวะ บรรยากาศ
0	239.40±1.91 ^a	239.40±1.91 ^a	239.40±1.91 ^a	239.40±1.91 ^a
15	223.35±1.91 ^a	209.19±0.94 ^{ab}	216.48±0.79 ^{ab}	195.54±16.34 ^b
30	193.35±1.91 ^a	181.27±1.26 ^b	187.00±1.88 ^b	168.25±3.60 ^c
45	191.89±2.62 ^a	172.83±1.41 ^b	188.15±3.00 ^a	167.21±1.18 ^b
60	168.97±1.26 ^a	154.08±2.30 ^c	159.19±1.43 ^b	135.44±1.43 ^d

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแถว (a,b,c) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

การศึกษาของ ประกิต และคณะ (2019) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับ IC_{50} (inhibitory concentration) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแสดงความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเล็กน้อย เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของทั้งสารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ของไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล (Rosa และคณะ, 2019) สามารถส่งผลให้มีความสามารถในการให้และรับอิเล็กตรอนจากสารอนุมูลอิสระ ด้วยเหตุนี้ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้จึงแปรผันตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบในตัวอย่าง (Heim และคณะ, 2002)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลและเวลาในการสกัดใบหม่อน พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ช่วย (ultrasound-assisted extraction) ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ 60% v/v และเวลาการสกัด 30 นาที สารสกัดใบหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (5.54 ± 0.17 mg quercetin equivalent/100 g dry basis (db)) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (1505.63 ± 4.79 mg gallic acid equivalent/100 g db) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (619.56 ± 2.12 μ M trolox/g db) และ FRAP (961.17 ± 59.72 μ M trolox/g db) สูงที่สุด

การใช้มอลโตเดกซ์ทริน มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย และกัมอาร์บิกเป็นสารห่อหุ้มในการเอนแคปซูลเส้นสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้มที่แตกต่างกันส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของไมโครแคปซูลสารสกัด โดยพบว่าร้อยละของผลผลิตที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยสารสกัดใบหม่อนมีค่าระหว่าง 37.87 ± 2.77 ถึง 73.99 ± 2.93 % และประสิทธิภาพในการกักเก็บของสารห่อหุ้มของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีค่าในช่วง 88.22 ± 1.37 ถึง 96.97 ± 1.94 % และพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:1 มีร้อยละของผลผลิตที่ได้และประสิทธิภาพในการกักเก็บสูงที่สุด ในขณะที่ชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) โดยทุกตัวอย่างมีความสามารถในการละลายมากกว่า 90% และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนทุกตัวอย่างมีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วสูงกว่าอุณหภูมิห้อง ($T_{การเก็บรักษา} < T_g$) นอกจากนี้ปริมาณความชื้นและค่ากิจกรรมของน้ำของทุกตัวอย่างมีค่าต่ำกว่า 8% และ 0.6 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ค่าสีของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน พบว่าชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มส่งผลต่อค่า L^* , a^* และ b^* ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยทุกตัวอย่างมีค่าสี a^* เป็นลบและค่า b^* เป็นบวก ซึ่งหมายถึงไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนทุกอย่างมีสีเขียวอมเหลือง และจากการศึกษาลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้ชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มแตกต่างกันส่งผลต่อรูปร่างและลักษณะพื้นผิวของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนอย่างชัดเจน โดยไมโครแคปซูล

สารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยเป็นสารห่อหุ้มมีรูปร่างทรงกลม พื้นผิวเรียบมากกว่าการใช้สารห่อหุ้มชนิดอื่น ในขณะที่ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้มอลโตเดกซ์ทรินและกัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มพื้นผิวมีรอยบุบโดยรอบ และไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (0.81 ± 0.04 mg QCE/100 g db) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (163.83 ± 5.00 mg GAE/100 g db) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (184.43 ± 2.70 μ M trolox equivalent/g db) และ FRAP (239.39 ± 1.91 μ M trolox equivalent/g db) สูงที่สุด

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน (แปรชนิดบรรจุภัณฑ์และภาวะการบรรจุ) พบว่า ค่าความแตกต่างของสี (ΔE^*) ปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง และพบว่าไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนเตตระฟลูออไรด์ภายใต้ภาวะสุญญากาศ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาชนิดของสารห่อหุ้ม 3 ชนิด ประกอบด้วย มอลโตเดกซ์ทริน มอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย และกัมอารบิก ในการเอนแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าการใช้กัมอารบิกเป็นสารห่อหุ้มในการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงกว่าสารห่อหุ้มชนิดอื่น แต่มีร้อยละของผลผลิตที่ได้ต่ำ ดังนั้นหากต้องการเพิ่มร้อยละของผลผลิตที่ได้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้กัมอารบิกร่วมกับสารห่อหุ้มชนิดอื่น และศึกษาอัตราส่วนของกัมอารบิกเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่มีร้อยละผลผลิต และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิงภาษาไทย

- กมลลักษณ์ มาสำโรง และ วรพจน์ สุนทรสุข. (2557). ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกแก้วมังกร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 45(2), 269-272.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2517). การปลูก หม่อนเลี้ยงไหม. เอกสารทางวิชาการที่ 13 โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การขายและการซื้อแห่งประเทศไทย, กรุงเทพมหานคร.
- กรมหม่อนไหม. (2538). การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กิตติพัฒน์ ไสภิตธรรมคุณ และ ปานทิพย์ รัต. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 3(1), 85-93.
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. (2538). ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จันทนา กาญจน์กมล. (2558). ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่. ในการประชุมสวนสุนันทาวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 2, 601-607.
- ชลีรา การี, ฉันทนา อารมณดี, อรรวรรณ มนทกานดิรัตน์ และ วัชรี คุณกิตติ. (2558). การต้านออกซิเดชันและการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดองุ่น. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน. 11(1).
- เทียนทิพย์ กสิกรณ, ปัญญาทิพย์, ขวลิต โยงรัมย์, อรรวรรณ ดอกเกียง, บรรลือ สังข์ทอง, เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง. (2562). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลาโทนิน ของใบหม่อน 5 พันธุ์. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 17(3).
- นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2544). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เนตรนภา เมยกลาง และ ดร.เฉลิม เรื่องวิริยะชัย. (2004). การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้, 14(4).
- ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2528). เทคนิคทางเคมี. มหาสารคาม: ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม.
- ปุ่น คงเจริญเกียรติ และ สมพร คงเจริญเกียรติ. (2541). บรรจุภัณฑ์อาหาร. กรุงเทพฯ: กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม สมาคมการบรรจุภัณฑ์ไทย.

- ไพลิน ล้มตระกูล. (2546). ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ (พิมพ์ครั้งที่ 5). กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์.
- รัตน ม่วงรัตน์, พงศธร ถ้ำทอง และ จรัสศรี หลวงพันธ์. (2559). การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 8(15), 54-65.
- ลือชัย บุตุคุป. (2555). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 31(4), 443-455.
- สุดาร์ตน์ หอมหวล (2553). ฐานข้อมูลสมุนไพร [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 10 สิงหาคม 2563 ค้นหากจาก: <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=125>.
- สุวรรณณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง และ ทศน์วรรณ สมจันทร์ และ ปิติพงษ์ โต้บันลือภาพ. (2555). ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. เกษตร, 40(2), 480-483.
- อรชร ไอสันเพียะ และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2558). การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรืองสด. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์, 7(7), 29-39.

รายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

- Alvani, K., Qi, X. and Tester, R. F. (2011). Use of carbohydrates, including dextrans, for oral delivery. *Starch -Stärke*, 63(7), 424-431.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(17): 7915-7922.
- AOAC, (2000), Official Methods of Analysis of AOAC International. Seventeen edition. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.
- AOAC, (2006), Official Methods of Analysis of AOAC International. Eighteen edition. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.
- Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food chemistry*, 102(4), 1233-1240.
- Ashokkumar, M. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25, 17-23.
- Assadpour, E., Jafari, S.-M. and Maghsoudlou, Y. (2017). Evaluation of folic acid release from spray dried powder particles of pectin-whey protein nano-capsules. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 238-247.
- Augustin, M. A. and Hemar, Y. (2009). Nano and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38, 902-912.
- Bakry, A., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M., Mousa, A. and Liang, L. (2015). Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 143-182.
- Barbero, G. F., Liazid, A., Palma, M. and Barroso, C. G. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5), 1332-1337.
- BeMiller, J.N. and Whistler, R.L. (1996). Carbohydrates. In food chemistry, 3rd Ed.; Fennema, O.R.; Ed., Marcel Dekker: New York, 157-224.

- Bendicho, C., and Lavilla, I. (2018). Ultrasound Extractions. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*: Elsevier.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power” : the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Bhattacharjee, A., Tandon, D. K. and Dikshit, A. (2014). Antioxidant activity and quality of spray dried aonla powder as affected by storage behavior of juice. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 73, 607-612.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.
- Brown, E. J., Khodr, H., Hider, C. R. and Rice-Evans, C. A. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330(3), 1173-1178.
- Burgain, C., Gaiani, C., Linder, M. and Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104, 467-483.
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422.
- Charve, J. and Reineccius, G.A. (2009). Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2486-92.
- Chattopadhyay, K. and Chattopadhyay, B. D. (2008). Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein. *Journal of Research and Education in Indian Medicine*, 127, 571-576.
- Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J. and Wang, Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and

- identification of anthocyanins in extract using high -performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 767-778.
- Chikkanna, G. S., S. K. Jha, D. S. Ambika and Sadananda, G. K. (2020). Effect of packaging material and storage period on quality of aonla and cereal based extruded R-T-E snack. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 9(1), 511-519.
- Corbin, C., et al. (2015). Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 176–185.
- Cornelli, U. (2009). Treatment of Alzheimer's Disease with a Cholinesterase Inhibitor Combined with Antioxidants. *Neuro-degenerative Diseases*, 7, 193-202.
- Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R. and Lagana, A. (2011). Flavonoids: Chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*. 25: 469-95.
- Crozier, A., Jaganath, I. B. and Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8): 1001-1043.
- Dagar, J. C., Yadav, R. K., Dar, S. R. and Ahmad, S. (2015). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A potential salt-tolerant, highly remunerative medicinal crop for remediation of alkali soils. *Current Science*, 108(9): 1683-1688.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R. and Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
- Denisov, E. T. and Afanas' ev, I. B. (2005). Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. CRC press.

- Desai, K. G. H. and Park, H. J. (2005). Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 22: 179-192.
- Devi, B., Sharma, N., Sharma, D., Jeet, K. (2013). *Morus alba* Linn: A phytopharmacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 14-18.
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic approach*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Doi, K., Kojima, T. and Fujimoto, Y. (2000). Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(9), 1066-1071.
- Ersus, S. and Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 805-812.
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A. and Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3, 108-120.
- Fang, Z. and Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols-a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(10), 510-523.
- Fathi, M., Martín, Á. and McClements, D. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 39(1), 18-39.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi Ashtari, A. and Omid, M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 667-675.
- Georgetti, S. R., Casagrande, R., Souza, C. R. F., Oliveira, W. P. and Fonseca, M. J. V. (2008). Spray drying of the soybean extract: effects on chemical properties and antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 41(8), 1521-1527.
- Ghafoor, K., Choi, Y.H., Jeon, J.Y. and Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins

- from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 4988-4954.
- Gibbs, F.B., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C.N. (1999). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 50, 213-224.
- Gomez, J., Bates, R. and Ahmed, E. E. (2006). Flexible pouch process development and evaluation of pasteurized-refrigerated mango slices. *Journal of Food Science*, 45, 1592-1594.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 476, 107-112.
- Handa, S. S., Khanuja, S., Longo, G. and Rakesh, D. D. (2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 21-52.
- Handley, A. J. (Ed.). (1999). Extraction methods in organic analysis. UK: Sheffield Academic Press.
- Hashizume, C. and Okuma, K. (2009). Fibersol-2 resistant Maltodextrin: Functional dietary fiber ingredient. *Fiber Ingredients-Foods Applications and Health Benefits*, 61-78.
- Heidelbaugh, ND. and Karel, M. (1970). Changes in pouched heat-processed foods. *Modern Packaging*. 43(11), 80-90.
- Hofman, D. L., Van Buul, V. J. and Brouns, F. J. (2016). Nutrition, health, and regulatory aspects of digestible maltodextrins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12), 2091-2100.
- Hong, C. M., Wendorff, W. L. and Bradley, R. L. (1995). Effects of Packaging and Lighting on Pink Discoloration and Lipid Oxidation of Annatto-Colored Cheeses. *Journal of Dairy Science*, 78(9), 1896-1902.

- Jain, S., Wheeler, Joshua R., Walters, Robert W., Agrawal, A., Barsic, A. and Parker, R. (2016). ATPase-modulated stress granules contain a diverse proteome and substructure. *Cell*, 164, 487–498.
- Kadajji, V. and Betageri, G. (2011). Water soluble polymers for pharmaceutical applications. *Polymers*, 3, 1972–2009.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Kanakdande, D., Bhosale, R. and Singhal, R. S. (2007). Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers*, 67(4), 536-541.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H. and Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O. and Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119, 851-858.
- Kim, D. S., Kang, Y. M., Jin, W. Y., Sung, Y. Y., Choi, G. and Kim, H. K. (2014). Antioxidant activities and polyphenol content of *Morus alba* leaf extracts collected from varying regions. *Biomedical Reports*, 2(5), 675-680.
- Kim, H.-B., Lim, J. D., Kim, A.-J., Kim, Y.-S. and Kwon, O.-C. (2017). Comparison with various mulberry leaves and fruits extract in lipid accumulation inhibitory effect at adipocyte model. *International Journal of Industrial Entomology*, 35, 1-6.
- Kim, S. Y., Gao, J. J., Lee, W.-C., Ryu, K. S., Lee, K. R. and Kim, Y. C. (1999). Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. *Archives of Pharmacal Research*, 22(1), 81.
- Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S. and Polissiou, M. G. (2006). Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction

- methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 54-60.
- Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M. and Jouppila, K. (2008). Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23), 11251-11261.
- Lineback, D. R., and G. E. Inglett (Editors) (1982) Food carbohydrates. Avi, CO., West port, CT. 34(11): 395-395.
- Liyanapathirana, C. and Shahidi, F. (2006). Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. 86(3): 477-485.
- Ma, Q., Santhanam, R. K., Xue, Z., Guo, Q., Gao, X. and Chen, H. (2018). Effect of different drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activities of mulberry leaves polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1137-1143.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100, 1409-1418.
- Middleton, E., Kandaswami, C. and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S. and Matsuno, R. (2002). Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation*, 19(2), 181-189.
- Mocak, J., Jurasek, P., Phillips, G.O., Varga, S., Casadei, E. and Chikemai, B.N. (1998). The classification of natural gums. X. Chemometric characterization of exudate gums that conform to the revised specification of the gum arabic for food use, and the identification of adulterants. *Food Hydrocolloid*, 12, 141-150.

- Nabavi, S. M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S. and Giampieri, F. (2020). Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, 38, 107-316.
- Naczek, M. and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1), 95-111.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5(35), 27986-28006.
- Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P. and Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 410-417.
- Pai, D. A., Vangala, V. R., Ng, J. W., Ng, W. K. and Tan, R. B. H. (2015). Resistant maltodextrin as a shell material for encapsulation of naringin: Production and physicochemical characterization. *Journal of Food Engineering*, 161, 68-74.
- Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G. G. and McHugh, T. H. (2011). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1249-1257.
- Pandey, K.B. and Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Phillips, G. O. and Williams, P. (2001). Tree exudate gums: natural and versatile food additives and ingredients. *Food Ingredients and Analysis International*, 26-28.
- Pothinuch, P. and Tongchitpakdee, S. (2019). Phenolic analysis for classification of mulberry (*Morus* spp.) leaves according to cultivar and leaf age. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-11.
- Prior R. L. and Cao, G. (2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *Hortscience*, 35(4), 588-592.
- Proestos, C. and Komaitis, M. (2009). Antioxidant capacity of hops. In *Beer in health and disease prevention*. Academic Press, 467-474.
- Pudziuvelyte, L., Marksa, M., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Kopustinskiene, D. M. And Bernatoniene, J. (2019). Microencapsulation of *Elsholtzia ciliata* herb

- ethanolic extract by spray-drying: Impact of resistant-maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. *Molecules*, 24(8), 1461.
- Pulbutr, P., Rattanakiat, S., Khunawattanakul, W., Saramunee, K. and Sungthong, B. (2018). Development of chewing gum containing mulberry leaf extract with anti-cariogenic activity against streptococcus mutans. *Journal of Biological Sciences*, 18, 407-414.
- Radojković, M., Zeković, Z., Jokić, S. and Vidović, S. (2012). Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using response surface methodology (RSM). *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3), 7295-7308.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y.A. and Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, 328, 406-414.
- Ramamoorthy, P. K. and Bono, A. (2007). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of Morinda Citrifolia fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science & Technology*, 2, 70-80.
- Randhir, R., Lin, Y.T. and Shetty, K. (2004). Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13, 295-307.
- Ray, S., Raychaudhuri, U. and Chakraborty, R. (2016). An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*, 13, 76–83.
- Robin, A. L. and Sankhla, D. (2013). Essential guide to food additives: European legislative framework controlling the use of food additives. 44.
- Rodge, A. B., Sonkamble, S. M., Salve, R. V. and Hashmi, S. I. (2012). Effect of hydrocolloid (guar gum) incorporation on the quality characteristics of bread. *Journal of Food Processing and Technology*, 3(2).

- Rostagno, M. A., Palma, M. and Barroso, C. G. (2004). Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans. *Analytica Chimica Acta*, 522(2), 169-177.
- Saéñz, C., Tapiá, S., Chávez, J. and Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616-622.
- Sanchez, C., Nigen, M., Mejia Tamayo, V., Doco, T., Williams, P., Amine, C. and Renard, D. (2018). Acacia gum: History of the future. *Food Hydrocolloids*, 78, 140-160.
- Sasidharan, S., Jothy, S. L., Vijayarathna, S., Kavitha, N., Oon, C. E., Chen, Y. and Kanwar, J. R. (2018). Conventional and non-conventional approach towards the extraction of bioorganic phase. In *Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview*. Springer, 41-57.
- Sereshti, H., Heidari, R. and Samadi, S. (2014). Determination of volatile components of saffron by optimised ultrasound-assisted extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 143, 499-505.
- Shahidi, F. and Han, X.Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H. and Gogate, P. R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations-A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53, 10-23.
- Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A., Talib, R. A. and Sarker, M. S. H. (2016). Optimization of spray drying parameters for pink guava powder using RSM. *Food Science and Biotechnology*, 25, 1-8.
- Sies, H., Stahl, W. and Sundquist, A. R. (1992). Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669, 7-20.
- Singh, A. and Mooter, G.V. (2016). Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 100, 27-50.

- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1997). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- Sowbhagya, H. B., Smitha, S., Sampathu, S.R., Krishnamurthy, N. and Bhattacharya, S. (2005). Stability of water-soluble turmeric colourant in an extruded food product during storage. *Journal of Food Engineering*, 67, 367– 371.
- Srivastava, N. and Bezwada, R. (2015). Flavonoids: The health boosters. White Paper. Hillsborough NJ: Indofine Chemical company.
- Suhag, Y., Nayik, G. and Nanda, V. (2016). Effect of gum Arabic concentration and inlet temperature during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10.
- Swenson, H. A., Kaustinen, H. M., Kaustinen, O. A. and Thompson, N. S. (1968). Structure of gum arabic and its configuration in solution. *Journal of Polymer Science*, 6(9), 1593-1606.
- Tomasko, D. and Timko, M. (1999). Tailoring of specific interactions to modify the morphology of naproxen. *Journal of Crystal Growth*, 205, 233-243.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P. and Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(10), 1950-1958.
- Tripetch, P. and Borompichaichartkul, C. (2019). Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. *Catimor*). *Journal of Stored Products Research*, 84, 101510.
- Valacchi, G., Pagnin, E., Corbacho, A. M., Olano, E., Davis, P. A., Packer, L. and Cross, C. E. (2004). In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(5), 673-681.

- Vardanega, R., Santos, D. T. and Meireles, M. A. A. (2014). Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 88-95.
- Vauzour, D., Vafeiadou, K., Rodriguez-Mateos, A., Rendeiro, C. and Spencer, J. P. (2008). The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes and nutrition*, 3(3-4), 115-126.
- Verbeken, D., Dierckx, S. and Dewettinck, K. (2003). Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 63(1), 10-21.
- Vermerris, W. and Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. *Springer Science and Business Media*, 63-149.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Spices as functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(1), 13-28.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D. A., Lyng, J. G. and Morgan, D. J. (2009). Shelf-life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food and Bioproducts Processing*, 87, 102-107.
- Wang, C. Y. and Qi, L. (1997). Modified atmosphere packaging alleviates chilling injury in cucumbers. *Postharvest Biology and Technology*, 10(3), 195-200.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., ... and Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops--A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538-549.
- Wen, P., Hu, T., Linhardt, R.J., Liao, S., Wu, H. and Zou, Y. (2019). Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology. *Trends in Food Science and Technology*. 83, 138-158.
- White, D. R., Jr, Hudson, P. and Adamson, J. T. (2003). Dextrin characterization by high-performance anion-exchange chromatography--pulsed amperometric

- detection and size-exclusion chromatography-multi-angle light scattering-refractive index detection. *Journal of chromatography. A*, 997(1-2), 79–85.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B. and Liu, Ruihai. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
- Yang, B., Zhao, M., Shi, J., Yang, N. and Jiang, Y. (2008). Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chemistry*, 106, 685-690.
- Zhang, L., Mou, D. and Du, Y. (2007). Procyanidins: extraction and micro-encapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2192-2197.
- Zuidam N. J. and Heinrich E. (2010) Encapsulation of Aroma. In: Zuidam N., Nedovic V. (eds) Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Springer*, New York.
- Zuidam, N. J. and Shimoni E. (2010) Overview of Microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: Zuidam N., Nedovic V. (eds) Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. *Springer*, New York.



ภาคผนวก ก.

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ก.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry ตามวิธีของ Slinkard และคณะ (1997)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYS20 Visible, U.S.A)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น New Classic MF, Switzerland)

สารเคมี

1. Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) (EMSURE®, Germany)
2. Folin-Ciocalteu reagent (Carlo Erba, France)
3. Gallic acid ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) (Fluka, Spain)
4. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)

การเตรียมสารละลาย sodium carbonate อิมิตัว

1. เตรียมโดยการชั่ง sodium carbonate 200 g
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 800 mL แล้วให้ความร้อนจนสารละลายเดือด ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงเติม sodium carbonate เพิ่มลงไปเล็กน้อย และตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง
3. กรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ชั่ง gallic acid 0.5 g ละลายใน ethanol 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 mL จะได้สารละลายของ gallic acid ที่ความเข้มข้น 5 g/L

2. ปิเปตสารละลาย gallic acid ในปริมาตรต่าง ๆ (0 0.5 1.0 1.5 2.5 และ 5.0 mL) ลงไปในขวดปรับปริมาตร 50 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย gallic acid ที่มีความเข้มข้น 0 50 100 150 250 และ 500 mg/L ตามลำดับ
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 μL ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL จากนั้นเติมน้ำกลั่น 7 mL และ Folin-Ciocalleu reagent 500 μL ทิ้งไว้ 1-8 นาที
4. เติมสารละลาย sodium carbonate อิมตัว 1.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ถึง 10 mL ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 nanometer (nm) แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสง (ภาคผนวก ค.1)

วิธีวิเคราะห์

สำหรับสารสกัดใบหม่อน

1. ปิเปตสารสกัดใบหม่อนปริมาตร 100 μL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 7 mL และ Folin-Ciocalleu reagent 500 μL ทิ้งไว้ 1-8 นาที
2. เติมสารละลาย sodium carbonate อิมตัว 1.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 nm แล้วคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐาน และรายงานค่าในหน่วย mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry basis (db)

สำหรับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน

1. ละลายไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 1 g ในน้ำกลั่น 10 mL ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 3 นาที
2. นำตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
3. ปั่นเหรียญตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วปิเปตส่วนใส ปริมาตร 100 μL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 mL และ Folin-Ciocalleu reagent 500 μL ทิ้งไว้ 1-8 นาที
4. เติมสารละลาย sodium carbonate อิมตัว 1.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ถึง 10 mL ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ความยาวคลื่น 765 nm

5. คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วรายงานค่าในหน่วย mg GAE/100 g dry db

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetry ตัดแปลงตามวิธีของ Maisuthisakul และคณะ (2007)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYSTEM 20 Visible, U.S.A)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น New Classic MF, Switzerland)

สารเคมี

1. Aluminium chloride ($AlCl_3$) (Ajax Finechem, New Zealand)
2. Methanol (CH_3OH) (Fisher Scientific, UK)
3. Quercetin ($C_{15}H_{10}O_7$) (Sigma-Aldich, Germany)
4. Sodium nitrite ($NaNO_2$) (Ajax Finechem, New Zealand)

การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้น 5% w/v

1. เตรียมโดยการชั่งโซเดียมไนไตรท์ 5 g
2. ละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ชั่งเตรียมไว้แล้ว ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL

การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้น 10% w/v

1. เตรียมโดยการชั่งละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ 10 g
2. ละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ชั่งเตรียมไว้แล้ว ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL
- 3.

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน quercetin และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน quercetin โดยชั่งสาร quercetin 4 mg ละลายในเมทานอลปริมาตร 10 mL แล้วใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.4 g/mL

2. เจือจางสารละลายมาตรฐาน quercetin ให้ได้ความเข้มข้น 0 0.025 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 g/mL
3. ปิเปตสารละลาย quercetin ในข้อ 2 ปริมาตร 0.5 mL เติมน้ำกลั่น 2 mL และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_3) เข้มข้น 5% w/v ปริมาตร 0.15 mL แล้วผสมให้เข้ากัน
4. เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) เข้มข้น 10% w/v ปริมาตร 0.15 mL แล้วผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที
5. เติมน้ำกลั่น 2.2 mL แล้วผสมให้เข้ากัน นำสารละลายมาตรฐานไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน quercetin (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) (ภาคผนวก ค.2)

วิธีวิเคราะห์

สำหรับสารสกัดใบหม่อน

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใบหม่อนปริมาตร 0.5 mL เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 mL และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) เข้มข้น 5% w/v ปริมาตร 0.15 mL แล้วผสมให้เข้ากัน
2. เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) เข้มข้น 10% w/v ปริมาตร 0.15 mL ผสมให้เข้ากันและบ่มเป็นเวลา 5 นาที ณ อุณหภูมิห้อง
3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.2 mL แล้วผสมให้เข้ากัน และวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 510 nm
4. คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงเทียบจากกราฟมาตรฐานของ quercetin และรายงานค่าในหน่วย mg quercetin (QCE)/100 g dry db

สำหรับไม้โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน

1. ละลายไม้โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 1 g ในน้ำกลั่น 10 mL ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 3 นาที
2. นำตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
3. ปั่นเหรียญตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ปิเปตส่วนใส ปริมาตร 0.5 mL มาใช้ในขั้นตอนต่อไป

4. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 mL ลงในส่วนใส และเติมสารละลายโซเดียมไนเตรท (NaNO_2) เข้มข้น 5% w/v ปริมาตร 0.15 mL ผสมให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) เข้มข้น 10% w/v ปริมาตร 0.15 mL ผสมให้เข้ากันและบ่มเป็นเวลา 5 นาที ณ อุณหภูมิห้อง
5. เติมน้ำกลั่น 2.2 mL แล้วผสมให้เข้ากันก่อนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 510 nm
6. คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงเทียบจากกราฟมาตรฐานของ quercetin และรายงานค่าในหน่วย mg QCE/100 g dry db

ก.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYS™ 20 Visible, U.S.A)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น New Classic MF, Switzerland)

สารเคมี

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, U.S.A)
2. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox) (Fluka, Denmark)
3. Methanol (CH_3OH) (Fisher Scientific, UK)

การเตรียมสารละลาย DPPH stock solution

1. เตรียม stock solution โดยชั่ง DPPH 2 g แล้วละลายใน methanol ประมาณ 50 mL จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL
2. ปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 6×10^{-4} Molar (M) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ควรใช้ภายใน 5 วัน ภายหลังจากที่เตรียม)

เตรียมสารละลาย DPPH daily working solution

1. ปิเปตสารละลาย DPPH stock solution 10 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol ให้ได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 50 mL
1. 2 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 515 nm (A_{initial}) (กำหนดค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.1 หากค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า หรือน้อยกว่า 1.1 ให้เติม methanol หรือ stock solution เพื่อปรับค่า A_{initial})

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ชั่ง trolox 25 g แล้วละลายสารที่ชั่งได้ใน methanol เติลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วย methanol ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลาย trolox ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 μM
2. เจือจางสารละลาย trolox จากข้อ 1 มาด้วย methanol จนได้ความเข้มข้น 82-625 μM ตามตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox

ความเข้มข้นเริ่มต้น (μM)	ปริมาตร trolox (mL)	ปริมาตร methanol (mL)	ความเข้มข้นสุดท้าย (μM)
10000	5	5	5000
5000	5	5	2500
2500	5	5	1250
1250	5	5	625
625	4	2	417
417	4	2	278
278	4	2	185
185	4	2	123
123	4	2	82

3. ปิเปตสารละลาย trolox ปริมาตร 250 μL ผสมกับสารละลาย DPPH daily working solution ปริมาตร 4.75 mL ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที ณ อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ methanol ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย

DPPH (A_{initial}) หักลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน trolox กับ A_{diff}

$$A_{\text{diff}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}}$$

5. คำนวณหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยค่า A_{diff} ที่ได้ไปโดยเทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของ trolox และรายงานค่าเป็น μM Trolox equivalent/g

วิธีวิเคราะห์

สำหรับสารสกัดใบหม่อน

1. ปิเปิดตัวอย่างสารสกัดใบหม่อน 250 μL ผสมกับสารละลาย DPPH working solution 4.75 mL ในหลอดทดลอง ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที ณ อุณหภูมิห้อง
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ methanol ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)
3. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial}) และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (A_{final}) มาคำนวณผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})
4. คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่า A_{diff} ที่ได้จากตัวอย่างไปเทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของสาร trolox รายงานค่าเป็น μM Trolox equivalent/g

สำหรับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน

1. ละลายไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 1 g ในน้ำกลั่น 10 mL ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 3 นาที
2. วางตัวอย่างในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วปิเปิดส่วนใสปริมาตร 250 μL ผสมกับสารละลาย DPPH working solution 4.75 mL ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที ณ อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ methanol ในการปรับค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (set blank)

5. คำนวณผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff}) ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ($A_{initial}$) และค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (A_{final})
6. คำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่า A_{diff} ที่ได้จากตัวอย่างเทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของสาร trolox รายงานค่าเป็น $\mu\text{M Trolox equivalent/g}$

ก.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) (Thermo Fisher Scientific, รุ่น GENESYS™ 20 Visible, U.S.A)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance) (Mettler Toledo, รุ่น New Classic MF, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox) (Fluka, Denmark)
2. Sodium acetate trihydrate ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (A.R. grade, KemAus, Australia)
3. Tripyridyltriazine (TPTZ) (Merck, Germany)
4. Ferric chloride (FeCl_3) (Fisher Scientific, UK)
5. Gallic acid ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) (Fluka, Spain)
6. Hydrochloric acid 0.1 M (HCl) (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)
7. Methanol (CH_3OH) (Fisher Scientific, UK)

การเตรียมสารละลาย FRAP

1. เตรียมสารละลาย acetate buffer โดยผสม sodium acetate trihydrate 0.3 g ละลายใน glacial acetic acid 1.6 mL แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 mL
2. เตรียมสารละลาย ferric chloride โดยชั่ง ferric chloride 270 g ละลายในน้ำกลั่น เเทลงในขวดปรับปริมาตร 50 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. เตรียมสารละลาย TPTZ โดยการชั่ง 31.2 g ละลายใน HCl 0.04 M เติลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL และปรับปริมาตรด้วย HCl 0.04 M
4. เตรียมสารละลาย FRAP โดยการผสม acetate buffer 25 mL ferric chloride 2.5 mL และ TPTZ 2.5 mL ตามลำดับ แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5 นาที จนได้สารละลายสีน้ำตาลอมส้ม ก่อนจะทำการวิเคราะห์ทุกครั้ง

วิธีวิเคราะห์

สำหรับสารสกัดใบหม่อน

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใบหม่อน 250 μL ผสมกับสารละลาย FRAP 4.75 mL ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 nm ซึ่งสีของตัวอย่างเมื่อผ่านการบ่มแล้วจะเปลี่ยนสีจากเดิมเป็นสีน้ำเงิน โดยใช้ น้ำกลั่นปรับค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0 (set blank)
3. หักลบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP (A_{initial}) จะได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})

สำหรับไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน

1. ละลายไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 1 g ในน้ำกลั่น 10 mL ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 3 นาที
2. นำตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที
4. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใบหม่อน 250 μL ผสมกับสารละลาย FRAP 4.75 mL ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 nm ซึ่งสีของตัวอย่างเมื่อผ่านการบ่มแล้วจะเปลี่ยนสีจากเดิมเป็นสีน้ำเงิน โดยใช้ น้ำกลั่นปรับค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0 (set blank)
6. หักลบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP (A_{initial}) จะได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง (A_{diff})

$$A_{\text{diff}} = A_{\text{final}} - A_{\text{initial}}$$

7. คำนวณหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่า A_{diff} ที่ได้เทียบกับ A_{diff} ของกราฟมาตรฐานของ trolox และรายงานค่าเป็น $\mu\text{M Trolox equivalent/g}$



ภาคผนวก ข. สมบัติทางกายภาพ

ข.1 การวิเคราะห์ค่าความชื้น (% moisture content) ตามวิธีของ AOAC (2000)

1. อบแห้งด้วยอะลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง แล้วใส่ลงในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วจึงชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำเช่นเดิมจนน้ำหนักคงที่
2. ชั่งตัวอย่าง 0.2 g ลงในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบและทำซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณปริมาณความชื้น ด้วยสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง}} \times 100$$

ข.2 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity, a_w) ตามวิธีของ AOAC (2000)

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำของไม้โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนด้วยเครื่อง water activity analyzer (รุ่น MS1, Novasina, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ข.3 การวิเคราะห์ค่าสี ระบบ CIE LAB ด้วยเครื่อง chroma meter

วัดค่าสีของไม้โครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่อุณหภูมิห้อง โดยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-400 ซึ่งใช้ illuminant D65 โดยแสดงค่าสีในระบบ CIE ($L^* a^* b^*$)

โดยค่า L^* คือ ค่าแกนความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100 (โดย 0 คือสีดำ และ 100 คือสีขาว)

a^* คือ ค่าแกนสีเขียว ($-a^*$) จนถึงสีแดง ($+a^*$)
 b^* คือ ค่าแกนสีน้ำเงิน ($-b^*$) จนถึงสีเหลือง ($+b^*$)

คำนวณหาค่าความเข้ม chroma (C^o) จากสมการดังนี้

$$C^o = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

คำนวณ Hue (H^o) โดยคำนวณจากสมการดังนี้

$$\text{Hue } (H^o) = \tan^{-1} (b^*/ a^*)$$

ข.4 การวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% encapsulation yield) ตามวิธีของ Ramakrishnan และคณะ (2018)

ชั่งน้ำหนักของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อนที่ได้ เปรียบเทียบกับปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยของแข็งในสารสกัดใบหม่อน และปริมาณของสารห่อหุ้มก่อนการทำแห้ง

บ

บ

พ่นฝอย เพื่อใช้ในการคำนวณค่าความสามารถในการละลาย ดังสมการนี้

$$\text{ร้อยละผลผลิตที่ได้} = \frac{\text{หนักของสารสกัดใบหม่อนไมโครแคปซูล}}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างก่อนการทำแห้ง}} \times 100$$

ข.5 การวิเคราะห์ร้อยละประสิทธิภาพการกักเก็บ (% encapsulation efficiency) ตัดแปลงจากวิธี Saézn และคณะ (2009)

การหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมด (total bioactive compounds)

1. ชั่งน้ำหนักของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 0.1 g ละลายในสารละลายผสม (เอทานอล : กรดอะซิติก : น้ำ ที่อัตราส่วน 50:8:42) ปริมาตร 1 mL เขย่าด้วย vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที
2. ปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเปิดส่วนใสมากรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 μm แล้ววิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry (ตามวิธีของ Slinkard และคณะ (1997))

การหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบริเวณพื้นผิว (surface bioactive compounds)

1. ชั่งน้ำหนักของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 0.1 g ละลายในสารละลายผสมระหว่างเอทานอลและเมทานอล (อัตราส่วน 1:1) เขย่าด้วย vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที

2. กรองตัวอย่างด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 μm แล้ววิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry (ตามวิธีของ Slinkard และคณะ (1997))

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการกักเก็บ} = \frac{\text{สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมด} - \text{สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบริเวณพื้นผิว}}{\text{สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมด}} \times 100$$

ข.6 การวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูล ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM)

วิเคราะห์ลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูลด้วยเครื่อง scanning electron microscope and energy dispersive X-ray spectrometer (JEOL, JSM-IT300 and Oxford, X-Max N 20)

1. ไรยตัวอย่างลงบนสตัปทองเหลืองที่ติดด้วยแผ่นเทปกาวสองหน้า หลังจากนั้นนำไปเคลือบด้วยทองคำก่อนนำเข้าเครื่อง SEM
2. วิเคราะห์ลักษณะรูปร่างภายนอกของไมโครแคปซูลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ที่ 30 kV กำลังขยาย 500 และ 1000 เท่า

ข.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (water solubility index, WSI) ดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed และคณะ (2010)

1. ชั่งสารไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน 0.2 g และละลายในน้ำกลั่น 10 g แล้วเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 3 นาที
2. ให้ความร้อนตัวอย่าง โดยวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ปิเปิดส่วนใส (supernatant) ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ โดยต้องทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อนชั่งน้ำหนักทุกครั้ง
4. จดบันทึกค่าน้ำหนักของแข็งแห้งที่ได้ เพื่อใช้ในการคำนวณค่าความสามารถในการละลาย ดังสมการนี้

$$\text{ความสามารถในการละลาย} = \frac{\text{ปริมาณของแข็งในส่วนใส}}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด}} \times 100$$

ข.8 การวิเคราะห์อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ตามวิธีของ Ramakrishnan และคณะ (2018)

1. ชั่งตัวอย่าง 0.01 g ลงในถ้วยอะลูมิเนียม (40 μL) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (204 F1 Phoenix)
2. ตั้งค่าโปรแกรมของอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 30 องศาเซลเซียส และเพิ่มอุณหภูมิถึง 90 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และอัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน (purge flow) ที่ 25 mL ต่อนาที

ข.9 การหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) ดัดแปลงตามวิธี AOAC (2006)

1. ออบแห้งถ้วยอะลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ใส่ลงในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้ว จึงชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำเช่นเดิมจนน้ำหนักคงที่
2. ชั่งตัวอย่าง 0.2 g ลงในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบและทำซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณปริมาณของแข็งทั้งหมด ด้วยสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละของแข็งทั้งหมด} = \left[\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง} - \text{น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า}} \right] \times 100$$

ข.10 การเตรียมสารละลายของสารทอหุ้มมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w ในการเอนแคปซูลชันของสารสกัดใบหม่อน

สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารทอหุ้ม 1:1

1. ชั่งมอลโตเดกซ์ทริน DE10-12 60 g และน้ำกลั่น 90 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCIOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 40% w/w น้ำหนักสุดท้าย 150 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w หนัก 150 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:1

สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:2

1. ชั่งมอลโตเดกซ์ทริน DE10-12 120 g และน้ำกลั่น 180 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCIOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 40% w/w น้ำหนักสุดท้าย 300 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w หนัก 300 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:2

ข.11 การเตรียมสารละลายของสารหล่อหุ้มมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยความเข้มข้น 40% w/w ในการเอนแคปซูลชั้นของสารสกัดใบหม่อน

สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:1

1. ชั่งมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อย DE12 60 g และน้ำกลั่น 90 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCIOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 40% w/w น้ำหนักสุดท้าย 150 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยที่ความเข้มข้น 40% w/w หนัก 150 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินด้านทานการย่อยความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:1

สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2

1. ชั่งมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อย DE12 120 g และน้ำกลั่น 180 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCILOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยที่ความเข้มข้น 40% w/w น้ำหนักสุดท้าย 300 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยที่ความเข้มข้น 40% w/w หนัก 300 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายมอลโตเดกซ์ทรินต้านทานการย่อยความเข้มข้น 40% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2

ข.12 การเตรียมสารละลายของสารห่อหุ้มกัมอาร์บิกความเข้มข้น 20% w/w ในการเอนแคปซูลชันของสารสกัดใบหม่อน

สารละลายกัมอาร์บิกความเข้มข้น 20% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2

1. ชั่งกัมอาร์บิก 60 g และน้ำกลั่น 240 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCILOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายกัมอาร์บิกที่ความเข้มข้น 20% w/w น้ำหนักสุดท้าย 300 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายกัมอาร์บิกที่ความเข้มข้น 20% w/w หนัก 300 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องกวนผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายกัมอาร์บิกความเข้มข้น 20% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2

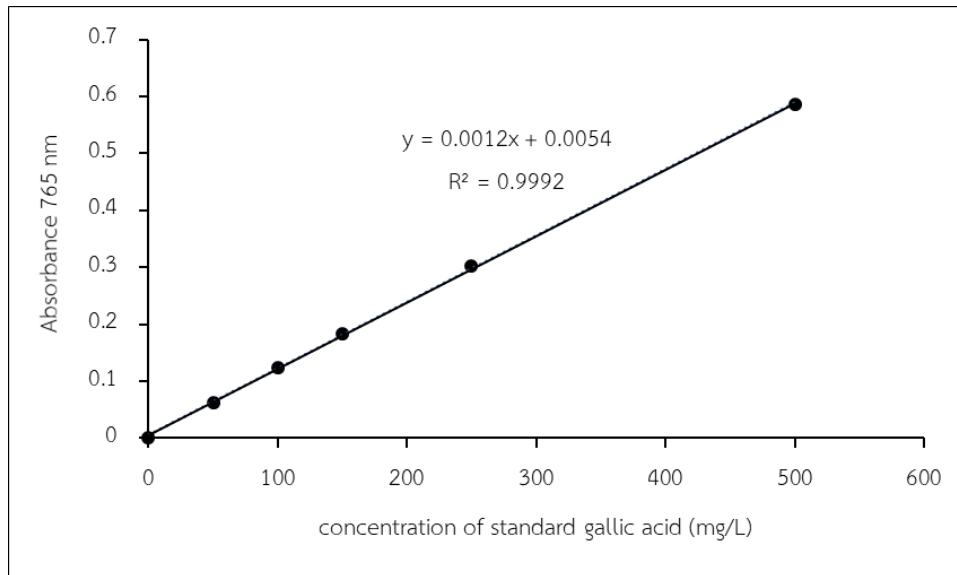
สารละลายกัมอาร์บิกความเข้มข้น 20% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:3

1. ชั่งกัมอาร์บิก 90 g และน้ำกลั่น 360 g ละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสม (SCILOGEX, รุ่น SCI550-S, U.S.A) เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายกัมอาร์บิกที่ความเข้มข้น 20% w/w น้ำหนักสุดท้าย 450 g
2. ผสมสารสกัดใบหม่อน 150 g และสารละลายกัมอาร์บิกที่ความเข้มข้น 20% w/w หนัก

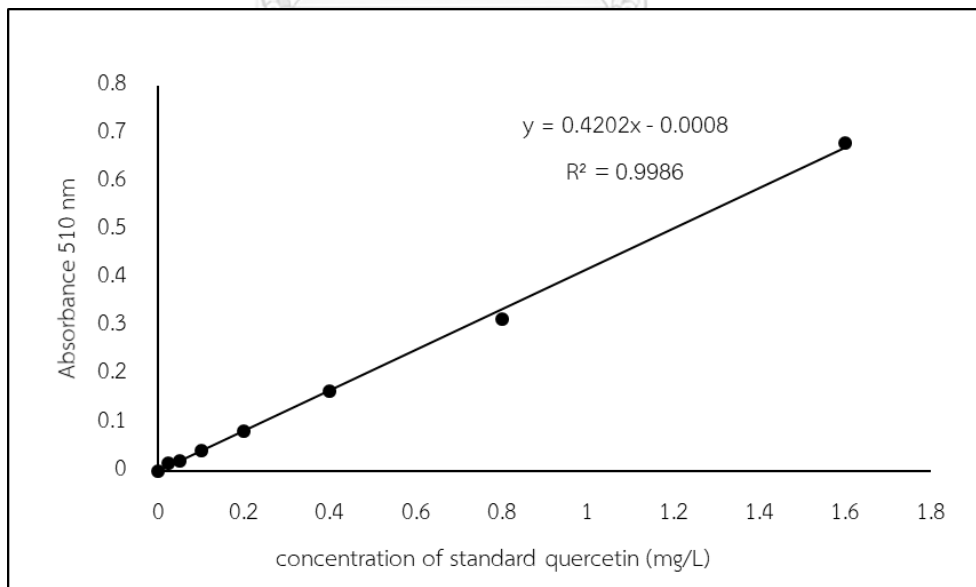
450 g เข้าด้วยกันด้วยเครื่องผสมเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Ystral, รุ่น X10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายกัมอาร์บิกความเข้มข้น 20% w/w ที่อัตราส่วนของสารสกัดต่อสารหล่อหุ้ม 1:3



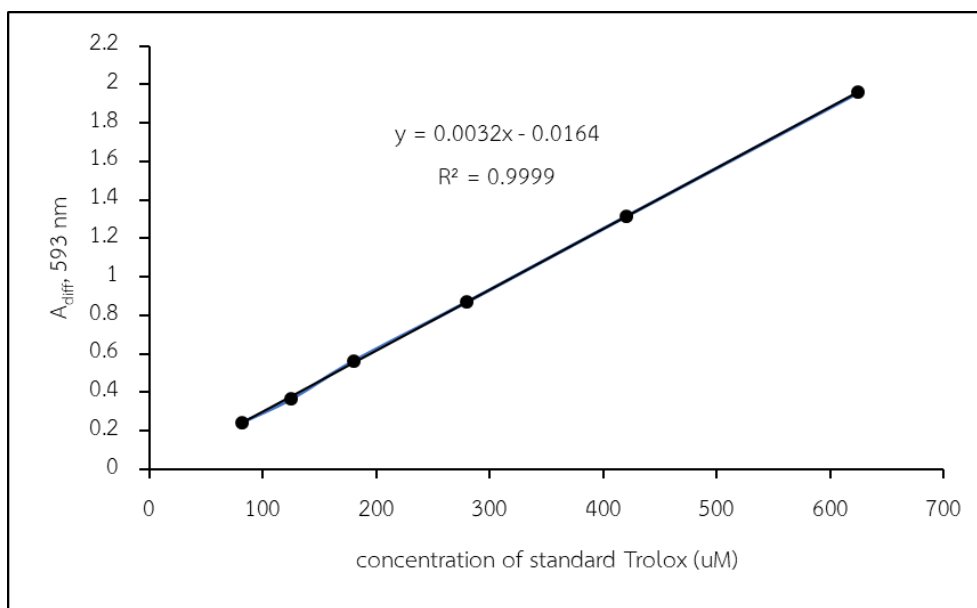
ภาคผนวก ค.
ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม



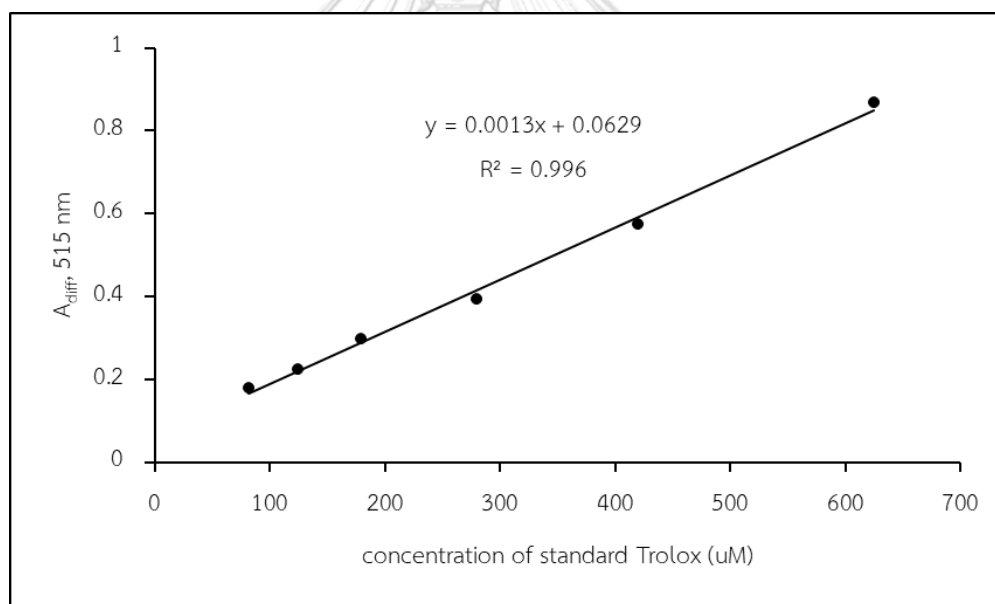
รูปที่ ค.1 กราฟสารละลายมาตรฐาน gallic acid สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



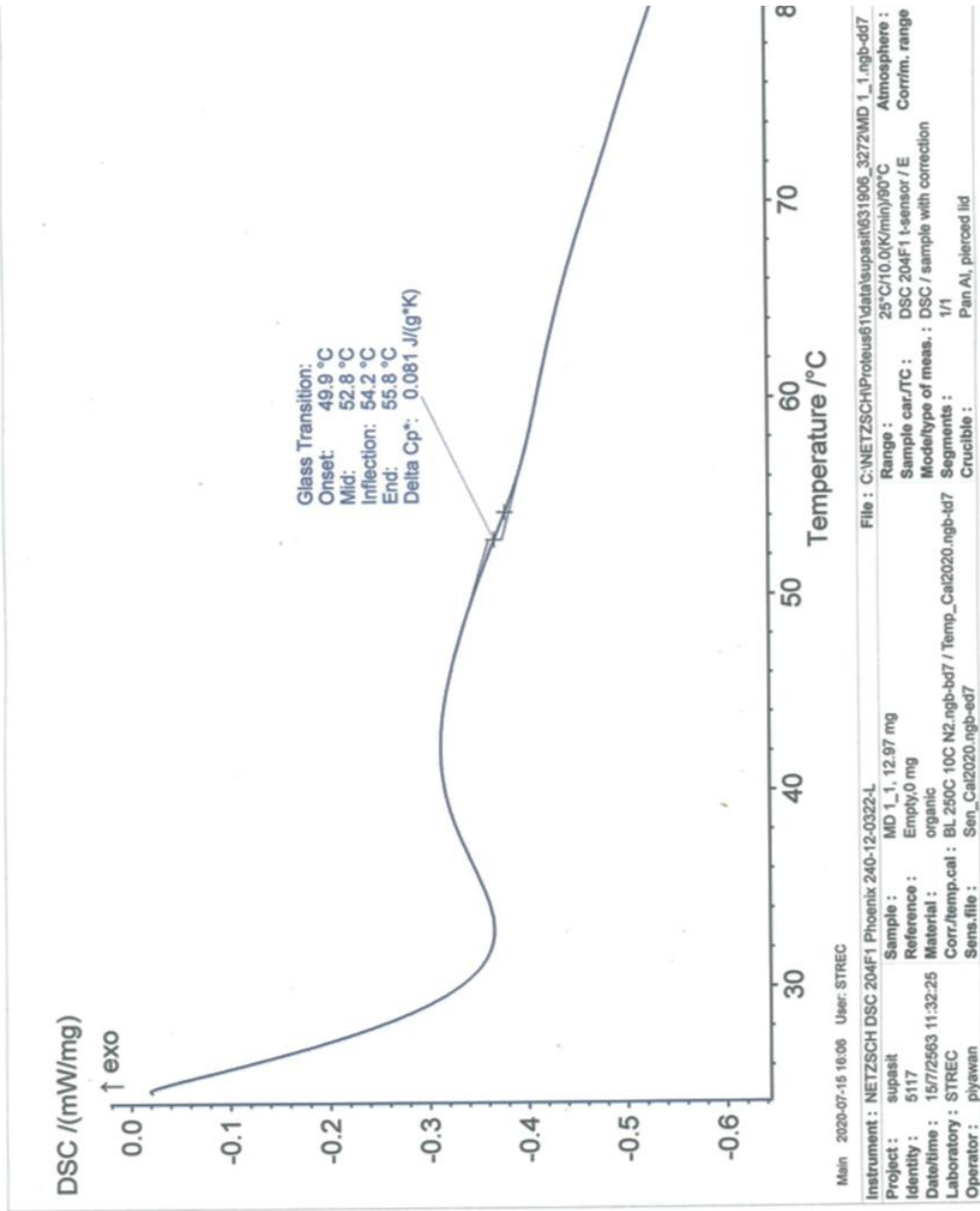
รูปที่ ค.2 กราฟสารละลายมาตรฐาน quercetin สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์



รูปที่ ค.3 กราฟมาตรฐาน trolox สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

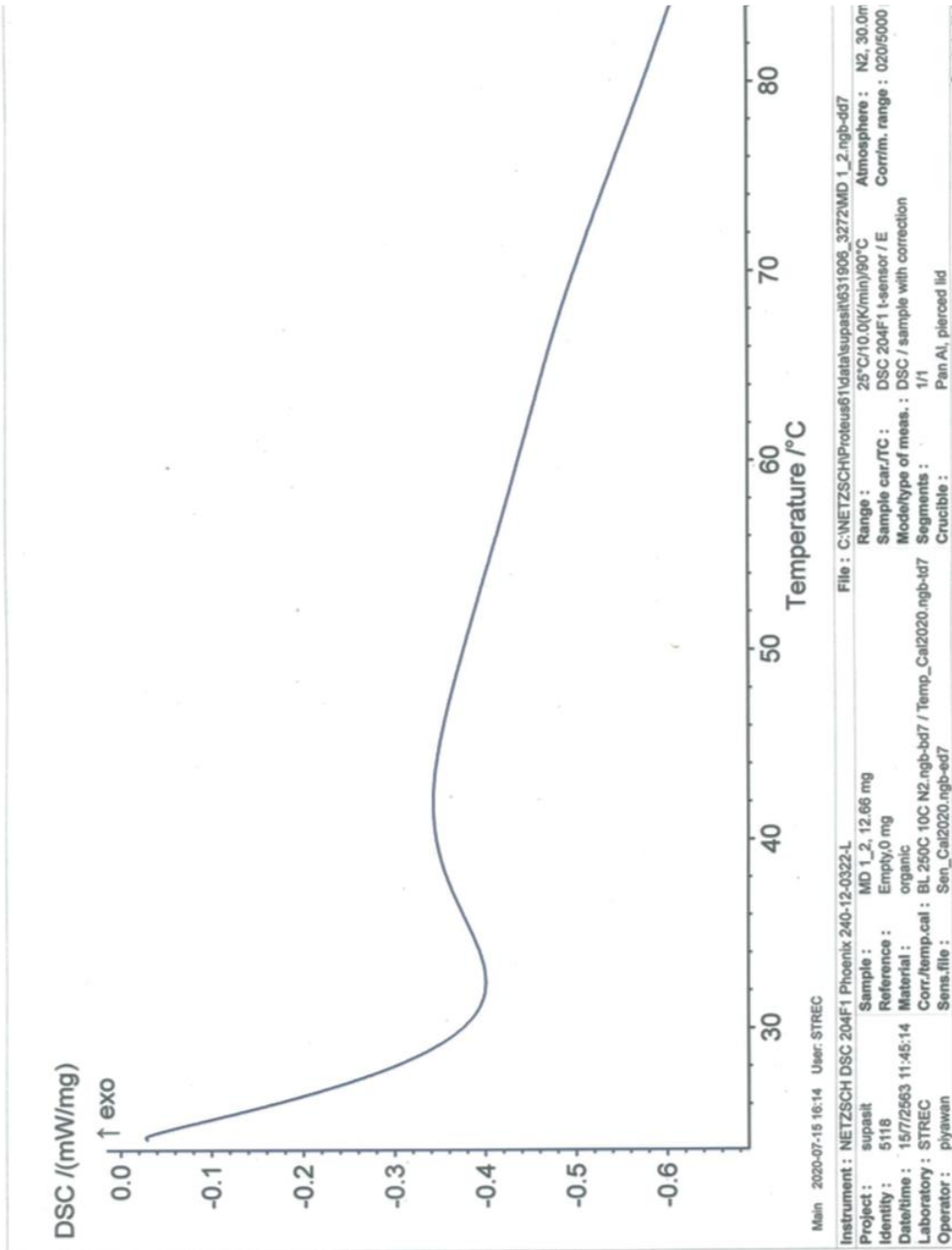


รูปที่ ค.4 กราฟมาตรฐาน trolox สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH



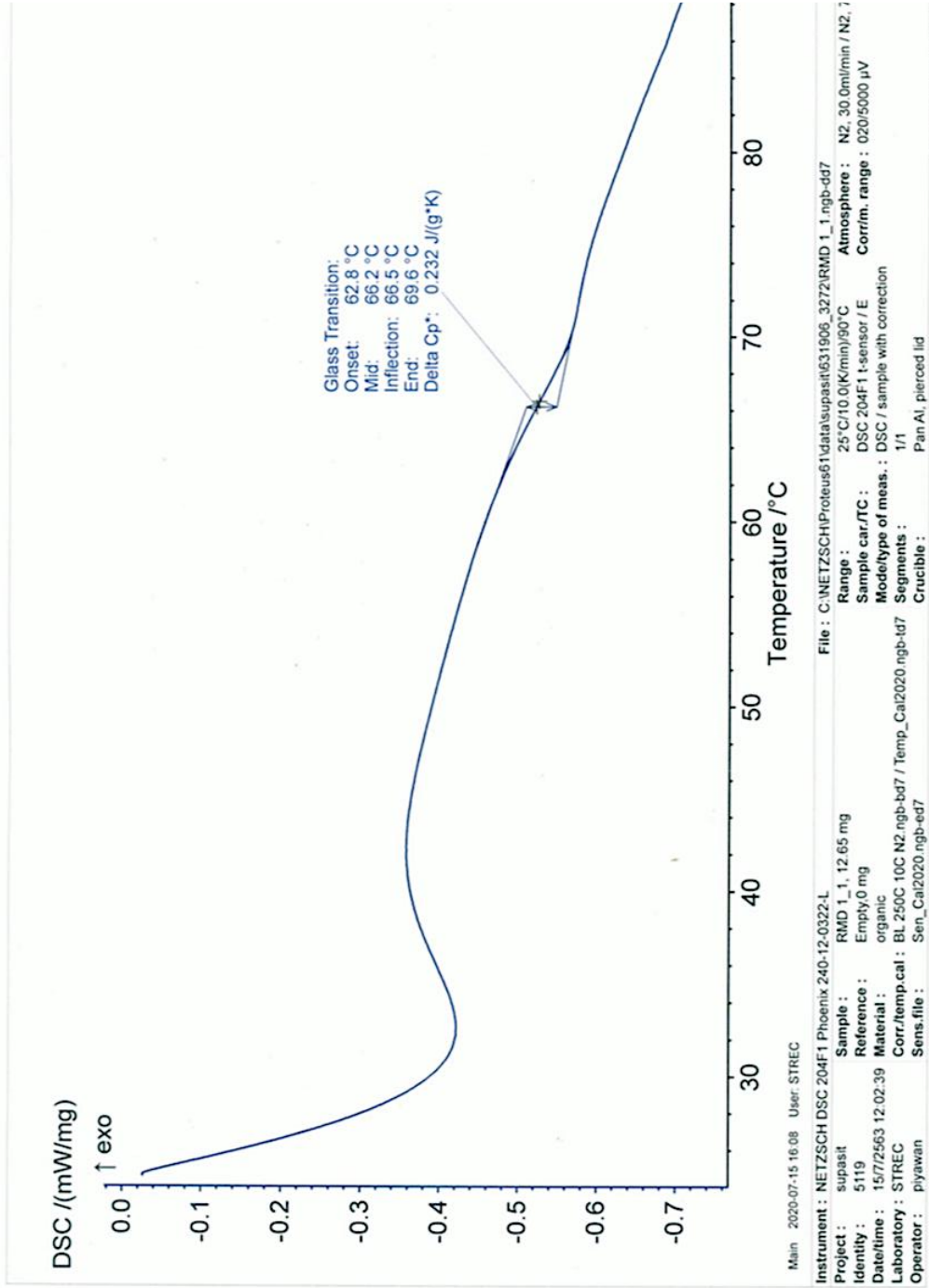
รูปที่ ค.5 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)

ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน MD 1:1



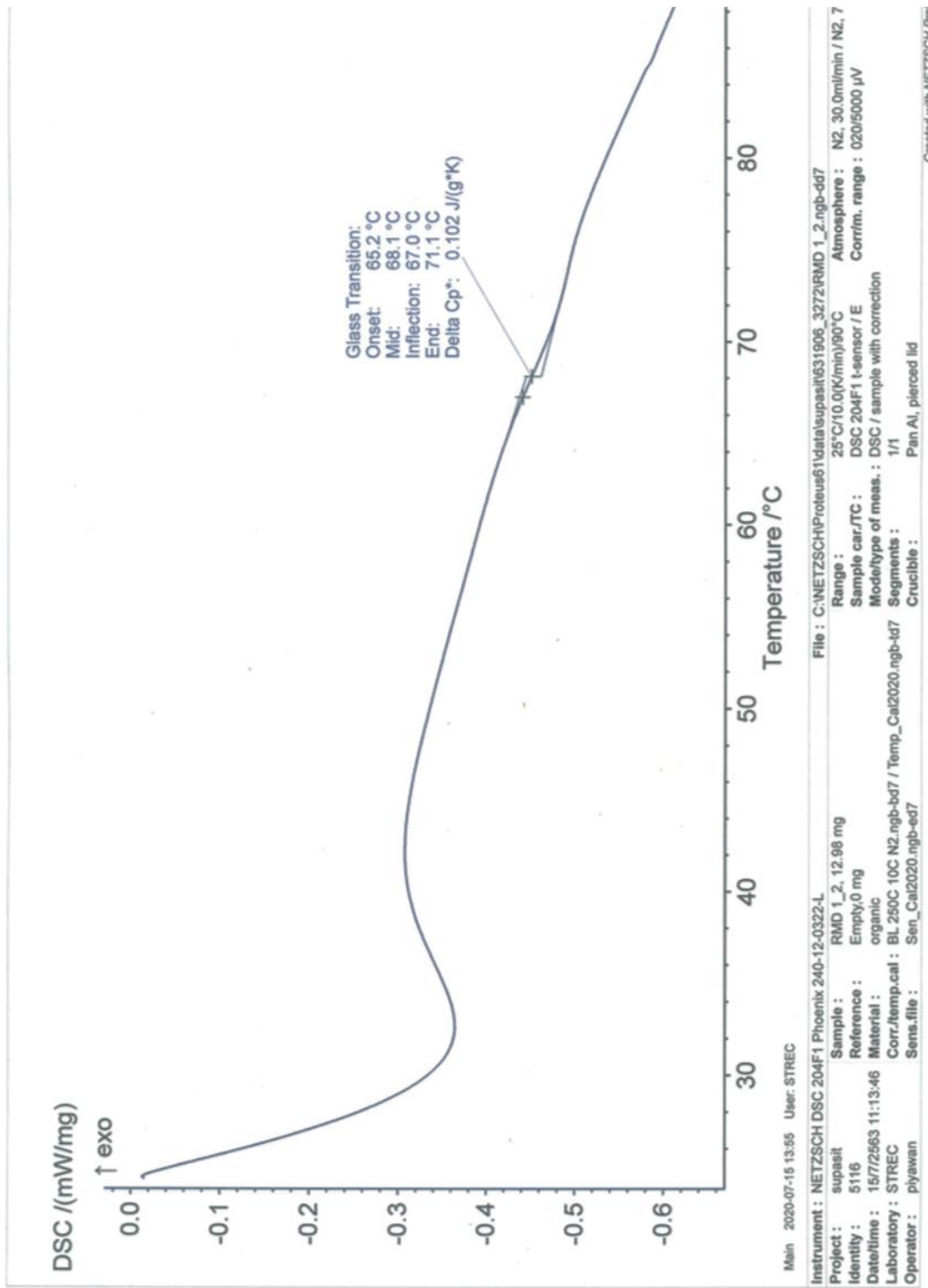
รูปที่ ค.6 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)

ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน MD 1:2



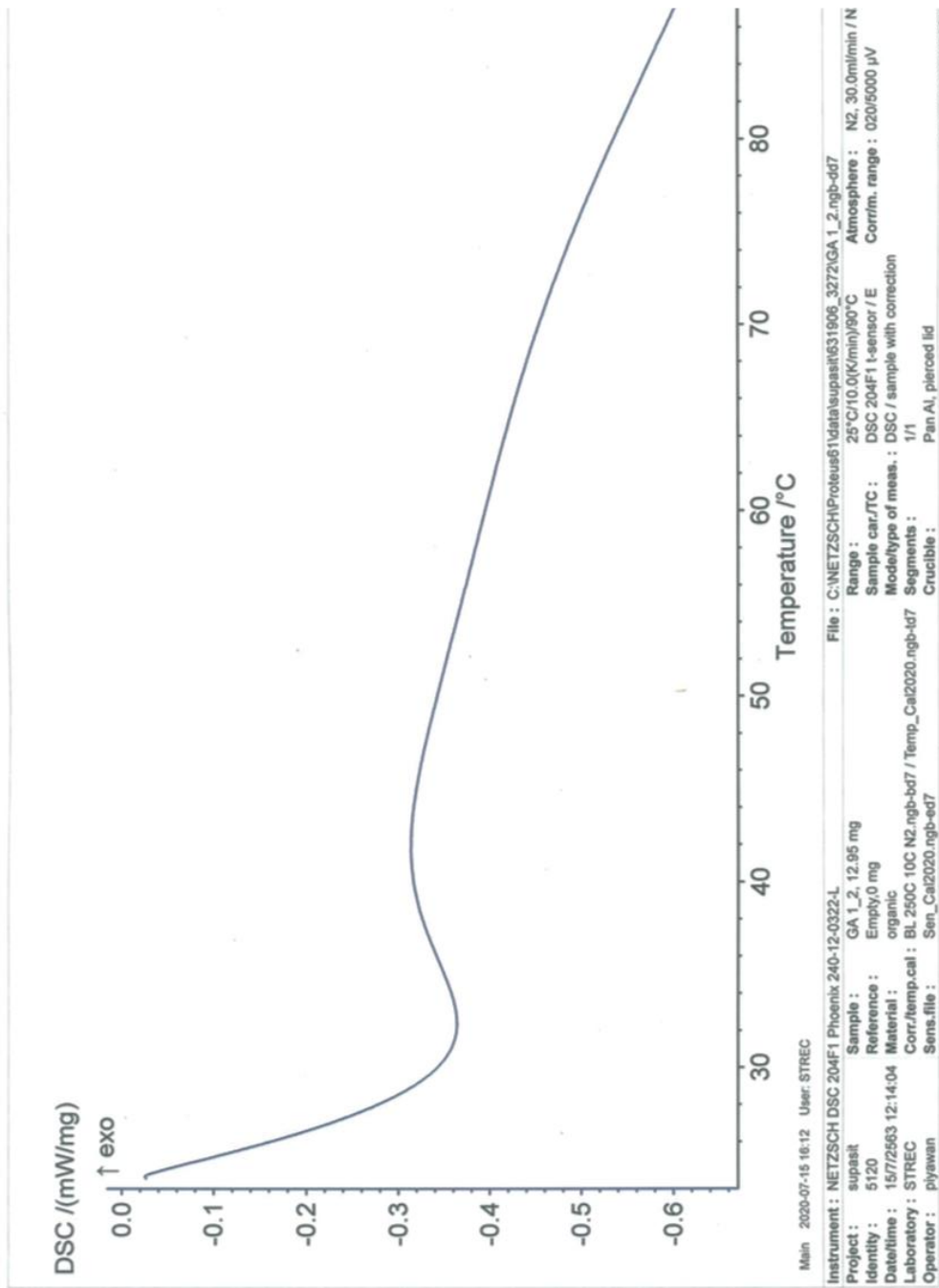
รูปที่ ค.7 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)

ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน RMD 1:1



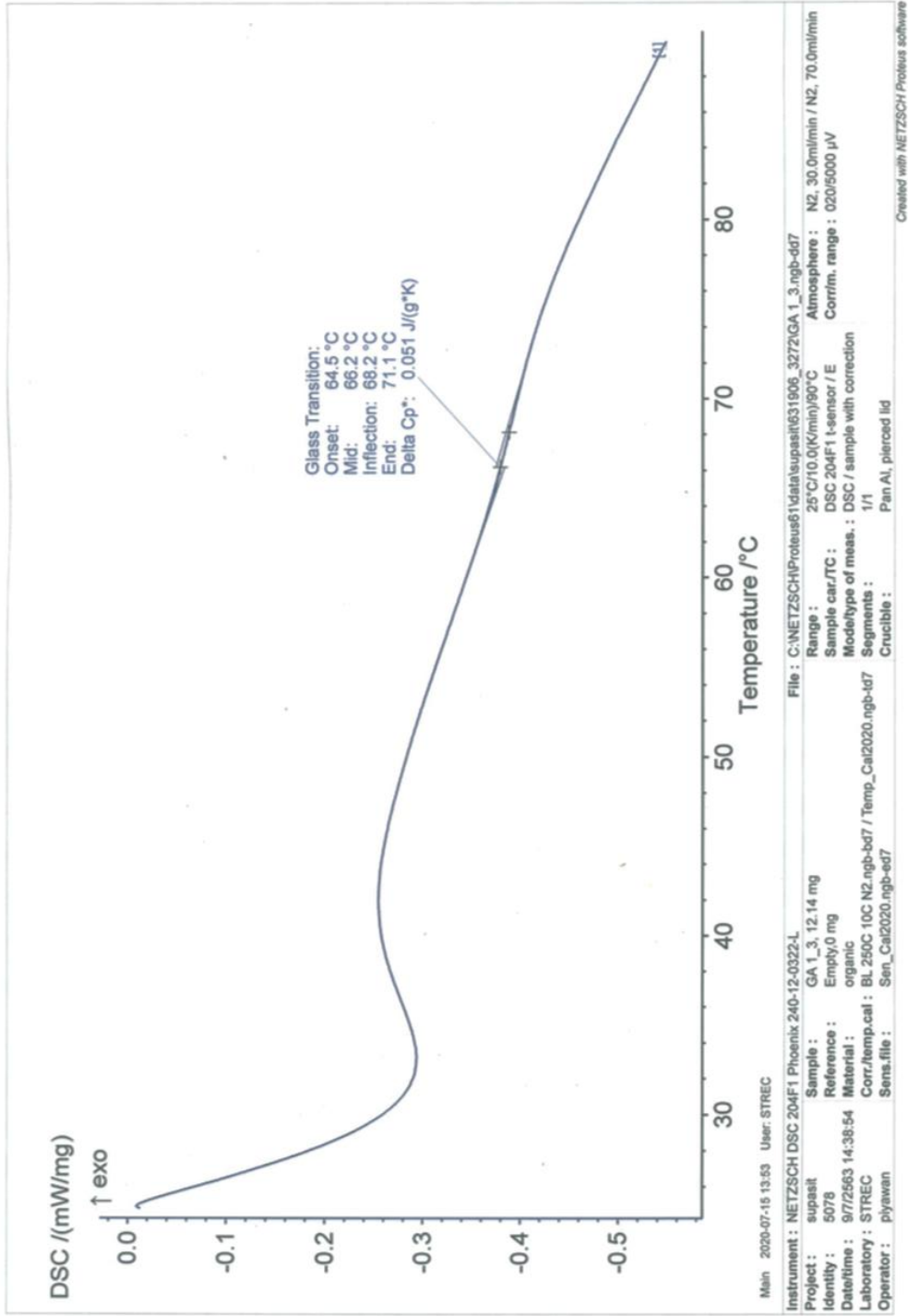
รูปที่ ค.8 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)

ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน RMD 1:2



รูปที่ ค.9 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g)

ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน GA 1:2



รูปที่ ค.10 กราฟแสดงค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของไมโครแคปซูลสารสกัดใบหม่อน G:A 1:3

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศุภสิทธิ์ อินทร์แสง
วัน เดือน ปี เกิด	16 สิงหาคม 2533
สถานที่เกิด	ประจวบคีรีขันธ์
วุฒิการศึกษา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	1082/55 ถนนพหลโยธิน-บางขวาง ตำบลชะอำ อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี 76120
ผลงานตีพิมพ์	Insang, S. and Assatarakul, K. (2020). Antioxidant properties of mulberry leaf using ultrasound-assisted extraction. In Proceedings of the 22nd Food Innovation Asia Conference; 18-19 June 2020; Bangkok, Thailand. p. 9-16.