1. แผนงานวิจัย : แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์เพื่อสุขภาพ Integrated Program on Research and Development on Healthy Products and Packaging.

2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการผลิต Startup ingredients สำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชัน

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): Production of α-glucosidase inhibitors using encapsulation techniques.

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวปาริชาติ อยู่แพทย์ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

ผู้ร่วมงาน : นางสาววิมลวรรณ วัฒนวิจิตร กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

นางสาวสุรีรัตน์ รักเหลือ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

5. บทคัดย่อ :

สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในลำไส้เล็ก และช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดจากการรับประทานอาหารจำพวกแป้ง งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการหาสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืชของประเทศไทยที่มีสารฟลาโวนอยด์สูง นิยมนำมาบริโภค และราคาไม่แพง ได้แก่ หอมแดง ขมิ้นชัน และดอกอัญชันเพื่อใช้ทดแทนยาแก้โรคเบาหวานสังเคราะห์ในอนาคต ผลจากการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดจากหอมแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงที่สุด โดยมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 43.02% รองลงมาคือ ขมิ้นชัน และอัญชันโดยมีค่าเท่ากับ 32.07% และ 18.37% ตามลำดับที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน นำสารสกัดจากหอมแดงไปเอนแคปซูเลชั่นด้วยเวย์โปรตีนไอโซเลท (11%w/v) และใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการเอนแคปซูเลทที่เหมาะสมที่สุด โดยมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 41.32% เอนแคปซูเลทที่ได้มีความเสถียรที่สภาวะการให้ความร้อนระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานาน ระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนสูงเวลาสั้น และระบบยูเอชที ศึกษาสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสมเป็นเวลา 10 เดือน พบว่า การเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เป็นสภาวะที่เหมะสมโดยทำ

ให้ร้อยละการยับยั้งลดจากเดือนที่ 0 เท่ากับ 1.38% นอกจากนี้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตในรูปแบบแคปซูลเพื่อเป็นอาหารเสริมได้

คำสำคัญ: สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส, เอนแคปซูเลชั่น, หอมแดง, การทำแห้งแบบพ่นฝอย

Abstract

α-glucosidase inhibitors are most widely used to inhibit intestinal α-glucosidase enzyme activity, which convert Carbohydrates into simple sugars, and slow down the elevation of blood glucose levels after starchy food uptake. This study aimed to discover potential sources of natural α-glucosidase inhibitors from flavonoid rich-plants in Thailand, which are Shallots, Turmeric and Butter fly pea flowers, for replacing synthetic medicines. The results indicated that Shallots extract had the highest α-glucosidase inhibitory activity of 43.02% according to the observations in test tubes, followed by Turmeric and Butter fly peas, 32.07% and 18.37% respectively. In the following stage, Shallots extract was encapsulated using whey protein isolate (11%w/v) as coating material and the study revealed that spray-drying was the most effective encapsulation technique. The encapsulated inhibitor produced by spray-drying showed 41.32% of inhibition. Additionally, it was stable at pasteurization (low temperature long time and high temperature short time) and UHT. After ten months of storage testing and observation, it was determined that encapsulated inhibitors should be packaged in foil bags and the optimal temperature of storage was 4°C with only 1.38% reduction of inhibitory activity. Finally, the encapsulated inhibitor could be applied as supplements.

Keywords: α-glucosidase inhibitors, encapsulation, Shallot, Spray-drying.

6. คำนำ

เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมากกว่า 10 โมเลกุลขึ้นไปเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟ่าไกลซิดิกด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Zhao *et al*., 2015) เมื่อน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดตับอ่อนจะหลั่งฮอร์โมนอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยปกติอินซูลินจะถูกหลั่งออกมาในปริมาณมากหลังรับประทานอาหาร โดยทำหน้าที่เก็บสะสมน้ำตาลกลูโคสที่ตับ และกล้ามเนื้อในรูปแบบไกลโคเจน และยับยั้งการเปลี่ยนไกลโคเจนไปเป็นน้ำตาลกลูโคส (Huang *et al.,* 2015) หากมีการรับประทานอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมากจะส่งผล

ให้ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ร่างกายไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างเพียงพอ เมื่ออินซูลินในร่างกายไม่พอ น้ำตาลก็ไม่ถูกนำไปใช้ ทำให้เกิดการคั่งของน้ำตาลในเลือดและอวัยวะต่าง ๆ จึงทำให้เกิดโรคเบาหวาน (ไตรวุฒิ และอุทัยวรรณ, 2556) จากผลรายงานของสมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยปี 2562 พบว่า ประชากรไทยวัยผู้ใหญ่ป่วยเป็นโรคเบาหวาน 4.8 ล้านคน คาดการณ์ว่าความชุกของโรคเบาหวานจะเพิ่มสูงขึ้นถึง 5.3 ล้านคนภายในปี 2583 โดยสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเบาหวาน คือ การบริโภคน้ำตาลในปริมาณที่ไม่เหมาะสมทำให้เกิดการเสียสมดุลของการใช้น้ำตาลในเลือด สำหรับแนวทางในการรักษาโรคเบาหวาน คือ การลดระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับระดับปกติได้ด้วยการใช้ยารับประทานและการฉีดอินซูลิน ปัจจุบันยาที่ใช้เพื่อรักษาโรคเบาหวานจะทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสซึ่งทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลในลำไส้เล็ก และป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดจากการรับประทานอาหาร แม้ว่าปัจจุบันจะมีการสังเคราะห์สารชนิดนี้ได้ แต่ก็มีผลในเชิงลบต่อโรคตับ และโรคในระบบทางเดินอาหาร (Murai *et al*., 2002) จึงได้มีงานวิจัยที่สกัดสารซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากแหล่งอาหารธรรมชาติหลายชนิดที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่มีผลกระทบข้างเคียงต่อร่างกายมนุษย์ เช่น ท้องเสีย อาเจียนหรือท้องอืด (Fujita *et al*., 2003) โดยสารสกัดจากธรรมชาติที่สำคัญ คือ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Coman C. *et al.,* 2012)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอล ประเภทฟีนอลิก มีความสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิต้านทาน ต่อต้านการอักเสบ ลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น ในส่วนของคุณสมบัติด้านการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด การรับประทานสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นประจำสามารถเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคเบาหวาน หรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานได้ (Pinent *et al*., 2008) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่มีการใช้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดทั้งในมนุษย์ และสัตว์ทดลอง ผลจากงานวิจัยชี้ให้เห็นว่า สารกลุ่มนี้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่มีผลข้างเคียง (Ahmed *et al*., 2010) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤกษเคมีที่พบได้เฉพาะในพืช ผัก และผลไม้ เท่านั้น (Anderson, 1995) ซึ่งการสกัดฟลาโวนอยด์จากพืชที่มีสารกลุ่มนี้จึงเป็นทางเลือกในการนำมาใช้เพื่อรักษา และป้องกันโรคเบาหวานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น นำไปผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร และยา แต่ปัญหาสำคัญของการนำสารสกัดฟลาโวนอยด์มาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม หรือยา คือ ความไม่คงตัวของสาร เสื่อมสลายได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับอากาศ แสงแดด หรือความร้อน ทำให้ประสบกับปัญหาในการนำมาใช้งานจริง โดยการเสื่อมสภาพของสารเหล่านี้เกิดขึ้นทั้งในกระบวนการผลิต ขนส่ง หรือแม้แต่การเก็บรักษา ปัญหาเหล่านี้สามารถแก้ไขได้ โดยแนวทางหนึ่ง คือ การใช้เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชัน ซึ่งเป็นเทคโนโลยีห่อหุ้ม หรือกักเก็บสารสกัด หรือสารออกฤทธิ์ด้วยพอลิเมอร์ชั้นบาง ๆ ลักษณะเป็นแคปซูลขนาดเล็ก ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 1-1,000 ไมครอน ช่วยให้สารสกัดหรือสารออกฤทธิ์ต่างๆ มีความเสถียร คงทนอยู่ได้นานขึ้น เป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ในกระบวนการผลิต รวมทั้งช่วยควบคุมให้สารมีการปลดปล่อยในบริเวณที่ต้องการ และช่วงเวลาที่เหมาะสม อีกทั้งยังช่วยลดความสิ้นเปลืองในการใช้สารสกัดด้วย (Tari and Singhal, 2002) โดยทั่วไปการเอนแคปซูเลทประกอบด้วยขั้นตอนการดำเนินการ 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกจะเป็นการทำให้เกิดอิมัลชั่นของสารแกนกลาง และสารเคลือบ โดยสารเคลือบที่ใช้ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์ หรือโปรตีน ขั้นตอนที่สอง

เป็นขั้นตอนของการอบแห้งหรือทำให้อิมัลชันเย็นตัวลง โดยชนิดของไมโครแคปซูลที่ผลิตโดยเทคนิคเอนแคปซูเลชั่นมีด้วยกัน 3 ชนิด คือ 1) Single core เป็นรูปแบบของไมโครแคปซูลที่ได้จากการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิค coacervation 2) Multi-core หรือ matrix encapsulation เป็นรูปแบบของไมโครแคปซูลของสารให้กลิ่นรสส่วนใหญ่ที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรมโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย สเปรย์ชิลลิง สเปรย์คูลลิง เอ็กซ์ทรูชั่นในการเอนแคปซูเลท 3) Multi-wall หรือ control release เป็นรูปแบบของไมโครแคปซูลที่มีการเคลือบผิวครั้งที่สองโดยใช้เทคนิค fluidized bed หรือ centrifugal coating ทำให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารในสภาวะที่ต้องการได้ (Nooshin, 2014)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นคุณประโยชน์ของการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืชของประเทศไทยที่มีสารฟลาโวนอยด์สูง นิยมนำมาบริโภค ราคาไม่แพง และสามารถเพาะปลูกในประเทศได้ตลอดทั้งปี โดยได้คัดเลือกสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่สำคัญสามกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่หนึ่ง เควอซิทิน; หอมแดง กลุ่มที่สอง แอนโธไซยานิน; อัญชัน กลุ่มที่สาม เคอร์คูมิน; ขมิ้นขัน ซึ่งมีงานวิจัยที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของการลดระดับน้ำตาลในเลือดจากสารเหล่านี้กับสัตว์ทดลองทั้งที่เป็น และไม่เป็นโรคเบาหวาน พร้อมทั้งใช้เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลทเพื่อช่วยรักษาประสิทธิภาพของสารสกัด และศึกษาการประยุกต์ใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพืช ผักของไทย ยกระดับมาตรฐานในการผลิตวัตถุดิบเพื่ออาหารสุขภาพ ให้ความรู้กับเกษตรกร และภาคอุตสาหกรรมอาหารนำไปต่อยอดได้

7. วิธีดำเนินการ

วัตถุดิบและสารเคมี

- ดอกอัญชันแห้ง
- ขมิ้นชัน
- หอมแดง
- เอทิลแอลกอฮอล์ เกรดงานวิเคราะห์ ยี่ห้อ แล็บสแกน
- กรดไฮโดรคลอริก เกรดงานวิเคราะห์ ยี่ห้อ แล็บสแกน
- เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส บริษัท ซิกมา-อัลดริช คอร์ปอเรชั่น
- ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ยี่ห้อง บี.ดี.เอช.-โปรลาโบร ประเทศอังกฤษ
- พารา-ไนโตรฟีนิล-แอลฟ่า-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ บริษัท ซิกมา-อัลดริช คอร์ปอเรชั่น
- ยา Acarbose ยี่ห้อ Carbosynth ประเทศสหรัฐอเมริกา
- โซเดียมคาร์บอเนต ยี่ห้อ เมอร์ค ประเทศเยอรมนี
- เวย์โปรตีนไอโซเลท 90 บริษัท Milkspecialty
- แคปซูลชนิดนิ่มทึบแสง ยี่ห้อ Piping Rock Health ประเทศสหรัฐอเมริกา

อุปกรณ์ในการผลิต

- เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร กระบอกตวง หลอดทดลอง
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ เทอร์โมเทค
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ยี่ห้อ Sentex รุ่น Model SP-7
- เตาให้ความร้อน ยี่ห้อIKA ประเทศเยอรมนี
- ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Cabinet Tray drier บริษัทยูซิคอร์ป จำกัด
- เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อIKA รุ่น T25 ประเทศเยอรมนี
- เครื่องยูวีวิซิเบิลแอบซอบแบนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ไมโครเพลท รีดเดอร์
- เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ บริษัทไซแอนติฟิค จำกัด
- เครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-100 บริษัท บูชิ (ไทยแลนด์) จำกัด
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ยี่ห้อ Labplant รุ่น SD-06AG
- เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ยี่ห้อ Genesis
- ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Sanyo
- เครื่องบรรจุแคปซูล
- ถุงอลูมิเนียมฟอยด์

วิธีการ

1. คัดเลือกพืชที่มีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูง

1.1 สกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอมแดง อัญชัน และขมิ้นชัน ดังนี้

1.1.1 สกัดสารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงผง ดัดแปลงวิธีของ Nistor Baldea *et al*. (2010) ดังนี้

1) เตรียมหอมแดงผงอบแห้งดังนี้ ล้างหอมแดงสดด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ให้มีความหนาประมาณ 1.0±0.5 มิลลิเมตร นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นของแห้ง และร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดความละเอียดเท่ากับ 80 เมช (Mesh) นำหอมแดงผงที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

2) ศึกษาค่าคุณภาพของหอมแดงผง ดังนี้

- ร้อยละผลผลิต (%Yield)
- ปริมาณความชื้น ดัดแปลงจาก AOAC (2000)
- ค่าสีในระบบ CIE (L* a* b*)

3) สกัดสารจากหอมแดงผง ด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 60% อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ 60 องศาเซลเซียส แช่ไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองสารละลาย และเทตัวทำละลายลงในตัวอย่างเพื่อสกัดซ้ำอีก 2 ซ้ำ นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำส่วนสกัดหยาบที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

4) ศึกษาค่าคุณภาพของสารสกัดจากหอมแดงผง ดังนี้
- ร้อยละผลผลิต (%Yield)
- ค่าสีในระบบ CIE(L* a* b*)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)
- ปริมาณสารเควอซิทินด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric

1.1.2 สกัดสารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง ดัดแปลงวิธีของ Kulling and Rajwelv (2008) ดังนี้

1) สกัดสารจากดอกอัญชันแห้งด้วยตัวทำละลาย 0.1 โมลาร์ไฮโดรคลอริกในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเท่ากับ1:30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แช่ไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองสารละลาย และเทตัวทำละลายลงในตัวอย่างเพื่อสกัดซ้ำอีก 2 ซ้ำ นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำส่วนสกัดหยาบที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

2) ศึกษาค่าคุณภาพของสารสกัดจากดอกอัญชันแห้ง ดังนี้
- ร้อยละผลผลิต (%Yield)
- ค่าสีในระบบ CIE(L* a* b*)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)
- ปริมาณแอนโธไซยานินด้วยวิธี pH-differential ดัดแปลงจาก AOAC (2000)

1.1.3 สกัดสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง ดัดแปลงวิธีของ Kuroda *et al.* (2005)

1) เตรียมขมิ้นชันผงอบแห้งดังนี้ ล้างรากขมิ้นชันสดด้วยน้ำสะอาด นึ่งฆ่าเชื้อในน้ำเดือด อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแช่ในน้ำเย็นจัดทันที นำมาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ให้มีความหนาประมาณ 1.0±0.5 มิลลิเมตร นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง นำมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นของแห้ง และร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดความละเอียดเท่ากับ 80 เมช (Mesh) นำขมิ้นชันผงที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

2) ศึกษาค่าคุณภาพของขมิ้นชันผง ดังนี้

- ร้อยละผลผลิต (%Yield)
- ปริมาณความชื้น ดัดแปลงจาก AOAC (2000)
- ค่าสีในระบบ CIE(L* a* b*)

3) สกัดสารจากขมิ้นชันผงอบแห้ง ด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ 70 องศาเซลเซียส แช่ไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองสารละลาย และเทตัวทำละลายลงในตัวอย่างเพื่อสกัดซ้ำอีก 2 ซ้ำ นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำส่วนสกัดหยาบที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

4) ศึกษาค่าคุณภาพของสารสกัดจากขมิ้นชันผง ดังนี้

- ร้อยละผลผลิต (%Yield)
- ค่าสีในระบบ CIE(L* a* b*)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)
- ปริมาณสารเคอร์คูมินด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลต และวิสิเบิลสเปกโทรสโคปี (UV-VIS Spectroscopy)

1.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลองของสารสกัดที่ได้จากพืช 3 ชนิด

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลองของสารสกัดที่ได้จากพืช 3 ชนิด ได้แก่ สกัดสารเควอซิทิน (Quercetin) หอมแดงผง สารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง และสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง และเปรียบเทียบกับ Acarbose ซึ่งเป็นยาสังเคราะห์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส และใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานในปัจจุบัน ตามวิธีของ Lebowitz et al. (1998) ดังนี้

1) เตรียมสารละลายของสารที่สกัดได้จากพืชแต่ละชนิด โดยชั่งส่วนสกัดมา 500 มิลลิกรัม ละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 1.25, 2.5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ในขวดปรับปริมาตรสีชาขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) จนครบ 10 มิลลิลิตร ได้สารละลายความเข้มข้น 6.25, 12.5 และ25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2) ปิเปตสารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรลงในไมโครเพลท (microplate) ใส่เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส 1 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 40 ไมโครลิตร แล้วทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติมสารละลายพารา-ไนโตรฟีนิล-แอลฟ่า-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ซึ่งทำหน้าที่เป็นซับสเตรทลงไป ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หยุดปฏิกิริยาด้วยโซเดียม

คาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องยูวีวิซิเบิลแอบซอบแบนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ไมโครเพลท รีดเดอร์ (UV/Vis absorbance spectrophotometer microplate reader) โดยใช้ DMSO เป็นแบลงค์ (Blank) จากนั้นเติมสารละลายชนิดเดียวกันลงไปเหมือนกับการทดลองข้างต้น เพื่อคำนวณหาร้อยละการยับยั้ง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ร้อยละการยับยั้งสามารถคำนวณได้จากสมการ

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

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารตัวอย่าง

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

เปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากสารสกัดทั้ง 3 ชนิดเปรียบเทียบกับ Acarbose และคำนวณต้นทุนการผลิต เพื่อคัดเลือกพืชที่ให้ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงสุดและมีต้นทุนการผลิตต่ำสุด และนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสต่อไป

วางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลอง 5 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple's range test

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

2.1 ผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

นำสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืชที่คัดเลือกได้ตามข้อ 1 มาศึกษาวิธีการเอนแคปซูเลชั่นที่เหมาะสมโดยใช้เวย์โปรตีนไอโซเลท (11%w/v) เป็นสารเคลือบในอัตราส่วนระหว่างสารสกัดและสารเคลือบเท่ากับ 1:5 ศึกษาวิธีการเอนแคปซูเลทชั่น 2 วิธี คือ การเอนแคปซูเลชั่นด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง และวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องให้มีอัตราการป้อนอยู่ในช่วง 485-695 มิลลิลิตร/ชั่วโมง อุณหภูมิลมขาออกอยู่ในช่วง 80-85 องศาเซลเซียส ขนาดหัวเข็ม 1.0 มิลลิเมตร นำผลการทดลองที่ได้ไปศึกษารูปร่าง และขนาดของอนุภาคด้วยเทคนิค SEM

2.2 เปรียบเทียบความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ

หลังจากได้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูโคซเดสตามวิธีการในข้อ 2.1 นำเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูโคซเดสที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย มาเปรียบเทียบความเสถียรกับสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชั่นที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ โดยวัดค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ตามวิธีของ Lebowitz *et al.* (1998) ดังนี้

สภาวะที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน

สภาวะที่ 2 การฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานาน (Low Temperature Long Time: LTLT) อุณหภูมิ 63±2°C เวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

สภาวะที่ 3 การฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนสูงเวลาสั้น (High Temperature Short Time: HTST) อุณหภูมิ 85±2°C เวลา 15 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

สภาวะที่ 4 การฆ่าเชื้อด้วยระบบยูเอชที อุณหภูมิ 138±1°C เวลา 3 วินาที

สภาวะที่ 5 การอบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อุณหภูมิ 250±1°C เวลา 30 นาที

กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Desigh : CRD) จำนวน 5 ซ้ำการทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s new multiple’s range test

คัดเลือกเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุดที่สภาวะต่าง ๆ พร้อมทั้งคำนวณต้นทุนการผลิต

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

เก็บรักษาเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ที่อุณหภูมิห้อง (30±3 °C) และอุณหภูมิ 4 °C นำมาศึกษาค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส โดยไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน และผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่สภาวะต่าง ๆ ได้แก่

- สภาวะที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน
- สภาวะที่ 2 การฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานาน (Low Temperature Long Time: LTLT) อุณหภูมิ 63±2°C เวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
- สภาวะที่ 3 การฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนสูงเวลาสั้น (High Temperature Short Time: HTST) อุณหภูมิ 85±2°C เวลา 15 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
- สภาวะที่ 4 การฆ่าเชื้อด้วยระบบยูเอชที อุณหภูมิ 138±1°C เวลา 3 วินาที
- สภาวะที่ 5 การอบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อุณหภูมิ 250±1°C เวลา 30 นาที

ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 1 เดือน เป็นเวลา 10 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple's range test

4. ศึกษาการประยุกต์ใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในผลิตภัณฑ์อาหาร

หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมที่เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสามารถคงอยู่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นำเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสไปผลิตในรูปแบบแคปซูลและศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ คุณภาพทาง กายภาพ เคมี อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ และคำนวณต้นทุนในการผลิตจากราคาของวัตถุดิบ ค่าภาชนะบรรจุ และค่าดำเนินการผลิต ตามวิธีของวิทยาลัยการจัดการ (2548)

ระยะเวลาเริ่มต้น-สิ้นสุด: ตุลาคม 2559 – กันยายน 2562
สถานที่ดำเนินการ: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. คัดเลือกพืชที่มีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูง

1.1 สกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอมแดง อัญชัน และขมิ้นชัน ดังนี้

สกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ สารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงอบแห้ง สารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง และสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผงอบแห้ง ได้ผลการทดลอง ดังนี้

1.1.1 สกัดสารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงผง

คุณภาพทางกายภาพ และเคมีของหอมแดงผง และสารสกัดจากหอมแดงผง แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า หอมแดงผงมีค่าร้อยละผลผลิตของ เท่ากับ 10.16 หอมแดงผงที่ได้มีสีขาวอมชมพู มีค่าสี L* a* b* เท่ากับ 76.86±0.46, 1.42±0.92 และ7.42±0.38 ตามลำดับ มีปริมาณความชื้นร้อยละ 7.38 ของน้ำหนักแห้ง นำหอมแดงผงที่ได้ไปสกัดสารเควอซิทิน และวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี พบว่า สารสกัดจากหอมแดงผงมีร้อยละผลผลิตของสารสกัด เท่ากับ 64.50 สีน้ำตาล มีค่า L* a* b* เท่ากับ 25.77±0.22, 6.54±0.43 และ-6.57±0.32 ตามลำดับ มีสภาพเป็นกรดอ่อนโดยมีค่าpH เท่ากับ 5.09 และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 215.8±0.015 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อกรัมของส่วนสกัด

ตารางที่ 1 ค่าคุณภาพทางกายกายภาพ และเคมีของหอมแดงผง

ค่าคุณภาพ	หอมแดงผง	สารสกัดหอมแดง
ร้อยละผลผลิตของหอมแดงผง (%Yield)	10.16	64.50
ค่าสี		
L*	76.86±0.46	25.77±0.22
a*	1.42±0.92	6.54±0.43
b*	7.42±0.38	-6.57±0.32
ปริมาณความชื้น (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)	7.38	-
ค่า pH	-	5.09
ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อกรัมของส่วนสกัด)	-	215.8±0.015

ภาพที่ 1 สารสกัดจากหอมแดงผง

1.1.2 สกัดสารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง

คุณภาพทางกายภาพ และเคมีของสารสกัดจากดอกอัญชันแห้งแสดงดังตารางที่ 2 พบว่ามีค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัด เท่ากับ 57.59 โดยสารสกัดมีสีม่วงแดง มีค่า L* a* b* เท่ากับ 22.13±0.42, 4.34±1.05 และ-4.85±0.44 ตามลำดับ มีสภาพเป็นกรดโดยมีค่า pH เท่ากับ 2.24 และมีปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 266.31 มิลลิกรัมของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 2 ค่าคุณภาพทางกายกายภาพ และเคมีของสารสกัดจากดอกอัญชันแห้ง

ค่าคุณภาพ	สารสกัดดอกอัญชันแห้ง
ร้อยละผลผลิตของสารสกัด (%Yield)	57.59
ค่าสี	

L*	22.13±0.42
a*	4.34±1.05
b*	-4.85±0.44
ค่าpH	2.24
ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง)	266.31±7.83

ภาพที่ 2 การสกัดสารจากดอกอัญชันแห้ง

1.1.3 สกัดสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง

คุณภาพทางกายภาพ และเคมีของขมิ้นชันผง แสดงดังตารางที่ 3 พบว่า มีค่าร้อยละผลผลิตของขมิ้นชันผง เท่ากับ 24.35 ขมิ้นชันผงที่ได้มีสีส้มอมเหลือง มีค่า L* a* b* เท่ากับ 63.88±1.05, 16.48±0.20 และ37.00±0.91 ตามลำดับ และมีปริมาณความชื้นร้อยละ 9.72 ของน้ำหนักแห้ง นำขมิ้นชันผงที่ได้ไปสกัดสารเคอร์คูมิน และวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี พบว่า สารสกัดจากขมิ้นชันผง มีร้อยละผลผลิตของสารสกัด เท่ากับ 58.26 สีส้มอมเหลือง มีค่า L* a* b* เท่ากับ 52.45±0.42, 26.28±0.08 และ25.49±0.14 ตามลำดับ มีค่าpH เท่ากับ 5.04 และมีปริมาณสารเคอร์คูมิน เท่ากับ 214.72±0.03 มิลลิกรัมเคอร์คูมินต่อกรัมของส่วนสกัด

ตารางที่ 3 ค่าคุณภาพทางกายกายภาพ และเคมีของขมิ้นชันผง

ค่าคุณภาพ	ขมิ้นชันผง	สารสกัดขมิ้นชัน
ร้อยละผลผลิตของขมิ้นชันผง (%Yield)	24.35	58.26
ค่าสี		
L*	63.88±1.05	52.45±0.42
a*	16.48±0.20	26.28±0.08
b*	37.00±0.91	25.49±0.14

ปริมาณความชื้น (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)	9.72	-
ค่าpH	-	5.04
มิลลิกรัมเคอร์คูมินต่อกรัมของส่วนสกัด	-	214.72±0.03

ภาพที่ 3 สารสกัดจากขมิ้นชันผง

1.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดที่ได้จากพืช 3 ชนิด

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงผง สารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง และสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง เปรียบเทียบกับ Acarbose ซึ่งเป็นยาสังเคราะห์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส และใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานในปัจจุบัน แสดงดังภาพที่ 4 พบว่า

สารสกัดทั้งสามชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสารสกัดจากหอมแดงมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน และดอกอัญชัน โดยที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหอมแดงมีร้อยละการยับยั้ง เท่ากับ 43.02 ขณะที่สารสกัดขมิ้นชัน และดอกอัญชัน มีค่าเท่ากับ 32.07 และ18.37 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดทั้งสามชนิดกับ Acarbose พบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสน้อยกว่า Acarbose ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน โดย Acarbose มีร้อยละการยับยั้ง เท่ากับ 43.02 ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดที่ใช้เป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งมีส่วนผสมของสารหลายชนิดทำให้ประสิทธิภาพหรือฤทธิ์ที่แสดงต่อน้ำหนักค่อนข้างต่ำ หากมีการศึกษาต่อเนื่องโดยแยกส่วนสกัดต่าง ๆ ทำบริสุทธิ์ให้มากขึ้นก็อาจจะทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์ต่อน้ำหนักสูงขึ้นได้

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากหอมแดงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาต่อเพื่อใช้ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส โดยนำสารสกัดจากหอมแดงไปพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมแก่การใช้งานในผลิตภัณฑ์อาหารโดยใช้วิธีการเอนแคปซูเลทต่อไป

ภาพที่ 4 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดดอกอัญชัน สารสกัดขมิ้นชัน สารสกัดหอมแดง และ Acarbose

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

2.1 ผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

หลังจากคัดเลือกสารสกัดของพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสมากที่สุด ตามวิธีในข้อ 1 นั่นคือ สารสกัดหอมแดง นำสารสกัดหอมแดงมาผลิตเอนแคปซูเลทโดยใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และแบบพ่นฝอย สารเคลือบ คือ เวย์โปรตีนไอโซเลท (11%w/v) อัตราส่วนสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 1:5 นำอิมัลชันของผสมระหว่างสารสกัดหอมแดง และเวย์โปรตีนไอโซเลทไปศึกษาการกระจายตัวของสารสกัดหอมแดงในเวย์โปรตีนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) ก่อนนำไปผลิตเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดง และนำไปศึกษารูปร่าง และขนาดของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 5-7

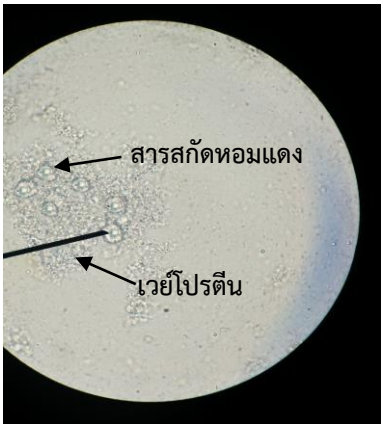
ผลการศึกษาอิมันชันของผสมระหว่างสารสกัดหอมแดง และเวย์โปรตีนไอโซเลทพบว่า สารสกัดหอมแดงมีการกระจายตัวเข้ากันดีกับเวย์โปรตีนไอโซเลท แสดงดังภาพที่ 5

ผลการศึกษารูปร่าง และขนาดของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงที่ถูกเอนแคปซูเลทด้วยเวย์โปรตีนโดยใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ในอัตราส่วน 1:5 เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอก มีสีขาวอมเหลือง รูปร่าง

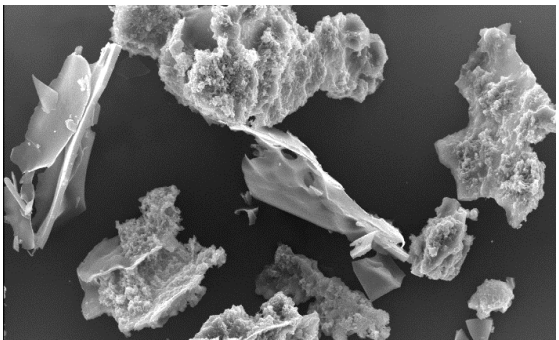
เป็นเกล็ดแผ่นบาง เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500x พบว่า อนุภาคมีหลายรูปทรง (irregular shape) มีรูปทรงเหลี่ยม และลักษณะเป็นผลึก (crystallization) บางผลึกมีสารมาเกาะและมีรูพรุน (porosity) ขณะที่บางผลึกเป็นแผ่นเรียบไม่มีสารมาเกาะ เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาค พบว่า ที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารเคลือบ 1:5 มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย 50 ไมครอน (ภาพที่ 6)

ผลการศึกษารูปร่าง และขนาดของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงที่ถูกเอนแคปซูเลทด้วยเวย์โปรตีนโดยใช้วิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย ในอัตราส่วน 1:5 (ภาพที่ 7) พบว่า เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอก มีสีขาว รูปร่างเป็นผงละเอียด เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 2000x พบว่า อนุภาคเป็นรูปทรงกลม (spherical shape) ผิวเรียบ และหดตัวเหี่ยวย่น (smooth and shrinkage surface) มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย 10 ไมครอน

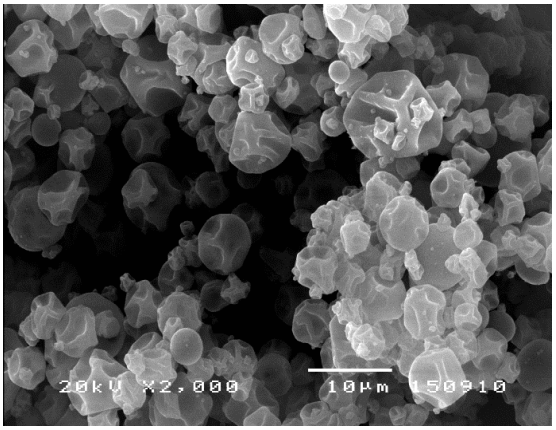
ความหลากหลายของโครงสร้าง เช่น ขนาดของอนุภาค และลักษณะรูปทรงของเอนแคปซูเลทมีผลต่อความเสถียรของเอนแคปซูเลท การยังคงอยู่หรือการปกป้องสารแกนภายในเอนแคปซูเลท (Baldwin *et al.*, 2012) โดยเอนแคปซูเลทที่มีรูพรุนจะมีความสามารถในการปกป้องสารแกนภายในได้น้อยกว่าเอนแคปซูเลทที่มีผิวเรียบ (Korus, 2001) พื้นผิวและโครงสร้างของสารเคลือบที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการทำแห้งมีผลมาจากอัตราการทำแห้ง การให้ความร้อนไม่สม่ำเสมอ ทำให้พื้นผิวการไหลของของเหลว การขยายตัวของอากาศ และการระเหยของน้ำภายในอนุภาคไม่สม่ำเสมอ และเกิดการหดตัวหรือรูพรุนของอนุภาค (Gouin, 2004) นอกจากนี้ Jackson and Lee (1999) ได้กล่าวถึงพื้นผิวด้านนอกของเอนแคปซูเลทที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีลักษณะยุบตัวนั้น เกิดจากการหดตัวของอนุภาคระหว่างการทำแห้ง และทำให้เย็น



ภาพที่ 5 อิมัลชันของสารสกัดหอมแดงและเวย์โปรตีนไอโซเลท (Liquid state) ก่อนนำไปผลิตเอนแคปซูเลท



ภาพที่ 6 ลักษณะทางกายภาพของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยใช้เวย์โปรตีนเป็นสารเคลือบในอัตราส่วน 1:5 กำลังขยาย 500x



ภาพที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงโดยใช้เวย์โปรตีนเป็นสารเคลือบในอัตราส่วน 1:5 กำลังขยาย 2000x

2.2 เปรียบเทียบความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ

นำเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงด้วยเวย์โปรตีนไอโซเลทโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และทำแห้งแบบพ่นฝอยในอัตราส่วน 1:5 มาศึกษาความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเปรียบเทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชั่นที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ โดยวัดค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ตามวิธีของ Lebowitz *et al.* (1998) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 พบว่า การเอนแคปซูเลทสารสกัดจากหอมแดงด้วยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ผลร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงกว่าการเอนแคปซูเลทด้วยการทำแห้งแบบแช่

เยือกแข็ง และการไม่เอนแคปซูเลชั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกสภาวะการให้ความร้อน เนื่องจากผลการศึกษารูปทรงของเอนแคปซูเลท พบว่า เอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม มีรูพรุนน้อย ผิวเรียบจึงส่งผลต่อความเสถียรของเอนแคปซูเลท และสามารถปกป้องสารแกนภายในเอนแคปซูเลทได้มากกว่า ขณะที่การเอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เอนแคปซูเลทที่ได้มีรูพรุนมากจึงส่งผลให้มีความสามารถในการปกป้องสารแกนภายในได้น้อยกว่าเอนแคปซูเลทที่มีผิวเรียบ และการที่สารสกัดไม่มีสารเคลือบปกป้องส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารสกัดลดลงมากที่สุด ดังนั้น การเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงโดยใช้เวย์โปรตีนไอโซเลทอัตราส่วน 1:5 เป็นสารเคลือบ และใช้กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการเอนแคปซูเลทที่เหมาะสมที่สุด

ตารางที่ 4 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ของสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชันเปรียบเทียบกับเอนแคปซูเลทด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

กรรมวิธีเอนแคปซูเลชั่น	ไม่ผ่านการให้ความร้อนns	กรรมวิธีการให้ความร้อน				ต้นทุนการผลิต (บาท/สารสกัด 1 กรัม)
		63±2°C 30 นาที	85±2°C 15 วินาที	138±1°C 3 วินาที	250±1°C 30 นาที	
ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชั่น	43.14%	13.41%c	27.62%c	25.78%c	ND	17.27
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	41.32%	32.11%a	36.49%a	35.91%a	8.02%	28.98
การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	41.65%	22.37%b	34.58%b	32.53%b	4.23%	34.17

หมายเหตุ $^{a-c}$ หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ND หมายถึง ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากมีค่าน้อยมาก

รายละเอียดต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส แสดงดังตารางที่ 5 พบว่า ต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส ประกอบด้วย ราคาหอมแดงสด เอทิลแอลกอฮอล์ 60% เวย์โปรตีนไอโซเลท กระบวนการเอนแคปซูเลท โดยจากการแสดงรายละเอียดต้นทุนการผลิต การเอนแคปซูเลททำให้มีต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นคิดเป็นร้อยละ 40.41-47.61 เมื่อเทียบกับไม่ผ่านการเอนแคปซูเลท และการเอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยคิดเป็นร้อยละ 15.20

ตารางที่ 5 รายละเอียดต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

รายการวัตถุดิบ	จำนวน	ราคาต่อหน่วย(บาท)	รวม(บาท)
ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลท			
1. หอมแดงสด	10 กิโลกรัม	16.00	160.00
2. เอทิลแอลกอฮอล์ 60%	2.0 ลิตร	120.00	240.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 23.16 กรัม)			400.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 1 กรัม)			17.27
เอนแคปซูเลทด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย			
1. หอมแดงสด	10 กิโลกรัม	16.00	160.00
2. เอทิลแอลกอฮอล์ 60%	2.0 ลิตร	120.00	240.00
3. เวย์โปรตีนไอโซเลท	115 กรัม	0.62	71.30
4. ค่าบริการเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.5 ชั่วโมง	400.00	200.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 23.16 กรัม)			671.30
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 1 กรัม)			28.98
เอนแคปซูเลทด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง			
1. หอมแดงสด	10 กิโลกรัม	16.00	160.00
2. เอทิลแอลกอฮอล์ 60%	2.0 ลิตร	120.00	240.00
3. เวย์โปรตีนไอโซเลท	115 กรัม	0.62	71.30
4. ค่าบริการเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	0.5 ชั่วโมง	640.00	320.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 23.16 กรัม)			791.30
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 1 กรัม)			34.17

หมายเหตุ หอมแดงสด 10 กิโลกรัม สามารถผลิตหอมแดงอบแห้งได้ 1.016 กิโลกรัม

ราคาหอมแดงสด มาจากราคาหน้าแปลงเกษตรกร จ.ศรีสะเกษ พ.ศ. 2561

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

นำเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาะการผลิตที่เหมาะสมตามข้อ 2 มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±3°C) โดยทดสอบค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ เป็นเวลา 10 เดือน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6 พบว่า ที่สภาวะไม่ผ่านการให้ความร้อน เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเริ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 4 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และลดลงเรื่อย ๆ ทุก 1 เดือน ขณะที่สภาวะการให้ความร้อน พบว่า การให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 63±2°C เวลา 30 นาที, 85±2°C เวลา 15 วินาที และ138±1°C เวลา 3 วินาที เริ่มมีการลดลงของค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 เดือน โดยมีการลดลงประมาณ 2.5-5.9% แต่สภาวะการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63±2°C เวลา 30 นาทีจะมีค่าร้อยละการยับยั้งลดลงช้ากว่าการให้ความร้อนสูงแต่ใช้เวลาต่ำ (85±2°C เวลา 15 วินาที และ 138±1°C เวลา 3 วินาที) ขณะที่สภาวะการให้ความร้อนที่ 250±1°C เวลา 30 นาที เริ่มมีการลดลงของค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 เดือน โดยมีการลดลงประมาณ 3.9%

เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 เดือน พบว่า เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนมีร้อยละการยับยั้งสูงกว่าเอนแคปซูเลทที่ผ่านการให้ความร้อน โดยมีค่าเท่ากับ 35.14% ลดลง 6.97% จากเดือนเริ่มต้นในการเก็บรักษา (เดือนที่ 0) ขณะที่เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63±2 °C เวลา 30 นาที, 85±2°C เวลา 15 วินาที 138±1°C เวลา 3 วินาที และ 250±1°C เวลา 30 นาที มีร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) เท่ากับ 24.35% 30.87% 29.67% และ4.11% ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสระยะเวลาการเก็บรักษา 10 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง (30±3 °C)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ไม่ผ่านการให้ความร้อน	กรรมวิธีการให้ความร้อน			
		63±2°C 30 นาที	85±2°C 15 วินาที	138±1°C 3 วินาที	250±1°C 30 นาที
0	42.11%a	32.10%a	35.42%a	35.17%a	8.06%ab
1	42.18%a	30.19%b	35.12%bc	34.27%b	8.15%a
2	41.53%a	29.06%c	35.17%b	33.68%c	8.03%ab
3	41.50%a	29.17%c	34.96%c	33.55%c	7.83%b

4	40.67%bc	29.04%c	34.72%d	33.05%d	7.79%b
5	40.18%cd	28.54%d	33.97%e	32.42%e	7.37%c
6	39.86%cd	28.51%d	33.73%f	32.13%e	7.22%c
7	39.43%d	28.11%e	33.54%g	31.80%f	6.33%d
8	38.22%e	27.04%f	32.29%g	31.45%g	5.21%e
9	37.90%e	26.87%f	31.68%h	30.79%h	5.07%e
10	35.14%f	24.35%g	30.87%h	29.67%i	4.11%f

หมายเหตุ [a-i] หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เก็บรักษาเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ โดยติดตามค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ทุก 1 เดือน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7 พบว่า เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 เดือน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองแตกต่างจากตัวอย่างเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า ที่สภาวะไม่ผ่านการให้ความร้อน เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเริ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเริ่มลดลงอย่างช้า ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 เดือน พบว่า มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส เท่ากับ 40.70% ลดลงจากเดือนที่ 0 เท่ากับ 1.38% เมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ พบว่า การให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 63±2°C เวลา 30 นาที, 85±2°C เวลา 15 วินาที และ138±1°C เวลา 3 วินาที เริ่มมีการลดลงของค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 เดือน โดยมีค่าลดลง 0.07-0.16% เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 10 เดือน ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสมีค่าเท่ากับ 31.05%, 34.21% และ34.09% ตามลำดับ โดยลดลงจากเดือนที่ 0 เท่ากับ 0.92-1.13% ขณะที่อุณหภูมิ 250±1°C เวลา 30 นาที ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 เดือน โดยมีค่าลดลง 0.11% เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 เดือน พบว่ามีค่าร้อยละการยับยั้งเท่ากับเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสมีค่าเท่ากับ 7.53% ลดลงจากเดือนที่ 0 เท่ากับ 0.51%

ตารางที่ 7 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสระยะเวลาการเก็บรักษา 10 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

		กรรมวิธีการให้ความร้อน			
ระยะเวลาการเก็บรักษา	ไม่ผ่านการ	63±2°C	85±2°C	138±1°C	250±1°C

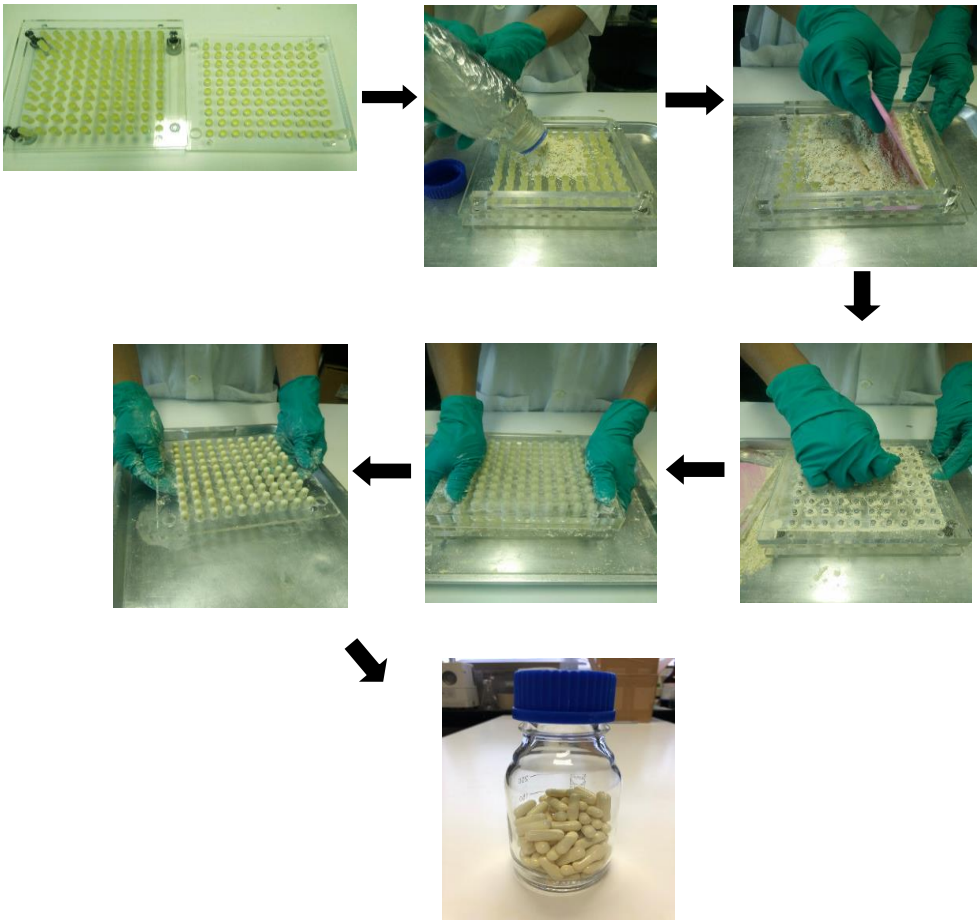
(เดือน)	ให้ความร้อน	30 นาที	15 วินาที	3 วินาที	30 นาที
0	42.08%a	32.18%a	35.22%a	35.01%a	8.04%a
1	42.13%a	32.11%ab	35.06%ab	34.93%ab	8.01%a
2	42.10%a	32.03%ab	35.10%ab	34.87%ab	7.97%a
3	41.98%ab	31.95%ab	35.02%ab	34.70%ab	7.93%ab
4	41.76%b	31.87%b	34.91%bc	34.67%bc	7.83%bc
5	41.61%c	31.72%c	34.82%cd	34.59%c	7.72%cd
6	41.53%c	31.66%c	34.74%cd	34.51%c	7.72%cd
7	41.50%c	31.62%c	34.70%cd	34.48%c	7.70%cd
8	41.27%d	31.58%c	34.65%d	34.40%cd	7.62%de
9	40.74%e	31.11%d	34.33%e	34.12%d	7.58%de
10	40.60%f	31.05%d	34.21%e	34.09%d	7.53%e

หมายเหตุ [a-f] หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการศึกษาการเก็บรักษาเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสทั้งสองสภาวะ ได้แก่ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±3°C) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลองของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสูงกว่าประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±3°C) ดังนั้น วิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสมของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส คือ การเก็บรักษาในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. ศึกษาการประยุกต์ใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในผลิตภัณฑ์อาหาร

ศึกษาการประยุกต์ใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเหมาะสมต่อการใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส ต้องเป็นอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการผลิตที่ให้ความร้อนสูง เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานาน (Low Temperature Long Time: LTLT ผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อด้วยระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนสูงเวลาสั้น (High Temperature Short Time: HTST) โดยผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูล ผลการทดสอบ พบว่า 1 แคปซูลบรรจุสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูซิเดสได้ 0.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองได้เฉลี่ย 42%



ภาพที่ 12 การผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูล

นำผลิตภัณฑ์เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูลมาคำนวณต้นทุนการผลิต รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 8 พบว่า ต้นทุนของผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย หอมแดงสด เอทานอล เวย์โปรตีนไอโซเลท เม็ดแคปซูล ค่าบริการเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยการใช้หอมแดงสด 10 กิโลกรัม จะสามารถผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูลได้ 12,000 เม็ด เม็ดละ 0.5 กรัม โดยมีต้นทุนการผลิตเม็ดละ 0.46 บาท หากบรรจุ 100 เม็ดต่อขวด จะมีต้นทุนการผลิตขวดละ 46 บาท เทียบกับยา Acarbose ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวานปริมาณ 5 กรัม ราคา 10,100 บาท

ตารางที่ 8 รายละเอียดต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูล

รายการวัตถุดิบ	จำนวน	ราคาต่อหน่วย	รวม

		(บาท)	(บาท)
1. หอมแดงสด	10 กิโลกรัม	16.00	160.00
2. เอทานอล 60%	2 ลิตร	120.00	240.00
3. เวย์โปรตีนไอโซเลท	5 กิโลกรัม	0.62	3,100.00
4. ค่าบริการเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.5 ชั่วโมง	400.00	200.00
5. เม็ดแคปซูล	12,000 เม็ด	0.16	1,920.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากสารสกัด 1,000 กรัม)			5,620.00
รวมเป็นเงิน (คิดจากแคปซูล 1 เม็ด หนักเม็ดละ 0.5 กรัม)			0.46
รวมเป็นเงิน (คิดจากแคปซูล 100 เม็ด หนักเม็ดละ 0.5 กรัม)			46.00

หมายเหตุ หอมแดงสด 10 กิโลกรัม สามารถผลิตหอมแดงอบแห้งได้ 1.016 กิโลกรัม
ราคาหอมแดงสด มาจากราคาหน้าแปลงเกษตรกร จ.ศรีสะเกษ พ.ศ. 2561

ศึกษาการเก็บรักษาแคปซูลเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในขวดแก้ว โดยติดตามค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ทุก 1 เดือน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9 พบว่า แคปซูลเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 เดือน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองไม่แตกต่างแตกจากตัวอย่างเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเท่ากับ 42.09%

ตารางที่ 9 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ของแคปซูลเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ร้อยละการยับยั้งns (%inhibition)
0	42.14%
1	42.11%
2	42.11%
3	42.09%

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

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชั่นมีขั้นตอนการดำเนินงานคือ การคัดเลือกพืชที่มีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูง การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และการศึกษาการประยุกต์ใช้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในผลิตภัณฑ์อาหาร สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. หอมแดงเป็นพืชศักยภาพในการนำมาผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสมากที่สุด โดยมีร้อยละการยับยั้งในระดับหลอดทดลอง เท่ากับ 43.02

2. กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากสารสกัดหอมแดงที่เหมาะสมที่สุด โดยมีต้นทุนการผลิต 28.98 บาท/สารสกัด 1 กรัม และมีความเสถียรที่สภาวะการให้ความร้อนระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานาน (Low Temperature Long Time: LTLT ระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนสูงเวลาสั้น (High Temperature Short Time: HTST) และระบบยูเอชที

3. สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากสารสกัดหอมแดงคือเก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. ผลิตแคปซูลบรรจุสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูซิเดส โดยแคปซูล 1 เม็ดมีสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูซิเดส 0.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองได้เฉลี่ย 42% มีต้นทุนการผลิตเม็ดละ 0.46 บาท หากบรรจุ 100 เม็ดต่อขวด จะมีต้นทุนการผลิตขวดละ 46 บาท ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แคปซูลเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองไม่แตกต่างแตกจากตัวอย่างเริ่มต้น โดยมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเท่ากับ 42.09%

ข้อเสนอแนะ

1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในพืชสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนายารักษา และป้องกันโรคเบาหวานจากสารสกัดธรรมชาติได้ในอนาคตเพื่อลดผลข้างเคียงเชิงลบต่อร่างกายจากยาสังเคราะห์

2. เพื่อให้สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากสารสกัดธรรมชาติมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ Acarbose ซึ่งเป็นยาสังเคราะห์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส ควรมีการแยกส่วนสกัดต่าง ๆ ทำบริสุทธิ์ให้มากขึ้นเพื่อทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์ต่อน้ำหนักสูงขึ้น

3. การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชั่นเป็นเพียงการทดลองในระดับหลอดทดลอง ดังนั้น จึงควรมีการทำการทดสอบประสิทธิภาพในมนุษย์ก่อนนำไปผลิตเพื่อจำหน่าย

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชั่นสู่กลุ่มเป้าหมาย คือ กลุ่มเกษตรกรรุ่นใหม่ ผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์จากหอมแดงในจังหวัดศรีสะเกษ และผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมอาหาร โดยจัดโครงการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการหลักสูตร การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหอมแดง และการผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสบรรจุแคปซูล

11. เอกสารอ้างอิง

ไตรวุฒิ พันธุ์โยธา และอุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์. 2556. การป้องกันโรคเบาหวานด้วยใบจินเจียเหมาเยี่ย และแป๊ะตำปึง. (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.inmu.mahidol.ac.th. (11 เมษายน 2559)

สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย. 2562. วันเบาหวานโลก 2562 World Diabetes Day Thailand 2019 Together Fight Diabetes. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.hfocus.org/content/2019/11/18031. (24 กุมภาพันธ์ 2563).

Ahmed, OM., Moneim, AA., Yazid, IA., Mahmoud, AM. 2010. Antihyperglicemic antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of Ruta graveolens infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocininduced diabetic rats. Diabetologia Croatica 39: 15-35.

Anderson, JW. 1995. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. New England Journal of Medicine 333: 276-282.

Baldwin, EA., Hagenmaier, RD., Bai, J. 2012. Edible coatings and films to improve food quality. [Online]. Available: http://www.crcpress.com [Accessed 10 April 2016].

Coman, C., Dumitrita Rugina, O., Socaciu, Carmen. 2012. Plants and Natural Compounds with Antidiabetic Action. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoc 40(1) : 314-325.

Fujita, H., Yamagami, T., and Ohshima, K. 2003. Long-term ingestion of Touchi-extract,

an a-glucosidase inhibitor, by borderline and mildtype-2 diabetic subjects is safe and significantly reduces blood glucose levels. *Nutrition Research* 23: 713–722.

Gouin, S. 2004. “Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends.” Trends in Food Science and Technology 15(7-8): 330-347.

Huang, X.L., Pan, J.H., Chen, D., Chen, J., Chen, F. and Hu, T.T. 2015. Efficacy of lifestyle interventions in patients with type2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. European Journal of Internal Medicine. (in press).

Jackson, L.S and Lee, K. 1999. Microencapsulated iron for food fortification. Journal of Food Science 56(4): 1047-1050.

Johnston, P.S., Coniff, R.F., Hoogwerf, B.J., Santiago, J.V., Pi-Sunyer, F.X. and Krol, A. 1994, Effects of theCarbohydrase Inhibitor Miglitol in Sulfonylurea-Treated NIDDM Patients. *Diabets Care* 17 : 20-29.

Encapsulation. Journal of the American Chemical Society 370: 177-802.

Korus, J. 2001. Microencapsulation of flavours in starch matrix by coacervation method. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 10(51): 17-23.

Kulling, SE. and Rawel, HM. 2008. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristic components and potential health effects. Planta Medica 74:1625-1634.

Kuroda, M., Mimaki, Y., Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H., Tsukawa, M., Takahashi, K., Kawada, T., Nakagawa, K. and Kitahara, M. 2005. Hypoglycemic effects of Turmeric (*Curcuma longa* L. Rhizomes) on genetically diabetic KK-Ay mice. Biological and Phamaceutical Bulletin 28: 937-939.

Lebowitz, J., Teale, M., and Schuck, P. 1998. Analytical band centrifugation of proteins and protein complexes. *Biochem. Soc. Transact.* 26: 745– 749.

Murai, A., Iwamura, K., Takada, M., Ogawa, K., Usui, T., and Okumura,J. 2002. Control of postprandialhyperglycaemia by galactosylmaltobionolactone and its novel anti-amylase effect in mice. *Life Science* 71: 1405–1415.

Nistor Baldea, LA., Martineau, LC., Benhaddou-Andaloussi, A., Arnason, JT., Levy, E. and Haddad, PS. 2010. Inhibition of intestinal glucose absorption by anti-diabetic medicinal plants derived from the James Bay Cree traditional pharmacopeia. Journal of Ethnopharmacology 132: 473-482.

Nooshin Noshirvani. 2014. An overview of encapsulation technologies for food. [Online].

Available: http://www.foodscitechnology.co.uk [Accessed 12 April 2016].

Pinent, M., Castell, A., Baiges, I., Montagut, G., Arola, L. 2008. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. Comprehensive Review Food Science and Food Safety 7: 299-308.

Tari, T.A. and Singhal, R.S. 2002. Starch based spherical aggregates: reconfirmation of the role of amylose on the stability of a model flavouring compound, vanillin. Carbohydrates Polymers 50: 279–282.

Zhao, D.G., Zhou, A.Y., Zhang, Y., Zhang, K. and Ma, Y.Y. 2015. Coumarins with α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities from the flower of *Edgeworthia gardneri. Fitoterapia* 107: 122-127.