รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาการผลิต Startup ingredients สำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ

Research and development on the startup ingredients for the functional products

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย
นางสาวศุภมาศ กลิ่นขจร
Miss Supamas Klinkajorn

ปี พ.ศ. 2562

รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาการผลิต Startup ingredients สำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ

Research and development on the startup ingredients for the functional products

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวศุภมาศ กลิ่นขจร

Miss Supamas Klinkajorn

ปี พ.ศ. 2562

คำปรารภ

ปัจจุบันผู้บริโภคทั่วโลกตื่นตัวและใส่ใจกับการดูแลสุขภาพของตัวเองมากขึ้น แนวโน้มการผลิตและการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ดีต่อสุขภาพจึงเพิ่มสูงขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นยังมีผู้บริโภคจำนวนไม่น้อยที่ถือแนวคิดที่ว่า “การป้องกันดีกว่าการรักษา” อาหารจึงไม่เป็นเพียงปัจจัยในการดำรงชีวิตเท่านั้น แต่กลายเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่จะสร้างคุณภาพชีวิตที่ดีต่อไป ดังนั้นแนวโน้มของการพัฒนาอาหารของโลกในปัจจุบันและอนาคตจึงมีทิศทางไปยังการพัฒนานวัตกรรมอาหารในกลุ่มอาหารเสริมสุขภาพในรูปของอาหารฟังก์ชันและผลิตภัณฑ์นิวตราซูติคอล (functional and nutraceutical food) เป็นหลัก ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมรับประทาน และถูกจำกัดด้วยรูปแบบของบริโภคที่ตายตัว เช่น เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์ทดแทนมื้ออาหาร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ startup ingredients สำหรับใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพรวมไปถึงเครื่องสำอางเพื่อชะลอริ้วรอย ที่สามารถรองรับต่อกระบวนการผลิตที่หลากหลาย จะส่งผลต่อการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพให้เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังเป็นเรื่องที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการรองรับการเติบโตของธุรกิจการผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและการดูแลสุขภาพของผู้บริโภค

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	1
ผู้วิจัย	2
บทนำ.....	3
บทคัดย่อ.....	9
ระเบียบวิธีวิจัย.....	11
ผลการวิจัย.....	19
บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	49
บรรณานุกรม.....	51

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณท่านอธิบดีกรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการกรมวิชาการเกษตร และคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการของกองวิจัยพัฒนาและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ให้การสนับสนุนและคำแนะนำด้านวิชาการแก่โครงการวิจัย และนักวิจัย รวมทั้งกำกับดูแลการดำเนินงานของโครงการวิจัยให้บรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการที่ได้ตั้งไว้ ท้ายที่สุดขอขอบคุณความร่วมมือ และความตั้งใจอันดีของบุคลากรของกลุ่มวิจัยและพัฒนาการแปรรูปผลิตผลเกษตร กองวิจัยพัฒนาและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ทุ่มเทความพยายามเพื่อที่จะทำให้ผลงานวิจัยบรรลุตามเป้าหมาย

ผู้วิจัย

ศุภมาศ กลิ่นขจร	Supamas Klinkajorn	กวป.
วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	Wimonwan Wattanawichit	กวป.
ปาริชาติ อยู่แพทย์	Parichart Yoopaet	กวป.
นายโกเมศ สัตยาวุธ	Komate Sattayawut	กวป.
อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์	Akanit Pisanwatcharin	กวป.
ประยูร เอ็นมาก	Prayoon Enmak	กวป.
สุรีรัตน์ รักเหลือ	Sureerat Rukluar	กวป.
สุปรียา ศุขเกษม	Supreeya Sukhasem	กวป.

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคทั่วโลกตื่นตัวและได้หันมาใส่ใจกับการดูแลสุขภาพของตัวเองมากขึ้น การผลิตและการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ดีต่อสุขภาพจึงเพิ่มสูงขึ้น การพัฒนาอาหารของโลกในปัจจุบันและอนาคตจึงมีทิศทางไปยังการพัฒนานวัตกรรมอาหารในกลุ่มอาหารฟังก์ชันและผลิตภัณฑ์นิวตราซูติคอล (functional and nutraceutical food) เป็นหลัก โดยผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีแนวโน้มเติบโตในระยะ 5 ปีข้างหน้า คือ ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพเฉพาะด้าน (specialty supplements) ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อการควบคุมน้ำหนัก บำรุงสมอง เพื่อความสวยงาม และเพื่อสุขภาพที่ยั่งยืน ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมรับประทาน และถูกจำกัดด้วยรูปแบบของบริโภคที่ตายตัว เช่น เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์ทดแทนมื้ออาหาร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ startup ingredients สำหรับใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางเพื่อชะลอริ้วรอย เพื่อรองรับกระบวนการผลิตให้หลากหลายมากขึ้น จะส่งผลให้สามารถพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพให้หลากหลาย อีกทั้งยังจำเป็นการรองรับการเติบโตของธุรกิจผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและการดูแลสุขภาพของผู้บริโภค

กลุ่มโรคไม่ติดต่อ (Non-communicable Disease, NCD) เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญมากที่สุดในปัจจุบัน โดยมีข้อมูลที่ชี้ให้เห็นว่าอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยด้วยโรคเหล่านี้เพิ่มขึ้นมากในช่วงหลายปีที่ผ่านมา จนมีจำนวนผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากโรคไม่ติดต่อสูงกว่าปีละ 36 ล้านคนทั่วโลก โดยโรคที่เป็นปัญหาด้านสุขภาพอันดับต้นๆ คือ โรคมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ใหญ่ และโรคเบาหวาน

มะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นมะเร็งทำให้เกิดการเสียชีวิตในอันดับต้นๆ ของผู้ป่วยโรคมะเร็งทั้งหมด โดยอัตราการเกิดในผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ในประชากรชายพบถึงร้อบละ 19.7 และในประชากรหญิงพบถึงร้อยละ 11.1 โดยเพศชายจะพบผู้ป่วยมะเร็งลำไส้สูงเป็นอันดับที่ 1 จากผู้ป่วยโรคมะเร็งทั้งหมด และในเพศหญิงพบผู้ป่วยที่เป็นมะเล็งลำไส้อยู่ในอันดับที่ 3 รองจากมะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2563) การบริโภคอาหารที่มีใยอาหารสูง หรือมีสารพรีไบโอติกสูง ร่วมกับการออกกำลังกายสม่ำเสมอ จะสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ได้ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีสารพรีไบโอติกสูงในปัจจุบันมักอยู่ในรูปแบบนมผงสำหรับเด็ก หรือเครื่องดื่มที่มีนมเป็นส่วนประกอบ ซึ่งผู้บริโภคที่แพ้นมไม่สามารถบริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ การพัฒนาผลิตภัณฑ์พรีไบโอติสูงจากน้ำผลไม้เข้มข้นจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการดูแลสุขภาพให้กับผู้บริโภคกลุ่มนี้ ทั้งนี้การพัฒนาผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกสูงต้องพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งาน และสามารถใช้ได้ในหลากหลายผลิตภัณฑ์ เช่น สารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร การพัฒนาผลิตภัณฑ์ดังกล่าว นอกจากจะเป็นการส่งเสริมสุขภาพให้กับผู้บริโภคและช่วยลดโอกาสการเกิดมะเร็งลำไส้แล้ว การผลิตที่ใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่หาได้ง่ายและประสบปัญหาด้านราคาในฤดูการเก็บเกี่ยวจะยังเป็นการแก้ปัญหาให้กับภาคเกษตรกรด้านผลผลิตล้นตลาดได้อีกทางหนึ่ง โดยการผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นสามารถทำโดยใช้กระบวนการระเหยหรือวิธีแยกน้ำออกแบบด้วยวิธีการต่าง ๆ (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) เช่น

- Vacuum evaporator เป็นการระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศหรือที่ความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศ ซึ่งน้ำระเหยที่อุณหภูมิต่ำลง ทำให้คุณภาพอาหารดีขึ้นกว่าการระเหยที่ความดันบรรยากาศปกติ
- Freeze concentration คือการทำให้เข้มข้นโดยการลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง เพื่อให้น้ำบางส่วนเกิดเป็นผลึกน้ำแข็ง แล้วแยกผลึกน้ำแข็งออก อาหารที่ทำให้เข้มข้นโดยวิธีการนี้ไม่สัมผัสความร้อนจึงสามารถคงกลิ่นรสของอาหารสดได้ดีและคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ดีกว่า

โดยน้ำผลไม้เข้มข้น สามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการโดยการเพิ่มฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ให้กับผลิตภัณฑ์จะทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากการบริโภคมากขึ้น โดย FOS เป็นน้ำตาลที่พบในธรรมชาติ จัดเป็นพรีไบโอติกที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ให้โทษในลำไส้ (Roberfroid et al., 1998) ป้องกันอาการท้องผูก (Nyman, 2002) เพิ่มอัตราการดูดซึมแคลเซียม (Abrams et al., 2005) ช่วยให้ระบบลำไส้ทำงานได้เป็นปกติ (Kleessen and Blaut, 2005) ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ (Van et al., 2005) และยังเป็นสารให้ความหวานที่มีคุณสมบัติพิเศษคือ ให้แคลอรีต่ำ ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ปลอดภัยต่อผู้ป่วยเบาหวาน โดย FOS มีโครงสร้างเป็น fructose oligomer ประกอบด้วยหมู่ fructosyl (F) ในตำแหน่ง β-2 กับ Sucrose (GF) (Yun, 1996) บางครั้งอาจเรียกรวม oligo และ polysaccharide ของ fructose ซึ่งมี degree of polymerization (DP) ที่แตกต่างกันว่าฟรุกแตน (fructan) (Muir et al., 2007) โดยค่า DP อยู่ระหว่าง 2-9 เรียกว่า Fructo-oligosaccharide (FOS) หรือ oligofructose แต่ถ้ามีค่า DP มากกว่า 10 จะเรียกว่า inulin โดยพรีไบโอติกในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้จาก 3 วิธีการคือ การสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากพืชโดยตรง การควบคุมการไฮโดรไลซ์ (Hydrolysis) จากโพลิแซคคาไรด์ (Grizard et al., 1999) และการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์โดยใช้ Hydrolases และ/หรือ Glycosyl transferases จากพืชหรือแหล่งกำเนิดของจุลินทรีย์ (L'Hocine et al., 2000) แหล่งเอนไซม์ในการสังเคราะห์ FOS จากพืช เช่น asparagus, sugar beet, onion, Jerusalem artichoke และจากแบคทีเรียและรา เช่น *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Arthorobacter* sp. และ *Fusarium* sp. โดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะมีขนาดใหญ่และความคงทนมากกว่าเอนไซม์จากพืช (Yun, 1996) *Aspergillus niger* ATCC 20611 เป็นเชื้อราสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่สังเคราะห์ FOS ได้ในปริมาณสูง เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการผลิต FOS โดยสับสเทรตคือซูโครสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารผสมของ FOS ที่มีโครงสร้างแบบ 1F(1-β-fructofuranosyl)n-sucrose ที่มีจำนวน n = 1-3 ซึ่งได้แก่ 1-kestose (GF2), nystose (GF3) และ fructofuranosyl nystose (GF4) การผสม β-fructofuranosidase และ glucose oxidase ที่อุณหภูมิ 40 °C pH 5.5 อัตราการให้อากาศ 1 vvm อัตราการกวน 550 รอบต่อนาที นาน 32 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของซูโครสเริ่มต้น 400 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของ β-fructofuranosidase 10 U/g sucrose และความเข้มข้นของ glucose oxidase 15 U/g sucrose เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต FOS

(Sirisansaneeyakul et al., 2000) นอกจากนี้ยังมีการผลิตเอนไซม์ fructosyltransferase ในทางการค้าด้วยเช่น PECTINEX ULTRA SP-l (Novozymes A/S) และ RAPIDASE TF (DSM) (Henderson, 2010) โดย Surin et al. (2012) ได้ศึกษาสภาวะในการผลิต FOS จากน้ำเชื่อมลำไย 60°Brix พบว่าปริมาณ PECTINEX ULTRA SP-L และ glucose oxidase ที่ทำให้เกิด FOS สูงสุด คือ 3.3 และ 1022 U/g sucrose ตามลำดับ โดยบ่มที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง 41 นาที จะได้ nystose 30.27 g/L และ 1-kestose 123.36 g/L ทั้งนี้ผลไม้ไทยหลายชนิดมีรสหวานและมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสูง ซึ่งจะเป็นสับสเทรตให้กับเอนไซม์ glucose oxidase ในการผลิต FOS ได้ โดย FOS ที่ผลิตได้จะช่วยลดความเสี่ยงจากการป่วยเป็นโรคมะเร็งลำไส้ ซึ่งเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางด้านสุขภาพที่สำคัญของประเทศในปัจจุบัน และยังเป็นการแก้ปัญหาผลิตผลเกษตรราคาตกต่ำได้อีกด้วย

ในขณะเดียวกันสถานการณ์ของโรคเบาหวานในประเทศไทยซึ่งเป็นปัญหาอันดับสองรองจากมะเร็งลำไส้ใหญ่แสดงให้เห็นว่า ประชากรไทยป่วยด้วยโรคเบาหวานแล้ว 3.5 ล้านคน และคาดว่าจะสูงถึง 5 ล้านคนในปี 2560 สาเหตุจากการบริโภคน้ำตาลในปริมาณที่อยู่ในระดับอันตราย โดยคนไทยบริโภคน้ำตาลเฉลี่ยคนละ 83.6 กรัมต่อวัน หรือประมาณ 16.7 ช้อนชา ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ที่องค์การอนามัยโลกกำหนด (ไม่เกิน 6 ช้อนชา) ถึง 3 เท่า (สำนักวิจัยนโยบายสร้างเสริมสุขภาพ, 2558) ผลจากการบริโภคน้ำตาลในปริมาณมากนี้ ส่งผลให้ร่างกายไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างเพียงพอ ทำให้เกิดการคั่งของน้ำตาลในเลือดและอวัยวะต่าง ๆ จึงทำให้เกิดโรคเบาหวาน (ไตรวุฒิ และอุทัยวรรณ, 2556) สำหรับแนวทางในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน คือ การลดปริมาณการบริโภคน้ำตาล และรักษาระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับระดับปกติด้วยการรับประทานยา และการฉีดอินซูลิน โดยยาที่บริโภคเข้าไปจะทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสซึ่งทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลในลำไส้เล็ก แม้ว่าปัจจุบันจะมีการสังเคราะห์สารชนิดนี้ได้ แต่ก็มีผลในเชิงลบต่อตับ และระบบทางเดินอาหาร (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 ปัญหาเหล่านี้สามารถแก้ไขได้โดยแนวทางหนึ่ง 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)

นอกจากการดูแลร่างกายให้แข็งแรงแล้ว การดูแลผิวพรรณเพื่อชะลอริ้วรอยก่อนวัยเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องดูแลควบคู่กันโดยการใช้เครื่องสำอางที่มีส่วนประกอบของสารให้ความชุ่มชื้นที่เหมาะสม ทั้งนี้สารให้ความชุ่มชื้นและฟื้นฟูสภาพผิวซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องสำอางคือไขมันโดยเฉพาะไขมันจากเมล็ดโกโก้และเมล็ดเชีย ซึ่งเป็นไขมันที่ต้องนำเข้าและมีราคาแพง แต่คุณสมบัติในการให้ความชุ่มชื้นดังกล่าวมีอยู่ในไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงที่เป็นส่วนเหลือทิ้งของอุตสาหกรรมแปรรูป โดยช่วงอุณหภูมิของการหลอมละลายของไขมันเนื้อในเมล็ดมะม่วงคืออุณหภูมิของร่างกาย และยังซึมได้ง่ายบนผิวหนังชั้นนอก ทั้งยังสามารถเป็นส่วนผสมที่ทำให้อิมัลชันของเครื่องสำอางมีความเสถียรอีกด้วย ทั้งนี้กระบวนการแปรรูปมะม่วงจะมีเมล็ดมะม่วงจะเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต ดังนั้นการนำเมล็ดมะม่วงที่เป็นส่วนเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมาผลิตเป็นไขมันเมล็ดมะม่วงที่จะเป็นวิกฤตสำคัญในการผลิตเนยเมล็ดมะม่วงทดแทนไขมันเชียที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศจะเป็นการช่วยลดของเสียให้กับกระบวนการผลิตและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากการแปรรูปผลิตภัณฑ์มะม่วงได้ มะม่วงจัดเป็นผลไม้ที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย และมีการผลิตเป็นอันดับที่ 3 ของโลกคือ

ร้อยละ 8.2 ของผลผลิตทั่วโลก โดยอันดับหนึ่งคือ อินเดีย (ร้อยละ 46.3) และรองลงมาคือ จีน (ร้อยละ 12.5) (พิมพ์นิภา, 2552) ผลผลิตส่วนใหญ่กว่าร้อยละ 90 ใช้ในการบริโภคในประเทศเป็นหลัก ที่เหลือส่งออกต่างประเทศทั้งในรูปของมะม่วงสด มะม่วงกระป๋อง มะม่วงอบแห้ง โดยมะม่วงที่ผลิตในประเทศจะแบ่งได้เป็น 3 รูปแบบด้วยกันคือ เพื่อการบริโภคผลดิบ เพื่อการบริโภคผลสุก และเพื่อการใช้เป็นวัตถุดิบในภาคอุตสาหกรรมแปรรูป ซึ่งโรงงาน แปรรูปมะม่วงที่ได้รับการรับรอง GMP และ HACCP จากกรมวิชาการเกษตรทั่วประเทศมีมากกว่า 30 แห่ง ทุกแห่งเป็นโรงงานอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ที่ผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อมะม่วงทั้งสิ้น ทำให้ในแต่ละวันโรงงานเหล่านี้มีเมล็ดมะม่วงเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมะม่วงสูงถึงร้อยละ 40-50 และเป็นเมล็ดมะม่วงถึงร้อยละ 20-60 การกำจัดส่วนเหลือทิ้งของมะม่วงในปัจจุบันคือการทำปุ๋ยหมักแบบไม่พลิกกอง ซึ่งการกองรวมกันของของส่วนเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะม่วงจะก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญคือ การก่อให้เกิดการระบาดของด้วงเจาะเมล็ดมะม่วง (Mango weevil) ชนิด *Sternochetus olivieri* (Faust) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูกักกัน (quarantine pest) ในหลายประเทศ ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดส่วนเหลือทิ้งของกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม หรือการนำไปแปรรูปเพิ่มมูลค่า โดยเมล็ดมะม่วงจะมีส่วนที่เป็นเนื้อในเมล็ดมะม่วงถึงร้อยละ 45-75 ของเมล็ดมะม่วงทั้งหมด เนื้อในของเมล็ดมะม่วงจะมีไขมันร้อยละ 7-12 โดยมีองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่คล้ายคลึงกับเนยโกโก้ที่มี Stearic-Oleic-Stearic เป็นหลัก (Miroslav,2014) นอกจากนี้ยังมีอัญรูปของผลึกของไขมันที่เสถียรที่สุดเป็นแบบ β เช่นเดียวกับเนยโกโก้ แตกต่างจากไขมันพืชอื่นๆ เช่น มะพร้าว ถั่วลิสง หรือข้าวโพด ที่เมื่อตกผลึกแล้วจะมีโครงสร้างของผลึกไขมันที่เสถียรที่สุดเป็นแบบ β' โดยช่วงอุณหภูมิของการหลอมเหลวของไขมันเนื้อในเมล็ดมะม่วงจะอยู่ระหว่าง 28-34 °C จากคุณสมบัติดังกล่าว ไขมันชนิดนี้จึงสามารถหลอมละลายได้ที่อุณหภูมิร่างกาย นอกจากนี้ไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงยังมีกรดไขมันที่จำเป็นหลายชนิด มีสารแคโรทีนอยด์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอยู่สูง และมีสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบฟีนอลิก เช่น gallic acid, ellagic acid และ gallates (Puravankara *et al*., 2000) นอกจากนี้ไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงยังมีคุณสมบัติหลายประการที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเช่น มีคุณสมบัติที่ทำให้ผิวนุ่มนวล ชุ่มชื้น และฟื้นฟูสุขภาพผิว ช่วงอุณหภูมิของหลอมละลายของไขมันเนื้อในเมล็ดมะม่วงเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นบาล์มทาผิว และยังซึมได้ง่ายบนผิวหนังชั้นนอก อีกทั้งยังสามารถเป็นส่วนผสมที่ทำให้อิมัลชันของเครื่องสำอางเสถียร นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในเนื้อในเมล็ดมะม่วงยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีผลให้ผิวขาวขึ้น ป้องกันแสงแดด และลดริ้วรอยที่เกิดขึ้น (González, 2008) ทั้งนี้ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ (Free radical และ reactive oxygen species, ROS) โดย ROS จะทำให้เกิดริ้วรอยและความแก่ด้วยการกระตุ้น growth factor cytokine receptors บนผิวของเซลล์ fibroblasts ส่งผลให้เกิดการส่งสัญญาณไปยัง protein kinase แล้วกระตุ้น activating protein-1 (AP-1) ในนิวเคลียส การเพิ่มขึ้นของ AP-1 ส่งผลทำให้ปริมาณของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยคอลลาเจน (collagenase หรือ metalloproteinase-1, MMP-1) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเป็นสาเหตุยังทำให้เกิดการเสียหาย

ของ DNA ซึ่งนำไปสู่การเกิดการหยุดวงจรชีวิตของเซลล์และการตายของเซลล์ (cell cycle arrest and apoptosis) ดังนั้น การใช้สารทีมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะช่วยในการต่อต้านหรือชะลอการเกิดความแก่ของผิวหนังได้ (Jenkins, 2002) นอกจากนี้ไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงยังมีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) (Schiber *et al*., 2003) ที่ทำให้เกิดการสร้างเม็ดสีในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จุลินทรีย์ต่างๆ รวมไปถึงราอีกด้วย (Choi, 2007) โดยเอนไซม์ไทโรซิเนส หรือ Cresolase, Monophenol oxidase, Phenolase, monophenol monooxygenase เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล (Phenolic compound) โดยทั่วไปเอนไซม์ไทโรซิเนสจะพบในเนื้อเยื่อสัตว์และพืช ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์สำคัญชนิดหนึ่งในกระบวนการสร้างเม็ดสี (Melanogenesis) ซึ่ง กระบวนการนี้ทำให้ผิวหนังมีสีหมองคล้ำลง โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะเร่งปฏิกิริยาในขั้นเริ่มต้นของ กระบวนการ คือ เร่งปฏิกิริยาของ L-Tyrosine และ 3, 4-Dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) ให้เป็น DOPAquinone จากนั้น DOPAquinone จึงถูกสังเคราะห์ต่อเป็นเมลานิน ซึ่งมีด้วยกันสองชนิด ได้แก่ ยูเมลานิน (eumelanin) เป็นเม็ดสีเมลานินสีน้ำตาล และฟีโอเมลานิน (pheomelanin) ซึ่งเป็นเมลานินที่มีสีเหลือง (ประไพพิศ, 2561) ดังนั้นไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงจึงสามารถใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวขึ้นได้ (Kittiphoom, 2012) ในกระบวนการแปรรูปมะม่วงเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เมล็ดมะม่วงจะเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต การนำเมล็ดมะม่วงที่เป็นส่วนเหลือทิ้งจากการกระบวนการแปรรูปมาผลิตเป็นไขมันเมล็ดมะม่วง ที่เรียกว่า เนยเมล็ดมะม่วง จะเป็นการช่วยลดของเสียให้กับกระบวนการผลิตและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากการแปรรูปผลิตภัณฑ์มะม่วงได้อีกทางหนึ่ง

บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาการผลิต startup ingredients สำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ startup ingredients เพื่อสุขภาพสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอาง คือ สารให้กลิ่นรสจากน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเนยเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยสารให้กลิ่นรสจากน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง จะผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นด้วยการระเหยภายใต้สุญญากาศเพื่อให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูง จากนั้นเปลี่ยนน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำสับปะรดเข้มข้นให้เป็นสารพรีไบโอติกโดยใช้เอนไซม์ pectinex ultra SP-L 4 U/g sucrose ร่วมกับ glucose oxidase 1022 U/g sucrose และใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Sodium acetate 0.5 M pH 5.6 ปริมาตร 40 µL ต่อน้ำผลไม้เข้มข้น 1 mL บ่มที่ 55 °C 15 ชั่วโมง จะได้น้ำสับปะรดเข้มข้นที่ได้จะมีปริมาณฟรุกแตนร้อยละ 52.83 จากนั้นนำไปเอนแคปซูเลทโดยใช้อัลจิเนตเป็นสารเคลือบร้อยละ 2.0 และใช้หัวฉีดขนาด 0.45 mm แล้วนำไปให้ทดสอบความคงตัวของฟรุกแตนต่อการแปรรูปด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80-90°C นาน 3 -15 นาที พบว่าฟรุกแตนในเอนแคปซูเลทมีปริมาณใกล้เคียงกันในทุกสภาวะการให้ความร้อน (ร้อยละ 30.18-30.70) การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชัน โดยศึกษาประสิทธิภาพของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส ใน หอมแดง ขมิ้นชัน และดอกอัญชัน พบว่า สารสกัดจากหอมแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่สุด คือร้อยละการยับยั้ง 43.02 จากนั้นเอนแคปซูเลสารสกัดจากหอมแดงด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้เวย์โปรตีนไอโซเลทร้อยละ 11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะได้เอนแคปซูเลทที่จะมีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสร้อยละ 41.32 และมีความเสถียรที่สภาวะการให้ความร้อนระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานานและให้ความร้อนสูงเวลาสั้น รวมทั้งระบบยูเอชที ส่วนการทดลองการผลิตเนยเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยการลดความชื้นเนื้อในเมล็ดมะม่วงด้วยการอบในตู้อบลมร้อนที่ 55 °C นาน 20 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดละเอียดและสกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดนาน 60 นาทีจะสกัดได้เนยเมล็ดมะม่วงได้สูงที่สุด โดยเมล็ดมะม่วงพันธุ์ แก้วขมิ้น โชคอนันต์ และน้ำดอกไม้ จะมีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบร้อยละ 7.25, 6.38 และ 5.84 และมีจุดหลอมเหลว 36.67-39.8 °C โดยมีกรดโอเลอิกและกรดสเตียริกเป็นกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลัก ไขมันจากเมล็ดมะม่วงแก้วขมิ้นจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 61.33 mgAA/100g และมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด (IC_{50}) 0.47 mg/mL เนยเมล็ดมะม่วงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องจะมีการเปลี่ยนแปลงของสี และ peroxide value เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน จึงต้องเติม Butylated hydroxytoluene 100 ppm และได้พัฒนาเนยเมล็ดมะม่วงรูปแบบเกล็ดเพื่อสะดวกต่อการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางโดยการผสม carnauba wax ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะสามารถเพิ่มจุดหลอมเหลวของเนยเมล็ดมะม่วงได้ถึง 6.66 °C ส่งผลให้เนยเมล็ดมะม่วงมีความเสถียรระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งผลิตภัณฑ์ Startup ingredients ทั้ง 3 ชนิดสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกิดประโยชน์เชิงหน้าที่ในการดูแลสุขภาพให้กับผู้บริโภค ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความหลากหลาย และเกิดผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค

Abstract

"Research and development on the production of startup ingredients for the health product" aimed to research and develop on the production of healthy startup ingredients for functional food and cosmetic product. It consisted of 3 experiments which were "the production of flavoring agent from high-prebiotic concentrated fruit juice", "the production of alpha-glucosidase inhibitor by encapsulation" and "the production of mango seed butter for cosmetic products". For the production of flavoring agent from high-prebiotic concentrated fruit juice, firstly pineapple juice was vacuum evaporated until total soluble solid up to 70 °Brix. Then the sugar content in concentrated juice was converted to be prebiotic by pectinex ultra SP-L 4.0 U/g sucrose and glucose oxidase 1022 U/g sucrose with sodium acetate buffer solution 0.5 M, pH 5.6, 40 µL /1 mL of concentrated juice, incubated at 55 °C for 15 hours. The fructan content in concentrated juice was 52.83%. Then it was encapsulated by alginate 2.0% with nozzle size 0.45 mm. When the encapsulate was heated for pasteurization at 80-90 °C for 3 -15 minutes, the fructan contents were similar in every heating condition (30.18-30.70%). While the production of alpha-glucosidase inhibitor by encapsulation method was studied the efficacy of alpha-glucosidase inhibition in shallot, turmeric and butterfly pea. Shallot extract has the highest inhibitory effect on alpha-glucosidase, 43.02%. Then shallot extract was encapsulated by spray drying with 11%(w/v) of whey protein isolate and it has 41.32% of alpha-glucosidase inhibition. The encapsulate of alpha-glucosidase inhibitor was stable at the heating conditions for long time-low temperature and short time-high temperature pasteurizations including UHT. For The production of mango seed butter for cosmetic products, it started from moisture reduction of mango seed kernel by drying at 55 °C for 20 hours which has the highest calculated whiteness index. After that, the dried mango seed kernel was ground for the fat extraction by petroleum with 60-minute immersion before extraction. The fat contents of mango seeds variety Kaewkamin, Chokanan and Namdokmai were 7.25, 6.38 and 5.84% (w/w) with the melting point as 36.67-39.8 °C. The major fatty acids were oleic acid and stearic acid which the mango seed butter from variety Kaewkamin has the highest antioxidant capacity 61.33 mgAA /100g and the highest inhibition of tyrosinase (IC_{50}) 0.47 mg/mL. The color and peroxide value rapidly changed and at room temperature storage within 3 months. Therefore, butylated hydroxytoluene 100 ppm must be added to prevent change. The flake of mango seed butter was developed for convenient use as a cosmetic ingredient by addition of 5% carnauba wax. This could increase the melting point of mango seed butter up to 6.66 °C which would make the mango seed butter more stable during storage. All startup ingredients from this project can be used in the health product which will increase the variety of the alternative product to meet the needs of consumers.

ระเบียบวิธีวิจัย

การทดลองที่ 1 การผลิตสารให้กลิ่นรสจากน้ำผลไม้เข้มข้น รีไบโอติกสูง

1. การศึกษาเปรียบเทียบกรรมวิธีผลิตผลไม้เข้มข้น

การศึกษาเปรียบเทียบกรรมวิธีการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้น 2 วิธีการ คือ การระเหยภายใต้สุญญากาศ และ freeze concentration โดยนำสับปะรดพันธ์ศรีราชามาล้าง แล้วปอกเปลือก ปาดเอาตาออก หั่นเป็นชิ้น คั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้แยกกาก

1.1 การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธีการระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ

การศึกษาการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศเครื่องระเหยแบบหมุนเหวี่ยงสารละลายแบบหมุนเหวี่ยงภายใต้สุญญากาศ Buchi R-124 ที่อุณหภูมิ 60 °C ความดัน 75 มิลลิบาร์ จนกระทั่งน้ำสับปะรดมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ประมาณ 60 องศาบริกส์ และคำนวณปริมาณผลผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นที่ได้

1.2 การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธี freeze concentration

การศึกษาการผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธี freeze concentration โดยศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการปั่นน้ำสับปะรดให้เป็นเกล็ดน้ำแข็งโดยเครื่องทำไอศกรีมเป็นเวลา 10 15 20 25 และ 30 นาที แล้วคั้นแยกน้ำโดยใช้เครื่องคั้นน้ำผลไม้แบบไฮโดรลิก วางแผนการทดลอง แบบ RCB 3 ซ้ำ นำน้ำสับปะรดที่ได้วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้และคำนวณปริมาณผลผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นที่ได้

1.3 การศึกษาคุณภาพของน้ำผลไม้เข้มข้น

นำน้ำสับปะรดเข้มข้นจากวิธีการระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศและ freeze concentration ศึกษาคุณภาพน้ำผลไม้ ดังนี้

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) โดยใช้ hand refractometer
- ค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี
- ค่า pH
- ปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในน้ำผลไม้ ได้แก่ ซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส โดยใช้เครื่อง Perkin Elmer model Flexar HPLC คอลัมน์ Nucleosil carbohydrate 250 mm x 10μm x 4 mm detector ชนิด reflactive index โดยใช้ น้ำและ acetonitrile ในอัตราส่วน 30 : 70 เป็นเฟสเคลื่อนที่
- ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดโดยวิธี AOAC Method 999.03 และชุดวิเคราะห์ ฟรุกแตน (Megazyme, Ireland)
- สารให้กลิ่นรสในน้ำสับปะรดเข้มข้นเทียบกับน้ำสับปะรดสด โดยใช้วิธี solid-phase microextraction (SPME) โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ขวด headspace vial ใช้ไฟเบอร์ที่เคลือบด้วย polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) 65μm (Supelco) สกัดตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 40 นาที ก่อนวิเคราะห์ด้วยเครื่อง PerkinElmer Clarus SQ 8 GC-MS และ Elite 1 capillary column (30m x 0.25 mm x 0.25 mm) ใช้

แก๊สฮีเลียมที่อัตราการไหล 1 mL/min เป็น Carrier gas ใช้อุณหภูมิ injector 250 °C เป็นเวลา 3 นาที ปรับอุณหภูมิของคอลัมน์ดังนี้ อุณหภูมิเริ่มต้น 40 °C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 120 °C ด้วยอัตรา 3 °C ต่อนาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 °C ด้วยอัตรา 5 °C ต่อนาที คงไว้ 10 นาที MS สแกนช่วง m/z 35-335 ที่ 70 eV ionization ที่อุณหภูมิ 230 °C เปรียบเทียบ MS spectrum กับฐานข้อมูล NIST library

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์ผลิต FOS ในน้ำผลไม้เข้มข้น

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพื่อผลิต FOS ในน้ำผลไม้เข้มข้น โดยเตรียมน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ จนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 70 องศาบริกส์ เนื่องจากที่ใช้เวลาผลิตต่ำกว่าวิธี freeze concentration ประยุกต์ใช้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต FOS โดย Surin (2012) โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 4 ระดับคือ 2.5, 3, 3.5 และ 4 U/g sucrose เวลาการบ่ม 4 ระดับคือ 6, 9, 12 และ 15 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD 16 กรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 6 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 9 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 12 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 4 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 15 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 5 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.0 U/g sucrose เวลาการบ่ม 6 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 6 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.0 U/g sucrose เวลาการบ่ม 9 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 7 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.0 U/g sucrose เวลาการบ่ม 12 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 8 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.0 U/g sucrose เวลาการบ่ม 15 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 9 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 6 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 10 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 9 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 11 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 12 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 12 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 3.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 15 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 13 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 6 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 14 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 9 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 15 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 12 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 16 ปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 2.5 U/g sucrose เวลาการบ่ม 15 ชั่วโมง

ทุกกรรมวิธีใช้ปริมาณเอนไซม์ glucose oxidase 1022 U/g sucrose บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Sodium acetate 0.5 M pH 5.6 ปริมาตร 40 µL ต่อตัวอย่างน้ำผลไม้เข้มข้น 1 mL ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการต้ม 10 นาที แล้ววิเคราะห์ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดเทียบกับปริมาณซูโครสเริ่มต้น

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

เตรียมตัวอย่างน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงกว่า 60 องศาบริกส์ นำมาหมักด้วย pectinex ultra SP-L 4 U/g sucrose และ เอนไซม์ glucose oxidase 1022 U/g sucrose ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Sodium acetate 0.5 M pH 5.6 ปริมาตร 40 µL ต่อตัวอย่างน้ำผลไม้เข้มข้น 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C ใช้เวลา 15 ชั่วโมง แล้วต้มเพื่อฆ่าเชื้อและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จะได้น้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงมีปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดเฉลี่ยร้อยละ 52.83 (วิเคราะห์ปริมาณฟรุกแตนโดยวิธี AOAC Method 999.03 และชุดวิเคราะห์ฟรุกแตน ของ Megazyme, Ireland) เก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็ง 18 °C การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกสูงโดยใช้ เครื่อง Encapsulator B-395 Pro ใช้อัลจิเนตเป็นสารเคลือบ โดยเติมผงอัลจิเนตชนิดความหนืดต่ำในน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกสูง ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 และหัวฉีด 3 ขนาด ได้แก่ 0.15, 0.3 และ 0.45 mm วางแผนการทดลองแบบ RCB 12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ 0.15, 0.3 และ 0.45 mm วางแผนการทดลองแบบ RCB 12 กรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.15 mm

กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.3 mm

กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.45 mm

กรรมวิธีที่ 4 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.0 ขนาดหัวฉีด 0.15 mm

กรรมวิธีที่ 5 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.0 ขนาดหัวฉีด 0.3 mm

กรรมวิธีที่ 6 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.0 ขนาดหัวฉีด 0.45 mm

กรรมวิธีที่ 7 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.5 ขนาดหัวฉีด 0.15 mm

กรรมวิธีที่ 8 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.5 ขนาดหัวฉีด 0.3 mm

กรรมวิธีที่ 9 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 1.5 ขนาดหัวฉีด 0.45 mm

กรรมวิธีที่ 10 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.15 mm

กรรมวิธีที่ 11 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.3 mm

กรรมวิธีที่ 12 ปริมาณสารเคลือบอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 ขนาดหัวฉีด 0.45 mm

แต่ละกรรมวิธีใช้สารละลาย $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เป็นสารทำให้จับกัน ศึกษาลักษณะทางกายภาพของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X ดูลักษณะรูปร่างของเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้ และวิเคราะห์ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดที่ถูกเอนแคปซูเลท โดยกรองแยกเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงออกจากสารละลาย $CaCl_2$ ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเพื่อหาปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดโดยวิธี AOAC Method 999.03 และชุดวิเคราะห์ฟรุกแตน ของ Megazyme, Ireland

4. การศึกษาประสิทธิภาพของการเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

4.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกส์สูง โดยเตรียมเอนแคปซูเลทเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงโดยใช้เครื่อง Encapsulator B-395 Pro ใช้อัลจิเนตร้อยละ 2.0 เป็นสารเคลือบ และหัวฉีดขนาด 0.45 mm ศึกษาการให้ความร้อนเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงจำนวน 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 85 และ 90 °C เป็นเวลา 3 5 7 9 11 13 และ 15 นาที แต่ละอุณหภูมิวางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดโดยวิธี AOAC Method 999.03 และชุดวิเคราะห์ฟรุกแตน ของ Megazyme, Ireland

4.2 การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาของเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูง

เตรียมน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงโดยนำน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 70 องศาบริกส์ หมักด้วย pectinex ultra SP-L 4 U/g sucrose และ เอนไซม์ glucose oxidase 1022 U/g sucrose ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Sodium acetate 0.5 M pH 5.6 ปริมาตร 40 µL ต่อตัวอย่างน้ำผลไม้เข้มข้น 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15 ชั่วโมง แล้วต้มเพื่อฆ่าเชื้อและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จะได้น้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูง จากนั้นนำไปเอนแคปซูลเลทโดยใช้อัลจิเนตเป็นสารเคลือบร้อยละ 2.0 และขนาดหัวฉีด 0.45 mm ทำแห้งโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง เก็บรักษาไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาของเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูง โดยศึกษาค่าสี ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมด และสังเกตลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นของตัวอย่างเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูง ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน โดยลักษณะปรากฏ สี และกลิ่น ปกติ หมายถึงลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นของเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูงที่มีลักษณะเช่นเดียวกับเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูงที่เตรียมใหม่

การทดลองที่ 2 การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชัน

1. คัดเลือกพืชที่มีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูง

1.1 สกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอมแดง อัญชัน ขมิ้นชัน

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 °C 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 °C แช่ไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองสารละลาย และเทตัวทำละลายลงในตัวอย่างเพื่อสกัดซ้ำอีก 2 ซ้ำ นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 °C 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 °C 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 นึ่งฆ่าเชื้อในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแช่ในน้ำเย็นจัดทันที นำมาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ให้มีความหนาประมาณ 1.0±0.5 มิลลิเมตร นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 °C 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 °C แช่ไว้เป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรองสารละลาย และเทตัวทำละลายลงในตัวอย่างเพื่อสกัดซ้ำอีก 2 ซ้ำ นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 °C นำส่วนสกัดหยาบที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพ

4) ศึกษาค่าคุณภาพของสารสกัดจากขมิ้นชันผง ดังนี้

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

1.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลองของสารสกัดที่ได้จากพืช

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 °C เติมสารละลายพารา-ไนโตรฟีนิล-แอลฟ่า-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ซึ่งทำหน้าที่เป็นซับสเตรทลงไป ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C หยุดปฏิกิริยาด้วยโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องยูวีวิซิเบิลแอบซอบแบนซ์สเปกโตรโฟโต

มิเตอร์ไมโครเพลท 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-กลูโคซิเดสสูงสุด และมีต้นทุนการผลิตต่ำสุด 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 °C เป็นเวลา 20 ชั่วโมง และวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องให้มีอัตราการป้อนอยู่ในช่วง 485-695 มิลลิลิตร/ชั่วโมง อุณหภูมิลมขาออกอยู่ในช่วง 80-85 °C ขนาดหัวเข็ม 1.0 มิลลิเมตร นำผลการทดลองที่ได้ไปศึกษารูปร่าง และขนาดของอนุภาคด้วยเทคนิค SEM

2.2 เปรียบเทียบความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ

หลังจากได้เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซเดสตามวิธีการในข้อ 2.1 นำเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 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 °C

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

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

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

กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : 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 °C

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

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 อายุการเก็บรักษาของ

ผลิตภัณฑ์ และคำนวณต้นทุนในการผลิตจากราคาของวัตถุดิบ ค่าภาชนะบรรจุ และค่าดำเนินการผลิตตามวิธีของวิทยาลัยการจัดการ (2548)

การทดลองที่ 3 การผลิตเนยเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1. ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเนื้อในเมล็ดมะม่วง

ล้างทำความสะอาดเมล็ดมะม่วงให้ปราศจากเนื้อมะม่วงที่ติดเมล็ด จากนั้น ผ่ากะเทาะเปลือกและลอกเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดออก ล้างเมล็ดให้สะอาดอีกครั้ง แล้วสไลด์เนื้อในเมล็ดมะม่วงให้มีความหนาประมาณ 0.1 มิลลิเมตร เพื่อเตรียมไปลดความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนให้เหลือความชื้นในเมล็ดมะม่วงต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยการอบแห้งแบบลมร้อน วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 4 ซ้ำ แปรอุณหภูมิของการอบแห้งเป็น 3 ระดับคือ 50 55 และ 60 °C โดยใช้เวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาคุณลักษณะของเนื้อในเมล็ดมะม่วงอบแห้ง ได้แก่

- สี (L* a* b* score), Konica Minolta Chroma meter รุ่น CR-400
- Whiteness Index (WI) = $100-[(100-L^*)^2 + (a^{*2} + b^{*2})]^{1/2}$
- ความชื้น, (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำอิสระ, Novasina: รุ่น TH 200

2. ศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่เหมาะสม

ศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากเมล็ดมะม่วงโดยศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ตัวทำลายที่ทำการศึกษาคือ เฮกเซน และปิโตรเลียม โดยใช้วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) อัตราส่วนระหว่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงและตัวทำละลายเป็น 1:3 ใช้อุณหภูมิในการสกัดที่ 70 °C และใช้เวลาที่ทำการสกัด 14 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกตัวทำละลายที่ให้ผลผลิตสูงสุดมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการแปรระดับของเวลาในการแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดเป็น 30, 40, 50 และ 60 นาที จากนั้นทำการสกัดไขมันเมล็ดมะม่วงโดยใช้วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต และทำการตรวจวัดปริมาณของผลผลิตเนยเมล็ดมะม่วง (%yield) ที่สกัดได้

3. ศึกษาคุณสมบัติของเนยเมล็ดมะม่วงจากมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ

ทำการศึกษาคุณสมบัติของเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ มะม่วงแก้วขมิ้น มะม่วงโชคอนันต์ และมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยทำการตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของเนยเมล็ดมะม่วง ดังนี้

- ปริมาณของผลผลิต (%yield)
- องค์ประกอบของกรดไขมัน, (Christie, 2003)
- จุดหลอมเหลว, (O'Brien, 2008)
- สี (L* a* b* score), Konica Minolta Chroma meter รุ่น CR-400
- Peroxide Value (PV), (AOCS, 1990)

- Acid Value (AV) (AOCS, 1990)
- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, (Chang *et al.*, 2006)
- ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโนซิเนส (Chang, 2009)

4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเนยเมล็ดมะม่วง

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเนยเมล็ดมะม่วงที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 6 เดือนที่อุณหภูมิ 4-6 °C และที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการสุ่มตรวจคุณภาพทุกเดือนเพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาของเนยเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้ โดยทำการตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของเนยเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้ดังนี้

- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ranasingha *et al.*, 2012)
- Peroxide Value (PV), (AOCS, 1990)
- Acid Value (AV), (AOCS, 1990)

5. พัฒนารูปแบบของเนยเมล็ดมะม่วงให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake)

ทำการพัฒนาเนยเมล็ดมะม่วงให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake) เพื่อสะดวกต่อการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางอาทิ ลิปสติก ลิปบาล์ม และโลชันทาผิว โดยศึกษาชนิดของแว็กซ์และปริมาณที่เหมาะสมในการทำให้เนยเมล็ดมะม่วงคงรูปเป็นเกล็ด โดยทำการเนยเมล็ดมะม่วงกับแว็กซ์ต่าง ๆ ได้แก่ bee wax และ carnauba wax ในอัตราส่วน 5, 7.5 และ 10% โดยน้ำหนัก จากนั้นหยดเนยเมล็ดมะม่วงลงบนแผ่นซิลิโคนเพื่อให้แข็งตัว ทำการทดสอบคุณสมบัติของเนยเมล็ดมะม่วงในรูปแบบเกล็ด ตลอดระยะเวลา 6 เดือน ดังนี้

- จุดหลอมเหลว, (O'Brien, 2008)
- Peroxide Value (PV), (AOCS, 1990)
- Acid Value (AV), (AOCS, 1990)

6. ประยุกต์ใช้เนยเมล็ดมะม่วงในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ และคำนวณต้นทุนในการผลิต

ทำการประยุกต์ใช้เนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง อาทิ โลชันทาผิว มอยเจอร์บาร์ และบอดีสครับ และคำนวณต้นทุนในการผลิตของเนยเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1 การผลิตสารให้กลิ่นรสจากน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

1. การศึกษาเปรียบเทียบกรรมวิธีผลิตน้ำผลไม้เข้มข้น

1.1 การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธีการระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ

ผลการศึกษาการผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศโดยนำน้ำสับปะรดระเหยแห้ง จะเห็นได้การทำน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธีการระเหยสามารถทำให้น้ำสับปะรดที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เริ่มต้น 13.5 องศาบริกส์ เป็นน้ำสับปะรดเข้มข้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เฉลี่ย 65.36 องศาบริกส์ โดยได้ปริมาณผลผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นเฉลี่ยร้อยละ 19.79 (Table 1)

Table 1 weight, total soluble solid of initial pineapple and concentrated juice and yields by evaporation under vacuum and freeze concentration

initial pineapple weight (grams)	initial pineapple total soluble solid (degree brix)	Concentrated pineapple juice weight (grams)	Concentrated pineapple juice total soluble solid (degree brix)	yields (percentage)
629	13.5	127	63.8	20.19
600	13.5	120	67.3	20.00
600	13.5	121	64.6	20.17
1003	14.0	195	64.2	19.44
596	14.0	114	66.9	19.13
	average		65.36	19.79

1.2 การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นโดยวิธี freeze concentration

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการปั่นน้ำสับปะรดให้เป็นเกล็ดน้ำแข็งโดยเครื่องทำไอศกรีม เป็นเวลา 10 15 20 25 และ 30 นาที ในการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธี freeze concentration พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาในการปั่นให้เป็นเกล็ดน้ำแข็งน้ำสับปะรด จะทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำสับปะรดเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณผลผลิตลดลง โดยการปั่นที่ 30 นาทีจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุดคือ 26.6 องศาบริกส์ และได้ผลผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นร้อยละ 26.65 และเมื่อทดลองศึกษาเปรียบเทียบการทำน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยใช้เวลาปั่น 25 และ 30 นาที หลาย ๆ รอบ จนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุด พบว่าสามารถทำน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุดที่ 47.0 และ 44.6 Brix โดยปั่นซ้ำ 4 และ 3 รอบ เวลาในการ 25 และ 30 นาที ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Total soluble solid and concentrated pineapple yields by freeze concentration at various mixing times into ice crystal

mixing times (minute)	total soluble solid (degree brix)	yields (percentage)
10	13.1 d	70.17 a
15	18.2 c	42.67 b
20	22.2 b	38.17 bc
25	23.0 b	32.33 cd
30	26.6 a	26.65 d

Means within the same column followed by different letter are significantly different ($P<0.05$) by DMRT test.

Table 3 Total soluble solid, concentrated pineapple yields and times of mixing concentrated pineapple by freeze concentration at 25 and 30 mixing time into ice crystal.

	mixing time into ice crystal	
	25 minutes	30 minutes
Times of mixing	4	3
Total soluble solid (Brix)	47.0	44.6
Concentrated pineapple yields (%)	10.00	9.00

1.3 การศึกษาคุณภาพของน้ำผลไม้เข้มข้น

จากการศึกษาคุณภาพของน้ำสับปะรดเทียบกับน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศและ freeze concentration ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้(TSS) ค่าสี L* a* b* pH และปริมาณกรดทั้งหมด (Table 4) พบว่า น้ำสับปะรด มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 14 องศาบริกส์ มีค่า pH 3.84 และมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.53 ส่วนน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 65.55 องศาบริกส์และปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 3.38 ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าน้ำสับปะรดโดยวิธี freeze concentration นอกจากนี้น้ำสับปะรดเข้มข้นที่ผลิตจากวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศจะปริมาณน้ำตาล ซูโครส กลูโครส ฟรุกโตส และปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดสูงกว่าน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธี freeze concentration และน้ำสับปะรดที่ใช้เป็นวัตถุดิบ และจากการศึกษาสารให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ (Volatile compounds) ในน้ำสับปะรดและน้ำสับปะรดเข้มข้นวิธีระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศและวิธี freeze concentration โดยใช้วิธี solid-phase microextraction(SPME) และ GC-Ms (Table 4) พบว่าองค์ประกอบที่สามารถระเหยได้ง่ายในตัวอย่างน้ำสับปะรด ได้แก่ methyl 2-methylbutanoate, Methyl hexanoate, Methyl octanoate และ Methyl decanoate แต่ไม่พบสารเหล่านี้ในน้ำสับปะรดที่ผ่านการทำให้เข้มข้นทั้ง 2 วิธี ถึงแม้ว่าจะตรวจไม่พบสารองค์ประกอบที่สามารถระเหยได้ง่ายในน้ำสับปะรดเข้มข้น แต่น้ำสับปะรดเข้มข้นยังคงมีกลิ่นและรสของสับปะรดอยู่ เนื่องจากองค์ประกอบที่ไม่สามารถระเหยได้ (non-volatile compound) ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และกรดอินทรีย์ โดย Cámara *et al.* (1994) ได้รายงานว่าในน้ำสับปะรดเข้มข้นมีกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดซิตริก และกรดมาลิกเป็นองค์ประกอบหลัก และยังมีกรดออกซาลิก ควินิก และซักซินิกในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสารเหล่านี้จะทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่เฉพาะของสับปะรด

ดังนั้น วิธีเตรียมน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศจึงเป็นวิธีที่เหมาะสม ในการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นสำหรับนำไปใช้ในการผลิตสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงต่อไป เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และให้ปริมาณผลผลิตที่สูงกว่าการเตรียมน้ำสับประรดเข้มข้นโดยวิธี freeze concentration โดยคุณสมบัติด้านกลิ่นรสไม่แตกต่างกัน

Table 4 Total soluble solid, Color score, pH and Total acid of pineapple juice and concentrated pineapple juice by evaporation under vacuum and freeze concentration

Properties	pineapple juice	concentrated pineapple juice by evaporation under vacuum	concentrated pineapple juice by freeze concentration
Total soluble solid (degree brix)	14.0	65.55	44.73
L*	28.77	31.33	32.39
a*	2.36	1.36	0.68
b*	-4.03	0.62	-1.41
pH	3.84	3.63	3.59
Total acid as citric acid (percent by weight)	0.53	3.38	2.55
sucrose (percent)	8.48	35.64	24.26
glucose (percent)	1.98	9.02	6.48
fructose (percent)	2.12	9.45	5.89
fructan (percent)	0.36	1.23	0.98
Volatile compounds	methyl 2-methylbutanoate Methyl hexanoate Methyl octanoate Methyl decanoate	Not detected	Not detected

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์ผลิต FOS ในน้ำผลไม้เข้มข้น

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพื่อผลิต FOS ในน้ำผลไม้เข้มข้น จะเตรียมน้ำสับปะรดเข้มข้นให้มีปริมาณของแข็งที่สูงกว่า 60 องศาบริกส์ ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณซูโครสเริ่มต้นร้อยละ 40 ซึ่งเหมาะสมในการใช้เอนไซม์ pectinex ultra SP-L ในการผลิต FOS (วิมลวรรณ และคณะ, 2558) จากการทดลองได้ทำการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศซึ่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำเฉลี่ย 65.36 องศาบริกส์ และมีปริมาณซูโครสเริ่มต้นเฉลี่ยร้อยละ 39.84 จากการใช้เอนไซม์เพื่อผลิต FOS พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการบ่มจะได้ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดเพิ่มขึ้น จากการทดลองพบว่าการใช้ pectinex ultra SP-L 4 U/g sucrose และเวลาในการบ่ม 15 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต FOS ซึ่งน้ำสับปะรดเข้มข้นที่ได้จะมีปริมาณฟรุกแตนเฉลี่ยสูงสุด คือร้อยละ 31.61 (Table 5)

Table 5 Total fructan content of concentrated pineapple juice by evaporation under vacuum at different of Pectinex Ultra SP-L 4 and incubation times

Pectinex ultra SP-L (U/g sucrose)	Incubation times (hours)	Total fructan content (percent)
2.5	6	24.57 d
	9	25.63 d
	12	28.55 bc
	15	30.15 ab
3	6	23.90 d
	9	28.95 ab
	12	29.48 ab
	15	30.94 ab
3.5	6	25.36 d
	9	31.08 ab
	12	30.28 ab
	15	31.34 ab
4	6	26.03 cd
	9	30.41 ab
	12	30.01 ab
	15	31.61 a

Means within the same column followed by different letter are significantly different ($P<0.05$) by DMRT test.

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูลเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์ (Table 6) จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารเคลือบ จะทำให้ปริมาณฟรุกแตนที่ถูกเอนแคปซูเลทมีปริมาณมากขึ้น ลักษณะรูปร่างของเอนแคปซูลเลทที่ระดับความหนืดและความเร็วในการหยดไม่เหมาะสมกับขนาดหัวฉีดจะทำให้เอนแคปซูเลทที่ได้มีลักษณะเป็นทรงลูกแพร ซึ่งจะทำให้เม็ดเอนแคปซูเลทนั้นแตกหักได้ง่ายบริเวณยอดแหลม โดยที่ปริมาณสารเคลือบร้อยละ 2.0 ขนาดหัวฉีด 0.30 และ 0.45 mm สามารถเอนแคปซูลน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงได้ไม่แตกต่างกัน แต่การใช้หัวฉีดขนาด 0.45 mm จะได้เอนแคปซูเลทที่มีรูปร่างเป็นทรงกลม(Figure 2) และมีปริมาณฟรุกแตนที่สูงกว่า (ร้อยละ 30.66) ดังนั้นจึงคัดเลือกเอนแคปซูเลทที่ใช้ปริมาณสารเคลือบที่ร้อยละ 2.0 และหัวฉีดขนาด 0.45 mm มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

Table 6 Shape and encapsulated total fructan of high pre-biotics concentrated pineapple juice encapsules

Shell dose (percent)	Nozzle size (mm)	shape	encapsulated total fructan (percent)
0.5	0.15	sphere	22.10 g
	0.30	sphere	23.02 f
	0.45	sphere	22.96 f
1.0	0.15	sphere	26.43 e
	0.30	sphere	27.16 d
	0.45	sphere	27.29 d
1.5	0.15	pear shape	28.63 c
	0.30	sphere	28.65 c
	0.45	sphere	28.44 c
2.0	0.15	pear shape	30.06 b
	0.30	pear shape	30.45 a
	0.45	sphere	30.66 a

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05) by DMRT test

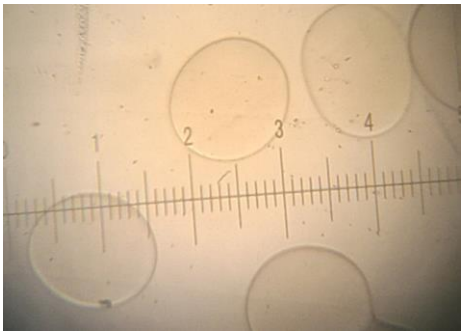

Figure 1 Appearance of high pre-biotics concentrated pineapple juice encapsules viewed in microscope with the 40X objective

4. การศึกษาประสิทธิภาพของการเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

4.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง โดยนำ เอนแคปซูเลทสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกสูงมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 85 และ 90 °C เป็นเวลา 3 5 7 9 11 13 และ 15 นาที (Table 7) จะเห็นได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการต้มไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

ปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดในตัวอย่าง โดยปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดในเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกสูง มีปริมาณใกล้เคียงกันทุกอุณหภูมิและเวลาในการต้ม

Table 7 Total fructans content of high pre-biotics concentrated pineapple juice encapsules at different heating temperatures and times

heating temperature (°C)	heating time (minutes)	Total fructans content (percent) [ns]
80	3	30.57
	5	30.47
	7	30.32
	9	30.68
	11	30.41
	15	30.55
90	3	30.32
	5	30.25
	7	30.34
	9	30.54
	11	30.64
	15	30.70
95	3	30.54
	5	30.22
	7	30.18
	9	30.57
	11	30.47
	15	30.32

4.2 การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาของเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นเข้มข้นพรีไบโอติกสูง

การศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงที่เก็บรักษาไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ที่อุณหภูมิห้องต่อค่าสี จะเห็นได้ว่าค่าสีของเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงที่เก็บรักษา เป็นเวลา 0 - 12 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงของสีต่ำ โดยมีค่าสีเฉลี่ยดังนี้ ความสว่าง (L*) 68.52 ค่าความเป็นสีแดง (a*) 0.82 และความเป็นสีเหลือง (b*) 0.60 ผลของอายุการเก็บรักษาเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงที่เก็บรักษาไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ที่อุณหภูมิห้องต่อปริมาณฟรุกแตนทั้งหมด จะเห็นได้ว่าปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดในเอนแคปซูเลทน้ำสับปะรดเข้มข้นพรีไบโอติกส์สูงที่เก็บรักษา เป็นเวลา 0 - 12 เดือน มีปริมาณใกล้เคียงกันโดยมีปริมาณฟรุกแตนทั้งหมดเฉลี่ยร้อยละ 64.53 (Table 8)

Table 8 Properties of high pre-biotics concentrated pineapple juice encapsules at different storage time

properties	1 month	2 month	3 month	4 month	5 month	6 month	7 month	8 month	9 month	10 month	11 month	12 month
L*	67.64	68.12	67.98	68.46	69.12	68.98	69.07	67.84	69.52	70.45	68.15	66.54
a*	0.80	0.84	0.82	0.85	0.88	0.79	0.84	0.82	0.86	0.74	0.85	0.78
b*	0.69	0.62	0.60	0.64	0.56	0.63	0.58	0.50	0.58	0.62	0.64	0.60
fructans (percent)	64.77	65.42	66.14	63.85	64.23	63.65	64.42	62.84	64.58	64.74	63.54	64.68
Sensory evaluation												
appearance	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
color	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
odor	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต

ต้นทุนวัตถุดิบและสารเคมีในการผลิต ดังนี้

วัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำผลไม้เข้มข้น

สับปะรด	1 กิโลกรัม	20	บาท
เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต			
pectinex ultra SP-L 1 (4,213 U/mL)	1 ลิตร	10,500	บาท
glucose oxidase (2,700 U/g)	1 กิโลกรัม	3,000	บาท
สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์			
Sodium acetate	1 กิโลกรัม	4,500	บาท
น้ำส้มสายชู	700 มิลลิลิตร	23	บาท
สารเคมีสำหรับกระบวนการเอนแคปซูเลท			
Sodium algenate	100 กรัม	100	บาท
Calcium chloride	1 กิโลกรัม	34	บาท

- สับปะรด 50 กิโลกรัม จะได้น้ำสับปะรด 16 กิโลกรัม ดังนั้นน้ำสับปะรดในการทดลองจึงมีต้นทุนที่ 62.5 บาท/กิโลกรัม
- น้ำสับปะรดเข้มข้น 1 กิโลกรัม จะผลิตน้ำสับปะรดพรีไบโอติกส์สูงได้ 200 กรัม

ต้นทุนในการเอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกส์สูง 200 กรัม

น้ำสับปะรดเข้มข้น	62.5	บาท
pectinex ultra SP-L 1	0.8	บาท
glucose oxidase	90	บาท
สารละลายบัฟเฟอร์	1.18	บาท

Sodium algenate	4	บาท
Calcium chloride	0.37	บาท
รวม	158.85	บาท

เอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกส์สูง 200 กรัม เมื่อนำไปทำแห้งแบบ freeze dried จะได้เอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไอโอติกส์สูงประมาณ 15 กรัม ดังนั้นต้นทุนได้เอนแคปซูเลทน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไอโอติกส์สูง คือกรัมละ 10.59 บาท

การทดลองที่ 2 การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชัน

1. คัดเลือกพืชที่มีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูง

1.1 สกัดสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอมแดง อัญชัน และขมิ้นชัน

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

1.1.1 สกัดสารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงผง

ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ และเคมีของหอมแดงผง และสารสกัดจากหอมแดงผง พบว่า หอมแดงผงมีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ 10.16 หอมแดงผงที่ได้มีสีขาวอมชมพู มีค่าสี L* a* b* เท่ากับ 76.86±0.46, 1.42±0.92 และ7.42±0.38 ตามลำดับ มีปริมาณความชื้นร้อยละ 7.38 ของน้ำหนักแห้งนำหอมแดงผงที่ได้ไปสกัดสารเควอซิทิน และวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี พบว่า สารสกัดจากหอมแดงผง มีร้อยละผลผลิตของสารสกัด 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 (Table 9)

Table 9 Physical and chemical properties of Shallot powder and Shallot crude extract

ค่าคุณภาพ	Shallot powder	Shallot crude extract
%Yield	10.16*	64.50**
color		
L*	76.86	25.77
a*	1.42	6.54
b*	7.42	-6.57
Moisture content (g/100g weight of dry matter)	7.38	-
pH	-	5.09
Total flavonoid content (mg quercetin equivalents/g)	-	215.8

Note * %Yield of shallot powder was obtained from fresh shallot 100g

** %Yield of crude extract was obtained from shallot powder 100g

Figure 2 Shallot extract

1.1.2 สกัดสารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง

การศึกษาคุณภาพทางกายภาพ และเคมีของสารสกัดจากดอกอัญชันแห้ง พบว่า มีค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัด 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 (Table 10)

Table 10 Physical and chemical properties of Butter fly pea flowers extract

Parameters	Butter fly pea flowers extract
%Yield	57.59
Color	
L*	22.13±0.42
a*	4.34±1.05
b*	-4.85±0.44
pH	2.24
Total anthocyanin content (mg cyanidin-3-glucoside/100g DW)	266.31±7.83

Figure 3 Butter fly pea flowers extract

1.1.3 สกัดสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง

การศึกษาคุณภาพทางกายภาพ และเคมีของขมิ้นชันผง 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 (Table 11)

Table 11 Physical and chemical properties of Turmeric powder and Turmeric crude extract

Parameters	Turmeric powder	Turmeric crude extract
%Yield	24.35*	58.26**
Color		
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
Moisture content (g/100g weight of dry matter)	9.72	-
pH	-	5.04
Total curcumin content (mg curcumin/g)	-	214.72±0.03

Note * %Yield of turmeric powder was obtained from fresh turmeric 100g
** %Yield of crude extract was obtained from turmeric powder 100g

Figure 4 Turmeric extract

1.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดที่ได้จากพืช 3 ชนิด

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารเควอซิทิน (Quercetin) จากหอมแดงผง สารแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จากดอกอัญชันแห้ง และสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันผง เปรียบเทียบกับ Acarbose ซึ่งเป็นยาสังเคราะห์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส และใช้กับผู้ป่วยโรคเบาหวานในปัจจุบัน (figure 5) พบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสารสกัดจากหอมแดงมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารสกัดจาก

ขมิ้นชัน 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

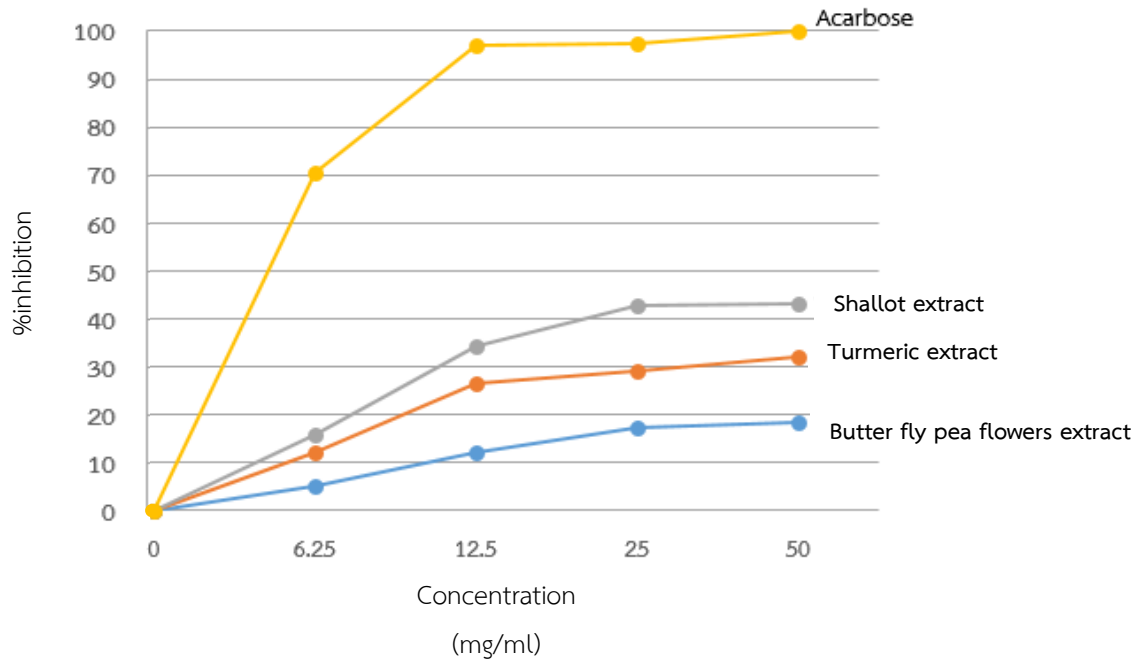

Figure 5 Inhibitory activity of α-glucosidase inhibitors isolated from butter fly pea flower, turmeric and shallot compared to Acarbose

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

2.1 ผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

หลังจากคัดเลือกสารสกัดของพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสมากที่สุดตามวิธีในข้อ 1 นั่นคือ สารสกัดหอมแดง นำสารสกัดหอมแดงมาผลิตเอนแคปซูเลทโดยใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และแบบพ่นฝอย สารเคลือบ คือ เวย์โปรตีนไอโซเลท (11%w/v) อัตราส่วนสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 1:5 นำอิมัลชันของผสมระหว่างสารสกัดหอมแดง และเวย์โปรตีนไอโซเลทไปศึกษาการกระจายตัวของสารสกัดหอมแดงในเวย์โปรตีนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) ก่อนนำไปผลิตเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดง และนำไปศึกษารูปร่าง และขนาดของอนุภาคด้วยกล้อง

จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ผลการศึกษา (รูปที่ 5-7) โดยผลการศึกษาอิมัลชันของผสมระหว่างสารสกัดหอมแดง และเวย์โปรตีนไอโซเลทพบว่า สารสกัดหอมแดงมีการกระจายตัวเข้ากันดีกับเวย์โปรตีนไอโซเลท (รูปที่ 5) ผลการศึกษารูปร่าง และขนาดของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงที่ถูกเอนแคปซูเลทด้วยเวย์โปรตีนโดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในอัตราส่วน 1:5 เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอก มีสีขาวอมเหลือง รูปร่างเป็นเกล็ดแผ่นบาง เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 500x พบว่า อนุภาคมีหลายรูปทรง (irregular shape) มีรูปทรงเหลี่ยม และลักษณะเป็นผลึก (crystallization) บางผลึกมีสารมาเกาะ และมีรูพรุน (porosity) ขณะที่บางผลึกเป็นแผ่นเรียบไม่มีสารมาเกาะ เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาค พบว่า ที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารเคลือบ 1:5 มีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ย 50 ไมครอน

ผลการศึกษารูปร่าง และขนาดของเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงที่ถูกเอนแคปซูเลทด้วยเวย์โปรตีนโดยใช้วิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย ในอัตราส่วน 1:5 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

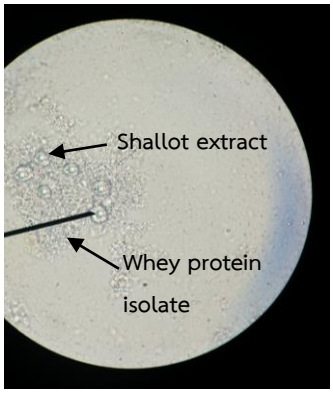

Figure 6 Light microscope image illustrates the shallot extract and whey protein isolate emulsion (Liquid state)

Figure 7 Scanning Electron Microscope image (500x) of encapsulated shallot extract produced by freeze drying technique.

Figure 8 Scanning Electron Microscope image (2000x) of encapsulated shallot extract produced by spray-drying technique

2.2 เปรียบเทียบความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ

นำเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงด้วยเวย์โปรตีนไอโซเลทโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและทำแห้งแบบพ่นฝอยในอัตราส่วน 1:5 มาศึกษาความเสถียรของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเปรียบเทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่ไม่ผ่านการเอนแคปซูเลชั่นที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ โดยวัดค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (%inhibition) ตามวิธีของ Lebowitz *et al.* (1998) ผลการทดลอง พบว่า การเอนแคปซูเลทสารสกัดจากหอมแดงด้วยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ผลร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสูงกว่าการเอนแคปซูเลทด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการไม่เอนแคปซูเลชั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกสภาวะการให้ความร้อน จากผลการศึกษารูปทรงของเอนแคปซูเลท พบว่า เอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม มีรูพรุนน้อย ผิวเรียบจึงส่งผลต่อความเสถียรของเอนแคป

ซูเลท และสามารถปกป้องสารแกนภายในเอนแคปซูเลทได้มากกว่า ขณะที่การเอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เอนแคปซูเลทที่ได้มีรูพรุนมากจึงส่งผลให้มีความสามารถในการปกป้องสารแกนภายในได้น้อยกว่าเอนแคปซูเลทที่มีผิวเรียบ และการที่สารสกัดไม่มีสารเคลือบปกป้องส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารสกัดลดลงมากที่สุด ดังนั้น การเอนแคปซูเลทสารสกัดหอมแดงโดยใช้เวย์โปรตีนไอโซเลทอัตราส่วน 1:5 เป็นสารเคลือบ และใช้กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการเอนแคปซูเลทที่เหมาะสมที่สุด (Table 12)

Table 12 Inhibitory activity of α-glucosidase by non-encapsulated shallot extract, encapsulated shallot extract using spray-drying and freeze-drying techniques

Encapsulation techniques	Non-thermal processing ns	Thermal processing				Product costs (Baht/1g of shallot extract)
		63±2°C 30 sec.	85±2°C 15 sec.	138±1°C 3 sec.	250±1°C 30 sec.	
Non-encapsulation	43.14%	13.41%c	27.62%c	25.78%c	ND	17.27
Spray-drying	41.32%	32.11%a	36.49%a	35.91%a	8.02%	28.98
Freeze drying	41.65%	22.37%b	34.58%b	32.53%b	4.23%	34.17

Note a-c: within each column, means not followed by the same letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's test

ns: not significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's test

ND: No inhibition was detected

รายละเอียดต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส (Table 13) พบว่า ต้นทุนการผลิตเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส ประกอบด้วย ราคาหอมแดงสด เอทิลแอลกอฮอล์ 60% เวย์โปรตีนไอโซเลท กระบวนการเอนแคปซูเลท โดยจากการแสดงรายละเอียดต้นทุนการผลิต การเอนแคปซูเลททำให้มีต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นคิดเป็นร้อยละ 40.41-47.61 เมื่อเทียบกับไม่ผ่านการเอนแคปซูเลท และการเอนแคปซูเลทด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยคิดเป็นร้อยละ 15.20

Table 13 Costs of α-glucosidase inhibitors production using different techniques

Items (Baht)	Amounts	Price per unit (Baht)	Total costs
Non-encapsulation			
1. Shallots	10 kilograms	16.00	160.00
2. Ethyl alcohol 60%	2.0 liters	120.00	240.00
Total cost (Aqueous extract 23.16 g.)			400.00
Total cost (Aqueous extract 1 g.)			17.27
Encapsulated shallot extract using spray-drying.			
1. Shallots	10 kilograms	16.00	160.00
2. Ethyl alcohol 60%	2.0 liters	120.00	240.00
3. Whey protein isolate	115 grams	0.62	71.30
4. Spray-dryer costs	0.5 hours.	400.00	200.00
Total cost (Aqueous extract 23.16 g.)			671.30
Total cost (Aqueous extract 1 g.)			28.98
Encapsulated shallot extract using freeze drying.			
1. Shallots	10 kilograms	16.00	160.00
2. Ethyl alcohol 60%	2.0 liters	120.00	240.00
3. Whey protein isolate	115 กรัม	0.62	71.30
4. Freeze-dryer costs	0.5 ชั่วโมง	640.00	320.00
Total cost (Aqueous extract 23.16 g.)			791.30
Total cost (Aqueous extract 1 g.)			34.17

Note 1.016 kilograms of dried shallot was produced from 10 kilograms of fresh shallot.
Price of fresh shallots from Srisaket province in 2018

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส

นำเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสที่สภาวะการผลิตที่เหมาะสมตามข้อ 2 มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±3°C) โดยทดสอบค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ เป็นเวลา 10 เดือน (Table 6) พบว่า ที่สภาวะไม่ผ่านการให้ความร้อนเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-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 และ138±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

Table 14 Changes in inhibitory activity of α-glucosidase inhibitor before and after thermal processing during 10 months storage at 30±3 °C

Storage time (months)	Non-thermal processing	Thermal processing			
		63±2°C 30 sec.	85±2°C 15 sec.	138±1°C 3 sec.	250±1°C 30 sec.
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

Note a-i: within each column, means not followed by the same letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's test.

เมื่อเก็บรักษาเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงที่ 4 °C และนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะการให้ความร้อนต่าง ๆ โดยติดตามค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ทุก 1 เดือน (Table 15) พบว่า เอนแคปซูเลทสารยับยั้ง

เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงเมื่อเก็บรักษาที่ที่ 4 °C เป็นเวลา 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 และ 138±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%

Table 15 Changes in inhibitory activity of α-glucosidase inhibitor before and after thermal processing during 10 months storage at 4 °C

Storage time (months)	Non-thermal processing	Thermal processing 63±2°C 30 sec.	85±2°C 15 sec.	138±1°C 3 sec.	250±1°C 30 sec.
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

Note a-f: within each column, means not followed by the same letters are significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's test.

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

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%

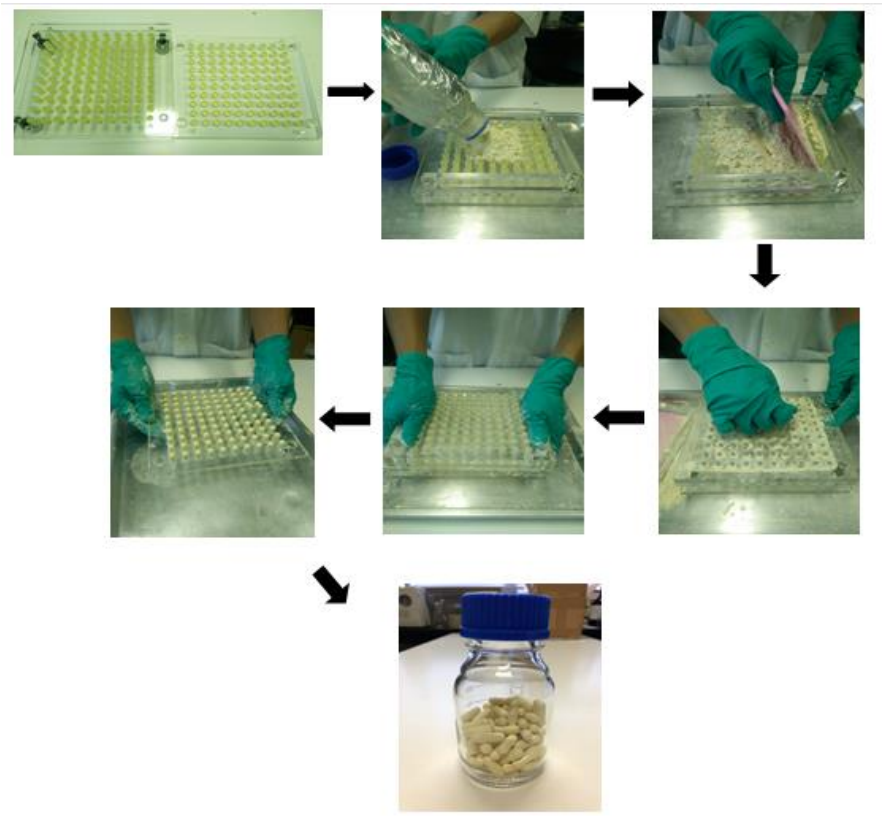

Figure 9 The production of α-glucosidase inhibitor in capsules

นำผลิตภัณฑ์เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในรูปแบบแคปซูลมาคำนวณต้นทุนการผลิต (Table 16) พบว่า ต้นทุนของผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย หอมแดงสด เอทานอล เวย์โปรตีนไอ

โซเลท 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

Table 16 Costs of α-glucosidase inhibitors capsules

Items	Amounts	Price per unit (Baht)	Total costs (Baht)
1. Shallots	10 kilograms	16.00	160.00
2. Ethyl alcohol 60%	2 liters	120.00	240.00
3. Whey protein isolate	5 kilograms	0.62	3,100.00
4. Spray-dryer costs	0.5 hours.	400.00	200.00
5. Capsules	12,000 capsules	0.16	1,920.00
Total cost (Aqueous extract 1,000 g.)			5,620.00
Total cost (0.5 g. per capsule)			0.46
Total cost (0.5 g. per 100 capsules)			46.00

Note 1.016 kilograms of dried shallot was produced from 10 kilograms of fresh shallot.
Price of fresh shallots from Srisaket province in 2018

ศึกษาการเก็บรักษาแคปซูลเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงที่อุณหภูมิ 4 °C ในขวดแก้ว โดยติดตามค่าร้อยละการยับยั้ง (%inhibition) ทุก 1 เดือน (Table 17) พบว่า แคปซูลเอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากหอมแดงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 3 เดือน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองไม่แตกต่างแตกจากตัวอย่างเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสเท่ากับ 42.09%

Table 17 Changes in inhibitory activity of α-glucosidase inhibitor in capsules during 3 months storage at 4 °C.

Storage time (months)	%inhibition ns
0	42.14%
1	42.11%
2	42.11%
3	42.09%

Note ns: not significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's test

การทดลองที่ 3 การผลิตเนยเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1. ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเนื้อในเมล็ดมะม่วง

ทำการเตรียมตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นอบแห้ง โดยศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการลดความชื้นเนื้อในเมล็ดมะม่วงให้ต่ำกว่าร้อยละ 10 และยังคงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดีด้วยการอบแห้งแบบลมร้อน โดยแปรอุณหภูมิในการลดความชื้นเป็น 50 55 และ 60 °C เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาคุณลักษณะของเนื้อในเมล็ดมะม่วงอบแห้ง จากผลการทดลองพบว่ามะม่วงแก้วขมิ้น 100 กิโลกรัมจะมีเนื้อในเมล็ดมะม่วงเป็นส่วนประกอบ 2.83 กิโลกรัม ผลจากการอบแห้งเมล็ดมะม่วงแก้วขมิ้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าอุณหภูมิของการลดความชื้นที่แตกต่างกันมีผลต่อค่าสีของเมล็ดมะม่วงที่วัดได้ ซึ่งจะส่งผลต่อค่าดัชนีความขาว (whiteness index) ของเมล็ดมะม่วงที่คำนวณได้ และมีผลต่อค่าปริมาณน้ำอิสระที่อยู่ในเมล็ดมะม่วง โดยการลดความชื้นที่ 55 °C เมล็ดมะม่วงแก้วขมิ้นจะมีค่าความสว่าง (L*) สูงที่สุด คือ 83.65 จึงส่งผลให้มีค่าดัชนีความขาวที่คำนวณได้สูงที่สุด รวมทั้งเมล็ดมะม่วงที่ทำการลดความชื้นที่อุณหภูมินี้มีปริมาณน้ำอิสระที่ต่ำกว่าการอบที่อุณหภูมิอื่นคือ 0.16 (Table 18) ดังนั้นคัดเลือกวิธีการเตรียมเนื้อในเมล็ดมะม่วงต้องการอบลดความชื้นที่อุณหภูมิ 55 °C เพื่อนำไปศึกษาวิธีการสกัดไขมันที่เหมาะสมต่อไป

Table 18 Physical and Chemical Properties of dried Mango seed kernel at 50, 55 and 60 °C

Drying temperature (°C)	Color score			Whiteness index	Moisture	Aw
	L*	a*	B*			
50	82.27 b	1.70 b	10.58 b	79.28 b	6.43 a	0.26 b
55	86.33 a	1.16 a	8.83 a	83.68 a	7.50 a	0.16 a
60	78.89 c	1.91 c	11.15 c	76.05 c	7.05 a	0.26 b

Averages in the same column by same letters are not significantly difference at 95% level by DMRT

2. ศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่เหมาะสม

จากการศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่โดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent Extraction) 2 ชนิดคือ เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกห์เลต (*Soxhlet* extraction) ทำการวัดปริมาณไขมันที่สกัดได้ พบว่าปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าเฮกเซนโดยจะสามารถสกัดไขมันได้ในปริมาณที่มากกว่าเมื่อใช้สภาวะที่สกัดและเวลาในการสกัดที่เท่ากัน เมื่อคำนวณเป็นร้อยละผลผลิตของไขมันที่สกัดได้ พบว่าร้อยละผลผลิตของไขมันที่สกัดได้จากการใช้เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย จะมีค่าเป็นร้อยละ 6.52 และ 7.04 ตามลำดับ จากผลการทดลองจึงทำการคัดเลือกปิโตรเลียมอีเทอร์เพื่อมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยทำการแปรระดับของเวลาในการแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดเป็น 30, 40, 50 และ 60 นาที จากนั้นทำการสกัดไขมันเมล็ดมะม่วง โดยใช้วิธีการสกัดแบบซอกห์เลต และใช้เวลาในการสกัด 14 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่าการแช่ตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงบดละเอียดในปิโตรเลียมอีเทอร์มีผลต่อปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้นของ

เนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ โดยการแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดนานขึ้นจะทำให้ผลิตผลิตเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น การแช่ตัวอย่างก่อนการสกัดเนยเมล็ดมะม่วงนาน 60 นาทีจะสามารถสกัดได้เนยเมล็ดมะม่วงได้สูงที่สุด คือ ร้อยละ 7.24 (Table 19)

Table 19 production yield of mango butter following by the different soaking period before extraction

Soaking period before extraction (min)	Production yield of mango butter (%w/w)
30	5.29 c
40	6.21 b
50	6.59 b
60	7.24 a

Averages in the same column by same letters are not significantly difference at 95% level by DMRT

โดยเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อทำการทดสอบจุดหลอมเหลวของเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ พบว่ามีจุดหลอมเหลวระหว่าง 35-37 °C

Figure 10 extracted mango butter

3. ศึกษาคุณสมบัติของเนยเมล็ดมะม่วงจากมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ

จากการประยุกต์วิธีการสกัดไขมันในเมล็ดมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้สภาวะในการสกัดแบบซอกห์เลตด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ตามผลการทดลองที่ได้จากข้อ 2. พบว่าเนื้อในเมล็ดมะม่วงอบแห้งแต่ละสายพันธุ์จะมีปริมาณไขมันที่สกัดได้แตกต่างกัน โดยเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้น โชคอนันต์ และน้ำดอกไม้จะมีไขมันเป็นองค์ประกอบ ร้อยละ 7.24 6.38 และ5.84 โดยน้ำหนักตามลำดับ และไขมันของเนื้อในเมล็ดมะม่วง (เนยเมล็ดมะม่วง) แต่ละพันธุ์จะมีองค์ประกอบของไขมันที่แตกต่างกัน (Table 20) จากผลการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่ากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของไขมันเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้น โชคอนันต์ และน้ำดอกไม้จะเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งมีในปริมาณร้อยละ 62.11 64.98 และ 54.87 ตามลำดับ โดยมี Oleic acid

และ Linoleic acid เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งพบ Oleic acid ร้อยละ 45.53 52.36 41.06 และพบ Linoleic acid ร้อยละ 13.11 9.83 8.41 ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวในเมล็ดมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ จะพบในปริมาณร้อยละ 37.89 35.08 และ 45.14 ตามลำดับ โดยมี Stearic acid และ palmitic acid เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจะพบ Stearic acid ร้อยละ 24.80, 20.10 32.47 และพบ palmitic acid ร้อยละ 10.91 12.97 10.46 ตามลำดับ องค์ประกอบของกรดไขมันในเมล็ดมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์เป็นสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับส่วนประกอบของไขมันจากเมล็ดเชีย และเมล็ดโกโก้ ซึ่งไขมันจากเมล็ดโกโก้จะมีองค์ของกรดไขมันหลัก คือ Stearic acid, palmitic acid และ Oleic acid ในปริมาณร้อยละ 33.7-40.2, 24.5-33.7 และ 26.3-35.0 ตามลำดับ (Naik and Kumar, 2014) และไขมันจากเมล็ดเชียจะมีองค์ของกรดไขมันหลัก Oleic acid, palmitic acid และ Stearic acid ร้อยละ 45, 42 และ 4 ตามลำดับ (Israel, 2015) นอกจากนี้ยังพบไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายชนิดอื่น ๆ ในไขมันที่กัดได้จากเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้ เช่น Docasahexaenoic acid (DHA) ที่ช่วยบำรุงระบบประสาทให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพอยู่ร้อยละ 3.69 และ Nervonic acid ที่ช่วยการทำงานของสมองและป้องกันโรคปลอกประสาทอักเสบ (demyelination) ที่มีผลต่อการเสื่อมของจอประสาทตาในปริมาณร้อยละ 0.53

Table 20 fatty acid composition of mango butter from different varieties

Fatty acid composition (%w/w)	Keawkamin	Chokanan	Namdokmai
Saturated fatty acid	37.89	35.08	45.14
Palmitic acid (C16:0)	10.91	12.97	10.46
Stearic acid (C18:0)	24.80	20.10	32.47
Arachidic acid (C20:0)	1.53	1.28	1.34
Behenic acid (C22:0)	0.31	0.30	0.42
Lingoceric acid (C24:0)	0.35	0.43	0.45
Unsaturated fatty acid	62.11	64.98	54.87
Cis-9-Oleic acid (C18:1n9c)	45.53	52.36	41.06
Cis-11Eicosenoic acid (C20:1n11)	0.47	0.36	ND
Linoleic acid (C18:2n6c)	13.11	9.83	8.41
Alpha-linolenic acid (C18:3n3)	2.08	1.93	1.18
Erucic acid (C22:1n9)	0.92	ND	ND
Eicosadienoic acid *(C20*:2n6)	ND	0.50	ND
Docasahexaenoic acid (22:6n−3)	ND	ND	3.69
Nervonic acid (24:1, n-9)	ND	ND	0.53

ND = Not detected

เมื่อตรวจสอบจุดหลอมเหลวของเนยมมะม่วงจากเมล็ดมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ พบว่าไขมันเมล็ดมะม่วงจากพันธุ์ที่แตกต่างกันจะมีจุดหลอมเหลวที่แตกต่างกัน โดยไขมันจากเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้จะมีจุดหลอมเหลวสูงสุด รองลงมาคือไขมันจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นและโชคอนันต์ โดยจุดหลอมเหลวที่วัดได้เป็น 39.8 36.67 และ 35.83 °C ตามลำดับ ส่วนสีของไขมันเมล็ดมะม่วงที่วัดได้จะมี L* เป็น 72.23-59.62 a* เป็น (-3.27)-(-0.63) และ b* เป็น 32.20-12.32 และมี peroxide value และ acid value เป็น 4.03-7.59 mEq/Kg of fat และ 2.18-3.52 mg KOH/g of fat ตามลำดับ (Table 21)

Table 21 Physical and chemical properties of mango butter from different varieties

Variety	Melting point (°C)	Color score			Peroxide value (mEq/Kg of fat)	Acid Value (mg KOH/g of fat)
		Lightness L*	Green-Red a*	Blue-yellow b*		
Kaewkamin	36.67 b	72.23 a	-3.27 b	13.48 b	7.59 c	2.18 a
Chokanan	35.83 b	59.62 b	-0.64 a	32.20 a	5.61 b	3.28 b
Namdokmai	38.67 a	56.09 c	-0.66 a	12.35 c	4.03 a	3.52 b

Averages in the same column by same letters are not significantly difference at 95% level by DMRT

เมื่อนำเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ไปทดสอบคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า เนยเมล็ดมะม่วงที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดคือเนยเมล็ดมะม่วงแก้วขมิ้น รองลงมาคือเนยเมล็ดมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และโชคอนันต์ โดยมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี DPPH เป็น 61.33, 54.32 และ 46.51 mgAA /100 g ตามลำดับ และเมื่อศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยคำนวณเป็นความเข้มข้นของไขมันเมล็ดม่วงที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่า ไขมันจากเมล็ดมะม่วงแก้วขมิ้นความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงสุด รองลงมาคือ ไขมันจากเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้และโชคอนันต์ โดยมีค่า IC_{50} เป็น 0.47, 0.89 และ 1.54 mg/ml (Figure 11)

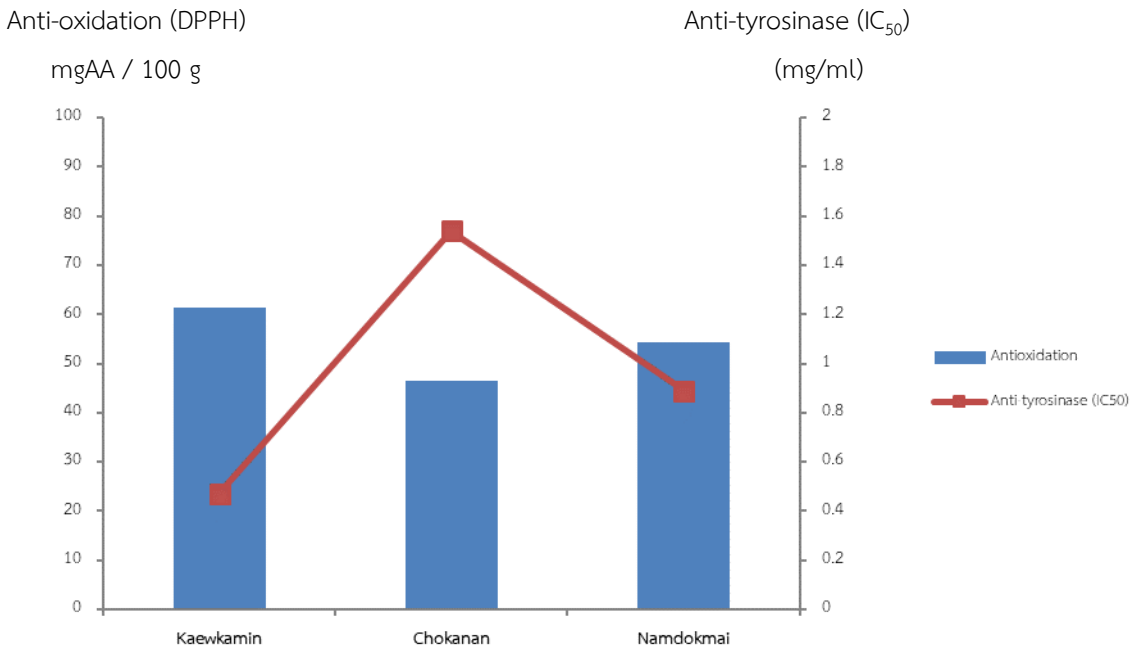

Figure 11 cosmetic properties of mango butter from three different varieties

จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงคัดเลือกไขมันจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุดมาศึกษาอายุการเก็บรักษาและผลิตเป็น startup ingredient โดยพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake) ที่เหมาะสมกับการใช้งานในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ ต่อไป

4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเนยเมล็ดมะม่วง

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนยเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นที่สกัดได้ โดยศึกษาค่าสี (L*, a*, b*) peroxide value และ acid value พบว่าไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องจะมีการเปลี่ยนแปลงของสี และมีค่า peroxide value เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน ดังนั้นการเก็บรักษาไขมันเมล็ดมะม่วงที่อุณภูมิห้องจะต้องมีการเติม Butylated hydroxytoluene (BHT) เพื่อป้องกันการการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและกลิ่นหืนกับผลิตภัณฑ์ จากการตรวจสอบคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของเนยเมล็ดมะม่วงที่สกัดได้ โดยเติม BHT ในปริมาณ 0 และ 100 ppm ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (RT) และ 4 °C (Chill) เมื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าในเดือนที่ 0 ความเข้มข้นของเนยเมล็ดมะม่วงที่สามารถต้านออกซิเดชันได้ร้อยละ 50 ในรูปแบบการจับกับโลหะ (MC_{50}) และ การจับกับอนุมูลอิสระ (SC_{50}) เป็น 0.21 และ 1.02 mg/ml ตามลำดับ แต่เมื่อเก็บรักษาครบ 3 เดือน พบว่าความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบจับกับโลหะ (MC_{50}) ลดลงต่ำมากจนไม่สามารถวัดค่าได้ในทุก ทรีทเม้นต์ และยังพบว่าเนยเมล็ดมะม่วงที่มีการเติม BHT 100 ppm และเก็บรักษาที่ 4 °C จะมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบการจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด (Table 22)

Table 22 Anti-oxidation capacity of mango butters as SC_{50} during storage for six months at room and chill temperature

Month	SC_{50} of Mango seed butter (mg/ml)			
	No BHT + RT	No BHT + Chill	BHT + RT	BHT + Chill
0	1.02	1.02	1.02	1.02
3	1.39	1.11	1.09	1.05
6	1.92	1.22	1.13	1.07

เมื่อศึกษา acid value และ peroxide value ของเนยเมล็ดมะม่วงที่เติมสาร BHT ในปริมาณ 0 และ 100 ppm ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (RT) และ 4 °C (Chill) พบว่าการเก็บรักษาเนยเมล็ดมะม่วงที่ 4 °C ร่วมกับการเติม BHT 100 ppm จะมีการเพิ่มขึ้นของค่า acid value และ peroxide value ช้ากว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและไม่มีการเติม BHT โดยเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนหลังจากการเก็บรักษาครบ 3 เดือน (figure 12-13)

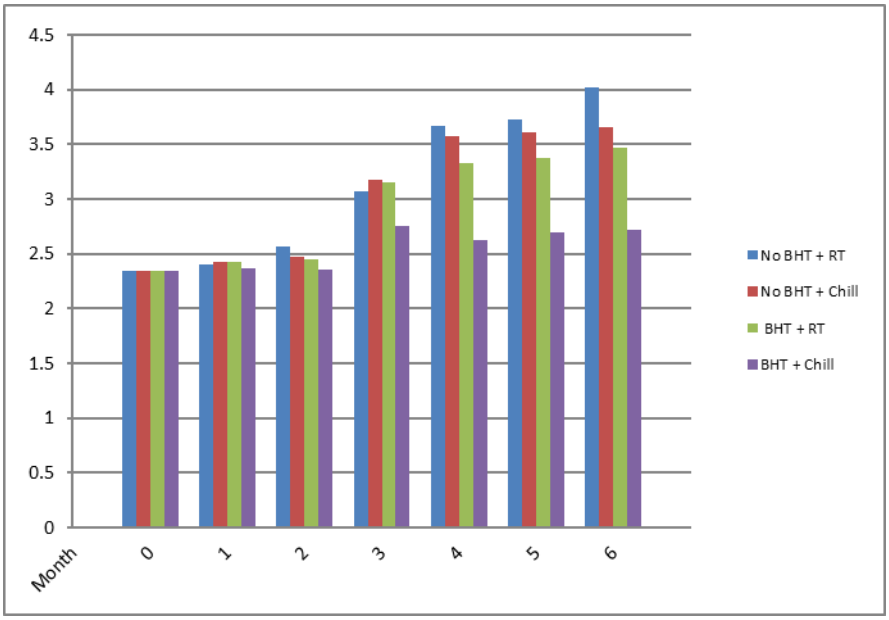

Figure 12 acid value of mango butters during storage for six months at room and chill temperature

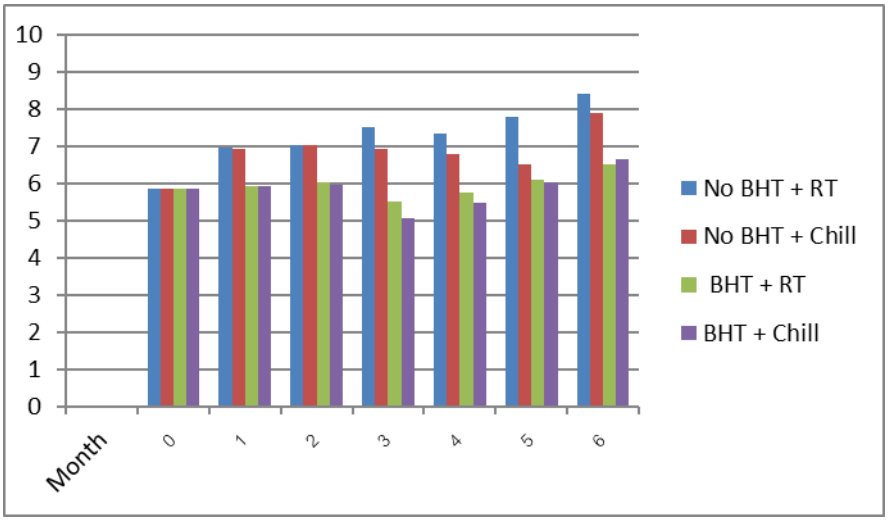

Figure 13 peroxide value of mango butters during storage for six months at room and chill temperature

5. พัฒนารูปแบบของเนยเมล็ดมะม่วงให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake)

พัฒนารูปแบบของเนยเมล็ดมะม่วงให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake) เพื่อสะดวกต่อการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางอาทิ ลิปสติก ลิปบาล์ม และโลชันทาผิว โดยศึกษาชนิดของแว็กซ์และปริมาณที่เหมาะสมในการทำให้เนยเมล็ดมะม่วงคงรูปเป็นเกล็ด โดยทำการเนยเมล็ดมะม่วงกับแว็กซ์ต่าง ๆ ได้แก่ bee wax และ carnauba wax ในอัตราส่วนร้อยละ 5, 7.5 และ 10 จากการทดลองพบว่า bee wax ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นเพิ่มความคงตัวให้กับเนยเมล็ดมะม่วงได้ เนื่องจากเมื่อใช้ bee wax สามารถเพิ่มจุดหลอมเหลวให้กับเนยเมล็ดมะม่วงได้เพียง 1-2 °C เท่านั้น จึงไม่สามารถเพิ่มความคงตัวให้กับเนยเมล็ดมะม่วงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ ส่วนเนยเมล็ดมะม่วงที่ผสม carnauba wax ระหว่างร้อยละ 5-10 จะสามารถเพิ่มจุดหลอมเหลวของเนยเมล็ดมะม่วงได้ถึง 6.6-9 °C ซึ่งจะส่งผลให้เนยเมล็ดมะม่วงเกิดความเสถียรระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่ง รวมถึงเพิ่มความสะดวกต่อการใช้งาน (table 23)

Table 23 melting temperature of mango butter with different concentration of carnauba wax and bee wax

Type of wax	Concentration %(w/w)	Melting point (°C)
carnauba wax	5.0	43.33 a
	7.5	45.33 a
	10.0	45.67 a
bee wax	5.0	38.67 b
	7.5	38.67 b
	10	38.83 b

Averages in the same column by same letters are not significantly difference at 95% level by DMRT

จากข้อมูลจุดหลอมเหลวของเนยเมล็ดมะม่วงจึงเลือกเนยเมล็ดมะม่วงที่ผสม carnauba wax ร้อยละ 5 ร่วมกับการเติม BHT ที่ 100 ppm มาผลิตเป็นเนยเมล็ดมะม่วงแบบเกล็ดเพื่อสะดวกต่อการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงด้านเคมีและกายภาพตลอดระยะเวลา 6 เดือน พบว่า หลังจากการเก็บรักษา 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง เนยเมล็ดมะม่วงผสม carnauba wax จะมีสีเข้มขึ้น โดยมีค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเขียว-แดง (a*) ลดลงเล็กน้อย และพบการเพิ่มขึ้นของค่า peroxide value และ acid value และเมื่อตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในแบบการจับอนุมูลอิสระ (SC_{50}) พบว่ามีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงเมื่อเทียบกับเนยเมล็ดมะม่วงในเดือนที่ 0 ของการเก็บรักษา (table 24)

Table 24 physical and chemical properties of mango butter with 5% of carnauba wax and 100 ppm of BHT during storage period for six months at room temperature

Time (month)	Color score			Peroxide value (mEq/Kg of fat)	Acid Value (mg KOH/g of fat)	SC_{50} (mg/ml)
	Lightness L*	Green-Red a*	Blue-yellow b*			
0	51.18	0.56	9.70	6.07	2.61	1.05
3	49.59	0.37	9.65	6.25	2.72	1.07
6	50.96	0.21	10.02	6.37	2.79	1.25

6. ประยุกต์ใช้เนยเมล็ดมะม่วงในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ และคำนวณต้นทุนในการผลิต

ได้ทำการประยุกต์เนยเมล็ดมะม่วงแบบเกล็ดในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ เช่น โลชันทาผิว มอยเจอร์บาร์ และบอดีสครับ (Table 25) และ (Figure 5)

Table 25 Formulation of cosmetic products containing mango butter

Moisture bar		Body scrub		Body lotion	
Mango butter flake	100 g	Mango butter flake	47 g	Distilled water	780 g
Bee wax	100 g	Sugar	260 g	Methylparaben	10 g
Sweet Almond oil	100 g	Sweet Almond oil	30 g	Olive oil	20 g
		Volatile oil	1 g	Mango butter flake	14 g
				Stearic acid	60 g
				Cetyl alcohol	30 g
				Isopropyl Myristate	30 g
				Tween 20	50 g
				Fragrance	5 g

Figure 14 Cosmetic products containing mango butter

การคำนวณต้นทุนในการผลิต

จากการคำนวณผลผลิตที่ได้จากการผลิตเนยเมล็ดมะม่วง พบว่า มะม่วง 100 กิโลกรัมจะสามารถผลิตไขมันจากเมล็ดมะม่วงได้ 0.05 กิโลกรัม แต่ถ้าเริ่มต้นผลิตจากเมล็ดมะม่วง 100 กิโลกรัมจะได้ผลผลิตของเนยเม็ดมะม่วงที่สกัดได้ร้อยละ 1.76 จากเมล็ดมะม่วงที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น (Table 26)

Table 26 Production Yield of Mango butter Production

Unit	Mango	Mango seed kernel	Sliced mango seed kernel	Mango seed flour	Mango butter
Kg	100	2.83	2.50	0.65	0.05
Kg		100	88.45	23.06	1.76
Kg		56.81	50.25	13.10	1

ซึ่งในกระบวนการผลิตเนยเมล็ดมะม่วง ต้นทุนของการผลิตจะเกิดจากการสูญเสียตัวทำละลายที่ใช้ในระหว่างการสกัดไขมัน ซึ่งจากการทดลองพบว่าจะเกิดการสูญเสียตัวทำละลายประมาณร้อยละ 15 ของตัวทำละลายที่ใช้ในการผลิต ซึ่งการผลิตเนยเมล็ดมะม่วง 1 กิโลกรัม จะใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย 39.3 ลิตร และจะเกิดการสูญเสียปิโตรเลียมอีเทอร์ 5.89 ลิตร โดยปิโตรเลียมอีเทอร์มีราคา 250 บาท/ลิตร จึงส่งผลให้เนยเมล็ดมะม่วง 1 กิโลกรัมเกิดต้นทุนจากการสูญเสียตัวทำละลายในการผลิต 1,472.5 บาท ในขณะที่เนยจากเมล็ดเชียที่ใช้ในเป็นส่วนประกอบในการผลิตเครื่องสำอางมีราคาสูงถึง 1,850 บาท ซึ่งจะเห็นได้ว่าการต้นทุนของเนยเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้จากของเหลือใช้ในประเทศยังมีราคาที่ถูกกว่าเนยเชียที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ และดังนั้นการใช้เนยเมล็ดมะม่วงทดแทนการใช้เนยเชียที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศจะสามารถลดต้นทุนการผลิตให้กับผู้ประกอบการและเป็นการเพิ่มศักยภาพทางการตลาดให้กับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ผลจากโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิต Startup ingredients สำหรับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ ทำให้ได้เทคโนโลยีการผลิต ต้นทุนการผลิต พร้อมข้อมูลอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ Startup ingredients สำหรับประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ 3 ชนิด ที่สามารถถ่ายทอดให้กับผู้ประกอบการเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันทางการตลาด ดังนี้

การผลิตสารให้กลิ่นรสจากน้ำผลไม้เข้มข้นพรีไบโอติกสูง

ในการดำเนินการจะใช้น้ำสับปะรดเป็นวัตถุดิบ เริ่มจากการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้นด้วยวิธีการระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศเพื่อให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงกว่า 60 บริกส์ จากนั้นเปลี่ยนน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำผลไม้ให้เป็นสารพรีไบโอติกส์โดยใช้เอนไซม์ pectinex ultra SP-L 4 U/g sucrose และ glucose oxidase 1022 U/g sucrose ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Sodium acetate 0.5 M pH 5.6 ปริมาตร 40 µL ต่อน้ำผลไม้เข้มข้น 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 15 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และฆ่าเชื้อจะได้น้ำสับปะรดเข้มข้นที่มีปริมาณฟรุกแตนร้อยละ 52.83 นำน้ำสับปะรดที่ได้ไปเอนแคปซูเลทโดยใช้อัลจีเนตร้อยละ 2.0 และขนาดหัวฉีด 0.45 mm โดยปริมาณฟรุกแตนในเอนแคปซูเลทจะมีปริมาณใกล้เคียงกันเมื่อให้ความร้อนที่ 80-90 °C นาน 15-30 นาที และมีอายุการเก็บรักษาได้นานกว่า 12 เดือน โดยมีตุ้นทุนการผลิตที่ 10.59 บาท/กรัม ซึ่งเอนแคปซูเลทสารให้กลิ่นรสพรีไบโอติกสูงสามารถใช้ได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่หลายหลาก เชาน น้ำผลไม้ เยลลี่ และเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มประโยชน์เฉพาะทางให้กับผู้บริโภคในการดูแลสุขภาพ

การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสโดยวิธีเอนแคปซูเลชั่น

ขั้นตอนการดำเนินงานเริ่มจากการอบแห้งหอมแดง และเตรียมเป็นหอมแดงผง จากนั้นสกัดสารเควอซิตินจากหอมแดงผง ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 60 อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากน้ำระเหยแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องระเหหยแห้งแบบหมุนเหวี่ยงโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 60 °C จะได้สารสกัดหอมแดงที่มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในระดับหลอดทดลอง เท่ากับ 43.02 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเอนแคปซูเลทโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยมีต้นทุนการผลิต 28.98 บาท/สารสกัด 1 กรัม โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคือ การเก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการผลิตแคปซูลบรรจุสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูซิเดส โดยแคปซูล 1 เม็ดมีสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่ากลูซิเดส 0.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสในหลอดทดลองได้เฉลี่ย 42% มีต้นทุนการผลิตเม็ดละ 0.46 บาท โดยเอนแคปซูเลทยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับกระบวนการผลิตอาหารที่หลากหลายที่มีกระบวนการให้ความร้อนในระบบพาสเจอไรซ์แบบให้ความร้อนต่ำเวลานานและแบบให้

ความร้อนสูงเวลาสั้น รวมถึงการให้ความร้อนในระบบยูเอชที เช่น เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ หรืออาหารสำเร็จรูปต่างๆ ได้

การผลิตเนยเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ขั้นตอนการผลิตเริ่มจากการอบเนื้อในเมล็ดมะม่วงเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดแล้วนำไปสกัดไขมันด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย โดยแช่เมล็ดมะม่วงในตัวทำละลายนาน 60 นาที ก่อนนำไปสกัดไขมันด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตนาน 14 ชั่วโมง โดยเนยเมล็ดมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด เป็น 61.33 mgAA /100 g และ 0.47 mg/ml ตามลำดับ จากนั้นพัฒนาเนยเมล็ดมะม่วงให้อยู่ในรูปแบบเกล็ด (flake) เพื่อสะดวกต่อการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยผสมเนยเมล็ดมะม่วงและ carnauba wax ร้อยละ 5 ร่วมกับการเติม BHT ที่ 100 ppm เนื่องจากสามารถเพิ่มจุดหลอมเหลวของเนยเมล็ดมะม่วงได้ถึง 6.6 °C ซึ่งจะส่งผลให้เนยเมล็ดมะม่วงเกิดความเสถียรระหว่างการเก็บรักษา ต้นทุนของการผลิตจะเกิดจากการสูญเสียตัวทำละลายที่ใช้ในระหว่างการสกัดไขมัน โดยเนยเมล็ดมะม่วง 1 กิโลกรัมมีต้นทุนจากการสูญเสียตัวทำละลาย 1,472.5 บาท ซึ่งเนยเมล็ดมะม่วงที่ผลิตได้สามารถใช้เป็นสารประกอบในเครื่องสำอางเพื่อทดแทนการใช้เนยเชียที่เป็นสารให้ความชุ่มชื้นที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพงได้

การใช้ประโยชน์

1. เอนแคปซูเลทสารให้กลิ่นรสที่มีพรีไบโอติกสูงจากน้ำผลไม้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบของน้ำผลไม้เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มกลิ่นรสให้กับผู้ประกอบการแปรรูปน้ำผลไม้และผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้น้ำผลไม้เข้มข้นเป็นส่วนประกอบ
2. เอนแคปซูเลทสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดสจากธรรมชาติ สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตสูง เพื่อการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยผู้ประกอบการสามารถประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่มีอยู่โดยไม่ต้องปรับกระบวนการผลิต ทำให้ลดความยุ่งยากในกระบวนการผลิตเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น ๆ โดยผู้ประกอบการที่จะนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ ได้แก่ ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ และผู้ประกอบการผลิตอาหารเพื่อสุภาพต่าง ๆ ที่มีแป้งและน้ำตาลเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์
3. ผลิตภัณฑ์เนยเมล็ดมะม่วงสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง สามารถใช้เนยเมล็ดมะม่วงเพื่อทดแทนการใช้เนยโกโก้และเนยเชียที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในเครื่องสำอางที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพงได้

ข้อเสนอแนะ

ผลิตภัณฑ์ startup ingredients ทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์ เป็นผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการ ดังนั้นควรมีการบูรณาการร่วมกับผู้ประกอบการที่จะนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในด้าน การทดสอบผล

เชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์ทางคลินิก การผลิตในแบบขยายขนาด และการสำรวจรูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่มีการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ startup ingredients ที่ตอบโจทย์ความต้องการของตลาดและผู้บริโภค

บรรณานุกรม

ไตรวุฒิ พันธุ์โยธา และอุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์. 2556. การป้องกันโรคเบาหวานด้วยใบจินเจียเหมาเยี่ย และแป๊ะตำปึง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : www.inmu.mahidol.ac.th. (11 เมษายน 2559)

ประไพพิศ อินเสน. 2561. การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รีไทย. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 12(2):69-82.

พิมพ์นิภา กาเผือกงาม. 2552. การผลิตเนยโกโก้เลียนแบบจากน้ำมันเมล็ดมะม่วงและน้ำมันปาล์มมิดแฟรคชั่น. วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร/นครปฐม.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2557. Concentrated fruit juice/น้ำผลไม้เข้มข้น. [ระบบออนไลน]. แหล่งที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki. (23 มีนาคม 2557)

วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์ และประยูร เอ็นมาก. 2558. การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในน้ำผลไม้โดยเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานส์เฟอเรส, รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2558 กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, กรมวิชาการเกษตร, 594-607.

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2563. รายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2561. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : www. nci.go.th. (15 กุมภาพันธ์ 2563)

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

สาวิตรี ตาสุติน. 2550. การทดสอบหาสารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส. ปัญหาพิเศษ สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปะศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานวิจัยนโยบายสร้างเสริมสุขภาพ. 2558. WHO ปรับเกณฑ์การกินน้ำตาลไม่เกิน 6 ช้อนชา/วัน ช่วยสุขภาพดีลดอ้วน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : www.manager.co.th. (11 เมษายน 2559)

Abrams, S. A., Griffin, I. J., Hawthorne, K. M., Liang, L., Gunn, S. K., Darlington, G., et al. 2005. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), 471-476.

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.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis of AOAC international. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists.

AOCS. American Oil Chemists Society. 1990. The official methods and recommended practices. 4th ed, Champaign, USA.

Baldwin, EA., Hagenmaier, RD., Bai, J. 2012. Edible coatings and films to improve food quality. [Online]. Available: 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.

Cámara, M. M., Díez, C., Torija, M. E. and Cano, M. P. 1994. HPLC determination of organic acids in pineapple juices and nectars. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung,* 198(1), 52-56.

Chang, CH., Lin, HY., Chang, CY. Liu, YC. 2006. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. J. Food En. 77:478-485.

Chang, T.S. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. International journal of molecular sciences. 10(6): 2440-2475

Christie W. W. 2003. Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids. 3rd edition, The Oily Press.

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.

González, S., Fernádez-Lorente, M. and Gilaberte-Calzada, Y. 2008. The latest on skin photoprotection. Clinics in Dermatology.26(6): 614-626.

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

Grizard, D., & Barthomeuf, C. 1999. Enzymetric Synthesis and Structure Determination of NEO-FOS. *Food Biotechnol*, 13(1), 93-105.

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).

Israel, M. O. 2015. Shea Butter: An Opposite Replacement for Trans Fat in Margarine. J. Nutr. Food Sci. (2015):1-5.

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

Jenkins, G. 2002. Molecular mechanisms of skin ageing. Mechanisms of Ageing and Development. (123):801-810.

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.

Kittiphoom, *S. 2012. Utilization of Mango seed. Int food res J.19(4):1325-1335.*

Kleessen, B., & Blaut, M. 2005. Modulation of gut mucosal biofilms. *The British Journal of Nutrition*, 93, S35-S40.

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.

L'Hocine, L., Wang, Z., Jiang, B., & Xu, S. 2000. Purification and Partial Characterization of Fructosyltransferase and Invertase From Aspergilus niger AA0 0 2 3 . *Journal of Biotechnology*, 81(1), 73-84.

Miroslav, S. 2014. Food Industry Waste Utilization: Utilizing Mango Seed for the Production of Mango Seed Kernel Oil. from http://www.qualifoodacademy.com/posts/18. access on 10 June 2014.

Muir, J. G., Shepherd, S. J., Rosella, O., Rose, R., Barrett, J. S., & Gibson, P. R. 2007. Fructan and Free Fructose Content of Common Australian Vegetables and Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6619-6627.

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.

Naik, B. and Kumar, V. 2014. Cocoa butter and its alternatives: A review. J. Bioresour. Eng and Technol. (1):7-17.

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).

Nyman, M. (2002). Fermentation and bulking capacity of ingestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. *The British Journal of Nutrition*, 87, S163-S168.

O'Brien, R. D. 2008. Capillary melting point. Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications 3rd Edition. CRC press, Taylor & Francis Group, Florida, USA. 680 p.

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.

Puravankara, D., Bohgra, V. and Sharma, R. S. 2000. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica L.*) seeds kernels on oxidative stability of buffalo ghee (Butter-fat). *J.Sci Food Agri*. 80(4):522-526.

Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A. B., & Gibson, G. R. 1998. The bifidonenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *The Journal of Nutrition*, 128(1), 11-19.

Schiber, A., Beradini, N. and Carle, R. 2003. Identification of flavonol and xanthol glycosides from mango peels by HPLC. *J.Agri.Food Chem*.51:5006-5011.

Sirisansaneeyakul, S., Lertsiri, S., Tonsagunrathanachai, P., and Luangpituksa, P. (2000). Enzymatic Production of Fructo-Oligosaccharides from Sucrose. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 34, 262 - 269.

Surin S., P. S., P. Thakeow and Y. Phimolsiripol. 2012. Optimization of Enzymatic Production of Fructooligosaccharides from Longan Syrup. *Journal of Applied Sciences*, 12(11), 1118-1123.

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.

Van Loo, J. A. B., Clune, Y., and Collins, J. K. 2005. The SYCAN projects: Goals, setups, first results and settings of the human intervention study. *The British Journal of Nutrition*, 93, S91-S98.

Yun, J. W. 1996. Fructooligosaccharide-Occurrence, Preparation, and Application. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, 107-117.

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.