

การห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนและโซเดียมเคซีเนตโดยกระบวนการดีซอลเวชัน  
ENCAPSULATION OF LUTEIN USING ZEIN AND SODIUM  
CASEINATE BY DESOLVATION METHOD



ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร  
คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนและโซเดียมเคซีเนตโดยกระบวนการดีซอลเวชัน  
ENCAPSULATION OF LUTEIN USING ZEIN AND SODIUM CASEINATE  
BY DESOLVATION METHOD

จัดทำโดย

เกวดี สุวรรณ รหัสนักศึกษา 58080011

ศุภิสรา พูลเพิ่ม รหัสนักศึกษา 58080064

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

ปิ่นดา นนทนา

(ดร. ปิ่นดา นนทนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

25 / มิถุนายน / 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ            การห่อหุ้มลูทีนด้วยซินและโซเดียมเคซีเนตโดยกระบวนการดีซอลเวชัน  
ชื่อนักศึกษา                    เกวดี สุวรรณ รหัสนักศึกษา 58080011  
    ศุภิสรา พูลเพิ่ม รหัสนักศึกษา 58080064  
หลักสูตร                         วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร  
พ.ศ.                                 2562  
อาจารย์ที่ปรึกษา                ดร.ปนัดดา นนทนา

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะห่อหุ้มลูทีนด้วยกระบวนการดีซอลเวชันโดยใช้เอทานอลเป็นตัวดำเนินการละลาย ในการทดลองได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซิน (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่างลูทีนต่อซิน (1:25 1:50 1:75 และ 1:100) และการเติมโซเดียมเคซีเนต ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง ขนาดอนุภาคของตัวอย่างหลังนำมากระจายตัวในน้ำ และการปลดปล่อยลูทีนในระบบจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซินมีผลต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินเพียงอย่างเดียว มีค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่สูงประมาณร้อยละ 87 เมื่อใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 ในการละลายซิน เมื่ออัตราส่วนระหว่างลูทีนต่อซินที่ใช้มีค่าเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้การเติมโซเดียมเคซีเนตเข้าไปในระบบ (อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่างซินต่อโซเดียมเคซีเนต เป็น 1:1) จะทำให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีค่าสูงถึงประมาณร้อยละ 95 เมื่อใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 60 ในการละลายซิน โดยขนาดอนุภาคตัวอย่างของลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนตในอัตราส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 1:100:100 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 438 ถึง 542 นาโนเมตร ผลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าซินมีลักษณะเป็นทรงกลมเรียงติดกัน โซเดียมเคซีเนตมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์ม และการใช้ซินร่วมกับโซเดียมเคซีเนตในการห่อหุ้มลูทีนจะพบลักษณะของแผ่นฟิล์มเคลือบบนผิวของอนุภาคทรงกลม ผลจากการศึกษาการปลดปล่อยลูทีนในระบบจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง พบว่าเมื่อมีการใช้โซเดียมเคซีเนตร่วมกับซินในการห่อหุ้มลูทีน จะทำให้ตัวอย่างมีประสิทธิภาพการปลดปล่อยลูทีนที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ซินเพียงอย่างเดียวในการห่อหุ้มลูทีน

คำสำคัญ: เอนแคปซูลชัน ลูทีน ซิน โซเดียมเคซีเนต ดีซอลเวชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Encapsulation of lutein using zein and sodium caseinate by desolvation method	
Student name	Kewadee Suwan	Student ID 58080011
	Supissara Poonpoem	Student ID 58080064
Program	Bachelor of Science in Food Science and Technology	
Year	2019	
Advisor	Dr.Panadda Nonthanum	

### ABSTRACT

The objective of this research was to encapsulate lutein by desolvation method using ethanol as desolvating agent. In the experiment, the effects of ethanol concentration (60, 70, 80 and 90%) used for dissolving zein, the mass ratio between lutein and zein (1:25, 1:50, 1:75 and 1:100) and the addition of sodium caseinate (NaCas) to the lutein/zein system on encapsulation efficiency (EE), morphology, particle size and in vitro release of lutein were investigated. Results from the study showed that concentration of ethanol used for dissolving zein had a significant effect on EE of lutein ( $p < 0.05$ ). The EE of lutein ( $\approx 87\%$ ) was detected when using ethanol concentration at 90% to dissolve zein. The EE of lutein increased as the higher mass ratio between lutein to zein was used. The addition of NaCas to the lutein/zein system with the mass ratio between zein to NaCas of 1:1 increased the EE of lutein to 95% when using 60% ethanol to dissolve zein. The re-dispersion in water of lutein/zein/NaCas samples with the mass ratio of 1:100:100 showed the average size of particles ranging from 438 to 542 nm. Results from morphological study revealed that zein formed spherical shapes linking to each other, NaCas formed film. The formation of film coating on the spherical shapes was found from the samples of lutein encapsulated with zein and NaCas. Results from in vitro study showed the addition of NaCas into the lutein/zein system resulted in the higher amount of released lutein from encapsulated samples as compared to the ones encapsulated by zein only.

Keywords: Encapsulation, Lutein, Zein, Sodium caseinate, Desolvation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร. ปันตดา นนทนา อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษโดยได้เสียสละเวลาอันมีค่าเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำอย่างดี ให้แนวคิดต่างๆ ตลอดจนแนวทางการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ที่เป็นประโยชน์เพื่อให้รายงานปัญหาพิเศษเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์และถูกต้องมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ขอขอบคุณนักศึกษา คณะอาจารย์ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกคน ที่ได้ให้การสนับสนุนและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

อีกทั้งขอขอบคุณแหล่งข้อมูลต่างๆ ที่เป็นประโยชน์โดยเปิดโอกาสให้สามารถเข้าถึงข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องเป็นอย่างดี

เกวตี สุวรรณ  
ศุภิสรา พูลเพิ่ม  
20 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 สังคมผู้สูงอายุ (Aged society).....	3
2.2 โรคจอประสาทตาเสื่อม (Age-related macular degeneration, AMD).....	5
2.3 ลูทีน (Lutein).....	7
2.4 ซีน (Zein).....	8
2.5 โซเดียมเคซีเนต (Sodium caseinate).....	9
2.6 กระบวนการเอนแคปซูเลชัน (Encapsulation).....	10
2.6.1 ดีซอลเวชัน (Desolvation).....	10
2.7 เทคนิค Dynamic light scattering (DLS).....	11
2.7.1 หลักการ.....	11
2.7.2 ค่าศักย์ซีต้า (Zeta-potential: $\zeta$ ).....	11
2.8 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope).....	11
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	15
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี.....	15
3.2 อุปกรณ์.....	15
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง.....	16
3.3.1 การห่อหุ้มลูทีนด้วยซีน.....	16
3.3.2 การห่อหุ้มลูทีนด้วยโซเดียมเคซีเนต.....	17
3.3.3 การห่อหุ้มลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยซีนและโซเดียมเคซีเนต.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.4 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซิน โซเดียมเคซีเนต และซินร่วมกับ โซเดียมเคซีเนต.....	18
3.3.5 การวิเคราะห์การปลดปล่อยลูทีนจากอนุภาคที่ห่อหุ้มโดยจำลองระบบการ ย่อยอาหารในหลอดทดลอง.....	19
3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณของลูทีนที่ถูกปลดปล่อยในการจำลองระบบการย่อย อาหารในหลอดทดลอง.....	20
3.3.7 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้ม โดยใช้ เทคนิค Dynamic light scattering (DLS).....	21
3.3.8 การวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้ม ด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM).....	21
3.3.9 การวิเคราะห์ผสมทางสถิติ.....	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	22
4.1 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน.....	22
4.1.1 ผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ละลายซินและอัตราส่วนของลูทีนต่อ ซินต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน.....	22
4.1.2 ผลของการเติมโซเดียมเคซีเนตร่วมกับซินต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน.....	24
4.2 ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า.....	26
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	28
4.4 การปลดปล่อยลูทีนจากอนุภาคที่ห่อหุ้มในระบบจำลองการย่อยอาหารในหลอด ทดลอง (In vitro study).....	33
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	35
บรรณานุกรม.....	36
ภาคผนวก.....	39
ภาคผนวก ก.....	40
ก.1 การเตรียมสารละลายลูทีน ความเข้มข้น 4 มก/มล.....	40
ก.2 การเตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 เพื่อ ใช้ในการละลายซิน.....	40
ก.3 การเตรียมสารละลายซิน ความเข้มข้น 2 มก/มล ในเอทานอลความเข้มข้น ต่างๆ.....	40
ก.4 การเตรียมสารละลายโซเดียมเคซีเนต ความเข้มข้น 5 มก/มล.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ก.5 การเตรียมน้ำย่อยจำลองของระบบการย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated gastric fluid, SGF).....	41
ก.6 การเตรียมน้ำย่อยจำลองของระบบการย่อยในลำไส้เล็ก (Simulated intestinal fluid, SIF).....	41
ภาคผนวก ข.....	42
ข.1 การทำกราฟมาตรฐานของลูทีนในสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 100.....	42
ข.2 การทำกราฟมาตรฐานของลูทีนในสารละลายเอทิลอะซิเตท.....	43
ประวัติผู้เขียน.....	46



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ปริมาณของสารละลายลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล และซีน ที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้ได้ปริมาณลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน.....	17
3.2	ปริมาณของสารละลายลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล และโซเดียมเคซีเนต ที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้ปริมาณลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน.....	17
3.3	ปริมาณของลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล ซีน และโซเดียมเคซีเนต ที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้ปริมาณลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน.....	18
4.1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน.....	22
4.2	ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน.....	23
4.3	ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน.....	24
4.4	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนที่ละลายด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน.....	25
4.5	ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซีนและโซเดียมเคซีเนต โดยใช้ซีนที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ.....	25
4.6	ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนจากตัวอย่างที่มีการใช้ซีนอย่างเดียว โซเดียมเคซีเนตอย่างเดียว และซีนกับโซเดียมเคซีเนตในการห่อหุ้มลูทีน.....	26
4.7	ขนาดอนุภาค ดัชนีการกระจายตัว และค่าศักย์ซีต้าของตัวอย่างที่นำมากระจายตัวในน้ำ.....	27
ก.1	การเตรียมเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ.....	40
ข.1	อัตราส่วนของปริมาณสารละลายลูทีนมาตรฐานกับแอนไฮดรัสเอทานอลที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานลูทีนในแอนไฮดรัสเอทานอล.....	42
ข.2	อัตราส่วนของปริมาณลูทีนมาตรฐานกับเอทิลอะซิเตตที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานลูทีนในเอทิลอะซิเตต.....	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	สถิติที่เกี่ยวข้องของกับประชากรผู้สูงอายุ.....	4
2.2	อาการของโรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อม.....	5
2.3	ชนิดของการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อม ดวงตาปกติ (ชาย) โรคจอประสาทตาเสื่อมชนิดแห้ง (กลาง) และโรคจอประสาทตาเสื่อมชนิดเปียก (ขวา).....	6
2.4	โครงสร้างของลูทีน.....	8
2.5	โครงสร้างโมเลกุลของซีน.....	9
2.6	ซีนในรูปแบบแผ่นฟิล์ม.....	9
2.7	รูปแบบของแอนแคปซูลชัน.....	10
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของลูทีน, โซเดียมเคซีเนต และซีนในเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 60-90.....	29
4.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีนที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60-90 ด้วยอัตราส่วน 1:100.....	30
4.3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีนที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60 ในอัตราส่วนปริมาณของลูทีนต่อซีน 1:25 ถึง 1:100.....	31
4.4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต โดยมีการใช้ซีนร่วมกับโซเดียมเคซีเนตและไม่มีซีนในการห่อหุ้มลูทีน.....	32
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการย่อยและปริมาณการปลดปล่อยลูทีนจากตัวอย่างลูทีนในน้ำมัน (วัดลูติบ), ลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต และลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยซีนที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 และ 90 ที่มีการเติมและไม่เติมโซเดียมเคซีเนต.....	34
ข.1	กราฟมาตรฐานของลูทีนในแอนไฮดรัสเอทานอล.....	43
ข.2	กราฟมาตรฐานของลูทีนในเอทิลอะซิเตต.....	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกได้เข้าสู่ภาวะสังคมผู้สูงอายุ ดังนั้นแต่ละประเทศจึงต้องมีการปรับตัวเพื่อรองรับสภาวะสังคมที่เปลี่ยนแปลงไป หนึ่งในประเด็นที่ต้องทำการเตรียมความพร้อมคือปัญหาด้านสุขภาพของประชากร เนื่องจากผู้สูงวัยจะมีสภาพร่างกายที่เสื่อมถอยและเกิดปัญหาด้านสุขภาพได้ง่าย ทั้งนี้หนึ่งในปัญหาสุขภาพที่สำคัญของประชากรผู้สูงอายุได้แก่ปัญหาด้านการมองเห็น โดยสาเหตุของปัญหามักมาจากโรคทางตา เช่น โรคต้อกระจก (Cataract) โรคต้อหิน (Glaucoma) ภาวะการผิดปกติของกระจกตา รวมไปถึงโรคจอประสาทตาเสื่อม (Age-related macular degeneration, AMD) ที่นำไปสู่ภาวะตาบอด ซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยดำเนินชีวิตได้อย่างยากลำบาก มีงานวิจัยพบว่าสารประกอบแคโรทีนสามารถช่วยป้องกันหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมได้ (Alves-Rodrigues และ Shao, 2004; Dachler และ คณะ, 2005; Olmedilla และคณะ, 2003)

ลูทีน (Lutein) เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ที่มีการสะสมอยู่ในบริเวณจุดรับภาพตรงกลางของจอประสาทตา (Macula) ลูทีนทำหน้าที่เป็นตัวกรองแสงสีฟ้าหรือสีน้ำเงินพลังงานสูงที่สามารถทำลายดวงตาได้ อีกทั้งยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันความเสียหายของเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีแสงเป็นตัวกระตุ้น ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ลูทีนขึ้นมาเองได้ จำเป็นต้องได้รับการบริโภคเท่านั้น ลูทีนพบมากในพืชผักที่มีสีเขียวเข้มหรือสีเหลืองส้มหลายชนิด เช่น ผักเคล บัวยฝรั่ง คะน้า หน่อไม้ฝรั่ง ฟักทองเทศ และแครอท เป็นต้น มีงานวิจัยพบว่าการรับประทานลูทีนปริมาณ 6 มิลลิกรัมต่อวัน สามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคจอประสาทตาอีกเสบได้ถึง 57% อย่างไรก็ตามประชากรส่วนใหญ่มักมีการบริโภคลูทีนในปริมาณที่ไม่เพียงพอโดยเฉพาะในผู้สูงอายุ เพื่อเป็นการเปิดช่องทางในการได้รับลูทีน อย่างเพียงพอ การผลิตผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอาหารที่มีการเติมลูทีน (Fortified food) หรืออาหารเสริมประเภทลูทีน (Supplement) จึงนับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

ลูทีนเป็นสารที่มีความเป็นไลโปฟิลิกสูง (Highly lipophilic) ไม่ละลายในน้ำ เป็นผลให้มีขีดจำกัดในการประยุกต์ใช้กับอาหารที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายของระบบ อีกทั้งลูทีนไม่ทนต่อแสงแดดและความร้อน การห่อหุ้มหรือเอนแคปซูลชัน (Encapsulation) ลูทีน จะสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัวในน้ำของลูทีน และสามารถปกป้องลูทีนต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ลูทีนที่มีในอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ในปริมาณที่ไม่มากนัก ดังนั้นการผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร น่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมลูทีนเข้าสู่ร่างกาย และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัวในน้ำของผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้นได้อีกด้วย

งานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษากการห่อหุ้มหรือเอนแคปซูลชันของลูทีน โดยเลือกใช้กระบวนการดีซอลเวชัน (Desolvation) เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ง่าย ไม่ซับซ้อน ไม่ใช้ความร้อน และสามารถผลิตเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ให้มีขนาดในระดับนาโนเมตรได้ มีการเลือกใช้ซินซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากข้าวโพดมาเป็นตัวห่อหุ้ม เนื่องจากซินมีคุณสมบัติขึ้นฟิล์มได้ดี และจะมีการเพิ่มความเสถียรและความสามารถในการกระจายตัวในน้ำของลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินโดยใช้โซเดียมเคซีเนตอีกชั้นหนึ่ง

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซินและอัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่ใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลชันลูทีนด้วยวิธีดีซอลเวชัน ที่มีต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลิตภัณฑ์ที่ได้ และการปลดปล่อยลูทีนจากผลิตภัณฑ์ในสภาวะจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง

1.2.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนของปริมาณลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนตและอัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่ใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลชันลูทีนด้วยวิธีดีซอลเวชัน ที่มีต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลิตภัณฑ์ที่ได้ และการปลดปล่อยลูทีนจากผลิตภัณฑ์ในสภาวะจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการมีการปกป้องสารสำคัญและต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัวในน้ำได้

1.3.2 สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้มีประสิทธิภาพในการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่สูงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 สังคมผู้สูงอายุ (Aged society)

ตามพระราชบัญญัติผู้สูงอายุ พ.ศ. 2546 มาตรา 3 ได้บัญญัติไว้ว่า ผู้สูงอายุ หมายถึง บุคคลที่มีอายุเกิน 60 ปี บริบูรณ์ขึ้นไปและมีสัญชาติไทย และในการเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุยังมีการแบ่งระดับชั้นของสังคมผู้สูงอายุตามร้อยละจำนวนประชากรของผู้สูงอายุเมื่อเทียบกับประชากรทั้งประเทศ โดยสังคมสูงอายุสามารถแบ่งตามร้อยละประชากรของผู้สูงอายุได้ดังนี้

2.1.1 สังคมกำลังเข้าสู่สังคมสูงอายุ (Aging society) หมายถึง ในสังคมนั้นมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของประชากรที่มีอายุเกินกว่า 60 ปีขึ้นไปอย่างต่อเนื่อง

2.1.2 สังคมสูงอายุ (Aged society) หมายถึง สังคมที่มีประชากรอายุเกินกว่า 60 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 10 หรือ เป็นสังคมที่มีประชากรอายุ 65 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 7 เมื่อเทียบกับจำนวนประชากรทั้งหมดในประเทศ

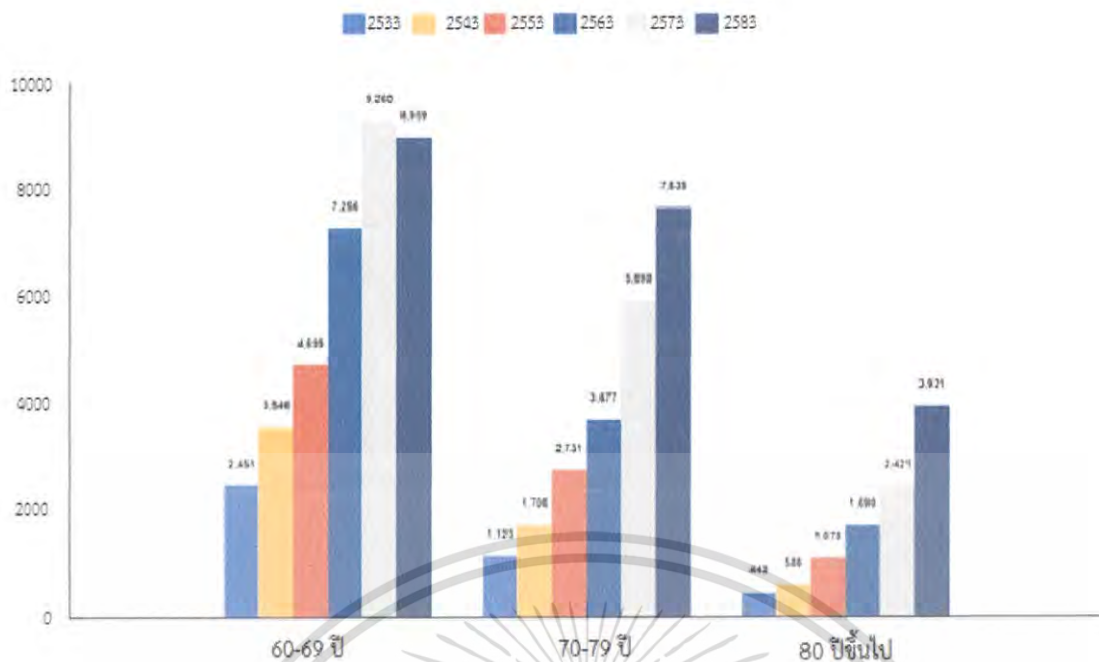
2.1.3 สังคมสูงอายุอย่างสมบูรณ์ (Completely aged society) หมายถึง สังคมที่มีประชากรอายุเกิน 60 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 20 หรือ สังคมที่มีประชากรอายุเกินกว่า 65 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 14 เมื่อเทียบกับประชากรทั้งหมดของประเทศ

2.1.4 สังคมสูงอายุระดับสุดยอด (Super aged society) หมายถึง สังคมที่มีประชากรอายุเกินกว่า 60 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 28 หรือ สังคมที่มีประชากรอายุเกินกว่า 65 ปีขึ้นไป เกินกว่าร้อยละ 20 เมื่อเทียบกับประชากรทั้งหมดของประเทศ (สำนักงานวิจัยและพัฒนาระบบงานบุคคล, 2561)

ในปัจจุบันโลกได้มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของผู้สูงอายุมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในปี 2017 ประชากรผู้สูงอายุทั่วโลกมีอยู่ 962 ล้านคน หรือคิดเป็นร้อยละ 13 ของประชากรโลก จึงกล่าวได้ว่าโลกได้เข้าสู่สังคมสูงอายุแล้ว (คณะกรรมการผู้สูงอายุแห่งชาติ, 2560)

ในปี 2561 ประเทศไทยมีประชากรผู้สูงอายุประมาณ 10 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 16 เมื่อเทียบกับประชากรของประเทศ และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในอนาคต (ภาพที่ 2.1) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าประเทศไทยเป็นสังคมสูงอายุ (กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



### ภาพที่ 2.1 สถิติที่เกี่ยวข้องกับประชากรผู้สูงอายุ

ที่มา: สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ (2559)

สิ่งที่น่าเป็นห่วงในสังคมสูงอายุคือ สุขภาพของผู้สูงอายุส่วนมากมักเป็นโรคที่ไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคเบาหวาน โรคความดัน และโรคมะเร็ง เป็นต้น ซึ่งโรคเหล่านี้มักเกิดจากพฤติกรรมที่ไม่เหมาะสมตั้งแต่ช่วงอายุก่อนที่จะเข้าสู่วัยสูงอายุ เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ หรือการขาดการดูแลสุขภาพอย่างสม่ำเสมอ เป็นต้น จากการสำรวจสุขภาพโดยรวมของผู้สูงอายุในปี พ.ศ. 2545 พบว่าผู้สูงอายุให้การประเมินสุขภาพของตนว่ามีสุขภาพไม่ดีไปจนถึงไม่ดีมากอยู่ร้อยละ 24.5 และในปี พ.ศ. 2560 พบว่าผู้สูงอายุได้ทำการประเมินสุขภาพของตนว่าสุขภาพไม่ดีไปจนถึงไม่ดีมากลดลง เหลือร้อยละ 15 จึงกล่าวได้ว่าผู้สูงอายุมีแนวโน้มที่มีสุขภาพดีขึ้น

แต่ในช่วง 15 ปีที่ผ่านมากลับพบว่า ผู้สูงอายุที่มีปัญหาจากโรคเบาหวานและความดันโลหิตสูงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2560 มีผู้สูงอายุที่ป่วยที่มีปัญหาจากโรคความดันโลหิตอยู่ร้อยละ 33.6 และมีผู้สูงอายุที่มีปัญหาจากโรคเบาหวานอยู่ร้อยละ 16.5 นั่นคือมีผู้สูงอายุป่วยเป็นโรคเหล่านี้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปี พ.ศ. 2545 เนื่องจากในปัจจุบันผู้สูงอายุมีแนวโน้มการออกกำลังกายลดลง รวมถึงการมีพฤติกรรมกรกินที่ไม่เหมาะสมร่วมด้วย

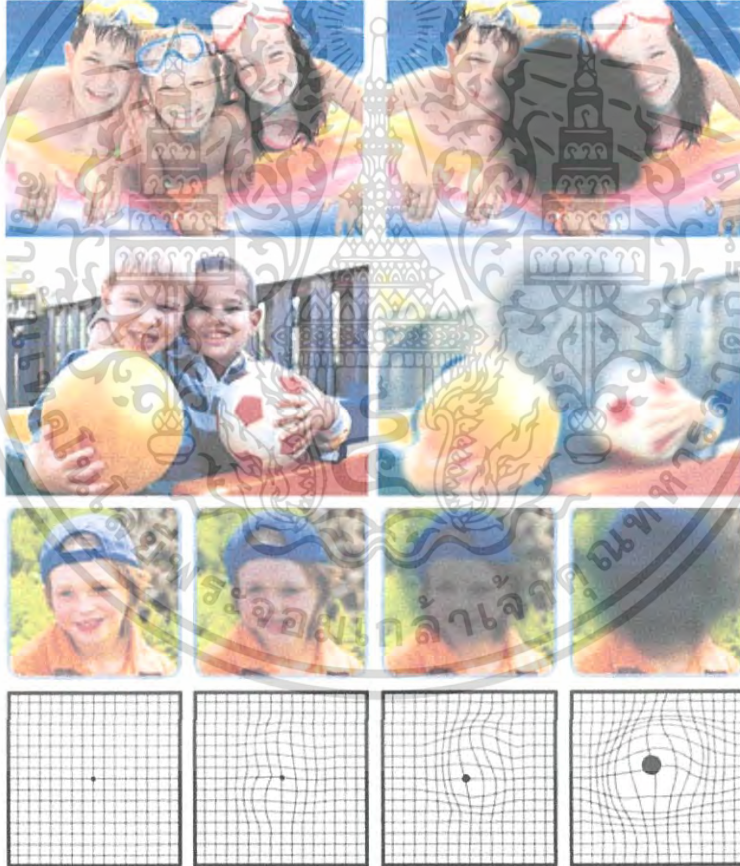
นอกจากนี้ผู้สูงอายุในปี พ.ศ. 2560 เมื่อพิจารณาตามกลุ่มอายุพบว่าผู้สูงอายุมีแนวโน้มในการมองเห็นที่แยลง (คณะกรรมการผู้สูงอายุแห่งชาติ, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 โรคจอประสาทตาเสื่อม (Age-related macular degeneration, AMD)

อรทัย (2562) ได้กล่าวไว้ว่า โรคจอประสาทตาเสื่อมเป็นโรคที่มักพบในผู้สูงอายุที่มีอายุมากกว่า 50 ปี ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการสูญเสียการมองเห็นได้อย่างถาวร และเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ เนื่องจากยังไม่ทราบสาเหตุที่เกิดโรคอย่างแน่ชัด แต่ทราบถึงลักษณะอาการของโรค ซึ่งสามารถตรวจวินิจฉัยและทำการรักษาได้เร็วขึ้นตั้งแต่ระยะแรก

สาเหตุของการสูญเสียการมองเห็นเกิดจากการเสื่อมที่บริเวณจุดศูนย์กลางของจอประสาทตา (macula) ซึ่งจุดศูนย์กลางจอประสาทตาเป็นพื้นที่ที่ไวต่อแสง ทำหน้าที่เกี่ยวกับการมองเห็นภาพตรงกลางของลานสายตา ให้ความละเอียดและความชัดของภาพที่มองเห็นมากที่สุดเมื่อเทียบกับบริเวณอื่นๆของจอประสาทตา การเกิดการเสื่อมของบริเวณจุดศูนย์กลางจอประสาทตาทำให้เกิดลักษณะการมองเห็นที่ผิดปกติ เช่น มองเห็นภาพไม่ชัด เห็นเส้นตรงกลายเป็นคลื่นหรือเกิดการบิดเบี้ยวของเส้น หรือมีจุดดำเกิดขึ้น (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 อาการของโรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อม  
ที่มา: Medthai (2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อมมีหลากหลาย เช่น อายุที่มากขึ้น เชื้อชาติ การสูบบุหรี่ ความดันโลหิตสูง หรือดวงตาได้รับแสงแดดโดยตรง เป็นต้น ซึ่งการเกิดโรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อมจำแนกได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.2.1 โรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อมชนิดแห้ง (Dry AMD หรือ Early AMD) เป็นชนิดที่พบได้มากที่สุดในช่วงเริ่มต้น หรือขั้นปานกลาง ซึ่งพบได้ประมาณ 85-90% ในผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้อาการในขั้นนี้จะทำให้ผู้ป่วยมีความสามารถในการมองเห็นลดลงอย่างช้าๆ ศูนย์กลางการมองเห็นเกิดการเสื่อมสลายและบางลงจากกระบวนการเสื่อมตามอายุ โดยไม่มีรอยแผลหรือมีเลือดออก

2.2.2 โรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อมชนิดเปียก (Wet AMD หรือ Late AMD) เป็นชนิดที่พบได้น้อยกว่าชนิดแห้ง คือพบประมาณ 10-15% ในผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้อาการมีความรุนแรงน้อยกว่า ผู้ป่วยส่วนมากมักมีศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อมชนิดแห้งนำมาก่อนจึงมักมีอาการฉับพลันและรุนแรง และอาจเป็นสาเหตุของตาบอดได้ พบว่าการบางลงของจอประสาทตา ทำให้หลอดเลือดเกิดการแตก เปราะ และเกิดการรั่วซึมได้ง่าย ทำให้มีเลือดและของเหลวคั่งอยู่ภายในจอประสาทตา เกิดเป็นจุดบวมชัดเจน และเกิดการทำลายที่บริเวณจอประสาทตาอย่างรวดเร็ว และอาจทำให้เกิดแผลที่จอประสาทตาได้ ดังภาพที่ 2.3 (ศักดิ์ชัย, 2559)



ภาพที่ 2.3 ชนิดของการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อม ดวงตาปกติ (ซ้าย) โรคจอประสาทตาเสื่อมชนิดแห้ง (กลาง) และโรคจอประสาทตาเสื่อมชนิดเปียก (ขวา)

ที่มา: Medthai (2560)

ถึงแม้สาเหตุการเกิดของโรคยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัด แต่เราสามารถป้องกันการเกิดโรคนี้ได้ด้วยการรับการรักษาตรวจดวงตาเป็นประจำ หมั่นออกกำลังกาย และรักษาน้ำหนักให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน หลีกเลี่ยงปัจจัยที่เร่งให้เกิดโรค เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ หลีกเลี่ยงการได้รับแสงแดด หรือรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) โดยตรง เป็นต้น และควรรับประทานอาหารให้ครบ 5 หมู่ โดยเฉพาะกลุ่มที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ผักใบเขียวและผลไม้ต่างๆ ที่สำคัญควรเน้นรับประทานอาหารที่มีเบต้าแคโรทีน และอาหารที่มีลูทีน (Lutein) อยู่สูง เช่น ผักคะน้า ผักกาดแก้ว ผักโขม บร็อคโคลี ข้าวโพด ฟักทอง พริก แอปเปิล ส้ม มะม่วง องุ่น และไข่แดง เป็นต้น (วิมล, 2559)

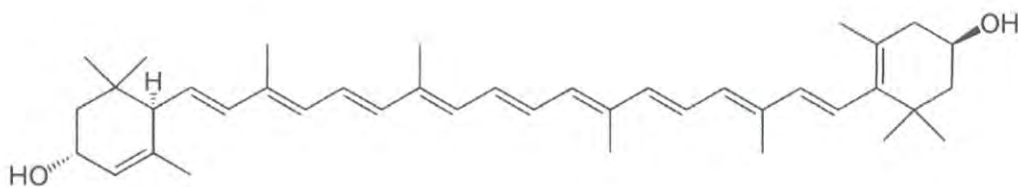
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 ลูทีน (Lutein)

ลูทีน เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ประเภทแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) ที่สะสมอยู่บริเวณศูนย์กลางการมองเห็นในเรตินาของมนุษย์และสัตว์ มีบทบาทสำคัญในป้องกันความเสียหายของเซลล์เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีแสงเป็นตัวกระตุ้น (Mitri และคณะ, 2011) เมื่อแสงผ่านกระจกดวงตา (Cornea) และแก้วตา (Lens) โดยกระจกตาจะช่วยกรองแสงยูวีบางส่วนไว้ได้ แต่แสงส่วนใหญ่ที่เหลือจะถูกส่งผ่านไปยังจอประสาทตา (Retina) และคลื่นแสงที่มีพลังงานสูงจะมีผลเหนี่ยวนำทำให้เกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระในเซลล์ของจอประสาทตาได้สูงถึง 100 เท่าของคลื่นที่มีพลังงานต่ำ ลูทีนที่สะสมอยู่บริเวณศูนย์กลางจอประสาทตา (Macula) จะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่จะช่วยป้องกันเซลล์รับแสง (Photoreceptor cells) จากอันตรายของสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ยังพบว่าลูทีนสามารถช่วยกรองแสงสีฟ้าให้ลดลงได้ถึง 40% (วิมล, 2559) ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการปกป้องดวงตาของลูทีนอย่างแพร่หลาย และพบว่าการเพิ่มขึ้นของลูทีนบริเวณศูนย์กลางการมองเห็นในเรตินา มีบทบาทสามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเป็นโรคทางสายตาได้ อีกทั้งยังสามารถช่วยลดความเสี่ยงการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และป้องกันการเกิดโรคมะเร็งผิวหนัง (Alves-Rodrigues และ Shao, 2004) และยังพบว่าลูทีนมีผลเกี่ยวกับระบบเซลล์ในสมอง รวมถึงมีส่วนช่วยในการพัฒนาระบบประสาทและดวงตาของตัวอ่อนทารกในครรภ์อีกด้วย (Steiner และคณะ, 2018) อย่างไรก็ตามในร่างกายนมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ลูทีนได้ จึงต้องได้รับลูทีนจากการรับประทานเท่านั้น ซึ่งลูทีนสามารถพบได้ในอาหารประเภทผลไม้ ผัก ดอกไม้ และสาหร่ายบางชนิด เช่น ผักคะน้า (สุก) มีปริมาณลูทีนอยู่ 15.8 มิลลิกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม ผักปวยเล้ง (สุก) มีลูทีนอยู่ 7.1 มิลลิกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม และผักกาดแก้ว มีลูทีนอยู่ 2.6 มิลลิกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม เป็นต้น (วิมล, 2559) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่าการบริโภคลูทีนปริมาณ 6 มิลลิกรัมต่อวัน มีผลช่วยลดการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมได้ถึง 57% ดังนั้นอาจจำเป็นต้องมีการรับประทานเพิ่มในรูปแบบของอาหารเสริมประเภทลูทีน หรืออาหารที่มีการเติมลูทีนเพื่อให้ร่างกายได้รับลูทีนที่เพียงพอต่อการป้องกันโรค (Deli และคณะ, 2003; Tsuchida และคณะ, 2004; Alves-Rodrigues และ Shao, 2004)

อย่างไรก็ตามลูทีนมีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูง เนื่องจากโครงสร้างของลูทีนมีพันธะคู่อยู่มาก (ภาพที่ 2.4) จึงทำให้ลูทีนไม่ละลายในน้ำ และมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ต่ำ (Hu และคณะ, 2012) นอกจากนี้ลูทีนยังมีความไวต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น แสงและความร้อน เป็นต้น ทำให้ลูทีนมีแนวโน้มที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเกิดการเสื่อมสลายตัวได้ง่าย ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนสีของลูทีนทำให้มีสีที่อ่อนลง และการสูญเสียคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Steiner และคณะ, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของลูทีน

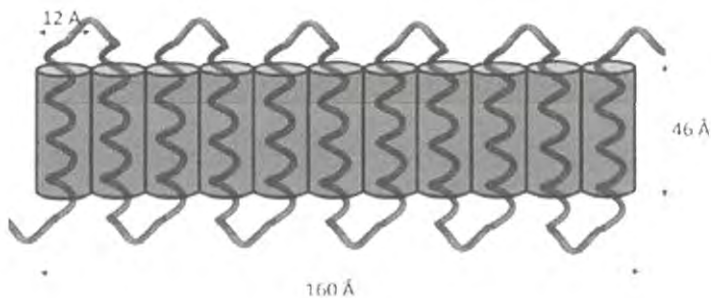
ที่มา: Steiner และคณะ (2018)

## 2.4 ซีน (Zein)

ซีนเป็นโปรตีนที่พบในข้าวโพด ซีนมีความสามารถในการเกิดฟิล์มได้ดี จึงถูกนำมาใช้ในการเคลือบยา และลูกอม (Shukla และ Cheryan, 2001) จึงได้มีการศึกษานำซีนมาใช้ประโยชน์ในการผลิตฟิล์มสามารถบริโภคได้ (Edible film) รวมถึงการใช้ประโยชน์ในการเป็นตัวห่อหุ้มสารจำพวกไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) ในกระบวนการเอนแคปซูเลชัน

โมเลกุลของซีนมีคุณสมบัติเป็นแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) คือมีทั้งส่วนชอบน้ำ (Hydrophilic) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เป็นโครงสร้างของโมเลกุล (ภาพที่ 2.5) คุณสมบัติแอมฟิฟิลิกของโมเลกุลเป็นแรงขับเคลื่อนให้โมเลกุลของซีนเกิดการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบได้ด้วยตนเอง (Self-assemble) (Wang และ Padua, 2010) ซีนสามารถละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60-95 ซึ่งระดับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซีนมีผลโดยตรงต่อขนาดอนุภาคของซีนที่ได้รับในสารละลายนั้นๆ (Kim และ Xu, 2008; Shukla และ Cheryan, 2001) และความเข้มข้นของซีนในสารละลายเอทานอล จะส่งผลให้ซีนมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างทางกายภาพที่แตกต่างกัน เช่น ซีนอาจจะขึ้นรูปเป็นทรงกลม หรือ ฟิล์ม (Sphere or Film) ก็ได้ (ภาพที่ 2.6) (Wang และ Padua, 2010) ซีนมีจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point) อยู่ที่เอช (pH) ประมาณ 6.2 ส่งผลให้ซีนไม่เสถียรและมีแนวโน้มที่จะรวมตัวได้ง่ายในสารละลายที่มีพีเอชเป็นกลาง (Paliwal และ Palakurthi, 2014) ทำให้ซีนมีความสามารถในการละลายน้ำได้ต่ำ ทำให้ซีนมีข้อจำกัดในการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลของซีน  
ที่มา: Paliwal และ Palakurthi (2014)



ภาพที่ 2.6 ซีนในรูปแบบฟิล์ม  
ที่มา: Anderson และคณะ (2012)

## 2.5 โซเดียมเคซีเนต (Sodium caseinate)

เคซีน เป็นโปรตีนหลักในนม ที่มีคุณสมบัติแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีส่วนไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถแยกได้เป็นชนิด  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-,  $\beta$ - และ  $\kappa$ -casein ขึ้นกับโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุล

โซเดียมเคซีเนต ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ผลิตโดยการทำให้เคซีนเป็นกลางและทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) ซึ่งโซเดียมเคซีเนตถูกนำมาใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) และตัวขนส่งสาร (Carrier) ในอุตสาหกรรมอาหารและยา เนื่องจากโซเดียมเคซีเนตมีกิจกรรมพื้นผิว (Surface activity) ที่ดีสามารถเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบได้ด้วยตัวเอง (Self-Assembly) และมีราคาที่ไม่แพงมาก ทั้งนี้ในงานวิจัยต่างๆ ก็ได้มีการนำโซเดียมเคซีเนตมาใช้เป็นตัวห่อหุ้มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น เคอร์คิวมิน ไทมอล และเบต้าแคโรทีน ที่มีความสามารถในการละลายต่ำ ความคงตัวและการดูดซึมทางชีวภาพ เพื่อเพิ่มความคงตัว และเพิ่มการดูดซึมของสารเหล่านั้นเข้าสู่ร่างกายได้ (Li และคณะ, 2018) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 กระบวนการเอนแคปซูลชัน (Encapsulation)

เอนแคปซูลชัน เป็นเทคนิคที่นำมาใช้และมีการศึกษาอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการปกป้องสารที่มีความไวต่อสภาพแวดล้อมภายนอก เช่น แสงแดดและออกซิเจน จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาสารต่างๆ และสามารถควบคุมการทำงานและการปลดปล่อยของสารในบริเวณที่เหมาะสม (Reineccius, 1991; Tari และ Singhal, 2002) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับยังมีความง่ายต่อการนำไปใช้งานมากขึ้นด้วย เช่น การเปลี่ยนสารที่เป็นของเหลวให้อยู่ในรูปแคปซูลที่เป็นของแข็ง จะเป็นการเพิ่มความสะดวกแก่การนำไปผสมกับสารอื่น เป็นต้น

ในกระบวนการเอนแคปซูลชัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจะอยู่ในลักษณะของแคปซูล (Capsule) โดยแคปซูลจะประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ สารสำคัญที่บรรจุอยู่ภายในแคปซูล ซึ่งเรียกว่า คอร์ (Core) และผนังที่ห่อหุ้มซึ่งอยู่รอบนอกสารสำคัญ เรียกว่า วอลล์ (Wall) หรือ เซลล์ (Shell)

รูปแบบของแคปซูล มี 2 รูปแบบใหญ่ๆ ดังเช่นภาพที่ 2.7 คือ

- (1) คอร์ทั้งหมดจะถูกห่อหุ้มด้วยเซลล์ (Core-Shell-Encapsulation)
- (2) คอร์กระจายตัวอยู่ภายในสารที่เป็นเซลล์ (Matrix-Encapsulation)



ภาพที่ 2.7 รูปแบบของเอนแคปซูลชัน

### 2.6.1 ดีซอลเวชัน (Desolvation)

กระบวนการดีซอลเวชัน สามารถเกิดขึ้นได้ด้วยการเพิ่มตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง เช่น เอทานอล หรืออะซิโตน ผสมลงในสารละลายที่มีพอลิเมอร์กระจายตัวอยู่ ทำให้สมบัติการละลายของพอลิเมอร์เปลี่ยนไป เหนียวน้ำให้พอลิเมอร์ (Polymers) ที่กระจายอยู่ในตัวทำละลายเกิดการจับกัน การรวมตัวกันของพอลิเมอร์อาจเกิดขึ้นจากการยึดกันด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าของโมเลกุล (Electrostatic interaction) เนื่องจากพลังงานโดยรวมในระบบจะลดลงขณะที่ทำการลดการละลายที่กระตุ้นให้โมเลกุลของพอลิเมอร์หันมาจับกันเอง อนุภาคที่ได้จะมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันขึ้นกับสภาวะที่ใช้ในการเตรียมอนุภาค ด้วยเหตุนี้ ในการสร้างอนุภาคจึงจำเป็นต้องมีความสมดุลระหว่างแรงดึงดูดและแรงผลักร เพื่อให้ได้ขนาดที่เหมาะสมของอนุภาค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 เทคนิค Dynamic light scattering (DLS)

### 2.7.1 หลักการ

Dynamic light scattering (DLS) เป็นวิธีการวัดการกระเพื่อมของความเข้มแสง (Photo Correlation Spectroscopy, PCS) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้วัดขนาดอนุภาคของสารตัวอย่างในระดับนาโนเมตร ได้ตั้งแต่ 0.005–5 ไมโครเมตร โดยอาศัยการตรวจวัดความถี่ของการกระเพื่อมขึ้นและลงของความเข้มแสง ในขณะที่ขนาดของอนุภาคสามารถหาได้จากนำค่าความถี่ มาคำนวณในสมการสโตกส์และไอสไตน์ (Stokes-Einstein equation) ด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่ง (Translational diffusion coefficient, DT) ของอนุภาคซึ่งจะสัมพันธ์กับขนาดของอนุภาค

การเคลื่อนที่ของอนุภาคตลอดเวลาแบบบราวน์เนียน (Brownian motion) จะส่งผลกระทบต่อความเข้มของแสงที่กระเจิงจากอนุภาค ซึ่งอนุภาคที่มีขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่ได้ช้า ทำให้เกิดการรวมกันในการกระเพื่อมขึ้นและลงของแสงที่กระเจิงต่ำ และอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่า จึงเกิดความถี่ในการกระเพื่อมของแสงที่กระเจิงสูงกว่า ดังนั้นสัญญาณที่ได้จากการวัดความเข้มแสง และความถี่ในการกระเพื่อมจากอัตราการเปลี่ยนแปลงของแสงที่กระเจิง สามารถนำไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่งและขนาดอนุภาคต่อไป ข้อจำกัดของเทคนิคนี้ก็คือ สารตัวอย่างต้องมีความเข้มข้นที่เจือจางอย่างเหมาะสม และต้องการความสะอาดที่สูง เนื่องจากการป้องกันการรบกวนจากการกระเจิงของอนุภาคฝุ่นหรือสิ่งสกปรก (ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2557)

### 2.7.2 ค่าศักย์ซีต้า (Zeta-potential: $\zeta$ )

ค่าศักย์ซีต้า คือ ค่าความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวอนุภาคกับศักย์ไฟฟ้าในสารละลาย ซึ่งค่าศักย์ซีต้าสามารถใช้ทำนายค่าความคงตัวของการกระจายตัวของอนุภาคได้ อนุภาคที่มีค่าศักย์ซีต้าเป็นบวกหรือลบมาก จะเกิดการหักล้างต่อกัน ทำให้เกิดเสถียรภาพการกระจายตัว แต่ถ้าอนุภาคมีค่าศักย์ซีต้าเป็นบวกหรือลบน้อย ทำให้ไม่มีความสามารถในการป้องกันอนุภาคอื่นที่เข้ามา ดังนั้นจึงไม่เกิดเสถียรภาพในการกระจายตัวหรือเกิดการรวมกัน ค่าศักย์ซีต้าจะขึ้นกับค่าพีเอช ซึ่งอนุภาคแขวนลอยจะเสถียรเมื่อมีค่าศักย์ซีต้ามากกว่า +30 มิลลิโวลต์ หรือ น้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ ถ้าค่าศักย์ซีต้ามีค่าอยู่ในช่วง -30 ถึง +30 มิลลิโวลต์ หรือเป็นศูนย์ สารแขวนลอยจะไม่เสถียร จะมีการเกาะตัวกันเป็นก้อนและตกตะกอน โดยเรียกจุดที่ศักย์ซีต้ามีค่าเท่ากับศูนย์ว่า Isoelectric point (ยูวพร, 2554)

## 2.8 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) สามารถใช้ในการศึกษาลักษณะผิวของตัวอย่าง ซึ่งภาพที่ได้จากกล้องชนิดนี้จะเป็นภาพที่มีระยะลึกสูง เสมือนภาพ 3 มิติ โดยหลักการทำงานของเครื่องมือนี้ เริ่มจากแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนปล่อยอิเล็กตรอนปฐมภูมิ (Primary electron) ออกมา อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเร่งด้วยศักย์ไฟฟ้ากำลังสูง จากนั้นจะถูกส่งไปยังด้านล่างโดยมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นแอโนด (Anode plate) ภายใต้สภาวะสุญญากาศ และมีชุดเลนส์คอนเดนเซอร์ช่วยปรับลำอิเล็กตรอนให้มีขนาดเล็กลง เพื่อเป็นการเพิ่มความเข้มให้กับลำอิเล็กตรอน จากนั้นลำอิเล็กตรอนจะวิ่งผ่านเลนส์วัตถุที่ทำหน้าที่ปรับลำอิเล็กตรอนปฐมภูมิให้มีจุดโฟกัสบนผิววัตถุดี โดยมีชุดขดลวดควบคุม (Scan coil) ทำหน้าที่ควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของลำอิเล็กตรอนบนพื้นผิวตัวอย่าง ขณะที่ลำอิเล็กตรอนกระทบผิวตัวอย่างจะเกิดอันตรกิริยาระหว่างอิเล็กตรอนปฐมภูมิกับอะตอมของธาตุในวัตถุ และเกิดการถ่ายเทพลังงานที่ขึ้นความลึกจากพื้นผิวที่ระดับต่างๆ ทำให้เกิดการปลดปล่อยสัญญาณอิเล็กตรอนชนิดต่างๆ ออกมา ซึ่งอันตรกิริยาระหว่างอิเล็กตรอนกับวัตถุ จะทำให้เกิดสัญญาณภาพจากอิเล็กตรอนทุติยภูมิ สัญญาณภาพจากอิเล็กตรอนกระเจิงกลับ หรือสัญญาณภาพจากรังสีเอกซ์ โดยสัญญาณอิเล็กตรอนจะถูกตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ตรวจจับ (Detector) และมีการประมวลผลข้อมูลออกมา ซึ่งแต่ละเครื่องอาจมีอุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณอิเล็กตรอนที่แตกต่าง (อัจฉราพร, 2559)

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Patel และคณะ (2010a) ได้ทำการทดลองห่อหุ้มเคอร์คิวมันด้วยซิน และพบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มเคอร์คิวมันแปรผันตามอัตราส่วนของซินต่อเคอร์คิวมัน โดยเมื่อสัดส่วนของซินที่ใช้มีปริมาณที่ลดลง จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มเคอร์คิวมันลดลง อนุภาคที่ได้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น เนื่องจากซินไม่สามารถห่อหุ้มเคอร์คิวมันได้หมด ทำให้เคอร์คิวมันเกิดการรวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่

Patel และคณะ (2010b) ได้ทำการทดลองนำโซเดียมเคซีเนตซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์มา ผสมกับซิน เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการกระจายตัวในน้ำของซิน จากการศึกษาพบว่า ซินมีขนาดอนุภาค  $147 \pm 20$  นาโนเมตร เมื่อทำการเติมโซเดียมเคซีเนตจะทำให้อนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กลงเป็น  $124 \pm 32$  นาโนเมตร โดยการผสมโซเดียมเคซีเนตลงในซิน ทำให้อนุภาคที่เกิดขึ้นมีความเสถียรมากขึ้นได้ โดยค่าศักย์ซีต้า (พีเอช 7) ของอนุภาคซินมีค่าเท่ากับ  $-15$  มิลลิโวลต์ ค่าศักย์ซีต้าของโซเดียมเคซีเนตมีค่าเท่ากับ  $+40$  มิลลิโวลต์ และค่าศักย์ของอนุภาคซินผสมกับโซเดียมเคซีเนตมีค่าเท่ากับ  $+34$  มิลลิโวลต์ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope) พบว่าอนุภาคของซินที่ผสมกับโซเดียมเคซีเนตมีรูปร่างเป็นทรงกลม ผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการกระจายตัวในน้ำของซินสามารถปรับปรุงได้ด้วยการผสมอิมัลซิไฟเออร์บางชนิด เช่น โซเดียมเคซีเนต ลงไปในระบบ

Li และคณะ (2013) ได้ทำการทดลองการห่อหุ้มไทมอลด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต โดยในการทดลองจะทำการศึกษาผลของปริมาณไทมอลต่อซิน และปริมาณโซเดียมเคซีเนตที่ใช้ ต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้ม ตัวอย่าง และการปลดปล่อยไทมอล จากผลการทดลองพบว่า ความเร็วในการเทสสารละลายโซเดียมเคซีเนตลงไปผสมกับไทมอลและซิน มีผลต่อขนาดอนุภาคของผลิตภัณฑ์ที่ได้รับ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้รับมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 50 นาโนเมตร จากการผสมแบบเร็ว (1 วินาที) และมีขนาดใหญ่ขึ้นเป็น 300 นาโนเมตร จากการผสมด้วยความเร็วแบบปานกลาง (6 วินาที) และมีขนาดใหญ่สุดถึงประมาณ 1000 นาโนเมตร ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มไทมอล พบว่าค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มจะมีค่าลดลง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากร้อยละ 96 ไปเป็นร้อยละ 77-84 เมื่อปริมาณโหมอลเพิ่มขึ้นจาก 0.1 ไปเป็น 0.2-0.4 กรัมต่อกรัม ซึ่งอาจเกิดจากเมื่อปริมาณโหมอลเพิ่มขึ้น อัตราส่วนระหว่างซินและโซเดียมเคซีเนตไม่เพียงพอที่จะห่อหุ้มโหมอล ทำให้มีโหมอลที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มเกาะที่ผิวของอนุภาค จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) พบว่าอนุภาคของโหมอลที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต และอนุภาคของซินและโซเดียมเคซีเนตที่ไม่ได้ห่อหุ้มโหมอล มีลักษณะทรงกลมเรียงติดกันเป็นแผ่น และการศึกษาการปลดปล่อยโหมอลจากอนุภาคนาโนของซินและโซเดียมเคซีเนต พบว่าตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการห่อหุ้มโหมอลที่ต่ำ (ปริมาณโหมอลอิสระสูง) จะเกิดการปลดปล่อยโหมอลแบบพุ่งพรู (Burst effect) ขึ้นมาก่อน ตามมาด้วยการปลดปล่อยโหมอลแบบช้าลง (Slower release) โดยเมื่ออัตราส่วนโหมอลต่อซินที่มีค่าเพิ่มขึ้น ปริมาณการปลดปล่อยโหมอลก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

Feng และ Lee (2016) ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้อนุภาคซินผสมกับโซเดียมเคซีเนต ในการเพิ่มความเสถียรของอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ ทำการเตรียมอิมัลชันโดยเติมน้ำมันคาโนลาลงในสารละลายซิน ซึ่งพบว่าเกิดการรวมตัวกันเป็นกระจุกอย่างไม่ต่อเนื่องของซินบริเวณพื้นผิวน้ำมัน เมื่อเติมโซเดียมเคซีเนตลงไปปริมาณที่เพียงพอ พบการเปลี่ยนแปลงบริเวณพื้นผิวน้ำมัน โดยตัวห่อหุ้ม (ซินและโซเดียมเคซีเนต) ทำการเคลือบน้ำมันไว้อย่างต่อเนื่อง มีลักษณะพื้นผิวที่ดูเรียบและเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งอาจเกิดจากโซเดียมเคซีเนตไปขัดขวางการรวมกันเองของซิน และทำให้เกิดการกระจายตัวของโมเลกุลโพรตีนเพื่อมาล้อมรอบไขมันได้ดีขึ้น ทำให้ระบบอิมัลชันมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น

Sun และคณะ (2017) ได้ทำการทดลองการห่อหุ้มเคอร์คิวมินด้วยซินและเซลแล็กโดยใช้วิธีการตกตะกอนด้วยตัวตัวการละลาย (Anti-solvent co-precipitation method) ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณเคอร์คิวมินมีผลต่อขนาดอนุภาค เมื่อมีปริมาณเคอร์คิวมินเพิ่มขึ้น ขนาดของอนุภาคก็จะเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากปริมาณเคอร์คิวมินที่มากเกินไป อาจจะทำให้เคอร์คิวมินที่เหลือไปอยู่ที่ผิวของอนุภาคและทำให้อนุภาคมาเกาะกลุ่มกัน ทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น อีกทั้งปริมาณของเคอร์คิวมินยังมีผลต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้ม โดยเมื่อปริมาณของเคอร์คิวมินเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเคอร์คิวมินจะมีค่าลดลงด้วย อาจเนื่องมาจากปริมาณของเคอร์คิวมินที่มากเกินไป ทำให้ตัวห่อหุ้มไม่สามารถไปห่อหุ้มเคอร์คิวมินไว้ได้หมด ผลจากการศึกษาการปลดปล่อยเคอร์คิวมินในสารละลายบัฟเฟอร์ Phosphate buffered saline (PBS) พบว่า อนุภาคเคอร์คิวมินที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและเซลแล็ก ในอัตราส่วนของซินต่อเซลแล็ก เท่ากับ 1 ต่อ 2 จะมีการปลดปล่อยเคอร์คิวมิน ออกมาได้มากที่สุด อาจเนื่องมาจากการยึดเกาะกันระหว่างโมเลกุลซินและเซลแล็กที่อัตราส่วนนี้ ทำให้เกิดโครงสร้างของอนุภาคที่หลวม จึงปลดปล่อยสารออกมาได้ง่าย

Dai และคณะ (2018) ได้ทำการทดลองห่อหุ้มเคอร์คิวมินด้วยซินและแรมโนลิพิดโดยใช้วิธีการตกตะกอนด้วยตัวตัวการละลาย (Anti-solvent co-precipitation method) ผลการศึกษาพบว่า ขนาดอนุภาคของเคอร์คิวมินที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและแรมโนลิพิด จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมแรมโนลิพิดลงไปร่วมกับซิน แต่เมื่อเติมแรมโนลิพิดในปริมาณที่มากขึ้นเรื่อยๆ จะส่งผลให้ขนาดอนุภาคตัวอย่างที่ได้มีค่าลดลง เนื่องจากแรมโนลิพิดในปริมาณที่สูงนี้จะห่อหุ้มที่พื้นผิวของอนุภาคเคอร์คิวมินและป้องกันไม่ให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน และยังมีผลทำให้ค่าศักย์ซีต้าของตัวอย่างเปลี่ยนจากประจุบวกไปเป็นประจุลบ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกทั้งประสิทธิภาพการห่อหุ้มเคอร์คิวมินก็มีค่าเพิ่มจากร้อยละ 17.64 ของตัวอย่างเคอร์คิวมินที่ถูกห่อหุ้มด้วยซิน เป็นร้อยละ 98.05 ของตัวอย่างเคอร์คิวมินที่มีการห่อหุ้มด้วยซินและแรมโนลิพิด ซึ่งอาจเกิดจากการทำงานร่วมกัน (Synergistic effect) ระหว่างซินและแรมโนลิพิดทำให้เกิดการส่งเสริมความสามารถในการห่อหุ้มสารสำคัญได้ดีขึ้น ผลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคเคอร์คิวมินถูกห่อหุ้มด้วยซิน พบว่าอนุภาคมีรูปร่างเป็นทรงกลมเรียงติดกันแต่ยังมีช่องว่างเล็กน้อย แต่เมื่อมีการเติมแรมโนลิพิดเข้าไปด้วย จะเห็นลักษณะของอนุภาคเป็นทรงกลมที่เรียงติดกันแน่นขึ้น และผลจากการศึกษาการปลดปล่อยเคอร์คิวมินจากตัวอย่างภายใต้สภาวะจำลองการย่อยอาหาร พบว่า ตัวอย่างจะมีการปลดปล่อยเคอร์คิวมินออกมาในปริมาณไม่เกินร้อยละ 25 ในระบบจำลองการย่อยที่กระเพาะอาหาร (ที่เวลา 90 นาทีแรก) และหลังจากนั้นจะมีการปลดปล่อยที่เพิ่มมากขึ้นในระบบจำลองการย่อยที่ลำไส้เล็ก โดยตัวอย่างที่มีแรมโนลิพิดเป็นส่วนประกอบจะมีการปลดปล่อยเคอร์คิวมินออกมาได้มากกว่าตัวอย่างอื่นๆ อาจเกิดเนื่องจากแรมโนลิพิดเกิดการย่อยได้ดีในสภาวะการย่อยที่ลำไส้เล็ก ทำให้โครงสร้างตัวอย่างเกิดการเสียสภาพ ส่งผลให้เคอร์คิวมินถูกปลดปล่อยออกมาจากตัวอย่างได้ง่าย เมื่อเทียบกับเคอร์คิวมินที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินเพียงอย่างเดียวหรือเคอร์คิวมินอิสระ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

Lutein (Pharmaceutical Secondary Standard), Sigma-aldrich, U.S.A

Lutein 20% SAF, FloraGLO, France

Zein, Sigma-aldrich, U.S.A

Casein sodium salt from bovine milk, Sigma-aldrich, U.S.A

##### 3.1.2 สารเคมี

Ethanol absolute anhydrous, AR grade, Carlo erba, France

Ethyl acetate, 99.5%, AR/ACS grade, Loba chemie, India

Hydrochloric acid 1M, AR grade, RCI Labscan, Thailand

Potassium dihydrogen phosphate, ACS-ISO grade, Carlo erba, France

Sodium hydroxide 1M, AR grade, Thermo Fisher Scientific, Australia

Pepsin from porcine gastric mucosa, Sigma-aldrich, U.S.A

Pancreatin from porcine pancreas, Sigma-aldrich, U.S.A

Bile extract porcine, Sigma-aldrich, U.S.A

#### 3.2 อุปกรณ์

หลอดทดลอง: 16x150 mm, Pyrex, Mexico

ขวดแก้ว: 50mL, W948, Wellgrow glass industry, Thailand

บีกเกอร์: 25 mL, Simax, Germany

บีกเกอร์: 100 mL, Simax, Germany

บีกเกอร์: 250 mL, Simax, Germany

บีกเกอร์: 600 mL, Simax, Germany

บีกเกอร์: 1000 mL, Pyrex, Germany

ขวดดูแรน: 250 mL, Duran wheaton kimble, Germany

ขวดดูแรน: 1000 mL, Duran wheaton kimble, Germany

ขวดปรับปริมาตร: 10 mL, Schott, Germany

ขวดปรับปริมาตร: 100 mL, Herka intercolor, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขวดปรับปริมาตร: 500 mL, Schott, Germany  
 ขวดปรับปริมาตร: 1000 mL, Schott, Germany  
 ขวดรูปชมพู่: 250 mL, Pyrex, U.S.A  
 กระบอกตวง: 100 mL, Favorit, Malaysia  
 ไมโครปิเปต: 2-20  $\mu$ L, Pipetman, Gilson, France  
 ไมโครปิเปต: 20-200  $\mu$ L, Pipetman, Gilson, France  
 ไมโครปิเปต: 100-1000  $\mu$ L, Pipetman, Gilson, France  
 ไมโครปิเปต: 1-10 mL, Proline Plus, Finland  
 ภาชนะฟอยล์เหลี่ยม: (80x70)x(58x48)x30 mm, รุ่น 3340, Star product, Thailand  
 เครื่องเหวี่ยงแยก: 5804r, Eppendorf, Germany  
 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์: UV-1800, Shimadzu, Germany  
 อ่างส่งคลื่นความถี่สูง: E 100 H, Elma, Germany  
 เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer): C-MAG HS7, IKA, Germany  
 เครื่องเขย่าสาร: Vortex-genie 2, Scientific Industries, U.S.A  
 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง: S210, SevenCompact, Mettler toledo, Switzerland  
 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิและเครื่องเขย่า: WNB29, Memmert, Germany  
 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: EVO®HD, Carl Zeiss, Germany  
 Sputter coater: 108Auto, Cressington, UK  
 เครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและค้ำยซีต้า: NanoPlus, Particulate systems, U.S.A

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การห่อหุ้มลูทีนด้วยซีน

1. นำสารละลายลูทีนที่มีความเข้มข้น 4 มก/มล (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.1) ปริมาตร 10 มล (มีการเจือจางด้วยแอนไฮดรัสเอทานอล (Anhydrous ethanol) ในอัตราส่วนต่างๆ ตามตารางที่ 3.1) เทผสมลงในสารละลายซีนที่มีความเข้มข้น 2 มก/มล ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.2 และ ก.3) ปริมาตร 100 มล ในสภาวะที่มีการกวนด้วยเครื่องกวนที่ความแรงระดับ 2.5 เป็นเวลา 15 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ปริมาตรของสารละลายลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล และซิน ที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้ได้ ปริมาณลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนของ ลูทีน : ซิน (มก : มก)	ปริมาตร (มล)		ปริมาตรสารละลายซินในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 60-90 (มล)
	สารละลายลูทีน ในเอทานอล	แอนไฮดรัสเอทานอล	
1 : 25	2	8	100
1 : 50	1	9	100
1 : 75	0.665	9.335	100
1 : 100	0.5	9.5	100

2. นำส่วนผสมที่ได้เทลงภาตพอยล์ ในปริมาตรภาตละ 36 มล จากนั้นนำไปประเหยเอทานอล และน้ำออกภายใต้เครื่องดูดควัน (Hood) เป็นเวลา 1 คืน หรือจนกว่าตัวอย่างจะแห้ง

3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

### 3.3.2 การห่อหุ้มลูทีนด้วยโซเดียมเคซีเนต

1. นำสารละลายลูทีนที่มีความเข้มข้น 4 มก/มล (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.1) ปริมาตร 15 มล (มีการเจือจางด้วยแอนไฮดรัสเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ตามตารางที่ 3.2) เทผสมลงใน สารละลายโซเดียมเคซีเนต ที่มีความเข้มข้น 5 มก/มล (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.4) ปริมาตร 60 มล ในสภาวะที่มีการกวนด้วยเครื่องกวนที่ความแรงระดับ 2.5 เป็นเวลา 15 วินาที

ตารางที่ 3.2 ปริมาตรของสารละลายลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล และโซเดียมเคซีเนต ที่ใช้ในการผลิต เพื่อให้ปริมาณลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน ลูทีน : โซเดียมเคซีเนต (มก : มก)	ปริมาตร (มล)		ปริมาตรสารละลาย โซเดียมเคซีเนตในน้ำ (มล)
	สารละลายลูทีน ในเอทานอล	แอนไฮดรัสเอทานอล	
1 : 25	3	12	60
1 : 50	1.5	13.5	60
1 : 75	0.999	14.001	60
1 : 100	0.75	14.25	60

2. นำส่วนผสมที่ได้เทลงภาตพอยล์ ในปริมาตรภาตละ 36 มล จากนั้นนำไปประเหยน้ำและเอทานอลออกภายใต้เครื่องดูดควัน (Hood) เป็นเวลา 1 คืนหรือจนกว่าตัวอย่างจะแห้ง

3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3 การห่อหุ้มลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต

1 นำสารละลายลูทีนที่มีความเข้มข้น 4 มก/มล (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.1) ปริมาตร 5 มล (มีการเจือจางด้วยแอนไฮดรัสเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ตามตารางที่ 3.3) เทผสมลงในสารละลายซินที่มีความเข้มข้น 2 มก/มล ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.2 และ ก.3) ปริมาตร 50 มล ในสถานะที่มีการกวนด้วยเครื่องกวนที่ความแรงระดับ 2.5 เป็นเวลา 15 วินาที

2 เทสารละลายผสมลูทีนและซิน ลงในสารละลายโซเดียมเคซีเนต ที่มีความเข้มข้น 5 มก/มล (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.4) ปริมาตร 20 มล ในสถานะที่มีการกวนด้วยเครื่องกวนที่ความแรงระดับ 2.5 เป็นเวลา 15 วินาที

ตารางที่ 3.3 ปริมาตรของลูทีน แอนไฮดรัสเอทานอล ซิน และโซเดียมเคซีเนต ที่ใช้ในการผลิตเพื่อให้ปริมาณลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน

อัตราส่วน ลูทีน : ซิน : โซเดียมเคซีเนต (มก : มก : มก)	ปริมาณ (มล)		ปริมาณ สารละลายซิน (มล)	ปริมาณสารละลาย โซเดียมเคซีเนต (มล)
	สารละลาย ลูทีนในเอทานอล	แอนไฮดรัส เอทานอล		
1 : 25 : 25	1	4	50	20
1 : 50 : 50	0.5	4.5	50	20
1 : 75 : 75	0.333	4.667	50	20
1 : 100 : 100	0.25	4.75	50	20

3. นำส่วนผสมที่ได้เทลงภาตฟอยล์ ในปริมาตรภาตละ 36 มล จากนั้นนำไปประเหยน้ำและเอทานอลออกภายใต้เครื่องดูดควัน (Hood) เป็นเวลา 1 คืนหรือจนกว่าตัวอย่างจะแห้ง

4 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

### 3.3.4 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซิน โซเดียมเคซีเนต และซินร่วมกับโซเดียมเคซีเนต

1 นำตัวอย่างแห้ง 15 มก มาผสมเข้ากับแอนไฮดรัสเอทานอล ปริมาตร 10 มล ทำการ Vortex ส่วนผสม ด้วยความแรงระดับ 5 เป็นเวลา 3 นาที

2 นำส่วนผสมไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 15000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3 นำส่วนที่ใส (Supernatant) ที่มีลูทีนอิสระ (Free lutein) ละลายอยู่ ไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดยูวี แบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณลูทีนอิสระของตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐานลูทีนในแอนไฮดริสเอทานอล

$$\text{ประสิทธิภาพการเอนแคปซูล (%) = \frac{\text{ปริมาณลูทีนเริ่มต้น} - \text{ปริมาณลูทีนอิสระ}}{\text{ปริมาณลูทีนเริ่มต้น}} \times 100$$

3.3.5 การวิเคราะห์การปลดปล่อยลูทีนจากอนุภาคที่ห่อหุ้มโดยจำลองระบบการย่อยอาหารในหลอดทดลอง

ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์การศึกษาการปลดปล่อยลูทีน (Released lutein) ได้แก่ อนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินทีละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 และ 90 (อัตราส่วนลูทีนต่อซิน 1:100), อนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วนลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนต 1:100) และ อนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินทีละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 และ 90 ที่มีการห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตอีกชั้นหนึ่ง (อัตราส่วนลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนต 1:100:100)

1 นำตัวอย่างแห้ง 15 มก ผสมเข้ากับน้ำย่อยจำลองในระบบกระเพาะอาหาร (Simulated gastric fluid, SGF) (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ข.2) ที่มีพีเอชเท่ากับ 2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มล แล้วนำไปบ่มไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที โดยมีการเขย่าตัวอย่างอย่างต่อเนื่อง ด้วยความแรงระดับสูง

2 หลังจากเวลาผ่านไป 90 นาที จะทำการเติมน้ำย่อยจำลองในระบบลำไส้เล็ก (Simulated intestinal fluid, SIF) (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ข.3) ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มล ลงไปในตัวอย่าง และทำการบ่มตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยมีการเขย่าตัวอย่างอย่างต่อเนื่อง ด้วยความแรงระดับสูง

3 เก็บตัวอย่างในเวลานาทีที่ 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 และ 210 แล้วนำตัวอย่างที่ได้จากการบ่มในระยะเวลาต่างๆ นี้ มาปรับระดับพีเอช ให้เป็น 11 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 โมลาร์) เพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ใช้ในระบบจำลองการย่อยอาหาร

4 นำตัวอย่างที่ได้หลังจากปรับค่าพีเอช ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) เป็นเวลา 15 วินาที ด้วยความแรงระดับ 5 จากนั้นนำตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 15,000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5 เก็บส่วนใส (Supernatant) ปริมาตร 9 มล มาผสมกับเอทิลอะซิเตต ปริมาตร 9 มล (อัตราส่วนโดยปริมาตรของส่วนใสต่อเอทิลอะซิเตต เป็น 1:1) สำหรับตัวอย่างที่เก็บในเวลานาทีที่ 0, 30, 60 และ 90 และเก็บส่วนใส (Supernatant) ปริมาตร 10 มล มาผสมกับเอทิลอะซิเตต ปริมาตร 10 มล (อัตราส่วนโดยปริมาตรของส่วนใสต่อเอทิลอะซิเตต เป็น 1:1) สำหรับตัวอย่างที่เก็บในเวลานาทีที่ 120,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

150, 180 และ 210 จากนั้นทำการเขย่าส่วนผสมที่ได้โดยใช้เครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 2 นาที ด้วยความแรงระดับ 5 ก่อนนำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 15,000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

6 เก็บส่วนชั้นเอทิลอะซิเตต (ชั้นบน) ไปวิเคราะห์หาปริมาณของลูทีนที่ถูกปลดปล่อยออกมา (Released lutein) โดยทำการวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดยูวี แบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800 spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 448 นาโนเมตร จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณลูทีนจากตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐานลูทีนในเอทิลอะซิเตต

$$\text{ปริมาณลูทีนที่ปลดปล่อยออกมา (\%)} = \frac{\text{ปริมาณลูทีนที่ถูกปลดปล่อย}}{\text{ปริมาณลูทีนเริ่มต้น}} \times 100$$

3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณของลูทีนที่ถูกปลดปล่อยในการจำลองระบบการย่อยอาหารในหลอดทดลอง

- 1 ชั่งลูทีนในน้ำมัน ลงในขวดรูปชมพู่ ประมาณ 0.0015 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน)
- 2 เติมน้ำย่อยในกระเพาะอาหารจำลอง (Simulated gastric fluid, SGF) (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ข.2) ที่มีพีเอช เท่ากับ 2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาตร 100 มล และนำไปบ่มไว้ในอ่างน้ำแบบเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง ด้วยความแรงระดับสูง
- 3 เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มล ทุกๆ 30 นาที จนครบ 90 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่เหลือในขวดรูปชมพู่ (60 มล) เติมน้ำย่อยในลำไส้เล็กจำลอง (Simulated intestinal fluid, SIF) (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ข.3) ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาตร 60 มล และบ่มไว้ในอ่างน้ำแบบเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง ด้วยความแรงระดับสูง
- 4 เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มล ทุกๆ 30 นาที จนครบ 120 นาที
- 5 ตัวอย่างจะถูกเก็บเป็นเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 และ 210 นาที
- 6 นำตัวอย่างที่ได้จากการบ่มมาปรับ pH ให้เท่ากับ 11 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 โมลาร์) เพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ ก่อนนำไปเขย่าสารละลายโดยเครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) เป็นเวลา 15 วินาที โดยใช้ความแรงระดับ 5 จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 15,000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 7 เก็บส่วนที่ละลาย (Supernatant) 9 มล และเติมเอทิลอะซิเตต ปริมาตร 9 มล (อัตราส่วนของส่วนใสต่อเอทิลอะซิเตต 1:1) เขย่าสารละลายโดยใช้เครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้ความแรงระดับ 5 จากนั้นเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 15,000 xg อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

8 เก็บส่วนชั้นเอทิลอะซิเตต (ชั้นบน) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณของลูทีนที่ถูกปลดปล่อยออกมา (Released lutein) โดยจะทำการวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิเตอร์ชนิดยูวี แบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800 spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 448 นาโนเมตร จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณลูทีนจากตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนคลีนแสงของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานการดูดกลืนคลีนแสงของสารมาตรฐานลูทีนในเอทิลอะซิเตต

$$\text{ปริมาณลูทีนที่ปลดปล่อยออกมา (\%)} = \frac{\text{ปริมาณลูทีนที่ถูกปลดปล่อย}}{\text{ปริมาณลูทีนเริ่มต้น}} \times 100$$

3.3.7 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้ม โดยใช้เทคนิค Dynamic light scattering (DLS)

ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า ได้แก่ อนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วนลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนต 1:100) และอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 ที่มีการห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตอีกชั้นหนึ่ง (อัตราส่วนลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนต 1:100:100)

- 1 นำตัวอย่างผงแห้ง จำนวน 15 มก มาเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 15 มล
- 2 นำส่วนผสมไป Sonicate ด้วย Ultrasonic bath เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- 3 วัดหาค่าขนาดอนุภาคและศักย์ซีต้าของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง Zeta/nano particle analyzer

3.3.8 การวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคลูทีนที่ถูกห่อหุ้ม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

- 1 นำตัวอย่างผงแห้ง ไปเคลือบด้วยทอง ด้วยเครื่อง Sputter coater รุ่น 108Auto เพื่อเพิ่มการนำไฟฟ้า
- 2 จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

3.3.9 การวิเคราะห์ผสมทางสถิติ

นำค่าที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Varian, ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน

4.1.1 ผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ละลายซินและอัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่มีต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติถึงอิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษา (ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ละลายซิน และอัตราส่วนของลูทีนต่อซิน) ที่มีต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน แสดงดังตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่า การใช้เอทานอลที่มีระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) ในการละลายซิน และการใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของลูทีนต่อซินที่ต่างกัน (1:25 1:50 1:75 และ 1:100) จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนที่ได้มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกทั้งอิทธิพลร่วม (Interaction) จากทั้งสองปัจจัย ก็ส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกด้วย

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1968.842 <sup>a</sup>	15	131.256	17.620	.000
Intercept	292069.426	1	292069.426	39210	.000
Ethanol	290.399	3	96.800	12.994	.000
Ratio L:Z	1504.044	3	501.348	67.300	.000
Ethanol * Ratio L:Z	174.398	9	19.378	2.601	.022
Error	238.383	32	7.449		
Total	294276.650	48			
Corrected Total	2207.224	47			

a. R Squared = 0.892 (Adjusted R Squared = 0.841)

เมื่อพิจารณาถึงผลของความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล ที่มีต่อค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน เมื่อใช้อัตราส่วนน้ำหนักของลูทีนต่อซินที่เท่ากัน (ตารางที่ 4.2) พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น เมื่อใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นที่สูงกว่าในการละลายซิน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างโมเลกุลของซิน มีสัดส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกที่สูง การใช้เอทานอลความเข้มข้นที่ต่ำ (ร้อยละ 60) จะทำให้ซินเกิดการรวมตัวกันเพื่อลดพื้นที่ผิวสัมผัสกับตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบในปริมาณที่มาก ส่วนการละลายซินด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นที่สูงกว่า อาจจะทำให้เกิดการแยกโครงสร้างโมเลกุลของซินในส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกได้ในสัดส่วนที่มากกว่า ส่งผลให้โมเลกุลส่วนไฮโดรโฟบิกของซินนี้สามารถไปดูดซับที่ผิวของลูทีนที่มีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูงได้ดีกว่า จึงทำให้สามารถห่อหุ้มลูทีนได้ดีกว่าซินที่ละลายในสารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำ (ร้อยละ 60) โดยเมื่อละลายซินในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 จะสามารถสังเกตการรวมตัวของซินได้จากการที่สารละลายซินที่ได้จะมีความขุ่น เนื่องจากซินมีการกระจายตัวที่ต่ำ เมื่อเทียบกับการใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70-90 ที่จะทำให้ได้สารละลายซินที่มีความใส เนื่องจากซินมีการกระจายตัวที่สูง หรือประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนที่มีแนวโน้มที่จะลดลง เมื่อใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นที่ต่ำกว่าในการละลายซินนี้ อาจเกิดเนื่องมาจากเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 มีความมีขั้วสูงเมื่อเทียบกับเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งความมีขั้วจะป้องกันการเกิดอันตรกิริยาระหว่างลูทีนและซิน โดยในงานวิจัยของ Wang และคณะ (2013) ที่ทำการศึกษาการห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยไลม์ (Lime) และซิทราล (Cital) โดยใช้ซินเป็นตัวห่อหุ้ม ระบุว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซิน (ร้อยละ 60-90) เป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโครงสร้าง Core-shell ของผลิตภัณฑ์ โดยการใช้อีทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 80 จะทำให้ซินไปห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหย เกิดเป็นโครงสร้าง Core-shell ได้ แต่เมื่อใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 60 ในการละลายซิน จะไม่ทำให้เกิดโครงสร้าง Core-shell ขึ้นมาเนื่องจากในสารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 60 มีความมีขั้วสูง (High polarity) จึงเป็นการเพิ่มแรงดึงดูดและป้องกันการจับตัวระหว่างซินและน้ำมันหอมระเหย

เมื่อพิจารณาถึงผลของอัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่มีต่อค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน เมื่อใช้ซินที่ละลายด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น เมื่อใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินในปริมาณที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.2) ซึ่งอาจเกิดจากเมื่อใช้ซินในปริมาณที่ไม่เพียงพอ จะทำให้ลูทีนไม่ถูกห่อหุ้ม ส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่ได้มีค่าต่ำ โดยผลจากการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับผลจากงานวิจัยของ Patel และคณะ (2010a) ที่พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเคอร์คิวมิน (Curcumin) มีค่าลดลง เมื่อตัวห่อหุ้มที่ใช้ (ซิน) มีปริมาณไม่เพียงพอ

**ตารางที่ 4.2** ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	อัตราส่วนลูทีนต่อซิน (มก:มก)			
	1:25	1:50	1:75	1:100
60	67.42±2.95 <sup>e</sup>	72.75±3.43 <sup>d</sup>	76.45±4.05 <sup>bcd</sup>	83.13±2.06 <sup>a</sup>
70	64.95±1.78 <sup>e</sup>	77.16±4.67 <sup>bcd</sup>	78.01±4.54 <sup>bc</sup>	88.08±2.21 <sup>a</sup>
80	73.21±1.11 <sup>cd</sup>	76.65±3.38 <sup>bcd</sup>	77.83±0.64 <sup>bcd</sup>	85.57±1.92 <sup>a</sup>
90	76.45±2.04 <sup>bcd</sup>	78.53±0.94 <sup>b</sup>	84.48±1.08 <sup>a</sup>	87.41±2.15 <sup>a</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ตัวอักษร Superscript (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างตัวอย่างภายในคอลัมน์เดียวกัน

#### 4.1.2 ผลของการเติมโซเดียมเคซีเนตร่วมกับซินต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน

จากการนำสารละลายโซเดียมเคซีเนต มาเติมเข้ากับสารละลายลูทีนที่มีการผสมกับสารละลายซิน พบว่า ทำให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของลูทีน มีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับ การห่อหุ้มลูทีนด้วยซินเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 4.3) โดยการเติมโซเดียมเคซีเนตลงไปจะทำให้ ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของ โซเดียมเคซีเนต ซึ่งสามารถจับกับส่วนที่เป็นทั้งไฮโดรโฟบิกและไฮโดรฟิลิกของโมเลกุลอื่นๆ ได้ดี โดย งานวิจัยของ Patel และคณะ (2010b) ที่ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัวในน้ำของ ซินด้วยการเติมโซเดียมเคซีเนตลงไปในระบบ พบว่าโซเดียมเคซีเนตสามารถยึดเกาะกับซินได้ดี นอกจากนี้มี งานวิจัยของ Li และคณะ (2018) ที่พบว่าโซเดียมเคซีเนตสามารถนำมาใช้เป็นตัวห่อหุ้มสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติของอิทธิพลของปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อ โซเดียมเคซีเนต และระดับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซิน ที่มีต่อค่าประสิทธิภาพการ ห่อหุ้มลูทีน แสดงดังตารางที่ 4.4 ซึ่งพบว่า การใช้เอทานอลระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) ในการละลายซิน จะส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในส่วนของการใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน (1:25:25 1:50:50 1:75:75 และ 1:100:100) มีผลทำให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มี นัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) ซึ่งน่าจะมาจากการเติมโซเดียมเคซีเนตลงไประบบ (อัตราส่วนระหว่างซินต่อ โซเดียมเคซีเนต เป็น 1:1) ทำให้มีการห่อหุ้มลูทีนได้ดี โดยที่อิทธิพลร่วม (Interaction) ระหว่างปัจจัยมีผล ทำให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ )

**ตารางที่ 4.3** ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	อัตราส่วนของลูทีนต่อซินและโซเดียมเคซีเนต (มก:มก:มก)			
	1:25:25	1:50:50	1:75:75	1:100:100
60	94.55±2.11	96.79±0.21	96.32±0.77	94.01±2.48
70	95.83±1.43	94.97±1.19	91.43±3.98	94.31±2.02
80	94.93±3.08	90.96±2.38	92.57±1.55	90.82±3.23
90	91.31±4.08	90.16±4.39	92.72±3.31	90.00±3.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ และใช้อัตราส่วนของลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตที่แตกต่างกัน

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	230.582 <sup>a</sup>	15	15.372	2.040	0.044
Intercept	417200.465	1	417200.465	55370	0.000
Ethanol	134.405	3	44.802	5.946	0.002
Ratio L:Z:NaCas	21.014	3	7.005	0.930	0.438
Ethanol * Ratio L:Z:NaCas	75.163	9	8.351	1.108	0.385
Error	241.104	32	7.535		
Total	417672.151	48			
Corrected Total	471.686	47			

a. R Squared = 0.489 (Adjusted R Squared = 0.249)

ผลจากตารางที่ 4.5 พบว่า การใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 60 จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนมีค่าสูงกว่าการใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ (ร้อยละ 70 ถึง 90) ในการละลายซิน (อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งอาจเกิดจากในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 นี้ มีน้ำเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากกว่า จึงทำให้โซเดียมเคซีเนตซึ่งเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ที่มีค่า HLB เท่ากับ 14.0 (Su และ Zhong, 2016) ทำงานได้ดีกว่า

ตารางที่ 4.5 ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต โดยใช้ซินที่ละลายในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน (ร้อยละ)
60	95.42±1.88 <sup>a</sup>
70	94.13±2.69 <sup>ab</sup>
80	92.32±2.84 <sup>bc</sup>
90	91.05±3.44 <sup>c</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร Superscript (a-c) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างตัวอย่างภายในคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนจากตัวอย่างที่มีการใช้ซินอย่างเดี่ยว โซเดียมเคซีเนตอย่างเดี่ยว และซินกับโซเดียมเคซีเนตในการห่อหุ้มลูทีน

ตัวอย่าง	อัตราส่วน (มก:มก:มก)	ประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีน (ร้อยละ)
ลูทีนต่อซิน	1:25	70.51±5.08 <sup>e</sup>
	1:50	76.27±3.66 <sup>d</sup>
	1:75	79.19±4.20 <sup>d</sup>
	1:100	86.05±2.68 <sup>c</sup>
ลูทีนต่อโซเดียมเคซีเนต	1:25	99.38±0.41 <sup>a</sup>
	1:50	99.32±0.42 <sup>a</sup>
	1:75	99.57±0.08 <sup>a</sup>
	1:100	99.54±0.23 <sup>a</sup>
ลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนต	1:25:25	94.15±3.02 <sup>b</sup>
	1:50:50	93.22±3.61 <sup>b</sup>
	1:75:75	93.26±3.02 <sup>b</sup>
	1:100:100	92.28±3.12 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร Superscript (a-e) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างตัวอย่างภายในคอลัมน์เดียวกัน

#### 4.2 ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า

เนื่องจากผลิตภัณฑ์แห้งของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกระจายตัวในน้ำ (Re-dispersion) ได้ จึงเลือกตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตซึ่งมีความสามารถในการกระจายตัวในน้ำได้ดีไปทำการกระจายตัวในน้ำที่อุณหภูมิห้อง และทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า ผลจากการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต โดยใช้อัตราส่วนลูทีนต่อซินต่อโซเดียมเคซีเนตเป็น 1:100:100 โดยทำการละลายซินด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) พบว่า ขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่กระจายตัวในน้ำ มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 438 – 542 นาโนเมตร ทั้งนี้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ละลายซินมีผลต่อขนาดอนุภาคของตัวอย่าง (ตารางที่ 4.7) โดยเมื่อละลายซินด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 จะทำให้ได้ตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคที่ใหญ่ที่สุด (ค่าเฉลี่ยประมาณ 542 นาโนเมตร) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากการละลายซินด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 จะทำให้ซินมีการรวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่ที่สุด (สังเกตจากที่สารละลายมีความขุ่น) เมื่อเทียบกับการใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ เป็นตัวทำละลายซิน เมื่ออนุภาคที่มีขนาดใหญ่นี้มารวมตัวกับโซเดียมเคซีเนตจึงทำให้ได้ขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นมาอีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยอนุภาคตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตเพียงอย่างเดียวมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 260 นาโนเมตร

ค่าศักย์ซีต้าสามารถใช้บ่งบอกความเสถียรของอนุภาคได้ โดยอนุภาคที่มีค่าศักย์ซีต้าสูงกว่า +30 มิลลิโวลต์ หรือต่ำกว่า -30 มิลลิโวลต์ จะมีความเสถียร ไม่เกิดการกลับมารวมตัวกันของอนุภาคได้ง่าย ผลจากการวัดค่าศักย์ซีต้าของตัวอย่างที่กระจายตัวในน้ำ พบว่า ตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตเพียงอย่างเดียวมีความเสถียรน้อยที่สุด (ค่าศักย์ซีต้า ประมาณ -20 มิลลิโวลต์) โดยตัวอย่างที่มีซีนเป็นส่วนประกอบร่วมกับโซเดียมเคซีเนตจะมีเสถียรภาพที่ดีกว่า (ค่าศักย์ซีต้าน้อยกว่า -35 มิลลิโวลต์) โดยลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีนที่มีการละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60 ร่วมกับการใช้โซเดียมเคซีเนต จะมีความเสถียรที่มากที่สุด

ตารางที่ 4.7 ขนาดอนุภาค ดัชนีการกระจายตัว และค่าศักย์ซีต้าของตัวอย่างที่นำมากระจายตัวในน้ำ

ตัวอย่าง	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	การกระจายตัว (PDI)	ค่าศักย์ซีต้า (มิลลิโวลต์, mV)
ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วน 1:100)	260.56±14.31 <sup>a</sup>	0.2232±0.03 <sup>b</sup>	-20.16±3.30 <sup>d</sup>
ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีน (ละลายด้วย เอทานอลร้อยละ 60) และโซเดียมเค ซีเนต (อัตราส่วน 1:100:100)	542.38±15.38 <sup>d</sup>	0.1902±0.02 <sup>a</sup>	-41.40±1.27 <sup>a</sup>
ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีน (ละลายด้วย เอทานอลร้อยละ 70) และโซเดียมเค ซีเนต (อัตราส่วน 1:100:100)	438.73±14.52 <sup>b</sup>	0.2213±0.02 <sup>b</sup>	-35.75±3.38 <sup>c</sup>
ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีนที่ (ละลาย ด้วยเอทานอลร้อยละ 80) และ โซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วน 1:100:100)	483.11±16.33 <sup>c</sup>	0.2191±0.02 <sup>b</sup>	-39.66±0.68 <sup>ab</sup>
ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซีนที่ (ละลาย ด้วยเอทานอลร้อยละ 70) และ โซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วน 1:100:100)	475.05±20.27 <sup>c</sup>	0.2771±0.02 <sup>c</sup>	-38.99±1.36 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร Superscript (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างตัวอย่างภายในคอลัมน์เดียวกัน

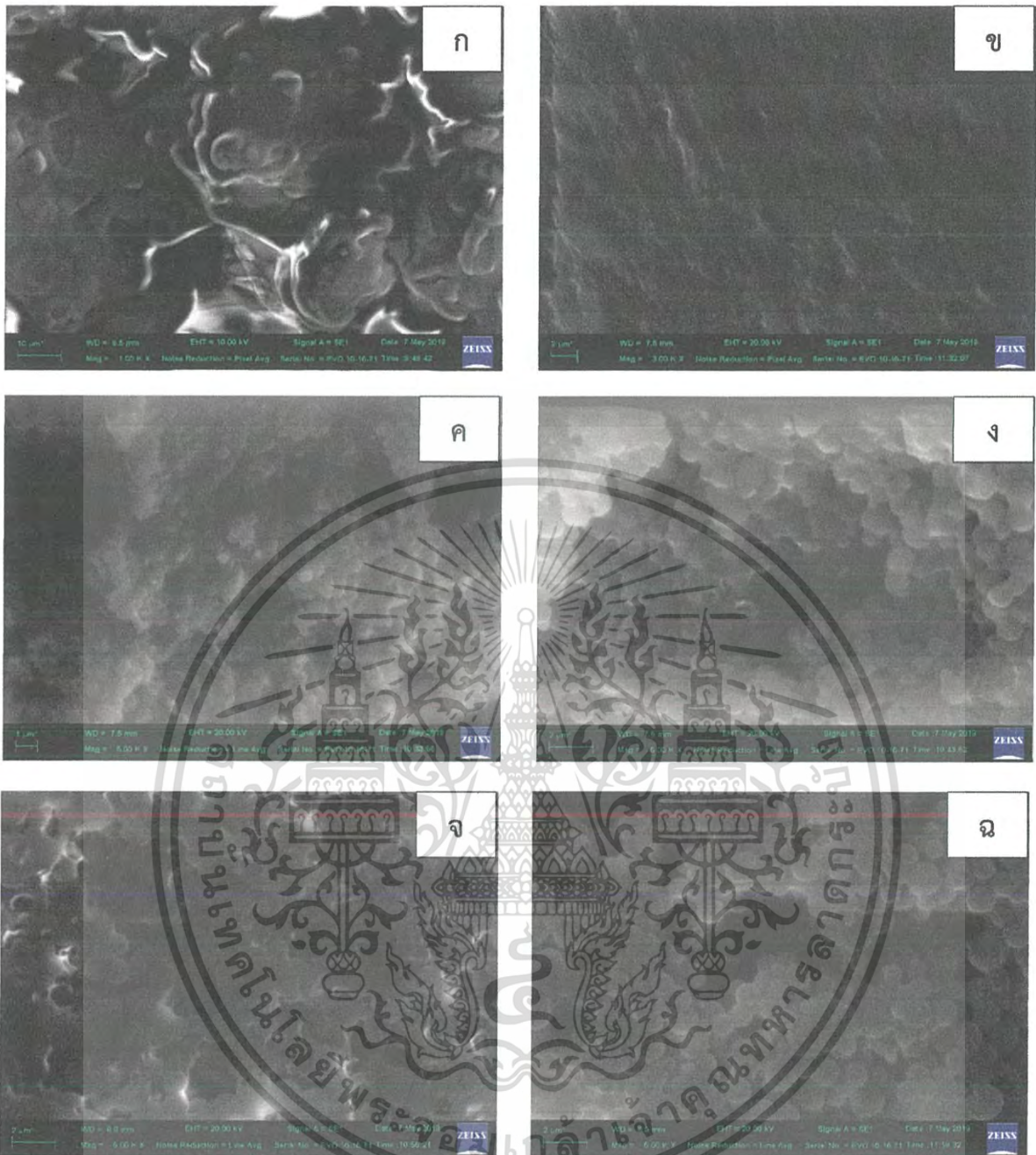
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) แสดงดังภาพที่ 4.2 ซึ่งพบว่า ลูทีน (วัตฤติบ) มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน (ภาพที่ 4.2ก) โซเดียมเคซีเนตมีลักษณะเป็นแผ่น คล้ายแผ่นฟิล์ม (ภาพที่ 4.2ข) และซินที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) มีลักษณะเป็นทรงกลมเรียงติดกัน คล้ายพวงองุ่น (ภาพที่ 4.2ค-ง) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2019) ที่ได้วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซินที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 (2 มก/มล) และพบว่าซินมีลักษณะเป็นทรงกลมเรียงติดกัน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซิน (ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 70 80 และ 90) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างลูทีนกับซิน เท่ากับ 1:100 แสดงดังภาพที่ 4.3 พบว่า ตัวอย่างลูทีนที่มีการห่อหุ้มด้วยซิน มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมเรียงติดกันคล้ายพวงองุ่น คล้ายกับลักษณะของซินที่ใช้เป็นวัตฤติบ (ดังภาพที่ 4.2ค-ง) อาจเนื่องมาจากซินได้ทำการห่อหุ้มลูทีนไว้ในโครงสร้างแล้ว จึงไม่ปรากฏลักษณะของลูทีนที่ใช้เป็นวัตฤติบ (ภาพที่ 4.2ก) ซึ่งลักษณะรูปร่างที่ได้นี้มีความคล้ายคลึงกับผลงานวิจัยของ Dai และคณะ (2018) ที่ได้มีการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างเคอร์คิวมินที่ถูกห่อหุ้มด้วยซิน (ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70) ที่พบว่าตัวอย่างมีลักษณะรูปร่างทรงกลมเรียงติดกันและมีช่องว่างระหว่างอนุภาค โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซิน (ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60) ในอัตราส่วนโดยปริมาณของลูทีนต่อซินที่แตกต่างกัน (1:25 1:50 1:75 และ 1:100) ก็มีลักษณะเป็นทรงกลมเรียงติดกัน คล้ายพวงองุ่น (ภาพที่ 4.4)

เมื่อมีการเติมโซเดียมเคซีเนตลงไปในระบบ (ภาพที่ 4.5) พบว่า ตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตเพียงอย่างเดียว มีลักษณะคล้ายฟิล์มที่มีความขรุขระ (ภาพที่ 4.5ก) ส่วนตัวอย่างที่มีการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต จะพบลักษณะคล้ายมีแผ่นฟิล์มเคลือบบนอนุภาคทรงกลมเอาไว้ (ภาพที่ 4.5ข-จ) ซึ่งอาจเกิดจากโซเดียมเคซีเนตที่เติมลงนั้น ทำการห่อหุ้มบริเวณชั้นนอกสุดของตัวอย่างเอาไว้

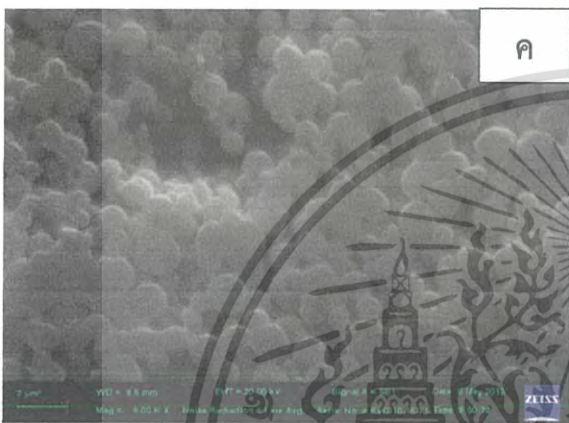
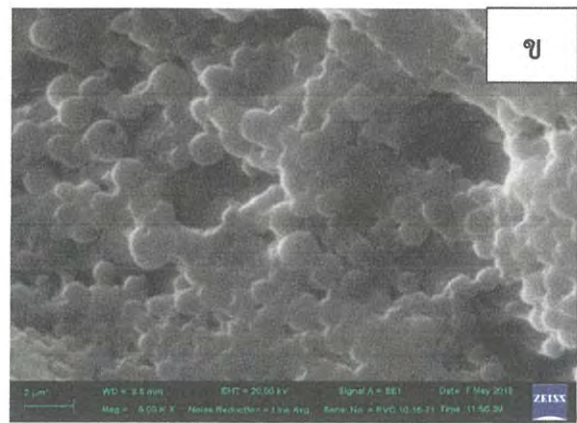
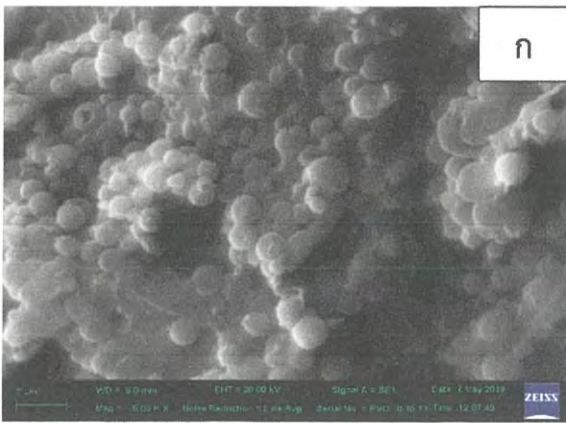


ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของตัวอย่าง

- ก) ลูทีน (4 มก/มล, กำลังขยาย 1,000x)
- ข) โซเดียมเคซีเนต (5 มก/มล, กำลังขยาย 3,000x)
- ค) ซีนที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60 (2 มก/มล, กำลังขยาย 5,000x)
- ง) ซีนที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 70 (2 มก/มล, กำลังขยาย 5,000x)
- จ) ซีนที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 80 (2 มก/มล, กำลังขยาย 5,000x)
- ฉ) ซีนที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 90 (2 มก/มล, กำลังขยาย 5,000x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

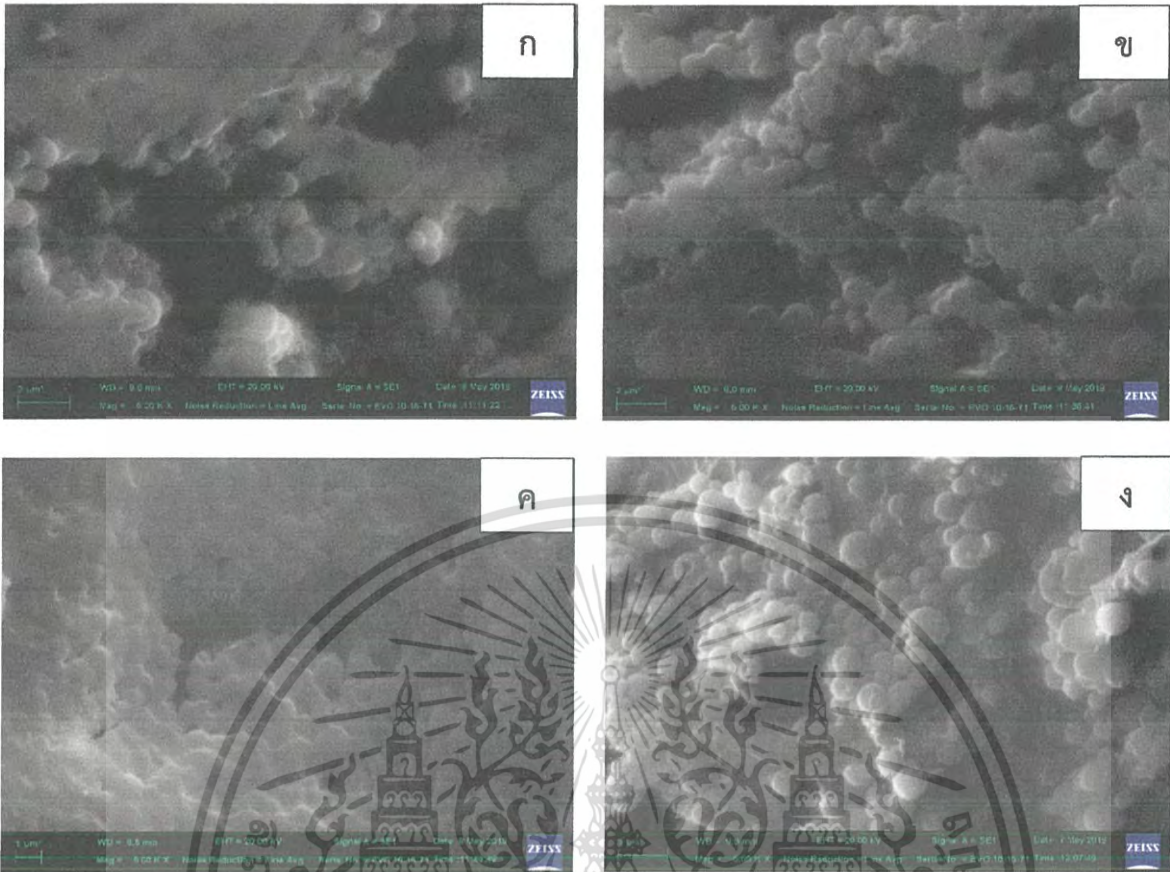


ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลด้วยอัตราส่วน 1:100 :

ก) ลูทีน : ซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60      ข) ลูทีน : ซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 70

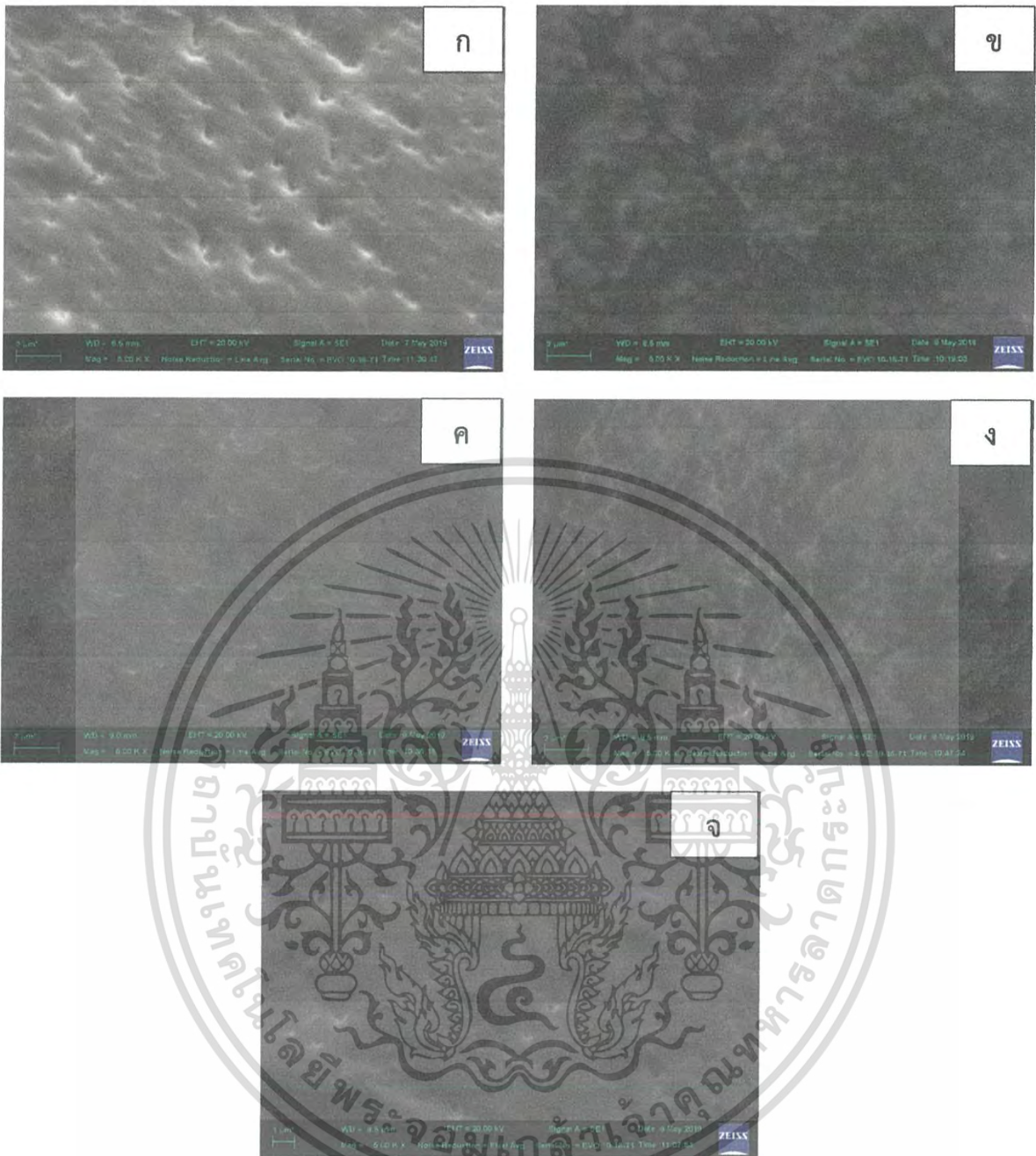
ค) ลูทีน : ซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 80      ง) ลูทีน : ซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60 ในอัตราส่วน ปริมาณของลูทีนต่อซิน ก) 1:25 ข) 1:50 ค) 1:75 ง) 1:100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่มีกำลังขยาย 5,000x ของตัวอย่าง

- ก) ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนต (อัตราส่วน 1:100)
- ข) ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 60 และโซเดียมเคซีเนต (1:100:100)
- ค) ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 70 และโซเดียมเคซีเนต (1:100:100)
- ง) ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 80 และโซเดียมเคซีเนต (1:100:100)
- จ) ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 90 และโซเดียมเคซีเนต (1:100:100)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

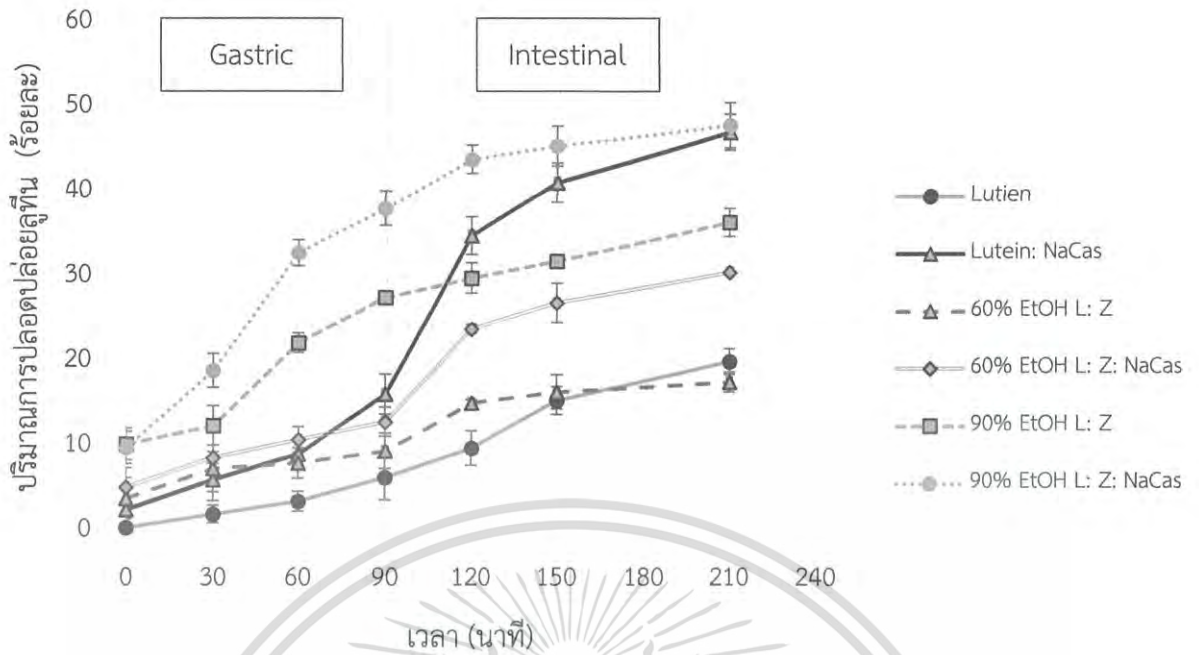
#### 4.4 การปลดปล่อยลูทีนจากอนุภาคที่ห่อหุ้มในระบบจำลองการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (In vitro study)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณการปลดปล่อยลูทีน (Solubilized lutein) ในสถานะจำลองการย่อยในระบบกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก (In-vitro simulated digestion) พบว่า ลูทีน (วัตถุดิบ) มีการปลดปล่อยลูทีนในระบบจำลองการย่อยอาหารในปริมาณที่ต่ำกว่าร้อยละ 20 โดยปริมาณการปลดปล่อยลูทีนมีค่าสูงขึ้น จากตัวอย่างที่ลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินเพียงอย่างเดียว ด้วยโซเดียมเคซีเนตเพียงอย่างเดียว และด้วยซินผสมโซเดียมเคซีเนต (ภาพที่ 4.6) ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากลูทีน (วัตถุดิบ) ที่ใช้ มีการกระจายตัวอยู่ในน้ำมัน ซึ่งมีความเป็นไฮโดรโฟบิกที่สูง ไม่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ ทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาย่อยตัวอย่างเพื่อการปลดปล่อยลูทีนได้ยาก การห่อหุ้มลูทีนด้วยกระบวนการดีซอลเวชันที่ใช้ จะเป็นการลดขนาดลูทีนและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายตัวในน้ำ ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาย่อยตัวอย่างให้มีการปลดปล่อยลูทีนได้ง่ายขึ้น

เมื่อพิจารณาตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซีเนตเพียงอย่างเดียว พบว่า ปริมาณการปลดปล่อยลูทีนมีค่าสูงถึงประมาณร้อยละ 48 เมื่อเวลาผ่านไป 210 นาที โดยการปลดปล่อยลูทีนจะมีปริมาณที่ต่ำในระบบจำลองการย่อยที่กระเพาะอาหาร แต่มีปริมาณการปลดปล่อยที่สูงในระบบจำลองการย่อยที่ลำไส้เล็ก

จากการเปรียบเทียบการปลดปล่อยลูทีนจากตัวอย่างลูทีนผสมซินที่มีการเติมและไม่มีการเติมโซเดียมเคซีเนต พบว่า ตัวอย่างที่มีการเติมโซเดียมเคซีเนตจะมีการปลดปล่อยลูทีนได้ในปริมาณที่สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการใช้โซเดียมเคซีเนต ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากการใช้โซเดียมเคซีเนตจะทำให้ตัวอย่างสามารถกระจายตัวในระบบน้ำย่อยจำลองได้ดีกว่า ส่งผลให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาการย่อยตัวอย่างห่อหุ้มได้ง่ายกว่าทำให้เกิดการปลดปล่อยลูทีนได้ดีกว่า

เมื่อพิจารณาถึงผลของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ละลายซิน พบว่า ตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 (รวมกับการใช้โซเดียมเคซีเนต และไม่มีการใช้โซเดียมเคซีเนต) มีปริมาณการปลดปล่อยลูทีนที่สูงกว่าตัวอย่างลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 (รวมกับการใช้โซเดียมเคซีเนต และไม่มีการใช้โซเดียมเคซีเนต) ซึ่งอาจเกิดจากตัวอย่างที่มีการใช้เอทานอลร้อยละ 90 ในการละลายซินนั้น มีขนาดอนุภาคที่เล็กกว่า (มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูงกว่า) ทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาการย่อยได้ดีกว่าตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ (มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่ต่ำกว่า)



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการย่อยและปริมาณการปลดปล่อยลูทีนจากตัวอย่างลูทีนในน้ำมัน (วัตถุดิบ), ลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมเคซิเนต และลูทีนที่ห่อหุ้มด้วยซินที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 และ 90 ที่มีการเติมและไม่เติมโซเดียมเคซิเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผล

ในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษาการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินร่วมกับการใช้โซเดียมเคซีเนตโดยใช้กระบวนการดีซอลเวชัน ผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ 60 70 80 และ 90) ที่ใช้ในการละลายซิน อัตราส่วนโดยน้ำหนักของลูทีนต่อซิน (1:25 1:50 1:75 และ 1:100) และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการละลายซินและอัตราส่วนโดยน้ำหนักของลูทีนต่อซิน มีผลต่อค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินที่ได้มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 64-88 โดยเมื่อใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 ในการละลายซิน จะทำให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนที่ได้มีค่าสูงกว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้นอื่นๆ ในการละลายซิน ทั้งนี้เมื่ออัตราส่วนโดยน้ำหนักของลูทีนต่อซินที่ใช้ในการผลิตมีค่าเพิ่มขึ้น ก็จะส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกด้วย

เมื่อมีการมีน้ำโซเดียมเคซีเนตมาห่อหุ้มลูทีนร่วมกับซิน จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนได้ ซึ่งค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มลูทีนด้วยซินร่วมกับโซเดียมเคซีเนตจะมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 90-96 โดยค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงสุด (ประมาณร้อยละ 96) พบว่าเมื่อใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 60 ในการละลายซิน โดยขนาดตัวอย่างของลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนตด้วยปริมาณที่มากที่สุด (อัตราส่วน 1:100:100) มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 438-542 นาโนเมตร จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง พบว่าลูทีนมีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน ซินมีลักษณะโครงสร้างเป็นทรงกลมเรียงติดต่อกันแต่มีช่องว่าง ส่วนโซเดียมเคซีเนตมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์ม โดยลูทีนที่ถูกห่อหุ้มด้วยซินและโซเดียมเคซีเนต จะพบลักษณะโครงสร้างของทรงกลมที่ถูกปกคลุมด้วยแผ่นฟิล์ม ในส่วนของผลการศึกษการปลดปล่อยลูทีนในระบบจำลองการย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก พบว่าลูทีน (วัตดูติบ) มีค่าการปลดปล่อยลูทีนจากระบบจำลองการย่อยอาหาร ประมาณร้อยละ 20 โดยค่าการปลดปล่อยลูทีนจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อลูทีน (วัตดูติบ) ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยตัวห่อหุ้ม โดยการห่อหุ้มลูทีนที่ใช้โซเดียมเคซีเนตร่วมด้วย จะมีค่าการปลดปล่อยลูทีนที่สูงกว่าการใช้ซินเป็นตัวห่อหุ้มเพียงอย่างเดียว

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาผลของสภาวะการเก็บรักษา เช่น ผลของความร้อน แสง และพีเอช ต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- Alves-Rodrigues, A., & Shao, A. 2004. The science behind lutein. *Toxicology Letters*. 150: 57-83.
- Anderson, T. J., Ilankovan, P. and Lamsal, B. P. 2012. Two fraction extraction of  $\alpha$ -zein from DDGS and its characterization. *Industrial Crops and Products*, 37: 466-472.
- Dachtler, M., Kohler, K. and Albert, K. 1998. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic identification of lutein and zeaxanthin stereoisomers in bovine retina using a C30 bonded phase. *Journal of Chromatography B*. 720: 211-216.
- Dai, L., Li, R., Wei, Y., Sun, C., Mao, L. and Gao, Y. 2018. Fabrication of zein and rhamnolipid complex nanoparticles to enhance the stability and in vitro release of curcumin. *Food hydrocolloids*. 77: 617-628.
- Delí, J., Molnár, M., Osz, A., Tóth, G. and Zsila, F. 2003. Epimerisation of lutein to 30-epilutein in processed foods. *Bioorg. Med. Chem.* 14: 925-928.
- Feng, Y. and Lee, Y. 2015. Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilized oil-in-water pickering emulsion. *Food hydrocolloids*. 56: 292-302.
- Hu, D., Lin, C., Liu, L., Li, S. and Zhao, Y. 2012. Preparation, characterization, and in vitro release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, 109: 545-552.
- Kim, S. and Xu, J. 2008. Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. *Journal of Cereal Science*. 47: 1-5.
- Li, H., Xu, Y., Sun, X., Wang, S., Wang, J., Zhu, J., Wang, D. and Zhao, L. 2018. Stability, bioactive, and bioaccessibility of fucoxanthin in zein-caseinate composite nanoparticles fabricated at neutral pH by antisolvent precipitation. *Food Hydrocolloids*. 84: 379-388.
- Li, K. K., Yin, S. W., Yin, Y. C., Tang, C. H., Yang, X. Q. and Wen, S. H. 2013. Preparation of water-soluble antimicrobial zein nanoparticles by a modified antisolvent approach and their characterization. *Journal of Food Engineering*. 119: 343-352.
- Medthai. 2560. จอประสาทตาเสื่อม อาการ สาเหตุ การรักษาโรคจอประสาทตาเสื่อม 12 วิธี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://medthai.com/โรคจอประสาทตาเสื่อม/>. 18 เมษายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mitri, K., Shegokar, R., Gohla, S., Anselmi, C. and Müller, R. H. 2011. Lutein nanocrystals as antioxidant formulation for oral and dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 420: 141–146.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, I. and Vaquero, M. 2003. Lutein, but not  $\alpha$ -tocopherol, supplementation improves visual function in patients with age-related cataracts: a 2-y double-blind, placebo-controlled pilot study. *Nutrition*, 19: 21–24.
- Paliwal, R. and Palakurthi, S. 2014. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. *Journal of controlled release*. 189: 108-122.
- Patel, A. R., Bouwens, E. C. M. and Velikov, K. P. 2010b. Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles. *Journal of agriculture and food chemistry*. 58: 12497-12503.
- Patel, A., Hu, Y., Tiwari, J. K. and Velikov, K. P. 2014a. Synthesis and characterization of zein curcumin colloidal particles. *Soft matter*. 6: 6192-6199.
- Reineccius, G. A. 1991. Role of carbohydrates in flavor encapsulation. *Journal dairy science*. 45:144-146.
- Shukla, R. and Cheryan, M. 2001. Zein: the industrial protein from corn. *Industrial crops and products*. 13: 171-192.
- Shukla, S. D., Sun, G. Y., Gibson-Wood, W., Savolainen, M. J., Alling, C., & Hoek, J. B. 2001. Ethanol and Lipid Metabolic Signaling. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 25: 33-39.
- Steiner, B. M., McClements, D. J. and Davidov-Pardo, G. 2018. Encapsulation systems for lutein: a review. *Trends in food science & technology*. 82: 71-81.
- Su, D. and Zhong, Q. 2016. Lemon oil nanoemulsions fabricated with sodium caseinate and Tween 20 using phase inversion temperature method. *Journal of Food Engineering*. 171: 214-221.
- Sun, C., Xu, C., Mao, L. Wang, D., Yang, J. and Gao, Y. 2017. Preparation characterization and stability of curcumin-loaded zein-shellac composite colloidal particles. *Food Chemistry*. 228: 656-667.
- Tari, T. A. and Singhal, R. S. 2002. Starch based spherical aggregates: reconfirmation of the role of amylose on the stability of a model flavoring compound, vanillin. *Carbohydrate Polymers*. 50: 279-82.
- Tsuchida, K., Jouni, Z. E., Gardetto, J., Kobayashi, Y., Tabunoki, H., Azuma, M., Sugiyama, H., Takada, N., Maekawa, H., Banno, Y., Fujii, H., Iwano, H. and Wells, M. A. 2004.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Characterization of the carotenoid-binding protein of the Y-gene dominant mutants of *Bombyx mori*. *Journal Insect Physiol.* 50: 363-372.
- Wang, Y. and Padua, G. W. 2010. Formation of zein microphases in ethanol-water. *Langmuir.* 26: 12897-12901.
- Wang, Y., Su, C. P., Schulmerich, M. and Padua, G. W. 2013. Characterization of core-shell structures formed by zein. *Food Hydrocolloids.* 30: 487-494.
- Zhang, F., Khan, M. A., Cheng, H. and Liang, L. 2019. Co-encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol and resveratrol within zein nanoparticles: Impact on antioxidant activity and stability. *Journal of Food Engineering.* 247: 9-18
- กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์. 2561. สถิติที่เกี่ยวข้องกับประชากรผู้สูงอายุ ปี 2561 ด้วยระบบ POWER BI. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.dop.go.th/th/know/1/153>. 20 เมษายน 2562.
- คณะกรรมการผู้สูงอายุแห่งชาติ. 2561. สถานการณ์ผู้สูงอายุไทย พ.ศ.2560. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา.
- ยุวพร สอนสิริ. 2554. ศึกษาการกักเก็บและปลดปล่อยสารโดยอนุภาคนาโนโคโคเดซาน. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วิมล ศรีสุข. 2559. กินอะไร...ชะลอจอประสาทตาเสื่อม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/ชะลอจอประสาทตาเสื่อมต้องกินอะไร>. 20 เมษายน 2562.
- สำนักวิจัยและพัฒนาระบบงานบุคคล สำนักงาน ก.พ. 2561. ภาครัฐกับการเตรียมความพร้อมเข้าสู่สังคมสูงวัย. *วารสารข้าราชการ.* 60(4): 5-7
- สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. 2559. สถิติที่เกี่ยวข้องกับประชากรผู้สูงอายุ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.dop.go.th/th/know/1/50>. 20 เมษายน 2562.
- ศักดิ์ชัย วงศกิตติรักษ์. 2559. โรคศูนย์กลางจอประสาทตาเสื่อม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.doctor.or.th/article/detail/15487>. 20 เมษายน 2562.
- ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2557. Dynamic Light Scattering (DLS). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: [https://www2.nanotec.or.th/th/?page\\_id=554](https://www2.nanotec.or.th/th/?page_id=554). 18 เมษายน 2562.
- อรรถัย สุวรรณ พิมลกุล. 2562. โรคจอประสาทตาเสื่อม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.isoptik.com/th/article/eyecare/461>. 20 เมษายน 2562.
- อัจฉราพร ศรีอ่อน. 2559. หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. *วารสารเทคโนโลยีวัสดุ.* 81: 77-79.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์

#### ก.1 การเตรียมสารละลายลูทีน ความเข้มข้น 4 มก/มล

- 1 ชั่งลูทีนในน้ำมัน (วัตถุดิบ) ปริมาณ 40 มก.
- 2 เติมนอนไฮดรรัสเอทานอล (Anhydrous ethanol) ปรับปริมาตรเป็น 10 มล
- 3 นำส่วนผสมไป Sonicate ด้วย Sonicator bath เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- 4 แบ่งตัวอย่างบางส่วนไปวิเคราะห์หาปริมาณลูทีนเริ่มต้นในตัวอย่าง ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดยูวี แบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800 spectrophotometer)

#### ก.2 การเตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 เพื่อใช้ในการละลายขึ้น

ผสมนอนไฮดรรัสเอทานอลเข้ากับน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) จนมีปริมาตรรวมเป็น 1000 มล โดยอัตราส่วนที่ใช้ผสม แสดงดังตารางที่ ก.1

#### ตารางที่ ก.1 การเตรียมเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)	นอนไฮดรรัสเอทานอล (มล)	ปริมาตร Deionize water (มล)
60	600	400
70	700	300
80	800	200
90	900	100

#### ก.3 การเตรียมสารละลายขึ้น ความเข้มข้น 2 มก/มล ในเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ

- 1 ชั่งขึ้น 1000 มก
- 2 เติมนอนไฮดรรัสเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 60 70 80 หรือ 90) ปรับปริมาตรเป็น 500 มล. กวนผสมให้ขึ้นละลาย
- 3 ทำการ Sonicate ส่วนผสมด้วย Ultrasonic bath เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### ก.4 การเตรียมสารละลายโซเดียมเคซีเนต ความเข้มข้น 5 มก/มล

- 1 ชั่งโซเดียมเคซีเนต 2500 มก
- 2 เติมน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 500 มล กวนผสมให้โซเดียมเคซีเนตละลาย
- 3 ทำการ Sonicate ส่วนผสมด้วย Ultrasonic bath เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

#### ก.5 การเตรียมน้ำย่อยจำลองของระบบการย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated gastric fluid, SGF)

- 1 ชั่งเอนไซม์เปปซิน (pepsin) 3.2 กรัม
- 2 เติมน้ำปราศจากไอออน 900 มล คนให้เข้ากัน
- 3 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 โดยใช้ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์
- 4 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มล

#### ก.6 การเตรียมน้ำย่อยจำลองของระบบการย่อยในลำไส้เล็ก (Simulated intestinal fluid, SIF)

- 1 ชั่งเอนไซม์เพนกรีเอติน (pancreatic) 2 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 6.8 กรัม และสารสกัดน้ำดี (Bile extract) 12 กรัม ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 450 มล คนให้เข้ากัน
- 2 เติมน้ำปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 900 มล
- 3 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 7.5 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์
- 4 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### กราฟมาตรฐานของลูทีน

#### ข.1 การทำกราฟมาตรฐานของลูทีนในแอนไฮดรัสเอทานอล

- 1 ชั่งสารลูทีนมาตรฐาน 10 มก ผสมกับแอนไฮดรัสเอทานอล ปริมาตร 5 มล
- 2 ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรให้เป็น 10 มล
- 3 บีบสารละลายที่ได้ ปริมาตร 1 มล มาผสมกับแอนไฮดรัสเอทานอล ปริมาตร 9 มล เพื่อใช้เป็น

Stock solution

4 เตรียมสารละลายลูทีนในความเข้มข้นต่างๆ จาก Stock solution (ในข้อ 3) โดยใช้อัตราส่วนผสมตามตารางที่ ข.1

5 นำสารละลายที่เตรียมไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดยูวีแบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800 spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร

6 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของลูทีนและค่าการดูดกลืนแสง และหาสมการจากความสัมพันธ์ดังกล่าว

ตารางที่ ข.1 อัตราส่วนของปริมาตรสารละลายลูทีนมาตรฐานกับแอนไฮดรัสเอทานอลที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานลูทีนในแอนไฮดรัสเอทานอล

หลอดที่	ความเข้มข้นเป้าหมาย (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรลูทีนมาตรฐานจาก Stock solution (มิลลิลิตร)	ปริมาตรแอนไฮดรัสเอทานอล (มิลลิลิตร)
1	0.00	0.000	10.000
2	0.10	0.010	9.990
3	0.20	0.020	9.980
4	0.30	0.030	9.970
5	0.40	0.040	9.960
6	0.50	0.050	9.950
7	0.75	0.075	9.925
8	1.00	0.100	9.900
9	1.25	0.125	9.875
10	1.50	0.150	9.850
11	1.75	0.175	9.825

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12	2.00	0.200	9.800
13	2.50	0.250	9.750
14	3.00	0.300	9.700
15	3.50	0.350	9.650
16	4.00	0.400	9.600
17	4.50	0.450	9.550
18	5.00	0.500	9.500
19	5.50	0.550	9.450



## ข.2 การทำกราฟมาตรฐานของสต็อกในสารละลายเอทิลอะซิเตท

- 1 ชั่งสารสต็อกมาตรฐาน 10 มก ผสมกับเอทิลอะซิเตท ปริมาตร 5 มล
- 2 ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรให้เป็น 10 มล
- 3 ปิเปตสารละลายที่ได้ ปริมาตร 1 มล มาผสมกับเอทิลอะซิเตท ปริมาตร 9 มล เพื่อใช้เป็น Stock solution
- 4 เตรียมสารละลายสต็อกในความเข้มข้นต่างๆ จาก Stock solution (ในข้อ 3) โดยใช้อัตราส่วนผสมตามตารางที่ ข.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

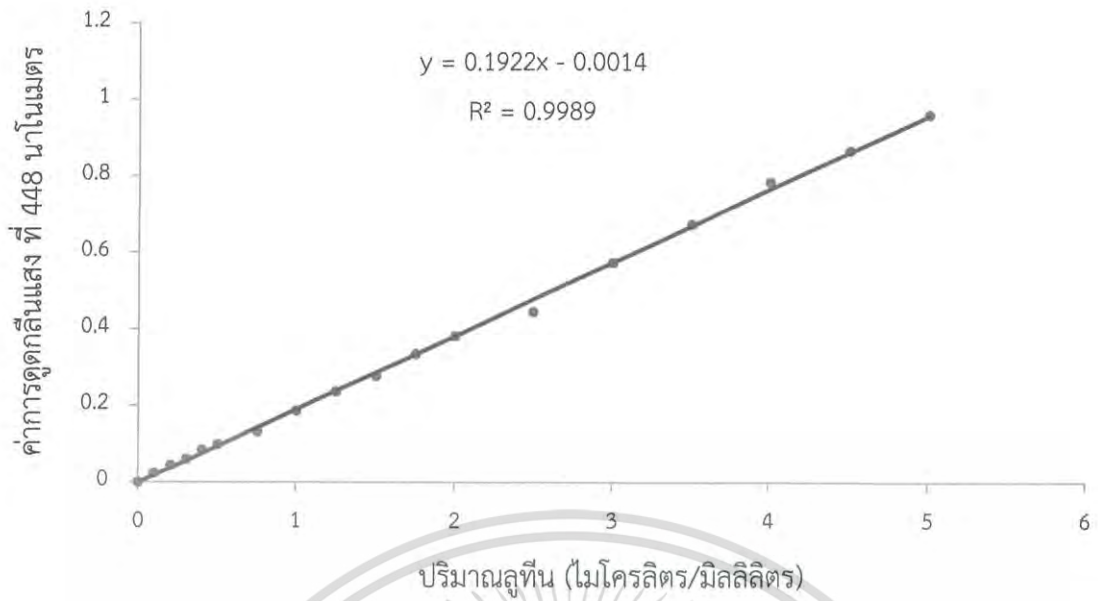
5 นำสารละลายที่เตรียมไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดยูวีแบบลำแสงคู่ รุ่น UV 1800 (UV 1800 spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 448 นาโนเมตร

6 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของลูทีนและค่าการดูดกลืนแสง และหาสมการจากความสัมพันธ์ดังกล่าว

ตารางที่ ข.2 อัตราส่วนของปริมาตรลูทีนมาตรฐานกับเอทิลอะซิเตตที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานลูทีนในเอทิลอะซิเตต

หลอดที่	ความเข้มข้นเป้าหมาย (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรลูทีนมาตรฐานจาก Stock solution (มิลลิลิตร)	ปริมาตรเอทิลอะซิเตต (มิลลิลิตร)
1	0.00	0.000	10.000
2	0.10	0.010	9.990
3	0.20	0.020	9.980
4	0.30	0.030	9.970
5	0.40	0.040	9.960
6	0.50	0.050	9.950
7	0.75	0.075	9.925
8	1.00	0.100	9.900
9	1.25	0.125	9.875
10	1.50	0.150	9.850
11	1.75	0.175	9.825
12	2.00	0.200	9.800
13	2.50	0.250	9.750
14	3.00	0.300	9.700
15	3.50	0.350	9.650
16	4.00	0.400	9.600
17	4.50	0.450	9.550
18	5.00	0.500	9.500
19	5.50	0.550	9.450

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของลูทินในเอทิลอะซิเตท



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	เกวดี สุวรรณ
วัน เดือน ปี เกิด	26 มกราคม 2539
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา ปี 1-6 จากโรงเรียนชุมชนเทศบาล 3 จังหวัด นครพนม สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษา ปี 1-6 จากโรงเรียนปิยะมหาราชาลัย จังหวัด นครพนม
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย รางวัลที่เคยได้รับ	ผ่านการฝึกงานฝ่ายการผลิต จาก บริษัท ดูเม็กซ์ จำกัด รางวัลชมเชย การแข่งขันพัฒนาผลิตภัณฑ์ งาน FoSTAT 2561 รางวัลนักศึกษาเรียนดี ปีการศึกษา 2561
ชื่อ-นามสกุล	ศุภิสรา พูลเพิ่ม
วัน เดือน ปี เกิด	4 มกราคม 2540
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา ปี 1-3 จากโรงเรียนมีนบุรี จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา ปี 4-6 และระดับมัธยมศึกษา ปี 1-3 จากโรงเรียนไพโรจน์วิชาลัย จังหวัด ร้อยเอ็ด สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษา ปี 4-6 จากโรงเรียนร้อยเอ็ดวิทยาลัย จังหวัด ร้อยเอ็ด
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย รางวัลที่เคยได้รับ	ผ่านการฝึกงานฝ่ายการผลิต จาก บริษัท ดูเม็กซ์ จำกัด รางวัลชมเชย การแข่งขันพัฒนาผลิตภัณฑ์ งาน FoSTAT 2561 รางวัลรองชนะเลิศอันดับ 2 การแข่งขันพัฒนาผลิตภัณฑ์ งานกีฬาเปิดกระป๋อง (Open can) ปี 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้