

ผลของกระบวนการทำแห้งต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน
และความเป็นพิษต่อเซลล์ของคีมึกผง

EFFECT OF DRYING PROCESS ON ANTIOXIDANT
AND CYTOTOXICITY ACTIVITIES OF SQUID INK POWDER



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2562

KMITL-2019-AI-M-053-348

ผลของกระบวนการทำแห้งต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน
และความเป็นพิษต่อเซลล์ของดีหมึกผง

**EFFECT OF DRYING PROCESS ON ANTIOXIDANT
AND CYTOTOXICITY ACTIVITIES OF SQUID INK POWDER**



กัลยลักษณ์ ภูรีน

KALYALAK PHURUEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และ พ.ศ.2562 ถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KMITL-2019-AI-M-053-348

**EFFECT OF DRYING PROCESS ON ANTIOXIDANT
AND CYTOTOXICITY ACTIVITIES OF SQUID INK POWDER**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE**

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
2019

KMITL-2019-AI-M-053-348



เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินที่จัดทำขึ้นเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ขอสงวนสิทธิ์ในสิ่งที่ปรากฏ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของกระบวนการทำแห้งต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน และความเป็นพิษต่อเซลล์ของดีหมักผง
นักศึกษา	นางสาวกัลยลักษณ์ ภูรีน
รหัสประจำตัว	58608008
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ชงชัย พุฒทองศิริ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม

บทคัดย่อ

ดีหมักเป็นส่วนหนึ่งที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมักสาคู การใช้ดีหมักมีขั้นตอนการเตรียมที่ยุ่งยากการทำแห้งจึงเป็นกระบวนการแปรรูปอย่างหนึ่งที่ทำให้สะดวกต่อการใช้งานและยืดอายุการเก็บได้ อย่างไรก็ตามผลของกระบวนการทำแห้งอาจส่งผลต่อคุณสมบัติของดีหมักที่เปลี่ยนแปลงไป งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมักผงโดยกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อความชื้น วอเตอร์แอกทิวิตี ความสว่าง อัตราส่วนการคืนรูป ดัชนีการดูดน้ำกลับ ดัชนีในการละลาย ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การต้านออกซิเดชันและความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งโดยพบว่า กระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ส่งผลต่อคุณสมบัติของดีหมัก โดยกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟมมีคุณภาพทางเคมีกายภาพสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดีหมักผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชันสูงกว่าดีหมักผงที่ผ่านทำแห้งแบบพ่นฝอยและกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม โดยมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และการต้านออกซิเดชันวิธี chelating activity อยู่ที่ 375.3 3728.4 ไมโครโมลสมมูล trolox ต่อกรัมตัวอย่าง และ 552.24 ไมโครโมลสมมูล EDTA ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี MTT ของสารสกัด fraction 1 ของดีหมักผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KB MCF7 HepG2 HeLa และ Vero ในระดับที่ต่ำ โดยมีค่า % cytotoxicity อยู่ที่ช่วง 2.54-31.10 17.14-24.73 17.92-21.63 14.65-31.09 และ 28.04-39.81 ตามลำดับ

Thesis	Effect of drying process on antioxidant and cytotoxicity activities of squid ink powder
Student	Miss. Kalyalak Phuruen
Student ID.	58608008
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2019
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr.Tongchai Puttongsiri
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Supattra Poeaim

ABSTRACT

Squid is a popular fishery product for local consumption in Thailand and export. The ink sacs are by-products of processing and can be a source of bioactive compounds. Drying is widely used in food processing for preservation and easy to handle. But drying process may cause irreversible changes of bioactive compounds. This study aimed to investigate 3 different drying methods including foam mat drying, freeze drying and spray drying on moisture content, water activity, lightness, rehydration ratio, water absorption index, water solute index, antioxidant and anticancer activities of squid ink powders. The different drying methods had impacted on squid ink powder properties significantly ($p \leq 0.05$). Squid ink powder from foam mat drying had the greatest effect on physicochemical properties due to showed the highest of solubility index at 16.32 %. The highest antioxidant activity was squid ink from freeze drying method had DPPH, ABTS radical scavenging and chelating activities at 375.3, 3728.4 $\mu\text{mol TE/g}$ sample and 552.24 $\mu\text{mol EE/g}$ sample, respectively. MTT assay was used for determine anticancer activity as a %cytotoxicity of squid ink powder fraction 1 extract from foam mat drying, freeze drying and spray drying methods on KB, MCF7, HepG2 and HeLa cell line. The range of % cytotoxicity of squid ink powder fraction 1 extract showed low activities as 2.54-31.10, 17.14-24.73, 17.92-21.63, 14.65-31.09 and 28.04-39.81, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาโทของสาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร ผู้จัดทำขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผศ.ดร.ธงชัย พุฒทองศิริและ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาและข้อมูลต่างๆ ระหว่างการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณท่านกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.ยุพร พืชกมุทร ผศ.ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์ และ รศ.ดร.ระดิพร มูลสาร ที่ช่วยให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ช่างเทคนิค และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ช่วยเหลืองานวิจัยนี้

ขอขอบคุณครอบครัวและเพื่อนทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำ และเป็นกำลังใจทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน หากปราศจากความช่วยเหลืออันดีจากผู้มีพระคุณทั้งหลาย งานวิจัยนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงได้ และผู้เขียนขอขอบคุณผู้แต่งและสำนักพิมพ์ของหนังสืออ้างอิงดังกล่าวเป็นอย่างสูง

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่นิสิต นักศึกษาและผู้สนใจอ่านทั่วไป และหากมีข้อความใดหรือเนื้อหาตอนหนึ่งตอนใดผิดพลาดไปเนื่องจากการพิมพ์หรือด้วยเหตุใดก็ตาม ผู้จัดทำยินดีรับการติชมจากผู้อ่านด้วยใจจริง

กัลยลักษณ์ ภูรีน
ผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 หมึก.....	4
2.2 ชนิดของหมึกในอ่าวไทย.....	4
2.2.1 หมึกกล้วย (squid)	4
2.2.2 หมึกกระดอง.....	5
2.2.3 หมึกสาย (octopus)	6
2.2.4 หมึกกระดองลายเสือ (<i>Sepia pharaonis</i>)	7
2.3 ดินหมึก (Squid ink)	8
2.4 การทำแห้ง.....	10
2.5 การทำแห้งแบบแผ่นโฟม (Foam-mat drying).....	10
2.5.1 สารไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids).....	12
2.5.2 การแบ่งชนิดของไฮโดรคอลลอยด์.....	13
2.5.3 เซลลูโลสคัดแปร.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ 2.5.4 รับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) โหมบด้า 14 ารค่า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.5 ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl cellulose, HPMC)	16
2.6 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)	18
2.7 กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)	19
2.8 เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy.....	24
2.9 อนุมูลอิสระ (Free radicals).....	25
2.9.1 อนุมูลอิสระ.....	25
2.9.2 การเกิดอนุมูลอิสระ.....	26
2.10 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	27
2.11 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ.....	28
2.11.1 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical.....	29
2.11.2 วิธี ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical).....	30
2.11.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น chelating activity.....	30
2.12 เจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี (Gel filtration chromatography)	31
2.12.1 ชนิดของสารที่ใช้ในการเจล (Gel filtration media).....	32
2.12.2 การประยุกต์ใช้งาน.....	33
2.13 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์.....	34
2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	35
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ.....	40
3.1 วัตถุประสงค์.....	40
3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	40
3.3 สารเคมี.....	41
3.4 วิธีการทดลอง.....	42
3.4.1 การเตรียมดีหมัก.....	42
3.4.2 กระบวนการทำแห้งดีหมักผง.....	42
3.4.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของดีหมักผง.....	43

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4	44
3.4.5	45
3.4.6	46
3.4.7	46
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	47
4.1	47
4.2	50
4.3	53
4.4	56
4.4.1	56
4.4.2	57
4.4.3	59
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	63
5.1	63
5.2	63
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	72
ภาคผนวก ข	78
ภาคผนวก ค	88

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของดีหมึก.....	10
2.2	น้ำหนักโมเลกุลที่สอดคล้องกับค่า DP ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ที่ DS=0.7)	15
2.3	ความสามารถในการลดแรงตึงผิวของสารละลาย methyl cellulose (MC) และ hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC)	17
2.4	สารที่ใช้เป็นตัวกลางในการเชื่อมโยงไว้เป็นเม็ดเจลของเทคนิค gel filtration chromatography.....	32
3.1	สภาวะอุณหภูมิที่ใช้ในการตั้งค่าการทำแห้งของเครื่อง freeze dryer.....	42
4.1	ผลของการทำแห้งที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของดีหมึกผง.....	47
4.2	แสดงความเป็นพิษของเซลล์ของดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน.....	56
4.3	แสดงความเป็นพิษของเซลล์ของสารกัคดีหมึกผง fraction 1 ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน.....	59

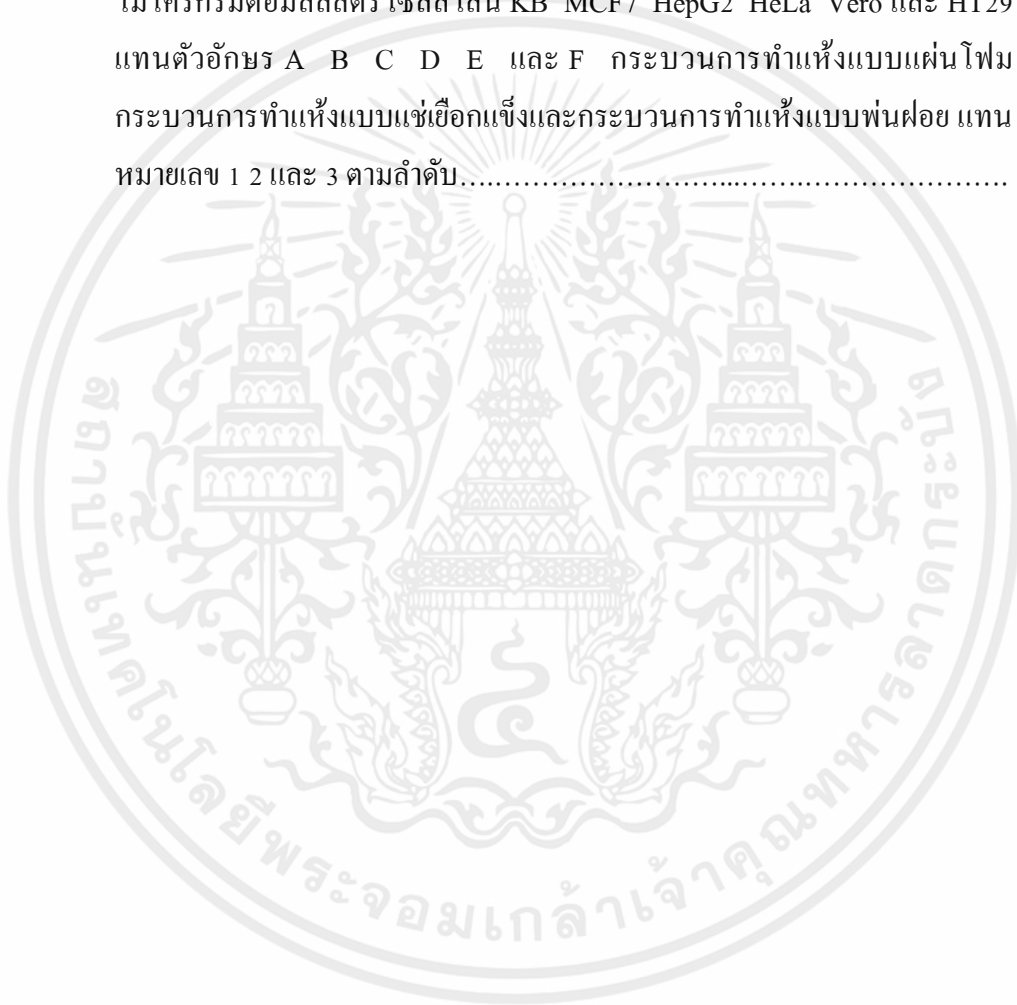
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	ลักษณะอวัยวะภายในของหมึกกล้วย (squid)..... 5
2.2	ลักษณะอวัยวะสำคัญของหมึกกระดอง (cuttle fish) 6
2.3	ลักษณะอวัยวะสำคัญของหมึกสาย (octopus) 7
2.4	หมึกกระดองลายเสือ..... 8
2.5	เมตาบอลิซึมของไทโรซีนในการสังเคราะห์เมลานิน..... 9
2.6	แสดงโครงสร้างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในอุดมคติ..... 15
2.7	โครงสร้างในอุดมคติของไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส..... 16
2.8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ (แกน X) และความหนืด (แกน Y) ของสารละลาย methyl cellulose โดยทั่วไป..... 17
2.9	แสดงแผนภาพวิถีภาคของน้ำบริสุทธิ์..... 19
2.10	หัวฉีดแบบแรงดัน (Pressure nozzle atomizer) 20
2.11	หัวฉีดแบบหมุน (Rotary Atomizer) 21
2.12	หัวฉีดแบบทวิฟลูอิด (Two-fluid nozzle atomizer, Pneumatic nozzle atomizer).... 21
2.13	การไหลแบบทิศทางเดียวกัน (Co-current flow) 22
2.14	การไหลแบบสวนทางกัน (Counter-current flow) 23
2.15	การไหลแบบผสมกัน (Mixed-current flow) 23
2.16	การทำงานของ interferometer..... 25
2.17	แสดงกลไกในการแยกสารโดยเทคนิค gel filtration..... 31
2.18	การเปลี่ยนโครงสร้าง MTT ไปเป็น formazan..... 35
4.1	เส้นสเปกตรัม FTIR ของดีหมีกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้ง การทำแห้งแบบแผ่นโฟม (A) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (B) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (C).. 52
4.2	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชันของดีหมีกผงในวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกันโดยวิธี DPPH (A) วิธี ABTS (B) และวิธี chelating activity (C) 54
4.3	ลักษณะเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ของหลุมที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ไลน์ HT29 และ Vero แทนตัวอักษร A และ B
<p>เอกสารนี้เป็นเอกสาร กระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและ มีด้านการค้า</p> <p>ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แทนหมายเลข 1 2 และ 3 ตามลำดับ..... 57</p>	

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.4	แสดงค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัด fraction ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร.....	58
4.5	ลักษณะเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆของหลุมที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ไลน์ KB MCF7 HepG2 HeLa Vero และ HT29 แทนตัวอักษร A B C D E และ F กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แทนหมายเลข 1 2 และ 3 ตามลำดับ.....	60



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยมีบทบาทสำคัญอย่างมากในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในด้านของการประมง ประเทศไทยเคยเป็นผู้ส่งออกผลผลิตทางการประมงสูงเป็นอันดับหนึ่งของโลกในปี 2536 ถึงปี 2544 (คณาจารย์ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2557) อุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำในประเทศไทย สามารถทำรายได้ให้กับผู้ประกอบการเป็นจำนวนมาก ซึ่งหมึกนับเป็นสินค้าทางประมงอย่างหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งที่รองมาจากสินค้าปลาและสินค้ากุ้งตามลำดับ โดยสินค้าหมึกสดและหมึกแปรรูปสามารถนำรายได้เข้าประเทศได้ถึงปีละหลายพันล้านบาทต่อปี ประเทศไทยจึงเป็นผู้ผลิตและผู้ส่งออกรายสำคัญของโลก โดยจะส่งออกไปยังตลาดที่สำคัญ อาทิ สหภาพยุโรป อิตาลี และญี่ปุ่น จากการรายงานการส่งออกหมึกสดและหมึกแปรรูปของไทยในปี 2561 มีปริมาณทั้งสิ้น 13,153.3 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,353.1 ล้านบาท อีกทั้งยังมีการกระจายไปยังแถบประเทศในทวีปทางเอเชีย พบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้น โดยประเทศญี่ปุ่นและเกาหลีได้มีการนำเข้าเพิ่มขึ้นที่ร้อยละ 2.1 และ 27.4 ตามลำดับ หรือคิดเป็นมูลค่า 1,525.94 ล้านบาท (จิตติมา, 2561) ในการแปรรูปหมึกสดที่จะต้องมีการแล่คิง ล้างทำความสะอาดเอาอวัยวะภายใน และถนอมหมึกออก เศษเหลือทิ้งนี้เดิมทีเป็นขยะที่ไม่มีมูลค่า และเป็นปัญหาก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการไม่เหมาะสม

การใช้ประโยชน์จากดีหมึกที่เป็นที่รู้จักกันดีในอาหารแถบเมดิเตอร์เรเนียน เช่น ประเทศอิตาลี และสเปน ที่มีการผสมน้ำหมึกลงไปในการปรุงอาหาร เช่น เส้นพาสต้า หรือข้าววริซอตโต และขนมปังสีด้า เพื่อให้อาหารนั้นมีสีเข้ม และมีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ ส่วนประเทศในแถบเอเชีย เช่น จีน ญี่ปุ่น ฮองกง สิงคโปร์ นั้นก็มีการนำดีหมึกมาเป็นส่วนผสมในอาหารต่างๆเช่นกัน

นอกจากประโยชน์ที่กล่าวจากข้างต้นจะพบอีกว่าในดีหมึกมีสารประกอบทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำดีหมึกมาเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ในอนาคตต่อไปได้ โดยมีการรายงานว่าในดีหมึกมีส่วนประกอบของเปปทิโดไกลแคน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ เซลล์เส้นใยในกล้ามเนื้อ (Meth-A fibrosarcoma) (Sasaki และคณะ, 2013) เซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cell) เซลล์มะเร็งปากมดลูกสายพันธุ์ HPV-18 (HeLa cell) และเซลล์มะเร็งปากมดลูกสายพันธุ์ HPV-16 (Caski cell) (Senan และคณะ, 2013) ได้ เมลานินในดีหมึกยังมีองค์ประกอบของ 5,6-Dihydroxyindole (DHI) อยู่ร้อยละ 20

และ 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) อยู่ร้อยละ 75 โดยประมาณ (Katritzky และคณะ, 2002) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ที่คล้ายกับเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase (SOD)) (Meyskens และคณะ, 2001) อีกทั้งยังพบว่าในดีหมึกยังมีส่วนประกอบของ L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-dopa) และ dopamine ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Fiore และคณะ, 2004)

โรคมะเร็งยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญระดับประเทศ เนื่องจากเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้อีกทั้งยาต้านมะเร็งที่มีอยู่ในขณะนี้ก็มีฤทธิ์ข้างเคียงที่รุนแรง คือ มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็งแต่ในขณะเดียวกันก็สามารถทำลายเซลล์ปกติได้ด้วยเช่นกัน ในปัจจุบันจึงเริ่มมีการศึกษาการใช้สารสกัดในธรรมชาติต่างๆ ซึ่งก็พบว่าสามารถนำมาใช้ฆ่าเซลล์มะเร็งได้ และมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติน้อย (ฉัตรทาทิกา และคณะ, 2558)

ในประเทศไทยอาหารที่ปรุงจากดีหมึกยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก การนำมาใช้ในร้านอาหารจึงเป็นการนำเข้าดีหมึกเหลวสำเร็จรูปจากประเทศอิตาลี ถึงแม้ว่าดีหมึกจะสามารถหาได้จากในประเทศก็ตาม เพราะมีขั้นตอนในการเตรียมที่ยุ่งยาก การทำแห้งจัดเป็นกระบวนการแปรรูปอาหารอย่างหนึ่ง โดยอาศัยการขจัดน้ำในอาหารออก วัตถุประสงค์ที่นำมาทำแห้งนั้นสามารถเป็นได้ทั้งของเหลวและกึ่งของเหลว โดยจะทำผลิตภัณฑ์สุดท้ายให้มีสถานะเป็นของแข็ง พบว่าประโยชน์ของการทำแห้งนั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสียจึงทำให้อาหารมีอายุการเก็บที่นานขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดพื้นที่ในการจัดเก็บ และการขนส่งจึงทำให้อาหารที่ผ่านการทำแห้งนั้นสามารถควบคุมได้ง่าย

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของการทำแห้งของดีหมึกผง 3 วิธี ซึ่งได้แก่ การทำแห้งแบบแผ่นโฟม (foam-mat drying) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ที่มีต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคที่จะเลือกบริโภคอาหารที่มีส่วนผสมของดีหมึกผง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมึกผงที่แตกต่างกันต่อคุณภาพทางเคมีกายภาพของดีหมึกผง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมึกผงที่แตกต่างกันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น 1.2.3 ศึกษามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เพื่อศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมึกผงที่แตกต่างกันต่อความเป็นพิษของเซลล์มะเร็ง

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.3.1 ทราบถึงคุณภาพของดีหมึกผงในกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน
- 1.3.2 ทราบถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของการทำแห้งของดีหมึกผงในวิธีที่แตกต่างกัน
- 1.3.3 ทราบถึงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของการทำแห้งของดีหมึกผงในวิธีที่แตกต่างกัน
- 1.3.4 ส่งเสริมการนำสิ่งเหลือใช้ในอุตสาหกรรมมาแปรรูปให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่า
- 1.3.5 เพิ่มทางเลือกในการใช้สารสกัดที่มาจากธรรมชาติในการรักษาโรคมะเร็ง

1.4 ขอบเขตการวิจัย

เป็นการศึกษาดีหมึกผงของหมึกกระดองลายเสือ (*Sepia pharaonis*) ในกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน ได้แก่ การทำแห้งแบบแผ่นโฟม (foam-mat drying), การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ต่อคุณภาพของดีหมึกผงโดยประกอบไปด้วยความสามารถในการดูดซึม ความสามารถในการละลาย สัดส่วนการคืนรูป ค่าสี ความชื้น ค่า water activity และโครงสร้างดีหมึกผงโดยเครื่อง FTIR จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งโดยวิธี MTT และสามารถต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชัน 3 วิธี ได้แก่ วิธี DPPH วิธี ABTS และวิธี chelating activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 หมึก

หมึกเป็นสัตว์ทะเลที่มีลำตัวนุ่ม ไม่มีกระดูกสันหลัง มีเปลือก (shell) ลักษณะแบนอยู่กลางลำตัวเพื่อให้ทรงรูปร่างได้ บางชนิดไม่มีเปลือก (shell) มียางค์รอบปาก (arm and tentacle) 8-10 เส้น ประกอบด้วยปุ่มดูด (sucker) ซึ่งช่วยในการจับ และเกาะยึด เคลื่อนไหวด้วยการพ่นน้ำ จัดอยู่ใน phylum Mollusca, class Cephalopoda ซึ่งเป็น class ที่มีพัฒนาการสูงสุดใน phylum นี้ ภายใน class สามารถแบ่งย่อยได้เป็น 2 sub class (Firth, 1969) คือ

2.1.1 Sub class Nautiloidea หรือ Tetrabranchia ลักษณะของสัตว์ใน sub class นี้ จะมียางค์รอบปาก 10 เส้น และมีเหงือก 2 คู่ ไม่มีกระจกตา (lens) ที่พบเห็นโดยทั่วไปได้แก่ genus nautilus

2.1.2 Sub class Coleoidea หรือ Dibranchia ลักษณะของสัตว์ใน sub class นี้ จะมียางค์รอบปาก 8-10 เส้น มีเหงือก 1 คู่ มีกระจกตา (lens) มีเปลือก (shell) อยู่ภายใน บางชนิดไม่มีเปลือก สามารถแบ่งย่อยได้เป็น 2 อันดับ (order)

(1) อันดับ Decapoda มียางค์รอบปาก 10 เส้น (สั้น 8 เส้น ยาว 2 เส้น) ลำตัวยาวมีครีบและมีเปลือกอยู่ภายในตัว เป็นกลุ่มของพวกปลาหมึกกล้วย (squid) ปลาหมึกกระดอง (cuttle fish) หมึกตัวเล็กตัวน้อยต่างๆ (common cuttlefish) และพวกเบิลเลิมไนตส์ (belemnites)

(2) อันดับ Octopoda มียางค์รอบปากแบบเดียวกัน 8 เส้น ลำตัวกลมอ้วน ไม่มีครีบและเปลือก เป็นกลุ่มของพวกหมึกสาย หรือหมึกยักษ์ (octopus)

2.2 ชนิดของหมึกในอ่าวไทย

แบ่งตามกลุ่มได้ดังนี้ (มาลา, 2538)

2.2.1 หมึกกล้วย (squid) โดยทั่วไปอาศัยอยู่ทุกระดับน้ำ แต่มีบางช่วงชีวิตที่อาศัยอยู่บนหาดิน หรือเหนือผิวดินมีลักษณะอวัยวะภายในแสดง ดังภาพที่ 2.1 ซึ่งชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอ่าวไทยมี 4 ชนิด คือ

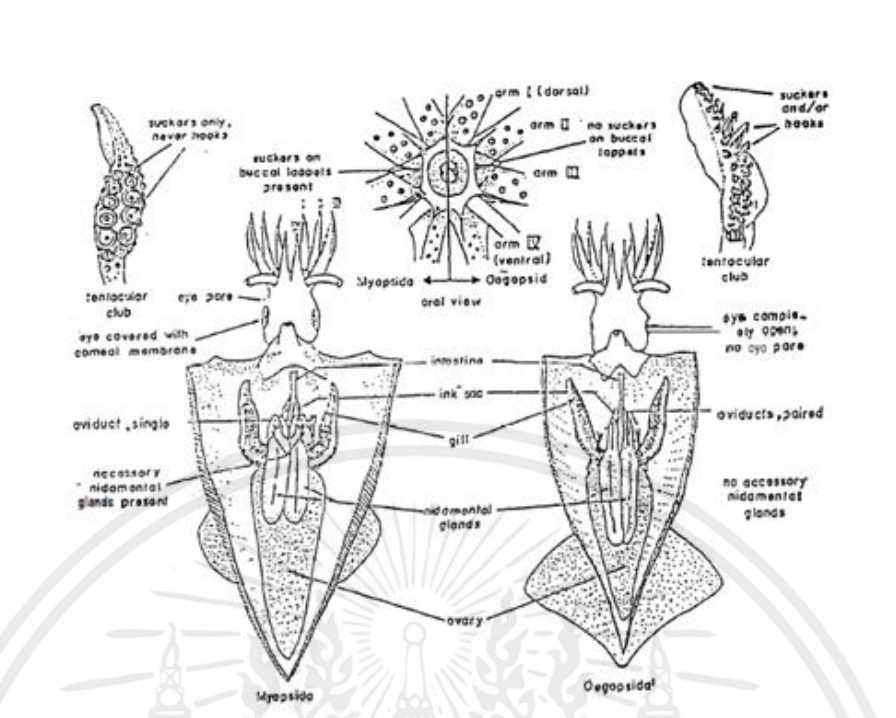
(1) *Loligo chinensis* (หมึกศอก)

(2) *Loligo duvauceli* (หมึกจึกโก้)

(3) *Loligo (Niponololigo) sumatrensis* (หมึกกระดอง)

(4) *Sepioteuthis lessoniana* (หมึกหอม หรือ หมึกตะเภา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



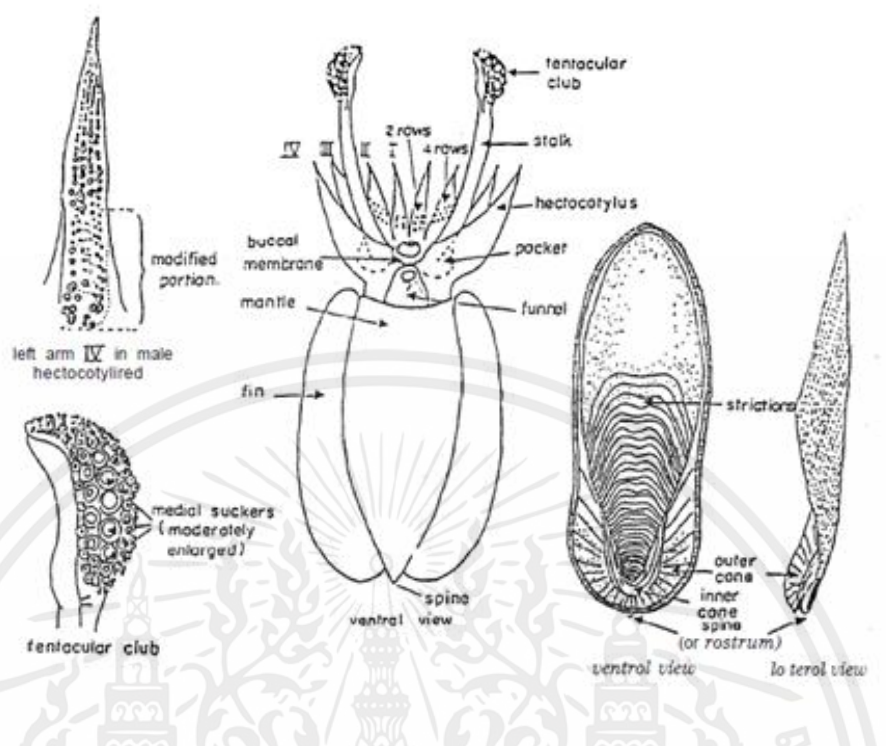
ภาพที่ 2.1 ลักษณะอวัยวะภายในของหมึกกล้วย (squid)

ที่มา : เจ็ดจินดา (2536)

2.2.2 หมึกกระดอง (cuttlefish) มีกระดองแข็งสีขาวขุ่น ซึ่งใช้เป็นส่วนผสมของยาแผนโบราณ และอาหารสัตว์ หมึกกระดองสามารถลอยตัวอยู่กับที่ เคลื่อนที่ช้าๆ หรือมุ่งไปข้างหน้าอย่างรวดเร็ว มีลักษณะอวัยวะภายในแสดง ดังภาพที่ 2.2 ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอ่าวไทย มี 6 ชนิดคือ

- (1) *Sepia pharaonis* (หมึกกระดองลายเสือ)
- (2) *Sepia aculeate* (หมึกกระดอง Needle cuttlefish)
- (3) *Sepia lycidas* (หมึกกระดอง Kisslip cuttlefish)
- (4) *Sepia recurvirostra* (หมึกกระดอง Curvespire cuttlefish)
- (5) *Sepia brevimana* (หมึกกระดอง Shortclub cuttlefish)
- (6) *Sepia inermis* (หมึกกระดองก้นไหม้ Spineless cuttlefish)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



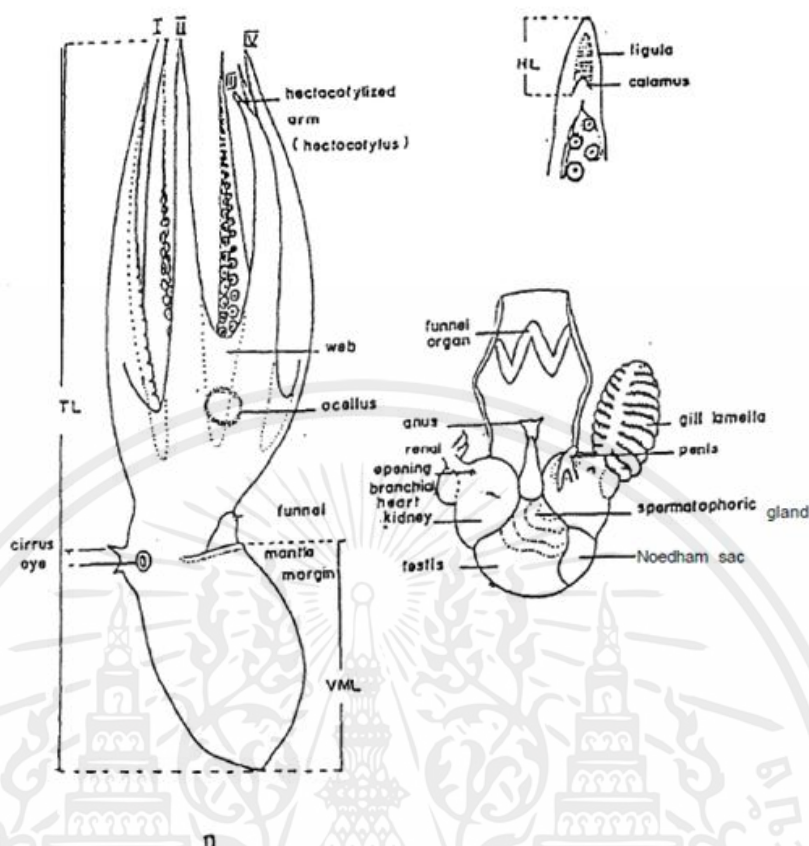
ภาพที่ 2.2 ลักษณะอวัยวะสำคัญของหมึกกระดอง (cuttle fish)

ที่มา : เจ็ดจินดา (2536)

2.2.3 หมึกสาย (octopus) ลักษณะสำคัญคือ ไม่มีกระดอง พบตั้งแต่ระดับน้ำลึกปานกลาง จนถึงตื้นชายฝั่ง เคลื่อนไหวช้า และส่วนใหญ่จะกบดานตามพื้นทะเลมีลักษณะอวัยวะภายใน แสดง ดังภาพที่ 2.3 ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอ่าวไทยมี 4 ชนิด คือ

- (1) *Octopus membranaceus* (หมึกสายสีดา)
- (2) *Octopus dollfusi* (หมึกสายลายหินอ่อน)
- (3) *Octopus aegina* (หมึกสาย)
- (4) *Hepalochlaena maculosa* (หมึกสายวงน้ำเงินใต้)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 ลักษณะอวัยวะสำคัญของหมึกสาย (octopus)

ที่มา : เจ็ดจินดา (2536)

2.2.4 หมึกกระดองลายเสือ (*Sepia pharaonis*) หมึกชนิดนี้มีขนาดใหญ่รูปร่างคล้ายรูปไข่ และแบนมีครีบเป็นแผ่นแคบๆ อยู่สองข้างลำตัว แต่ครีบแยกจากกันตอนส่วนท้าย กระดอง (cuttlebone) เป็นแผ่นแข็งสีขาวขุ่นเป็นสารประกอบจำพวกหินปูนซึ่งชาวบ้านเรียกกันว่า ลิ่นทะเลหนวดอยู่บนหัวมี 4 คู่ และแขน 1 คู่ ตัวผู้มีแขนยาวกว่าตัวเมียมันมีตากลมโตสีดำ หัวและหนวดเป็นสีน้ำตาลปนดำมีลายขวาง และมีจุดสีม่วงประอยู่ทั่วลำตัวขนาดใหญ่ที่สุดเฉพาะลำตัวยาว 42 เซนติเมตร และหนัก 5 กิโลกรัม พบทั่วๆ ไปตัวผู้ยาว 35 เซนติเมตร ตัวเมียยาว 30 เซนติเมตร ลักษณะแสดง ดังภาพที่ 2.4 อาศัยตามชายฝั่งที่ระดับน้ำลึกตั้งแต่ 10-110 เมตร ในอ่าวไทยจับได้มากที่สุดที่จังหวัดชลบุรี ระยะเวลาประจวบคีรีขันธ์ และฝั่งอันดามันมีเนื้อหนาเหนียวรสดีเหมาะกับการประกอบอาหารประเภทปิ้ง ผัด แกงจืดหรือตากแห้ง (กรมประมง, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 หมึกกระดองลายเสือ

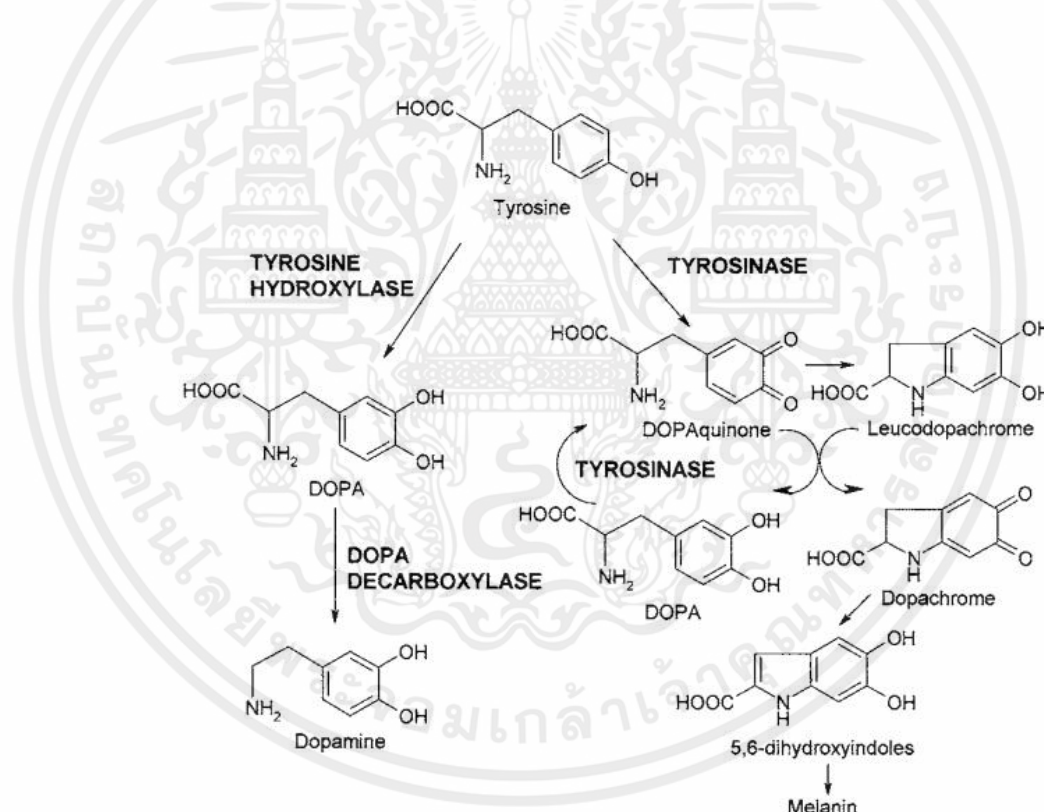
ที่มา : กรมประมง (2557)

2.3 ดินหมึก (Squid ink)

ดินหมึก (squid ink) โดยมากจะอยู่ในถุงหมึก (ink sac) ซึ่งพบได้ในปลาหมึกเกือบทุกชนิด ยกเว้น จำพวก nautilus, finned octopus และจำพวกที่อาศัยอยู่ในมหาสมุทรระดับลึก ดินหมึกมีความสามารถในการละลายได้ดีทั้งในน้ำ และในสารละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล เฮกเซน อะซีโตน เบนซีน และคลอโรฟอร์ม (Harki และคณะ, 1997) โดยถุงหมึกนั้นจะสามารถพบได้ในช่องท้องตอนบนของลำไส้บริเวณด้านหลังของลำไส้ แต่หมึกบางชนิดจะมีถุงหมึกอยู่ในเนื้อเยื่อของตัว ภายในถุงน้ำหมึกบริเวณผนังถุงน้ำหมึก จะมีเซลล์ต่อมน้ำหมึกจำนวนมากซึ่งทำหน้าที่ในการผลิตน้ำหมึกแล้วเก็บสะสมไว้ในถุงน้ำหมึก ส่วนน้ำหมึกที่พร้อมสำหรับพ่นออกทางทวารหนักจะอยู่บริเวณปลายท่อถุงน้ำหมึกใกล้กับบริเวณปาก สีของน้ำหมึกจะมีตั้งแต่สีน้ำตาลจนถึงสีดำเข้ม โดยขึ้นกับชนิดของหมึก การพ่นน้ำหมึกถือเป็นการขับไล่ศัตรูเพื่ออำพรางตัวสำหรับการหลบหนีศัตรู บริเวณปากหมึกจะประกอบด้วยกล้ามเนื้อที่สามารถบีบตัวได้จำนวน 1 คู่ (sphincter) ขณะที่หมึกพ่นน้ำหมึกออกจากทวารหนัก sphincter จะบีบรัดน้ำหมึกเข้าสู่ลำไส้ และพ่นออกมาผ่านทางช่องทวารหนัก (พิมพ์วิไลชู, 2558)

ในต่อมหมึกจะประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนด้านนอกและส่วนด้านใน ซึ่งทั้ง 2 ส่วน จะมีลักษณะเซลล์และสารชีวเคมีที่แตกต่างกัน โดยเซลล์ด้านในต่อมหมึกจะประกอบไปด้วยเซลล์อ่อนๆ ที่ยังไม่สร้างเม็ดสี ซึ่งในส่วนนี้จะมีเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ที่ใช้ในการสังเคราะห์เม็ดสีประกอบอยู่ด้วย ส่วนเซลล์ด้านนอกจะเป็นเซลล์เม็ดสีที่สมบูรณ์แล้ว การสังเคราะห์เม็ดสี จะเกิดขึ้นระหว่างการพัฒนาของเซลล์อ่อนไปเป็นเซลล์สมบูรณ์ เซลล์สมบูรณ์จะเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนส เปลี่ยนไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นเม็ดสีเมลานิน ภายในเมลาโนโซม (melanosomes) จากนั้นเมลานินจะถูกเคลื่อนย้ายไปยังลูเมน (lumen) ของต่อมหมึก ในดินหมึกจึงประกอบไปด้วยเมลานินแกรนูล (melanin granules) และสารชีวเคมีอื่นๆ (Fiore และคณะ, 2004) กระบวนการเกิดเม็ดสีเมลานินในดินหมึก จะเริ่มจากไทโรซีนและ DOPA ถูกเปลี่ยนไปเป็นโด

พาคิวโนน (dopaquinone) โดยเอนไซม์ไทโรซิเนส จากนั้นเกิดการจัดเรียงโครงสร้างใหม่แบบไม่ใช้เอนไซม์ไปเป็นโดพาโครม (dopachrome) แล้วเกิดการจัดเรียงตัวใหม่แบบใช้เอนไซม์ dopachrome-rearranging enzymes (DREs) ให้โดพาโครมเปลี่ยนเป็น DHI (5,6-dihydroxyindole) และ DHICA (5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid) ในอัตราส่วน DHI:DHICA ที่ 5:1 จากนั้น DHI และ DHICA จะถูกเปลี่ยนให้เป็น eumelanin โดยเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) (Derby, 2014) ไทโรซินยังสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) โดยเอนไซม์ไทโรซินไฮดรอกซิเลส (tyrosine hydroxylase) เปลี่ยนไทโรซินไปเป็น DOPA จากนั้นเกิดปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) โดยเอนไซม์โดพาดีคาร์บอกซิเลส (dopa decarboxylase) เปลี่ยน DOPA ไปเป็นโดปามีน (dopamine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทและเป็นฮอร์โมนในกลุ่มของแคททีโคลามีน (catecholamines) (Fiore และคณะ, 2004) ดังภาพที่ 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของดีหมึกแสดง ดังตารางที่ 2.1



ภาพที่ 2.5 เมตาบอลิซึมของไทโรซินในการสังเคราะห์เมลานิน

ที่มา : Fiore และคณะ (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของดีหมึก

องค์ประกอบ	ดีหมึก	Melanin	Melanin-free ink
pH	7.30	-	7.40
น้ำ (ร้อยละ)	65.54	53.40	92.40
ไขมัน (ร้อยละ)	0.18	0.05	0.49
โปรตีน (ร้อยละ)	15.75	15.90	2.51
เถ้า (ร้อยละ)	5.78	6.40	3.81
คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	13.75	24.25	0.79

ที่มา: Neifar และคณะ (2009)

2.4 การทำแห้ง (Drying)

การทำแห้ง หรือการกำจัดน้ำออก (drying) หมายถึง การใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุม เพื่อขจัดน้ำส่วนใหญ่ออกไป โดยการระเหย ระเหิด หรือการใช้กระบวนการออสโมติก ด้วยสารละลายเกลือหรือน้ำตาล (กิตติพงษ์, 2536) เพื่อดึงน้ำออกไป ซึ่งจะไม่รวมกับการขจัดน้ำแบบวิธีอื่นๆ เช่น การแยกโดยทางกล การทำให้เข้มข้นโดยใช้เมมเบรน เนื่องจากกระบวนการเหล่านี้เกิดการขจัดน้ำออกมาน้อย (วิล, 2547) โดยการลดปริมาณน้ำในอาหารลงให้เหลือในระดับต่ำกว่าการทำให้เข้มข้น คือ เหลือความชื้นประมาณ 20% หรือต่ำกว่า

2.4.1 วัตถุประสงค์ของการทำแห้งอาหาร

2.4.1.1 ยืดอายุการเก็บรักษาโดยการเข้าไปลดค่าออกเทอร์แอคทิวิตีซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการทำงานของเอนไซม์

2.4.1.2 ลดน้ำหนักและปริมาณของอาหารซึ่งสามารถลดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาและขนส่ง

2.4.1.3 เพิ่มความหลากหลายและความสะดวกในการใช้แก่ผู้บริโภค

2.5 การทำแห้งแบบแผ่นโฟม (Foam-mat drying)

การทำแห้งแบบแผ่นโฟม จะกระทำโดยการเปลี่ยนอาหารที่อยู่ในสถานะของเหลวหรือกึ่งของเหลวให้อยู่ในรูปของโฟม ที่มีความคงตัวโดยการเติมสารที่ทำให้เกิดโฟม (foaming agents) หรือสารที่ก่อให้เกิดความคงตัว (stabilizing agents) การทำแห้งโดยวิธีนี้มีความซับซ้อนน้อย และมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

กระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟมจะเหมาะกับตัวอย่างที่มีความไวต่อความร้อน มีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและหนืด จนไม่สามารถทำแห้งได้ด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งด้วยวิธีนี้

จะใช้อุณหภูมิที่ไม่สูงมากและใช้เวลาการทำแห้งที่น้อย จึงยังคงทำให้สารอาหารในตัวอย่างไม่สูญเสียมากนัก การทำผงแห้งด้วยวิธีนี้โดยมากจะเหมาะกับการทำแห้งน้ำผลไม้ (Ng และคณะ, 2018)

การทำแห้งวิธีนี้จะกระทำโดยการนำตัวอย่างที่เป็นของเหลวมาทำให้เข้มข้น อาจมีการเติมสารที่ช่วยให้เกิดฟอง (foaming agent) ลงไป ลดอุณหภูมิลงแล้วตี หรืออัดอากาศเข้าไปจนเกิดเป็นลักษณะฟองโปร่ง (foam) จากนั้นจึงนำฟองที่ได้มาเกลี่ยให้เป็นแผ่นแล้วอบแห้งโดยใช้อากาศร้อน โดยเครื่องอบแห้งแบบอุโมงค์แบบต่อเนื่อง เมื่อแห้งอาหารจะมีลักษณะโปร่งและเปราะ สามารถทำให้แตกเป็นแผ่นบางเล็กๆ (flake) ได้ โครงสร้างของชิ้นอาหารเล็กๆ นี้มีรูพรุนเล็กๆ อยู่ทั่วไป ทำให้นำมาคั้นรูปได้ง่าย

วิธีการทำแห้งนี้ เป็นการพัฒนาปรับปรุงการทำแห้งด้วยอากาศร้อนในเครื่องอบแห้งแบบอุโมงค์ลมร้อน เพื่อเพิ่มอัตราเร็วในการทำแห้งและลดเวลาที่ต้องใช้ลง วิธีนี้เสียค่าใช้จ่ายต่ำ ทำได้ง่าย ลักษณะฟองโปร่งของอาหารควรจะเสถียรและอยู่ตัว สามารถนำไปแปะเป็นแผ่นและอบแห้งได้ง่าย ผลลัพท์หลังจากอบแห้งแล้วยังคงคุณภาพดี การนำอาหารมาทำให้มีลักษณะเป็นฟองก่อนการทำแห้งนี้จะช่วยเร่งอัตราเร็วในการทำแห้ง เพราะในระหว่างอบแห้ง ไอน้ำสามารถระเหยผ่านโครงสร้างที่เป็นฟองโปร่งได้ดีกว่า น้ำจะระเหยภายในฟองแล้วจึงซึมผ่านผนังของฟองที่แห้งออกมา การทำให้เกิดฟองก่อนนี้ จะช่วยลดเวลาที่ใช้ทำแห้งลงไปได้ประมาณ 1 ใน 3 ของเวลาที่เคยใช้ นอกจากนั้นยังช่วยควบคุมความหนาแน่นและช่วยให้การกระจายตัวของผลลัพท์ในน้ำเมื่อคั้นรูปเกิดได้ดีขึ้น

อาหารเหลวจะถูกทำให้เข้มข้นเพื่อลดปริมาณน้ำส่วนหนึ่งและทำให้ฟองที่เกิดขึ้นมีความเสถียรภาพมากขึ้น ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้น จะขึ้นอยู่กับแต่ละชนิดของอาหาร การเพิ่มความเข้มข้นมากไปตัวอาหาร อาจเกิดการอัดแน่นสูงซึ่งอาจทำให้อัตราการทำแห้งลดลง อาหารที่ไม่สามารถตีให้เกิดฟอง หรือสามารถตีให้เกิดฟองได้ จะถูกเติมสารเพิ่มความเสถียรภาพ (stabilizer) สารเหล่านี้จะแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ สารที่ทำให้เกิดฟอง (film forming) และสารที่ทำให้ฟองแข็งแรง (stiffening)

สารที่ทำให้เกิดฟอง จะใช้เมื่อในอาหารที่ต้องการทำแห้งนั้นมีปริมาณของสารช่วยลดแรงดึงผิวตามธรรมชาติอยู่ในปริมาณที่ต่ำ สารช่วยลดแรงดึงผิวที่นิยมใช้ เช่น กลีเซอรอล ไมโนสเตียเรท โปรตีนที่ละลายน้ำจากถั่วเหลือง หรืออัลบูมิน (albumin) จากไข่ โดยมากจะใช้ในปริมาณอยู่ที่ร้อยละ 1 โดยประมาณ ส่วนสารที่ช่วยทำให้ฟองแข็งแรงอยู่ตัวนั้น จะใช้เมื่อในอาหารนั้นมีปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำอยู่ในปริมาณที่ต่ำหรือมีความหนืดต่ำ สารที่นิยมใช้ คือ เมทิลเซลลูโลส (methylcellulose) และกัวกัม (guar gum) โดยทั่วไปจะใช้อยู่ในปริมาณร้อยละ 0.5 ของปริมาณของแข็งทั้งหมดในอาหาร

จากนั้นจึงนำอาหารมาทำให้เกิดฟอง ตามปกติฟองที่เกิดขึ้นควรมีความหนาแน่น 0.4-0.6 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นฟองที่ภายในเป็นอากาศมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.1 มิลลิเมตร นำมาเกลี่ยให้เป็นแผ่นมีความหนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ถ้าแผ่นของฟองอาหารนี้มีความหนามากกว่า 3 มิลลิเมตร เวลาที่ใช้ในกระบวนการทำแห้งก็จะนานมากขึ้น ซึ่งอาจจะนานเกินกว่าที่ฟองของอาหารจะคงตัวอยู่ได้ แผ่นฟองที่ถูกป้อนเข้าเครื่องอบแห้งในเวลา 10-20 นาที ที่อุณหภูมิ 135 องศาฟาเรนไฮต์ มีอัตราการผลิตรอยู่ที่ประมาณ 0.3-0.4 ปอนด์อาหารแห้งต่อชั่วโมงต่อพื้นที่ 1 ตารางฟุต ในช่วงที่ฟองยังเปียกอยู่อัตราการทำแห้งจะขึ้นกับความเร็วของลมร้อนที่ใช้พอตัวอย่างเริ่มแห้งอัตราการทำแห้งจะขึ้นกับความชื้นสัมพัทธ์ของลมร้อนที่ใช้

วิธีนี้มีข้อเสีย คือ สามารถใช้ได้กับอาหารเหลวเท่านั้น การเติมสารเพิ่มความคงตัวเข้าไปอาหารแห้งที่ได้จะไม่บริสุทธิ์เนื่องจากมีสารเหล่านี้ปะปนอยู่ ดังนั้นบนฉลากอาหารจะต้องมีการระบุถึงชนิดและปริมาณของสิ่งเจือปน เช่น มีกัมจากธรรมชาติ หรือโปรตีนที่ละลายน้ำปะปนอยู่ อีกทั้งการทำให้เกิดฟองเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน จึงอาจก่อให้เกิดปัญหาด้านเสถียรภาพในการเก็บของอาหารแห้งได้น้อยลง (กิตติพงษ์, 2536)

2.5.1 สารไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids)

สารไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids) หรือกัม (gums) คือ อนุพันธ์โพลีเมอร์สายยาวเป็นกลุ่มของโพลีเมอร์สายโซ่ยาวที่มีลักษณะหลากหลาย โดยมีคุณสมบัติในการกระจายตัวในน้ำ เพื่อทำให้เกิดความหนืด หรือเกิดเจล วัตถุประสงค์เหล่านี้มีการค้นพบครั้งแรกจากการหลังสารมาจากต้นไม้หรือพุ่มไม้ สารสกัดจากพืช สาหร่าย แป้งที่ได้มาจากธัญพืช กัมที่ได้จากกระบวนการหมัก และยังสามารถพบสารไฮโดรคอลลอยด์ได้จากจากแหล่งธรรมชาติอื่นๆ อีกมากมาย สารไฮโดรคอลลอยด์จะประกอบไปด้วยหมู่ของไฮดรอกซิลจำนวนมาก จึงมีความสามารถในการจับกับน้ำมากตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสารไฮโดรคอลลอยด์ มีความสามารถในการกระจายตัวอยู่ตรงกลางระหว่างสารที่แขวนลอยกับของเหลว ซึ่งเป็นการแสดงถึงคุณสมบัติของคอลลอยด์

สารไฮโดรคอลลอยด์มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่มากมายในอาหาร ได้แก่ เพิ่มความหนืด ทำให้เกิดเจล เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) เป็นสารเพิ่มความคงตัว และสารเคลือบ เป็นต้น ไฮโดรคอลลอยด์ส่งผลอย่างมากต่อคุณสมบัติของอาหาร พบว่าการใช้ carrageenan เพียงไม่กี่ ppm สามารถช่วยให้ระบบคอลลอยด์ในผลิตภัณฑ์นม ทนความร้อนได้มากขึ้น เหตุผลหลักที่มีการใช้สารไฮโดรคอลลอยด์ในอาหารกันอย่างกว้างขวางเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงรีโอโลยี (rheological properties) ซึ่งประกอบไปด้วย 2 คุณลักษณะ คือ สมบัติเชิงรีโอโลยีของอาหารเหลว ได้แก่ ความหนืด (viscosity) และสมบัติเชิงรีโอโลยีของอาหารแข็งหรือกึ่งแข็ง ได้แก่ ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) การปรับเปลี่ยนเนื้อสัมผัส หรือความหนืดในอาหาร จะช่วยทำให้คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ดังนั้น สารไฮโดรคอลลอยด์จึงถูกใช้เป็นตัวเจือปนอาหารที่สำคัญ

เพื่อการใช้งานตามวัตถุประสงค์ที่จำเพาะเจาะจง จะเห็นได้ว่าสารไฮโดรคอลลอยด์หลายชนิดจัดอยู่ในหมวดหมู่ของวัตถุเจือปนอาหารที่ได้รับอนุญาตในหลายประเทศทั่วโลก สูตรอาหารต่างๆไม่ว่าจะเป็นซूप น้ำเกรวี่ (gravies) น้ำสลัด ซอส และท็อปปิ้ง (toppings) ล้วนแต่ใช้สารไฮโดรคอลลอยด์เป็นสารเติมแต่งเพื่อให้เกิดความหนืดและความรู้สึกในปาก (mouth feel) ตามที่ต้องการ อีกทั้งยังพบว่ามีการใช้ในอาหารอื่นๆ อีกด้วยไม่ว่าจะเป็น ไอศกรีม แยม เจลลี่ วุ้น เค้ก ขนมหวานเพื่อปรับปรุงเนื้อสัมผัส (Valdez, 2012)

2.5.2 การแบ่งชนิดของไฮโดรคอลลอยด์

2.5.2.1 สารไฮโดรคอลลอยด์ที่มีแหล่งที่มาจากธรรมชาติ (natural hydrocolloids) ซึ่งจะได้จากส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ ส่วนของยางและเมล็ด เช่น กัมอาราบิก (gum arabic) โลคัส บีนกัม (locust bean gum) ส่วนของรากและลำต้น เช่น แปะ ส่วนที่มาจากสาหร่าย เช่น คาร์ราจีแนน (carrageenan) พงวุ้น (agar) ส่วนที่มาจากสัตว์ เช่น ไคติน (chitin) เจลาติน (gelatin) หรือได้จากการบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แซนแทนกัม (xanthan gum)

2.5.2.2 สารไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากการดัดแปรของสารที่มาจากธรรมชาติ (modified natural hydrocolloids) ได้แก่ อนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น carboxymethyl cellulose (CMC)

2.5.2.3 สารไฮโดรคอลลอยด์ที่มาจากสังเคราะห์ (synthetic hydrocolloids) เช่น โพลีเอทิลีนออกไซด์โพลีเมอร์ (polyethylene oxide polymers)

2.5.3 เซลลูโลสดัดแปร

เซลลูโลสดัดแปรถูกใช้ในอาหารกันอย่างแพร่หลายในการปรับปรุงความหนืด ความคงตัวและสมบัติเชิงรีโอโลยี การผลิตกัมเซลลูโลส (cellulose gum) ซึ่งสารในกลุ่มนี้ ประกอบด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl (methylhydroxypropyl) cellulose, HPMC) ไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส (hydroxypropyl cellulose) และเอทิลเซลลูโลส (ethyl cellulose) การใช้งานกัมเซลลูโลส ในอาหารนั้น พบว่าสารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความหนืด และความสามารถในการจับกับน้ำในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ผลิตภัณฑ์นม เช่น ไอศกรีมและในผลิตภัณฑ์อื่นๆ อีกมากมาย เมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส มีความสามารถในการทำให้เกิดเจลได้เมื่อให้ความร้อน ใช้เสริมเกิดความคงตัวในซอสและใช้ในการทำไส้ในอาหาร (filling) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสและไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส สามารถใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในการเพิ่มความคงตัวของโฟมและอิมัลชัน โดยทั่วไปจะมีที่มาจากไม้ หรือฝ้าย ในฝ้ายจะมีน้ำหนักรวมของโมเลกุลที่มากกว่า จึงเหมาะกับการใช้ในการทำเซลลูโลสอีเทอร์ (cellulose ethers) ที่มีความหนืดสูงๆ

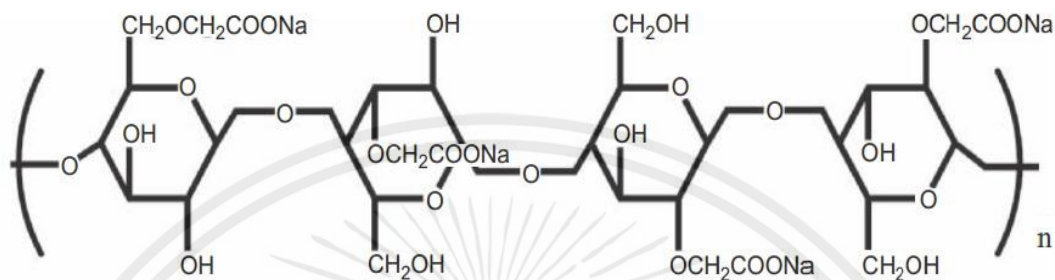
เซลลูโลสเกิดจากการต่อของเซลโลไบโอส (cellobiose) ในแต่ละหน่วยของเซลโลไบโอส จะประกอบไปด้วยแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose, AGU) 2 หน่วย AGU จะเชื่อมกันด้วยพันธะ β -(1,4)- glycosidic linkages ดังนั้นจำนวนของ AGU จะสามารถบอก Degree of polymerisation (DP) หรือ จำนวนโดยประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่อยู่ในสายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสได้ใน AGU แต่ละหน่วยจะประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups, -OH) จำนวน 3 ตัว โดยหมู่ไฮดรอกซิลจะเป็นบริเวณที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ เช่น การถูกแทนที่ด้วยหมู่อื่น เพื่อให้เกิดการสังเคราะห์ของเซลลูโลสตัดแปรในลักษณะต่างๆ จำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลที่ถูกแทนที่หลังจากเกิดปฏิกิริยาจะเรียกว่า degree of substitution (DS) ในกระบวนการทำเซลลูโลสตัดแปรจะเริ่มจากการนำเชื้อเซลลูโลสไปผสมกับสารละลายต่าง สารละลายต่างจะเข้าไปทำลายส่วนผลึกของเซลลูโลส ทำให้โพลิเมอร์ของเซลลูโลสเกิดการพองตัว และเกิดอันตรกิริยาอย่างสม่ำเสมอ ปฏิกิริยาจะถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิสูง ในโตรเจนในอากาศจะป้องกันการย่อยสลายโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative degradation) เซลลูโลสอีเทอร์จะถูกสร้างจากปฏิกิริยา williamson etherification หรือปฏิกิริยา alkoxylation โดย alkaline cellulose จะเข้าทำปฏิกิริยากับ sodium chloroacetate methyl chloride ethyl chloride หรือ propylene oxide เพื่อฟอร์มเป็น carboxymethyl cellulose methyl cellulose ethyl cellulose หรือ hydroxypropyl cellulose ตามลำดับ ในบางกรณี alkaline cellulose อาจเข้าทำปฏิกิริยามากกว่า 1 ตัว เช่น methylhydroxypropyl cellulose หรือ hydroxypropylmethyl cellulose (Imeson, 2010)

2.5.4 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC)

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส หรือเรียกกันในอีกชื่อหนึ่งว่ากัมเซลลูโลส สามารถละลายได้ดีในน้ำ ทนได้ในช่วง pH ที่กว้างแต่มีความคงตัวได้ดีที่ pH เป็นกลาง ยังมีค่า DS มากขึ้นก็ยิ่งทนต่อสภาวะเป็นกรดได้มากขึ้นตามไปด้วย เซลลูโลสตัดแปรจะที่แตกตัวให้ประจุลบ สีของผงมีตั้งแต่สีน้ำตาลอ่อนไปจนถึงสีขาว ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสชาติ อนุภาคผงจะดูดความชื้นได้ดี กัมเซลลูโลสถูกจัดอยู่ในรายชื่อของ GRAS (generally recognized as safe) ที่ควบคุมอยู่ภายใต้ข้อกำหนด US Code of Federal Regulations (CFR) ในหัวข้อที่ 21 ในส่วนที่ 182.1745 คำจำกัดความเกี่ยวกับลักษณะและความบริสุทธิ์ของกัมเซลลูโลสถูกกำหนดไว้โดย Food Chemical Codex และองค์การอนามัยโลกแห่งสหประชาชาติ (FAO/WHO) ซึ่งกล่าวไว้ว่าจะต้องมีความบริสุทธิ์อย่างน้อยร้อยละ 99.5

ความสามารถการละลายจะขึ้นกับจำนวนโดยประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่อยู่ในสายพอลิเมอร์ (degree of polymerisation, DP) และจำนวนการแทนที่และความสม่ำเสมอของหมู่คาร์บอกซีเมทิล (carboxymethyl) โดยระดับการแทนที่ (degree of substitution, DS) จะบ่งบอกถึงจำนวนของหมู่คาร์บอกซีเมทิลที่มาแทนที่ต่อแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose, AGU) 1

หน่วย ในแต่ละ AGU จะมีด้านที่สามารถถูกแทนที่ได้ 3 ด้าน ดังภาพที่ 2.6 ในทางทฤษฎีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสสามารถมี DS สูงสุดอยู่ที่ 3 อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงการมี DS ในระดับที่สูงก็มิได้อาจแสดงถึงประสิทธิภาพที่ดี คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่อยู่ในระดับเชิงพาณิชย์จะมี DS สูงถึง 1.5 แต่ถ้าหาก DS มีค่าน้อยกว่า 0.4 จะส่งผลให้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสไม่ละลายน้ำ



ภาพที่ 2.6 แสดง โครงสร้างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในอุดมคติ

ที่มา : Imeson (2010)

เซลลูโลสตัดแปรเป็นโพลิเมอร์สายยาว ความยาวของโพลิเมอร์จะส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อความสามารถในการละลายและคุณลักษณะของสารละลาย น้ำหนักโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจะพิจารณาจากค่า DP และจำนวนของหมู่ที่มาแทนที่ น้ำหนักโมเลกุลและค่า DP โดยเฉลี่ยของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในระดับพาณิชย์แสดง ดังตารางที่ 2.2 การเพิ่มน้ำหนักโมเลกุลเพียงเล็กน้อยก็มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นอย่างมาก การลดค่า DP ลง จะทำให้ความสามารถในการละลายดีขึ้น การมีค่า DS เหมือนกันแต่ค่า DP แตกต่างก็ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการละลายที่ไม่เท่ากัน นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของการแทนที่ (DS) ด้วยหมู่คาร์บอกซีเมทิลทำให้ความสามารถในการละลายดีขึ้นเช่นกัน คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีความสามารถในการละลายน้อยจะมีความหนืดที่สูงและมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding) ได้สูงกว่าตัวที่ละลายได้ดี (Imeson, 2010)

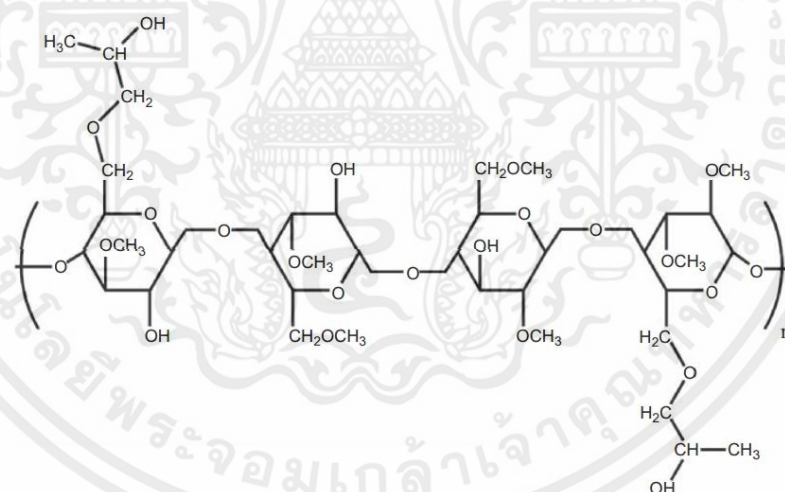
ตารางที่ 2.2 น้ำหนักโมเลกุลที่สอดคล้องกับค่า DP ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ที่ DS=0.7)

Degree of polymerisation (DP)	น้ำหนักมวลโมเลกุล
3,200	700,000
1,100	250,000
400	90,000

ที่มา : Imeson (2010)

2.5.5 ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl cellulose, HPMC)

ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl cellulose, HPMC) หรือ เมทิลไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส (methylhydroxypropyl cellulose, MHPC) สังเคราะห์จาก เซลลูโลส โดยเริ่มจากปฏิกิริยา alkoxylation ได้เป็น alkaline cellulose จากนั้น alkaline cellulose จะเข้าทำปฏิกิริยากับ methyl chloride และ propylene oxide เพื่อฟอร์มเป็น HPMC โดยทั่วไป HPMC จะมีค่า DS อยู่ที่ 1.0-2.3 เป็นเซลลูโลสคัดแปรที่ไม่มีประจุ (nonionic) ละลายได้ดีในน้ำเย็น อนุภาคผงมีสีขาวสว่าง ไม่มีกลิ่นและรสชาติ คุณความชื้นได้น้อยกว่ากัมเซลลูโลส HPMC ถูกจัดอยู่ในรายชื่อของ GRAS (generally recognized as safe) ที่ควบคุมอยู่ภายใต้องค์กร US Code of Federal Regulations (CFR) ในหัวข้อที่ 21 ในส่วนที่ 172.874 คำจำกัดความเกี่ยวกับลักษณะและความบริสุทธิ์ HPMC ถูกกำหนดไว้โดย Food Chemical Codex และองค์การอนามัยโลกแห่งสหประชาชาติ (FAO/WHO) ความสามารถในการละลายจะมีอิทธิพลจากค่า DP DS และค่า MS แต่ค่า MS จะมีอิทธิพลต่อความสามารถในการละลายมากกว่า เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับค่า DS โดยพบว่า ณ ที่ MS เท่ากัน HPMC ที่มี DP มากกว่าจะมีความสามารถในการละลายได้น้อยกว่าตัวที่มี DP น้อยๆ (Imeson, 2010) ดังภาพที่ 2.7

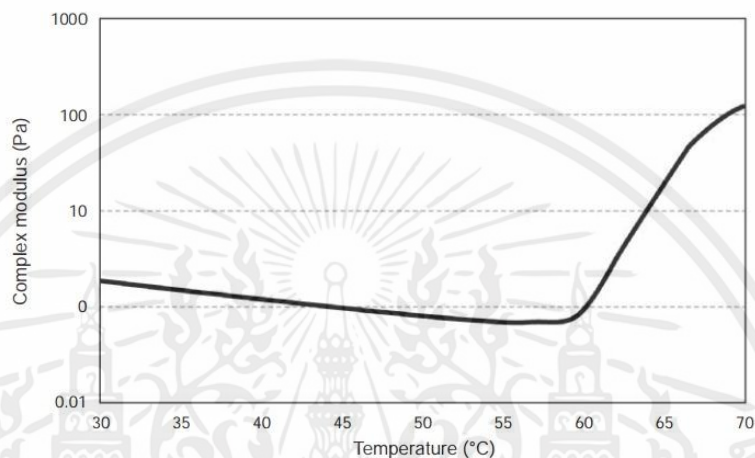


ภาพที่ 2.7 โครงสร้างในอุดมคติของไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส

ที่มา : Imeson (2010)

การประยุกต์ใช้ในอาหารพบว่า HPMC ละลายได้น้อยในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง แต่สามารถเกิดเจลได้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและสามารถตกตะกอนได้ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นไปเรื่อยๆ การละลายของ HPMC เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในช่วงแรกพบว่าความหนืดของสารละลายจะลดลง เมื่ออุณหภูมิเพื่อขึ้นไปเรื่อยๆจนถึงอุณหภูมิที่ทำให้เป็นเจล ความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังภาพที่ 2.8 เนื่องจากโพลิเมอร์เกิดการสูญเสียน้ำจากความร้อน เพราะการจับกันระหว่าง

น้ำกับโพลีเมอร์ (water-polymer) ที่ไม่แข็งแรง อีกทั้งเกิดการจับกันระหว่างโพลีเมอร์กับโพลีเมอร์ (polymer-polymer) แน่นมากขึ้น โมเลกุลของน้ำจะเข้าไปสร้างพันธะไฮโดรเจนบริเวณหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของโพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) แต่ความร้อนจะเข้าไปขัดขวางการจับกันของโมเลกุลน้ำที่จะเข้าไปจับกับพันธะระหว่างโพลีเมอร์กับโพลีเมอร์ อุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลและเนื้อสัมผัสของเจล จะขึ้นอยู่กับระดับและชนิดของหมู่ที่เข้ามาแทนที่ในเซลลูโลสตัดแปรรูป



ภาพที่ 2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ (แกน X) และความหนืด (แกน Y) ของสารละลาย methyl cellulose โดยทั่วไป
ที่มา : Imeson (2010)

HPMC ยังมีอีกคุณสมบัติหนึ่ง คือ สามารถเป็นสารลดแรงตึงผิวเนื่องจากในโมเลกุลมีหมู่ที่ไม่ชอบน้ำอยู่เล็กน้อย จะลดแรงตึงผิวได้มากหรือน้อย จะขึ้นอยู่กับระดับและชนิดของหมู่ที่เข้ามาแทนที่ ดังตารางที่ 2.3 HPMC จึงมักถูกใช้ในงานในด้านการทำอิมัลชัน (emulsion) ทำให้สารละลายสามารถเก็บกักอากาศได้นานขึ้นจึงมักใช้ในการเสริมความคงตัวของโฟม (Imeson, 2010)

ตารางที่ 2.3 ความสามารถในการลดแรงตึงผิวของสารละลาย methyl cellulose (MC) และ hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC)

ชนิด	แรงตึงผิว (dynes/cm)
น้ำ	72
MC	50-55
HPMC	46-51

ที่มา : Imeson (2010)

2.6 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)

การทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ คือ จะไม่มีการใช้ความร้อนเพื่อทำให้น้ำระเหยออกจากอาหาร แต่จะใช้สภาวะที่ทำให้น้ำสามารถระเหิดจากอาหารแทน โดยในกระบวนการจะใช้อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของอาหาร และใช้ความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศ น้ำแข็งในอาหารจะระเหิดเป็นไอน้ำทำให้ความชื้นของอาหารลดลง ชื้นอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเกิดการหดตัวน้อย โครงสร้างของชื้นอาหารแห้งจึงมีรูพรุนและอัตราการคินรูปสูง ชั้นแรกของการอบแห้งแบบการระเหิด คือ การนำชื้นอาหารไปแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็วก่อน เพื่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กเพื่อไม่ให้โครงสร้างของอาหารเกิดการฉีกขาด อันเนื่องมาจากผลึกน้ำแข็งที่เกิด ส่วนอาหารที่เป็นของเหลวจะนำไปแช่เยือกแข็งแบบช้า เพื่อให้เกิดผลึกของน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่ทำให้อไอน้ำระเหิดออกมาได้ง่าย ที่สภาวะความดัน 4.579 มิลลิเมตรของปรอท ณ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ที่จุดนี้ น้ำจะมีสถานะเป็นทั้งของเหลว ของแข็ง และไอน้ำ ดังนั้นการลดความดันไอน้ำให้อยู่ต่ำกว่า 4.579 มิลลิเมตรของปรอท โดยคุมอุณหภูมิที่ยังทำให้น้ำเป็นสถานะของแข็งอยู่ น้ำแข็งที่ได้จึงจะสามารถระเหิดกลายเป็นไอได้ (ไพบูลย์, 2532)

ลักษณะการระเหิดของน้ำแข็งในสภาวะอุดมคติ ที่ช่วงของส่วนที่เป็นน้ำแข็งและส่วนของที่แห้ง ความชื้นในตัวอย่างจะลดลงจากความชื้นตั้งต้น (m_0) เหลือเท่ากับความชื้นสุดท้ายเมื่อแห้ง (m_f) ทันที แต่ในความเป็นจริงพบว่าลักษณะเช่นนี้ไม่ได้เกิดขึ้น โดยจะมีช่วงต่อซึ่งความชื้นค่อยๆ ลดลงจากความชื้นตั้งต้นเหลือเท่ากับความชื้นสุดท้าย ซึ่งส่วนนี้เรียกว่า transition region ซึ่งไม่มีน้ำแข็งเหลืออยู่ แต่ความชื้นยังคงสูงกว่าความชื้นสุดท้ายอยู่ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าช่วงนี้เกิดขึ้นแคบมาก (กิตติพงษ์, 2536)

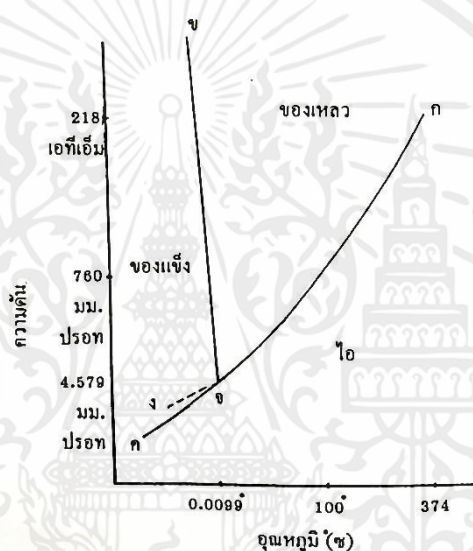
ความสัมพันธ์ระหว่างสถานะของแข็ง ของเหลว และก๊าซของน้ำเกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหารหลายชนิด เช่น การอบแห้ง การทำให้เข้มข้น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำให้เย็นภายใต้สูญญากาศ และการแช่เยือกแข็ง ซึ่งความสัมพันธ์เหล่านี้สามารถอธิบายได้โดยแผนภาพวัฏภาคของน้ำ โดยจะแสดงให้เห็นลักษณะทางกายภาพของน้ำบริสุทธิ์ที่แตกต่างกันของระบบ ได้แก่ น้ำแข็ง น้ำ และไอน้ำ ดังภาพที่ 2.9 เส้น กจ แสดงว่าความสมดุลของเหลวและไอ หรืออาจเรียกว่าเส้นกราฟของจุดเดือด เส้น กข แสดงความสมดุลของไอและของแข็ง หรืออาจเรียกว่าเส้นกราฟการระเหิด และเส้น ขจ แสดงความสมดุลของของแข็งและของเหลว หรืออาจเรียกว่าเส้นกราฟของจุดหลอมเหลว

โมเลกุลน้ำที่อยู่บนเส้น กจ จะกลายเป็นของเหลวทั้งหมด เมื่อเพิ่มความดันสูงขึ้นหรือลดอุณหภูมิลง และสามารถกลายเป็นไอทั้งหมด เมื่อลดความดันลงหรือเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น จุด ก แทนอุณหภูมิวิกฤตของน้ำ หรือที่ 374 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้จะพบว่าสถานะของเหลวและไอไม่สามารถแบ่งแยกออกให้ชัดเจนได้

โมเลกุลน้ำที่อยู่บนเส้น คจ จะกลายเป็นไอทั้งหมด เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นหรือลดความดันลง และสามารถกลายเป็นของแข็งทั้งหมด เมื่อลดอุณหภูมิลงหรือเพิ่มความดันสูงขึ้น

เส้น งจ เป็นเส้นที่แสดงความดันไอของน้ำที่ซูปเปอร์คูล เพราะว่าน้ำที่ซูปเปอร์คูล จะมีค่าความดันไอบางกว่าน้ำแข็งที่อุณหภูมิเดียวกัน น้ำที่อยู่ช่วงซูปเปอร์คูลจะไม่อยู่ตัวและจะเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นน้ำแข็งทันที ถ้ามีผลึกน้ำแข็งเล็กๆอยู่ในระบบ

เส้นทุกเส้นมาตัดกันที่จุด จ ซึ่งเกิดขึ้น ณ อุณหภูมิ 0.0099 องศาเซลเซียส ความดัน 4.579 มิลลิเมตรปรอท จุดนี้จะเรียกว่าจุด triple point ซึ่งเป็นจุดที่แสดงว่าทั้งสามสถานะอยู่ในสภาวะสมดุล (ไพบูลย์, 2532)



ภาพที่ 2.9 แสดงแผนภาพวัฏภาคของน้ำบริสุทธิ์

ที่มา : ไพบูลย์ (2532)

2.7 กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)

เป็นวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมกับอาหารเหลว อาหารจะถูกทำให้กระจายเป็นอนุภาคเล็กๆ ซึ่งมีเส้นศูนย์กลางประมาณ 10-200 ไมโครเมตร และพ่นเข้าไปในกระแสร้อนที่อุณหภูมิ 150-300 องศาเซลเซียส ในถังอบขนาดใหญ่ที่มีการควบคุมอัตราการส่งวัตถุดิบ เพื่อให้อุณหภูมิของอากาศที่จุดทางออกเท่ากับ 90-100 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการทำแห้งสั้น คือ ประมาณ 1-10 วินาที เนื่องจากอนุภาคอาหารที่ถูกพ่นจะมีสัดส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง จึงทำให้มีการถ่ายเทความร้อนของมวลสารสูง อุณหภูมิของอาหารจะไม่สูงกว่าอุณหภูมิกระเปาะเปียกของตัวกลางให้ความร้อนที่ใช้มากนัก จึงเกิดความเสียหายจากความร้อนที่น้อย อาหารที่แห้งแล้วจะลอยตัวอยู่ในอากาศ แล้วจึงผ่านเข้าเครื่องแยก ซึ่งจะแยกอาหารแล้วเก็บรวมไว้ สำหรับขั้นตอนการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะประกอบด้วย 4 ขั้นตอน (Masters, 1991)

ขั้นที่ 1 การทำให้ของเหลวเป็นละอองฝอย (atomization of feed into a spray)

ในขั้นตอนนี้ของเหลวจะถูกฉีดเป็นละอองฝอยผ่านหัวฉีด (atomizer) โดยชนิดของหัวฉีดที่ใช้และลักษณะในการป้อนจะสามารถส่งผลต่อขนาดอนุภาคที่ได้ ขั้นตอนนี้จัดเป็นขั้นตอนสำคัญในการผลิต เนื่องจากส่งผลต่อการระเหยน้ำ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดพื้นที่ผิวของอนุภาคแตกต่างกัน หัวฉีดที่ใช้สำหรับเครื่องการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีอยู่ 3 ชนิดใหญ่ๆด้วยกัน คือ

(1) หัวฉีดแบบแรงดัน (pressure nozzle atomizer) หัวฉีดแบบนี้จะใช้ความดันสูงในการอัดของเหลวผ่านช่องเปิดเล็กๆ แรงดันที่ใช้จะอยู่ในช่วง 3.6 – 4.4 เมกะนิวตันต่อตารางเมตร พลังงานจากแรงดันสูงจะทำให้ของเหลวออกมาเป็นละอองขนาดเล็ก (กิตติพงษ์, 2536) โดยไม่ต้องใช้อากาศ แต่เกิดการอุดตันและสึกกร่อนได้ง่าย (Mujumdar, 2011) โดยขนาดอนุภาคที่ได้จะเฉลี่ยอยู่ในช่วง 120 – 250 ไมครอน โดยขนาดอนุภาคจะแปรผันตรงกับอัตราการป้อนของของเหลวและความหนืดจะแปรผกผันกับความดัน ดังภาพที่ 2.10 (เอกคณัย, 2548)

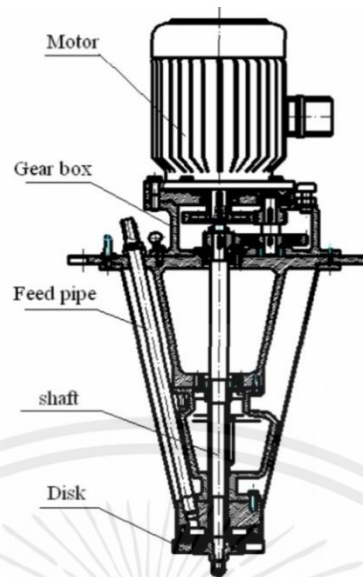


ภาพที่ 2.10 หัวฉีดแบบแรงดัน (pressure nozzle atomizer)

ที่มา : PM Industries And Process Equipments Private Limited (2019)

(2) หัวฉีดแบบหมุน (rotary atomizer) หัวฉีดแบบนี้จะมีลักษณะเป็นจานหมุน ที่ขอบจานหมุนจะมีช่องเปิด ของเหลวจะถูกป้อนเข้าตรงกลางและถูกเหวี่ยงออกมาตามแนวช่องเปิดที่บริเวณขอบจานหมุน ลักษณะของจานจะมีรูปร่างหลากหลาย มีขนาดและความเร็วรอบที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ขนาด 2 นิ้ว หมุนด้วยความเร็วรอบ 50,000 รอบต่อนาที ไปจนถึงขนาด 30 นิ้ว หมุนด้วยความเร็วรอบ 3,450 รอบต่อนาที ละอองของเหลวที่ได้จะมีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอไปตั้งแต่ 30-120 ไมครอน (เอกคณัย, 2548) เหมาะกับอาหารที่มีความหนืดสูงและไม่ค่อยเป็นเนื้อเดียวกัน หัวฉีดแบบนี้เกิดการอุดตันหรือสึกกร่อนได้ต่ำกว่าหัวฉีดชนิดอื่น (กิตติพงษ์, 2536) ดังภาพที่ 2.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

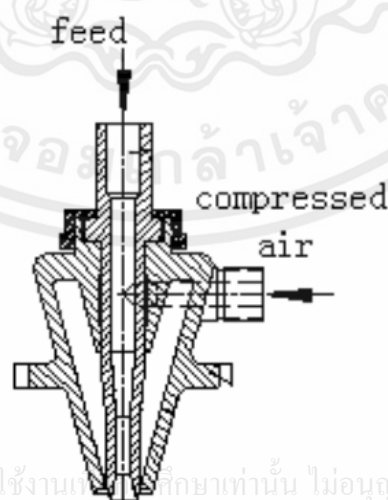


ภาพที่ 2.11 หัวฉีดแบบหมุน (rotary atomizer)

ที่มา : Mujumdar (2011)

(3) หัวฉีดแบบทูลูอิด (two-fluid nozzle atomizer, pneumatic nozzle atomizer)

หัวฉีดแบบนี้ของเหลวและอากาศจะไหลผ่านเข้าหัวฉีด ซึ่งจะทำให้ของเหลวแตกออกเป็นละอองเล็กๆ ได้ เนื่องจากการไหลผ่านของอากาศด้วยความเร็วสูงภายในหัวฉีด การกระจายตัวเป็นละอองของของเหลว จะขึ้นอยู่กับการปรับอัตราการไหลของอากาศ ขนาดอนุภาคจะไม่สม่ำเสมอ กิตติพงษ์ (2536) หัวฉีดชนิดนี้จะเหมาะสำหรับของเหลวที่มีความหนืดมากและให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ (เอกคณัย, 2548) ดังภาพที่ 2.12



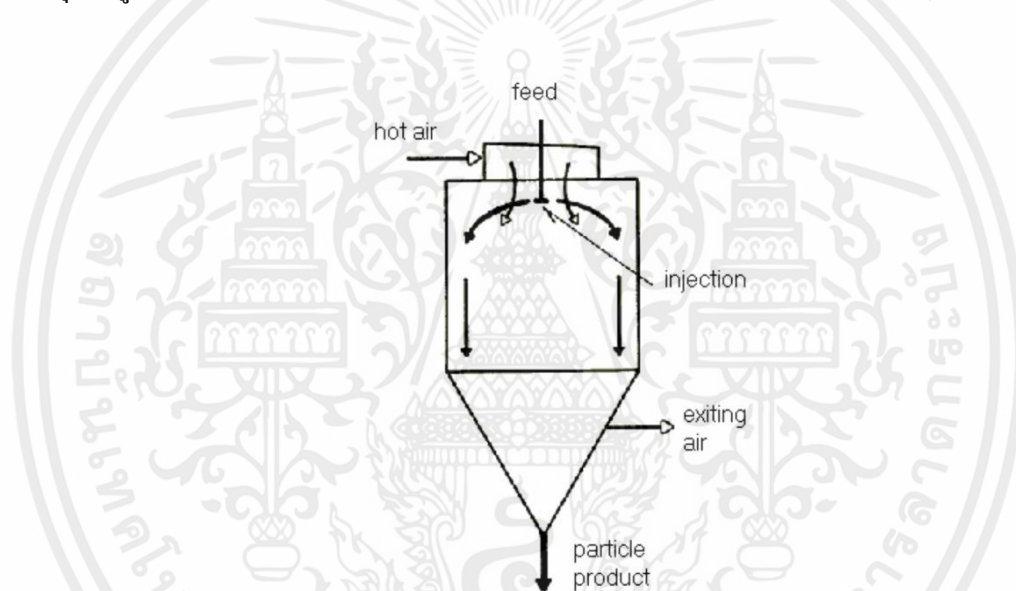
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้ง **ภาพที่ 2.12 หัวฉีดแบบทูลูอิด (two-fluid nozzle atomizer, Pneumatic nozzle atomizer)** ี่

ที่มา : Mujumdar (2011)

ขั้นที่ 2 การสัมผัสระหว่างอนุภาคของของเหลวกับอากาศร้อน (spray-air contact)

ในขั้นตอนนี้อุณหภูมิของเหลวที่ถูกพ่นมาเป็นละอองจากหัวฉีดจะสัมผัสกับอากาศร้อน ซึ่งมีหน้าที่เป็นตัวกลางทำให้น้ำระเหยออกจากของเหลว ดังนั้นการกำหนดทิศทางของการเคลื่อนที่ของอากาศร้อนจึงเป็นสิ่งสำคัญมาก เนื่องจากจะมีผลต่อการถ่ายเทความร้อน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับลักษณะของของเหลวที่ต้องการทำแห้ง คุณภาพและลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ต้องการ การสัมผัสระหว่างอนุภาคอาหารกับอากาศร้อนแบ่งได้ 3 แบบ คือ

(1) การไหลแบบทิศทางเดียวกัน (co-current flow) อาหารเหลวจะถูกพ่นออกไปในทิศทางเดียวกับคร้อนที่ไหลเข้า ดังภาพที่ 2.13 วิธีนี้เหมาะกับสารละลายที่ไม่ทนต่อความร้อน เนื่องจากน้ำในตัวอย่างจะเกิดการระเหยอย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้นมาก อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์จะต่ำกว่าอุณหภูมิของอากาศร้อนขาออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความหนาแน่นต่ำ (เอกคณัย, 2548)

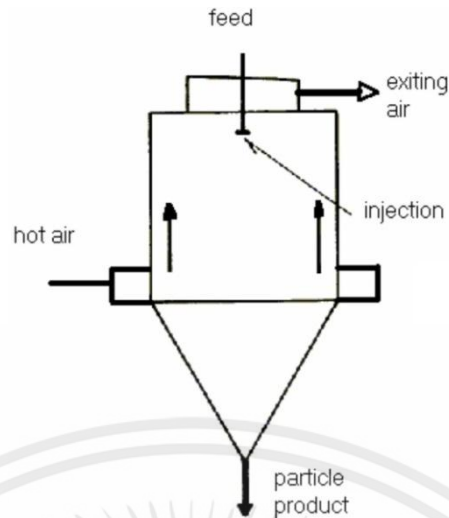


ภาพที่ 2.13 การไหลแบบทิศทางเดียวกัน (co-current flow)

ที่มา : Mujumdar (2011)

(2) การไหลแบบสวนทางกัน (counter-current flow) อาหารเหลวที่ถูกพ่นและลมร้อนจะไหลในทิศทางตรงข้ามกัน ดังภาพที่ 2.14 โดยเริ่มจากอนุภาคของอาหารที่มีอุณหภูมิต่ำได้รับความร้อนจนมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งเท่ากับอุณหภูมิของลมร้อนในระบบ ลักษณะนี้จะมี การถ่ายโอนความร้อนอย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะกับอาหารที่ทนต่อความร้อนสูงและต้องการ ความร้อนมาก (เอกคณัย, 2548)

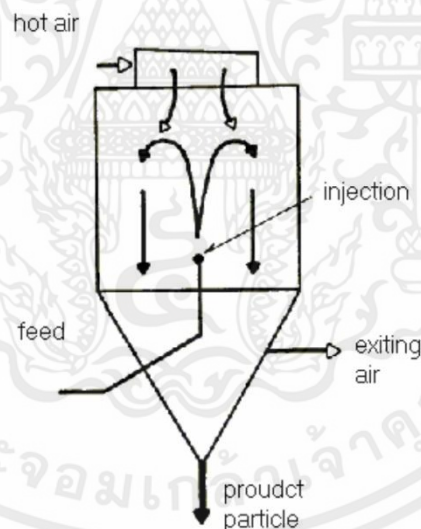
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.14 การไหลแบบสวนทางกัน (counter-current flow)

ที่มา : Mujumdar (2011)

(3) การไหลแบบผสมกัน (mixed-current flow) สารละลายและลมร้อนในระบบจะไหลไปในทิศทางเดียวกันและสวนทางในเวลาพร้อมๆกัน ดังภาพที่ 2.15



ภาพที่ 2.15 การไหลแบบผสมกัน (mixed-current flow)

ที่มา : Mujumdar (2011)

ขั้นที่ 3 การระเหยของละอองฝอย (evaporation stage)

การระเหยน้ำของอนุภาคของเหลวที่ถูกพ่นฝอยจะมีการถ่ายเทความร้อน ซึ่งการระเหยของน้ำจะเกิดขึ้นในช่วงอัตราการอบแห้งคงที่ (constant-rate period) ซึ่งกระบวนการนี้เป็นการทำให้อนุภาคร้อนขึ้นหรือมีอุณหภูมิสูงขึ้นจากการนำความร้อนและการพาความร้อน โดยอัตราการระเหย

น้ำจะขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิของลมร้อน ความชื้นสัมพัทธ์ คุณสมบัติในการถ่ายเทของอากาศ ขนาดอนุภาค อุณหภูมิของอนุภาค ความเร็วลมร้อน การอบแห้งแบบพ่นฝอยจะเกิดขึ้นในเวลาอันสั้น เนื่องจากมีพื้นที่ผิวของอนุภาคที่มากจึงเกิดการระเหยน้ำได้อย่างรวดเร็ว

ขั้นที่ 4 การแยกอาหารผงออกจากระบบทำแห้ง (dry product recovery)

อาหารผงที่ได้จะตกลงสู่พื้นล่างของภาชนะอบแห้ง เนื่องจากอนุภาคดังกล่าวจะมีน้ำหนักเบาและจะถูกดูดออกไปโดยแรงพัดลม (blower) ส่งออกมาตามท่อลมออก อาหารแห้งนี้สามารถแยกออกจากอากาศร้อนด้วยระบบไซโคลน (cyclone separator) ซึ่งสามารถแยกเอาอากาศกับอนุภาคของแข็งออกจากกันได้โดยอาศัยแรงเหวี่ยง

2.8 เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy เป็นเทคนิคด้าน infrared spectroscopic ที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพอลิเมอร์ในโมเลกุล รวมถึงที่เป็นองค์ประกอบอยู่ใน โมเลกุลของสารผสมตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด อีกทั้งยังใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบน้อยกว่าวิธีอื่นๆ

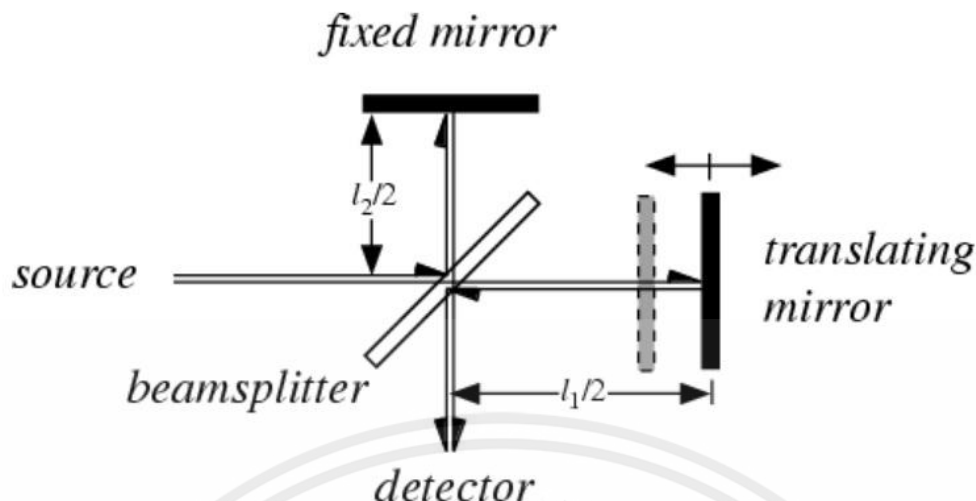
Infrared (IR) spectroscopy เป็นเทคนิคหนึ่งใน spectroscopic ทั่วไปที่ใช้ในทางเคมีอินทรีย์และเคมีอนินทรีย์ โดยการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของตัวอย่างที่มีความถี่ต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธะ

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์โครงสร้างของสาร โดยการตรวจวัดคลื่นรังสีในช่วงอินฟราเรด ที่อยู่ในช่วงเลขคลื่น (wave number) ที่ $12800-10\text{ cm}^{-1}$ โดยสามารถตรวจวัดตัวอย่างได้ทั้งของแข็ง ของเหลว และก๊าซ

สำหรับอุปกรณ์อินเตอร์เฟอโรมิเตอร์นั้น จะประกอบไปด้วยกระจกแบนราบ (planar mirrors) 2 แผ่นที่วางทำมุมตั้งฉากกัน โดยจะมี 1 แผ่นวางอยู่กับที่ (fixed mirror) ในขณะที่กระจกอีกแผ่นจะสามารถเคลื่อนที่กลับไปกลับมาได้ด้วยความเร็วคงที่ในทิศทางที่ตั้งฉากกับระนาบของผิวกระจกที่อยู่กับที่

นอกจากนี้ยังมีตัวแยกลำแสง (beam splitter) ซึ่งวางทำมุม 45 องศา อยู่ระหว่างกระจกทั้ง 2 อัน ดังภาพที่ 2.16 ซึ่งตัวแยกลำแสงนี้จะทำหน้าที่แบ่งแยกลำแสงออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ให้แยกออกเป็น 2 ส่วน กล่าวคือลำแสงจะทะลุผ่านตัวแยกลำแสงร้อยละ 50 แล้วไปสู่กระจกที่วางอยู่กับที่ ในขณะที่อีกร้อยละ 50 ของลำแสงที่เหลือ จะหักเหไปสู่กระจกที่เคลื่อนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.16 การทำงานของ interferometer

ที่มา : Chemistry libretxts (2562)

ผลจากการแยกแสงและการสะท้อนของแสงในลักษณะดังกล่าว จะทำให้รูปแบบของคลื่นแสงที่จะเข้าไปสู่ดีเทคเตอร์ถูกรบกวนให้เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะทางของกระจกที่เคลื่อนที่ด้วย ซึ่งสัญญาณของแสงที่รวมกันใหม่ เพื่อจะเข้าสู่ดีเทคเตอร์นี้มีลักษณะเป็น time domain หรือกราฟคลื่น sine wave ที่สัมพันธ์กับแกนระยะทางหรือเวลา เนื่องจากกระจกเคลื่อนที่ด้วยความเร็วคงที่จะถูกถอดรหัส หรือแปลงไปเป็น frequency domain หรือกราฟที่สัมพันธ์กับแกนความถี่ โดยใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า fourier transform โดยข้อมูลที่ได้จากการแปลงจะถูกนำไปเขียนเป็นสเปกตรัมอินฟราเรด แสดงเป็นกราฟระหว่างปริมาณความเข้มของแสงกับความถี่หรือเลขคลื่น (วิจิตร, 2555)

2.9 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

2.9.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่ไม่เสถียรทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ว่องไว ดังนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆในร่างกายได้ เช่น ไขมัน โปรตีน หรือสารพันธุกรรม โดยอนุมูลจะดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมของสารที่อยู่ข้างเคียงมา เพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction)

เอกสารนี้เป็น (Halliwell, 1996) การที่มีปริมาณของอนุมูลอิสระสูงๆหรือมากเกินไปจะทำให้ร่างกายเกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ซึ่งสามารถเป็นสาเหตุของการนำมาซึ่งโรคต่างๆได้ เช่น การเกิดโรคมะเร็ง

(cancer), การเกิดเป็นจุดสี (lipofuscin spot) หรือการเกิดรอยเหี่ยวย่นที่ผิวหนัง เป็นต้น (ระวีวรรณ และทรงพร, 2549)

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง ซึ่งถึงอะตอมของไฮโดรเจนและอ็อกซิเจนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ และยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลอิสระ เพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละวงโคจร หรือ ออร์บิทัล อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะเป็นกลางทางไฟฟ้าและอนุมูลในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล เช่น อนุมูล A[•], อนุมูล A^{-•} และ อนุมูล A^{+•} โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือมีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่ยังคงมีความเสถียร ไม่วิในการเกิดปฏิกิริยาและยังคงอยู่ในรูปอนุมูลได้นานซึ่งจะมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างอนุมูลอิสระที่สำคัญในทางชีวภาพได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂^{-•}) อนุมูลไฮดรอกซี (•OH) อนุมูลอัลคอกซี (RO[•]) และ อนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO₂[•]) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรือ อนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา (โอภา, 2550)

2.9.2 การเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂^{-•}) และอนุมูลไฮดรอกซี (•OH) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่า อนุมูลอื่นๆ ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเปอร์ออกซีไนไตรท์ (ONOO⁻) แม้ว่าโครงสร้างไม่อยู่ในอนุมูลอิสระแต่เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาต่อเนื่อง ที่มีอนุมูลอิสระเป็นต้นเหตุ สารที่ไม่ได้อยู่ในรูปอนุมูลเหล่านี้ มีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมากและมีความเป็นพิษ จึงได้มีการบัญญัติศัพท์ขึ้นมาใหม่ให้ครอบคลุมทั้งอนุมูลอิสระและสารที่ว่านี้ว่าสารความไวสูง (reactive species, RS) อนุมูลอิสระเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ไมโทคอนเดรียทำงานผิดปกติ กระบวนการเมตาบอลิซึม กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาท เมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท สารพิษต่อเซลล์ประสาท (neurotoxin) ภาวะขาดเลือด (Ischemia/Reperfusion, I/R) ภาวะช็อกและการอักเสบ (โอภา, 2550)

การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายแบบที่แตกต่างกัน ดังสมการ 2.1-2.3

1. การแตกพันธะโควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ขออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



2. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



3. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



2.9.3 การป้องกันอันตรายและความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

ร่างกายจะมีกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระเพื่อไม่ให้มีมากเกินไป โดยกลไกในการควบคุมอนุมูลอิสระในร่างกายจะมีอยู่ 3 กลไก ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ และสารคีเลทโลหะ เพื่อลดความเสี่ยงต่ออันตรายที่จะเกิดขึ้นกับร่างกาย แต่ถ้าหากกลไกเหล่านี้เกิดความผิดปกติทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมต่ำลงจนนำไปสู่สภาวะ oxidative stress ก็จะทำให้เกิดโรคต่างๆในร่างกายได้

2.10 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase glutathione peroxidase catalase peroxidase cytochrome C peroxidase (CCP) และโปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารต้านออกซิเดชัน ในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ubiquinone uric acid bilirubin albumin sulfhydryl groups ในกรดอะมิโน และ cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากกลุ่มสารพวกนี้ยังมี สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavonoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยมักจะพบในพืช ผัก และผลไม้เป็นส่วนใหญ่ (มลศิริ, 2540) สารออกฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์ คือ สารต้านการเกิดออกซิเดชันปฐมภูมิ เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน (H[•]) หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูล โดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้นสารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin เป็นต้น สารต้านการเกิดออกซิเดชันทุติยภูมิ สารต้านการเกิดออกซิเดชันประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการค้า

กับอนุมูลอิสระแต่ละจะช่วยการทำงานของสารต้านการเกิดออกซิเดชันปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ Fe^{2+} ดักจับออกซิเจนดูคซับริ่งสี่ยูวีไว้เป็นต้น

2.10.1 กลไกการทำงานของสารต้านการเกิดออกซิเดชัน

สารต้านการเกิดออกซิเดชันมีกลไกการทำงานแบ่งได้เป็น 6 แบบใหญ่ๆ คือ

2.10.1.1 ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging)

โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (สมการที่ 2.4-2.7)



2.10.1.2 ยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen (Singlet oxygen quenching)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน singlet oxygen ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูป triplet oxygen (3O_2) (สมการที่ 2.8) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน (สมการที่ 2.9) โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) 1 โมเลกุลสามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ถึง 10,000 โมเลกุล



2.10.1.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation)

สารที่สามารถจับโลหะที่สำคัญเหล่านี้คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ได้แก่ flavonoids, phosphoric acid และ citric acid เป็นต้น

2.10.1.4 หยุคปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking)

วิตามินอีสามารถป้องกันเชื้อหุ้มเซลล์ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid-auto oxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor) จากอนุมูล peroxy ($ROO\cdot$)

2.10.1.5 เสริมฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ส่วนตัวเท่านั้น การนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.1.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (Enzyme inhibition)

สารประกอบ phenolic บางชนิด เช่น flavonoids, phosphoric acid และ gallates สามารถยับยั้ง lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (Co-factor) มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว (โอภา, 2550)

2.11 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

2.11.1 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical

อนุมูล DPPH[•] เป็นอนุมูลในโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล ABTS^{•+} การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Hou และคณะ, 2001)

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH[•] มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ดังสมการที่ 2.10 (Blois, 1958)



สีม่วง ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ดังสมการที่ 2.11

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517 \text{ control}} - A_{517 \text{ test sample}}) / A_{517 \text{ control}}] \times 100 \quad (2.11)$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH[•] มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 วิธี ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ((ABTS^{•+}, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid) radical)) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS^{•+} ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS^{•+} ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS^{•+} ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลง ดังสมการที่ 2.12 และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox กระทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH (บุหรัน, 2556)



ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ABTS^{•+} ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง

ข้อเสีย คือ ABTS^{•+} ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ดังสมการที่ 2.13

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{734 \text{ control}} - A_{734 \text{ test sample}}) / A_{634 \text{ control}}] \times 100 \quad (2.13)$$

2.11.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน chelating activity

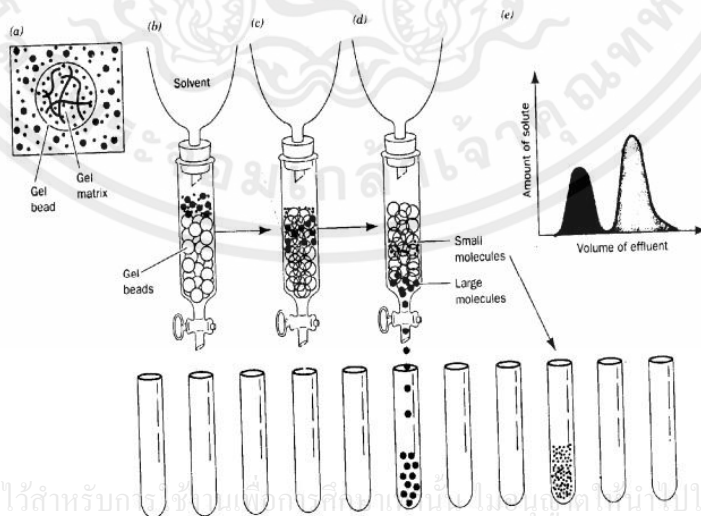
การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส หรือ Fe²⁺ จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล superoxide anion radical (O₂^{•-}) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe²⁺ ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสาร ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ Fe²⁺ แล้วอยู่ในรูป ferrozine- Fe²⁺ complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe²⁺ จะอยู่ในรูป antioxidant - Fe²⁺ complex แล้ว

จะทำให้สีแดงของ ferrozine - Fe^{2+} complex จางลงได้เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition (Dinis และคณะ, 1994) ดังสมการที่ 2.14

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{562 \text{ control}} - A_{562 \text{ test sample}}) / A_{562 \text{ control}}] \times 100 \quad (2.14)$$

2.12 เจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี (Gel filtration chromatography)

เจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี เป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่ใช้ในการแยกโมเลกุลที่มีขนาดต่างกัน โดยเทคนิคนี้อาจสามารถเรียกได้หลายชื่อ เช่น gel-permeation gel-exclusion size-exclusion และ molecular-sieve chromatography โมเลกุลของสารจะถูกแบ่งระหว่างการเคลื่อนที่ไปของ mobile phase และ stationary phase ที่ประกอบไปด้วยรูพรุน ความสามารถในการแยกจะขึ้นกับขนาดของรูพรุนของ stationary phase เม็ดเจล (bead) ในคอลัมน์จะมีลักษณะที่เป็นช่องว่างที่เกิดจากการเชื่อมโยงไขว้ (matrix) ภายในจะประกอบไปด้วยปริมาตรของของเหลว 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะเป็นปริมาตรของของเหลวที่อยู่ระหว่างเม็ดเจล (external volume) และส่วนที่ 2 เป็นปริมาตรช่องว่างภายในเม็ดเจล (internal volume) (O'Fagain และคณะ, 2011) ในเม็ดเจล แต่ละเม็ดจะมีช่องว่างที่จำเพาะต่อการยอมให้สารที่มีขนาดค่าหนึ่งสามารถผ่านเข้าไปได้ ส่วนสารที่มีขนาดใหญ่กว่าไม่สามารถผ่านเข้าไปได้จะถูกชะออกมาพร้อมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ชะหลุดออกจากคอลัมน์ก่อน จากข้างต้นจะแสดงให้เห็นว่าเม็ดเจลสามารถแยกสารที่มีขนาดเล็กและใหญ่ออกจากกันได้ โครงสร้างของเม็ดเจลและการแยกสารตามขนาดโมเลกุลในขณะที่ผ่านลงมาตามคอลัมน์ ดังภาพที่ 2.17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้บนเว็บของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามนำข้อมูลไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากทางมหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2.17 แสดงกลไกในการแยกสารโดยเทคนิค gel filtration

ที่มา : ชรินทร์ (2542)

จากภาพที่ 2.17 (a) แสดงลักษณะของเม็ดเจลประกอบไปด้วยส่วนของเมทริกซ์ซึ่งเกิดจากการเชื่อมโยงของโพลีเมอร์สายยาว โดยระหว่างเส้นสายเหล่านี้มีช่องว่างอยู่ สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กจะสามารถผ่านเข้าไปนอนอยู่ในช่องว่างนี้ได้ ส่วนสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่จะไม่สามารถเข้าไปภายในช่องว่างดังกล่าวนี้ได้

(b) แสดงการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างขณะเคลื่อนที่ลงสู่ชั้นเจล

(c) โมเลกุลที่มีขนาดเล็กจะแทรกเข้าไปในช่องว่างและวนเวียนอยู่ภายในเจล ทำให้สารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กใช้เวลานานกว่าจะหลุดออกมาภายนอกเจลได้ ในขณะที่สารที่มีขนาดใหญ่ถูกชะออกมาตามคอลัมน์ก่อน

(d) สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เคลื่อนที่ออกนอกคอลัมน์ ในขณะที่สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกำลังถูกชะให้ไหลผ่านลงมาตามคอลัมน์ภายหลัง

(e) แสดง elution diagram ของโครมาโตแกรม (chromatogram) ใช้บอกถึงลำดับหรือช่วงเวลาของการแยกสารที่มีขนาดต่างกัน โดยการเพิ่มขึ้นของกราฟในช่วงแรกเป็นค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ของสารละลายโปรตีนที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ ส่วนเส้นกราฟในช่วงหลังเป็นของโปรตีนที่มีขนาดเล็ก

2.12.1 ชนิดของสารที่ใช้ในการเจล (Gel filtration media)

สารที่ถูกนำมาใช้เป็นเป็นตัวกลางในการเชื่อมโยงเป็นเม็ดเจลถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ เดกซ์แทรน (dextran) polyacrylamide และ agarose โดยชนิดและชื่อทางการค้าของสารที่เป็นตัวกลางในการสร้างเจลแสดง ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สารที่ใช้เป็นตัวกลางในการเชื่อมโยงเป็นเม็ดเจลของเทคนิค gel filtration chromatography

ชื่อ	ชนิดของสาร	ช่วงของมวลโมเลกุลที่ยอมให้ผ่านเข้าเม็ดเจล (กิโลดาลตัน)
Sephadex G-10	Dextran	0.05-0.7
Sephadex G-15	Dextran	≤1.5
Sephadex G-25 Coarse	Dextran	1-5
Sephadex G-25 Medium	Dextran	1-5
Sephadex G-25 Fine	Dextran	1-5
Sephadex G-25 Superfine	Dextran	1-5
Sephadex G-50 Coarse	Dextran	1-30
Sephadex G-50 Medium	Dextran	1-30

ตารางที่ 2.4 (ต่อ) สารที่ใช้เป็นตัวกลางในการเชื่อมโยงไว้เป็นเม็ดเจลของเทคนิค gel filtration chromatography

ชื่อ	ชนิดของสาร	ช่วงของมวลโมเลกุลที่ยอมให้ผ่านเข้าเม็ดเจล (กิโลดาลตัน)
Sephadex G-50 Fine	Dextran	1-30
Sephadex G-50 Superfine	Dextran	1-30
Sephadex G-75	Dextran	30-80
Sephadex G-75 Superfine	Dextran	30-70
Sephadex G-100	Dextran	4-150
Sephadex G-100 Superfine	Dextran	4-100
Sephadex G-150	Dextran	5-300
Sephadex G-150 Superfine	Dextran	5-150
Sephadex G-200	Dextran	5-600
Sephadex G-200 Superfine	Dextran	5-250
Bio-gel P-2	Polyacrylamide	0.1-1.8
Bio-gel P-6	Polyacrylamide	1-6
Bio-gel P-10	Polyacrylamide	1.5-20
Bio-gel P-30	Polyacrylamide	2.4-40
Bio-gel P-100	Polyacrylamide	5-100
Bio-gel P-300	Polyacrylamide	60-400
Sepharose 6B	Agarose	10-4,000
Sepharose 4B	Agarose	60-20,000
Sepharose 2B	Agarose	70-40,000

หมายเหตุ : Sephadex และ Sepharose gels เป็นของบริษัท Pharmacia Fine Chemical AB, Bio-gel เป็นของบริษัท BioRad Laboratories

ที่มา : ชรินทร์ (2542)

2.12.2 การประยุกต์ใช้งาน

การใช้งานในระดับอุตสาหกรรมมักนิยมใช้หลังการกระบวนการผลิต โดยมีวัตถุประสงค์การใช้งานแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.12.2.1 การประยุกต์ใช้ในการแยกสารตามขนาดโมเลกุล เป็นการแยกสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ออกมาจากสารที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก เช่น การใช้ในการแยกสารพวกโปรตีน โป

ลิแซคาไรด์ โพลีเอปไทด์ ในขั้นตอนก่อนทำให้เข้มข้นโดยวิธี lyophilization การใช้ในการสกัดฟีนอลออกจากกรดนิวคลีอิก การใช้ในการแยกโคแฟกเตอร์และตัวยับยั้งออกจากโมเลกุลของเอนไซม์ การใช้ในการแยกเกลือออกจากโปรตีน

2.12.2.2 การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม

- 1) ใช้ในการแยกเซลล์ เศษเซลล์และอนุภาคอื่น เช่น การแยก monocyte ออกจาก lymphocyte หรือ การแยก red blood cell ออกจาก blood plasma เป็นต้น
- 2) ใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ขนาดโมเลกุลขนาดใหญ่ โดยใช้ผงเจลแห้งมาแช่ในสารละลายผสม สารที่มีมวลโมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถผ่านเข้าไปอยู่ภายในเม็ดเจล เมื่อทำการปั่นเหวี่ยง โดยสาร โมเลกุลขนาดเล็กจะตกตะกอนไปอยู่ข้างล่างร่วมกับเม็ดเจล ส่วนสาร โมเลกุลขนาดใหญ่จะแขวนลอยอยู่ในสารละลายส่วนใส (ชรินทร์, 2542)

2.13 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

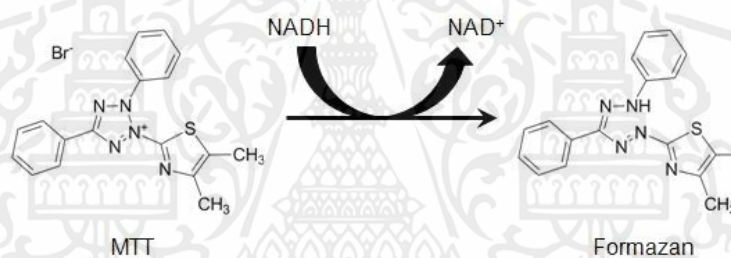
มะเร็ง หมายถึง ความผิดปกติของดีเอ็นเอหรือสารพันธุกรรม มีผลให้เซลล์เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ อย่างรวดเร็วผิดปกติ ดังนั้น จึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อ และในที่สุด เซลล์จะตายเนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง จะเรียกชื่อเซลล์ที่ผิดปกติตามอวัยวะที่พบ เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2555)

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เป็นวิธีที่นำเซลล์ที่ถูกเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมาทดสอบหรือมาสัมผัสกับสารทดสอบ ระยะเวลาในการสัมผัสกับสารทดสอบและความคงตัวของสารทดสอบ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการใช้ในการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากกลุ่มควบคุมเชิงบวก (positive control) และกลุ่มควบคุมเชิงลบ (negative control) ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากการนับเซลล์โดยตรงจากการย้อมสีหรือวัดค่ากิจกรรมเมตาบอไลต์ (metabolite) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งสีย้อมเซลล์ที่ใช้มีทั้งที่เป็น dye inclusion และ dye exclusion วิธีที่ใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์มีอยู่หลายวิธีโดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (Buckberry, 2005)

- 1) การตรวจสอบเซลล์มีชีวิต โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติโดยการยอมให้สารบางชนิดผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeability) หรือการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism)
- 2) ตรวจสอบการรอดตายแบบ long-term survival โดยเป็นการศึกษาความสามารถในการเพิ่มจำนวนแบบการโคลน (clone)
- 3) การตรวจสอบการรอดตายของเซลล์ โดยพิจารณาจากการกลายพันธุ์หรือการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็ง

2.13.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay

เป็นวิธีการหนึ่งที่มีความนิยมนำมาใช้เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนมาก รวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ การทดสอบ cell viability โดยจะวัดความสามารถของ mitochondrial enzyme ที่เปลี่ยน tetrazolium salt (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide, MTT) ที่มีสีเหลือง ไปเป็น formazan product ที่มีสีน้ำเงิน แสดง ดังภาพที่ 2.18 ซึ่งระดับความเข้มของสีจะสัมพันธ์กับปริมาณของจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ วิธีการทดสอบ คือ เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งที่เดิมสารสกัดที่จะทดสอบ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังทำการเปลี่ยนอาหารแล้วเพาะเลี้ยงต่ออีก 2 ชั่วโมง ในสารละลาย MTT จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ออก ทำให้เซลล์แตกและละลายผลิตภัณฑ์ของ formazan ด้วย dimethylsulphoxide (DMSO) จากนั้นวัดระดับของ formazan product โดยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (กัลยาณีและนวลอนงค์, 2548)



ภาพที่ 2.18 การเปลี่ยนโครงสร้าง MTT ไปเป็น formazan

ที่มา: Riss (2016)

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Oberoi และ Sogi (2015) ศึกษาผลของการทำแห้ง โดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 5 7 และ 10 ต่อการเปลี่ยนแปลงเม็ดสีของน้ำแดง โมงพวง พบว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความชื้น ค่าวอเตอร์ แอคติวิตี ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำ แต่มีค่าการละลายที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแดง โมงพวงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแช่เยือกแข็ง ปริมาณไลโคปีนของน้ำแดง โมงพวงที่มาจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย และจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งพบว่ามีค่าอยู่ที่ 56.4 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 62.3 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ เนื่องการใช้อุณหภูมิที่สูงและการสัมผัสกับก๊าซออกซิเจนที่เยอะเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการสลายของไลโคปีน ซึ่งมีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแดง โมงสด โดยมีค่าอยู่ที่ 4.58-6.53 มิลลิกรัม/100 กรัม คุณสมบัติด้านสีที่ความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินและกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำแดง โมงพวงที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า hue

angle และ L^* น้อยกว่า แต่มีค่า a^* b^* และค่า chroma สูงกว่าผงน้ำแดงโมที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

Seremet และคณะ (2016) ศึกษาผลของการทำแห้งโดยวิธีการอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบผสมหลายวิธีซึ่งประกอบไปด้วยการทำแห้งแบบอบลมร้อนตามด้วยการทำแห้งแบบแลกเปลี่ยนอากาศร้อนและการทำแห้งด้วยไมโครเวฟตามลำดับ ต่อความสามารถในการคืนรูปของฟักทองสไลด์ พบว่ากระบวนการทำแห้งแบบอบลมร้อนมีความสามารถในการคืนรูปสูงกว่ากระบวนการทำแห้งแบบผสม

Fatimah Zaharah และ Rabeta (2018) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านแบคทีเรียของดีหมักผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอลและเฮกเซนมีฤทธิ์ในการต้านอยู่ที่ร้อยละ 94.87 67.57 และ 2.10 ตามลำดับ วิธี FRAP มีฤทธิ์ในการต้านอยู่ที่ 929.67 201.00 79.67 ไมโครโมล Fe (II) ต่อกรัม ตามลำดับ ความสามารถในการต้านแบคทีเรียพบว่าดีหมักผงที่สกัดในน้ำและเอทานอลมีช่วงการต้านอยู่ที่ 7 ถึง 15 มิลลิเมตร ตามลำดับ

พิมพัลลัญช์ (2558) ศึกษากระบวนการทำแห้งที่มีผลต่อคุณภาพดีหมักผง โดยใช้ดีหมักจากหมึกกระดองลายเสือ (*Sepia pharaonis*) เป็นวัตถุดิบในการทำแห้งด้วยวิธีที่ต่างกัน คือ วิธีการทำแห้งแบบโฝม การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำแห้งแบบพ่นฝอย ต่อค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ความชื้น ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการดูดซับน้ำ อัตราการคืนรูป ค่าความสว่าง (L^*) และปริมาณผลผลิต พบว่าวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้คุณภาพดีที่สุด โดยมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเท่ากับ 0.20 ความชื้นร้อยละ 6.36 ความสามารถในการละลายร้อยละ 51.84 ความสามารถในการดูดซับน้ำ 1.33 กรัมต่อกรัม อัตราส่วนการคืนรูปเท่ากับ 1.33 ค่าความสว่าง (L^*) 25.38 และปริมาณผลผลิตร้อยละ 21.67 ตามลำดับและเมื่อวิเคราะห์โครงสร้างของดีหมักผงด้วยกล้อง scanning electron microscope (SEM) พบว่าการทำแห้งดีหมักผงแบบพ่นฝอย มีลักษณะกลมสม่ำเสมอและมีขนาดเล็กกว่าการทำแห้งแบบโฝมและแบบแช่เยือกแข็ง

Andjelkovic และคณะ (2014) ทำการศึกษาหาสภาวะในการสกัดสาร Phenol ที่เหมาะสมของเมล็ดองุ่น โดยใช้เทคนิคการสกัดโดยคลื่น ultrasound-assisted เทคนิคนี้ใช้เวลาในการสกัดน้อยและทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่สูง โดยทำการศึกษาอุณหภูมิในระดับที่ 30 40 และ 60 องศาเซลเซียส ระดับเวลาที่ 5 10 และ 15 นาที และอัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็งในระดับที่ 40 50 และ 60 มิลลิลิตรต่อกรัม ที่ปริมาตรน้ำ 3 ลิตร ในสภาวะคลื่นความถี่ 40 กิโลเฮิร์ต กำลังขาเข้า 500 วัตต์ พบว่าสภาวะที่ให้ปริมาณ total phenolic content สูงที่สุด คือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 15 นาที และอัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็ง 60 มิลลิลิตรต่อกรัม

บันลือ และคณะ (2556) ศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลที่ร้อยละ 50 70 และ 90 ระยะเวลาในการสกัด 20 30 และ 40 นาที ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบหม่อนโดย เทคนิคการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ 45 กิโลเฮิร์ต กำลังไฟ 200 วัตต์ โดยพบว่าสภาวะที่ให้ปริมาณ ประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดคือที่ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 50 และระยะเวลาสกัด 40 นาที

ชุติมา และคณะ (2556) ศึกษาผลของการฟิตรีตเมนต์ด้วยคลื่นอัลตราซาวด์พลังงานสูง 750 วัตต์ ที่ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารอินนูลินจากแก่นตะวัน โดย ทำการศึกษาที่แอมพลิจูดร้อยละ 20 40 60 80 และ 100 เป็นเวลา 1 5 และ 10 นาที และอุณหภูมิ 25 และ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าการฟิตรีตเมนต์ที่ค่าแอมพลิจูดและที่เวลาสูงขึ้นมีแนวโน้ม ใน การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดที่ดีขึ้น จากการทดลองพบว่าการฟิตรีตเมนต์ที่อุณหภูมิ 80 องศา เซลเซียส สามารถช่วยเพิ่มร้อยละการสกัดได้มากกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อนำไปวิเคราะห์ องค์ประกอบด้วยวิธี HPLC พบว่าการฟิตรีตเมนต์มีส่วนช่วยเพิ่มสัดส่วนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาล โมเลกุลคู่ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคลื่นอัลตราซาวด์มีผลต่อสายพอลิเมอร์ของอินนูลินด้วย เช่นกัน

Guo และคณะ (2013) ทำการศึกษาการเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของดีหมึกสาย พันธุ์ *Ommastrephes bartrami* โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูล ออิสระ โดยการนำดีหมึกสดไปละลายกับสารละลาย NaOH ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1 โมล ตามลำดับ ในอัตราส่วนดีหมึกสดต่อสารละลาย NaOH ที่ 2 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จากนั้นไปสกัด ด้วยคลื่นความถี่สูงที่สภาวะกำลัง 800 วัตต์ และอุณหภูมิ 30 40 องศาเซลเซียส ซึ่งถูกเลือกเป็น สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นปรับ pH เป็นกลางด้วย HCl ปั่นเหวี่ยงนำส่วนสารละลายไปแยกมวล โมเลกุลในระดับต่างๆที่มวล โมเลกุล <10 กิโลดาลตัน 10-50 กิโลดาลตัน และ >50 กิโลดาลตัน โดย ใช้ ultrafiltration membrane จากนั้นนำไปวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี ได้แก่ superoxide anion radical scavenging และ hydroxyl radical scavenging พบว่ายิ่งใช้ค่าที่มีความ เข้มข้นยิ่งสูงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะยิ่งสูงขึ้นเนื่องจากความเข้มข้นค่าที่มากขึ้นมี ผลทำให้เกิดการ degradation ของโครงสร้าง melanin ที่มากขึ้น อีกทั้งน้ำหนักมวล โมเลกุลยิ่งสูงจะ ยิ่งพบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากตามไปด้วย เนื่องจากที่มวล โมเลกุลสูงก็จะพบ สารที่ฤทธิ์ในการยับยั้งมากตามไปด้วย อาทิเช่น DHI และ DHICA เพราะสาร 2 ตัวนี้เมื่อเกิดการ เปลี่ยนโครงสร้างไประหว่าง hydroquinone และ benzoquinone จะเกิดการสูญเสีย 2 อิเล็กตรอน ออกมาระหว่างการเกิดปฏิกิริยา redox ซึ่งอิเล็กตรอนที่ออกมานั้นสามารถไป catalyzes กับ O_2 ให้ เป็น H_2O_2 และ O_2 ได้

Sasaki และคณะ(1996) ทำการศึกษาสารสกัด peptidoglycan จากดีหมึกสายพันธุ์ *Illex argentines* โดยการนำดีหมึกมาเจือจางด้วย acetone ปริมาตร 20 เท่า ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

stirred เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองผ่านทันที ซึ่งส่วนที่กรองได้จะมีส่วนประกอบของ peptidoglycan นำไปละลายด้วย physiological saline นำเซลล์เนื้อเยื่อ Meth A ในสารละลาย Hanks balanced salt solution (HSBB, pH 7.2) จำนวน 2×10^6 เซลล์ ฉีดเข้าไปในท้องของหนูทดลอง จากนั้นฉีดสารละลาย saline ที่มีความเข้มข้นของดีหมึก 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 4 และ 6 วัน พบว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการโตของเนื้องอกได้ร้อยละ 20 เนื่องจากสารตัวนี้สามารถเข้าไปเสริมภูมิคุ้มกันในร่างกายสิ่งมีชีวิตได้ อีกทั้งยังพบอีกว่าเมื่อให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ยังไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านเซลล์เนื้องอก

Guo-Fang และคณะ (2011) ทำการศึกษาความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (DU-145) ของสารสกัด oligopeptide จาก hydrolysates ดีหมึกสายพันธุ์ *sepia esculenta* โดยการนำดีหมึกมาทำการย่อยลดขนาดโมเลกุลด้วยเอนไซม์ trypsin จากนั้นนำการแยก oligopeptide โดยใช้ ultrafiltration และทำการ purified ตัวอย่างโดยใช้ G-25 gel filtration นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจ HPLC และ peptide sequence พบว่าสารที่ได้มีปริมาณร้อยละ 1.82 มี peptide sequence คือ N Gln-Pro-Lys และมีน้ำหนักมวลโมเลกุลอยู่ที่ 343.4 กิโลดาลตัน ตามลำดับ จากนั้นนำ N Gln-Pro-Lys ไปวิเคราะห์ความสามารถในการต้านมะเร็งโดยวิธี CCK-8 assay โดยใช้ความเข้มข้นของ N Gln-Pro-Lys ที่ 3-15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า ณ เวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบเซลล์มะเร็งลดลงร้อยละ 10.6 ที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบเซลล์มะเร็งลดลงร้อยละ 74.6 ณ เวลา 48 ชั่วโมง ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบเซลล์มะเร็งลดลงร้อยละ 66.5 ที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบเซลล์มะเร็งลดลงร้อยละ 100 และที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าให้ผลใกล้เคียงกับ ณ เวลา 48 ชั่วโมง

Russo และคณะ (2003) ทำการศึกษาศาสต์กถในดีหมึกสายพันธุ์ *Sepia officinalis* ที่เป็นพิษต่อเซลล์ PC12 จากนั้นทำการแยก fractions โดยใช้เทคนิค gel filtration พบว่าที่น้ำหนักมวลโมเลกุลมากกว่า 100 กิโลดาลตัน มีความสามารถในการยับยั้งและ tyrosinase activity สูงที่สุดคือที่ร้อยละ 48 และ 60 มิลลิยูนิต (mU) ตามลำดับ จากนั้นได้นำ fractions จากข้างต้นไปทดสอบกับเซลล์ไลน์ตัวอื่นๆที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบร้อยละของเซลล์ที่ยังมีชีวิตตามลำดับ ดังนี้ HPB-ALL 40.0 ± 2.19 Caco-2 81.0 ± 1.41 Jurkat 74.0 ± 2.83 และ PC12 50.0 ± 1.76

Vate และ Benjakul (2013) ทำการศึกษาศาสต์กถในการต้านอนุมูลอิสระของดีหมึกสด หลังจากสกัดเมลานินออก (melanin-free ink (MFI)) ของหมึกสายพันธุ์ *Loligo formosana* โดยพบว่า MFI ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในวิธี DPPH radical scavenging ABTS radical scavenging ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ metal chelating activity อยู่ที่ 179.6 ± 2.1 957.8 ± 89.3 171.2 ± 7.3 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอคซ์ (trolox) ต่อกรัมโปรตีน และ

4.0±1.2 ไมโครโมลสมมูลย์ของ EDTA ต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ จากนั้นนำไปทดสอบความสามารถในทนความร้อนของตัว bioactive compound ในดีหมึก โดยนำดีหมึกไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลาจนถึง 30 นาที แล้วนำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง พบว่า DPPH radical scavenging ABTS radical scavenging ยังคงมีความคงที่ แต่ FRAP มีความสามารถในการต้านที่ลดลงตั้งแต่ 5 นาที เมื่อทำการแยก fractions ดีหมึกในระดับน้ำหนักมวลโมเลกุลอยู่ที่ <3 กิโลดาลตัน 3-10 กิโลดาลตัน และ >10 กิโลดาลตัน โดยเทคนิค ultrafiltration พบว่า fraction <3 กิโลดาลตัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

Takaya และคณะ (1994) ทำการศึกษาศาสตร์สกัด peptidoglycan จากดีหมึกสายพันธ์ *Illex argentes* โดยนำดีหมึกมาทำการขจัดไขมันออกโดยใช้ acetone ที่มีอุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส เก็บส่วนตะกอนไว้แล้วนำไปทำแห้ง นำตะกอนที่ได้มาสกัดโดยใช้ tris-HCl buffer 0.1 โมล (pH 6.80) ในปริมาตร 40 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง คมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง แล้วนำส่วนสารละลายไปทำการ dialysis เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ไปทำการ lyophilize ได้เป็นสารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการ purified โดยใช้เทคนิค ion exchange chromatography โดยนำ crude extract 0.8 กรัม มาละลายใน 5 ml ของ tris-HCl buffer 0.1 โมล (pH 6.80) จากนั้นโหลดเข้าคอลัมน์ DEAE Sephacel ปรับสมดุลด้วย tris-HCl buffer 0.1 โมล (pH 6.80) จากนั้นค่อยๆละลายด้วยสารละลาย NaCl ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 2 โมล ใน tris-HCl buffer 0.1 โมล (pH 6.80) ตามลำดับ ทั้ง 6 fraction จะถูกนำไปขจัดเกลือออกโดยเทคนิค dialysis แล้วทำแห้งโดย lyophilize จากนั้นเลือก fraction ที่ให้ปริมาณสูงที่สุดมาทำการ purify peptidoglycan ต่อด้วยเทคนิค gel filtration โดยคอลัมน์ sephadex G-15 แล้วแบ่งเป็น 3 fractions ได้แก่ SIP02-A SIP02-B และ SIP02-C นำแต่ละ fraction ไปทดสอบ antitumor activity กับเซลล์ Meth-A fibrosacroma โดยนำตัวอย่างแต่ละ fraction 200 ไมโครกรัมมาละลายด้วย saline จากนั้นฉีดเข้าไปในช่องท้องหนูทดลองเป็นเวลา 2 4 และ 6 วัน แล้วเฝ้าติดตามการรอดชีวิตเป็นเวลา 60 วัน ถ้าพบว่าหนูทดลองยังมีชีวิตแสดงว่าสารตัวนั้นมี activity ในการยับยั้งเซลล์เนื้องอก ซึ่งพบว่า SIP02-A มีอัตราการรอดสูงที่สุด จากนั้นนำแต่ละ fraction ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า SIP02-A มีส่วนประกอบของ glucuronic acid, N-acetylgalactosamine และ fucose ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสายของ polysaccharide ที่เป็นเอกลักษณ์โครงสร้างของชนิด peptidoglycan จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารสกัดจากดีหมึกที่มีผลต่อเนื้องอกนั้นคือ peptidoglycan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

3.1 วัตถุดิบ

ดีหมึกจากหมึกกระดองลายเสือ (*Sepia pharaonis*) ขนส่งจากห้องเย็น JF อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี เตรียมโดยการนำถุงหมึก (ink sac) ที่เป็นวัสดุเหลือใช้จากการฆ่าและตัวหมึก บรรจุลงในกล่องขนาด 17.5x12x5.5 เซนติเมตร กล่องละ 1 กิโลกรัม ปิดฝาให้สนิท แช่แข็งที่ -18 องศาเซลเซียส ควบคุมในระหว่างการขนส่งโดยการบรรจุลงในถังโฟมที่บรรจุด้วยน้ำแข็งแห้ง จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ณ ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร จกว่าทำการทดลอง

3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.2.1	เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)	CoolSafe	ประเทศไทย
3.2.2	เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)	SDE-5, Euro best technology	ประเทศไทย
3.2.3	เครื่องทำแห้งแบบถาด (Tray dryer)	Progress	ประเทศไทย
3.2.4	ตู้อบลมร้อน	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.5	เครื่อง Freezer -80 องศาเซลเซียส		
3.2.6	เครื่องวัด A_w	AQUALAB, series 4 TE	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.7	เครื่องวัดค่าสี	Minolta, CR 400	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.8	เครื่อง Centrifuge	Eppendorf, 5804 R	ประเทศเยอรมนี
3.2.9	เครื่องบดละเอียด	Pin mill, ZM 200	ประเทศไทย
3.2.10	เครื่องบดอาหาร (Blender)	OTTO, BE-123	ประเทศไทย
3.2.11	เครื่องปั่นเบเกอร์	Philips, HR1565/40	ประเทศไทย
3.2.12	Hot Plate Stirrer	Cimarec	ประเทศสหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง หากมีการนำไปใช้

3.2.13	เครื่อง Ultrasonic	ELMA, S30H	ประเทศเยอรมนี
3.2.14	เครื่อง Spectrophotometer	SHIMADZU, UV-1800	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.15	Peristaltic Pump	P-1, GE Healthcare	ประเทศสวีเดน Life Sciences
3.2.16	โครมาโทกราฟีคอลัมน์	C16/70, GE Healthcare	ประเทศสวีเดน Life Sciences
3.2.17	เครื่อง Fourier transform infrared spectrophotometer	Affinity-1S, Shimadzu	ประเทศญี่ปุ่น

3.3 สารเคมี

3.3.1	คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC)	Brenntag	ประเทศไทย
3.3.2	ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิล เซลลูโลส (HPMC)	Brenntag	ประเทศไทย
3.3.3	มอลโตเด็กซ์ตริน (maltodextrin)	DongXiao	ประเทศจีน
3.3.4	Ethanol absolute	Merck	ประเทศเยอรมนี
3.3.5	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	Fisher scientific	ประเทศอังกฤษ
3.3.6	potassium persulphate	Unilab	ประเทศเยอรมนี
3.3.7	EDTA	Sigma aldrich	ประเทศเยอรมนี
3.3.8	Iron(II) sulfate	Merck	ประเทศเยอรมนี
3.3.9	ferrozine	Sigma aldrich	ประเทศเยอรมนี
3.3.10	6-hydroxy-2,5,7,8- tetramethylchroman-2- carboxylic acid (trolox)	Sigma aldrich	ประเทศเยอรมนี
3.3.11	2,2-Diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma aldrich	ประเทศเยอรมนี
3.3.12	2,2'-azino-bis(3- ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid) (ABTS)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกหรือเผยแพร่และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.13	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol (Tris base)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.14	Hydrochloric acid ร้อยละ 37	Qrec	ประเทศนิวซีแลนด์
3.3.15	Sephadex G-25 super fine	GE Healthcare Life Sciences	ประเทศสวีเดน

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมดีหมึก

นำถุงหมึก (ink sac) จากหมึกกระดองลายเสือ (*Sepia pharaonis*) ที่เก็บในอุณหภูมิแช่แข็ง ณ -18 องศาเซลเซียส มาทำการละลายที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสเบื้องต้น โดยการดมกลิ่น โดยจะต้องไม่มีกลิ่นเน่าเหม็นหรือเกิดฟองก๊าซในตัวถุงหมึก จากนั้นนำมีดกรีดถุงหมึกแล้วแยกส่วนที่เป็นดีหมึกออกมาจากถุงหมึก รีดถุงหมึกโดยใช้ผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนที่เป็นดีหมึกออกมาให้หมด จากนั้นนำดีหมึกที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์และการทำแห้งในครั้งต่อไป

3.4.2 กระบวนการทำแห้งดีหมึกผง

3.4.2.1 การทำแห้งแบบโฟมเมท (Foam mat drying)

นำดีหมึกมาทำให้เกิดโฟมโดยการเติม foaming agent 2 ชนิด คือ ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (HPMC) คาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส (CMC) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และมอลโตเด็คซ์ตริน (maltodextrin) ความเข้มข้นร้อยละ 25 ในอัตราส่วน 3:2:2:1 จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ไปตีให้ขึ้นโฟมโดยเครื่องปั่นเบเกอร์ที่ระดับความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเกลี่ยลงใส่ถาดอลูมิเนียมขนาด 12x17 นิ้ว ความหนา 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบในเครื่องทำแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 270 นาที นำตัวอย่างแห้งที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดละเอียด (Pin mill) ขนาดตะแกรง 0.25 มิลลิเมตร (ตัดแปลงจาก พิมพ์วัลลัญช์, 2558) เก็บตัวอย่างในถุงฟอยล์สุญญากาศ

3.4.2.2 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)

นำดีหมึก 1,000 กรัม ใส่ถ้วยอลูมิเนียมขนาดรัศมี 10 เซนติเมตร เกลี่ยให้ได้ความหนา 1 เซนติเมตร นำไปแช่แข็งด้วยตู้แช่แข็ง air blast freezer ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส นาน 180 นาที จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนาน 40 ชั่วโมง โดยตั้งโปรแกรมเครื่อง freeze dryer ดังตารางที่ 3.1 จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด (Pin mill) ขนาดอนุภาค 0.25 มิลลิเมตร (ตัดแปลงจาก พิมพ์วัลลัญช์, 2558) เก็บตัวอย่างในถุงฟอยล์สุญญากาศ

ตารางที่ 3.1 สภาวะอุณหภูมิที่ใช้ในการตั้งค่าการทำแห้งของเครื่อง freeze dryer

จำนวนชั่วโมง (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
1	-5
3	0
2	2
2	4
32	6

3.4.2.3 การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)

นำดีหมัก 1,000 กรัม มาเจือจางด้วยน้ำกรองให้มีของบrix อยู่ที่ 30 จากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรงขนาด 60 มิลลิเมตร และผ้าขาวบาง นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิขาเข้า 130 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก 100 องศาเซลเซียส อัตราป้อนของเหลวเข้าถังอบแห้ง 5 รอบต่อนาที (ดัดแปลงจาก พิมพัทธ์ชัย, 2558) เก็บตัวอย่างในถุงพอยด์คูล์สุญญากาศ

3.4.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของดีหมักผง

- 3.4.3.1 ค่าความชื้น (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก-1)
- 3.4.3.2 ค่าออสโมมิเตอร์แอกทีวิตี โดย (AQUALAB series 4TE) (ภาคผนวก ก-1)
เครื่องวัด A_w
- 3.4.3.3 ดัชนีการละลาย (Anderson และคณะ, 1969) (ภาคผนวก ก-3)
- 3.4.3.4 ค่าความสามารถในการดูดซึมน้ำ (Anderson และคณะ, 1969) (ภาคผนวก ก-3)
- 3.4.3.5 อัตราส่วนการคืนรูป (Subadra และคณะ, 1997) (ภาคผนวก ก-4)
- 3.4.3.6 ค่าความสว่าง (L^*) (Minolta CR-400) (ภาคผนวก ก-5)
- 3.4.3.7 วิเคราะห์โครงสร้าง โดย (Shimadzu FTIR Affinity-1S) (ส่งวิเคราะห์ที่
เครื่องวัด Fourier ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
Transform Infrared สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
(FTIR) Spectroscopy ลาดกระบัง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 ศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมีกผงที่มีต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชัน

3.4.4.1 การเตรียมสารสกัดดีหมีก

ตัวอย่างดีหมีกสดและดีหมีกผงที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี มาทำการสกัดด้วย น้ำ DI ในอัตราส่วน 1:9 (กรัม:มิลลิลิตร) นำสารละลายที่มาทำการสกัดโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath ที่ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ตซ์ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ดัดแปลงจาก Andjelkovic และคณะ, 2014) จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที เก็บสารละลายส่วนใสไว้เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ดังนี้

3.4.4.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH (DPPH free radical scavenging assay)

ปีเปตสารสกัดตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมล ที่ละลายใน ethanol absolute ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 0-100 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ที่ละลายใน DMSO (ดัดแปลงจาก Vate และ Benjakul, 2013)

3.4.4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS (ABTS radical scavenging assay)

เตรียมสารละลาย ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) ที่ความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมล และสารละลาย potassium persulfate ที่ความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมล จากนั้นเตรียม working solution โดยการผสมสารละลาย ABTS และสารละลาย potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนักจากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องและปราศจากแสง เจือจางด้วย ethanol absolute จนสารละลายมีค่าดูดกลืนคลีนแสง 0.700 ± 0.020 ที่ความยาว 734 นาโนเมตร จากนั้นปีเปตสารสกัดตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ผสมกับ working solution 2,850 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที ในที่มืด จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 0-500 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ที่ละลายใน DMSO (ดัดแปลงจาก Re และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของงานวิจัยการศึกษานี้ มีเงื่อนไขการใช้งานไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.4 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันวิธี chelating activity

ปีเปตสารสกัดตัวอย่าง 4.7 มิลลิลิตร จากนั้นผสม FeSO_4 ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติม ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย EDTA ที่ความเข้มข้น 0-50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ที่ละลายในน้ำ DI (คัดแปลงจาก Vate และ Benjakul, 2013)

3.4.5 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของดีหมึกผงด้วยวิธี MTT

3.4.5.1 วิธีการเตรียมสารตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างเพื่อเตรียมเป็น stock ปริมาณ 0.1 กรัม ละลายตัวอย่างในอาหาร (DMEM+ FBS ความเข้มข้นร้อยละ 5) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการกรองสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นกรองสารขนาด 0.22 ไมครอน เก็บเป็น stock จากนั้นเจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบ

3.4.5.2 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของดีหมึกผง

ปลูกเซลล์เซลล์ไลน์ จำนวน 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงใน 96-well plate ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเซลล์ในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง งดอาหารออกจากแต่ละหลุม จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยจะทดสอบตัวอย่างละ 2 หลุม จากนั้นนำไปบ่มต่ออีก 20 ชั่วโมง จากนั้นเติม MTT ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มต่ออีก 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่มให้ดูดสารละลาย MTT ออก แล้วเติมสารผสมระหว่างร้อยละ 100 ของ DMSO และสารละลาย SDS ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในอัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อใช้ในการละลายผลึก formazan จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนคลิ่นแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร แล้วคำนวณค่าที่ได้มา ดังสมการที่ 3.1

$$\% \text{ cytotoxicity} = \left(\frac{A-B}{A} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่มีเซลล์ในสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ : โดยทั้งค่า A และ B จะลบด้วยค่าดูดกลืนแสงของ blank ก่อนคำนวณ

3.4.6 การเตรียมสารสกัด fraction ดีหมึกผง

3.4.6.1 การขจัดไขมันออกจากดีหมึกผง

นำดีหมึกผงปริมาณ 40 กรัม เติมด้วยอะซิโตนปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วกวนเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษ whatman เบอร์ 4 เก็บส่วนตะกอนแล้วทำการล้างด้วยอะซิโตนซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำดีหมึกผงไประเหยอะซิโตนออก

3.4.6.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากดีหมึกผง

นำดีหมึกผงจาก ข้อ 3.4.6.1 เติมสารละลาย tris buffer HCl 0.1 โมล ที่ pH 6.80 ปริมาตร 800 มิลลิลิตร แล้วกวนที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไป ทำ dialysis เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่ 0-4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายที่เหลือไปทำแห้งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง (ดัดแปลงจาก Senan และคณะ, 2013)

3.4.6.3 การ fraction สารดีหมึกผงโดยวิธีเจลโครมาโตกราฟี

นำผงสารสกัดหยาบจาก ข้อ 3.4.6.2 มา 0.1 กรัม มาละลายกลับกับสารละลาย tris buffer HCl 0.1 โมล ที่ pH 6.80 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นโหลดสารละลาย ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงคอลัมน์ C16/70 โดยใช้ความเร็วบีบที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการเก็บ fraction ทุกๆ 5 นาที แล้วติดตามด้วยค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ 220 นาโนเมตร จนกว่าตัวอย่างจะหมด นำแต่ละ fraction ไปทำ dialysis 48 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Takaya และคณะ, 1994) แล้วทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำสารสกัด fraction ไปวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังข้อ 3.4.5

3.4.7 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดโดยสมบูรณ์ (Complete randomize design, CRD) โดยการนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (AMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยได้จากการทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมีกผงที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

จากการศึกษากระบวนการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแผ่นโฟม โดยนำดีหมีกตีให้ขึ้นโฟมด้วยเครื่องปั่นเบเกอร์นำไปอบต่อด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 270 นาที จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นการทำแห้งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 40 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด และการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นการทำแห้งด้วยเครื่องพ่นฝอย ที่ความร้อนอุณหภูมิขาเข้า 130 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิขาออก 100 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพเคมี ได้แก่ ร้อยละความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ดัชนีการละลาย ดัชนีการดูดซึมน้ำกลับ อัตราส่วนการกินรูป และค่าความสว่าง ดังแสดงใน ตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลของการทำแห้งที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของดีหมีกผง

กระบวนการทำแห้ง	การทำแห้งแบบแผ่นโฟม	การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	การทำแห้งแบบพ่นฝอย
ความชื้น (ร้อยละ)	10.33±0.14 ^a	8.39±0.17 ^c	9.65±0.20 ^b
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (a_w)	0.206±0.019 ^c	0.334±0.004 ^a	0.242±0.001 ^b
ดัชนีการละลาย (ร้อยละ)	16.32±0.34 ^a	5.12±0.34 ^c	5.90±0.32 ^b
ความสามารถในการดูดซึมน้ำ (กรัม/กรัม)	2.50±0.09 ^b	2.72±0.04 ^a	2.69±0.03 ^a
อัตราส่วนการกินรูป	2.61±0.08 ^c	2.92±0.07 ^a	2.83±0.05 ^b
ค่าความสว่าง (L^*)	28.93±0.22 ^a	17.10±0.15 ^c	17.64±0.09 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าแวนอนที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

จากการศึกษาผลของการทำแห้งที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ดังตารางที่ 4.1 พบว่ากระบวนการทำแห้งที่ต่างกันทั้ง 3 วิธีส่งผลต่อความชื้น (moisture content) ของดีหมีกผงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยพบว่าการทำแห้งแบบแผ่นโฟมมีความชื้นสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 10.33±0.14 การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 9.65±0.20 และ 8.39±0.17 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่ามีค่า

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaushal และคณะ (2011) ซึ่งศึกษาการปรับระดับความเข้มข้นของ CMC (Carboxy methyl cellulose) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-3 ในการทำแห้งน้ำชีบักธอร์น (Sea Buckthorn) โดยวิธีการทำแห้งแบบแผ่นโฟม พบว่าทุกตัวอย่างมีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 12-14 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิต่ำ อนุภาคผงจึงมีลักษณะที่เป็นแผ่นเฟล็ก (flake) ในขณะที่การทำแห้งแบบพ่นฝอยจะให้อนุภาคที่ยังมีลักษณะเป็นเม็ดกลมมากกว่า การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจึงมีความชื้นที่ต่ำกว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยเนื่องด้วยผลของการทำแห้งที่ต่างกันส่งผลต่อลักษณะอนุภาคของผงที่ได้ (Che Man และคณะ, 1999) อีกทั้งกระบวนการทำแห้งคหิมิกผงทั้ง 3 วิธี ยังมีค่าความชื้นที่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนผงปรุงรสอาหาร (มพช 494/2547) กล่าวคือต้องมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 13

ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ (a_w) ของคหิมิกผงจากกระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยการทำให้แห้งแบบแผ่นโฟม การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ อยู่ที่ 0.206 ± 0.019 0.334 ± 0.004 และ 0.242 ± 0.001 ตามลำดับ โดยพบว่าคหิมิกผงจากการทำแห้งทั้ง 3 วิธี มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนผงปรุงรสอาหาร (มพช 494/2547) ซึ่งค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ต้องไม่เกิน 0.65 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้มีบทบาทสำคัญมากสำหรับการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้เป็นปัจจัยที่ชี้ระดับปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในปฏิกิริยาเคมีต่างๆ โดยค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ที่ต่ำกว่า 0.60 จะอยู่ในระดับที่ จุลินทรีย์ ยีสต์ และ mold ไม่สามารถเจริญได้ (Fontana, 2004)

ค่าดัชนีการละลาย (water solubility index) ของคหิมิกผงจากกระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยการทำให้แห้งแบบแผ่นโฟมมีค่าสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งตามลำดับ โดยมีค่าการละลายอยู่ที่ 16.32 ± 0.34 5.90 ± 0.32 และ 5.12 ± 0.34 เนื่องจากการทำให้แห้งแบบแผ่นโฟมมีส่วนผสมของมอลโตเด็คซ์ตรินประกอบอยู่ ซึ่งเป็นสารที่สามารถละลายในน้ำได้ดี จึงสามารถเหนี่ยวนำความสามารถในการละลายของอาหารผงได้ดียิ่งขึ้น (Chuaychan และ Benjakul, 2016) ส่วนการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่ามีค่าความสามารถในการละลายสูงกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Che Man และคณะ (1999) โดยทำการศึกษาผลของการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งของทุเรียนผง ที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ พบว่าความสามารถในการละลายของทุเรียนผง ที่มาจากการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยมีแนวโน้มมากกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ดัชนีการดูดซึมน้ำกลับ (water absorption index) ของดีหมักผงจากระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่ามากกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่าอยู่ที่ 2.72 ± 0.04 และ 2.69 ± 0.03 ตามลำดับ แต่มีค่ามากกว่าการทำแห้งแบบแผ่นโฟม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่าอยู่ที่ 2.50 ± 0.09 เนื่องจากการทำแห้งด้วยวิธีอบลมร้อนจะให้ลักษณะอนุภาคผงที่ยังมีรูปร่างเป็นเหลี่ยมหรือค่อนข้างกลมและมีพื้นผิวภายนอกที่แข็งอันเนื่องมาจากการใช้ความร้อนที่สูงในเวลาที่ยาวนาน ซึ่งแตกต่างกับกับอนุภาคผงที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งให้ลักษณะที่ค่อนข้างแบน จึงทำให้มีพื้นที่ที่สามารถดูดซับน้ำกลับได้ดี (Park และคณะ, 2016)

อัตราส่วนการคืนรูป (Rehydration ratio) ของดีหมักผงพบว่ากระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี มีผลต่อค่าอัตราส่วนการคืนรูป แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่ามากกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแผ่นโฟม โดยมีค่าอยู่ที่ 2.92 ± 0.07 2.83 ± 0.05 และ 2.61 ± 0.08 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jokić และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้ง ได้แก่ การทำแห้งด้วยวิธีอบลมร้อน การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำแห้งโดยธรรมชาติ ที่มีต่อคุณสมบัติด้านสีและอัตราส่วนการคืนรูปของหน่อไม้ฝรั่ง พบว่ากระบวนการทำแห้งส่งผลต่ออัตราส่วนการคืนรูปแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่ามากกว่าการทำแห้งด้วยวิธีอบลมร้อนและการทำแห้งโดยธรรมชาติตามลำดับ เนื่องจากการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงทำให้ความชื้นระเหยออกอย่างรวดเร็วทำให้ตัวอย่างที่แห้งเกิดการหดตัวเพียงเล็กน้อย

ค่าความสว่าง (L^*) ของดีหมักผงพบว่าการทำแห้งมีผลต่อค่าความสว่างของผงหมักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าดีหมักที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟมมีค่าความสว่างสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่าความสว่างอยู่ที่ 28.93 ± 0.22 17.64 ± 0.09 และ 17.10 ± 0.15 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Seerangurayar และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาสารช่วยทำแห้ง ได้แก่ มอลโตเด็คซ์ตรินและกัมอะราบิก ที่ความเข้มข้นร้อยละ 40-50 โดยกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งร่วมด้วยเทคนิคการทำให้เป็นแผ่นโฟม (foam-mat freeze drying) ของอินทผลัม พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของมอลโตเด็คซ์ตริน ค่าความสว่างก็จะมีค่าสูงขึ้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารช่วยทำแห้ง เนื่องจากการเติมสารช่วยในการทำแห้งเข้าไปมีแนวโน้มทำให้เกิดการสะท้อนของตัวอย่างที่มีความเงาสูงซึ่งทำให้มีความสว่างมากขึ้น ส่วนการทำแห้งแบบพ่นฝอยพบว่ามีความสว่างสูงกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ogrodowska และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้ง ได้แก่ การทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันเมล็ดพืชทองผง โดยพบว่าค่าความสว่างของน้ำมันเมล็ดพืชทองผงที่มาจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าสูงกว่าน้ำมันเมล็ดพืชทองผงที่มาจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ขนาดอนุภาคผงขนาดเล็กกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง อีกทั้งปรากฏการณ์นี้อาจสามารถอธิบายได้ว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นการทำแห้งที่ใช้เวลาในการทำแห้งที่สั้นมาก จึงทำให้เกิดการเสื่อมสลายของเมล็ดที่น้อย

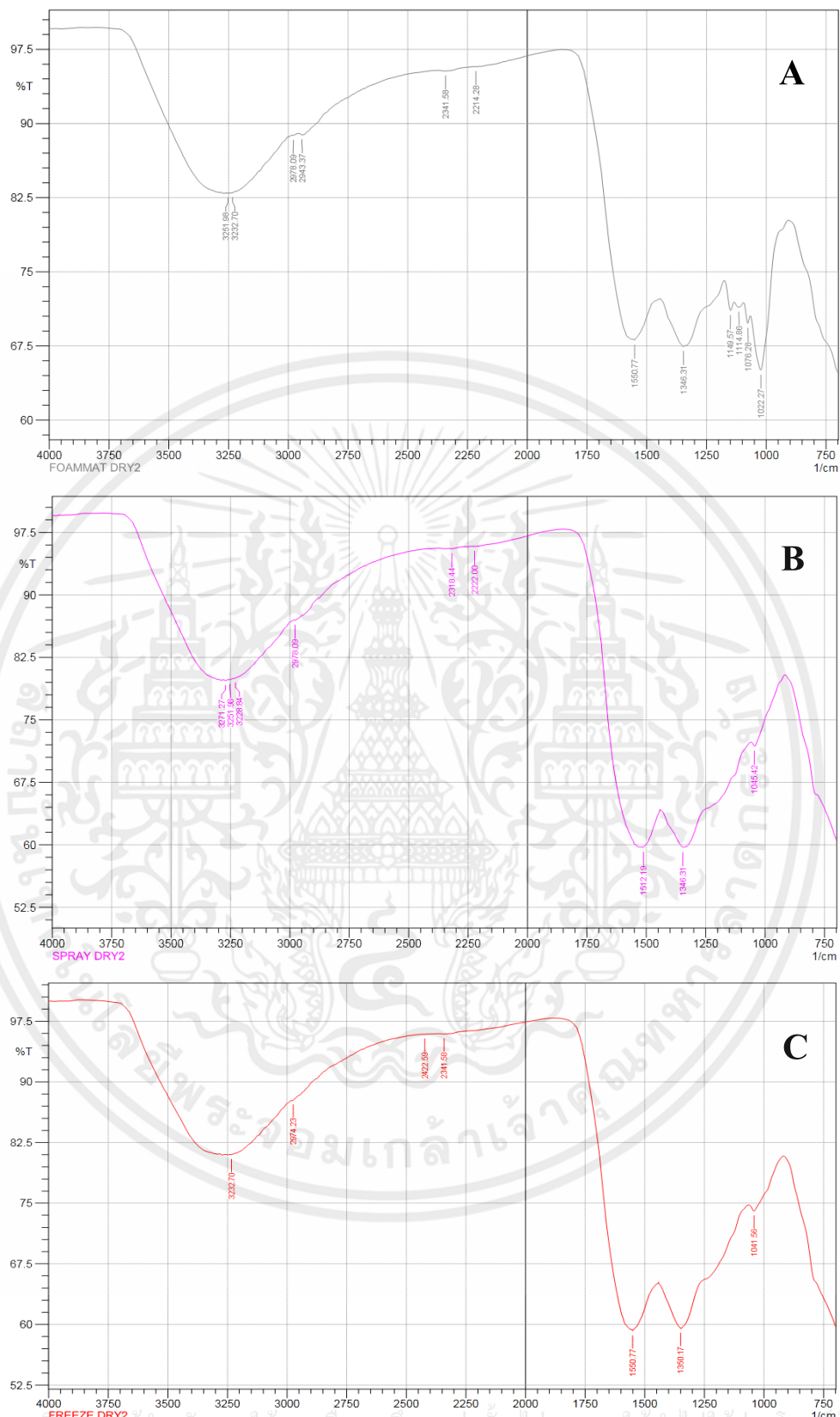
4.2 การศึกษาโครงสร้างของดีหมึกผงโดยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR)

จากการวิเคราะห์ประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีใน โมเลกุลรวมถึงองค์ประกอบที่อยู่ใน โมเลกุลของดีหมึกผง โดยเครื่อง FTIR พบว่าสเปกตรัมจากเครื่อง FTIR ของดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน ได้แก่ ดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม หมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่ความละเอียด 8 cm^{-1} ช่วงความถี่ $750\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ แสดง ดังภาพที่ 4.1 เส้นสเปกตรัมของดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและเส้นสเปกตรัมของดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยไม่แตกต่างกัน แต่ดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม พบว่ามีคลื่นความถี่เกิดขึ้นเพิ่มขึ้นมาที่ตำแหน่ง 1149.57 1114.86 และ 1076.28 ตามลำดับ จากการพิจารณาการสั่นของ โครงสร้างเส้นสเปกตรัม พบว่าดีหมึกผงที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ปรากฏคลื่นความถี่ของพันธะและหมู่ฟังก์ชันในช่วงที่เหมือนกัน ดังนี้ ช่วงความถี่คลื่น $3600\text{-}3200 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ O-H และ N-H หมู่คาร์บอกซิลิก สารประกอบฟีนอลิก กรดอะมิโน และกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนทั้งรูปแบบ indolic และ pyrrolic (Mboniyiriyuze และคณะ, 2015) ในช่วงความถี่คลื่น $3200\text{-}2500 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ O-H (UCSC) ในช่วงความถี่คลื่น $2350\text{-}2100 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ $\text{C}\equiv\text{C}$ (alkynes) (Mboniyiriyuze และคณะ, 2015; UCSC) ในช่วงความถี่ $1510\text{-}1580 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ N-H C-N C-C และหมู่เอไมด์ (Hilderson และ Ralston, 1994) ในช่วงความถี่คลื่น $1625\text{-}1440 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ C=C ของสารประกอบอะโรมาติก (UCSC) ในช่วงความถี่คลื่น $1468\text{-}1330 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ C-H ของสารในกลุ่มของ aliphatic อยู่ในเมลานิน (Mboniyiriyuze และคณะ, 2015) ในช่วงความถี่คลื่น $1375\text{-}1315 \text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ O-H ในพวกลิพิดแซ็คคาไรด์ (D'Souza และ

Kamat, 2017) ในช่วงความถี่คลื่น 1200-1020 cm^{-1} แสดงความถี่การสั่นของพันธะ C-OH ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามพบว่า เส้นสเปกตรัมของดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม เกิดคลื่นความถี่เพิ่มขึ้นที่ 1149.57 1114.86 และ 1076.28 cm^{-1} แต่ไม่ปรากฏในเส้นสเปกตรัมดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยพบว่าช่วงคลื่นที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงความถี่ 1160-1080 cm^{-1} แสดงความถี่การสั่นของพันธะ C-O-C และ C-O ของโพลีแซ็กคาไรด์ (Mecozzi และคณะ, 2008) เนื่องจากในกระบวนการเตรียมดีหมึกผง ในกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม มีการเติมสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์เพิ่มเข้า เพื่อใช้ในการเพิ่มความเสถียรของระบบคอลลอยด์ในการขึ้นโฟม ได้แก่ ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (HPMC) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และมอลโทเด็คซ์ทริน จึงเกิดการแสดงคลื่นของโพลีแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มขึ้นมา ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีการละลายของดีหมึกผง ดังตารางที่ 4.1 พบว่าดีหมึกผงที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟมมีค่าดัชนีการละลายมากกว่าดีหมึกผงที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยและกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากโพลีแซ็กคาไรด์มีองค์ประกอบของหมู่ -OH ที่สูง ทำให้สามารถฟอร์มพันธะไฮโดรเจนจับกับน้ำได้ดีจึงสามารถเหนี่ยวนำการละลายได้มากขึ้น (Guo และคณะ, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ผลิตขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ภาพที่ 4.1 เส้นสเปกตรัม FTIR ของดีหมักผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้ง การทำแห้งแบบแผ่นโฟม
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คิดแบบลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
 (A) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (B) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (C)

4.3 ผลการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมักผงที่มีต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชัน

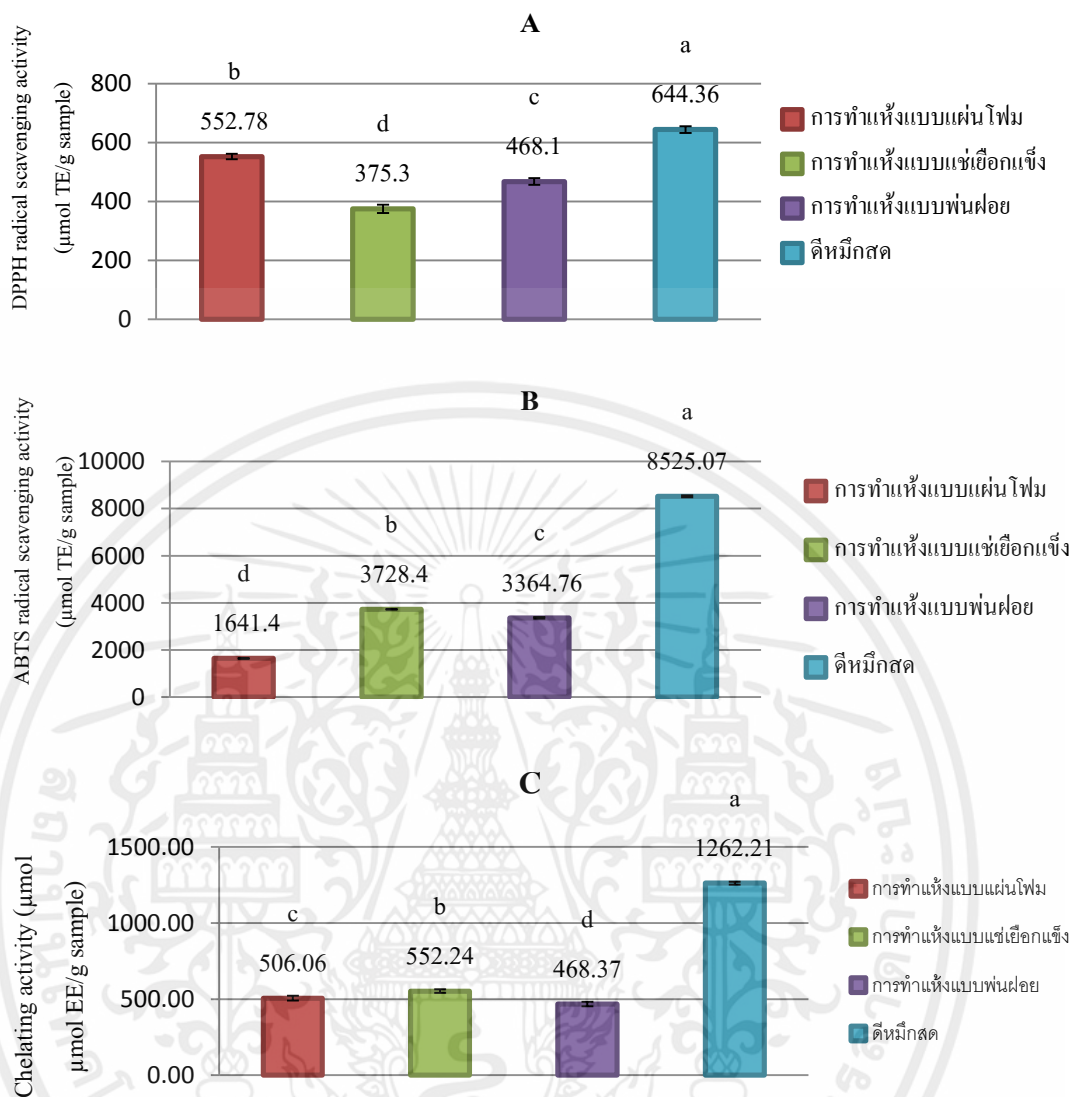
นำสารสกัดดีหมักผงที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ได้แก่ กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม การทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแช่เยือก มาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของดีหมักผง โดยวิธี DPPH (DPPH free radical scavenging assay) วิธี ABTS (ABTS radical scavenging assay) และวิธีการต้านออกซิเดชัน chelating activity ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS แสดงค่าเป็นไมโครโมลสมมูลของ trolox ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักฐานแห้ง) และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี chelating activity แสดงค่าเป็นไมโครโมลสมมูลของ EDTA ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักฐานแห้ง) ดังภาพที่ 4.2

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี chelating activity ของดีหมักสด (ภาพที่ 4.2) พบว่ามีค่ามากกว่าดีหมักผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่าอยู่ที่ 644.36 ± 11.43 8525.07 ± 42.40 ไมโครโมลสมมูลของ trolox ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้ง) และ 1262.21 ± 9.42 ไมโครโมลสมมูลของ EDTA ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้ง) ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในระหว่างกระบวนการทำแห้งอาจทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Ruvini และคณะ, 2017)

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของดีหมักผง พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (ภาพที่ 4.2 A) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดีหมักผงที่ผ่านจากการทำแห้งแบบแผ่นโฟมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับดีหมักผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยมีค่าอยู่ที่ 552.78 ± 9.20 468.10 ± 11.23 และ 375.30 ± 13.73 ไมโครโมลสมมูลของ trolox ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้ง) ตามลำดับ การทำแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อนในอุณหภูมิที่สูง (Esparza-Martínez และคณะ, 2016) และเวลาในการทำแห้งที่ยังนานสามารถส่งผลให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สูงขึ้นตามไปด้วย (Ho และ Lin, 2008) เนื่องจากอาจมีการปฏิสัมพันธ์ของสารบางตัวในระหว่างการทำแห้ง เช่น การสูญเสียของหมู่ไฮดรอกซิล การเกิดสารประกอบบางตัวที่เป็นอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับ และการเกิดสารประกอบใหม่จากการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบอื่นๆ (Chen และคณะ, 2011) ไม่ว่ากรณีใดก็ตาม

ไม่ว่ากรณีใดก็ตาม อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านออกซิเดชั่นของดีหมักผงในวิธีการทำแห้งที่แตกต่างกันโดยวิธี DPPH (A) วิธี ABTS (B) และวิธี chelating activity (C)

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าแวนอนที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS (ภาพที่ 4.2 B) พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดีหมักผงที่ผ่านจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับดีหมักผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบแผ่นโฟม โดยมีค่าอยู่ที่ 3728.4 ± 9.72 3364.76 ± 29.03 และ 1641.4 ± 12.89 ไมโครโมลสมมูลของ trolox ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้ง) ตามลำดับ เนื่องจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถช่วยปกป้องโครงสร้างและสมบัติเชิงหน้าที่ของ

เปปไทด์ได้ ทำให้เปปไทด์ที่มีโครงสร้างและความยาวที่เหมาะสมซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นเปปไทด์ในกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำในดีหมึกเข้าจับกับอนุมูลอิสระ ABTS ได้ (Sukkhown และคณะ, 2018)

เมลานินในดีหมึกของหมึกกระดองเป็น co-polymer ของ eumelanin ที่มีส่วนประกอบของ 5,6 dihydroxy indole (DHI) ร้อยละ 20 และ 5,6-dihydroxy, indole-2-acid-carboxylic (DHICA) ร้อยละ 75 (Katritzky และคณะ, 2002) เมลานินสามารถเร่งการเปลี่ยน O_2 ไปเป็น H_2O_2 ได้ จึงสามารถหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ที่ถูกกระตุ้นโดย O_2 (Chen และคณะ, 2007) DHI สามารถทำงานได้คล้ายเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) โดยสามารถเปลี่ยน superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) ไปเป็น H_2O_2 และ O_2 (Meyskens และคณะ, 2001)

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี chelating activity (ภาพที่ 4.2 C) พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดีหมึกผงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟมและการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยมีค่าอยู่ที่ 552.24 ± 11.56 506.06 ± 15.66 และ 468.37 ± 14.89 ไมโครโมลสมมูลย์ของ EDTA ต่อกรัมตัวอย่าง (น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าดีหมึกมีคุณสมบัติในการดูดซับโลหะประจุบวก เช่น เหล็กหรือทองแดงในร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยโลหะประจุบวกเหล่านี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิล ($\cdot OH$) ที่มีความไวสูงได้ ในปฏิกิริยาเฟนตัน (fenton reaction) เมลานินในดีหมึกจะมี 2-carboxy indole ซึ่งมีโครงสร้างเป็นแบบ indole ที่สามารถขัดขวางปฏิกิริยาถูกโซ่และจับกับประจุของโลหะได้ (Britanicy, 2016) ความสามารถในการเข้าจับกับโลหะจะขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ตรงตำแหน่ง ortho (Maqsood และ Benjakul, 2010) ในเมลานินมีสารเมตาบอไลต์ (metabolites) อยู่ 2 ชนิด คือ L-dopa และ dopamine (Lucero และคณะ, 1994) ในดีหมึกสายพันธุ์ *Salvia officinalis* และ *Loligo opalescens* พบว่ามี L-dopa และ dopamine อยู่ที่ 2.18 และ 0.06 นาโนโมลต่อกรัม (โปรตีน) ตามลำดับ (Fiore และคณะ, 2004) และที่ 1.15 และ 0.19 มิลลิโมล ตามลำดับ (Lucero และคณะ, 1994) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอาจทำให้มีหมู่ carboxyl และหมู่อะมิโนออกมาในระหว่างการทำแห้งมากกว่าการทำแห้งที่ใช้อุณหภูมิสูง (Hasyera และคณะ, 2016) การทำแห้งแบบพ่นฝอยอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเปปไทด์ หรือองค์ประกอบของกรดอะมิโน ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อันเนื่องมาจากการใช้ความร้อนที่สูงได้ ในทางกลับกันการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะเป็นการแช่เยือกแข็งตัวอย่างและระเหิดน้ำ ภายใต้อากาศสุญญากาศ จึงทำให้เกิดการเสถียรภาพของโปรตีนที่น้อยกว่า (Sai-Ut และคณะ, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมีกผงที่มีต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

4.4.1 ศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งดีหมีกผงต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HT-29

จากภาพที่ 4.3 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของดีหมีกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อเซลล์ไลน์ ได้แก่ ลำไส้ใหญ่ (HT29) และเซลล์ไตลิง (Vero) ซึ่งเป็นตัวแทนของเซลล์ปกติ โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบด้วยสารละลายดีหมีกผงที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นประเมินความมีชีวิตรอดของเซลล์หลังจากทดสอบกับตัวอย่างด้วยวิธี MTT ให้เป็นผลึกฟอรัมาซาน และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาว 570 นาโนเมตร นำค่ามาคำนวณร้อยละการมีชีวิตรอด (% cell viability) เปรียบเทียบกับค่าของตัวอย่างควบคุม แล้วรายงานผลเป็นร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% cytotoxicity) ดังตารางที่ 4.2

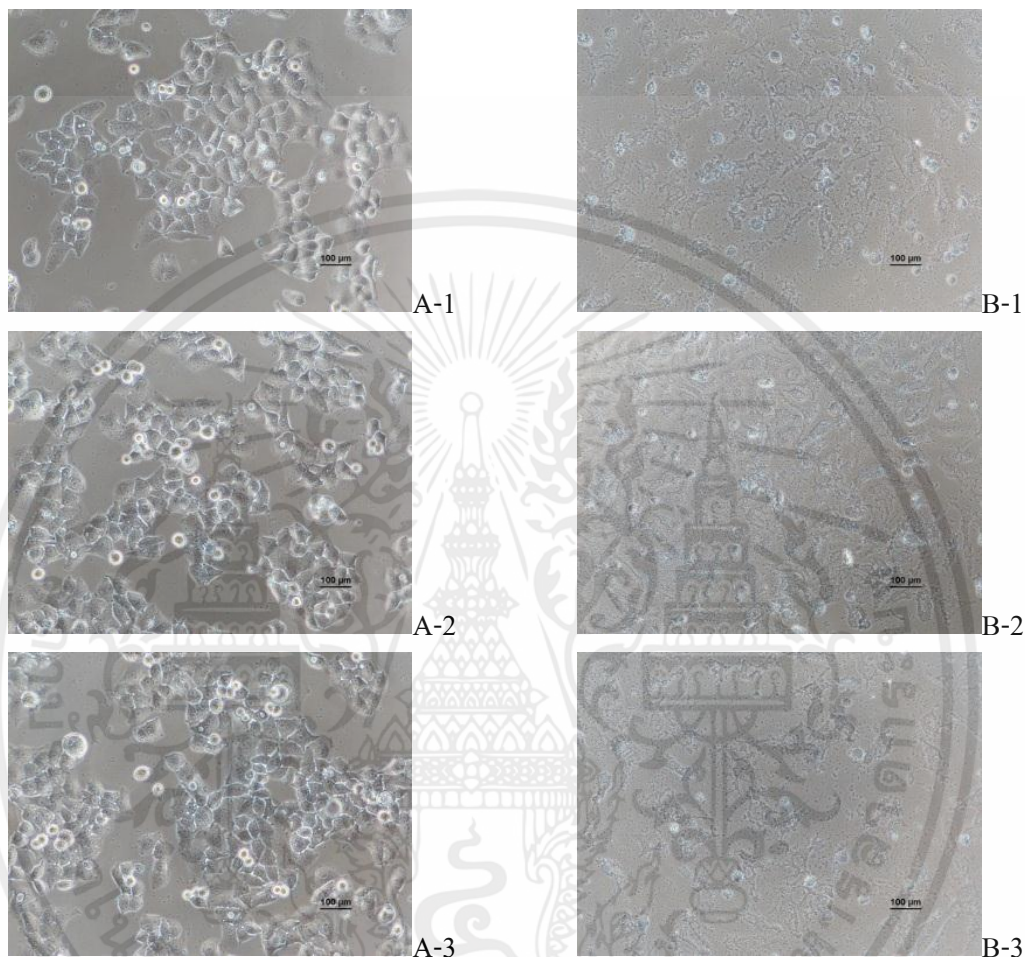
ตารางที่ 4.2 แสดงความเป็นพิษของเซลล์ของดีหมีกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกันของหลุมที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เซลล์ไลน์	% cytotoxicity		
	การทำแห้งแบบแผ่น โฟม	การทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็ง	การทำแห้งแบบพ่น ฝอย
HT29	-6.53±3.89 ^a	-5.21±2.53 ^a	-1.89±0.91 ^a
Vero	-9.75±1.68 ^a	-15.85±1.03 ^b	-6.01±0.77 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าแนวอนที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

พบว่าดีหมีกผงที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ไม่ส่งผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HT29 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่า % cytotoxicity อยู่ที่ -6.53±3.89 -5.21±2.53 และ -1.89±0.91 ตามดับ ส่วนเซลล์ไลน์ Vero พบว่าดีหมีกที่ผ่านกระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ไม่ส่งผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เช่นกัน โดยมีค่า % cytotoxicity อยู่ที่ -9.75±1.68 -15.85±1.03 และ -6.01±0.77 ตามลำดับ Fatimah Zaharah และ Rabeta (2018) ได้รายงานไว้ในดีหมีกผงมีองค์ประกอบของความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า อยู่ที่ร้อยละ 4.43 62.46 3.96 และ 9.29 ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ เซลล์สามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารในการกระตุ้นการ

เจริญเติบโตได้ อีกทั้งสารอาหารเหล่านี้อาจเข้าไปขัดขวาง การเข้าถึงของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง จึงทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการเจริญเติบโตของเซลล์และไม่เป็นพิษต่อเซลล์

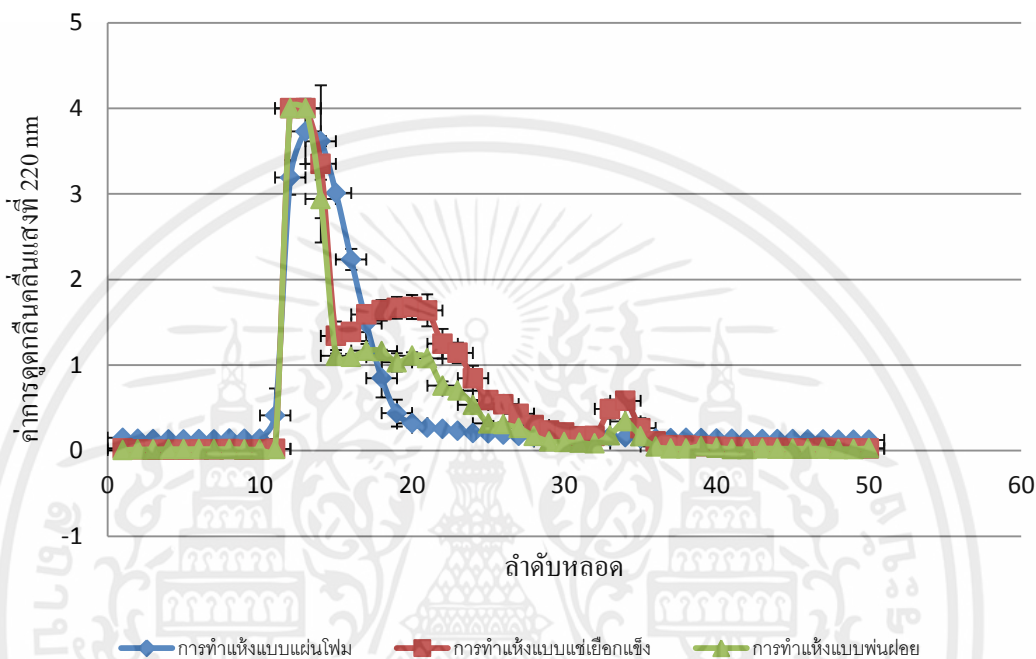


ภาพที่ 4.3 ลักษณะเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ของกลุ่มที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ไลน์ HT29 และ Vero แทนตัวอักษร A และ B กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโพร กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แทนหมายเลข 1 2 และ 3 ตามลำดับ

4.4.2 การเตรียมสารสกัด fraction โดยเทคนิคการแยกสารด้วยวิธี gel filtration chromatography

จากการศึกษาสารสกัด fraction ของดีหมีกึ่งผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโพร กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยวิธี gel chromatography ของสารสกัดหยาบของดีหมีกึ่งผงในสารละลาย tris HCl buffer 0.1 โมล ที่ pH 6.80 ที่ผ่านการทำ dialysis และการทำแห้งแบบวิธีการแช่เยือกแข็ง นำสารสกัดหยาบแห้งของดีหมีกึ่ง

ปริมาณ 0.1 กรัม มาละลายกลับในสารละลาย tris HCl buffer 0.1 โมล ที่ pH 6.80 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นโหลดสารละลายลง column ที่บรรจุด้วยมีเดีย sephadex G-25 ที่ฟองแล้ว ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างทุกๆ 5 มิลลิลิตร ติดตาม fraction จากการพิจารณาค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นที่ 220 นาโนเมตร ดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัด fraction ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร

เนื่องจากเป็นความยาวคลื่นที่มีความจำเพาะกับพันธะเปปไทด์ จึงสามารถใช้ในการติดตามปริมาณโปรตีนที่ออกมาได้ (Cheung และคณะ, 2011) โดยจากการรายงานสารสกัด fraction ดีหมึกก่อนหน้า พบว่าสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง เป็นองค์ประกอบในกลุ่มของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ที่ประกอบไปด้วย แอสปาทิกแอซิด ทรีโอนีน เซอรีน กลูตามิกแอซิด อะลานีน อีกทั้งยังพบ กลูโคโรนิกแอซิด N-acetylgalactosamine (GalNAc) และน้ำตาลฟิวโคส (fucose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มักพบในโครงสร้างของ peptidoglycan (Takaya และคณะ, 1994) จากภาพที่ 4.4 พบว่าเมื่อติดตามด้วยค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร สารสกัด fraction 1 ของดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย เริ่มออกมาในลำดับหลอดที่ 10 และสิ้นสุดลงที่ลำดับหลอดที่ 16 สารสกัด fraction 2 เริ่มออกมาในลำดับหลอดที่ 17 และสิ้นสุดลงที่ลำดับหลอดที่ 31 และสารสกัด fraction 3 เริ่มออกมาในลำดับหลอดที่ 32 และสิ้นสุดลงที่ลำดับหลอดที่ 37 พบว่าปริมาณสารสกัด fraction 1 มีปริมาณมากกว่า fraction 2 และ fraction 3 ตามลำดับ จึงพิจารณาสาร

สกัด fraction 1 ในทดสอบหาความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งในลำดับถัดไป เนื่องจากมีผลผลิตมากที่สุด

4.4.3 ศึกษาผลของสารสกัด fraction 1 ที่มาจากดีหมักผงที่ผ่านการทำให้แห้งที่ต่างกัน ต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

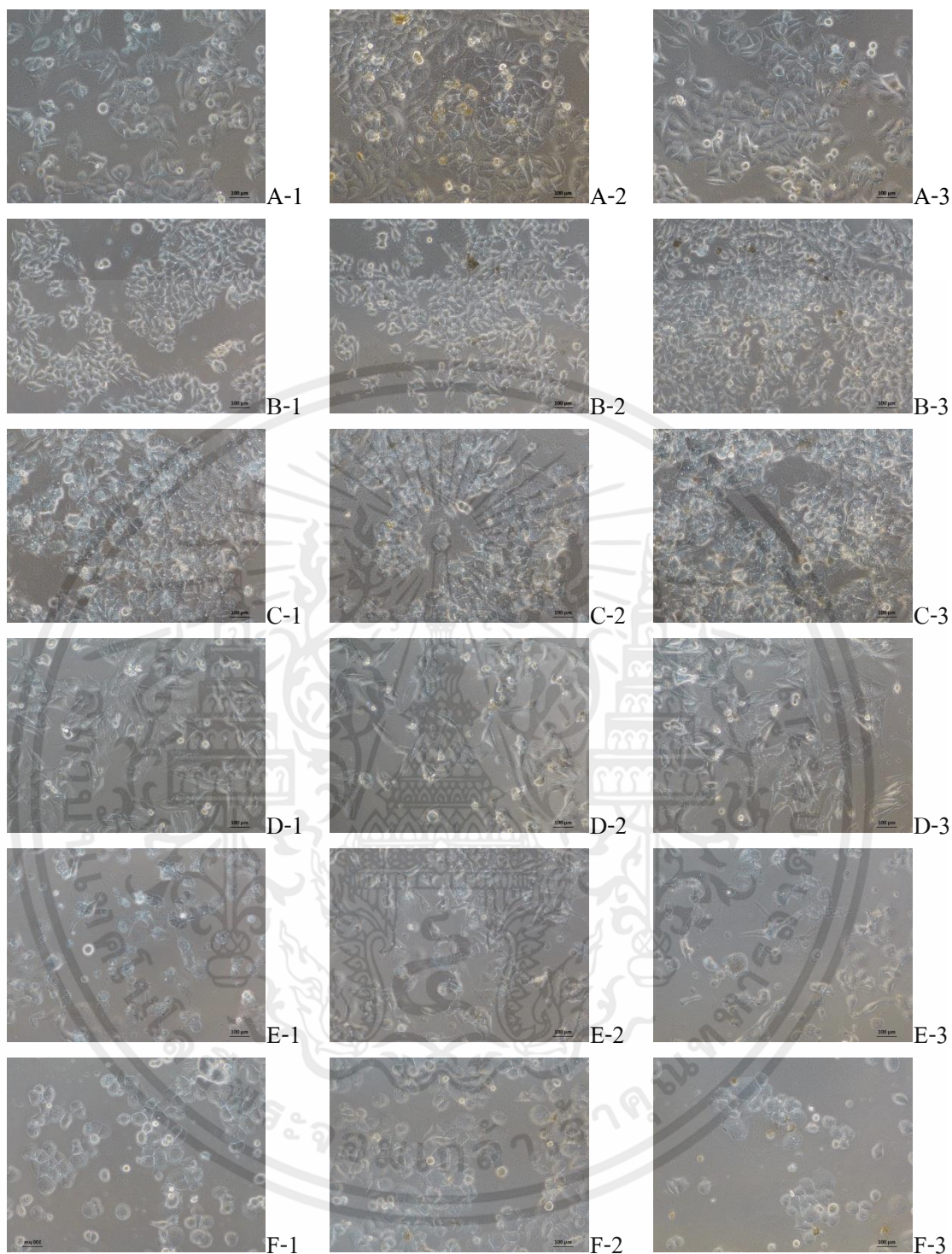
จากภาพที่ 4.5 แสดงการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัด fraction 1 จากเทคนิคการแยกสารด้วยวิธี gel filtration chromatography ดังข้อที่ 4.4.2 ที่มาจากดีหมักผงที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งแบบแผ่น โฟม การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย ที่มีต่อเซลล์ไลน์ ได้แก่ เซลล์มะเร็งช่องปาก (KB) เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT29) และเซลล์ไตลิง (Vero) ซึ่งเป็นตัวแทนของเซลล์ปกติ โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบด้วยสารสกัด fraction 1 ดีหมักผงที่ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4.5 จากนั้นประเมินความมีชีวิตรอดของเซลล์หลังจากทดสอบกับสารสกัดด้วยวิธี MTT ให้เป็นผลึกฟอร์มาซาน และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาว 570 นาโนเมตร นำค่ามาคำนวณร้อยละการมีชีวิตรอด (% cell viability) เปรียบเทียบกับค่าของตัวอย่างควบคุมแล้วรายงานผลเป็นร้อยละความเป็นพิษ (% cytotoxicity) ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงความเป็นพิษของเซลล์ของสารสกัดดีหมักผง fraction 1 ที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งที่ต่างกันของหลุมที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เซลล์ไลน์	% cytotoxicity		
	การทำให้แห้งแบบแผ่น โฟม	การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง	การทำให้แห้งแบบพ่นฝอย
KB	2.54±0.23 ^c	28.96±0.46 ^b	31.10±0.46 ^a
MCF7	20.76±0.76 ^b	17.14±0.08 ^c	24.73±0.17 ^a
HepG2	17.92±0.08 ^c	18.42±0.24 ^b	21.63±0.08 ^a
HeLa	16.06±0.18 ^b	31.09±0.36 ^a	14.65±0.12 ^c
Vero	38.60±0.26 ^a	39.81±0.26 ^a	28.04±1.19 ^b
HT29	-14.22±0.06 ^a	-18.46±0.09 ^b	-45.59±0.58 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าแวนอนที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ลักษณะเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆของหลุมที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ไลน์ KB MCF7 HepG2 HeLa Vero และ HT29 แทนตัวอักษร A B C D E และ F กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แทนหมายเลข 1 2 และ 3 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าสารสกัด fraction 1 ที่มาจากดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ไม่เป็นพิษต่อ เซลล์มะเร็ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากมีค่า % cytotoxicity ไม่เกินร้อยละ 50 จึงจัดว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ หรือเป็นพิษในระดับที่ต่ำ โดยพบว่ากระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่า % cytotoxicity ต่อเซลล์ไลน์ KB อยู่ที่ 2.54±0.23 28.96±0.46 และ 31.10±0.46 ค่า % cytotoxicity ต่อเซลล์ไลน์ MCF7 อยู่ที่ 20.76±0.76 17.14±0.08 และ 24.73±0.17 ค่า % cytotoxicity ต่อเซลล์ไลน์ HepG2 อยู่ที่ 17.92±0.08 18.42±0.24 และ 21.63±0.08 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Diaz และคณะ (2014) โดยได้ทำการศึกษาความสามารถ ในการต้านมะเร็งของสารสกัดแบบหยาบและสารสกัด fraction ในดีหมึกของหมึกสายพันธุ์ *Loligo duvauceli* พบว่าสารสกัดทั้ง 2 สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ HepG2 ได้ โดยมีค่า % cytotoxicity อยู่ที่ 67 และ 70 ตามลำดับ ณ ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ค่า % cytotoxicity ต่อเซลล์ไลน์ HeLa อยู่ที่ 16.06±0.18 31.09±0.36 และ 14.65±0.12 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Senan และคณะ (2013) ที่ได้ทำการศึกษาคูสมบัติของ สารสกัด fraction ดีหมึกของหมึกสายพันธุ์ *Sepia pharaonis* ต่อความสามารถในการต้าน เซลล์มะเร็งปากมดลูก ได้แก่ เซลล์ไลน์ HeLa และเซลล์ไลน์ Caski โดยพบว่าสารสกัด fraction C₂ สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ทั้ง 2 ชนิดได้ โดยแสดงค่าความเป็นพิษในรูป LC₅₀ ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 135 และ 189 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า % cytotoxicity ต่อเซลล์ไลน์ Vero ซึ่งเป็นตัวแทนของเซลล์ปกติ มีค่าอยู่ที่ 38.60±0.26 39.81±0.26 และ 28.04±1.19 ตามลำดับ

ในส่วนของเซลล์ไลน์ HT29 พบว่าสารสกัด fraction 1 ที่มาจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟม กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่า % cytotoxicity -14.22±0.06 -18.46±0.09 และ -45.59±0.58 ตามลำดับ

ในดีหมึกจะมีเอนไซม์ tyrosinase ที่สามารถเปลี่ยน tyrosine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนไป เป็น dopaquinone โดย dopaquinone สามารถฟอร์มพันธะกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (-SH) ของกรดอะมิโน cysteine ในรูปแบบ nucleophilic attack กลายเป็น protein-bound dopa และ 5-S-cysteinyl-dopa พบว่า protein-bound dopa มีฤทธิ์สามารถทำให้ชีวโมเลกุล เช่น DNA ไขมันและโปรตีนเกิดความเสียหายจึงส่งผลทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ (Russo และคณะ, 2003) ในสารสกัด fraction ของดีหมึกที่สกัดด้วยสารละลาย tris-HCl buffer (pH 6.80) (Takaya และคณะ, 1994) และสารละลาย acetone มีส่วนประกอบของ peptidoglycan ซึ่งมีความสามารถในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในการ ต้านการเจริญของเนื้องอก Meth-A ในสัตว์ทดลองได้ (Sasaki และคณะ, 1997) และมีความสามารถ

ในการต้านเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Senan และคณะ, 2013) และเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (Gou-Fang และคณะ, 2011) ซึ่งมีความสอดคล้องในการศึกษาโครงสร้างของดีเอ็นเอที่สกัดโดยเครื่อง FTIR ดังภาพที่ 4.1 พบว่าแสดงช่วงความถี่คลื่น $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งมีความจำเพาะกับกรดอะมิโนและกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน indolic และ pyrrolic (Mbonyirivuze และคณะ, 2015) และช่วงความถี่คลื่น $1510-1580\text{ cm}^{-1}$ แสดงความถี่การสั่นของพันธะ N-H C-N C-C และหมู่เอไมด์ของอะมิโน (Hilderson และ Ralston, 1994) อีกทั้งยังพบว่าสารสกัดดีเอ็นเอสามารถป้องกันการเสียหายของเซลล์เม็ดเลือดจากการใช้ยาเคมีบำบัด (Zhong และคณะ, 2009)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแผ่น โฟมเป็นดีหมึกผงที่มีสมบัติทางเคมีกายภาพดีที่สุด เนื่องจากมีค่าดัชนีการละลายสูงที่สุด

5.1.2 กระบวนการทำแห้งดีหมึกผงทั้ง 3 วิธี ไม่ส่งผลกระทบต่อชนิดของพันธะและหมู่ฟังก์ชันในดีหมึกผง

5.1.3 ดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นกระบวนการทำแห้งที่ให้ค่าความสามารถในด้านอนุผลอิสระและการด้านออกซิเดชันสูงที่สุด

5.1.4 ดีหมึกผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ที่ความเข้มข้นของหลุมที่เดิมสารสกัด 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ไลน์ HT29 และ Vero

5.1.5 สารสกัด fraction 1 จากดีหมึกผงที่ผ่านจากกระบวนการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ที่ความเข้มข้นของหลุมที่เดิมสารสกัด 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษในระดับที่ต่ำต่อเซลล์ไลน์ KB MCF7 HepG2 HeLa และ Vero แต่กระตุ้นการเจริญการเติบโตต่อเซลล์ไลน์ HT29

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการฉีด GCMS หรือ HPMC เพื่อทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด fraction 1 ของดีหมึกผงเพิ่มเติม

5.2.2 ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการสกัดสารจากดีหมึกผงเพิ่มเติมให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น เช่น อาจมีการนำเทคนิคที่มีเอนไซม์เอามาใช้ร่วมด้วย เป็นแนวทางเพื่อให้สารสกัดมีพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงขึ้นหรือลดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติลง

5.2.3 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสามารถในการต้านแบคทีเรียของดีหมึกผงที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี เพื่อเป็นทางเลือกในประยุกต์ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กิตติพงษ์ ห่วงรัญษ์. 2536. กระบวนการแปรรูปอาหาร (Food Processing). เอกสารประกอบการสอน ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- กรมประมง. 2557. หมึกกล้วยเสื่อ หมึกกระดองลาย. เข้าถึงได้จาก <http://www.fisheries.go.th/> (10 มิถุนายน 2560).
- กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์ และนวนอนงค์ จิระกาญจนากิจ. 2548. ความรู้พื้นฐานของเทคโนโลยีเซลล์สัตว์ (Basic knowledge in animal cell technology). นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์.
- คณาจารย์ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2557. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง (Fishery Product Science and Technology). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจ็ดจินดา โชติยะปุตตะ. 2536. ชีวิตวิทยาของปลาหมึก. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 9, สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดระยอง กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
- นัทรทริกา อภิชาติวรกิจ, ไอลดา กลั่นสุข, สุวรรณ เสมศรี และ สุริย์พร หอมวิเศษวงศา. 2558. "ความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้ต้นต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง." วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 1(1) : 60-68.
- ชุตินา วันเพ็ญ, บุษราภรณ์ งามปัญญา, สุวัฒนา พลฤกษ์ศรี, พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ และปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ. 2556. "ผลของการฟักรีดนมด้วยอัลตราซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน." วจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 36(2) : 249-258.
- ชรินทร์ เตชะพันธุ์. 2542. การทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ (Proteins Purification). เอกสารประกอบการสอน ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ฐิตินา เอียดแก้ว. 2561. สถานการณ์สินค้าหมึกและผลิตภัณฑ์ในช่วง 3 เดือนแรกของปี 2561. กลุ่มเศรษฐกิจการประมง : กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง.
- บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. "อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ." วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21(3) : 275-286.
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า บันลือ สังข์ทอง, กนกรัตน์ สายคง, กมลวรรณ อนุะมาน, พันธวงษ์ ไรจน์ชนศิริวนิช และเมธิน ผดุงกิจ. 2556. "ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบหม่อนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง". วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 9 : 567-574.

- ไพบุลย์ ธรรมรัตน์ว่าลิก. 2532. **กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.
- พิมพ์วัลัญษ์ บุญมาร์ภย์. 2558. “ผลของเทคนิคการทำแห้งที่มีต่อคุณภาพของดีหมึกผงและการผลิตซอสดีหมึกผงพร้อมปรุง”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- มาลา สุพงษ์พันธ์. 2538. **ทรัพยากรปลาหมึกในอ่าวไทย**. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 17, สถานีเพาะเลี้ยง สัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดระยอง กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
- มลศิริ วิโรทัย. 2540. “ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่”. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ**. 13(2) : 69-75.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.” **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. 8(2) : 76.
- วิจิตรา นาไชยเวศน์. 2555. "การวิเคราะห์แป้งที่ใช้เป็นเครื่องสำอางด้วยเทคนิค Gas chromatography-flame ionized detector (GC-FID) และเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร
- วิไล รังสาดทอง. 2547. **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร**. เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.
- สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2555. มะเร็งคืออะไร. 2012. [ออนไลน์]. <http://www.nci.go.th/th/Knowledge/whatis.html>. (วันที่สืบค้นข้อมูล 2 กุมภาพันธ์ 2562)
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กระทรวงอุตสาหกรรม. ประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนฉบับที่ 494 (พ.ศ. 2547) ผลิตภัณฑ์ชุมชนปรุงรสอาหาร เลขที่ มผช. 494/2547.
- เอกฉนัย วงศ์ธนบัตร. 2548. “การแปรรูปน้ำกะทิอบแห้งแบบพ่นฝอย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- โอภา วัชรคุปต์. 2550. **สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : บริษัท นิวไทยมิตรการพิมพ์.

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช.) ห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 Brita nicy, A. 2016. "Antioxidant and antibacterial properties of cuttlefish ink collected from selected cuttlefish landed at thoothukudi coast." Thesis of the Degree of Master of Fisheries Science in Fish Processing Technology, Tamil Nadu Fisheries University, Nagapattinam.

- Andjelkovic, M.Z., Milenkovic-Andjelkovic, A.S., Radovanovic, B.C. and Radovanovic, A.N. 2014. "Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenols from seeds of grape pomace." **Acta Chimica Slovenica**. 61 : 858-865.
- Blois, M. S. 1958. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical". **Nature**. 181 : 1199-1200.
- Buckberry, L.D. 2005. **Cytotoxicity testing using cell lines**. In animal cell biotechnology. methods and protocols. (ed. N. Jerkins), pp. 239-252. Replika Press Pvt. Ltd., India.
- Che Man, Y., Irwandi, J. and Abdullah, W. 1999. "Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour." **Journal of The Science of Food and Agriculture**. 79 : 1075-1080.
- Chen, M-L., Yang, D-J. and Liu, S-C. 2011. "Original article Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels." **International Journal of Food Science and Technology**. 46 : 1179-1185.
- Chen, S.G., Xue, C.H., Xue, Y., Li, Z.J.X., Gao, X. and Ma, Q., 2007. Studies on the free radical scavenging activities of melanin from squid ink. **Chinese Journal of Marine Drugs**. 26(1), 24-27.
- Cheung, M.C., Evans, J. G., McKenna, B. and Ehrlich, D. J. 2011. "Deep ultraviolet mapping of intracellular protein and nucleic acid in femtograms per pixel." **Cytometry Part A**. 79A : 920-932.
- Chuaychan, S. and Benjakul, S. 2016. "Effect of maltodextrin on characteristics and antioxidative activity of spray-dried powder of gelatin and gelatin hydrolysate from scales of spotted golden goatfish." **Journal of Food Science and Technology**. 53(9) : 3583–3592.
- D'Souza, R. A. and Kamat N.M. 2017. "Potential of FTIR spectroscopy in chemical characterization of *Termitomyces* Pellets." **Journal of Applied Biology & Biotechnology**. 5(04) : 080-084.
- Derby, C. D. 2014. "Cephalopod ink: production, chemistry, functions and applications." **Marine Drugs**. 12(5) : 2700-2730.
- Diaz, J. H. J., Thilaga, R. D. and Sivakumar, V. 2014. "Cytotoxic activity of crude and partially purified ink of *L. duvauceli* towards HepG2 cell line." **International Journal of Pharma Research & Review**. 3(6) : 19-23.

- Dinis, T.C.P., V.M.C. Madeira and L.M. Almeida. 1994. "Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyradical scavengers." **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 315 : 161-169.
- Esparza-Martínez, F., Miranda-López, R. and Guzmán-Maldonado, S. H. 2016. "Effect of air-drying temperature on extractable and non-extractable phenolics and antioxidant capacity of lime wastes." **Industrial Crops and Products**. 84 : 1–6.
- Fatimah Zaharah, M.Y. and Rabeta, M.S. 2018. "Antioxidant and antimicrobial activities of squid ink powder." **Food Research**. 2(1) : 82 - 88.
- Fiore G., Poli, A., Cosmo, A. D. Masrco, I. and Anna, P. 2004. "Dopamine in the ink defence system of *Sepia officinalis*: biosynthesis, vesicular compartmentation in mature ink gland cells, nitric oxide (NO)/cGMP-induced depletion and fate in secreted ink." **Biochem**. 378 : 785–791.
- Firth, F.E. 1969. *The Encyclopedia of Marine Resources*. VanNostrand Reinhold Company, New York.
- Fontana. A.J. (2004). Water activity for confectionery quality and shelf-life. [Online]. <http://www.gomc.com/firstpage/200511045.pdf> . Accessed : 15 April 2017.
- Guo-Fang, D., Fang-Fang, H., Zui-su, Y., Di, Y and Yong-Fang, Y. 2011. "Anticancer activity of an oligopeptide isolated from hydrolysates of Sepai ink." **Chinese journal of natural medicine**. 9(2) : 0151-0155.
- Guo, M. Q., Hu, X., Wang, C. and Ai, L. (2017). "Polysaccharides: Structure and Solubility." **InTech**. 7-21.
- Halliwell, B. 1996. "Antioxidants in health and disease." **Annual Review of Nutrition**. 16:33-50.
- Harki, E., Talou, T. and Dargent, R. 1997. "Purification, characterisation and analysis of melanin extracted from *Tuber melanosporum* Vitt." **Food Chem**. 58(1–2) : 69–73.
- Hilderson, H. J. and Ralston, G. B. 1994. **Physicochemical Methods in the Study of Biomembranes**. New York : Plenum Press.
- Ho, S.-C. and Lin, C.-C. 2008. "Investigation of heat treating conditions for enhancing the anti-inflammatory activity of citrus fruit (*Citrus reticulata*) peels." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56(17) : 7976-7982.

- Hou, W.C., Y.C. Chen, Y.H. Lin, L.L. Yang and M.H. Lee. 2001. "Antioxidant activities of trypsin Inhibitor a 33 KDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57)." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49 : 2978-2981.
- Imeson, A. 2010. **Thickeners and gelling agents**. UK : Blackwell Publishing Ltd.
- Jokić, S., Mujić, T., Martinov, M., Velić D., Bilić, M. and Lukinac, J. 2009. "Influence of drying procedure on colour and rehydration characteristic of wild asparagus." **Czech Journal of Food Sciences**. 27(3) : 171-177.
- Jie-Ping, Z., Guang, W., Jiang-Hua, S., Jiang-Qiu, P., Kun, L., Yan, H. and Hua-Zhong, L. 2009. "Protective effects of squid ink extract towards hemopoietic injuries induced by cyclophosphamine." **Marine Drugs**. 7 : 9-18.
- Katritzky, A.R., Akhmedov, N.G., Denisenko, S.N. and Denisko, O.V. 2002. "1H NMR spectroscopic characterization of solutions of sepia melanin, sepia melanin free acid and human hair melanin." **Pigment Cell Research**. 15(2) : 93-97.
- Kaushal, M., Sharma, P. C. and Sharma, R. 2013. "Formulation and acceptability of foam mat dried seabuckthorn (*Hippophae salicifolia*) leather." **Journal of Food Science and Technology**. 50(1):78–85.
- Lucero, M.T., Farrington, H. and Gilly, W.F. 1994. Qualification of L-dopa and dopamine in squid ink: implications for chemoreception. **Biology Bulletin**. 187: 55–63.
- Maqsood, S. and Benjakul, S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**. 119 : 123–132.
- Masters, K. 1991. **Spray drying handbook**. 5th ed. Harlow : Longman Scientific and Technical.
- Mbonyirivuze, A., Mwakikunga, B., Simon Mokhotjwa Dhlamini, S.M. and Maaza, M. 2015. "Fourier transform infrared spectroscopy for sepia melanin." **Physics and Materials Chemistry**. 3(2) : 25-29.
- Mecozi, M., Pietroletti, M. and Conti, M.E. 2008. "The complex mechanisms of marine mucilage formation by spectroscopic investigation of the structural characteristics of natural and synthetic mucilage samples." **Marine Chemistry**. 112 : 38–52.
- Meyskens, F.L., Farmer, P. and Fruehauf, J.P. 2001. "Redox regulation in human melanocytes and melanoma." **Pigment Cell Research**. 14 : 148-154.

- Mujumdar, A. S. 2011. **Spray drying of foods**. International Workshop on Drying of Food and Biomaterials.
- Neifar, A., Rebah, F. B., Gargouri, A. and Abdelmouleh, A. 2009. "Physicochemical characterization of *Sepia officinalis* ink and the effects of storage conditions on the coagulation process." **Marine Biological Association of the United Kingdom**. 89(4) : 803-807.
- Ng, M. L. and R. Sulaiman. 2018. "Development of beetroot (*Beta vulgaris*) powder using foam mat drying." **Food Science and Technology**. 88 : 80-86.
- Oberoi, D. P. S. and Sogi, D. S. (2015). "Effect of drying methods and maltodextrin concentration on pigment content of watermelon juice powder." **Journal of Food Engineering**. 165 : 172-178.
- O'Fagain, C., Cummins, P. M. and O'Connor, B. F. (2011). "Gel-filtration chromatography." **Methods in Molecular Biology**. 681 : 25-33.
- Ogrodowska, D., Tańska, M. and Brandt, W. 2017. "The influence of drying process conditions on the physical properties, bioactive compounds and stability of encapsulated pumpkin seed oil." **Food Bioprocess Technol**. 10 : 1265–1280.
- Parka, B. J., Leeb, Y. and Eun J. 2016. "Physicochemical characteristics of kimchi powder manufactured by hot air drying and freeze drying." **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. 5 : 193-198.
- PM Industries And Process Equipments Private Limited. 2562. **pressure nozzle atomizer**. [online]. <https://www.indiamart.com/pmindustries/spray-dryer.html>. Accessed : 5 may 2019.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-evans, C. 1998. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay". **Free radical biology & medicine**. 26 : 1231-1237.
- Riss, T. L., Moravec, R.A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J. and Minor, L. 2016. **Cell Viability Assays**. Assay of guidance manual. National center for biotechnology information.
- Russo, G.L., Nisco, E.D., Fiore, G., Donato, P.D., d'Ischia, M. and Palumbo, A. 2003. "Toxicity of melanin-free ink of *Sepia officinalis* to transformed cell line: identification of the active factor as tyrosinase." **Biochemical and biophysical research communications**. 293-299.

- Ruvini, L., Dissanayaka, W. M. M. K., Chathuni, J., Rizliya, V., Swarna, W. and Barana C. J. 2017. "Effect of Different Drying Methods on Antioxidant Activity of Star Fruits (*Averrhoa Carambola* L.)." **Journal of Nutrition and Diet Supplements**. 1(1) : 101.
- Sai-Ut, S., Benjakul, S., Sumpavapol, P., Kishimura, H. 2014. "effect of drying methods on odorous compounds and antioxidative activity of gelatin hydrolysate produced by protease from *B. amyloliquefaciens* H11." **Drying Technology**. 32 : 1552-1559.
- Sasaki, J., Ishita, K., Takaya, Y., Uchisawa, H and Matsue, H. 1997. "Anti-tumor activity of squid ink." **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. 43 : 455-461.
- Seerangurayar, T., Manickavasagan, A., Al-Ismaili, A. and Al-Mulla, Y. 2018. "Effect of carrier agents on physicochemical properties of foam-mat freeze-dried date powder." **Drying Technology**. 36(11) : 1292-1303.
- Senan, V. P., Sherief, P.M. and Nair, J. R. 2013. "Anticancer property of purified fraction c2 of cuttlefish (*sepia pharaonis*) ink on cervical cancer cells." **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**. 3(9) : 7444-7454.
- Seremet, L., Botez, E., Nistor, O., Andronoiu, D. G. and Mocanu, G. (2016). "Effect of different drying methods on moisture ratio and rehydration of pumpkin slices." **Food Chemistry**. 195 : 104-109.
- Sukkhowna, P., Jangchudb, K., Lorjaroenphonb, Y. and Pirak, T. 2018. "Flavored-functional protein hydrolysates from enzymatic hydrolysis of dried squid by-products: Effect of drying method." **Food Hydrocolloids**. 76 : 103-112.
- Takaya, Y., Uchisawa, H., Matsue, H., Okuzaki, B., Narumi, F., Sasaki, J. and Ishida, K. 1994. "An investigation of the antitumor peptidoglycan fraction from squid ink". **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. 17(6) : 846-849.
- UCSC. IR Tables. Characteristic IR Absorption Peaks of Functional Groups. [Online]. <https://cpb-us-e1.wpmucdn.com/sites.ucsc.edu/dist/9/291/files/2015/11/IR-Table-1.pdf>. (Accessed : 17 July 2019)
- Valdez, B. 2012. **Food Industrial Processes Methods and Equipment**. Intech open.
- Vate, N.K. and Benjakul, S. 2013. "Antioxidative activity of melanin-free ink from splendid squid

เอกสารนี้เป็นเอกสาร (*Loligo formosana*)". **International aquatic research**. 5(9) : 1-12. ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ก-1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาในตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมงทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาทีชั่งน้ำหนัก (W1) โดยชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งที่ความละเอียด 4 ตำแหน่ง

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัมใส่กระป๋องหาความชื้นที่อบและชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W2)

3. นำกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาทิ้งไว้จนเย็นไปอบที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียสนาน 4 ชั่วโมง

4. นำกระป๋องหาความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าโดยปิดฝาทันทีและทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาทีชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

5. นำไปอบต่อจากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักทุกชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ (W3)

6. คำนวณหาปริมาณความชื้นหน่วยเป็นร้อยละ โดยนำน้ำหนักที่หายไปหารด้วยน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้คูณด้วย 100

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W2 - W3)}{(W2 - W1)} \times 100$$

เมื่อ W1 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น (กรัม)

W2 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W3 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, a_w)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัด a_w (AQUALAB series 4TE)
2. ตลับและฝาพลาสติกสำหรับเครื่องวัด a_w
3. ชุดทำความสะอาด

การเตรียมตัวอย่าง

1. ใส่ตัวอย่างในตลับประมาณ 1/3 ของตลับหรือไม่เกินครึ่งหนึ่งของตลับเกลี่ยตัวอย่างให้ครอบคลุมทั่วตลับเพื่อประสิทธิภาพในการวัด
2. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าที่ขอบริมและด้านนอกของตลับวัดสะอาดห้ามมีตัวอย่างติดบริเวณตลับวัด a_w
3. ตัวอย่างควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือต่างกันไม่เกิน 4 องศาเซลเซียสของอุณหภูมิ chamber เครื่องวัด a_w

การเปิดเครื่อง

1. เปิดเครื่อง a_w ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีเพื่อการวัดที่มีประสิทธิภาพสูง
2. นำตลับวัด a_w ใส่ลงในเครื่องระวังไม่ให้ตัวอย่างหกหล่น
3. ดันคันโยกไปในตำแหน่ง Open/Load ไปยังตำแหน่ง Read เครื่องจะเริ่มวัดค่า a_w
4. เมื่อเครื่องวัดเสร็จ (ใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที) จะมีสัญญาณเตือนให้อ่านค่า a_w และอุณหภูมิที่หน้าจอ
5. เปลี่ยนคันโยกจากตำแหน่ง Read ไปยังตำแหน่ง Open/Load เพื่อนำตลับออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-3 ความสามารถในการดูดซึมและการละลายน้ำ (Water Absorption and Solubility Index)

(Anderson และคณะ, 1969)

อุปกรณ์

1. อลูมิเนียมแค่น
2. ขวดรูปกลมพวงขนาด 200 มิลลิลิตร
3. หลอด centrifuge
4. เครื่อง centrifuge(Eppendorf, 5804 R)
5. เครื่อง hot air oven
6. เครื่อง stirrer

วิธีการ

1. ชั่งดีหมีกผง 2.5 กรัมลงในขวดรูปกลมพวงที่ชั่งน้ำหนักแล้ว
2. เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร stirrer ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที
3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
4. แยกส่วนใสและส่วนตะกอนออกจากกัน
5. นำส่วนใสไปประเหยด้วยเครื่อง hot air oven อบที่ 105 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่แล้วนำไปคำนวณหาค่าความสามารถการละลาย
6. นำส่วนตะกอนไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาค่าความสามารถในการดูดซึมน้ำกลับ

การคำนวณ

$$\text{ความสามารถในการดูดซึมน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักดีหมีกผงหลังหมนเหวี่ยง}}{\text{น้ำหนักดีหมีกผงแห้งเริ่มต้น}}$$

(Water Absorption Index, WAI, กรัม/กรัม)

$$\text{ความสามารถในการละลายน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนใสหลังอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักดีหมีกผงแห้งเริ่มต้น}}$$

(Water Solubility Index, WSI, %)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-4 อัตราส่วนการคืนรูป (Rehydration Ratio) (ดัดแปลงจากวิธี Subadra และคณะ, 1997)

อุปกรณ์

1. เครื่อง hot plat stirrer
2. ปีกเกอร์แบบไม่มีปากขนาด 400 มิลลิลิตร
3. กระจกนาฬิกา

วิธีการ

1. ชั่งดีหมีกผง 2.5 กรัมใส่ในปีกเกอร์แบบไม่มีปากจากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยกระจกนาฬิกา
2. ต้มจนสารละลายมีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
4. เทส่วนใสทิ้งแล้วนำตะกอนหมีกผงที่คืนรูปไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาอัตราส่วนการ

คืนรูป

การคำนวณ

$$\text{อัตราส่วนการคืนรูป} = \frac{\text{น้ำหนักดีหมีกผงที่คืนรูป}}{\text{น้ำหนักดีหมีกผงแห้งเริ่มต้น}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-5 การวิเคราะห์ค่าความสว่าง (L^*)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (Minolta, CR-400, Japan)
2. ฟาอะลูมิเนียมแค่น

วิธีการ

1. นำตัวอย่างใส่ในอะลูมิเนียมแค่น
2. ปรับมาตรฐานเครื่อง (calibration) โดย
 - 2.1 ต่อปลั๊กไฟให้เข้าด้านหลังเครื่องตรงช่อง DC
 - 2.2 เปิด power ไปที่ ON กดที่ calibrate
 - 2.3 วางปลายหัวในแนบกับผิวหน้าของแผ่น calibrate (แผ่นพลาสติกสีขาว)
 - 2.4 กดปุ่ม measuring head อย่างกหัวออกจนกว่าเครื่องจะ calibrate เสร็จ โดย

หน้าจอจะแสดง 'END'

3. ใช้แผ่นพลาสติกคลุมหัววัดก่อนทำการวัด เพื่อป้องกันอุปกรณ์ชำรุด
4. ตัวอย่างผงดีหมึก 15 กรัมใส่ลงในฟาอะลูมิเนียมแค่นให้กระจายตัวเท่าๆกันใช้หัววัดสีวางทาบลงบนตัวอย่างในแนวตั้งฉากและอ่านค่าแสดงผลการวัด
5. เครื่องจะแสดงค่า L^* , a^* และ b^* โดยค่า

L^* คือ ค่าความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

a^* คือ ค่าสีแดงและสีเขียว เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก แสดงสีแดง

เมื่อ a^* มีค่าเป็นลบ แสดงสีเขียว

b^* คือ ค่าสีเหลืองและสีน้ำ เมื่อ b^* มีค่าเป็นบวก แสดงสีเหลือง

เมื่อ b^* มีค่าเป็นลบ แสดงสีน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ข-1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงจาก Vate และ Benjakul, 2013)

1. การเตรียมสาร

1.1 สารละลายมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox)

ชั่งโทรลอกซ์ 0.0125 กรัม ละลายด้วย DMSO ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐาน trolox ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

1.2 สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ชั่ง DPPH หนัก 0.0029 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 ชั่งดีหมีกผงจำนวน 5 กรัม ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำ DI ที่ 50 มิลลิลิตร

2.2 นำสารละลายที่ได้มาทำการสกัดโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath ที่ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.3 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.4 เก็บสารละลายส่วนใสไว้เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 ปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายในเอทานอลปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

3.2 เขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มีดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

3.4 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถใน

เอกสารนี้เป็น การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 10-50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรที่ละลายใน DMSO และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

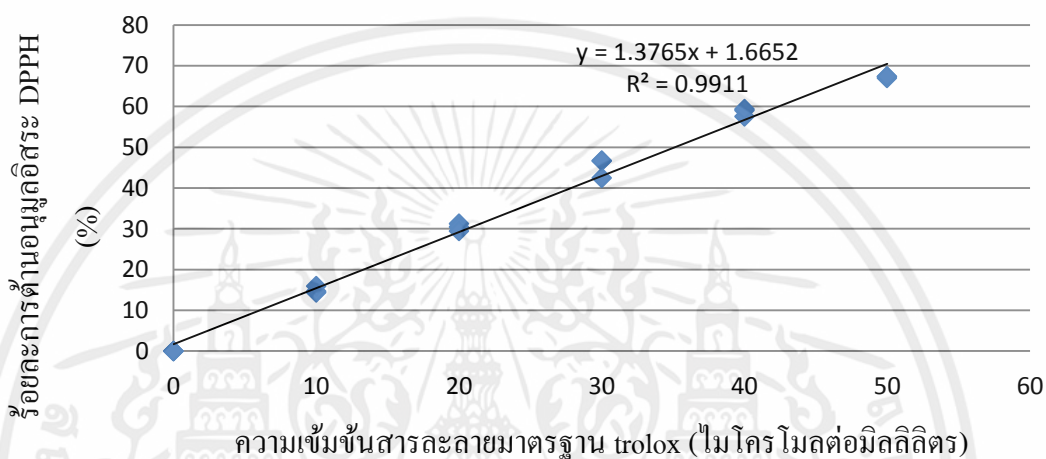
หมายเหตุ: *การเตรียมปฏิกิริยาควบคุม โดยใช้น้ำ DI แทนตัวอย่างสารสกัดดีหมีก

**การเตรียมปฏิกิริยาควบคุมของตัวอย่างในแต่ละตัวอย่างทำโดยการเติมเอทานอลแทนสารละลาย

DPPH

คำนวณหาร้อยละของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตามสมการดังนี้

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \left(\frac{(\text{OD}_{517\text{control}} - \text{OD}_{517\text{sample}})}{(\text{OD}_{517\text{control}})} \right) \times 100$$



ภาพที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 10-50 ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร

4. ตัวอย่างการคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

สมการจากกราฟมาตรฐานของ trolox

$$y = 1.3765x + 1.6652$$

เมื่อ $y = \%$ scavenging ของสาร DPPH

$x =$ ความเข้มข้น trolox (ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร)

ตัวอย่าง A มีความเข้มข้น เท่ากับ 10.00 เปอร์เซ็นต์

dilution factor เท่ากับ 10

% scavenging เท่ากับ 30.03

แทนค่าในสมการจะได้

$$30.03 = 1.3765x + 1.6652$$

$$x = 20.606 \text{ ไมโคร โมลสมมูล trolox}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ปริมาณสารทั้งหมด x dilution factor

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาสาระต่างๆอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ 20.606 x 10 = 206.06 ไมโคร โมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างต่อน้ำหนักแห้ง คำนวณจาก

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ=ไมโคร โมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)

1 - (เปอร์เซ็นต์ความชื้น/100)

แทนค่าในสมการจะได้

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ= 206.06 ไมโคร โมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)

1 - (10/100)

= 228.95 ไมโคร โมลสมมูล trolox ต่อกรัม(ตัวอย่างน้ำหนัก

แห้ง)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (คัดแปลงจาก Re และคณะ, 1998)

1. การเตรียมสาร

1.1 สารละลายมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox)

ซึ่ง Trolox 0.0125 กรัม ละลายด้วย DMSO ปริมาตรเป็น 50 มิลลิเมตร ได้สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมลต่อมิลลิเมตร

1.2 สารละลาย 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS)

ซึ่ง ABTS หนัก 0.0406 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปริมาตรเป็น 10 มิลลิเมตร ได้สารละลาย ABTS ที่มีความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลต่อมิลลิเมตร

1.3 สารละลาย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$)

ซึ่ง potassium persulfate หนัก 0.0176 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปริมาตรเป็น 25 มิลลิเมตร ได้สารละลาย potassium persulfate ที่มีความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลต่อมิลลิเมตร

1.4 สารละลาย working solution

สารละลาย working solution ทำการผสมสารละลาย ABTS และสารละลาย potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนักจากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องและปราศจากแสง เจือจางด้วย ethanol absolute จนสารละลายมีค่าดูดกลืนคลื่นแสง 0.700 ± 0.020 ที่ความยาว 734 นาโนเมตร

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 ชั่งคีมิกผงจำนวน 5 กรัม ปริมาตรโดยใช้น้ำ DI ที่ 50 มิลลิเมตร

2.2 นำสารละลายที่ได้มาทำการสกัดโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath ที่ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.3 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.4 เก็บสารละลายส่วนใสไว้เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 ปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ผสมกับ working solution 2,850 ไมโครลิตร

3.2 เขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

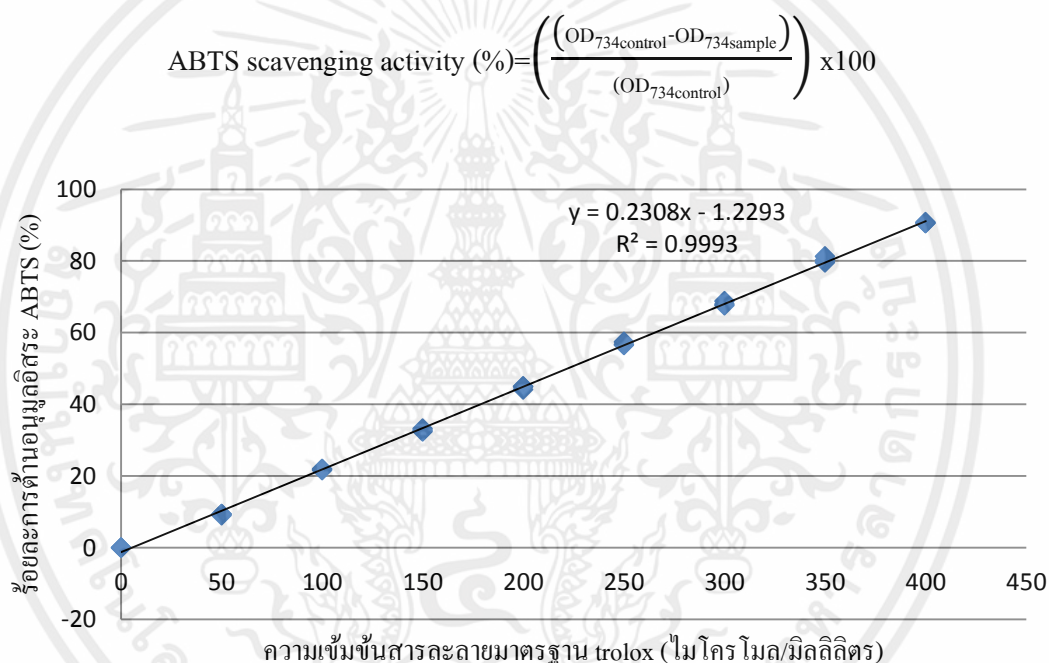
3.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร

3.4 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 50-400 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรที่ละลายใน DMSO

หมายเหตุ: *การเตรียมปฏิกิริยาควบคุมโดยใช้น้ำ DI แทนตัวอย่างสารสกัดหิมึก

**การเตรียมปฏิกิริยาควบคุมของตัวอย่างในแต่ละตัวอย่างทำโดยการเติมน้ำ DI แทนสารละลาย ABTS

คำนวณหาร้อยละของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ตามสมการดังนี้



ภาพที่ ข-2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox ที่ความเข้มข้น 50-400 ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร

4. ตัวอย่างการคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

สมการจากกราฟมาตรฐานของ trolox

$$y = 0.2308x - 1.2293$$

เมื่อ $y = \% \text{ scavenging}$ ของสาร ABTS

$x = \text{ความเข้มข้น trolox (ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร)}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลบางประการที่ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง A มีความเข้มข้น เท่ากับ 10.00 เปอร์เซ็นต์

dilution factor เท่ากับ 10

% scavenging เท่ากับ 40.03

แทนค่าในสมการจะได้

$$40.03 = 0.2308x - 1.2293$$

$$x = 178.766 \text{ ไมโครโมลสมมูล trolox}$$

ปริมาณสารทั้งหมด x dilution factor

$$178.766 \times 10 = 1787.66 \text{ ไมโครโมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)}$$

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างต่อน้ำหนักแห้ง คำนวณจาก

$$\text{ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{\text{ไมโครโมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)}}{1 - (\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น}/100)}$$

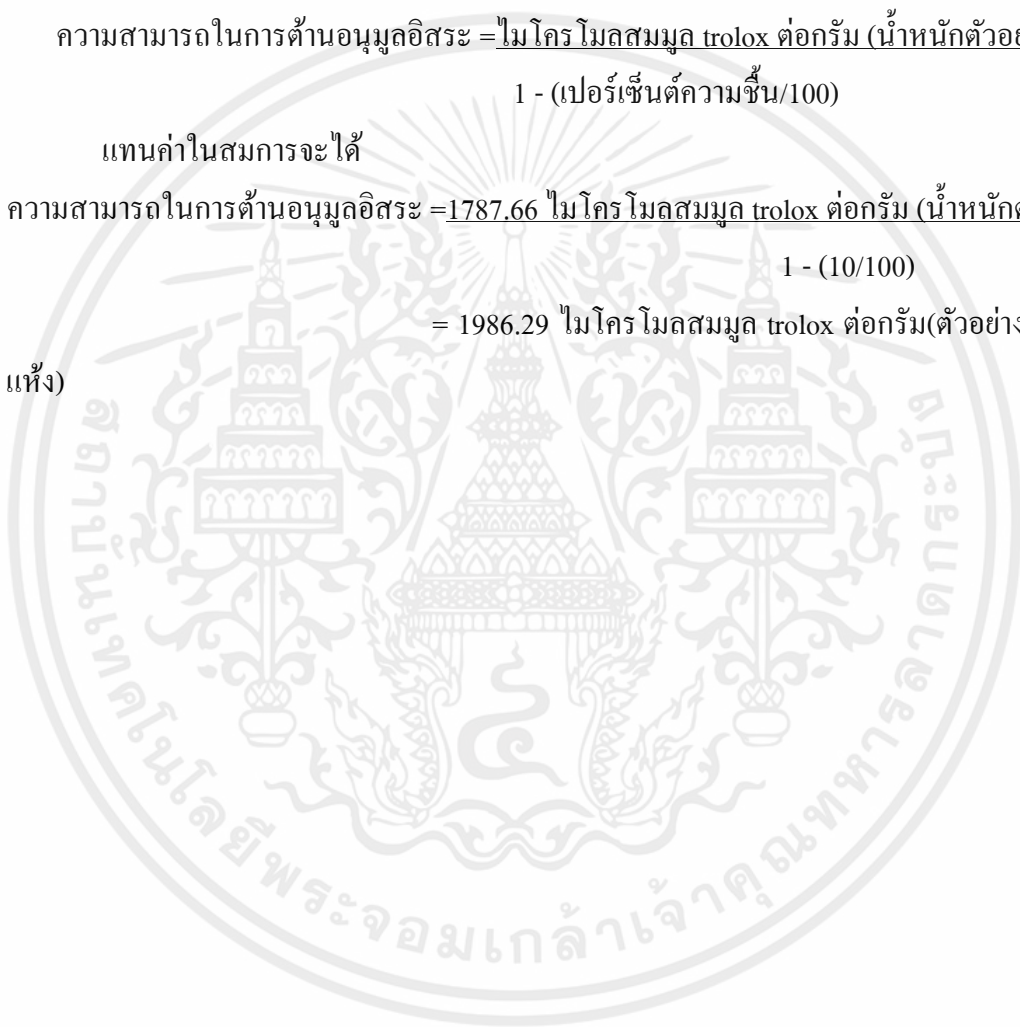
แทนค่าในสมการจะได้

$$\text{ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{1787.66 \text{ ไมโครโมลสมมูล trolox ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)}}{1 - (10/100)}$$

$$1 - (10/100)$$

$$= 1986.29 \text{ ไมโครโมลสมมูล trolox ต่อกรัม(ตัวอย่างน้ำหนัก}$$

แห้ง)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี chelating activity (ดัดแปลงจาก Vate และ Benjakul, 2013)

1. การเตรียมสาร

1.1 สารละลายมาตรฐาน ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

ซึ่ง EDTA 0.0015 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐาน EDTA ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

1.2 สารละลาย Iron(II) sulfate (FeSO_4)

ซึ่ง FeSO_4 0.0152 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ได้สารละลาย FeSO_4 ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร

1.3 สารละลาย 3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-*p,p'*-disulfonic acid monosodium salt hydrate (ferrozine)

ซึ่ง ferrozine 0.0246 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ได้สารละลาย ferrozine ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 ชั่งดีหมีกผงจำนวน 5 กรัม ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำ Milli Q ที่ 50 มิลลิลิตร

2.2 นำสารละลายที่ได้มาทำการสกัดโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath ที่ความถี่ 37 kHz ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.3 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที

2.4 เก็บสารละลายส่วนใสไว้เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 ปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 4.7 มิลลิลิตร จากนั้นผสม FeSO_4 ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติม ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

3.2 เขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มีคานาน 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 นาโนเมตร

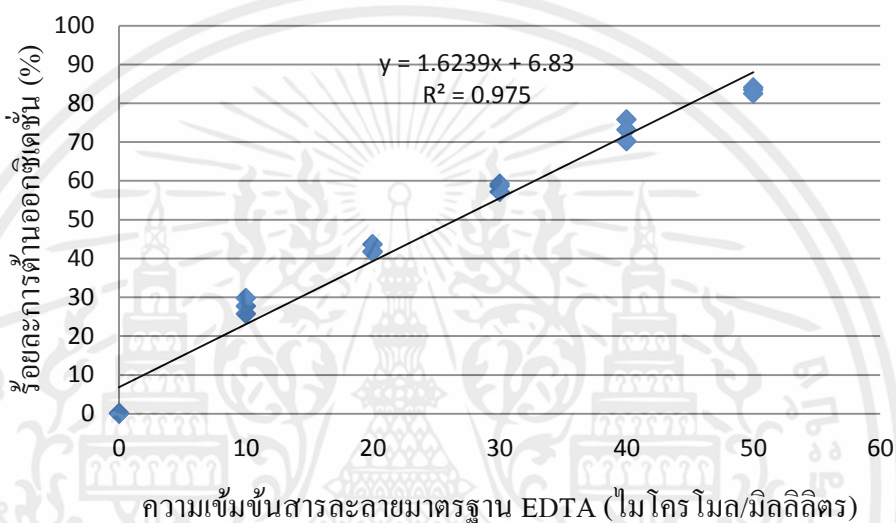
3.4 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาความสามารถในการจับ Fe^{2+} โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย EDTA ที่มีความเข้มข้น 10-50 ไมโครโมลต่อ

มิลลิลิตรที่ละลายในน้ำ DI การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ *การเตรียมปฏิกิริยาควบคุมโดยใช้น้ำ DI แทนตัวอย่างสารสกัดดีหมีทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

****การเตรียมปฏิกิริยาควบคุมของตัวอย่างในแต่ละตัวอย่างทำโดยการเติมน้ำ DI แทนสารละลาย EDTA**

คำนวณหาร้อยละของสมบัติการต้านออกซิเดชันตามสมการดังนี้

$$\text{scavenging activity (\%)} = \left(\frac{(\text{OD}_{562\text{control}} - \text{OD}_{562\text{sample}})}{(\text{OD}_{562\text{control}})} \right) \times 100$$



ภาพที่ ข-3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย EDTA ที่ความเข้มข้น 10-50 ไมโครโมล/มิลลิลิตร

4. ตัวอย่างการคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

สมการจากกราฟมาตรฐานของ Trolox

$$y = 1.6239x + 6.83$$

เมื่อ $y = \% \text{ scavenging}$ ของสาร EDTA

$x = \text{ความเข้มข้น EDTA (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร)}$

ตัวอย่าง A มีความเข้มข้น เท่ากับ 10.00 เปอร์เซ็นต์

dilution factor เท่ากับ 10

% scavenging เท่ากับ 20.03

แทนค่าในสมการจะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้นำไปเผยแพร่หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$20.03 = 1.6239x + 6.83$$

$$x = 8.129 \text{ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร EDTA}$$

ปริมาณสารทั้งหมด x dilution factor

$8.129 \times 10 = 81.29$ ไมโครโมลสมมูล EDTA ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)
 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างต่อน้ำหนักแห้ง คำนวณจาก

ความสามารถในการจับโลหะ = ไมโครโมลสมมูล EDTA ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)
 $1 - (\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น}/100)$

แทนค่าในสมการจะได้

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ = 81.29 ไมโครโมลสมมูล EDTA ต่อกรัม (น้ำหนักตัวอย่าง)
 $1 - (10/100)$

= 90.32 ไมโครโมลสมมูล EDTA/กรัม(ตัวอย่างน้ำหนัก

แห้ง)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ภาพกระบวนการทำแห้ง

ค-1 กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม



ค-1 นำดีหมักผสมกับสารละลายไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (HPMC) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และมอลโทเด็กซ์ทริน



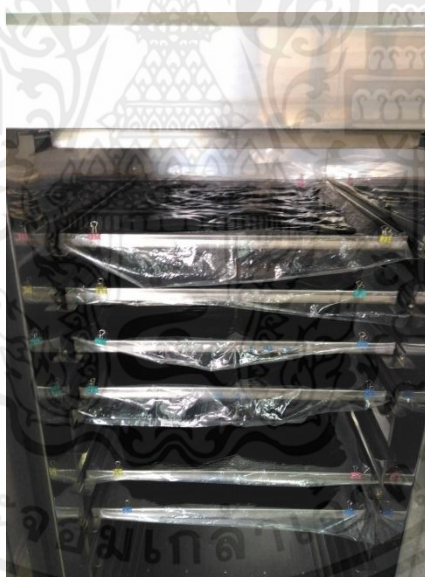
ค-2 ปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นเบเกอร์รี่ที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 10 นาที ให้ขึ้นฟู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับภายในเท่านั้น การที่เผยแพร่ขึ้นเป็นฉบับนี้ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแบบลงเนือที่ใดและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค-1 กระบวนการทำแห้งแบบแผ่นโฟม (ต่อ)



ค-3 เกลี่ยใส่ถาดเครื่อง Tray dryer



ค-4 อบดีหมึกด้วยเครื่อง Tray dryer ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 270 นาที จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่อง pill mill ที่ขนาดตะแกรง 0.25 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค-2 กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



ค-5 เกลลี่ดีหมีกลงในถาดเครื่อง freeze dryer ที่มีอะลูมิเนียมฟรอยด์วาง



ค-6 ทำแห้งด้วยเครื่อง freeze dryer เป็นเวลา 40 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่อง pill mill ที่ขนาดตะแกรง 0.25 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค-3 กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย



ค-7 นำดีหมีกผสมกับน้ำกลั่นคум °Brix อยู่ที่ 30 จากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรง



ค-8 ทำแห้งด้วยเครื่อง spray dryer ที่สภาวะอุณหภูมิขาเข้า 130 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก 100 องศาเซลเซียส ป้อนของเหลวด้วยความเร็ว 5 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวกัลยลักษณ์ ภูรีน
วัน เดือน ปีเกิด	5 เมษายน พ.ศ. 2536
ที่อยู่	90/64 หมู่บ้านเลิศปิยะวรรณ ซอยซอยใหม่ 51 ถนนสายใหม่ แขวงสายใหม่ เขตสายใหม่ กรุงเทพมหานคร 10220
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
การนำเสนอผลงาน	Phuruen, K. (2017, June). Effect of Drying Processes on Physical and Chemical Properties and Antioxidant Capacity of Squid (<i>Sepia pharaonis</i>) Ink Powder. Paper presented at Food Innovation Asia Conference 2017 (FIAC 2017), Innovative Food Science and Technology for Mankind: Empowering Research for Health and Aging Society.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้