รายงานฉบับสมบูรณ์ ปีที่ 2

โครงการ "นวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างทางเศรษฐกิจยุคใหม่"

Integration Project: Innovations for the Improvement for the Food Safety and Food Quality For New Word Economy

เสนอโดย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2551

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ(ภาษาไทย)	1
บทคัดย่อ(ภาษาอังกฤษ)	2
กิตติกรรมประกาศ	3
บทที่ 1 บทนำ	4-22
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	23-45
บทที่ 3 ผลการวิจัย	46-68
บทที่ 4 สรุปและเสนอแนะ	69-76

ภาคผนวก

แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

โครงการย่อยที่ 1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยแนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

โครงการย่อยที่ 1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคท์กรีนและเมตาบอไลต์ลิวโคมาลาไคท์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-Visible

โครงการย่อยที่ 1.3 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

โครงการย่อยที่ 1.4 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินและไดไฮโดรแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด

โครงการย่อยที่ 1.5 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร

แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ

โครงการย่อยที่ 2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

โครงการย่อยที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants)

โครงการย่อยที่ 2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

โครงการย่อยที่ 2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

โครงการย่อยที่ 2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

โครงการย่อยที่ 2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

โครงการย่อยที่ 2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

โครงการย่อยที่ 2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลทับทิมและเมล็ดมะม่วง

แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร

โครงการย่อยที่ 3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

โครงการย่อยที่ 3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

แผนงานวิจัยย่อยที่ 4 การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

เลขหมู่
เลขทะเบียน 014238
วัน, เดือน, ปี 2 ก.ย. 52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

อุตสาหกรรมอาหารเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศและมีการขยายตัวของการส่งออกอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ดี บางครั้งประเทศไทยประสบปัญหาในการส่งออกสินค้าสืบเนื่องจากการแข่งขันในตลาดโลกเพิ่มทวีมากขึ้น มีมาตรการการกีดกันทางด้านการค้าหลายรูปแบบโดยเฉพาะอย่างยิ่งการกำหนดมาตรฐานอาหารของประเทศคู่ค้า ดังนั้นเพื่อเป็นการประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้บริโภคทั้งในและประเทศคู่ค้า รวมทั้งยกระดับคุณภาพของอาหารเพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันเพื่อการส่งออกและสอดคล้องกับนโยบายปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุลและแข่งขันได้ การทำวิจัยเชิงบูรณการ เรื่อง "นวัตกรรม" จึงเป็นแนวทางหนึ่งของการพึ่งพาตนเองและนำไปสู่เป้าหมายของการแข่งขันได้ โดยงานวิจัยบูรณาการนี้ประกอบด้วยแผนงานวิจัยใหญ่ 4 แผนงานด้วยกัน คือ

(I) แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

(II) แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ

(III) แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร

(IV) การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

The food industry, which has been one of the key drivers of Thailand's economy for many decades, is a dynamic and always growing sector. Recent changes in the structure of the global market suggest that Thailand must operate strategic changes in order to diversify its economic activities to withstand greater worldwide competition. In the new global market, Thai companies will have to face more subsidies, non-traffic barriers, and stricter international food standards and regulations enforced by the buyer. The guarantee of the better quality and safety of food products for domestic and international market will be a key point in ensuring the future of the Thai agri-business sector. As technology is a factor to increase competitiveness, effort must be made to upgrade, develop and transfer new technologies to production lines. To promote sustainable growth of Thailand's agribusiness sector by developing safe and better quality food products, a multidisciplinary food safety and innovation project entitled "Innovations for the Improvement for the Food Safety and Food Quality For New Word Economy" has been initiated and include the following four areas:

Project 1: Innovation of research and development of analytical methods and test kits.

Project 2: Innovation of safe, healthy and nutritious food products.

Project 3:. Innovation of quality assurance and quality control systems for safety of food products,

Project 4: Knowledge and technology transfer.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

รายงายการวิจัยฉบับนี้ลุล่วงไปด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณาจารย์ นักวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือทั้งในด้านวิชาการและดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในเรื่องของสถานที่ เครื่องมืออุปกรณ์การวิจัย และขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2551

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1 บทนำ

ตั้งแต่กลางปี 2550 มาจนปัจจุบัน ภาวะวิกฤติเศรษฐกิจโลกที่ตกต่ำส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตรและอาหารไทย มูลค่าการส่งออกอาหารทุกชนิดของไทยในปี 2551 คือประมาณ 740,000 ล้านบาท ลดลงจากเป้าที่ตั้งไว้ 800,000 ล้านบาท จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ประเทศไทยต้องเพิ่มความเชื่อมั่นในเรื่องของมาตรฐานความปลอดภัยของอาหารซึ่งเป็นเงื่อนไขที่สำคัญของอุตสาหกรรมอาหารโลก และนำไปสู่การขับเคลื่อนภาคเกษตรทั้งระบบ ในประเทศไทย

สำหรับประเทศไทยเมื่อปลายเดือนมกราคม 2551 ภาคีเครือข่ายภาครัฐ 4 กระทรวงหลัก (สาธารณสุข, เกษตร, มหาดไทย และพาณิชย์) ภาคการผลิต ภาคการตลาด ภาคการบริโภค และองค์กรที่เกี่ยวข้อง 19 องค์กร ได้ลงนามบันทึกข้อตกลงความร่วมมือก่อตั้ง "สภาความร่วมมือเครือข่ายความปลอดภัยและความมั่นคงด้านอาหาร" และได้จัดทำ "ธรรมนูญอาหารปลอดภัย" ไร้เชื้อโรค สิ่งปนเปื้อนอันตราย ซึ่งมีผลใช้ตั้งแต่วันที่ 24 พฤศจิกายน 2551 เพื่อผลักดันให้นโยบายอาหารปลอดภัยของรัฐบาลที่ต้องการให้ประชาชนมีสุขภาพดี สร้างความมั่นคงในเศรษฐกิจที่ไทยจะเป็นครัวโลก

ส่วนในต่างประเทศ ประเทศผู้นำเข้าสินค้าอาหารรายใหญ่ๆของโลกต่างก็มีการแก้ไขกฎระเบียบข้อกำหนดหรือมาตรการต่างๆและกำหนดให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าสินค้าอาหารต้องปฏิบัติตามกฎระเบียบข้อบังคับดังกล่าวอย่างเคร่งครัด เพื่อคุ้มครองความปลอดภัยของประชาชนในประเทศ ประเทศไทยจึงต้องมีวิธีและมาตรการรวมทั้งการตรวจสอบวิเคราะห์ที่ทันสมัยแม่นยำ เพื่อให้อาหารที่นำมาบริโภคนั้นปลอดภัยได้มาตรฐานและปกป้องคุ้มครองสุขอนามัยของประชากร รวมทั้งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของความสามารถเจรจาต่อรองกับประเทศคู่ค้าและมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อตอบโต้มาตรการกีดกันทางการค้าของประเทศคู่ค้าต่างๆได้ทันท่วงที

ประเทศไทยมีความได้เปรียบทางด้านวัตถุดิบที่มีความหลากหลายและมากเพียงพอสำหรับความต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ การเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบหรือของเหลือใช้ภายในประเทศ เพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพและมีคุณค่าทางโภชนาการ เพื่อให้ประชาชนได้บริโภคอาหารปลอดภัยมีสุขภาพอนามัยที่แข็งแรงลดค่าใช้จ่ายในการรักษาความเจ็บป่วย คือเป้าหมายที่นำไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน

การศึกษาระบบการแสดงฉลากและควบคุมอาหารในประเทศพบว่ายังขาดระบบที่เชื่อมโยงข้อมูลระหว่างการควบคุมวัตถุดิบนำเข้าต้นทาง ความต้องการใช้และลักษณะจำเพาะของวัตถุดิบ การทดสอบการใช้วัตถุดิบของผู้ประกอบการการผลิต การควบคุม และการกำกับดูแล และรายละเอียดของการแสดงฉลากซึ่งก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภค ในแง่ของการไม่ได้รับข้อมูล เพื่อการบริโภคมากพอตามสิทธิในความรู้อันพึงได้ การสร้างระบบเพื่อเชื่อมโยงตรวจสอบควบคุมและกำกับดูแลให้เป็นหน่วยเดียวกัน จะทำให้หมวดสินค้าที่ใช้วัตถุดิบที่เกี่ยวข้องนั้นสามารถรองรับยุคการค้าเสรีซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของตลาดอย่างรวดเร็ว และ

สามารถรองรับตลาดที่ต้องการเอกสารรองรับ และรับประกันในรูปการสอบทวนทุกขั้นตอนได้ สำหรับประเทศไทยการนำระบบเชื่อโยงแบบออนไลน์ น่าจะช่วยเพิ่มความพร้อมในการทดสอบควบคุมและกำกับดูแล และยังช่วยกระตุ้นให้เกิดความร่วมมือระหว่างหน่วยงาน สร้างศักยภาพยกระดับคุณภาพความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะเป็นผลดีโดยรวมต่ออุตสาหกรรมอาหาร

การบูรณาการองค์ความรู้และเทคโนโลยีต่างๆ ที่ได้จากการวิจัยและพัฒนาภายใต้โครงการ "นวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างทางเศรษฐกิจยุคใหม่" ในหลายมิติ ไม่ว่าจะเป็นวิธีการตรวจสอบวิเคราะห์ที่ทันสมัย สะดวกแม่นยำ การเพิ่มพูนค่าของวัตถุดิบ การวิจัย และพัฒนาอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ อาหารเสริมที่ได้มาตรฐานมีคุณภาพ รวมถึงการสร้างระบบ เชื่อมโยงการผลิต การควบคุมดูแลรายละเอียดของการแสดงฉลาก ควรได้มีการถ่ายทอดสู่ผู้บริโภค ผู้ประกอบการให้ได้รับทราบ เพื่อขับเคลื่อนสู่เป้าหมายของความปลอดภัยของอาหาร(Food Safety) เป็นการส่งเสริมให้บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องมีความรู้และคุณภาพสูงขึ้น เสริมสร้างมูลค่าเพิ่มทางด้านความรู้(Knowledge-based) และนำความรู้นั้นไปพัฒนาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารให้สามารถแข่งขันในตลาดโลกได้สอดคล้องกับยุทธศาสตร์ของรัฐบาลในนโยบายปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุลและแข่งขันได้ นโยบายพัฒนาคนและสังคมที่มีคุณภาพและนโยบายการพัฒนาที่ยั่งยืน

แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

โครงการย่อยที่ 1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

ประเทศไทยส่งออกอาหารไม่น้อยกว่า 2 แสนล้านบาทต่อปี การประกันคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารจึงเป็นหัวใจหลักในการสร้างความเชื่อมั่นในตัวสินค้าที่เชื่อมโยงไปสู่ความสามารถในการแข่งขันในอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ การตรวจวิเคราะห์เพื่อยืนยันคุณภาพและความปลอดภัยด้วยหลักการทางวิทยาศาสตร์จึงเข้ามามีบทบาท ในอดีตการตรวจวิเคราะห์ใช้วิธีการทางกายภาพ เคมี และชีววิทยา แต่เนื่องจากอาหารส่วนใหญ่แปรรูปไปจากวัตถุดิบเดิมมากจนทำให้การวิเคราะห์มีความยากลำบากขึ้น ความก้าวหน้าทางชีววิทยาโมเลกุลช่วยให้สามารถใช้โมเลกุลธรรมชาติ เป็นดัชนีในการตรวจสอบ โดยพบว่าในบรรดาโมเลกุลชีวภาพเหล่านั้น ดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลที่มีเสถียรภาพมากที่สุด ที่ผ่านมามีผู้นำดีเอ็นเอมาใช้ตรวจเอกลักษณ์บุคคล ความเป็นเครือญาติ และงานนิติเวชศาสตร์กับตัวอย่างที่ผ่านภาวะที่ไม่เหมาะสม ซึ่งการวิเคราะห์ได้ผลชัดเจนเป็นที่ยอมรับและช่วยลดข้อโต้แย้งได้ดี อย่างไรก็ดีเทคนิคในปัจจุบัน มีข้อจำกัดที่จำเป็นต้องใช้ บุคลากรที่มีความรู้ ทักษะ ต้องลงทุนด้านเครื่องมือและห้องปฏิบัติการ และที่สำคัญไม่สามารถใช้งานได้ในภาคสนาม จึงทำให้การประยุกต์มีขอบเขตจำกัด

โครงการนี้อาศัยข้อได้เปรียบในการตรวจด้วยโมเลกุลดีเอ็นเอ มาใช้ในการพัฒนาการตรวจบนพื้นฐานเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า isothermal DNA amplification และคุณสมบัติเรืองแสง และสมบัติทางไฟฟ้าเคมีของดีเอ็นเอ ช่วยให้การตรวจสามารถดำเนินการได้ในภาคสนาม ตอบหลักการ point of care เน้นการตรวจการปนของ GMOs การปนชนิดพันธุ์ข้าว การรับรองความแท้ หรือการปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือเพื่อเป็นแม่แบบเริ่มต้นและผลในรูปชุดสำเร็จที่ใช้เทคนิคที่ไม่ต้องพึ่งพาห้องปฏิบัติการ ไม่ใช้น้ำยาราคาแพงทำให้ลดค่าใช้จ่ายและข้อจำกัดใน การตรวจวิเคราะห์ที่มีในปัจจุบันลงอย่างสิ้นเชิง นอกจากนี้ยังเน้นการสร้างโมเลกุลมาตรฐานเพื่อทดแทนการใช้ Certified Referance Materials ที่มีราคาแพง

โครงการย่อยที่ 1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคท์กรีนและเมตาบอไลต์ลิวโคมาลาไคท์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำ เพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-Visible

ในเบื้องต้นมาลาไคต์กรีน (Malachite green, MG) ใช้เป็นสีย้อมในอุตสาหกรรมสิ่งทอ แต่ต่อมาได้ถูกนำมาใช้เป็นยาต้านปรสิต เชื้อรา และต้านจุลชีพในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยงได้อย่างมีประสิทธิ ภาพ จึงมีการใช้อย่าง แพร่หลายในการเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงปลาและกุ้ง เมตะบอลิซึมของสัตว์น้ำจะเปลี่ยนมาลาไคต์กรีนไปเป็นลิวโคมาลาไคต์กรีน (Leucomalachite green, LMG) สะสมอยู่ในชั้นไขมันของเนื้อสัตว์น้ำ ต่อมาได้มีการพบว่ามาลาไคต์กรีนอาจทำให้เกิดโรคมะเร็งและการกลายพันธุ์ในสัตว์ต่างๆรวมถึงในระดับเซลล์ด้วย ดังนั้นในปีค.ศ.1978 ประเทศสหรัฐอเมริกาจึงควบคุมการใช้มาลาไคต์กรีนอย่างเข้มงวดและอนุญาตให้ใช้เฉพาะหน่วยงานเพาะเลี้ยงเพื่อแพร่พันธุ์เท่านั้น ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปไม่อนุญาตให้ใช้เช่นกัน การห้ามใช้เพราะเป็นอันตรายต่อมนุษย์นี้จะต้องมีวิธีตรวจวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ที่จะตรวจยืนยันการตกค้างของสารปฏิชีวนะนี้

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ MG และ LMG พร้อมกันในตัวอย่างสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ให้มีความถูกต้องแม่นยำสูง ด้วยการเตรียมตัวอย่างที่มีขั้นตอนง่ายและรวดเร็วขึ้น ใช้เตาอบไมโครเวฟในการสกัดและคลีนอัพ และวิเคราะห์ MG และ LMG ด้วยเทคนิค LC-MS/MS มีสารคริสตัลไวโอเล็ต (Crystal violet, CV) เป็น internal standard ที่ ionpairs ดังนี้ : MG 329.3/208.2, 329.3/313.1, LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3 และ CV(internal standard) 372.2/356.3

และเนื่องจากว่าเครื่อง LC-MS/MS เป็นเครื่องมือที่มีราคาสูงมากและต้องอาศัยทักษะขั้นสูงในการใช้ จึงไม่ค่อยมีใช้ในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์อาหารทั่วไป งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารส่วนมาก คือการตรวจวิเคราะห์มาลาไคต์กรีน ลิวโคมาลาไคต์กรีน คริสตัลไวโอเล็ต ลิวโคคริสตัลไวโอเล็ต ตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง เช่น ปลา กุ้ง พร้อมกันด้วยเทคนิค HPLC-DAD(multiwavelength) คอลัมน์ชนิด Zorbax stable bond C18, 150x4.6 mm, 5 mm พร้อม guard column

ชนิดเดียวกัน mobile phase คือ ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) และ acetonitrile และใช้ gradient elution ตรวจวัดสารทั้งสี่ชนิดพร้อมกันด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ diode array detector (DAD) ที่หลายความยาวคลื่นได้แก่ 618 nm(0.00-7.00 min), 585 nm(7.01-12.00 min), 265 nm(12.01-20.00 min) วิเคราะห์ปริมาณโดยอาศัย external calibration curve ของ total MG (ปริมาณ MG+LMG) และของ total CV (ปริมาณ CV+LCV)

โครงการย่อยที่ 1.3 การระบุชนิดและแหล่งต้นทางของการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

มูลเหตุจูงใจและปัญหา

การปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์เป็นปัญหาสำคัญที่ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นมูลค่ามหาศาลโดยมีสาเหตุจากความไม่พร้อมในการต่อรองของภาครัฐและเอกชนเมื่อประเทศคู่ค้าได้ปรับข้อกำหนดให้ เข้มงวดขึ้น เช่นการขาดแคลห้องปฏิบัติการตรวจสอบเฉพาะทางการขาดแคลนผู้เชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยการขาดศักยภาพของภาคอุตสาหกรรมด้านวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และการปรับกระบวนการผลิตให้สอดคล้องกับมาตรฐานและข้อกำหนดของประเทศคู่ค้าเหตุผล เหล่านี้ทำให้ประเทศไทยขาด ศักยภาพในการต่อรองทางการค้าในตลาดโลกงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลัก ในการศึกษาชนิดและระดับของการปนเปื้อน อันเกิดจากบรรจุภัณฑ์ในอาหารที่ผลิตขึ้นในประเทศไทยโดยเลือกศึกษาบรรจุภัณฑ์ประเภทพลาสติกเนื่องจากมีการใช้งานกว้างขวางมีปัญหาของการ blooming สูงและยังมีการควบคุมที่ไม่รัดกุมพอจากรัฐบาลพลาสติกที่ใช้กันในการผลิตบรรจุภัณฑ์มีกว่า 30 ชนิด ชนิดที่มีปัญหาสูงสุด คือ พีวีซี เนื่องจากมีการใช้สารเติมแต่งพลาสติกสูงถึงร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก พีวีซีเป็นวัสดุที่ใช้กันมากในฝาด้านในของขวดแก้วบรรจุอาหารที่ต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็น เวลานานที่อุณหภูมิสูง กรณีที่ฝาด้านในเกิดการสัมผัสกับเนื้ออาหารจะเกิดการปนเปื้อนขึ้นได้ มีรายงานว่าปริมาณของการปนเปื้อนอาจพบในปริมาณสูงกว่าข้อกำหนดของสหภาพยุโรปกว่า 100 เท่าสาร เติมแต่งที่ใช้ในการผลิตพีวีซีมีหลายกลุ่ม เช่น พทาเลท เซบาเคท อะดิเพท เอไมด์ ไปจนถึงสารประกอบโมเลกุลใหญ่ประเภทไตรกลีเซอร์ไรด์ด้วย ดังนั้นการวิเคราะห์การปนเปื้อน ของสารเหล่านี้ในเนื้ออาหารจึงทำได้ยากและมีขั้นตอนซับซ้อน งานวิจัยในปีนี้ได้เน้นในการพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์สารเติมแต่งพีวีซีเพื่อใช้ในการศึกษาแบบจำลองของการปนเปื้อนที่เกิดจากบรรจุภัณฑ์จริงในปีต่อไป

วัตถุประสงค์หาวิธีระบุชนิดและปริมาณของสารปนเปื้อนในปะเก็นฝาขวดแก้วบรรจุอาหารร่วมมือกับภาครัฐและ/หรือภาคอุตสาหกรรมในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนที่พบในปะเก็นพีวีซีของฝาโลหะรวบรวมข้อมูลเรื่องการปนเปื้อนเพื่อเผยแพร่แก่ประชาชน

โครงการย่อยที่ 1.4 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินและไดไฮโดรแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด

พริกมีกลุ่มสารที่สำคัญที่ทำให้มีรสเผ็ดร้อนและมีกลิ่นฉุน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids, CAPs) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคปไซซิน (capsaicin, CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin, DCAP) เมื่อเร็วๆ นี้ สหภาพยุโรป (European Commission) ได้รายงานความคิดเห็นของคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ทางอาหารเกี่ยวกับ CAPs โดยมีสาระที่สำคัญว่าการบริโภคอาหารรสเผ็ดจัดมีความสัมพันธ์และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะ และการจำแนกประเภทของอาหารตามปริมาณของ CAPs

อาหารไทยส่วนใหญ่มีพริกเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงรส เช่น ซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปต่างๆ และประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกรวมของซอสพริกและเครื่องแกงเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาท ทำให้ต้องแข่งขันกับตัวเองในด้านคุณภาพและความปลอดภัย แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดของการติดฉลากระบุปริมาณ CAPs ในอาหาร แต่มีแนวโน้มว่าองค์การอาหารและยาของอเมริกาและยุโรป จะมีข้อกำหนดดังกล่าวเพื่อความปลอดภัยและสุขอนามัยของประชาชน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการแยกและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CAP และ DCAP ในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ดเป็นสิ่งที่จำเป็น แม้ว่าจะมีวิธีมาตรฐานของการวิเคราะห์สารดังกล่าวในพริกและส่วนสกัดของพริก แต่วิธีการแยกและวิเคราะห์รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งที่จำเป็นโดยเฉพาะอาหารประเภทซอสพริกและแกงของไทย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างที่นาน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ราคาแพง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างซอสพริกให้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และให้ความถูกต้องของปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนทิกโครมาโทกราฟี (micellar electrokinetic chromatography, MEKC) ที่ได้พัฒนาขึ้นมาในปีที่ 1

วัตถุประสงค์เพื่อ พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก

โครงการย่อยที่ 1.5 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร

ไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิส (Microchip capillary electrophoresis) เป็นเทคนิคที่ได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากมีขนาดเล็กสามารถแยกสารได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว โดยอาศัยการเคลื่อนที่

ของสารผ่านตัวกลางที่เป็นสารละลายอิเล็กโตรไลต์ซึ่งบรรจุในคะพิลลารีขนาดเล็กภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้า มีการประยุกต์เทคนิคนี้ในการแยกสารที่อยู่ในอาหารและสิ่งแวดล้อม

โลหะหนักที่เจือปนในอาหารและสิ่งแวดล้อมเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดความวิตกกังวล โดยทั่วไปโลหะหนักจะไม่ถูกสลายด้วยกระบวนการทางชีววิทยา โลหะหนักสามารถสะสมในมนุษย์ได้ จากการที่มนุษย์บริโภคพืชและน้ำที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสุขภาพ เช่น ไตวาย อาการเป็น พิษเรื้อรัง ตับถูกทำลาย ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลก จึงได้มีข้อกำหนดเรื่องการควบคุมปริมาณโลหะหนักเช่น ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม และโลหะหนักอื่น ๆ ในอาหารเพื่อความปลอดภัยแก่สาธารณชน

ตะกั่วและแคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบมากบนโลกและมีความเป็นพิษ ถ้าในอาหารมีความเข้มข้นของโลหะนี้มากจะเป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ โรคไต โรคเกี่ยวกับระบบประสาท และกระดูก นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุในการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ (การผ่าเหล่า) และเป็นสาเหตุของความพิการของทารกในครรภ์ ทองแดงและโลหะอื่นในปริมาณน้อยเป็นโลหะที่มีความจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ และมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาการเผาผลาญสารภายในเซลล์ ความไม่สมดุลของทองแดงสามารถเป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วยรุนแรง เหตุผลหลักที่ต้องมีการเฝ้าระวังระดับความเป็นพิษของโลหะหนักในอาหารเนื่องจากมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น แหล่งสร้างมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมมาจากโรงงานอุตสาหกรรมและการจราจร การเกษตร ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของโลหะหนักในอาหารจึงต้องการวิธีการตรวจวัดที่ง่าย มีความไวและมีความแม่นยำ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในอาหารประเภทน้ำดื่มซึ่งข้อดีของเทคนิคดังกล่าวคือ สามารถวิเคราะห์โลหะหนักได้อย่างรวดเร็วและสะดวกในการตรวจวัดเนื่องจากเครื่องมือที่ใช้มีขนาดเล็กสามารถพกพาไปตรวจวัดในสถานที่จริงได้

วัตถุประสงค์เพื่อ

1. พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักที่มีความไวในการตรวจวัดสูง ราคาถูก และมีขนาดเล็กสามารถพกพาได้
2. ประยุกต์ใช้ไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรีหาปริมาณโลหะหนักในเครื่องดื่ม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ</u>

โครงการย่อยที่ 2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

ไคติน (chitin) เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ประกอบด้วยโครงสร้างทางเคมีคือ poly(β-(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-*D*-glucose) หรือเอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน (*N*-acetyl-*D*-glucosamine) เป็นหน่วยซ้ำ

หลักในสายพอลิเมอร์ ส่วนไคโตซาน (chitosan) ได้จากการทำปฏิกิริยาดีอะซิทิเลชันของไคตินในสารละลายด่างเข้มข้น ดังนั้นไคโตซานจึงประกอบด้วยโครงสร้างทางเคมีส่วนใหญ่เป็น poly(β-(1-4)-2-amino-2-deoxy-*D*-glucose) หรือดี-กลูโคซามีน (*D*-glucosamine) เป็นหน่วยซ้ำหลัก ไคตินและไคโตซานมี โครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับเซลลูโลส แตกต่างกันที่หมู่แทนที่บนคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่สองในวงแหวนไพราโนส (pyranose ring) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของเซลลูโลสโดยหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งนี้ของเซลลูโลสจะเป็นหมู่ไฮดรอกซิลแต่ของไคตินเป็นหมู่อะซิทาไมด์ (NHAc) ส่วนไคโตซานเป็นหมู่อะมิโน (NH_2)

ไคติน-ไคโตซานที่ผลิตขึ้นภายในประเทศส่วนใหญ่จะส่งออกในรูปของวัตถุดิบราคาถูก (กิโลกรัมละ 400-1000 บาท) ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น จึงเป็นการช่วยเปลี่ยนของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งให้กลายเป็นทรัพยากรที่มีค่าของประเทศ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นการวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีที่มั่นคงและยั่งยืน เอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน ที่ขายในรูปสารเคมีปัจจุบันมีราคากว่า 57,700 บาท/กิโลกรัม ส่วนไดเมอร์ของไคตินคือ เอ็น,เอ็น-ไดแอซีทิลไคโตไบโอส มีราคาสูงกว่า 900,000 บาท/กรัม และโอลิโกเมอร์ที่มีขนาด 3-7 หน่วยนั้นมีราคาสูงขึ้นไปอีกตามลำดับ[1] ซึ่งสารเหล่านี้ใช้เป็นส่วนผสมหลักในยารักษาอาการเจ็บปวดตามข้อกระดูกสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคออสทีโออาร์ไทรทีส (osteoarthritis)[2] โครงการวิจัยนี้จึงอาจถือได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นของการแปรรูปวัตถุดิบคือไคติน และไคโตซานให้เป็นสารเคมีโมเลกุลขนาดเล็กลงที่มีประโยชน์ในทางเภสัชกรรมที่มีราคาสูงขึ้น

ในงานวิจัยที่ผ่านของเราพบว่าเอนไซม์จาก Burkoderia cepacia สามารถใช้ผลิตเอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน จาก ไคติน มากกว่า 90% ในเวลา 1 วัน โดยอัตราค่าใช้จ่ายในการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการจะอยู่ที่ประมาณ 800-1500 บาท/กิโลกรัม และถ้าขยายขนาดการผลิตก็จะสามารถลดราคาการผลิตต่อกิโลกรัมลงอย่างมีนัยสำคัญได้อีก อย่างไรก็ตามจุดเด่นของการวิจัยนี้ไม่ได้อยู่ที่ต้นทุนการผลิตต่ำแต่เพียงอย่างเดียว แต่อยู่ที่ความปลอดภัยและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมที่มีมากกว่าวิธีการผลิตโดยใช้สารเคมีซึ่งมีกระบวนการทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ที่ยุ่งยากซับซ้อน

วัตถุประสงค์เพื่อ

1) เพื่อศึกษาการย่อยไคตินด้วยเอนไซม์เพื่อเตรียม เอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน และ เอ็น,เอ็น-ไดแอซีทิลไคโตไบโอส และ ศึกษาหาวิธีแยกผลิตภัณฑ์ดังกล่าวออกจากของผสมในปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

2) เพื่อศึกษาการย่อยไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริคโดยมีคลื่นอัลตราโซนิกช่วยเพื่อเตรียมเกลือกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์และ ศึกษาหาวิธีแยกผลิตภัณฑ์ดังกล่าวออกจากของผสมในปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

โครงการย่อยที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants)

โครงการวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการผลิตสารสกัดจากผักผลไม้ในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคทางเอนไซม์เพื่อย่อยสลายเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ตามแต่ละชนิดของวัตถุดิบ โดยไม่ผ่านกระบวนการแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิมแต่มีความเข้มข้นมากขึ้น สามารถนำไปใช้ผสมในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ(functional food) เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ สะดวกต่อการใช้งานและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์เพื่อ ผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ โดยใช้เทคนิคทางเอนไซม์ในการย่อยสลายเนื้อเยื่อพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิมและยังคงใยอาหารไว้แต่มีความเข้มข้นมากขึ้น สามารถนำไปใช้ผสมในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ สะดวกต่อการใช้งานและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

จากงานวิจัยในปี 2550 ผู้วิจัยได้ศึกษาและคัดเลือกผักและผลไม้ท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ซึ่งพบว่าพืชที่มีลักษณะเด่นและมีสารหน้าที่เฉพาะด้านสารพรีไบโอติกได้แก่ กล้วยหอมและพุทรา ส่วนพืชกลุ่มที่ให้สีและสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ใบเตยหอม ฝรั่งแดง มะดูม มะม่วง แคนตาลูป และแก้วมังกรแดง นำไปสู่งานวิจัยในปี 2551 ที่ได้ศึกษากระบวนการแปรรูปและภาวะที่เหมาะสมในการสกัดออกฤทธิ์ทางชีวภาพของวัตถุดิบแต่ละชนิดด้วยเอนไซม์ โดยประกอบด้วยขั้นตอนการคัดเลือกวัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบให้มีความคงตัวด้านสีและองค์ประกอบต่างๆ ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ และศึกษาลักษณะเฉพาะของสารสกัดที่ได้ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของสารสกัด ช่วยเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและคุณสมบัติการเป็นอิมัลชันของผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้น

โครงการย่อยที่ 2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

จุลินทรีย์ได้รับการใช้ในการผลิตสารต่างๆ แทนการสังเคราะห์โดยทางเคมี เนื่องจากสะดวก ค่าใช้จ่ายถูกลง ทุ่นเวลา ไม่เกิดปัญหาทางด้านมนุษยธรรมและสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารทางชีวภาพเหล่านี้ได้แก่ อินซูลิน กรดไฮยารูโลนิค สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ต่างๆ และฮอร์โมน เป็นต้น

การผลิตสารโดยจุลินทรีย์ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้ามีราคาสูงมากซึ่งไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงเชื้อในระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการใช้ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามสารอาหารหลักที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถใช้ได้จากผลิตผลเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ข้าวฟ่าง ชาน

อ้อย กากถั่วเหลือง เป็นต้น และในประเทศไทยเป็นประเทศทางการเกษตร มีวัตถุดิบทางการเกษตรมากมาย หากจำหน่ายโดยไม่มีการแปรรูปจะได้ราคาต่ำ แต่เมื่อนำวัสดุทางการเกษตรเหล่านั้นมาแปรรูปเพื่อ ใช้ในเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จะส่งผลให้มูลค่าของวัสดุทางการเกษตรเพิ่มขึ้นและเป็นการลดต้นทุนการผลิตของสารอีกด้วย

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิดสามารถผลิตสารที่มีคุณค่าสูงโดยใช้วัสดุทางการเกษตรได้ หนึ่งในสิ่งเหล่านี้ได้แก่ การผลิตสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์หรือพอลิเพปไทด์ที่สามารถใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร มีรายงานว่า สารพวกเดกซ์แทรนโดย *Leuconostoc mesenteroides* แซนแทนโดย *Xanthomonas campestris* เคอร์ดแลนโดย *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* สเครอโรกลูแคนโดย *Sclerotium roffsii* ฯลฯ ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้โดยแบคทีเรียและรา สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยให้ความหนืดเมื่อเติมลงในไอศกรีม น้ำสลัด และน้ำเกรวี่ ในขณะเดียวกันสารพอลิเพปไทด์ เช่น กรดพอลิแกมมากลูตามิคซึ่งผลิตโดยแบคทีเรีย ก็ได้รับรายงานว่ามีความหนืดและใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ในการทำไบโอฟิล์มได้ การผลิตสารเหล่านี้ทำได้โดยง่ายโดยอาศัยวัตถุดิบในประเทศซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์หรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและยังอาจใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้ภายในประเทศ

วัตถุประสงค์เพื่อ งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยปีที่ 1 (งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2550) ที่มุ่งหาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ที่สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร งานที่ได้รายงานไว้ในรายงานฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1 นั้นขณะนี้ได้มีการดำเนินการต่อเนื่อง สำหรับปีที่สองนี้งานที่เสนอไว้คือการหาสูตรอาหารราคาถูกแทนอาหารเชิงการค้าที่มีราคาแพงและการหาภาวะสำหรับการเลี้ยงให้เหมาะต่อการผลิตพอลิเมอร์

ได้คัดเลือกตัวแทนจุลินทรีย์สายพันธุ์ EN02 เป็นสายพันธุ์ตัวแทนในการศึกษานี้ทั้งนี้สายพันธุ์ที่เลือกนี้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงจากจุลินทรีย์ที่เลือก ในขั้นต้นได้ศึกษาหาภาวะและปัจจัยต่างๆ ที่จำเป็นต้องทราบซึ่งทำโดยการเลี้ยงในอาหารเชิงพาณิชย์ ส่วนสูตรอาหารที่จะพัฒนาขึ้นใหม่นั้นจะยึดตามสูตรอาหารที่เลือกจากนั้นใช้วิธีการแทนที่ด้วยสารอาหารราคาถูก เช่น วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลังการแปรรูป โดยส่วนที่สำคัญที่สุดคือ แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน และปรับสิ่งที่เหลือเพื่อให้ได้สูตรอาหารราคาถูกสำหรับใช้

โครงการย่อยที่ 2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน มีความต้องการสารอาหารที่เป็นสารจากธรรมชาติ ซึ่งสารธรรมชาติต่างๆเหล่านี้กำลังทวีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้นกว่าสารสังเคราะห์ทางเคมี และความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพ ราคาต้นทุนก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความต้องการสารที่มาจาก

ธรรมชาติมากขึ้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถก่ออิมัลชั่นได้ดี สร้างได้จากแบคทีเรีย รา และยีสต์บางชนิด โดยเข้ามามีส่วนแบ่งในตลาดของสารที่สังเคราะห์ทางเคมี มีโครงสร้างหลากหลาย มีโครงสร้างเป็นแอมฟิฟาติก (Amphiphatic structure) ทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน และยังคงมีคุณสมบัติที่ดีคงทนได้อยู่ใน pH ช่วงกว้าง อุณหภูมิและเกลือความเข้มข้นต่างๆ เป็นผลให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหาร ยา เครื่องสำอาง และ ปิโตรเคมี นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารที่ย่อยสลายได้ ในธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่ำ และสามารถผลิตได้จากวัสดุทาง การเกษตรภายในประเทศ จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำการผลิตสารลดแรงตึงผิงชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อมาใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี และมีความปลอดภัยสูง

อาหารบางชนิดที่เกิดจากการผสมของเฟสที่เป็นน้ำ (aqueous) และส่วนที่มีลักษณะน้ำมัน เช่น ครีม น้ำสลัด มายองเนส ผลิตภัณฑ์จากนม เนย ขนมหวาน และเบเกอรี่ต่างๆ โดยผลิตภัณฑ์นั้นต้องอยู่ในรูป ของอิมัลชัน อีกทั้งเมื่อเกิดแล้วลักษณะดังกล่าวต้องมีความเสถียรจึงจะอยู่ในรูปลักษณ์และลักษณะเมื่อรับประทานที่เป็นที่ยอมรับโดยผู้บริโภค ลักษณะอิมัลชันดังกล่าวเกิดจากการลดความตึงระหว่างผิวประจัน (intersurface tension) ระหว่างทั้งสองเฟสจนได้เป็นอิมัลชันขึ้น โดยกระบวนการทำให้เกิดอิมัลชันนั้นมีบทบาททำให้อาหารเหนียวข้นและดูมีเนื้อมากขึ้น

การที่จะให้เกิดอิมัลชันในอาหารนั้นต้องการสารก่ออิมัลชันที่เรียกว่าอัลสิไฟเออร์ซึ่งการทำงานนั้นขึ้นกับสมดุลย ความชอบน้ำ (hydrophilic)/ ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) สารที่สามารถใช้เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหารมีหลายชนิด เช่น เลซิธินและอนุพันธ์ของเลซิธิน เอสเทอร์ของกรดไขมันของซอร์บิแทน เป็นต้น ปัจจุบันสามารถผลิตสารก่ออิมัลชันได้จากจุลินทรีย์ที่เรียกกันว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งการที่จุลินทรีย์ ผลิตสารขึ้นเพื่อการสลายและนำสารอาหารเข้าเซลล์นั้น เป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษ เนื่องจากเป็นการผลิตที่ง่าย รวดเร็ว ใช้ต้นทุนต่ำ และไม่ก่อปัญหาทางสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารลดแรง ตึงผิวชีวภาพที่เป็นที่รู้จักกันได้แก่ ไกลโคลิพิดจาก *Arthrobacter* sp. โซโฟโรสลิพิดจาก *Torulopsis bombicola* แรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas* spp. อีมัลแซน จาก *Acinetobacter calcoaceticus* และ ไลโพโปรตีน (เซอร์แฟคติน) โดย *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis* เป็นต้น สารเหล่านี้ได้รับการใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวชนิดสังเคราะห์ทางเคมีในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การใช้ ไกลโคลิพิด (glycolipid) แทนเอสเทอร์กรดไขมันของโมโนและโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อ เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหาร การใช้โซโฟลิพิดกับแป้งเพื่อให้คุณภาพดีและยืดอายุการเก็บ การใช้ผนังเซลล์ที่ได้รับการไฮโดรไลซ์ของยีสต์ (*Saccharomyces uvarum*) ในการผลิตมาการีน เป็นต้น

จากสถิติการนำเข้าสารลดแรงตึงผิว สารก่ออิมัลชั่นและสารอนุพันธุ์ของกรมศุลการกรประจำปี 2547 พบว่ามีการนำเข้าเป็นมูลค่ากว่า 105 ล้านบาทต่อปี และมีแนวโน้มสูงขึ้น เพื่อเป็นการทดแทนการนำเข้าอีกทั้งเพื่อเป็นการพึ่งตนเองได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าและผลิตสารชีวโมเลกุลที่สามารถลดแรง

ตึงผิวและก่ออิมัลชั่นได้ดี เพื่อทดแทนสารดังกล่าวมาใช้ ซึ่งเป็นผลให้ประเทศสามารถผลิตอาหารที่มีมาตรฐานสูงขึ้น สามารถแข่งขันกับสินค้าจากต่างประเทศและยังเป็นการส่งเสริมการตลาดภายใน และภายนอกประเทศอีกด้วย

Pichia anomala PY1 เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่คัดแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้าน (ข้าวหมาก) (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 29-30 mN/m ค่าการกระจายน้ำมัน 69.43 ตารางเซนติเมตร ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) 180 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิด และมีมวลโมเลกุลเทียบเคียงกับโซโฟโรลิพิดโซโฟโรลิพิด (sophorolipid) เป็นสารที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย ซึ่งยีสต์สามารถผลิตโซโฟโรลิพิดโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำ (hydrophilic carbon source) และจะเพิ่มผลผลิตมากขึ้นได้เมื่อเติมแหล่งคาร์บอนที่ไม่ละลายในน้ำ (hydrophobic carbon source) (Casas และคณะ,1997; Hommel และคณะ,1994; Stuwer และคณะ, 1987; Bednarski และคณะ, 2004; Gumienna และคณะ, 2005)

วัตถุประสงค์เพื่อ คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมอาหาร ศึกษาถึงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตสาร ศึกษาคุณลักษณะสมบัติของสาร การกลายพันธุ์จุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น ตลอดจนทราบขบวนการในการผลิตสารในระดับขยายส่วน

โครงการย่อยที่ 2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและมีแนวนโยบายจะพัฒนาประเทศให้เป็นครัวของโลก งาและพริกจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากขึ้นทุกปี เนื่องจากความต้องการเมล็ดงาและพริกทั้งในและต่างประเทศมีสูงขึ้นเรื่อยๆ ในประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกพริกเฉลี่ย 383,000 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 420,000 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ในการบริโภคในประเทศ และยังคงมีความจำเป็นในการนำเข้าพริก (แห้ง) เพื่อใช้ในงานด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม ประมาณปีละ 3,000-5,000 ตัน มูลค่าประมาณ 100 ล้านบาท และมีแนวโน้มของความต้องการเพิ่มมากขึ้นตามการเติบโตของอุตสาหกรรมอาหารในประเทศที่ต้องการพริกเป็นส่วนประกอบ เช่น อาหารกระป๋อง น้ำพริก เป็นต้น หรือนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารเสริม เช่น ผลิตภัณฑ์ที่มี capsaisin หรือสารสกัดจากพริกเป็นองค์ประกอบมีรายงานว่าช่วยลดการสะสมของไขมัน โดยการเพิ่มระดับเอนไซม์ในตับ ช่วยเร่งกระบวนการเมทาโบลิซึมในร่างกาย และสามารถใช้ในการควบคุมน้ำหนัก เป็นต้น

ในส่วนของงามีรายงานว่าประเทศไทยผลิตงาได้ปีละ 35,000 ตัน บริโภคภายในประเทศร้อยละ 45 ส่งออกไปต่างประเทศต่างๆ เช่น ไต้หวัน ญี่ปุ่น สิงคโปร์ มาเลเซียและออสเตรเลีย ร้อยละ 55 ในขณะที่ตลาดโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งยุโรปและอเมริกายังมีความต้องการงาอีกมาก การใช้ประโยชน์ของงาใน

อุตสาหกรรมอาหารในประเทศ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มหรืออาหารที่มีการผสมงาโดยตรง ในอาหารเสริม สิ่งสกัดจากงาได้รับการพิสูจน์ว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระ อาการบกพร่องระบบสืบพันธุ์ ช่วยชะลอความแก่ ความดันโลหิตสูง อาการสมองเสื่อม แก้ปวดข้อ กระดูก กล้ามเนื้อ แก้การเกิดไมแกรน เป็นต้นอย่างไรก็ดี อุปสรรคสำคัญของการส่งออกน้ำมันงาหรือการควบคุมคุณภาพพริกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม อาหารและอาหารเสริม คือ ความแปรปรวนของสารสำคัญที่มีอยู่ในพืช ซึ่งผลกระทบส่วนใหญ่นี้มาจากสายพันธุ์ที่ต่างชนิดกัน นอกจากนั้นอาจเกี่ยวข้องกับวิธีขั้นตอนการเก็บเกี่ยว กระบวนการสกัด วิธีและขั้นตอนในการเก็บรักษา การควบคุมคุณภาพน้ำมันงาและพริก เป็นต้น

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง พบว่าในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาวิจัยอย่างเป็นระบบสำหรับการคัดเลือกสายพันธุ์พริกและงาที่ให้ปริมาณสารสำคัญมากที่สุด รวมถึงวิธีการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญที่มากที่สุดและยังคงรักษาคุณภาพของของสารสกัดที่ได้ การประกันคุณภาพโดยการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในพริกและงา เป็นวิธีการหนึ่งในการส่งเสริมให้ประเทศมีแนวทางการพัฒนาประเทศด้านการเกษตรที่ยั่งยืน ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำไปแนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกพริกและงาด้วยสายพันธุ์ที่ให้ปริมาณสารสำคัญเป็นไปตามความต้องการ และสามารถแนะนำอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกระบวนการสกัดเพื่อให้รักษาคุณภาพที่ดีที่สุดจากพริกและงาไว้

วัตถุประสงค์เพื่อ

1. เพื่อสกัด แยกสารสำคัญจากพริกและงา เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสิ่งสกัดของพริกและงาสายพันธุ์ต่างๆ
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญกับสายพันธุ์พริกและงา
4. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตรวจสอบคุณภาพของสิ่งสกัดที่ได้
5. เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์ของสาระสำคัญหรือสิ่งสกัดในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

โครงการย่อยที่ 2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

ในปัจจุบันเป็นยุคปฏิรูประบบสุขภาพซึ่งเน้นการป้องกันและสร้างเสริมสุขภาพ การรับประทานอาหาร ที่ ถูกต้อง ป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมและป้องกันมิให้ประชากรและผู้สูงอายุ เกิดโรคเรื้อรัง สุจิตราและคณะ [4] ได้รายงานว่ารูปแบบการบริโภคอาหารเป็นอิทธิพลสำคัญ ที่ก่อให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ในประชากรและ ผู้สูงอายุ โดยประชากรและผู้สูงอายุส่วนใหญ่ ได้รับวิตามินและแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม และวิตามินบีหนึ่งไม่เพียงพอ ซึ่ง เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด โรคหัวใจล้มเหลว โรคความจำเสื่อม อย่างไรก็ตามแนวทางการดำเนินชีวิตในปัจจุบันมีเอื้อต่อการรับประทานอาหารที่เหมาะสม ปัจจุบันนี้ได้มีงานวิจัยพัฒนาการเพิ่มสารอาหารในอาหารชนิดต่างๆ เช่นการเพิ่มไอโอดีนในเกลือ

การเคลือบผิวเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหารหรือผลไม้ได้มีการใช้กันมาระยะเวลาหนึ่งแล้ว โดยฟิล์มเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านทานการสูญเสียน้ำ ปรับปรุงคุณภาพของผิว ช่วยรักษากลิ่นและรสของสารระเหยง่าย รวมถึงต้านทานการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ฟิล์มที่ใช้เคลือบผิวสามารถเตรียมจากสารชนิดต่างๆ เช่น พอลิแซคคาไรด์ โปรตีน หรือไขมัน ตัวอย่างเช่นการเคลือบผิวด้วยไคโตซานสามารถปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มระยะเวลาในการเก็บสตอเบอร์รี่และราสเบอร์รี่ได้ดี[1] การเพิ่มวิตามิน เกลือแร่ ลงในแผ่นเคลือบผิวของผลไม้จึงได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากสามารถยืดอายุของผลิตภัณฑ์และเพิ่มคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์นั้นๆ การพัฒนาฟิล์มที่เตรียมจากไคโตซานที่มีการเติมแคลเซียม เหล็ก หรือ วิตามินอี ในระดับความเข้มข้นสูง[3]

โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเสริมสร้างสุขภาพของประชากรและผู้สูงอายุโดยการพัฒนาผลไม้ที่เคลือบด้วย เกลือแร่และวิตามินเพื่อแก้ปัญหาการขาดสารอาหารประเภทวิตามินและเกลือแร่ ทั้งนี้เพื่อช่วยให้ประชากรมีภาวะโภชนาการดีขึ้น

วัตถุประสงค์เพื่อ

1. การพัฒนาฟิล์มที่เติมเกลือแร่ลงไป โดยเกลือแร่ที่เลือกใช้ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และเหล็ก โดยปริมาณของเกลือแร่ที่เติมลงไปจะเติมเพียง 10 % ของ RDI และเลือกฝรั่งซึ่งจะใช้เป็นผลต้นแบบสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

2. การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 การผสมน้ำมันโอเมกา-3 ลงบนผลไม้ตรงที่เป็นไปได้ยาก ผู้ทำงานวิจัยจึงได้เตรียมน้ำมันโอเมกา-3 ให้อยู่ในรูปอิมัลชันก่อนแล้วจึงเตรียมเป็นฟิล์ม โดยผู้วิจัยพัฒนาวิธีการเตรียม multilayer emulsion เพื่อให้ได้อิมัลชันของน้ำมันทูนาที่มีความเสถียร และลดอัตราการออกซิเดชัน โดยในปีนี้ผู้วิจัยเตรียม secondary emulsion ซึ่งเตรียมโดยเคลือบ primary emulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ด้วยพอลิเมอร์(PDAD และ ไคโตซาน) อีกชั้นหนึ่ง พัฒนาฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ ละน้ำมันโอเมกา-3 ที่สามารถเคลือบบนผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรได้

โครงการย่อยที่ 2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

สมองเสื่อม (Dementia) เป็นภาวะที่สมองมีระดับความสามารถในการจัดการวางแผน ดำเนินกิจกรรมต่างๆ ลดลง ทำให้ผู้ป่วยมีปัญหาไม่สามารถเรียนรู้สิ่งใหม่ๆ คิดสิ่งต่างๆ ไม่ออก บุคลิกภาพเปลี่ยนแปลง วิตกกังวล รวมทั้งซึมเศร้า ภาวะสมองเสื่อมนั้นต่างจากความจำเสื่อม (Forgetfullness) โดยมักมีอาการอื่น นอกจากความจำเสื่อมร่วมด้วยโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease, AD) เป็นสาเหตุของสมองเสื่อมที่พบได้บ่อยมักพบในผู้สูงอายุ ทำให้เป็นปัญหาแก่ประเทศไทยที่มีจำนวนผู้สูงอายุมากขึ้นทุกปี และภาระในการเฝ้าดูแลรักษาโดยแพทย์ และญาติก็จะต้องมีมากขึ้นด้วย ด้วยเหตุนี้ทั้งประเทศไทยและทั่วโลกจึงให้ความสนใจศึกษาและวิจัยโรคอัลไซเมอร์เป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะในประเด็นป้องกันหรือรักษา ปัจจุบันยังไม่

มียาที่รักษาให้หายขาดได้แต่มียาซึ่งอาจช่วยควบคุมอาการต่างๆ ให้น้อยลงได้ชั่วคราว แต่โรคก็จะดำเนินต่อไปเรื่อยๆ เมื่อถึงระยะที่เป็นมากๆ ยาก็จะไม่ได้ผล

สาเหตุของโรคอัลไซเมอร์มีสมมติฐานว่าสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โดยสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่งก็คือ ผู้ป่วยอัลไซเมอร์จะมีปริมาณเซลล์สมองลดลงและสารสื่อประสาท Acetylcholine (ACh) ลดลงด้วย ปัจจุบันมียาที่ช่วยเพิ่มปริมาณของ Ach ในสมอง โดยออกฤทธิ์ต้าน Acetylcholinesterase (AChE) ที่ย่อยสลาย ACh คือ AChE inhibitors เช่น tacrine, rivastigmine และ galantamine ยาเหล่านี้จึงช่วยให้ผู้ป่วยอัลไซเมอร์มีอาการดีขึ้นได้ และชะลอการทรุดลงของโรคถ้าได้ใช้ในระยะเริ่มแรก แต่จะไม่ทำให้โรคหายขาด

จากการศึกษาเบื้องต้นของหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสเบื้องต้นกับสิ่งสกัดสมุนไพร 50 ชนิด ด้วยวิธี TLC assay พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรหลายชนิดแสดงฤทธิ์ที่น่าสนใจ รวมทั้งสิ่งสกัดจากเหง้ากระชายดำ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker จึงได้เลือกสิ่งสกัดสมุนไพรจากกระชายดำ ศึกษาหาสาระสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

ในปัจจุบันพบว่า มีผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์กระชายดำ และอาหารเสริมที่ผลิตจากกระชายดำจำนวนมาก แต่ยังไม่มีการตรวจสอบ วิเคราะห์และควบคุมคุณภาพปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว การใช้ความรู้ด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการช่วยควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยสามารถจำหน่ายได้อย่างยั่งยืนและมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานสากล

วัตถุประสงค์เพื่อ

2.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ รวมถึงศึกษาวิธีการเบื้องต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้

2.2 เพื่อประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากการะชายดำ

โครงการย่อยที่ 2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

ความปลอดภัยของอาหารเป็นเรื่องสำคัญที่ทุกคนให้ความสนใจ ในอุตสาหกรรมอาหารการประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารสุดท้ายเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนการตรวจสอบและควบคุมวัตถุดิบกระบวนการผลิต ตลอดจนถึงการบรรจุผลิตภัณฑ์ และการเก็บสินค้าก่อนส่งถึงมือผู้บริโภค นอกเหนือจากการปฏิบัติตามหลักเกณฑ์การปฏิบัติที่ดี (Good Manufacturing Practice; GMP) และการมีระบบวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤต (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP) ในการผลิตอาหาร การใช้สารต้านแบคทีเรียยังเป็นวิธีที่ผู้ผลิตจำเป็นต้องใช้เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดแก่ผู้บริโภค หากเกิดเหตุสุดวิสัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการผลิต และเพื่อป้องกันการเจริญของ

แบคทีเรียในอาหารที่อยู่ระหว่างการรอจำหน่าย การใช้สารต้านการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการประกันความปลอดภัยของอาหาร สารที่ใช้ต้านการเจริญของแบคทีเรียในอาหารและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ โดยทั่วไปเป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มต่างๆ เช่น อนุพันธ์ของกรดอินทรีย์ และเกลือของกรดอินทรีย์ซึ่งหลาย ๆ ชนิดนั้นมีรายงานว่าสามารถสะสมในร่างกายและก่อเกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นหากมีการพัฒนาสารต้านแบคทีเรียที่สกัดได้จากแหล่งธรรมชาติโดยเฉพาะจากพืชมาใช้ทดแทนสารต้านแบคทีเรียสังเคราะห์เหล่านั้นก็จะเป็นทางออกหนึ่งที่จะทำให้การใช้สารต้านแบคทีเรียในอาหารมีความปลอดภัยมากขึ้น

มีรายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสามารถนำไปใช้ในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรครวมถึงใช้ในสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคติดเชื้อ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงมาใช้เป็นสารต้านแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

วัตถุประสงค์ เพื่อ ศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงและศึกษาผลของปัจจัยด้าน พันธุ์ แหล่งปลูก กระบวนการแปรรูปเป็นมะม่วงดอง ต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย ดังกล่าว

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร</u>

โครงการย่อยที่ 3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

การประกันคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารทั้งระบบ มีความสำคัญต่อประเทศอย่างยิ่ง ทั้งนี้เนื่องจากผู้บริโภคให้ความสำคัญกับความปลอดภัยและคุณภาพอาหารสูงขึ้นอย่างมาก หลายประเทศวางมาตรการในการให้แสดงข้อมูลกำกับสินค้ามากขึ้น(Lachance, 2004) ดังนั้นการสร้างระบบประกันบนหลักการ traceability ที่ยอมรับในตลาดสากลมาใช้ดำเนินการจึงเป็นทางออกที่สำคัญ(Lachance and Saba, 2002)

อย่างไรก็ดี การดำเนินการผ่านระบบGAP (Good Agricultural Practice) GMP (Good Manufactural Practice) ควบคุมตั้งแต่ต้นทางถึงปลายทาง การดำเนินการจะทำให้มีข้อมูลเกี่ยวข้องเกิดขึ้นมากมาย นับจากข้อมูลวัตถุดิบต้นทางไปสู่รายละเอียดปลายทาง การบูรณาการเพื่อจัดการข้อมูลสู่ระบบข้อมูลสนับสนุน ที่ครอบคลุมทั้ง กรรมวิธี กระบวนการผลิตและผลลัพธ์ในรูปผลิตภัณฑ์ปลายทาง การเชื่อมโยงข้อมูลเหล่านี้ในรูปแบบที่เรียกและโต้ตอบได้จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือช่วยเพื่อให้เกิดความสะดวกรวดเร็ว (WHO, 2003)

บาร์โค้ดได้รับความนิยมและนำมาใช้ในการจัดการและบริหารบางส่วนของข้อมูลในระบบ แต่ก็มีข้อจำกัด ไม่เป็นที่ยอมรับ และจดการได้เฉพาะ กับข้อมูลขนาดเล็กมาก และที่สำคัญผู้บริโภคไม่สามารถทำความเข้าใจหรือได้ประโยชน์อะไรจากบาร์โค้ดแบบเดิม (Lachance and Saba, 2002 และ Lockley and Bardsley, 2000). รหัส 2 มิติที่เรียกว่า QR codeได้รับความนิยม รหัสดังกล่าวสามารถจัดการข้อมูลได้มากถึง 4296 ตัวอักษร อ่านและประมวลข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว ไม่ติดเงื่อนไขในรูปสิทธิบัตรในการใช้งานและระบบรหัสนี้ได้รับการรับรองมาตรฐาน AIM JEIDA และ ISO 18004 แล้วและที่สำคัญสามารถอ่านรหัสได้จากโทรศัพท์มือถือ ซึ่งจะเป็นการเปิดมิติของข้อมูลไปสู่ผู้บริโภคปลายทางให้เข้ามามีส่วนร่วมในการรับรู้ข้อมูลและสื่อสารกับระบบเพื่อเป็นหลักประกันในคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารได้ (www.qrcode.com)

รัฐบาลญี่ปุ่นได้นำระบบQR codeมาใช้ เพื่อประกันการบริโภคว่าเชื้อวัวบ้า (BSE) จะไม่ปนในผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคเลือกซื้อ นอกจากนี้ยังใช้กำกับวัตถุดิบทางการเกษตรเพื่อเป็นข้อมูลแสดงการใช้ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง และเคมีเกษตรอื่น ในระบบผลิตผักและผลไม้โดยติดไปกับตัวสินค้าในรูปรหัสและระบบกำลังขยายตัวครอบคลุมอุตสาหกรรมอาหารทั้งหมด

ประเทศไทยยังขาดระบบรองรับที่สามารถเชื่อมโยงข้อมูลตั้งแต่ต้นทางในรูปการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบในระหว่างการผลิตและปลายทางในรูปผลิตภัณฑ์ และขาดช่องทางในการใช้ข้อมูลเหล่านั้นเป็นสื่อในการให้หลักประกันด้านคุณภาพในตัวสินค้าที่ผู้บริโภคสามารถตรวจสอบได้ผ่านระบบสารสนเทศ

โครงการวิจัยนำร่องนี้มีขึ้นเพื่อศึกษาระบบรหัส 2 มิติ และนำระบบรหัส 2 มิติดังกล่าวมาพัฒนาเป็นระบบควบคุมดูแล และแสดงผลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารที่เชื่อมโยงไปสู่การใช้งานจริงโดยเริ่มต้นจากอาหารเสริมสุขภาพที่มีระเบียบควบคุมชัดเจน มีผู้เกี่ยวข้องในระบบไม่มากเกินไปนัก และกลุ่มผู้บริโภคในสินค้าอาหารกลุ่มนี้เป็นผู้มีการศึกษา เพื่อสร้างเป็นระบบทดลองและประเมินประสิทธิภาพโดยรวมของการนำระบบมาใช้ ก่อนปรับและขยายผลไปสู่อาหารในกลุ่มอื่น และมีขอบเขตการดำเนินการครอบคลุม การสำรวจรูปแบบการดำเนินการ การกำหนดรายละเอียดของรายการข้อมูลที่จำเป็น การสร้างฐานข้อมูล รูปแบบในการพัฒนาระบบ จัดทำระบบคอมพิวเตอร์ให้สามารถรับระเบียนข้อมูล เอกสาร คำรับรอง ผลตรวจ และรายละเอียดพื้นฐานของอาหารเสริมสุขภาพ และการพัฒนาระบบรหัส 2 มิติกำกับฐานข้อมูลเพื่อให้การเดินข้อมูลจากฐานที่มีความซ้ำซ้อนสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เน้นข้อมูลฐานข้อมูลภายในสำหรับเจ้าพนักงานและฐานข้อมูลภายนอกเพื่อการประชาสัมพันธ์ข้อมูลความปลอดภัยของสินค้าเน้นการทำงานด้วยระบบ QR

โครงการวิจัยนำร่องนี้มีขึ้นเพื่อศึกษาระบบรหัส 2 มิติ และนำระบบรหัส 2 มิติดังกล่าวมาพัฒนาเป็นระบบควบคุมดูแล และแสดงผลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารที่เชื่อมโยงไปสู่การใช้งานจริงโดยเริ่มต้นจากอาหารเสริมสุขภาพที่มีระเบียบควบคุมชัดเจน มีผู้เกี่ยวข้องในระบบไม่มากเกินไปนัก และกลุ่มผู้บริโภคในสินค้าอาหารกลุ่มนี้เป็นผู้มีการศึกษา เพื่อสร้างเป็นระบบทดลองและประเมินประสิทธิภาพ

โดยรวมของการนำระบบมาใช้ ก่อนปรับและขยายผลไปสู่อาหารในกลุ่มอื่น และมีขอบเขตการดำเนินการครอบคลุม การสำรวจรูปแบบการดำเนินการ การกำหนดรายละเอียดของรายการข้อมูลที่จำเป็น การสร้างฐานข้อมูล รูปแบบในการพัฒนาระบบ จัดทำระบบคอมพิวเตอร์ให้สามารถรับระเบียนข้อมูล เอกสาร คำรับรอง ผลตรวจ และรายละเอียดพื้นฐานของอาหารเสริมสุขภาพ และการพัฒนาระบบรหัส 2 มิติกำกับฐานข้อมูลเพื่อให้การเดินข้อมูลจากฐานที่มีความซ้ำซ้อนสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เน้นข้อมูลฐานข้อมูลภายในสำหรับเจ้าพนักงานและฐานข้อมูลภายนอกเพื่อการประชาสัมพันธ์ข้อมูลความปลอดภัยของสินค้าเน้นการทำงานด้วยระบบ QR

โครงการย่อยที่ 3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

ระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการแสดงฉลากและควบคุมอาหารดัดแปรพันธุกรรมของประเทศในเครือสหภาพยุโรป Regulation 1829 และ 1830/2003(European Parliamant and the Council of European Union, 2003)มีสาระครอบคลุมการทดสอบระดับการปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมไม่เกิน 0.9% และบังคับให้มีระบบข้อมูลที่สามารถสืบทวนกลับได้ (traceability) นอกจากจะทำให้อาหาร หรือวัตถุดิบอาหารที่เข้าสู่ประเทศในเครือสหภาพยุโรปทั้งหมดต้องผ่านการตรวจสอบอย่างเคร่งครัด แล้วยังทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญในการตรวจสอบข้อมูลภาวะปะปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมมากขึ้น (Lockley and Bardsley. 2000)

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตอาหารส่งออก มีระบบการผลิตที่ใช้วัตถุดิบธรรมชาติที่ แม้มีความได้เปรียบในความเป็นอินทรีย์เป็นทุนเดิม แต่ก็มีการนำเข้าวัตถุดิบจากบางประเทศโดยเฉพาะถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง ที่มีโอกาสในการปนเปื้อนของวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม และแม้ว่ากระทรวงสาธารณสุข ได้ออกประกาศฉบับที่ 251 ขึ้นใช้ในการแสดงฉลากควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้าวโพดและถั่วเหลือง แต่ก็ไม่ครอบคลุมการดำเนินการเรื่องภาวะ GMOs ด้วยระบบสอบทวน (traceability)(กระทรวงสาธารณสุข, 2545) ซึ่งต่างไปมากจากเกณฑ์ที่กำหนดของสหภาพยุโรป ทำให้ระบบการแสดงฉลากไม่สอดคล้องและสัมพันธ์กัน ประเทศยังขาดระบบที่เชื่อมโยงข้อมูลระหว่างการควบคุมวัตถุ ดิบนำเข้าต้นทางความต้องการใช้และลักษณะจำเพาะของวัตถุดิบ การทดสอบภาวการณ์ใช้วัตถุดิบของผู้ประกอบการ ภาวการณ์ผลิต การควบคุม และการกำกับดูแล และการแสดงรายละเอียดของข้อมูล ที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เกิดผลเสียต่อผู้ประกอบการในแง่ระบบตรวจสอบเพื่อการรับรองการส่งออกที่จำเป็นต้องใช้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์และข้อมูลกำกับสอดคล้องกับระบบสอบทวนมาประกอบเพื่อการส่งออกได้ และเกิดผลเสียต่อประเทศในแง่การเสียโอกาสทางการตลาดและศักยภาพในการแข่งขันในระยะยาว

จากวิเคราะห์และประเมินสถานการณ์ของประเทศพบว่า การนำระบบตรวจสอบเข้ามาประยุกต์ใช้และทำให้เชื่อมโยงแบบออนไลน์ในการตรวจและรับรองจะช่วยเพิ่มความพร้อมในการทดสอบ ควบคุมและกำกับคุณภาพและความปลอดภัย การร่วมมือกันระหว่างหน่วยงาน ช่วยสร้างศักยภาพ ยกระดับคุณภาพ สร้างความพร้อมในการแข่งขันในอนาคต

โครงการวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลด้วยเทคโนโลยีสารสนเทศที่สามารถตรวจสอบข้อมูลวัตถุดิบ ภาวะการปน ผลการทดสอบ การผลิต ลักษณะเฉพาะทางคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การแสดงฉลากและระบบรองรับ ที่อยู่บนพื้นฐานของหลักการสอบทวน ที่สามารถตรวจสอบข้อมูลจากฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นผ่านระบบปฏิบัติการเฉพาะด้าน และ accessข้อมูลได้ในรูปสารสนเทศผ่านระบบเครือข่าย โดยเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ผู้ประกอบการ ผู้บริโภค และลูกค้าทั้งในและต่างประเทศ ทั้งนี้เพื่อช่วยเป็นหลักประกันในการรับรองผลิตภัณฑ์ปลอด GMOs ในระบบ ยกระดับความเชื่อมั่นของตัวสินค้าของประเทศในท้ายที่สุด

การวิจัยครอบคลุมการศึกษาระบบการดำเนินงานและการใช้สารสนเทศเข้ามาเชื่อมโยงในต่างประเทศ ข้อเท็จจริงในการดำเนินการในประเทศ เพื่อเปรียบเทียบ และวางระบบที่เป็นนวัตกรรมของระบบข้อมูล เชื่อมโยงข้อมูลที่จำเป็นสำหรับรองรับระบบ traceability ในการรับรองคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารที่สุ่มเสี่ยงต่อวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม เน้นรายละเอียดตั้งแต่วัตถุดิบต้นทางและประวัติวัตถุดิบ สู่ผลผลิตปลายทาง โดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในรูประบบปฏิบัติการและละมุนภัณฑ์ที่แสดงผลแบบ interface ในลักษณะ web base (on line) โดยแบ่งส่วนข้อมูล และขั้นตอนตามความจำเป็นในการรับข้อมูลและตามบทบาทหน้าที่ของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เชื่อมโยงข้อมูล ดึงและส่งถ่ายข้อมูลเพื่อนำไปสู่การประกันระบบ traceability ที่ใช้กับอาหารในกลุ่มที่ใช้วัตถุดิบที่มีรายงานว่าเป็น GMOs เพื่อให้สามารถตรวจสอบข้อมูลสถานภาพความเป็น GMOs-free ได้ตลอดเวลาจากทั้งในและต่างประเทศ

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 4 การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร</u>

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตภาคการเกษตรเป็นหลัก อุตสาหกรรมเกษตรจึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาความเข้มแข็งในเชิงเศรษฐกิจของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อุตสาหกรรมอาหาร เพราะอาหารเป็นปัจจัยหลักในการดำรงชีพ ดังนั้นการยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารจะช่วยประกันสุขอนามัยของประชาชนโดยรวม นอกจากนี้ ประเทศไทยยังเป็นผู้ผลิตและส่งออกสินค้าอาหารเป็นอันดับต้นๆ ของโลก โดยทำรายได้ให้ประเทศไทยปีละกว่าสี่แสนล้านบาท ดังนั้น นอกเหนือจากการเพิ่มผลผลิต การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า จึงเป็นสิ่งสำคัญในอันดับต้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในภาวการณ์ปัจจุบันซึ่งมีการเปิดการค้าเสรีระหว่างประเทศ คุณภาพและความปลอดภัยของอาหารยิ่งมีความสำคัญมากขึ้นอีก เพราะนอกจากตลาดการค้าต่างประเทศจะมีการแข่งขัน

สูงแล้ว ประเทศไทยยังต้องเผชิญกับการกีดกันทางการค้าในรูปของมาตรการควบคุมความปลอดภัยด้านอาหารของประเทศคู่ค้าที่สำคัญ และเผชิญกับการแย่งชิงตลาดกับสินค้านำเข้าที่มีราคาถูก เช่นสินค้าจากประเทศจีน การยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารไทยให้มีความปลอดภัย จะเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศได้

การพัฒนาศักยภาพการแข่งขันในปัจจุบัน เน้นการเสริมสร้างมูลค่าเพิ่มทางด้านความรู้ (knowledge-based) จำเป็นต้องมีการดำเนินยุทธศาสตร์ด้านนวัตกรรมและการวิจัยและพัฒนา การพัฒนาบุคลากร จึงมีความสำคัญที่จะต้องมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ร่วมกับ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้วิจัยและพัฒนา สร้างองค์ความรู้เพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหาร พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในอาหาร เพิ่มมูลค่าวัตถุดิบที่มีอยู่ในประเทศเพื่อใช้ในการผลิตและส่งออก และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เสริมสุขภาพ และปลอดภัยจากสารอันตราย จึงเห็นสมควรจัดประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
2. เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม
3. เพื่อสนับสนุนและเพิ่มขีดความสามารถในการใช้นวัตกรรมในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารชนใหม่ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
4. เพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร
5. เพื่อสร้างความแข็งแกร่งทางวิชาการให้แก่บุคลากรในภาครัฐและภาคอุตสาหกรรมอาหารเพื่อนำไปสู่การสร้างสรรค์นวัตกรรมใหม่ๆ ที่มีคุณภาพและความปลอดภัยสูง

บทที่ 2 วิธีการดำเนินการวิจัย(ปีที่ 2)

2.1 ขอบเขตการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัยบูรณาการภายใต้ "โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหาร สู่โครงสร้างทางเศรษฐกิจยุคใหม่" ประกอบด้วยแผนงานวิจัย 4 แผนงาน และแต่ละแผนงานวิจัยประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อยดังต่อไปนี้

แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

โครงการย่อยที่ 1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

โครงการมีแผนงานวิจัยที่จะต้องดำเนินการในปีงบประมาณ 2551 แบ่งเป็น 5 ส่วนได้แก่

1.) พัฒนาชุดสำเร็จในการตรวจสอบชนิดของข้าวและชนิดของรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอ การปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือ

ในปีงบประมาณ 2551 ได้ดำเนินการ

- การพัฒนาวิธีการอย่างง่ายและมีประสิทธิภาพในการตรวจการปนของข้าว เน้นการ รับรองพันธุ์หอมมะลิ 105 (เพื่อในอนาคตจะเปรียบเทียบสัดส่วนจีโนมของพันธุ์หอมมะลิ 105 กับ internal sps ยีน เริ่มจากการเลือกใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์และมาร์คเกอร์ A15 เพื่อการออกแบบคู่ไพรเมอร์ และประกอบปฏิกิริยาในการวิเคราะห์โดยใช้โมเลกุลดีเอ็นเอเป็นหลักและปรับระบบให้มีความง่ายและสะดวกในการดำเนินการสำหรับการทดสอบปฏิกิริยาที่สังเคราะห์ขึ้น

2.) พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยด้วยอุณหภูมิระนาบเดียวในรูปแบบชุดสำเร็จรูป โดยได้ศึกษาข้อมูลยีน ออกแบบและไพรเมอร์และทดสอบประสิทธิภาพของ ไพรเมอร์ในระบบสำหรับการตรวจ screening GMOs ระบบสำหรับตรวจ bovine species ระบบสำหรับการตรวจการติดเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv citri และระบบสำหรับการตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้จากถั่วลิสงโดยแสดงผลได้ทั้งในรูปการเรืองแสงและการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเคมี ทั้งหมดทดสอบปฏิกิริยาผ่านเกณฑ์ 3 ประการได้แก่ specificity sensitivity และ reproducibility

3.) พัฒนาวิธีการวิเคราะห์บนพื้นฐานการนำไฟฟ้าภายในมวลโมเลกุลในลักษณะดีไวซ์ ศึกษาและพัฒนารูปแบบการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้การจับตัวระหว่าง binder กับ ดีเอ็นเอในระบบตรวจสอบ ศึกษาเงื่อนไขของปฏิกิริยาเพื่อต่อยอดเข้ากับชุดสำเร็จรูปที่พัฒนาขึ้น

4.) พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิง

- เตรียมโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิงตามที่มีรายงานในวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์ด้วยวิธีของ Meyer *et. al.*, 1995 การตรวจสอบรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอ และการตรวจสอบ ตรวจสอบ

ชนิดของข้าวตามข้อ 1.)โคลนชิ้นดีเอ็นเอเข้าสู่ พลาสมิดโดยหลักการ TA cloning คัดเลือกโคลนที่ได้ เพื่อสังเคราะห์เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน

5.) สร้างระบบการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐาน ISO 17025 เริ่มจาก SOP และ worksheet ที่เกี่ยวข้องและรูปแบบการดำเนินการ

โครงการย่อยที่ 1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคท์กรีนและเมตาบอไลต์ลิวโคมาลาไคท์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-Visible

วิเคราะห์โดยเทคนิค LC-MS/MS

วิธีทดลอง

วิเคราะห์โดยเทคนิค LC-MS/MS

<u>เครื่องมือและสภาวะที่เหมาะสม</u>

HPLC: Agilent 1100

Column: Higgins C18, 3x150 mm, 5 □m

Mobile phase: A: 0.05 M Ammonium acetate pH 4.5 B: Acetonitrile

Gradient mode:

Time (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
6	5	95
8	5	95
9	95	5
12	95	5

Injection volume: 25 µL

Flow rate: 800 µL/min, split 275:525

Column temperature: 40°C

Mass spectrometer: API 3000 (Triple quadrupoles mass spectrometer)

Scan type: MRM

Polarity: positive

Ion source: Turbo spray

Ion pairs: MG 329.3/208.2, 329.3/313.1

LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3

CV (internal standard) 372.2/356.3

วิธีเตรียมตัวอย่าง

ชั่งเนื้อปลา (หรือกุ้ง) สดที่บดแล้ว 2.00±0.01 g ใส่ในขวดแก้วรูปทรงกระบอกขนาด 50 mL เติมตัวทำละลายผสม 1: 3 0.05 M ammonium acetate pH 4.5 : acetonitrile ปริมาตร 8.00 mL นำไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 24000 rpm เป็นเวลา 10 วินาที จำนวน 3 ครั้ง ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์มโดยเผยอบางส่วน นำไปวางในอ่างแก้วกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว ที่บรรจุน้ำ 600 mL นำอ่างทั้งชุดใส่ในเตาอบไมโครเวฟ ให้คลื่นไมโครเวฟที่ 270 watts เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 4400g เป็นเวลา 10 นาที ใช้ปิเปตดูดสารละลายใสมา 4.00 mL ใส่ในขวดอีกใบหนึ่ง นำไปพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 40°C จนแห้ง ปิเปต internal standard CV (100 µg/L) ปริมาตร 50 µL และตัวทำละลาย 1:1 0.05 M ammonium acetate pH 4.5 : acetonitrile ปริมาตร 950 µL ผสมให้เข้ากันดี นำไปกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 µm ลงสู่ขวด HPLC vial

วิธีวิเคราะห์ปริมาณ

วิธีวิเคราะห์คือ standard addition method และ internal standard calibration curve โดยเตรียมชุดตัวอย่างดังนี้

ตัวอย่าง 2.00 g

ตัวอย่าง 2.00 g + 1 µg/kg MG + 1 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 2 µg/kg MG + 2 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 3 µg/kg MG + 3 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 5 µg/kg MG + 5 µg/kg LMG

นำ signal ของชุดตัวอย่างมาสร้าง internal standard calibration curve และหาปริมาณ MG และ LMG ในตัวอย่างจากสมการของ curve

Linear equation: $y = mx + b$

ปริมาณ MG (หรือ LMG) = b/m

ผลการทดลอง

ตัวอย่าง: ปลาแซลมอน

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)	Precision (%RSD)
MG	329.3/313.2	Y=0.02x + -0.00124	0.9991	81.8-115	12.46
	329.3/208.4	Y=0.0669x + -0.00215	0.9996	87.1-108	6.45
LMG	331.3/165.4	Y=0.00758x + 0.000421	0.9858	93.9-112	11.06
	331.3/239.4	Y=0.102x + -0.0169	0.9913	95.9-116	.77

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่าง: ปลาทับทิม

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)
MG	329.3/313.2	Y=0.00966x + -0.000237	0.9579	78.6-103
	329.3/208.4	Y=0.036x + -0.00363	0.9892	68.8-106
LMG	331.3/165.4	Y=0.0207x + -0.00431	0.9917	66.8-122
	331.3/239.4	Y=0.25x + -0.0645	0.9829	83.8-110

ตัวอย่าง: กุ้ง

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)
MG	329.3/313.2	Y=0.0178x + 0.00274	0.9792	83.6-107
	329.3/208.4	Y=0.0618x + 0.0169	0.9805	93.4-103
LMG	331.3/165.4	Y=0.00562x + -0.00287	0.9716	92.5-123
	331.3/239.4	Y=0.00552x + -0.00581	0.9977	93.0-120

วิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC-DAD

<u>เครื่องมือและสภาวะที่เหมาะสม</u>

HPLC: Agilent 1100

Column: Zorbax stable bond C18, 150x4.6 nm, 5 □m

Guard column: Zorbax stable bond C18, 4x4 nm, 5 □m

Column temperature: 30°C

Mobile phase: ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) : acetonitrile

Gradient mode: 50:50 (0.00-7.00 min)

65:35 (7.01-12.50 min)

80:20 (12.11-20.00 min)

Flow rate: 2 mL/min

Detection: Diode array detector (DAD, multiwavelength

618 nm (0.00-7.00 min)

585 nm (7.01-12.00 min)

265 nm (12.01-20.00 min)

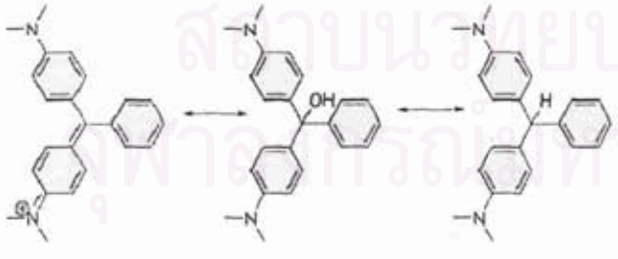
วิธีเตรียมตัวอย่าง

นำเนื้อปลา (หรือกุ้ง)สดบดแล้ว 50.00±0.05 g ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 mL เติมสารละลาย hydroxylamine 25 % ปริมาตร 5 mL สารละลาย p-toluenesulfonic acid 1 M ปริมาตร 0.5 mL และสารละลาย ammonium acetate buffer 0.05 M (pH 4.5) 15 mL แล้วโฮโมจีไนซ์ที่ 10000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เติม acetonitrile 75 mL โฮโมจีไนซ์อีก 1 นาที 3 ครั้ง นำเข้าเตาอบไมโครเวฟที่ 450 watts เป็นเวลา 20 วินาที นำมากรองดูดด้วยกรวยบุคเนอร์โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 ถ่ายสารละลายที่กรองได้ลงสู่ขวดก้นกลมขนาด 250 mL นำไปกลั่นแบบลดความดันที่ 40°C จนสารละลายมีปริมาตรเหลือประมาณ 5 mL ถ่ายสารละลายลงสู่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยสารละลายผสมของ 0.05 M ammonium acetate buffer (pH 4.5) และ acetonitrile (1:1) กรองสารละลายด้วย syringe filter ขนาด 0.45 □m ลงใน HPLC vial

วิธีวิเคราะห์ปริมาณ

จากการค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับสารทั้งสี่เพิ่มเติมพบว่า MG ซึ่งมีสีฟ้า-เขียว หรืออาจเรียก chromatic MG เมื่อเข้าไปอยู่ในเซลล์ของสัตว์น้ำ เช่น ปลา จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป carbinol MG อยู่ที่ผิวนอกของเซลล์ และถูกเปลี่ยนไปเป็น leucomalachite green (LMG) ด้วยเมตะบอลิซึมของปลา รูปต่างๆ ของ MG แสดงในรูปที่ 1

เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค LC-MS พบว่า carbinol MG จะมีค่า retention time เท่ากับ LMG (co-elution) และเมื่อใช้เทคนิค HPLC-UV จะไม่สามารถตรวจวัดแยกจากกันได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายมาตรฐาน MG เมื่ออยู่ในตัวทำละลายที่มี ammonium acetate จะปรากฏ carbinol form อยู่ด้วยเสมอ ปรากฏการณ์เช่นนี้มีผลให้ค่า % recovery ของ MG ต่ำเกินไปและของ LMG สูงเกินไปอยู่เสมอและเกิดในทำนองเดียวกันกับ CV และ LCV ด้วย



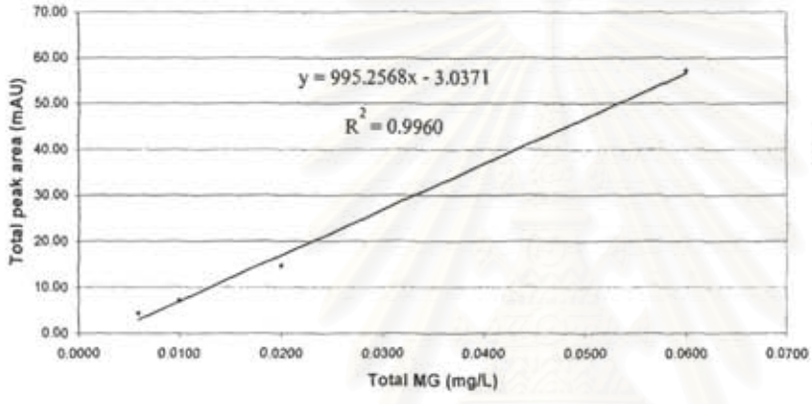
Chromatic MG Carbinol Base Leuco MG

มีสี ไม่มีสี ไม่มีสี

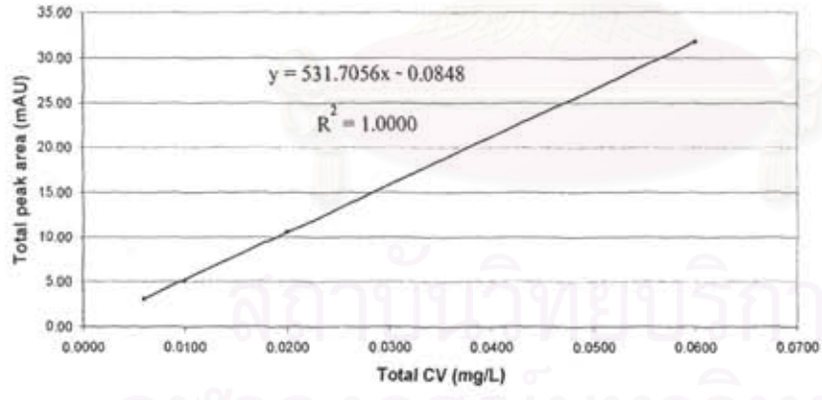
รูปที่ 1 โครงสร้างเมตะบอไลต์ของ MG

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณตกค้างของสารทั้ง 4 จะรายงานผลเป็นปริมาณ total malachite green (total MG) ซึ่งคือปริมาณของ MG รวมกับเมตะบอไลต์ LMG และปริมาณ total crystal violet (total CV) ซึ่งเท่ากับปริมาณ CV รวมกับปริมาณเมตะบอไลต์ LCV ดังนั้นจึงได้ออกแบบการประมวลผลและหาปริมาณในรูปของ total MG และ total CV โดย calibration curve เป็นการพล็อตค่าพื้นที่พีกของ MG และ LMG รวมกัน และค่าพื้นที่พีกของ CV และ LCV รวมกัน กับค่าความเข้มข้นของ MG + LMG หรือ total MG และ CV + LCV หรือ total CV กราฟมาตรฐานทั้ง 2 แสดงดังรูปที่ 2 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานระหว่าง Total MG (mg/L) กับ Total peak area (mAU)

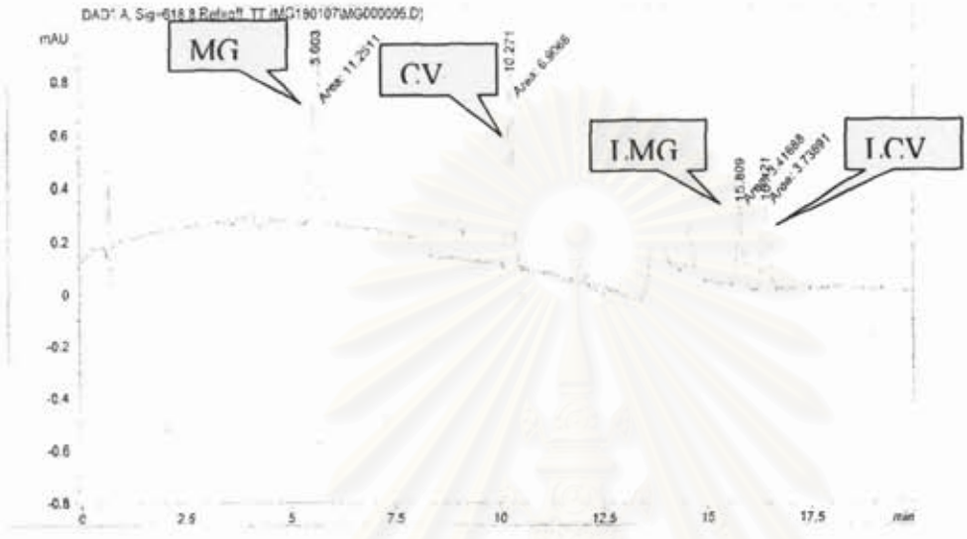


รูปที่ 3 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่าง Total CV (mg/L) กับ Total peak area (mAU)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

จากสภาวะของการทดลองได้โครมาโทแกรมดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ด้วย HPLC ของสารมาตรฐานผสมของ MG, CV, LMG และ LCV ที่ความเข้มข้น 0.010 mg/L

ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

Linearity: $r^2 \geq 0.9900$ (ทั้ง total MG และ total CV)

Linear working concentration range: 0.6 µg/kg – 6 µg/kg (ทั้ง total MG และ total CV)

Limit of detection (LOD): 0.5053 µg/kg สำหรับ total MG

0.4087 µg/kg สำหรับ total CV

Limit of quantitation (LOQ): 1.684 µg/kg สำหรับ total MG

1.362 µg/kg สำหรับ total CV

% recovery (ที่ระดับ 2 µg/kg): 55.95 % ถึง 75.92 %สำหรับ total MG

68.01 % ถึง 104.47 % สำหรับ total CV

% RSD (ที่ระดับ 2 µg/kg) : 4.36 – 9.60 % สำหรับ total MG

1.26 – 6.44 % สำหรับ total CV

ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามที่กำหนดไว้ใน AOAC โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/kg กำหนด %recovery อยู่ในช่วง 40-120% และ % RSD ไม่เกิน 30%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการย่อยที่ 1.3 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

1. วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาและทดสอบมีดังนี้

	การเตรียมตัวอย่าง	การวิเคราะห์	เวลาในการวิเคราะห์ (นาที)	ตัววิเคราะห์
การตรวจวัดเบื้องต้น (screening)				
1) Normal Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	10	ATBC, ESBO, ELO, DBS, DEHS, OA, EA, DEHP, DINP, DINCH, TAC, acPG, Pas
2) Contact-and Collect Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	15	
3) Absorbion Enhancement Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	20	
การวิเคราะห์เชิงปริมาณ				
1) การวิเคราะห์โดยตรง	LLE	GC/FID	45	ATBC, DBS, DEHS, OA, EA, DEHP, DINP, DIDP, DINCH, TAC, acPG, 2-EHA
2) การวิเคราะห์หลังการทำอนุพันธ์	การทำอนุพันธ์, LLE	GC/FID	55	ESBO, Pas

2. ความร่วมมือกับภาครัฐ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นหน่วยงานที่ได้รับการถ่ายทอดวิธี การวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่ได้พัฒนาขึ้น ขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์บริการกำลังดำเนินการประเมินวิธีการวิเคราะห์ (method validaton) และเริ่มเปิดรับบริการตรวจวิเคราะห์ฝาโลหะตัวอย่างให้แก่ภาคเอกชนเร็ว ๆ นี้

3. การเผยแพร่ข้อมูลเรื่องการปนเปื้อน

ได้ดำเนินการจัดทำเวปไซต์เกี่ยวกับการปนเปื้อนบรรจุภัณฑ์ที่ได้ทดลองเผยแพร่อยู่ ณ http://pack.cutip.net/foodcon/

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการย่อยที่ 1.4 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินและไดไฮโดรแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด

	ปี 2					
	เดือนที่					
	2	4	6	8	10	12
1. การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP	←	—	—	—	—	→
1.1 หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก	←	→				
1.2 หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย			←	→		
1.3 ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)					←	→

โครงการย่อยที่ 1.5 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร

1.) ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.) ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงโดยใช้การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมตรี

2.1) ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่วในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง -0.95โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอน พิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

2.2) ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะแคดเมียมในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง -0.9 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้า

คาร์บอนพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

2.3) ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะทองแดงในช่วงศักย์ไฟฟ้า 0 ถึง -0.95โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้า

คาร์บอนพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

2.4) ศึกษาผลของ scan rate ต่อสัญญาณการตรวจวัดของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง

3.) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง พร้อมทั้งตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี

3.1) ศึกษาผลของพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอสและแอลฮีสทีดีนในช่วงพีเอช 6 – 8.5

3.2) ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอสและแอลฮีสทีดีนในช่วง 10 -25 mM

3.3) ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดโลหะทั้งสามด้วยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี

3.4) ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะทั้งสามชนิด

4.) ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)

5.) ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (*Limit of Determination; LOD*) และ ค่าขีดความสามารถ ต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (Limit of Quantitative ; LOQ)

6.) ศึกษาหาความแม่นยำ (*Precision*) และ ความถูกต้อง (*Accuracy*) ในการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง

7.) ศึกษาหาปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ</u>

โครงการย่อยที่ 2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

1) การย่อยด้วยเอนไซม์

a. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
b. จัดหาสารเคมีและวัตถุดิบที่จำเป็น
c. นำ *Aeromonas hydrophila* MOK-1 ที่คัดเลือกสายพันธุ์แล้วว่าสามารถผลิตเอนไซม์ย่อไคตินได้จากดร. รัฐ พิชญางกูร ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาทำการเลี้ยงเพิ่มจำนวนเพื่อนำไปศึกษาต่อ และเก็บเป็น stock เชื้อ
d. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์ของ *Aeromonas hydrophila* MOK-1 หาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ในปริมาณมาก เช่น
    - การใช้แอลฟาและเบต้าไคตินที่ระดับ 0.5, 1, 1.5 และ 2% เป็นแหล่งคาร์บอน

- อุณหภูมิที่ 30 – 50°C

e. หาสภาวะที่เหมาะสมกับการย่อยของเอนไซม์
   - อุณหภูมิที่เหมาะสมแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ 30 – 45°C และ 45 - 60°C
   - พีเอชที่เหมาะสมโดยศึกษาในช่วง pH 3.5 - 8

f. ย่อยไคตินด้วยเอนไซม์ให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลแอมิโนโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ โดยใช้วิธีการหมักแบบครั้งเดียว, แบบกึ่งต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่อง

g. ทำการแยกน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้บริสุทธิ์

h. วิเคราะห์ สรุปผล และเขียนเขียนรายงาน และเตรียมบทความเพื่อลงตีพิมพ์ หรือ จดสิทธิบัตร

2) การย่อยด้วยกรด

a. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

b. จัดหาสารเคมีและวัตถุดิบที่จำเป็น

c. ศึกษาการย่อยไคตินจากเปลือกกุ้งบดขนาด 200 mesh ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (12 M) ที่ระยะเวลาต่างๆกัน โดยใช้โซนิเคเตอร์ช่วย

d. ทำการแยกผลิตภัณฑ์เกลือกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต เปรียบเทียบกับการย่อยโดยไม่ใช้คลื่นโซนิเคเตอร์

e. หา activity ของการย่อยโดยใช้ โซนิเคเตอร์เป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย

f. ศึกษาปัจจัยของอัตราส่วนระหว่างปริมาณไคตินกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นที่มีต่อเปอร์เซนต์ผลผลิตแบบใช้โซนิเคเตอร์

g. หาค่า pH และ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อย

h. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วย HPLC

i. แยกผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วย การตกตะกอน หรือโครมาโทกราฟฟี

j. เขียนรายงาน และเตรียมบทความเพื่อลงตีพิมพ์ หรือ จดสิทธิบัตร

โครงการย่อยที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants)

แผนการดำเนินการวิจัย ประกอบด้วย การหาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท เพื่อการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์ จากนั้นหาภาวการณ์สกัดโดยวิธีเอนไซม์ และศึกษาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ แสดงในตารงที่ 1

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปี 2551											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1) หาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท	←	—	→									
2) หาสภาวะในการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์1	←	—	—	—	—	→						
3) หาภาวะการสกัดโดยวิธีเอนไซม์	←	—	—	—	—	→						
4) หาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←	—	—	—	—	—	→
5) วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←	—	—	—	—	—	→

โครงการย่อยที่ 2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

1.) การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1) ศึกษารูปแบบการเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลวกำหนดสูตร เลี้ยงแบคทีเรียอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield รวมกับวิธีของ Tallgren และคณะ (1998) โดยแปรแหล่งคาร์บอน 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และแลคโตส ติดตามการเจริญของแบคทีเรีย

1.2) ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield ซึ่งมีการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน รวมทั้งปริมาณของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

1.3) หาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 จากนั้นศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเร็วรอบที่เหมาะสม และการเปลี่ยนอุณหภูมิในช่วงการเจริญแบบทวีคูณ

1.4) วิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ สกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 และภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 1.3 โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอล

1.5) ศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ การเตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอลทำซ้ำ 3 รอบ นำพอลิแซ็กคาร์ไรด์ที่ได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding วิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์

1.6) เตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ ด้วยชุดเครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) เพื่อหาชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

2.) การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

2.1) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเซลลูเลส GC220 (Genecor) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสและเอนไซม์บีต้ากลูโคลซิเดสตามวิธีของ Ghose (1987) และ Sternberg (1976) ตามลำดับ นำภาวะที่เหมาะสมมาย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ทำการปรับสภาพจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสตด้วยวิธี DNSA

2.2) ศึกษาการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและไฮโดรไลเสตโดยวิธี Kjeldah คำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

2.3) ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมโดยที่แปรผันแหล่งคาร์บอนได้แก่ กลูโคส แป้งมันสำปะหลัง กากน้ำตาล และไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบ และศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรต และไฮโดรไลเสตของกากถั่วเหลือง กากทานตะวัน และกากงา เมื่อได้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม จากนั้นจึงทำการแปรผันปริมาณที่เหมาะสมต่อไป

2.4) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ในอาหารสูตรดัดแปลง โดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสม ทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่างๆดังนี้ ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

โครงการย่อยที่ 2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

1) การผลิตและสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า

โดยเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว YM จนมีอายุ 18 ชั่วโมง ถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่เหมาะสม ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน นำน้ำเลี้ยงเชื้อ มาปั่นแยกเซลล์ออก ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำน้ำส่วนใสมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตดปริมาตร 1 เท่า นำส่วนล่างมาแยกสกัด 3 ครั้ง แล้วนำส่วนบนมาระเหยเอทิลอะซิเตดออกด้วยเครื่อง evaporator ภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยเมทานอล และล้างด้วยเฮกเซน 2 รอบ เพื่อกำจัดน้ำมันส่วนเกินออกไป นำสารที่ได้มาทดสอบการกระจายน้ำมันและ หาน้ำหนักเซลล์แห้งของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

2) การทำบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีโครมาโตกราฟี

2.1) การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย analytical Thin-Layer Chromatography

2.2) การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย preparative Thin-Layer Chromatography

2.3) การแยกและวิเคราะห์สารด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

3) วิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

3.1) การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีแมสสเปกโตรเมทรี (Liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS)

3.2) การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

4) ลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

4.1) ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.2) ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.3) ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.4) ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.5) ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.6) วัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index)

4.7) เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC)

โครงการย่อยที่ 2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปีที่ 2											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ศึกษาและค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับพริกและงาทั้งด้านการเกษตร เคมี และการประยุกต์ทางอาหาร	◄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	►
2. การสกัดและแยกสารสำคัญจากพริกและงา	◄	┄	►									
3. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญกับสายพันธุ์พริกและงา	◄	┄	┄	►								
4. การศึกษาการใช้ประโยชน์อย่างเต็มศักยภาพจากพริกและงา			◄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	┄	►
5. ศึกษาแนวทางประยุกต์สารสำคัญและ/หรือสิ่งสกัดที่ได้จากพริกและงาในอุตสาหกรรมอาหาร											◄	►
6. สรุปผลและเขียนรายงาน												◄►

โครงการย่อยที่ 2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

วิธีการดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่

1. พัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ โดยเลือกวิธีการเติมเกลือแร่ลงไปโดยตรงในแผ่นฟิล์ม
2. พัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 ขั้นแรกเตรียมมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ที่มีจำนวนชั้นล้อมรอบมากขึ้น เพื่อเพิ่มความเสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วจึงนำไปเตรียมเป็นแผ่นฟิล์ม

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปีที่ 2 (1 ตุลาคม 2550- 30 กันยายน 2551											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
การพัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ โดย - ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ต่อน้ำหนักของพอลิเมอร์ที่เคลือบบนผิวผลไม้ - ศึกษาผลของการเคลือบผลไม้ด้วยฟิล์มชนิดต่างๆต่อลักษณะทางกายภาพของฝรั่ง - การเตรียมฟิล์มที่เติมเกลือแร่								←	—	—	—	→
การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 โดย - เตรียม primary emulsion ของน้ำมันทูนาซึ่งมีโอเมกา-3 เป็นองค์ประกอบที่มีขนาดเล็กลง และการกระจายตัวดีขึ้น - เตรียม secondary emulsion โดยใช้ PDAD และ ไคโตซาน - เตรียมฟิล์มที่มีอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ผสมอยู่	←	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	→

โครงการย่อยที่ 2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

การสกัดและแยกสารสำคัญจากกระชายดำ

1) สกัดกระชายดำด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเมทานอลเพื่อสกัดสารสำคัญจากพืชตัวอย่าง

2) แยกสารสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น คอลัมน์โครมาโทกราฟี โครมาโททรอน หรือ HPLC

3) ทำสารสำคัญให้บริสุทธิ์และตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสำคัญด้วยเทคนิคทาง สเปกโทรสโกปี เช่น IR, NMR, MS, UV-Vis, GC-MS และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

4) การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร **(1-10)** ที่แยกได้จากกระชายดำ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ด้วยวิธี microplate ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) ฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ และฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

5) ศึกษาการสังเคราะห์ฟลาโวนเบื้องต้น **(11-14)** และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ด้วยวิธี microplate

6) วิเคราะห์หาปริมาณสาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ เช่น ผลิตภัณฑ์ ชาชงกระชายดำ (ซอง) ไวน์กระชายดำ เครื่องดื่มกระชายดำ กระชายดำแคปซูล และน้ำกระชายดำ ด้วยเทคนิคทา GC และ HPLC

โครงการย่อยที่ 2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสด โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. พันธุ์มะม่วง ใช้มะม่วง 3 พันธุ์ คือ มะม่วงเขียวมรกต มะม่วงโชคอนันต์ มะม่วงฟ้าลั่น ที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี

2. แหล่งปลูก ใช้มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์สด ที่ปลูกในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดสุพรรณบุรี

3. การแปรรูป ใช้มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์สด และมะม่วงโชคอนันต์ที่ผ่านการดองเค็ม (จากบริษัทผลไม้แปรรูป วรพรจำกัด จังหวัดฉะเชิงเทรา) ที่มีแหล่งปลูกในจังหวัดเชียงใหม่

ตัวอย่างมะม่วงที่ใช้ในงานวิจัยจะควบคุมปัจจัยต่าง ๆ คือ มะม่วงตัวอย่างจะเป็นมะม่วงในระยะเก็บเกี่ยวของแต่ละพันธุ์ (อายุกำลังแก่ ใกล้สุก) และปลูกในพื้นที่ที่เป็นไร่เดียวกัน สารที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ เอทธานอล และ น้ำ

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. การเตรียมเมล็ดมะม่วง

แกะเมล็ดมะม่วงออกจากเปลือกเมล็ดและล้างให้สะอาด หั่น และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C ทิ้งให้เย็นก่อนบรรจุถุงพลาสติกในสภาวะสุญญากาศเก็บที่อุณหภูมิห้อง และก่อนนำไปสกัดสารจะต้องบดเมล็ดมะม่วงด้วยเครื่องบดมูลิเน็กซ์ให้ละเอียดก่อน

2. การสกัดสารจากเมล็ดมะม่วง

สกัดตัวอย่างเมล็ดมะม่วงที่เตรียมแล้วจากข้อ 1 ด้วยเอทธานอล ในอัตราส่วน 1:4(เมล็ดมะม่วงบด 70 กรัม: เอทธานอล 280 มล.) และเขย่าด้วยอัตราเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองสารสกัดด้วยผ้ากรอง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้แรงดันสุญญากาศ นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 68 °C ถ่ายสารสกัดลงขวดสีชา แล้วเป่าไล่ตัวทำละลายที่ตกค้างและอากาศออกด้วยแก๊สไนโตรเจน ชั่งน้ำหนัก และเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -10 °C ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ส่วนสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำ เตรียมโดยสกัดตัวอย่างด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:3 (เมล็ดมะม่วงบด 70 กรัม: น้ำกลั่น 210 มล.) โดยการตีปั่นเป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนละลายด้วยผ้ากรอง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้แรงดันสุญญากาศ และกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 µm และเก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -4 °C ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.) การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากมะม่วง

นำสารสกัดจากข้อ 2 มาศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยตรวจสอบ Minimum inhibition concentration (MIC) และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ต่อไป

3.1) การเตรียมสารสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ละลายสารสกัดเมล็ดมะม่วงด้วยเอทธานอล ด้วยสาร dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยปรับความเข้มข้นเป็น 100 mg/100 ml ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.2) ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ใช้แบคทีเรียมาตรฐานในการทดสอบ 7 ชนิด ชนิดละ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* 25932, *Staphylococcus aureus* 65388, *Bacillus cereus* 6228, *Bacillus cereus* 11778, *Escherichia coli* 25922, *Escherichia coli* 8739, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Choleraesuis ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* , *Clostridium perfringens* 16637 และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบมีเพียงสายพันธุ์เดียว แบคทีเรียมาตรฐานเหล่านี้ได้จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดโดยใช้วิธีการทดสอบแบบ disc agar diffusion assay (Wannissorn และคณะ 1996) โดยการใช้ tetracycline และ chloramphenical เป็น positive control และ DMSO เป็น negative control

ทดสอบโดย spread แบคทีเรียแต่ละชนิดบนอาหาร nutrient agar ยกเว้น *Cl .perfringen* ให้ spread บนอาหาร tryptose sulphite cycloserine agar (TSC agar) จากนั้นจุ่ม sterile paper disc (ขนาด 0.6 cm) ลงในสารที่ใช้ในการทดสอบ และวางลงบนอาหารที่ spread ด้วยแบคทีเรียมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ส่วน *Cl. perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของ clear zone ที่เกิดขึ้นรอบ paper disc หน่วยเป็นเซนติเมตร ทำการทดลอง 2 ซ้ำ หลังจากนั้นตรวจสอบค่า MIC และ MBC ของสารสกัดต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบด้วยวิธี microtitre broth dilution assay (NCCLS, 1995)

3.2.1) การตรวจสอบค่า MIC

ตรวจสอบค่า MIC (NCCLS, 1995) โดยสร้าง standard curve ระหว่าง optical density (วัดที่ 655 nm ด้วยเครื่อง microtitre plate reader , Benchmark) กับ log ของ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml.) ของ *Escherichia coli* 8739 ด้วยการ spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มที่ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง ใช้ standard curve สำหรับการประมาณค่าจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นสำหรับการตรวจสอบค่า MIC และ MBC โดยทดสอบแบคทีเรีย 1 ชนิด 1 สายพันธ์ ต่อ 1 microtitre plate ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เตรียม microtitre plate ดังต่อไปนี้

หลุม ที่ 1-10 ใส่สารสกัดที่เจือจางตามลำดับด้วย broth dilution (nutrient broth) เติม culture ของแบคทีเรียที่มีจำนวนเซลล์ประมาณ $2x10^{4}$ - 10^{5} cell/ml

หลุม ที่ 11 ใส่อาหาร nutrient broth ผสม culture ของแบคทีเรีย

หลุม ที่ 12 ใส่อาหาร nutrient broth อย่างเดียวเป็น blank

สำหรับการทดสอบ *Cl. perfringens* ใช้ thioglycollate broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่ม plate ตัวอย่าง ที่ 37C นาน 24 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ยกเว้น *Cl. perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจผลการทดสอบ โดยการอ่านค่า optical density ด้วยเครื่อง microtitre plate reader แล้วคำนวนหาค่า MIC50 และ MIC90

3.2.2) การตรวจสอบค่า MBC

เลือกตัวอย่างสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้น น้อยกว่าหรือเท่ากับ MIC 50 มา streak ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะเชื้อแบคทีเรียที่นำมาหาค่า MIC ใน microtitre plate ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นจนถึง plate ที่เป็น MIC นำมาลากบนอาหาร PCA ยกเว้น *Cl. perfringens* จะลากบนอาหาร TSC agar แล้วบ่ม plate ที่ 37 ^{0}C นาน 24 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ส่วน *Clostridium perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจผลการเจริญของแบคทีเรีย ถ้าพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเริ่มต้นระดับความเข้มข้นใด ที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย ให้สรุปว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชนั้นเป็น ค่า MBC

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงต่อการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดทุกครั้งจะใช้สารปฏิชีวนะ tetracycline เป็น positive control และใช้ DMSO เป็น negative control

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร</u>

โครงการย่อยที่ 3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

การวิจัยในโครงการสำหรับปีงบประมาณนี้ ต่อยอดจากการ การศึกษาตัวระบบ รูปแบบฐานข้อมูลที่พัฒนาขึ้นในต่างประเทศจากปีงบประมาณที่แล้ว เน้นการดำเนินการเชิงเปรียบเทียบเพื่อใช้เป็นแบบอย่างในการดึงเฉพาะรูปแบบที่ดีมาใช้ หรือหลีกเลี่ยงข้อเสียต่างๆที่พบ ซึ่งจะยังประโยชน์ต่อการวางรูปแบบและแนวทางการดำเนินการที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต้นแบบ วางแนวทางและออกแบบ สำรวจรายการระเบียนข้อมูลที่มีความจำเป็น เช่น เอกสารกำกับ วัตถุดิบ ใบรับรอง ข้อมูลแหล่งกำเนิดสินค้า และข้อควรระวังเป็นรายผลิตภัณฑ์ และการปรับรูปแบบเพื่อนำระบบ QR code มาใช้พัฒนา รายละเอียดการดำเนินงานเป็นดังนี้

1) การสร้างฐานข้อมูลและเชื่อมโยงข้อมูลในระบบ 2 มิติ รวบรวมข้อมูลจากกองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข ทำทะเบียนข้อมูลโดยเก็บข้อมูลในรูป excel file ทั้งหมด 7,314 รายการ ปรับฐานข้อมูลโดยการเปลี่ยน file ให้อยู่ในรูป Php ทีละรายการ โดยใช้โปรแกรม Php Myadmin™ จากนั้นกำหนด domain address ของแต่ละรายการข้อมูลทั้งหมด 7,314 ข้อมูล แปลงข้อมูลทีละรายการให้อยู่ในรูป รหัส QR ผ่าน QR generator (www. com) และนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างให้อยู่ในรูป web

base โดยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3 สร้างรูปแบบ interactive ผ่านระบบ web จากนั้นเชื่อมโยงข้อมูลให้สามารถสืบค้นได้บนเวปไซต์ (online)

2) สร้าง QR code สำหรับสินค้าและทดสอบการอ่านค่าของข้อมูลผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ สร้าง QR code โดยการพิมพ์สัญลักษณ์และทดสอบการอ่านค่าของ QR code ผ่านทางโทรศัพท์มือถือ

3) ทดสอบการใช้งานผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ณ จุดจำหน่ายสินค้าโดยตรง โดยการเชื่อมโทรศัพท์กับตัวรหัสผ่านโปรแกรม Kaywa.reader

โครงการย่อยที่ 3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

1) สร้างระบบ traceability รองรับสำหรับการตรวจรับรองภาวะปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม

2) สร้างรูปแบบการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจดีเอ็นเอ

3) สร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลตัวอย่างการวิเคราะห์และผลการวิเคราะห์สู่เครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์เพื่อการอ้างอิงและรับรองภาวะปลอดการดัดแปรพันธุกรรม

4) เชื่อมโยงระบบตรวจสอบทั้งหมด และดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเชื่อมโยงกับผู้ประกอบการประเมินผลและและเปิดเป็นโครงข่าย internet สู่การ access จริง

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 4 การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร</u>

จัดประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหารแก่บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อการส่งออกและจำหน่ายในประเทศ นักวิเคราะห์อาหารในห้องปฏิบัติการ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน

1. หาข้อมูลรายชื่อหน่วยงานและผู้ประกอบการอาหาร นักวิเคราะห์ นักวิชาการ
2. จัดทำเอกสารประชาสัมพันธ์ การจัดประชุม
3. เตรียมการเรื่องสถานที่
4. เตรียมการเรื่องจัดทำ Poster แสดง
5. จัดประชุมเผยแพร่โดยการบรรยายและแสดงด้วยโปสเตอร์
6. ประเมินผลโดยจัดให้ผู้เข้าร่วมประชุมตอบแบบสอบถาม

<u>รูปแบบการประชุมเผยแพร่</u>

- การบรรยายโดยวิทยากรพิเศษและหัวโครงการย่อย และเปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมสัมมนาได้แสดงความคิดเห็นและแลกเปลี่ยนประสบการณ์ในประเด็นต่างๆ

<u>วิทยากร</u>

- ผู้เชี่ยวชาญด้านความปลอดภัยของอาหาร การวิเคราะห์และตรวจสอบอาหาร และอุตสาหกรรมอาหาร

- นักวิจัยในโครงการบูรณาการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุค

<u>สถานที่จัดประชุมเผยแพร่</u>

- ครั้งที่ 1 ห้องประชุมชั้น 2 อาคารอัญมณีและตรวจสอบอัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ครั้งที่ 2 ห้องประชุมของภาควิชาเคมี(ห้อง 100 ปี ศาสตราจารย์ ดร.แถบ นีละนิธิ) ชั้น 11 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ครั้งที่ 3 ห้องประชุมของภาควิชาเคมี(ห้อง 100 ปี ศาสตราจารย์ ดร.แถบ นีละนิธิ) ชั้น 11 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ครั้งที่ 4 ห้องประชุมชั้น 2 อาคารอัญมณีและตรวจสอบอัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ระยะเวลาดำเนินโครงการ</u>

- ครั้งที่ 1 วันที่ 21-22, 27 ตุลาคม 2551
- ครั้งที่ 2 วันที่ 17-18 ธันวาคม 2552
- ครั้งที่ 3 วันที่ 25 พฤษภาคม 2552
- ครั้งที่ 4 วันที่ 30 มิถุนายน-1 กรกฎาคม 2552

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 สรุปกิจกรรมการดำเนินการวิจัย

การดำเนินงานในปีที่ 1 (2550) ของแต่ละโครงการย่อยเป็นไปตามแผนงาน โดยได้ดำเนินการในหัวข้อที่ระบุไว้ในตารางที่ 1(รายละเอียดที่ดำเนินการไปแล้วสำหรับแต่ละโครงการวิจัยย่อย แสดงไว้ในเอกสารแนบจำนวน 16 โครงการฯ

ตารางที่ 1 สรุปกิจกรรมการดำเนินการวิจัยในปีที่ 2(2551)

โครงการ	กิจกรรม/ขั้นตอนในการดำเนินงานของ ปีที่ 2(2551)
1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป	1. พัฒนาวิธีการตรวจสอบชนิดของข้าว และรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ต่อตามแผน รวมถึงทดสอบประเมินผลวิธีที่พัฒนาขึ้น 2. พัฒนาระบบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้ครอบคลุมการตรวจการปนของเนื้อ การปนของพันธุ์ข้าว และของรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอไม่น้อยกว่าอย่างละระบบและทดสอบระบบที่พัฒนาขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับแผนการปฏิบัติงานที่ได้วางไว้ในปีงบประมาณ 2551 3. พัฒนาไมเลกุลอ้างอิงให้สอดคล้องกับเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาที่ควบคุมอุณหภูมิระนาบเดียว (LAMP)
1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีน และเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-VISIBLE	1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยใช้มาตรฐาน 2. ออกแบบสารตัวอย่างการสกัดและการคลีนอัพ
1.3 การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลา	1. หาภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะหนัก 2. ศึกษาอิทธิพลที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะหนัก
1.4 การพัฒนาการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร	ประเมินและเลือกกลุ่มสารปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์ PVC ที่มีอันตรายต่อผู้บริโภค(PVC, อาหาร ไมโครเวฟ) 1. เลือกประเภทอาหารที่บรรจุในผลิตภัณฑ์ PVC-2 ชนิด 2. พัฒนาวิธีการสกัดสารปนเปื้อนกลุ่มนี้จากเมทริกอาหาร- 2 วิธี 3. พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารปนเปื้อน
1.5 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด	1. หาภาวะของ CE แบบ MEEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 2. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validation of method)
1.6 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับ ตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร	1. ศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าและสัญญาคอบสนองของสารมาตรฐานในกลุ่มซัลฟา และโลหะหนักโดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า 2. ศึกษาภาวะที่เหมาะสม ของวิธี โวลแทมเมทรี และแอมเพอโรเมทรี สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ
2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล	1. หาค่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อย 2. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วย HPLC 3. หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณไคตินต่อเอนไซม์ 4. หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคติน 5. แยกผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์
2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีสารหน้าที่เฉพาะ	1. คัดเลือกผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีศักยภาพ 2.หาสภาวะในการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามลักษณะเฉพาะของ

	ผลิตภัณฑ์ 3. หาสภาวการณ์สกัดโดยวิธีเอนไซม์และวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่ได้ 4. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 5.เลือกและกำหนดกรรมวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ตามชนิดผลไม้ 6. วิเคราะห์ และติดตามสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้อ 5
2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	1. เก็บตัวอย่างและแยกจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิเมอร์และจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์
2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	1. ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม	1. การสกัดและแยกสาระสำคัญจากพริกและงา 2.การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาระสำคัญกับสายพันธุ์พริกและงา 3. การศึกษาการใช้ประโยชน์อย่างเต็มศักยภาพจากพริกและงา
2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ	1. จัดซื้อสารเคมี 2. คัดเลือกชนิดเกลือแร่และวิตามินที่เหมาะสม 3. คัดเลือกวิธีการเตรียมฟิล์มหรืออนุภาคนาโนพอลิเมอร์ที่เหมาะสม 4. พัฒนาวิธีการเติมเกลือแร่และวิตามินลงในฟิล์ม
2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ	1. แยกสาระสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคทางโครมาโทรกราฟี 2. ทำสาระสำคัญให้บริสุทธิ์และตรวจสอบเอกลักษณ์ของสาระสำคัญด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี
2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง	1.ศึกษาและค้นคว้า รวบรวมข้อมูลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค 2. ศึกษาวิธีการสกัดสาร 3.ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษในอาหาร 7 ชนิด 4. สรุปผลและเผยแพร่ผลงานวิจัย
3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร:โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	1. ออกแบบฐานข้อมูลและสร้างระบบ 2. เชื่อมโยงระบบและผลิตภัณฑ์
3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปลพันธุกรรมออนไลน์	1.สร้างระบบเทคโนโลยีสารสนเทศ - การศึกษาระบบในต่างประเทศ - วิเคราะห์ปัจจัยความพร้อมและ ลักษณะการดำเนินการ
4. การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร	1. จัดทำเอกสารประชาสัมพันธ์ การจัดประชุม 2. เตรียมการเรื่องสถานที่ 3. เตรียมการเรื่องจัดทำ Poster แสดง 4. จัดประชุมเผยแพร่โดยการบรรยายและแสดงด้วยโปสเตอร์

บทที่ 3 ผลการวิจัย

3.1 ผลการวิจัยย่อยแต่ละโครงการย่อย

I แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

โครงการย่อยที่ 1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

โครงการนี้อาศัยข้อได้เปรียบในการตรวจด้วยโมเลกุลดีเอ็นเอ มาใช้ในการพัฒนาการตรวจบนพื้นฐานเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เริ่มตั้งแต่การสกัดดีเอ็นเอที่ง่ายและเร็ว การเพิ่มดีเอ็นเอรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า isothermal DNA amplification และการตรวจด้วยคุณสมบัติทางไฟฟ้าเคมีทำให้การตรวจสามารถดำเนินการได้ในภาคสนาม ไม่พึ่งพาห้องปฏิบัติการ ตอบหลักการ point of care เน้นการปนชนิดพันธุ์ การตรวจการปนของ GMOs การปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือเพื่อเป็นโมเดลสำเร็จรูปเริ่มต้นและผลในรูปชุดสำเร็จ นอกจากนี้ยังเน้นการสร้างโมเลกุลมาตรฐานเพื่อทดแทนการใช้ Certified Referance Materials ที่มีราคาแพงและการวางระบบเพื่อการทำงาน การตรวจวิเคราะห์สอดคล้องกับหลักสากล

ผลการดำเนินงานได้พัฒนาวิธีตรวจสอบความแท้ของข้าวพันธุ์หอมมะลิ105 โดยวิธีอยู่บนพื้นฐานของการออกแบบระบบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจำเพาะต่อชนิดดีเอ็นเอ A15 ที่ได้หลังการโคลนและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ การตรวจสอบบนพื้นฐานของเทคนิค PCR จะใช้แยกพันธุ์หอมมะลิ105 และปทุมธานี 1 ออกจากกันขณะเดียวกันหากตรวจสอบผ่านระบบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียว จะเฉพาะเจาะจงต่อพันธุ์ข้าวหอมมะลิ105

ในส่วนของการพัฒนาชุดทดสอบ โครงการได้นำหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียวมาใช้เป็นกลไกในการเพิ่มสัญญาณดีเอ็นเอ และพัฒนาต่อยอดในรูปชุดตรวจสำเร็จรูป ครอบคลุมการตรวจดังนี้

- การตรวจ GMOs แบบ screening พัฒนาบนพื้นฐานของการตรวจไปที่ 35S promoter element ชุดทดสอบดังกล่าวจำเพาะต่อข้าวโพด E176 ถั่วเหลืองGTS 40-3-2
- การตรวจ bovine species พัฒนาบนพื้นฐาน การตรวจชิ้นยีน bovine parathyroid ยีน ยีนชุดดังกล่าวเหมาะสมกับการตรวจการปนของ bovine ในอาหารสัตว์
- การตรวจการติดเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv citri (Xac I) พัฒนาบนพื้นฐานของยีน rpf gene ซึ่งให้ความจำเพาะต่อ Xac I
- การตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้จากถั่วลิสง บนพื้นฐานของยีน Ara h*I*

ทุกชุดตรวจสำเร็จรูปที่พัฒนาขึ้น ผ่านการทดสอบตามเกณฑ์สากล 3 อย่าง คือ ทดสอบ specificity sensitivity และ reproducibility ชุดทดสอบสามารถนำไปใช้งานต่อยอดในการตรวจได้ทั้งการตรวจสอบการเรืองแสงและการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้า

ในส่วนของการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์บนพื้นฐานการทำปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีในรูปดีไวซ์ ได้ศึกษาเงื่อนไขหลักของปฏิกิริยา ทั้งอุณหภูมิ ความเข้มข้นของ DNA binder และรูปแบบในการวัดเปรียบเทียบทั้งระบบที่ดำเนินการโดย PCR และระบบที่ดำเนินการโดยเทคนิค isothermal DNA amplification นอกจากนี้ยังได้นำ DNA stick มาประยุกต์ใช้ ทำให้การตรวจวัดกับระบบการเพิ่มปริมาณอันใหม่นี้ ทำได้รวดเร็วขึ้น

ในส่วนของโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิง ได้ดำเนินการเสร็จสิ้นในปีงบประมาณ 2550 แล้ว ดังนั้นในปีงบประมาณ 2551 จึงดำเนินการเพิ่มเติมเฉพาะในส่วนที่ใช้ประกอบกับชุด kit ได้แก่ โมเลกุลอ้างอิงสำหรับการตรวจการปนของถั่วลิสง การปนของข้าว และการตรวจสอบการติดเชื้อของ canker

การดำเนินการข้างต้นทำให้โครงการมีผลงานเผยแพร่ทั้งหมดดังนี้

1. Piyasak Chaumpluk. 2008. Simple and Rapid Detection of Trace Amounts of Peanut in Foods Based on *Ala h1* Gene Using Loop-mediated Isothermal DNA Amplification and Electrochemical DNA Sensor. Pure and Applied Chemistry International Conference 2008 (PACCON2008) 30 Jan -3 Feb 2008. Sofitel Centara Grand Bangkok.

2. ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ และเออิชิ ทามิย่า. 2551.ดีเอ็นเอสติ๊คสำหรับการตรวจชนิดของเนื้อสัตว์และรับรองความถูกต้อง. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

3. ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ ณัฐพร อุดมพงษ์ พีระศักดิ์ ฉายประสาท และเออิชิ ทามิย่า . 2551.การตรวจวิเคราะห์แคงเกอร์(*Xanthomonas axonopodis* pv citri)อย่างง่ายและรวดเร็วสำหรับสมโอส่งออก. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

4. วรุณ สุวรรณกิตติ ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ และเออิชิ ทามิย่า. 2551. การตรวจวิเคราะห์โมเลกุลภูมิแพ้ที่มีแหล่งกำเนิดจากธัญพืชในอาหารที่ง่ายและรวดเร็ว. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

5. ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ วรุณ สุวรรณกิตติ. 2551. การตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้ที่มีแหล่งกำเนิดจากไม้ผลบางชนิดด้วยเทคนิคไบโอเซ็นเซอร์. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

และส่วนหนึ่งของข้อมูลงาน meat species detection มาประกอบการตีพิมพ์ในผลงาน

Boonjira Boontha, Jeerawat Nakkuntod, Nattiya Hirankarn, Piyasak Chaumpluk, and Tirayut Vilaivan. 2008. Multiplex Mass Spectrometric Genotyping of Single Nucleotide Polymorphisms Employing Pyrrolidinyl Peptide Nucleic Acid in Combination with Ion-Exchange Capture. *Anal. Chem.*. 80 (21), 8178-8186.

ผลงานของโครงการวิจัยส่วนหนึ่งช่วยผลิตนักศึกษาจบการศึกษา 1 คน ได้แก่

นายวรุณ สุวรรณกิตติ. 2551. ELECTROCHEMICAL GENESENSOR BASED ON DNA SEQUENCES FOR THE DETECTION OF ALLERGENIC FOODS OF PLANT ORIGIN. Master Thesis, Faculty of Science, Chulalongkorn University

นอกจากนี้ผลสัมฤทธิ์ของโครงการได้รับการถ่ายทอดโดยผู้ประกอบการผ่านการจัดงานสัมมนาร่วมกับผู้ประกอบการภาคเอกชนในเรื่องดีเอ็นเอกับ point of care test ในอุตสาหกรรมอาหาร วันศุกร์ที่ 25 กรกฎาคม 2551 เวลา 8.30-16.00 ณ ห้องบรรยายพิเศษ 1002/4 ชั้น 10 และ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีผู้เข้าร่วมจากภาคเอกชน 23 คน

สำหรับระบบการตรวจวิเคราะห์และการดำเนินการตาม worksheet ได้ประกอบใช้ในการอบรมและปัจจุบันได้นำไปใช้งานจริงในการตรวจวิเคราะห์ร่วมกับห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการย่อยที่ 1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคท์กรีนและเมตาบอไลต์ลิวโคมาลาไคท์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-Visible

1.) เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนที่มีการเสนอมาก่อนหน้านี้ในวารสารวิจัยต่างๆ ยังได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ในงานวิจัยนี้ได้เสนอ "การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS" ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำสูง วิธีเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและรวดเร็วขึ้น และวิธีการหาปริมาณที่ง่ายและรวดเร็วขึ้น และวิธีการหาปริมาณที่กำจัดการรบกวนของเมทริกซ์

2.) งานวิจัยนี้ได้พัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค HPLC-UV-VISIBLE ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารโดยทั่วไป โดยพัฒนาการเตรียมตัวอย่างให้สามารถวิเคราะห์ได้ในระดับ MRPL 2 µg/kg และวิธีการหาปริมาณที่เพิ่มความแม่นยำโดยการคำนึงถึงการรบกวนจากเมทริกซ์

3.) การตีพิมพ์งานวิจัยในข้อ 1 และ ข้อ 2 ในวารสารวิจัยเพื่อเผยแพร่ต่อไป

โครงการย่อยที่ 1.3 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

2. วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาและทดสอบมีดังนี้

	การเตรียมตัวอย่าง	การวิเคราะห์	เวลาในการวิเคราะห์ (นาที)	ตัววิเคราะห์
การตรวจวัดเบื้องต้น (screening)				
1) Normal Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	10	ATBC, ESBO, ELO, DBS, DEHS, OA, EA, DEHP, DINP, DINCH, TAC, acPG, Pas
2) Contact-and Collect Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	15	
3) Absortion Enhancement Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	20	
การวิเคราะห์เชิงปริมาณ				
1) การวิเคราะห์โดยตรง	LLE	GC/FID	45	ATBC, DBS, DEHS, OA, EA, DEHP, DINP, DIDP, DINCH, TAC, acPG, 2-EHA
2) การวิเคราะห์หลังการทำอนุพันธ์	การทำอนุพันธ์, LLE	GC/FID	55	ESBO, Pas

3. ความร่วมมือกับภาครัฐ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นหน่วยงานที่ได้รับการถ่ายทอดวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่ได้พัฒนาขึ้น ขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์บริการกำลังดำเนินการประเมินวิธีการวิเคราะห์ (method validaton) และเริ่มเปิดรับบริการตรวจวิเคราะห์ฝาโลหะตัวอย่างให้แก่ภาคเอกชนเร็ว ๆ นี้

4. การเผยแพร่ข้อมูลเรื่องการปนเปื้อน

ได้ดำเนินการจัดทำเวปไซต์เกี่ยวกับการปนเปื้อนบรรจุภัณฑ์ที่ได้ทดลองเผยแพร่อยู่ ณ http://pack.cutip.net/foodcon/

โครงการย่อยที่ 1.4 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินและไดไฮโดรแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด

ซอสพริกมีลักษณะเป็นของเหลวข้น มีส่วนประกอบเป็น กระเทียม น้ำตาล เกลือ น้ำส้มสายชู (กรดแอซิติกและน้ำ) น้ำ และพริก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำประมาณ 20-50 เปอร์เซ็นต์ (คิดจากน้ำ+น้ำส้มสายชู) เพื่อความปลอดภัยทางอาหาร สหภาพยุโรป (European Commission) แนะนำว่าในซอสพริกควรมี CAPs ไม่เกิน 50 ppm (mg/kg) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริกสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1

ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการสกัดซอสพริกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดและผลของการเติมเกลือ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของเอทิลอะซิเตต (EtOAc) และอะซิโตไนไทรล์ (ACN) ทั้งแบบที่

เติมเกลือและไม่เติมเกลือ โดยใช้ซอสพริกเตรียมที่มี CAPs 50 และ 100 ppm (μg/g) และตัวอย่างซอสพริกจริง (S1-h45 และ S6-x30) อย่างละ 3 ชุด พบว่าการสกัดตัวอย่างด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ ให้ประสิทธิภาพในการสกัด CAPs ดีกว่าการสกัดด้วย ACN เนื่องจาก ACN เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำ ในขณะที่ EtOAc เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำและไม่มีขั้วมากกว่า ACN ส่วน CAPs เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อยมาก จึงละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่า ดังนั้นการสกัด CAPs จากซอสพริกด้วย EtOAc จึงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า และการเติมเกลือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากผลของ salting-out effect และช่วยแยกชั้นน้ำออกจากตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น

ในการศึกษาหาปริมาณเกลือที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs 100 ppm และซอสพริกจริง S1-h45 เป็นตัวอย่างทดสอบ พบว่าปริมาณของเกลือที่เติมลงไป 0.5 เท่าของน้ำหนัก สารตัวอย่าง (เติม anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) ก็เพียงพอสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส 2.5 กรัม และได้ทำการสกัดซอสพริกจริงซ้ำ 2 ครั้งเทียบกับการสกัด 1 ครั้ง พบว่าการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง ด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ (0.5 เท่าของน้ำหนักซอสพริกจริง) ได้ปริมาณ CAPs เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น (เพิ่มน้อยกว่า 4% สำหรับตัวอย่างซอสพริก S1-h45 และ เพิ่มน้อยกว่า 2% สำหรับ ตัวอย่างซอสพริก S6-x30) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสกัดซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อความสะดวกและประหยัดเวลา

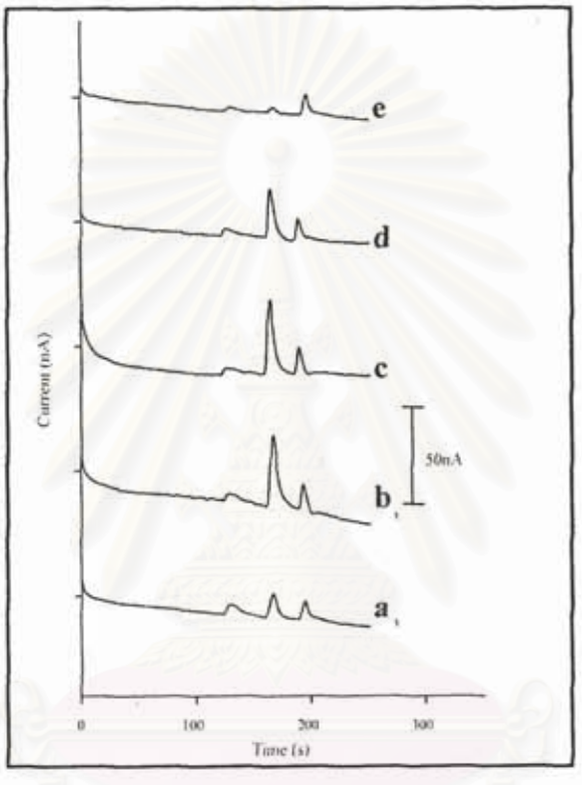
ดังนั้นภาวะการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์ CAPs ในตัวอย่างซอสพริกที่ได้พัฒนาขึ้นคือ สกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง

จากการตรวจสอบความเที่ยงของวิธีการสกัดซอสพริก ได้ทำการหาความเที่ยงของการสกัดภายในวัน (intraday precision, n = 5 batch) และต่างวันกัน (interday precision, n = 5 วัน โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs ที่ความเข้มข้น 20, 50 และ 100 ppm พบว่า %RSD ของ %Recovery ที่วิเคราะห์ได้แต่ละวันน้อยกว่า 3.7% และ %RSD ของค่าเฉลี่ย %Recovery ทั้ง 5 วัน (n = 25) น้อยกว่า 2.5% เช่นกัน แสดงว่ามีความเที่ยงสูงของการสกัดภายในวันและต่างวัน และ %Recovery โดยรวมอยู่ในช่วง 96-105% แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดสูง

จากการประยุกต์เทคนิค MEKC สำหรับปริมาณวิเคราะห์ของ CAPs ในซอสพริกจริงตัวอย่าง โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีปริมาณ CAPs ในช่วง 21-128 ppm โดยที่ 3 ตัวอย่างมีปริมาณ CAPs มากกว่า 50 ppm ซึ่งเกินปริมาณจำกัด นอกจากนี้ปริมาณ CAPs ที่วิเคราะห์ได้จากต่างยี่ห้อกันไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณพริกที่ระบุไว้ในซอสพริก และระดับความเผ็ดที่ระบุไว้ ดังนั้น MEKC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนี้ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริก เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

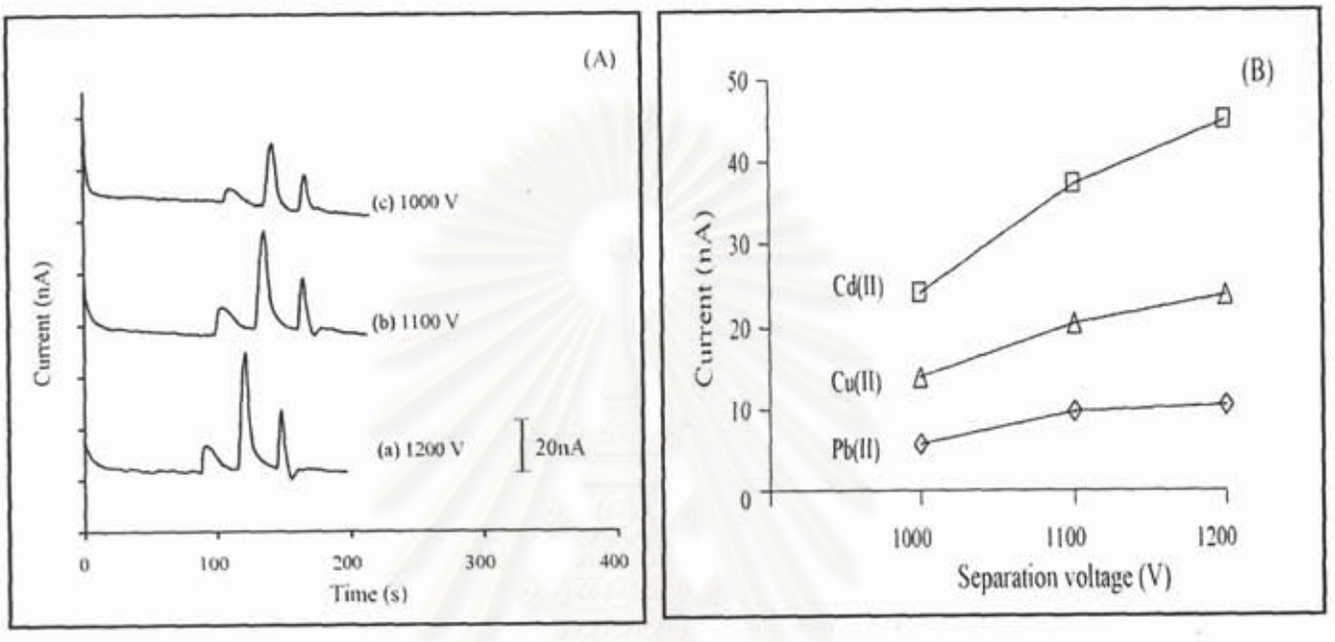
โครงการย่อยที่ 1.5 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร

1. ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง ด้วยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี



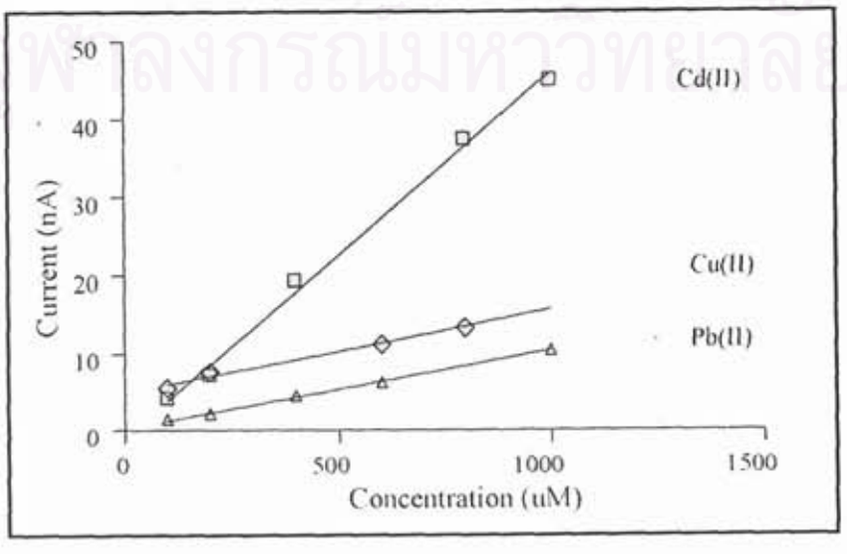
รูปที่ 1 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของ 1.0 มิลลิโมลาร์ของโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดงที่ค่าศักย์ไฟฟ้าตรวจวัดต่าง ๆ (a) -0.90 โวลต์ (b) -0.85 โวลต์ (c) -0.80 โวลต์ (d) -0.75 โวลต์ และ (e) -0.70 โวลต์ ที่สารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส 25 มิลลิโมลาร์และแอลฮีสทีดีน พีเอส 7.0 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยก 1000 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

2. ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดง ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะทั้งสามที่ 1200 โวลต์



รูปที่ 2 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดงที่ศักย์ไฟฟ้าการแยกต่างๆ กัน (A) แสดงความสัมพันธ์ของสัญญาณการตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้าที่ (a) 1200 โวลต์ (b) 1100 โวลต์ (c) 1000 โวลต์ กับเวลา (B)) แสดงความสัมพันธ์ของสัญญาณการตรวจวัดกับศักย์ไฟฟ้าการแยก

3. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับความเข้มข้นของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และ ทองแดงที่สารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส 25 มิลลิโมลาร์และแอลฮีสทีดีน พีเอส 7.0 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยก 1200 โวลต์ ศักย์ไฟฟ้าตรวจวัด -0.8 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

II แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ

โครงการย่อยที่ 2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

1) การย่อยด้วยเอนไซม์

เอนไซม์จากรา *Aspergillus fumigatus* (4 U/1 g of chitin) สามารถย่อยไคติน (3% w/v) ที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเปอร์เซนต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน

การย่อยไคติน (3% w/v) ด้วยเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* (1 U/1 g of chitin) ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่มเป็นเวลา 6 วันให้ผลิตภัณฑ์เป็น $(GlcNAc)_2$ และ GlcNAc ด้วยเปอร์เซนต์ผลิตภัณฑ์ 43% และ 2.6% หลังจากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยขบวนการที่พัฒนาแล้วความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้สูง

2) การย่อยด้วยกรด

การย่อยไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยการใช้และไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิคเพื่อให้ได้เกลือกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการเตรียมเกลือ GlcNHCl คืออัตราส่วนไคตินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:1 (w/w)

โครงการย่อยที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants)

ในแต่ละโครงการย่อยมีข้อสรุปดังนี้

- โครงการย่อยที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกลิ่นของใบเตยหอม (Pandanus amaryllifolius) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีเขียวของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ในใบเตย โดยวิธี metallochlorophyll complexes คือ ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 4-6 ความเข้มข้นของ $ZnCl_2$ 400 ppm และ อุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 110 °C นาน 15 นาที
- โครงการย่อยที่ 2 กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอม(Musa acuminate L.) เพื่อเป็นอาหารหน้าที่เฉพาะ พบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอมเพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ โดยใช้เอนไซม์เพคติเนสทางการค้า คือ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 % ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยา 3 ชั่วโมง จะได้ไซรัปกล้วยหอมที่สีเหลืองนวล มีกลิ่นหอมชัดเจน มีเสถียรภาพสูง

- โครงการย่อยที่ 3 ผลของการสกัดเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง(Psidium guajava L.) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปไวรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ด้วยเพคติเนส(Pectinex® Ultra SP-L) คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 300 นาที ที่อุณหภูมิ 35 °C
- โครงการย่อยที่ 4 การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม(Aegle marmel L.) พบว่า การแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์เพกทิเนส(Pectinex® Ultra SP-L) ที่ความเข้มข้น 2.5%(v/w) ไซรัปมะตูมที่เวลาการย่อย 2 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นๆ โดยมีพฤติกรรมการไหล แบบ thinxotropic โดยเมื่อระยะเวลาการย่อยมากขึ้น ไซรัปจะมีค่า yield stress(τ_o) และ flow behavior index (n) มากขึ้น แต่มีค่า consistency coefficient(K) และ apparent viscosity (η) ที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} ลดลง
- โครงการย่อยที่ 5 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเสทของมะม่วงน้ำคอกไม Mangifera indica L พบว่า ภาวะที่อิมัลชันคงตัว คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 300 นาที และ 1.0% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 90 นาที
- โครงการย่อยที่ 6 การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส Ziziphus mauritiana Lam. พบว่า สมบัติเชิงหน้าที่ของมิวซิเลจผงที่ได้จากพุทราสามรส โดยนำมาเปรียบเทียบกับกัวกัม และแซนกัม จากการวัดค่าสีพบว่ามิวซิเลจผงมีค่าความสว่างสูงกว่ากัวกัมแต่ต่ำ กว่าแซนแทนกัม ความสามารในการอุ้มน้ำของมิวซิเลจผงมีค่าเท่ากับ 73.35 กรัมน้ำ/กรัมตัวอย่างแห้ง
- โครงการย่อยที่ 7 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง Hylocereus polyrhizus(Weber) Britton & Rose พบว่า วัตถุดิบแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง มีค่าแอกทิวิตีของสารต้านออกซิเดชัน เท่ากับ 2.66 และ 1.94 μg/μg DPPH และค่า reducing sugar 36.38 และ 23.48 mg glucose/g ตามลำดับ ปริมาณกรดทั้งหมด 0.30 และ 0.09 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เป็น 6.37 และ 2.20 °Brix ตามลำดับ เป็นภาวะที่เหมาะสมของวัตถุดิบ
- โครงการย่อยที่ 8 การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป Cucumis melo var. cantalupensis พันธุ์ซันเลดี้ด้วยเอนไซม์ พบว่า แคนตาลูป เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เป็นระยะที่เหมาสมสำหรับเลือกใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารหน้าที่เฉพาะ เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดทั้งในส่วนเนื่อและส่วนเปลือก

โครงการย่อยที่ 2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

1. การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตร Bromfield โดยใช้ 4% ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที จุลินทรีย์แสดงการเจริญที่เข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) โดยทันทีและเข้าสู่ระยะ stationary ใน 18 ช.ม. การเจริญของเซลล์เมื่อติดตามโดย O.D. 550 nm และน้ำหนักแห้งให้รูปแบบที่เทียบเคียงกันได้ สำหรับผลผลิตของพอลิเมอร์นั้นพบว่าสอดคล้องกับการเจริญโดยพบร่วมกับกรเจริญและให้ผลผลิตสูงสุดที่ระยะ Late log ถึง stationary จากนั้นค่อย ๆ ลดลง เมื่อผันแปรปริมาณซูโครสที่ใช้จาก 0-5% พบว่าที่ 2-4% ให้ผลผลิตระหว่าง 7.0-7.45 ที่เวลาการเลี้ยง 12 ช.ม. แต่หากให้เป็น 5% จะได้ผลผลิต 7.4 g/l ที่เวลาการเลี้ยง 15 ช.ม. การแปรเปลี่ยนแหล่งน้ำตาลเป็นกลูโคส และแลคโตสนั้นพบว่า น้ำตาลทั้งสามที่ 3-5% เท่า ๆ กันให้ผลไม่ต่างกันนักคือให้พอลิเมอร์ในราว 7.3-7.4 g/l ที่ 12 ช.ม. แต่แลคโตสที่ความเข้มข้นต่ำ ข/๔ ให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้ซูโครสและกลูโคส (7.1-7.4 g/l เมื่อเทียบกับ 5-5.9 g/l) ค่าที่ได้นี้จะเป็นค่าเบื้องต้นเพื่อใช้ในการเข้าสูตรอาหารต่อไป จากการศึกษภาวะที่เหมาะสมพบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 6.5 และความเร็วรอบในการให้อากาศเป็น 200 รอบต่อนาที ส่งผลให้แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงเท่ากับ 8.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่แบคทีเรียผลิตได้มีสมบัติเป็นประจุลบ

2. การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

การวิเคราะห์แอคทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 (Genecor) พบว่าเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส มีแอคทิวิตีเท่ากับ 86.66 unit/ml และเอนไซม์บีต้ากลูโคซิเดสมีแอคติวิตีเท่ากับ 131.39 unit/ml และในการศึกษาภาวะบางประการที่มีผลต่อการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเอนไซม์เซลลูเลสGC220 พบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยชานอ้อยด้วยเซลลูเลส GC220 คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบส 6.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อภาวะดังกล่าวของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 ย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว พบว่าภาวะดังกล่าวเหมาะแก่การย่อยชานอ้อยและรำข้าวแต่ถ้าเพิ่มเวลาเป็น 96 ชั่วโมง เอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยรำข้าวได้ดีที่สุด และในการคัดเลือกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า กากถั่วเหลือง และกากงา ให้ไนโตรเจนปริมาณ 3.570 เปอร์เซ็นต์และ 3.010 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

โครงการย่อยที่ 2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดยีสต์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ $NaNO_3$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง 10.67 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 5.33 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยมีภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 0.95 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว คือให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้สารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรตร่วมกับสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมันจะให้ผลผลิตมากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว (Linton, 1991; Hommel และคณะ, 1994) โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในขบวนการเมทาบอลิซึมขั้นแรกของเซลล์ และสังเคราะห์ส่วนของ hydroxyl fatty acid ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสารตั้งต้นที่เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมัน และเชื่อมต่อโดยตรงกับส่วนที่เป็นน้ำตาลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภท ไกลโคลิพิด (Webber และคณะ, 1992) ผลผลิตที่ได้ก็จะมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เพราะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำมันพืชส่วนมากจะเป็น lactonic form ที่ไม่บริสุทธิ์ (Hu และ Ju, 2001a)

การวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี analytical TLC ด้วยไอระเหยของไอโอดีน และมอรีส รีเอเจนท์ พบว่าสามารถแยกสารออกได้เป็น 3 ลำดับส่วน คือ F1 ถึง F3 โดยมีค่าคงที่ของอัตราส่วนการเคลื่อนที่ (R_f) เป็น 0.88, 0.72 และ 0.62 ตามลำดับ ซึ่ง F2 มีค่าการกระจายน้ำมันสูงที่สุด และเมื่อตรวจสอบด้วย มอรีส รีเอเจนท์พบว่า F2 และ F3 ให้ผลบวก จึงสันนิษฐานได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ผลิตได้มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบหรือเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด จากนั้นเตรียมสาร F2 ด้วย preparative TLC เพื่อนำมาวิเคราะห์สารและทำให้บริสุทธิ์ด้วย HPLC พบว่าลำดับส่วนที่เก็บได้จาก RT ที่ 15.3, 19.2, 21.9, 26.2 และ 31.4 นาที ให้ชื่อว่าตัวอย่าง C D E F และ G ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าการกระจายน้ำมันมาก และอีกสองลำดับส่วนที่มี RT ใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของ HPLC จากสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ คือ RT ที่ 7.5 และ 8.9 นาที โดยให้ชื่อว่าตัวอย่าง A และ B ตามลำดับ จึงนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-MS ต่อไป จากผลการวิเคราะห์สารด้วยวิธี LC-MS บอกถึงน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารและสามารถวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ในการทดลองพบว่ามวลโมเลกุลของสารส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารโซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C22]_{Lactone}$ และ $[C22:1]_{Lactone}$ จากนั้นนำตัวอย่างสาร G ที่มีปริมาณมากพอไปวิเคราะห์

ด้วยวิธี NMR พบว่า ^{1}H-NMR spectrum มีพีกปรากฏในช่วง chemical shift ที่ 0.9 ppm เป็นหมู่เมทิล ($-CH_3$) ที่ 1.2 และ 2.0 ppm จะเป็นสายยาวไฮโดรคาร์บอน $(-CH_2)_n$ ที่ 2.4 ppm เป็น $-CH_2-COOH$ และพบพันธะคู่ -CH=CH- ที่ chemical shift ที่ 5.4 ppm ซึ่งเป็นส่วนที่คล้ายคลึงกับส่วนของสายไฮโดรคาร์บอนที่ปรากฏใน ^{1}H-NMR spectrum ของสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ ที่ chemical shift ที่ 1.2 2.0 และ 5.4 ppm

การศึกษาลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ โดยเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจาง 100 เท่าด้วย 50 มิลลิโมลาร์ ทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานและความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นสารสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ เท่ากับ 8.0 ซึ่งให้ค่าแรงตึงผิวต่ำที่สุดเท่ากับ 34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมันสูงสุด 7.07 ตารางเซนติเมตร (มีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.004 มิลลิกรัมในบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใช้ในการทดสอบ) ในวันแรกจนถึง 30 วันของการทดลอง และผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถทำงานได้ดีเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง โดยมีค่าแรงตึงผิว 33-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 3.0-6.0 ตารางเซนติเมตร และยังคงความเสถียรได้จนถึงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส อีกด้วย นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ยังสามารถทำงานและคงความเสถียรได้ดีที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าแรงตึงผิวเริ่มต้น 32-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 9.0-14.0 ตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 30 วัน

การศึกษาความสามารถในการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยการวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index) เปรียบเทียบกับน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ พบว่าค่า ดัชนีการเกิดอิมัลชันที่ 24 ชั่วโมง ต่อน้ำมันคาโนลา น้ำมันงาน้ำมันสลัดน้ามันราข้าว น้ำมันดอกคำฝอย และ น้ำมัน ถั่วเหลือง มีค่ามากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำมันคาโนลา และน้ำมันดอกคาฝอยมีค่าความเสถียรลดลงน้อย ที่สุดใน 3 วันแรก คือ 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันราข้า ว น้ำมันมันสลัด น้ำมันงา ลดลง 15-25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและลดลงประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 7 วัน ในน้ำมันทุกชนิดดังกล่าว

นอกจากนี้การหาค่าจุดวิกฤติของความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC) จากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่ามีค่าเท่ากับ 132 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (γCMC) เท่ากับ 35 mN/m ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่นำมาเปรียบเทียบ คือ เคมเทค 307 ไทรทอน เอกซ์ 100 และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และยังมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอื่น เช่น โซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* และแรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* ที่มีค่า CMC เท่ากับ 130 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Otto และคณะ, 1999; Pornsunthorntawee และคณะ, 2008)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 โดยใช้แหล่งคาร์บอน 2 ชนิดร่วมกันคือ กลูโคสและน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งยีสต์สามารถเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ปริมาณมากกว่าถึง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีโครงสร้างเป็น C22 อะตอม ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของผู้อื่นที่ส่วนมากจะรายงานกรดไขมันที่เป็นชนิด C18 และ C20 อะตอม จากโครงสร้างนี้ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า CMC ที่ต่ำกว่าสารลดแรง ตึงผิวสังเคราะห์บางชนิดและต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในรายงานของ ธนัสถา เชียงอุทัย (2549) ที่รายงานมาก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ยังสามารถก่ออิมัลชันกับน้ำมันพืช ได้หลากหลายชนิด สามารถจะประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ในอนาคต และงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพฉบับแรกที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยและใช้ได้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

โครงการวิจัยนี้ผลิตมหาบัณฑิตได้ 1 คน มีนิสิตระดับปริญญาโท 2 คน และนิสิตระดับปริญญาตรี 1 คน ได้ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ 1 ฉบับ

Thaniyavarn J, Chianguthai T, Sangvanich P, Roongsawang N, Washio K, Morikawa M, Thaniyavarn S. Production of sophorolipid biosurfactant by *Pichia anomala*.Biosci Biotechnol Biochem. 2008 Aug;72(8):2061

โครงการย่อยที่ 2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

โครงการวิจัยนี้แบ่งการศึกษาเป็นสองส่วนคือ พริกและงา งานวิจัยในส่วนของพริก ได้ศึกษาวิธีการสกัดแยก capsaicinoid เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานเพื่อลดการนำเข้าสารมาตรฐานจากต่างประเทศซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง และพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีการสกัดด้วย solvent extraction และวิธีวิเคราะห์ HPLC จากการศึกษาในปีที่ผ่านมาสามารถหาภาวะ HPLC ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ capsaicinoid ที่ให้ค่า resolution มากกว่า 1 และพบว่าในการวิเคราะห์ linearity range ของสารละลายมาตรฐานแคพไซซินที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 29 ถึง 1313 ppm และสารละลายมาตรฐานไดไฮโดรแคพไซซินที่ ความเข้มข้น 15 ถึง 707 ppm ให้ค่า linear correlation มากกว่า 0.9900 และได้ทดลองวิเคราะห์ปริมาณ capsaicin จากสิ่งสกัดพริกและเปรียบเทียบปริมาณ capsaicin จากสิ่งสกัดพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า จากแหล่งต่างๆ พบว่าได้ผลระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามการพิสูจน์วิธีวิเคราะห์ยังประสบปัญหาเนื่องจากไม่สามารถหาสารตัวอย่างที่ปราศจากสารกลุ่ม capsaicinoid ได้และไม่มีสารมาตรฐานจำหน่าย นอกจากนี้ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์และตรวจสอบปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (total carotenoid) ในพริกสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในแง่มุมต่างๆ ซึ่งนับว่าเป็นการศึกษาเพื่อใช้ประโยชน์อย่างเต็มศักยภาพของพริก

งานวิจัยในส่วนของงา ได้สกัด แยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของ sesaminol diglucoside และ sesaminol triglucoside ซึ่งพบว่าประกอบด้วยส่วน aglycone คือ sesaminol และมีส่วนของน้ำตาลเป็น glucose จำนวน 2 และ 3 หน่วยตามลำดับ เนื่องจากโครงสร้างมีส่วนของน้ำตาลอยู่ด้วยจึงทำให้สารในกลุ่มนี้มีการละลายในน้ำที่ ดีกว่าสารกลุ่ม sesamin และ sesamolin ซึ่งพบในน้ำมันงา สารในกลุ่ม sesaminol glycoside มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ฯลฯ ส่วนใหญ่คล้ายคลึงกับที่มีรายงานใน sesamin และ sesamolin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันงา จึงคาดว่าสารในกลุ่ม sesaminol glycoside อาจเกิดการย่อยสลายได้ sesaminol ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ได้ทัดเทียมกับ sesamin และ sesamolin หากมีการนำกากงาที่ได้จากการสกัดน้ำมันแล้วมาสกัดต่ออีกครั้งเพื่อนำสารในกลุ่ม sesaminol glycoside มาใช้ประโยชน์ จะเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่กากงาเป็นอย่างมาก

โครงการย่อยที่ 2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

1.) การพัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่

ฟิล์มที่เตรียมจากการผสมระหว่าเกลือแร่และพอลิเมอร์โดยตรงแทนการเตรียมแคลเซียมเป็นอนุภาค หรือไฮโดรเจนก่อน โดยพอลิเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาเพื่อเคลือบบนผิวผลไม้ได้แก่ ไคโตซาน เจลาติน และอัลจิเนต คณะผู้วิจัยได้เลือกที่จะเติมเพียง 10 % ของค่า RDI ของเกลือแร่แต่ละชนิด โดยในการศึกษาครั้งนี้จะใช้ฝรั่งเป็นผลไม้ต้นแบบในการเคลือบฟิล์ม โดยในขั้นต้นทำการศึกษาปริมาณของพอลิเมอร์ที่สามารถเคลือบบนผลไม้ เป็นตัวแปรที่สำคัญในการกำหนดปริมาณของเกลือแร่ที่จะถูกเคลือบบนผลไม้ จากการศึกษาพบว่าอัลจิเนต และเจลาตินสามารถใช้พอลิเมอร์ตัวกลางได้ โดยผลไม้ที่เคลือบด้วยเจลาตินจะมีความเป็นมันวาวมากกว่า

ฟิล์มที่เติมเกลือแร่ลงไปนั้น พบว่าอัลจิเนตฟิล์มเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียมได้ อย่างไรก็ตามเจลาตินฟิล์มและไคโตซานฟิล์มไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆกับเกลือแร่ที่เติมลงไป

2.) การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 เป็นองค์ประกอบ

2.1) primary emulsion ของโอเมกา-3 สามารถเตรียมได้โดยใช้เคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ ใช้ระบบ oil in water emulsion โดย primary emulsion มีประจุเป็นลบ ซึ่งเป็นการยืนยันว่าอิมัลชันที่เตรียมได้มีเคซีนล้อมรอบ อย่างไรก็ตามเนื่องจากค่า zeta potential มีค่าน้อยกว่า -30mV แสดงให้เห็นว่า primary emulsion ที่เตรียมได้นั้นมีเคซีนล้อมรอบหยดน้ำมันน้อย ทำให้แรงผลักทางไฟฟ้า (electrostatic repulsion) นั้นมีน้อย ส่งผลให้ไม่เสถียรเท่าที่ควร โดย primary emulsion ที่เตรียมโดยใช้ 1.5% เคซีนพบว่าอิมัลชันมีขนาดเล็ก การกระจายตัวของหยดน้ำมันมีการกระจายตัวที่แคบ และขนาดของประจุมีความเป็นลบที่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเคซีนต่างๆ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้ความเข้มข้นนี้

เคซีนเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งดังนั้น pH ย่อมมีผลต่อความเสถียรของ primary emulsion ณ pH ของสารละลายอิมัลซิฟายเออร์มีค่าเท่ากับ 4 และ 5 ซึ่งใกล้กับค่า pI ของเคซีน(pI=4.7) ซึ่งอิมัลชันที่เกิดขึ้นไม่ค่อยเสถียร และที่ pH 6 อิมัลชันมีความเสถียรมากที่สุด

2.2) secondary emulsion

Secondary emulsion สามารถเตรียมโดยเคลือบ primary emulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ด้วยพอลิเมอร์ PDAD) และ ไคโตซาน) อีกชั้นหนึ่ง ผู้วิจัยได้ศึกษา

2.2.1) ปริมาณ ณ จุดสมมูลระหว่าง primary emulsion และพอลิเมอร์ที่ใช้ในการเตรียม ในการศึกษานี้ ทำการติดตาม % transimsision เพื่อสังเกตการณ์เกิดอิมัลชัน พบว่าเมื่อเติม primary mulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ และมีประจุลบ (pH 6) ลงไปในสารละลาย PDADMAC ซึ่งมีประจุเป็นบวกจึงเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าระหว่างประจุบวกของ PDAD และประจุลบของเคซีน ทำให้เกิด secondary emulsion ที่มี PDAD ล้อมรอบอยู่ภายนอกขึ้นได้ สารผสมยังอยู่ในรูปของ colloid และไม่เกิดการตกตะกอนเมื่อถึงจุดสมมูล ระหว่างปริมาณของ PDAD และ primary emulsion ค่า % transimsision ต่ำสุด เมื่อเติม primary emulsion มากขึ้น พบว่าเกิด complex ขึ้น โดย complex ดังกล่าวตกตะกอนออกมา ส่งผลให้ค่า % transimsision สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเป็นจุดที่แสดงถึงอัตราส่วนน้ำหนักที่มากเกินพอระหว่าง primary emulsion และพอลิเมอร์ที่ใช้ โดย complex ที่เกิดขึ้นนี้เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง primary emulsion ที่มากเกินพอทำปฏิกิริยากับ secondary emulsion ที่เตรียมได้

จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่เหมาะสมระหว่าง PDADMAC และ primary emulsion มีค่าเท่ากับ 2.6 ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่าง primary emulsion (1.5% เคซีน) และสารละลาย PDAD เท่ากับ 0.25 ดังนั้นในการศึกษาเพื่อเตรียม secondary emulsion ที่ใช้ PDAD นั้นผู้วิจัยเลือกอัตราส่วนน้ำหนักที่น้อยกว่า 2.6 เล็กน้อย

อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่าง primary emulsion และสารละลาย chitosan 0.1%w/v ที่เหมาะสมเพื่อใช้เตรียม secondary emulsion เป็น 0.2-0.3 ซึ่งปริมาณ chitosan ส่วนเกินเล็กน้อย

2.2.2) การศึกษาขนาดของอนุภาคและค่า zeta potential ของ primary emulsion และ secondary emulsion polydisperse แต่สัดส่วนของอนุภาคที่มีขนาดประมาณ 280 ไมครอน มีมากกว่า 95%

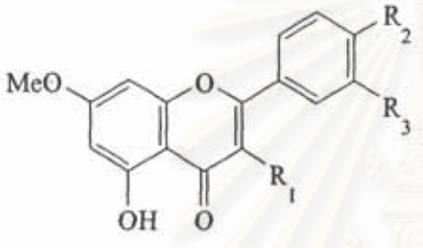
ในกรณีที่ใช้ PDAD และไคโตซานเป็นพอลิเมอร์เพื่อเตรียม secondary emulsion นั้นพบว่าการกระจายตัวยังคงเป็นแบบ polydisperse เช่นกัน และเมื่ออัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 0.1(อัตราส่วนโดยปริมาตรก่อนถึงจุดสมมูล) และ 0.3 (อัตราส่วนโดยปริมาตรใกล้จุดสมมูล) พบว่าอนุภาคของอิมัลชันมีขนาดใหญ่ขึ้น และค่า zeta potential เป็นบวกซึ่งเป็นประจุของ PDAD ที่ล้อมรอบ primary emulsion ไว้ แสดงว่าเกิด secondary emulsion ขึ้น เมืออัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนหลังจุดสมมูล พบว่าขนาดของอิมัลชันมีขนาดเล็กลง และประจุบนพื้นผิวมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าอนุภาคส่วนใหญ่ในสารผสมมีประจุเกือบเป็น

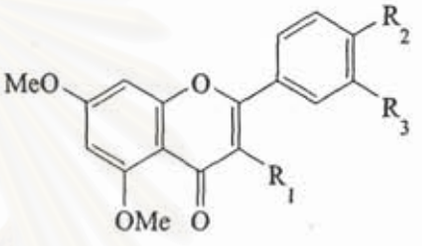
ศูนย์ บ่งบอกถึงการรวมตัวกันระหว่าง secondary emulsion และ PDAD ดังนั้นอัตราส่วนโดยหนักที่เหมาะสมต่อการเตรียม secondary emulsion คือ 2.6

โครงการย่อยที่ 2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

1.) การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ากระชายดำ

จากการแยกสารบริสุทธิ์ในสิ่งสกัดเฮกเซน (สาร **1-3**)และไดคลอโรมีเทน (สาร **4-10**) ได้สารฟลาโวนอยด์ประเภทฟลาโวนที่มีปริมาณมากพอ 10 ชนิด ที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ต่อ



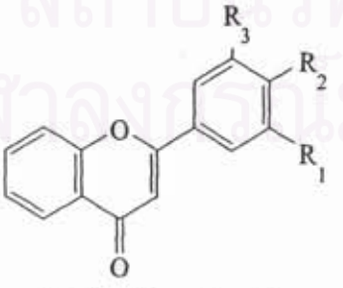


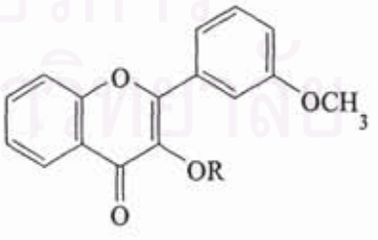
1, R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H
2, R_1 = R_2 = R_3 = H
3, R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H
4, R_1 = R_2 = R_3 =OMe
10, R_1 = R_3 = H; R_2 = OMe

5, R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H
6, R_1 = R_3 = H; R_2 =OMe
7, R_1 = R_2 = R_3 = H
8, R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H
9, R_1 = R_2 = R_3 = OMe

2.) การสังเคราะห์ฟลาโวนเบื้องต้น

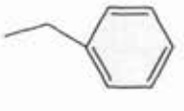
สามารถสังเคราะห์ฟลาโวนได้ 4 ชนิด (สาร **11-14**)





11, R_1 = R_2 = R_3 = H
12, R_1 = R_2 = R_3 = OMe

13, R = CH3

14, R = 

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate

นำสารฟลาโวน **1-14** มาทดสอบ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate เพื่อหาค่า % การยับยั้ง ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ให้ผลดังนี้

สาร	% การยับยั้ง
6	56.20
7	44.20
11	32.30
13	33.80
14	21.90
galantamine (Std.)	93.55

พบว่า สาร **6** และ **7** มีฤทธิ์ยับยั้งเท่ากับ 56.20 และ 44.20 % ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สาร **11, 13** และ **14** มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสน้อยกว่าสาร **6** และ**7**

4.) การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารแยกได้จากกระชายดำ (**1-10**) เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ จะให้ฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ แต่มีเฉพาะสาร **1** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

5.) การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC และ GC

จากการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC และ GC เพื่อใช้วิเคราะห์สิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ของกระชายดำ พบว่า วิธีทาง GC ให้ค่า retention time คงที่กว่า เนื่อง GC สะดวก รวดเร็ว และมีตัวแปรน้อยกว่า นอกจากนี้ สารในกลุ่มนี้ไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ส่วนการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดกระชายดำด้วยวิธี GC พบว่า มีปริมาณสาร **6** มากกว่า สาร **7** ทั้ง 3 จังหวัด ส่วนในผลิตภัณฑ์ไวน์ จะมีปริมาณสารสองตัวนี้ในปริมาณสูงสุด รองลงมาได้แก่แคปซูล และชาชง ตามลำดับ จากผลของการสกัดสารในผลิตภัณฑ์กระชายดำด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่ามีสาร **6** และ **7**เป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณสารสำคัญ(**6** และ **7**)ที่ไม่แน่นอนในแต่ละตัวอย่าง

6.) การแปรรูปกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

พบว่า วิธี ก (สกัดด้วยน้ำ) จะดีกว่าวิธี ข (สกัดด้วย 50% น้ำ-เมทานอล) เนื่องจากวิธี ข จะดูดความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้

โครงการย่อยที่ 2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

1. การสกัดสารจากเมล็ดมะม่วง

การสกัดสารจากเมล็ดมะม่วงโดยใช้น้ำ และเอทธานอล ซึ่งเป็นสารละลายมีขั้วเพื่อที่จะสกัดสา polyphenol (Kabuki, 2000) ที่มีรายงานว่าเป็นสารที่มีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร สารสกัดที่ได้มีสีน้ำตาล โดยมะม่วงแต่ละพันธุ์จะให้ปริมาณสารสกัดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมล็ดมะม่วงเขียวมรกตให้ปริมาณสารที่สกัดได้สูงสุด คือ 18.63 % พันธุ์ฟ้าลั่นและพันธุ์โชคอนันต์รองลงมาโดยมีปริมาณสารที่สกัดได้ 17.48 %และ 13.46 %ตามลำดับ มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดเชียงใหม่ ให้ปริมาณสารที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือสกัดได้ 13.46± 1.25% และ14.20 ± 1.80% ตามลำดับ ส่วนเมล็ดมะม่วงที่ผ่านการดองเค็มพันธุ์โชคอนันต์ ก็ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติจากเมล็ดมะม่วงสด คือให้สารสกัดเท่ากับ 13.60± 0.02 %และ 14.20± 1.80 % ตามลำดับ

2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ต่างๆ

สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์ และฟ้าลั่นด้วยน้ำ มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ*Pseudomonas aureginosa* ได้ดี และยังพบว่าสารสกัดของเมล็ดมะม่วงพันธุ์เดียวกันสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียในสปีชีเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ ได้แตกต่างกัน แบคทีเรียที่ทนต่อสารสกัดของเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำได้ดีที่สุดคือ *Cl. perfringens* 16637 และ *E.coli* 8739 สารสกัดของเมล็ดมะม่วงสายพันธุ์ต่างกัน สามารถต้านการเจริญและฆ่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกัน เช่น สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเขียวมรกต สามารถต้านและฆ่า *S. aureus* 25923 ได้ดีกว่าสารสกัดของเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์และฟ้าลั่น และต้าน *B. cereus* 11778 ได้ดีกว่าสารสกัดเมล็ดของมะม่วงฟ้าลั่น อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงทั้งสามพันธุ์ดังกล่าว มีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าสายพันธุ์แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบได้ไม่แตกต่างกัน ส่วนสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์ และฟ้าลั่น ด้วยเอทธานอลสามารถต้านการเจริญของ *Bacillus cereus* 11778 และ*Pseudomonas aureginosa* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 50 เท่ากับ 390.63 µg/ml แต่ต้านการเจริญของ *S. aureus* 65388 ได้น้อยที่สุดคือมีค่าม MIC 50 เท่ากับ 6250 µg/ml อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงทั้งสามชนิดดังกล่าว มีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าสายพันธุ์แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบได้ไม่แตกต่างกัน สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์และฟ้าลั่นด้วยเอทธานอลมีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่นำมาทดสอบ ได้ต่ำกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ

3. ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดที่เพาะปลูกในพื้นที่ต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงที่ปลูกจากทั้งสองแหล่ง ด้วยน้ำและเอทธานอล พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากเมล็ดมะม่วงทั้งสองแหล่งมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญและทำลายแบคทีเรียได้ดีกว่าสารที่สกัดด้วยเอทธานอล และสารสกัดเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำและเอทธานอลจากทั้งสองแหล่งปลูกแสดงฤทธิ์ต้าน *Bacillus* ได้ดีที่สุด สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ ด้วยน้ำ มีแนวโน้มในการออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบได้สูงกว่าสารสกัดจากมะม่วงโชคอนันต์สดที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี โดยสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* (ทั้งสองสายพันธุ์) และ *B. cereus* (ทั้งสองสายพันธุ์) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เพียง 30 µl/ml แต่เมื่อพิจารณาค่า MBC ของสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลูกในเชียงใหม่จะมีฤทธิ์ในการทำลาย *B.cereus* 11778 *Salmonella* Typhimurium และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เพียง 125 µl/ml ในขณะที่สารสกัดเมล็ดมะม่วงจากจังหวัดสุพรรณบุรีแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญและทำลาย *B. cereus* 11778 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 30 µl/ml และ MBCเท่ากับ 250 µl/ml แต่แสดงฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ ได้น้อย คือมีค่า MBC อยู่ในช่วง 500- >500 µl/ml

4. ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดและเมล็ดที่ผ่านการแปรรูปโดยการดอง

สารสกัดเมล็ดมะม่วงสดและเมล็ดมะม่วงที่ผ่านการดองเค็มด้วยน้ำให้ผลในการต้านการเจริญและฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ใช้ทดสอบได้ใกล้เคียงกัน กล่าวคือสามารถต้าน *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *B. cereus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *Salmonella* Typhimurium และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 50 และ MIC90 ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาที่ค่า MIC 50 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดด้วยน้ำสามารถต้าน *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *B. cereus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonella Typhimurium* และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 30 µg/ml รองลงมาคือ *E. coli* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonell*a *Choleraesuis* โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 60 µl/ml ส่วนการต้านการเจริญของ *Cl. perfringens* และ *P. aeruginosa* มีค่า MIC50 เท่ากับ 125 µl/ml

ผลการนำสารสกัดเมล็ดมะม่วงมาทดสอบค่า MBC พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดและมะม่วงดองด้วยน้ำ สามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *B. cereus* 11778 ได้ดี โดยมีค่า MBC เพียง 125 µl/ml และทำลายเซลล์ *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *E. coli* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonell*a Choleraesuis ได้ลดลงโดยมีค่า MBC เท่ากับ 250 µl/ml และสารสกัดทั้งสองชนิดนี้จะมีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *Cl. perfringens* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *P. aeruginosa* ได้ต่ำกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยมีค่า MBC สูงกว่า 500 µl/ml ส่วนฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ *Salmonell*a . Typhimurium และ *L. monocytogenes* ของสารสกัดทั้งสองพบว่ามีความแตกต่างกัน คือ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดจะสามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่า มีค่า MBCเท่ากับ 125 µl/ ml

ผลงานได้รับการตีพิมพ์ทางวิชาการระดับชาติ 1 บทความ (proceeding) คือ

ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก สุเมธ ตันตระเธียร และ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์* 2551 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง (Mangifera indica Linn.) ในเอกสารประกอบการประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมละความ รู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร 3 หน้า วันที่ 17-18 ธันวาคม 2551 อาคารมหามกฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงงเทพ

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร</u>

โครงการย่อยที่ 3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ได้ดำเนินการรวบรวมข้อมูลและสร้างฐานข้อมูลแบบอินเทอร์แอกทีฟขนาด 7,314 รายการ ประกอบไปด้วย เลขสารระบบ เลขใบสำคัญ ชื่อผลิตภัณฑ์ ไทยและอังกฤษ สถานะ ประเทศผู้ผลิต ใบอนุญาตผู้ผลิต ผู้รับอนุญาต ที่อยู่และใบสำคัญ ข้อมูลความปลอดภัยและขั้นตอนที่ผู้บริโภคควรรู้ โดยแปลงข้อมูลจากที่เริ่มต้นเก็บเรค คอร์ดในรูป excel file ให้อยู่ในรูป Access file และ PHP ด้วยโปรแกรม PHP Myadmin™

โครงสร้างโปรแกรมฐานข้อมูลอาหารเสริมสุขภาพ เชื่อมโยงข้อมูลที่เป็น excel file ให้อยู่ในรูป PHP document โดยจัดเก็บไว้ใน server computer ออกแบบการทำงานของโปรแกรมในรูป web brower ทั้งหมดเชื่อมโยงข้อมูลในรูป net interactive ในขั้นต้นกำหนด domain address ของแต่ละฐานข้อมูลให้มี QR เฉพาะของแต่ละรายการเอง และถ่ายลงไปยังฐานข้อมูลรวม

การดำเนินการเพื่อรองรับการทำงานได้ดำเนินการเปิดเว็ปไซค์เป็นของจุฬา มี domain name ว่า http://www.qr.chula.com ทำให้ได้ตัวระบบฐานข้อมูลที่มีรูปแบบการทำงานที่เป็น interactive ในรูป QR code

ผลการทดสอบการอ่านและเชื่อมโยงQR code กับข้อมูลอาหารเสริมสุขภาพ ช่วยให้เครื่องโทรศัพท์เคลื่อนที่สามารถอ่านรหัส QR ได้ โดยเชื่อมโยงอินเตอร์เน็ตกับเวปไซค์ www.kaywa.com และข้อมูลในรายการที่เกี่ยวข้องจาก http://www.qr.chula.com โดยโปรแกรมจะช่วยให้โทรศัพท์เคลื่อนที่สามารถจดจำตรวจสอบตำแหน่งและอ่านรหัส QR และนำพาเข้าสู่ Mode ที่เชื่อมโยงโดยตรงกับโปรแกรม web browser เช่น MS explorer จนนำปสู่ข้อมูลสินค้าและข้อมูลความปลอดภัย

ได้ดำเนินการถ่ายทอดความรู้การจัดทำระบบ การดำเนินการเพื่อใช้งานร่วมกับ เจ้าหน้าที่ของ อย. ในรูปแบบการอบรมกลุ่มย่อยในช่วง เดือน สิงหาคม-กันยายน 2551

ได้การตรวจสอบการใช้งานร่วมกับเจ้าหน้าที่ อย. ดำเนินการทดสอบผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ณ จุดจำหน่ายสินค้าโดยร่วมมือกับร้านสหกรณ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในการทดสอบการใช้งาน ผลการทดลองการประเมินการใช้งานพบว่า การดำเนินการติดป้าย อธิบายการใช้งาน การแสดงรหัส QR code กับรหัสสินค้า

และทดสอบการใช้งานจริงไม่มีความซับซ้อน อย่างไรก็ดีความจำเป็นในการปรับฐานข้อมูลสินค้าร่วมกับภาคเอกชนเพิ่มเติม เนื่องจากยังมีรายการสินค้าที่ไม่มีข้อมูลจากทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอยู่

การเพิ่มรายการข้อมูลให้ครบครันและมีความทันสมัยตั้งแต่ต้นทาง จะช่วยให้การประยุกต์รหัส QR 2 มิติมาใช้งานทำได้ง่ายขึ้น ในทางปฏิบัติการขอความร่วมมือกับผู้ประกอบการอาจทำได้ยาก นอกจากนี้ยังมีความเสี่ยงในการรับรองโดยหน่วยงานรัฐเอง เนื่องจากสามารถนำไปอ้างอิงโฆษณาชวนเชื่อได้ หรือแอบอ้าง อย่างไรก็ดีหากแก้ปัญหาดังกล่าวได้ก็จะช่วยให้การใช้งานมีประสิทธิภาพ

จากตัวสินค้า สามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่จึงตรงไปที่รหัส QR ได้ทันที และขนาดของรหัส QR ที่แสดงบนชิ้นควรมีขนาดใหญ่กว่าปกติ เพื่อสะดวกต่อการใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่จ่อภาพจากระยะห่างได้ การตรวจสอบในเบื้องต้นพบว่าขนาดของ QR code ควรมีมากกว่า 5 ×5 ซม.

ระบบการแสดงข้อมูลโดยการใช้รหัส QR นี้ช่วยให้ผู้บริโภคสามารถเข้าถึงข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจได้ง่ายขึ้น เพิ่มช่องทางในการสื่อสารข้อมูลที่เป็นกลางในรูปแบบข้อมูลวิชาการ หรือการเพิ่มเติมข้อมูลต่าง ๆ ทำให้สามารถตรวจสอบ ควบคุม กับกับดูแลผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพให้เกิดความปลอดภัย ไม่อ้างสรรพคุณเกินควร หรือแอบอ้างโดยไม่ถูกต้องได้

ทั้งหมดของการดำเนินการเป็นไปตามแผนการที่วางไว้ทุกประการ ผลของการดำเนินการยังช่วยเพิ่มทางเลือก.ให้เกิดการควบคุม กำกับดูแลอาหารเสริมสุขภาพและยังเป็นแบบอย่างที่ดีสำหรับอ้างอิงหรือนำไปปรับใช้กับอาหารกลุ่มอื่น เช่นอาหารในกลุ่มขนมเด็กซึ่งก่อให้เกิดโรคอ้วนและโรคขาดสารอาหารในเด็ก ซึ่งเป็นปัญหาทางสังคมอย่างมากและจะได้วางแผนเพื่อการดำเนินการนี้ต่อไป

โครงการย่อยที่ 3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

ผลการเปรียบเทียบระบบการควบคุม กำกับและดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ระหว่างญี่ปุ่น เยอรมันและประเทศไทย พบว่า การสร้างระบบที่สามารถตรวจสอบวัตถุดิบ ณ. ต้นทางมีความเหมาะสม

จึงได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่างโดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว บนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ ISO17025 การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล ทั้งการตรวจวิเคราะห์ยีนส่วนที่เป็น 35S โปรโมเตอร์ สำหรับการตรวจคัดกรอง (*LMBG L 25.03.01 1999*) (*LMBG L 24.00-1 1997*) (*LMBG L 23.01.22 1998*) สำหรับข้าวโพดและข้าวใช้วิธีเฉพาะที่พัฒนาขึ้น (Matsuoka et al., 2001, Matsuoka, et al. , 2000) ผลการตรวจสอบยืนยันจะเก็บเข้าสู่ฐานข้อมูลเพื่อการดึงมาใช้อย่างเป็นระบบและเชื่อมโยงกับเครือข่าย internet

ได้จัดทำระบบการตรวจสอบตัวอย่างให้มีแบบฟอร์มและรูปแบบการทำงานสอดคล้องกับหลักการและการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์เพื่อออกผลการตรวจ แบบตรวจสอบสภาพของตัวอย่าง โดยมีเอกสารรับตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ work sheet สำหรับการรับตัวอย่าง เอกสาร calibration เครื่องมือ เอกสารvalidation methods SOPs ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ เอกสารการปฏิบัติงานสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง Work sheet ประกอบกิจกรรมสกัดดีเอ็นเอ เอกสารกำกับดีเอ็นเอ เอกสารกำกับ reference materials เอกสารกำกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง work sheetประกอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เอกสารกำกับผลการวิเคราะห์ Work sheetประกอบการวิเคราะห์ผล ระเบียนข้อมูลผลและการเชื่อมโยงข้อมูลไปสู่ฐานข้อมูล การออกใบรับรอง การบันทึกข้อมูลส่งระบบ online

ได้ดำเนินการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ รูปแบบการทำงานรวมและการให้บริการตรวจวิเคราะห์และรับรองภาวะการปลอด GMOs รูปแบบการสุ่มตัวอย่างและแบบเอกสารที่เกี่ยวข้องในการตรวจรับรอง

รูปแบบการตรวจวิเคราะห์ได้กำหนดและจัดทำ SOPs พร้อมทั้ง validation ในวิธีการตรวจสอบรองรับรายการตรวจ screening ทั้ง 3 รายการดังกล่าวข้างต้น โดย 2 รายการอ้างอิง Standard official methods LMBGL 23.01.22 LMBGL24.01-1 LMBGL25.03.01 LMBGL25.03.01 และEU JRC

ผลการวิเคราะห์ได้นำมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์ สามารถแสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com ซึ่งเป็น domain register เพื่อการนี้โดยเฉพาะ ฐานข้อมูลจัดทำผ่านผ่านโปรแกรม Php My Admin ™ และออกแบบหน้าแสดงด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver ™

โครงการได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วย บริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก่อินทรีย์ และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs

การทดสอบประเมินผลการใช้งานจริงเริ่มจากการดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ GMOs online ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและ ข้อมูลการวิเคราะห์ผล การ interfaceข้อมูล เน้นการใช้ lot number หรือ product code เป็นสื่อในการตรวจสอบสถานะของตัวอย่างหรือของผลิตภัณฑ์ ผ่านฐานข้อมูลในรูปแบบ interface ผ่านเว็บเบราส์เซอร์ ทั้งหมดดำเนินการในนามจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและดูแลโดยโครงการ

การดำเนินการกับระบบนี้ทำให้สามารถนำมาใช้รับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออก เพื่อการอ้างอิงและรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อส่งออกของฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการทำให้สามารถแสดงผลการรับรองออนไลน์ได้ งานทั้งหมดในส่วนการวางและดำเนินการเป็นไปตามแผนแต่การวิเคราะห์ยังคงล่าช้ากว่าแผนเนื่องจากงบประมาณมีความล่าช้าทำให้การวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูงไม่สามารถดำเนินการได้ตามปฏิทินแผนงาน

<u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 4 การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร</u>

1) ผู้เข้าอบรมได้รับความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
2) ผู้เข้าอบรมจะได้นำความรู้และนวัตกรรมที่ได้จากการอบรมไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ
3) บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารมีคุณภาพสูงขึ้น
4) ประเทศไทยจะมีศักยภาพในการแข่งขันในด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น

3.2 อภิปรายและวิเคราะห์ผล

การศึกษาวิจัยในโครงการย่อยของแผนงานวิจัย 4 แผนงาน ประสบความสำเร็จตามที่ตั้งเป้าหมายไว้ มีบางโครงการย่อยที่สามารถดำเนินการวิจัยจนประสบความสำเร็จได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับนานาชาติ ที่มี IMPAC FACTOR การอภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลองของแต่ละกลุ่มย่อยอยู่ในรายละเอียดตามเอกสารแนบของโครงการย่อย 15 โครงการ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4 สรุปและเสนอแนะ

ด้วยปริมาตรการส่งออกสินค้าอาหารประมาณ 2 แสนล้านตัน ต่อปี ซึ่งนำรายได้เข้าประเทศกว่า 4 แสนล้านบาทต่อปี ทำให้อุตสาหกรรมอาหารมีความสำคัญสูงสุดของประเทศ รัฐบาลจึงตั้งเป้าหมายและส่งเสริมให้ไทยเป็นครัวโลก ด้วยตลาดส่งออกที่กว้างขวางและการแข่งขันสูงขึ้น ทำให้กฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับมาตรฐาน การประกันคุณภาพและความปลอดภัยของสินค้าอาหารขยายขอบเขตกว้างขวางขึ้นเช่นกัน โครงการวิจัยและพัฒนาเชิงบูรณาการ เรื่อง "โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างทางเศรษฐกิจยุคใหม่" ซึ่งรวมการวิจัยพัฒนา ด้านการตรวจสอบวิเคราะห์ทั้งวัตถุดิบและผลผลิตอาหาร การเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบ ให้เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เสริมสุขภาพ ปราศจากสารพิษ การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารอย่างมีประสิทธิภาพ โดยอาศัยระบบการจัดเก็บและแสดงข้อมูลและการถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยและพัฒนาสู่ผู้บริโภคและผู้ประกอบการ จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพราะเป็นโครงการที่ครอบคลุมหลายหน่วยงาน หลายมิติ เป็นองค์รวมซึ่งทำให้บรรลุเป้าหมายของการแก้ปัญหาและพัฒนาประเทศตามยุทธศาสตร์หลักของประเทศได้

4.1 แผนงานวิจัยย่อยที่ 1 นวัตกรรมการวิจัย และพัฒนา วิธีวิเคราะห์และชุดทดสอบ

โครงการย่อยที่ 1.1 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

โครงการได้พัฒนาเทคนิคและรูปแบบการตรวจให้อยู่ในรูปชุดสำเร็จรูป แบบใหม่เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการตรวจการปนของพันธุ์ข้าว ตรวจการปนของ GMOs การปนของเชื้อ การปนของดีเอ็นเอจากโคและกระบือ และการปนของโมเลกุลที่ทำให้เกิดภูมิแพ้ โดยทั้งหมดได้ดำเนินการในรูปแบบของชุดตรวจสำเร็จรูป ที่สามารถใช้งานได้โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งพาห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังประยุกต์การตรวจสอบสัญญาณให้ทำได้ทั้งการเรืองแสงและการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โครงการยังได้พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงตามแผน และได้นำไปใช้งานจริงในห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ซึ่งมีตัวอย่างเข้ามาวิเคราะห์ในรายการที่ต้องใช้โมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงปีละมากกว่า 1250 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงเพิ่มเติมสำหรับใช้ในชุดสำเร็จรูป ท้ายสุดการสร้างระบบการตรวจวิเคราะห์และการดำเนินการตาม worksheet ยังช่วยให้การดำเนินการตรวจวิเคราะห์มีประสิทธิภาพ

โครงการย่อยที่ 1.2 การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคท์กรีนและเมตาบอไลต์ลิวโคมาลาไคท์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-Visible

ปัจจุบันงานวิจัยทางด้านสารตกค้างในอาหารเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตด้านความปลอดภัยในอาหารเป็นไปในแนวทางที่เรียกว่า "chasing zero" ซึ่งต้องอาศัยเครื่องมือขั้นสูง ดังนั้นการพิจารณาให้ทุนวิจัยควร

คำนึงถึงงบประมาณทางครุภัณฑ์ขั้นสูงเหล่านี้ด้วย จึงจะทำให้งานวิจัยเป็นงานเชิงรุกเพื่อแก้ปัญหาในด้านการวิเคราะห์อาหารในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมอันดับหนึ่งของประเทศได้อย่างฉับไว

โครงการย่อยที่ 1.3 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

1. ผลงานในปีนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารเติมแต่งในปะเก็นพีวีซีของฝาโลหะ พบว่าการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถใช้ได้ดีในการ ระบุชนิดและปริมาณของสารเติมแต่ง อย่างไรก็ดีวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโต กราฟีนี้ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ต้นทุนสูง และต้องใช้บุคคลากรที่มีความชำนาญสูง

2. คณะผู้วิจัยจึงได้สำรวจวิธีวิเคราะห์เบื้องต้นที่ง่าย รวดเร็ว และเหมาะสมในการตรวจวัด เบื้องต้นสำหรับภาคอุตสาหกรรม และพบว่าเทคนิค ATR FT-IR Microspectroscopy แบบ Normal Mode ให้ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพตรงกับผลจากการวิเคราะห์โดยเทคนิค แก๊สโครมาโตกราฟี

3.วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีนี้ (GC/FID) ยังไม่เหมาะสมสำหรับการ วิเคราะห์ในเมทริกที่ซับซ้อน เช่น อาหาร เนื่องจากมีการแทรกซ้อนจากองค์ประกอบต่าง ๆ ของอาหาร ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ที่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ในเมทริกที่ซึ่งคณะผู้วิจัยจะดำเนินการในปีที่ 3

4. วิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปทดลองวิเคราะห์ฝาโลหะจากขวดอาหาร 20 ชนิด พบว่า ใช้ได้ผลดี ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าผู้ประกอบการในประเทศไทยได้เริ่มใช้สาร ปนเปื้อนชนิดใหม่ๆ ในบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารส่งออกเพื่อให้สอดคล้องกับกฎข้อบังคับ ของสหภาพยุโรปในปัจจุบัน สารเติมแต่งพลาสติกที่พบคือ epoxidized soybean oil, erucamide, polyadipates, dibutyl sebacate, และ triacetin โดยมีปริมาณของสาร ปนเปื้อนทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 28.3–41.2 โดยน้ำหนักฝา

โครงการย่อยที่ 1.4 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคพไซซินและไดไฮโดรแคพไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก คือทำการสกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1 ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ใช้ปริมาณตัวอย่างและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อย และใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อย

ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิค CE แบบ MEKC น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก และอาหารรสเผ็ด ซึ่งคาดว่าตัวอย่างต่างๆ กัน จะมีปริมาณของสารดังกล่าวแตกต่างกันและหากมีการระบุหรือติดฉลากปริมาณของสารในตัวอย่างดังกล่าวจะเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภค

โครงการย่อยที่ 1.5 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร

งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรีมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักเป็นครั้งแรกซึ่งการใช้เทคนิคนี้มีข้อดีหลายประการได้แก่ ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยสามารถวิเคราะห์โลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงได้ภายในเวลา 3 วินาที เป็นวิธีที่ง่ายสำหรับการตรวจวัด มีความไวในการตรวจวัดสูง และใช้สารเคมีน้อย จากข้อดีดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในผลไม้ได้ ให้ ร้อยละการกลับคืนในช่วง 91.93 ถึง 107.90

4.2 <u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 2 นวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพ</u>

โครงการย่อยที่ 2.1 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

ในขั้นต่อไปจะศึกษาการย่อยโดยใช้โซนิเคเตอร์เป็นจุดหมายต่อไปซึ่งเราจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยการศึกษาปฏิกิริยาการย่อย ณ อุณหภูมิและเวลาที่ต่างกัน นอกจากนั้นยังต้องพัฒนาการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วย HPLC

รวมไปถึงการปรับปรุงขบวนการที่แสดงไว้ให้ดีขึ้นโดยปรับเปลี่ยนปริมาณของรีเอเจนต์หรือ ปัจจัยอื่นๆต่อไป จากนั้นรวบรวมข้อมูลและผลการทดลองที่ได้มาเขียนรายงาน และดำเนินการตามแผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้ต่อไป

ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยนี้คือการพัฒนากรรมวิธีการในการย่อยไคตินที่มีประสิทธิภาพสูงให้ได้ โมโนเมอร์ (GlcNAc), ไดเมอร์ [$(GlcNAc)_2$] รวมทั้งเกลือโมโนเมอร์ (Glc) ของไคตินที่สามารถนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารเสริมป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมต่อไป

โครงการย่อยที่ 2.2 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants)

จากแผนการดำเนินการวิจัยที่แบ่งออกเป็น 4 ปี คือในปี 2550 ในการศึกษาและคัดเลือกผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ สามารถคัดเลือกพืชที่มีลักษณะ

เด่นและคุณสมบัติเฉพาะที่สำคัญที่จะพัฒนาเป็นสารสกัดทางชีวภาพด้านสารพีไบโอติก ได้แก่ กล้วยหอม พุทรา และกลุ่มที่ให้สารต้านออกซิเดชัน และสารให้สี ได้แก่ ฝรั่งแดง แคนตาลูป มะม่วง ใบเตยหอม มะตูม และแก้วมังกรแดง ซึ่งวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีวิธีการเตรียมวัตถุดิบให้เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

สำหรับในปี 2551 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาทางเอนไซม์ เพื่อสกัดลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท ศึกษาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของแต่ละผลิตภัณฑ์ และในปี 2552 วางแผนศึกษาอายุการเก็บรักษา การประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร(food ingredient) สร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบการเผยแพร่ผลงานวิจัย ทั้งในรูปโปสเตอร์และสื่อสิ่งพิมพ์ต่างๆ ซึ่งผลการวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาศักยภาพของผักและผลไม้ของไทย และทดแทนการนำเข้าสารแต่งสีและกลิ่นได้อีกประการหนึ่งด้วย

โครงการย่อยที่ 2.3 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

งานที่ได้นำเสนอนี้ส่วนใหญ่ได้ดำเนินไปตามเป้าหมาย แต่ยังมีล่าช้าในบางส่วนเนื่องจากงานในส่วนของปีที่ 1 จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการศึกษาค่อนข้างนานเพื่อผลการวิจัยที่สมบูรณ์ และเนื่องด้วยในปีแรกและปีที่ 2 นั้นการวิจัยประสมปัญหาในเรื่องทุนที่ได้รับน้อยกว่าที่ขอไปมากจึงต้องปรับงานบางส่วนให้มีความเหมาะสมกับงบประมาณ แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้จะยังทำการวิจัยในกรอบตามโครงร่างที่ได้เสนอไว้

โครงการย่อยที่ 2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

วัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ในปีที่สองของการศึกษาตามที่เสนอไว้ในข้อเสนอการวิจัย คือการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร และศึกษาลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในปีนี้ประสบผลสำเร็จตามที่ได้เสนอไว้ ส่วนการศึกษาหาแนวทางพัฒนาและวิธีการเพื่อเพิ่มผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1จะทำวิจัยในขั้นต่อไป

โครงการย่อยที่ 2.5 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

งานวิจัยในปีที่สองยังคงมีความร่วมมืออย่างใกล้ชิดกับกรมวิชาการเกษตรเพื่อเก็บพันธุ์พืชทั้งพริกและงา ทำให้ทราบว่า โครงการในลักษณะดังกล่าวสามารถช่วยให้กรมวิชาการเกษตรรวมทั้งในอนาคตกรมส่งเสริมการเกษตร สามารถแนะนำพันธุ์ที่เหมาะสมต่อเกษตรกรเพื่อส่งเสริมการเพาะปลูก งานวิจัยที่ขยายเพิ่มเติมจากปีที่ 1 คือ การสกัดและหาปริมาณแคโรทีนอยด์ในพริก และการสกัด แยกไกลโคไซด์จากกากงา เพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์ของพริกและงาอย่างเต็มศักยภาพต่อไป

โครงการย่อยที่ 2.6 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

ในงานวิจัยปีนี้ ผู้วิจัยสามารถเตรียมแผ่นฟิล์มที่มีการเตรียมเกลือแร่ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และเหล็ก ลงไปโดยตรง และฟิล์มที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถเคลือบลงบนผลไม้ได้โดยการจุ่มซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย โดยพบว่าฟิล์มที่เหมาะสมต่อการเคลือบบนผิวฝรั่งได้แก่ เจลาติน เนื่องจากให้พื้นที่มันวาวและมีสามารถเติมเกลือแร่ลงไปได้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยสามารถเตรียมฟิล์มที่มีอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ได้ โดยพบว่าเจลตินเป็นพอลิเมอร์ที่ดีที่สุดเพราะมีความโปร่งแสง และ สามารถเติมอิมัลชัน ของน้ำมันโอเมกา-3 ได้ถึง 50 % โดยน้ำหนัก

โครงการย่อยที่ 2.7 สาระสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

4.1 จากการแยกสารจากเหง้ากระชายดำได้ ฟลาโวนอยด์ 10 ชนิด และนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ที่ความเข้มข้นของสาร 1 mg/ml ด้วยวิธี microplate พบว่า สาร **6** และ **7** มีฤทธิ์ดีที่สุด ให้ % การยับยั้ง 56.20 และ44.20 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ จะให้ฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ แต่มีเฉพาะสาร **1** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

4.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื้องต้น สามารถสังเคราะห์ฟลาโวนได้ 4 ชนิด (สาร **11-14**) และให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสไม่ดีนัก จึงจำเป็นต้องมีการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ในกลุ่มนี้ให้มีอนุพันธ์หลากหลายขึ้น

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ เช่น ผลิตภัณฑ์ ชาชงกระชายดำ (ซอง) ไวน์กระชายดำ เครื่องดื่มกระชายดำ กระชายดำแคปซูล และน้ำกระชายดำ ด้วยเทคนิคทา GC และ HPLC พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง GC เหมาะสมกว่า เพราะสะดวกรวดเร็วและมีตัวแปรน้อยกว่า นอกจากนี้สารในกลุ่มนี้ไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ส่วนในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** พบว่าในไวน์จะมีปริมาณสาร 2 ตัวนี้ในปริมาณสูงสุด

4.4 การแปรรูปกระชายดำผงด้วยวิธีทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า การสกัดด้วยน้ำจะให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นผงแห้งดีไม่ดูดความชื้น หรือควรมีการปรับปรุงวิธีการแปรรูปให้เป็นผงด้วยวิธีอื่นอีก เช่น การทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (spray-dry) เป็นต้น

โครงการย่อยที่ 2.8 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยที่ตั้งไว้คือศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงและศึกษาผลของปัจจัยด้าน พันธุ์ แหล่งปลูก กระบวนการแปรรูปเป็นมะม่วงดองต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย ดังกล่าว การดำเนินการวิจัยประสบผลสำเร็จตามที่ได้

เสนอไว้ โดยผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ดังนี้ สารสกัดเมล็ดมะม่วงที่สกัดด้วยน้ำและเอธานอลมีสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ สารสกัดเมล็ดมะม่วงต่างสายพันธุ์ และปลูกในพื้นที่ต่างกันมีฤทธิ์ในการต้านและทำลายแบคทีเรียแตกต่างกัน ในขณะที่การแปรรูปมะม่วงดองไม่แสดงผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง สารสกัดจากตัวอย่างเมล็ดมะม่วงโดยส่วนใหญ่ที่สกัดด้วยน้ำมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* สูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากตัวอย่างเมล็ดมะม่วงโดยส่วนใหญ่ที่สกัดด้วยเอทธานอลมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ในการต้าน *B. cereus* สูงที่สุด

4.3 แผนงานวิจัยย่อยที่ 3 นวัตกรรมการพัฒนาระบบควบคุมและตรวจสอบคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร

โครงการย่อยที่ 3.1 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ในปีงบประมาณ 2551 โครงการได้ดำเนินการรวบรวมข้อมูลและสร้างฐานข้อมูลแบบอินเทอร์แอกทีฟขนาด 7,314 รายการบนข้อมูลที่ทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข และได้พัฒนาระบบ QR code รองรับระบบ ทำให้สามารถดำเนินการตรวจสอบผ่านเครือข่ายโดยผู้บริโภคได้โดยตรง เป็นไปตามแผน

การตรวจสอบความพร้อมในการดำเนินการทั้งในส่วน ฐานข้อมูล การเชื่อมโยงกับโทรศัพท์เคลื่อนที่ การทดสอบการใช้งานในสถานที่จำหน่ายจริง ณ. ร้าน สหกรณ์ฯจุฬา ชี้ให้เห็นความพร้อมของตัวระบบ ขณะเดียวกันชี้ให้เห็นจุดอ่อนของข้อมูลที่ได้จาก อ.ย. ที่ไม่ครอบคลุมทุกรายการสินค้า ทำให้เห็นข้อแก้ไขที่จำเป็นต้องเตรียมการในการดำเนินการก่อนการเปิดตัวและทดสอบระบบจริงตามแผนในปีงบประมาณ 2552

สำหรับการดำเนินการที่คาดว่าจะทำได้แก่การทดสอบใช้งานนั้นปัจจุบันได้ประสานงานกับห้าง TESCO LOTUS แล้วซึ่งจะได้รายงานผลในปีถัดไป

โครงการย่อยที่ 3.2 ระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

การเปรียบเทียบระบบกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมระหว่างญี่ปุ่น เยอรมันและไทย ชี้ให้เห็นการดำเนินการของระบบที่ช่วยในการวางแผนการดำเนินการให้สอดคล้องกับเงื่อนไขของประเทศได้ จุดสำคัญคือการเน้นการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบตั้งแต่ต้นทาง ร่วมกับการใช้ระบบการตรวจสอบที่รัดกุมและเป็นไปตามหลักการ traceability

ผลการดำเนินการได้พัฒนาระบบเอกสารและระบบตรวจวิเคราะห์และรับรองสถานภาพของการปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม เพื่อเป็นพื้นฐานในการควบคุม กำกับดูแลการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่าย internet สำหรับอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการการตรวจสอบสภานภาพการปลอด GMOs เริ่มจากการพัฒนาระบบเอกสารควบคุม ที่ครอบคลุมทั้งในส่วนการผลิต เริ่มจากวัตถุดิบต้นน้ำ เอกสารเกี่ยวกับระบบการตรวจวิเคราะห์ครอบคลุมตั้งแต่การสุ่มตัวอย่าง วิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานและ SOP ที่เป็นระบบ อ้างอิงผลการวิเคราะห์ในระบบ ISO 17025 ได้ และสร้างระบบข้อมูลและฐานข้อมูลที่เชื่อมโยงในรูปแบบออนไลน์ โดยผลการพัฒนาได้ดำเนินการผ่านเว็บ www.cugmoonline.com การประชาสัมพันธ์ผ่านสื่อและสภาอุตสาหกรรมอาหารของโครงการได้ผู้ประกอบการที่มีความพร้อมร่วมโครงการโดยสมัครใจ 3 ราย การตรวจวิเคราะห์จริงโดยระบบที่พัฒนาขึ้น ช่วยให้ได้ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์สำหรับการรับรองการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่ายที่สามารถตรวจสอบได้ในเวลาจริงโดยระบบออนไลน์

4.4 <u>แผนงานวิจัยย่อยที่ 4 การอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร</u>

โครงการอบรมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหารแก่บุคคลากรของหน่วยงานรัฐ และหน่วยงานเอกชนในอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออกและจำหน่ายในประเทศได้จัดขึ้นทั้งหมด 4 ครั้ง

<u>การจัดประชุมครั้งที่ 1</u> วันที่ 20-21 และ 27 ตุลาคม 2551 ห้องประชุมชั้น 2 อาคารอัญมณีและตรวจสออัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหารชั้น 16 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เรื่อง การอบรมสัมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง "Food Safety According to Japanese Food Law : Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods and Application of LC MS/MS on Analysis of Antibacterial Agents" จัดขึ้นภายใต้โครงการอบรมและเผยแพร่ความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้กับบุคลากรของหน่วยงานรัฐและหน่วยงานเอกชนในอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ที่เกี่ยวข้องกับการส่งออกสินค้าไปญี่ปุ่นและนักวิเคราะห์ทางเคมี โดยวันแรกเป็นการบรรยายโดยวิทยากรจากญี่ปุ่น สิงคโปร์ และไทย วันที่สองและสามเป็นการอบรมเชิงปฏิบัติการทั้งการเตรียมตัวอย่าง chloramphenicol และ melamine และการฉีดตัวอย่างไปยังเครื่อง LC MS/MS การวิเคราะห์ผล วันแรกมีผู้ฟังการบรรยายทั้งหมด 31 คน ส่วนวันที่สองและสามมีผู้เข้าร่วมปฏิบัติการ 12 คน มีการประเมินผลของการอบรมนี้ พบว่าทุกคนได้เรียนรู้กฎระเบียบของญี่ปุ่น ทำให้สามารถเตรียมรับกฎเกณฑ์เหล่านี้ และเรียนรู้เทคนิคการวิเคราะห์สารตกค้างในเมทริกซ์ของอาหาร สามารถนำไปปฏิบัติได้ในหน่วยงานของตนเอง

การจัดประชุมครั้งที่ 2 วันที่ 17 ธันวาคม 2551 เวลา 8.00-17.00 น. และ วันที่ 18 ธันวาคม 2551 เวลา 8.00-12.00 . ณ ห้องประชุม 100 ปี ศาสตราจารย์ ดร.แถบ นีละนิธิ ห้อง 1119 ชั้น 11 อาคารมหามกุฎ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีผู้เข้าร่วมประชุมทั้งหมด 120 คน มาจากหน่วยงานของรัฐ 26 คน และหน่วยงานเอกชน 94 คน ซึ่งเริ่มการประชุมด้วยหัวหน้าโครงการได้กล่าวรายงาน และคณบดีคณะวิทยาศาสตร์ กล่าวต้อนรับ มีการบรรยายพิเศษโดยกรรมการรองเลขาธิการสภาหอการค้าประเทศไทย เรื่อง "สถานะด้านความปลอดภัยอาหาร" ตามด้วยการบรรยายของผู้วิจัยในโครงการวิจัยเชิงบูรณาการ "โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างทางเศรษฐกิจยุคใหม่" ทั้งหมด 15 โครงการ และมีการนำเสนอโปสเตอร์ของโครงการทั้งหมดด้วย หลังจากสิ้นสุดการบรรยายทั้งหมด ได้มีการประเมินผลการจัดประชุมครั้งนี้ โดยให้ผู้เข้าร่วมประชุมกรอกใบประเมินผล ผลโดยเฉลี่ยมีความพึงพอใจในระดับดี แต่เนื่องจากเป็นผลงานวิจัยต่อเนื่อง 4 ปี ผลงานวิจัยที่เสนอจึงยังเป็นเพียงผลเบื้องต้น ต้องมีการศึกษาอีกต่อไป ทำให้ผลลัพธ์ยังไม่สมบูรณ์และชัดเจนเพียงพอ รวมทั้งเวลาที่นำเสนอสั้นไป เนื่องจากมีจำนวนโครงการมากทำให้ขาดรายละเอียดไปบ้าง ข้อเสนอแนะต่างๆเหล่านี้จะได้นำไปพิจารณาปรับปรุงสำหรับการจัดประชุมเผยแพร่ถ่ายทอดเทคโนโลยีในปี 2552และปี ต่อไป

การจัดประชุมครั้งที่ 3 วันที่ 25 พฤษภาคม 2552 ห้องประชุมของภาควิชาเคมี (ห้อง 100 ปี ศาสตราจารย์ ดร. แถบ นีละนิธิ) ชั้น 11 อาคารมหามกุฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีผู้เข้าร่วมประชุมทั้งหมด 120 คน มาจากหน่วยงานของรัฐ 9 คน และหน่วยงานเอกชน 49 คน ซึ่งเริ่มการประชุมด้วยหัวหน้าโครงการได้กล่าวรายงาน และคณบดีคณะวิทยาศาสตร์ กล่าวต้อนรับ มีการบรรยายพิเศษโดย ผู้อำนวยการศูนย์ปฏิบัติการความปลอดภัยทางอาหาร ผู้อำนวยการสถาบันอาหาร ผู้อำนวยการสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มก. รศ. พญ. พรรณทิพา ฉัตรชาตรี อาจารย์คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์

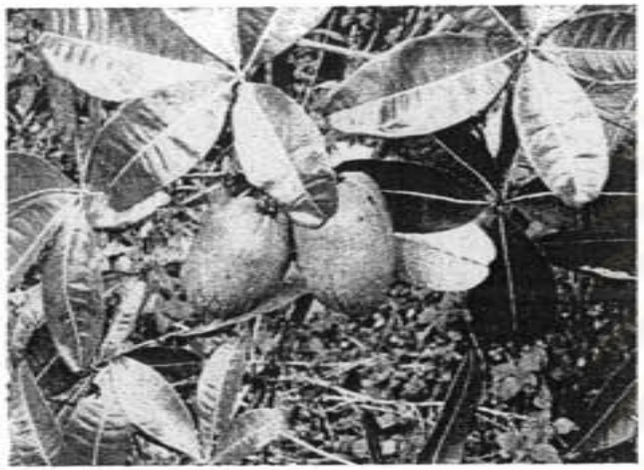
การจัดประชุมครั้งที่ 4 วันที่ 30 มิถุนายน-1 กรกฎาคม 2552 ห้องประชุมชั้น 2 อาคารอัญมณีและตรวจสออัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหารชั้น 16 อาคารมหามกุฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เรื่อง "Agricultural Chemical Residue Analysis in Foods According to Japanese Regulations " จัดขึ้นภายใต้โครงการอบรมและเผยแพร่ความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้กับบุคลากรของหน่วยงานรัฐและหน่วยงานเอกชนในอุตสาหกรรมประมาณ 80 คน โดยการบรรยายพิเศษ วิทยากรจากญี่ปุ่น สิงคโปร์ และไทย

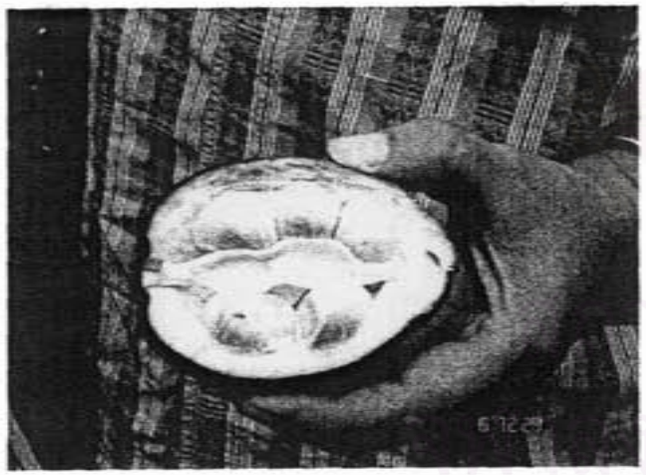
รูปภาพ

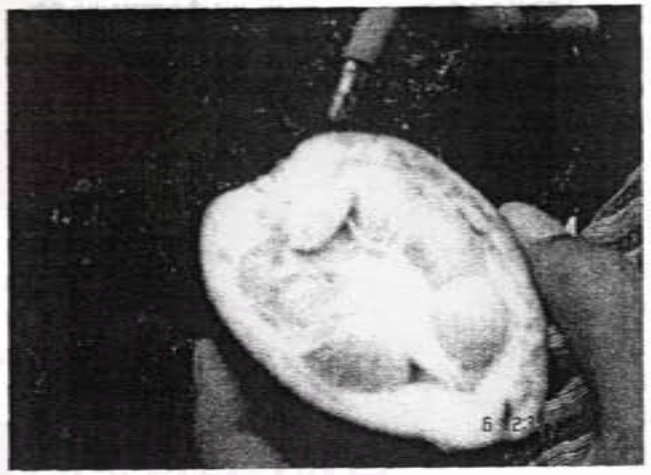
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

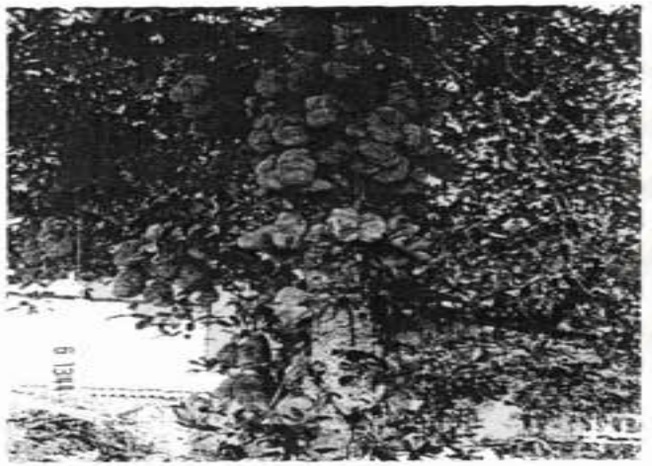
ไปเยี่ยมชมสวนเกษตร สวนพฤกษศาสตร์ จ.เชียงใหม่ วันที่ 7 มิถุนายน 2552

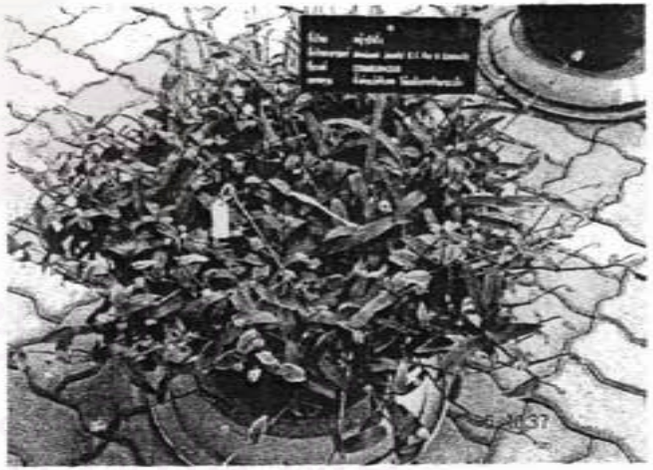
ไปเยี่ยมชมสวนแมคคาดาเมีย บนดอยนกกก และไปเยี่ยมชมดอยตุง จ.เชียงราย วันที่ 8 มิถุนายน 2552

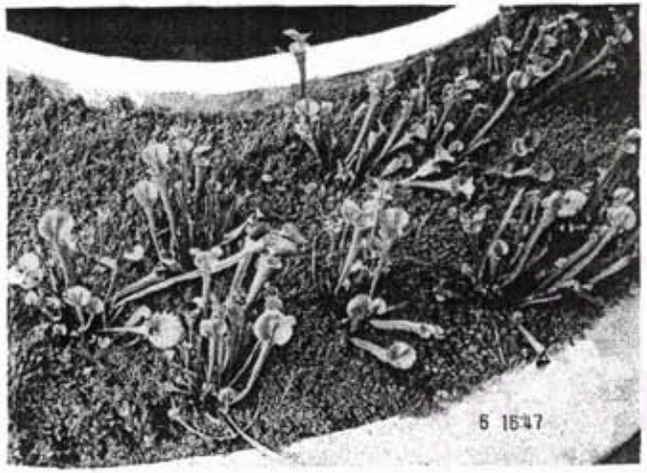


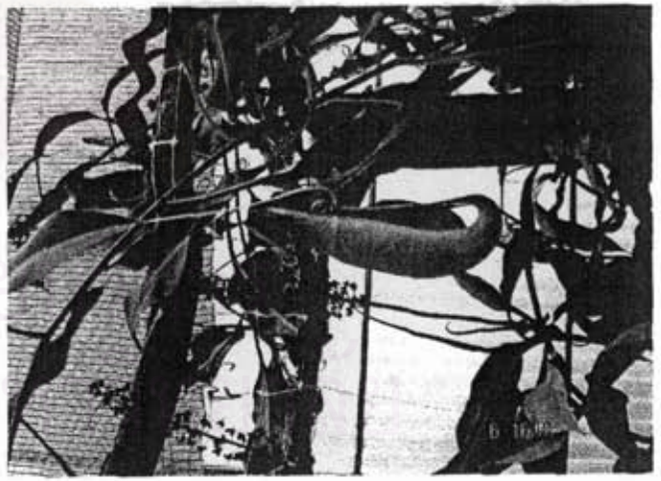


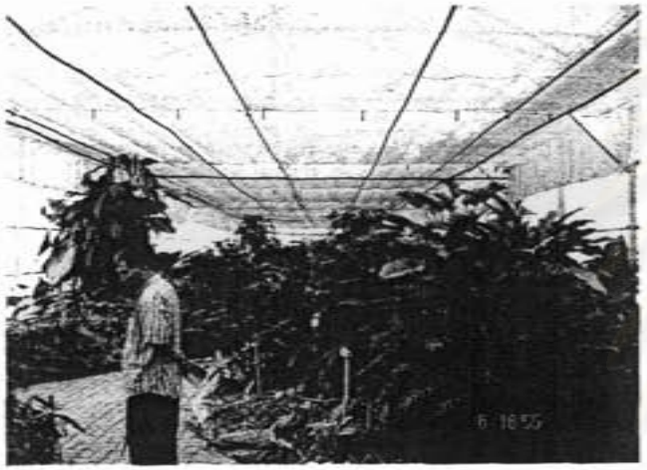


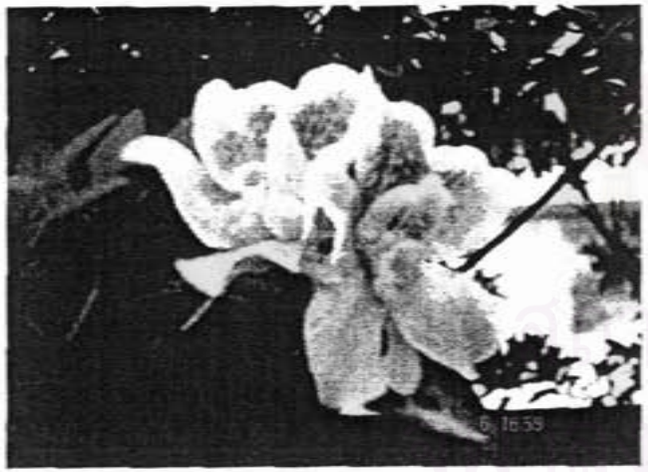


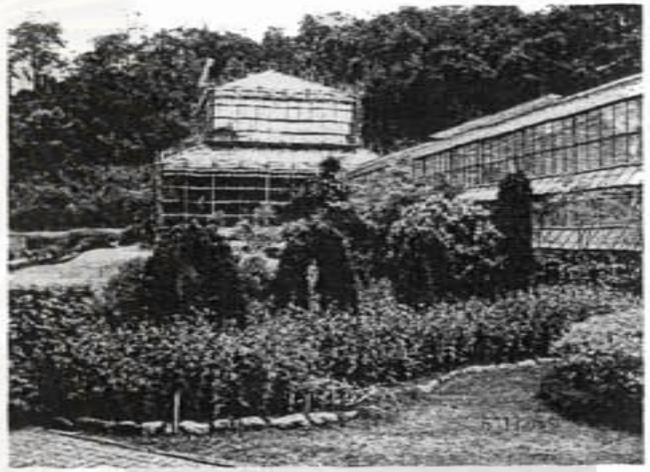


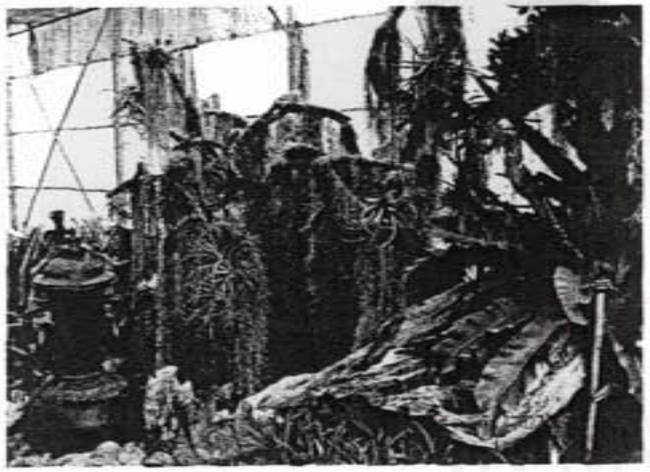

6 1547

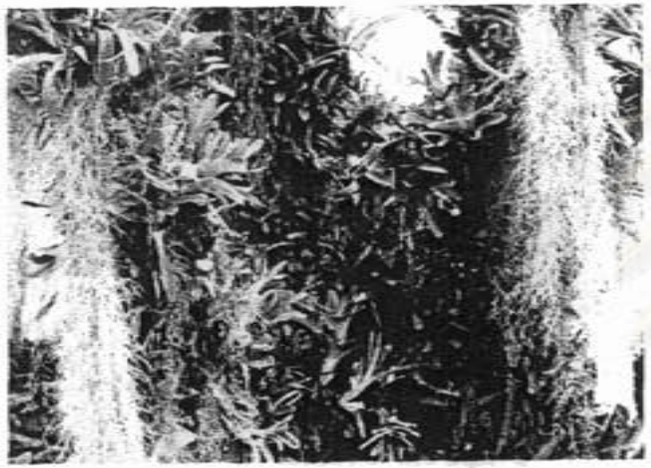


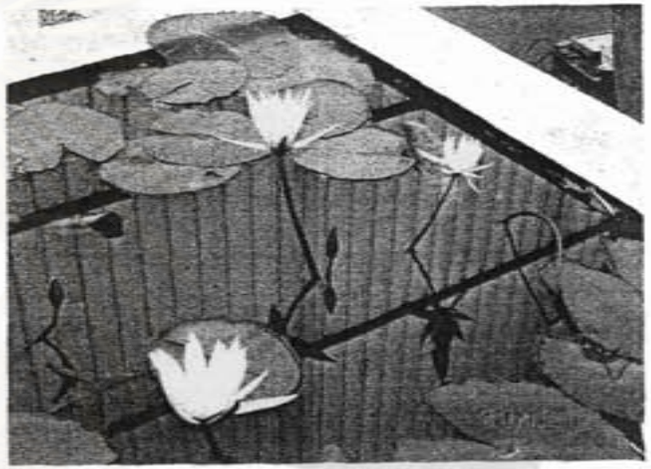


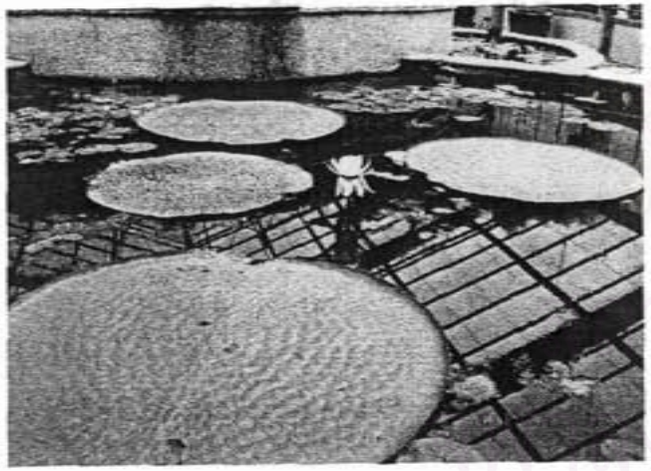


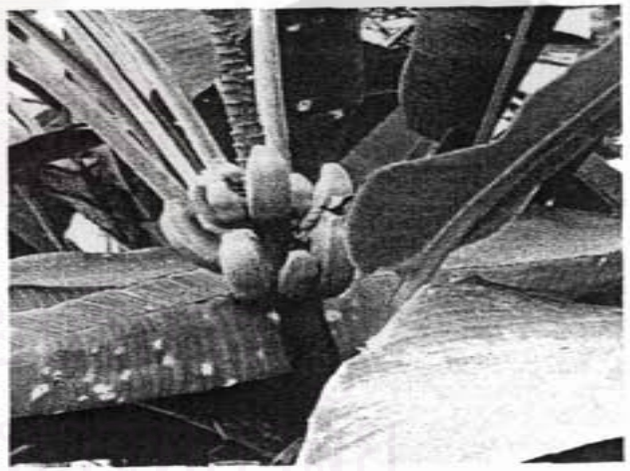


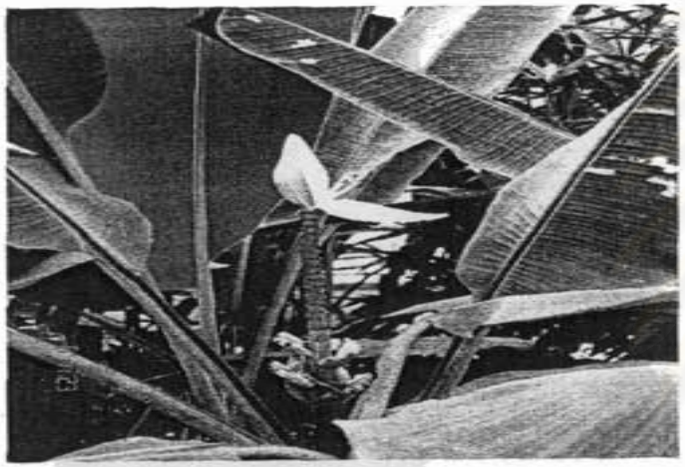


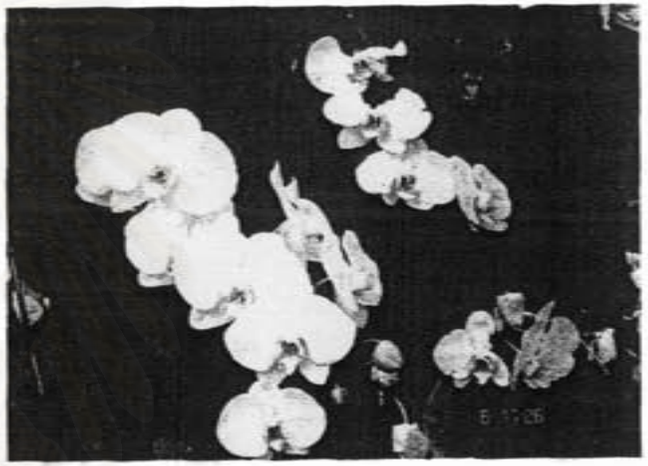


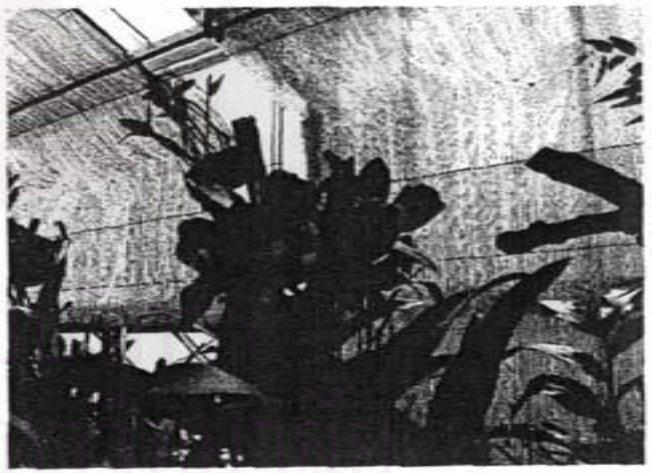


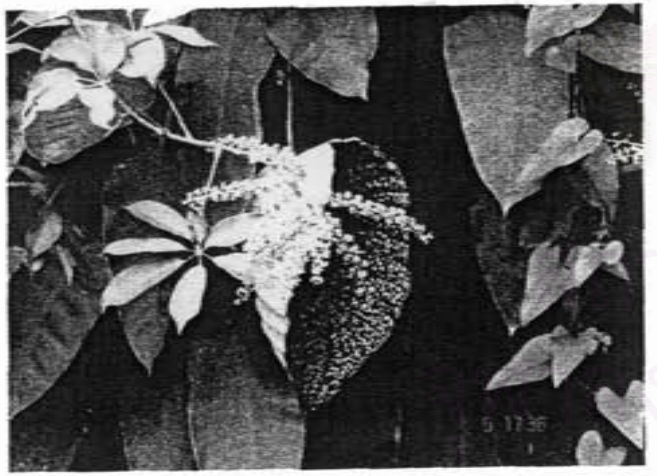


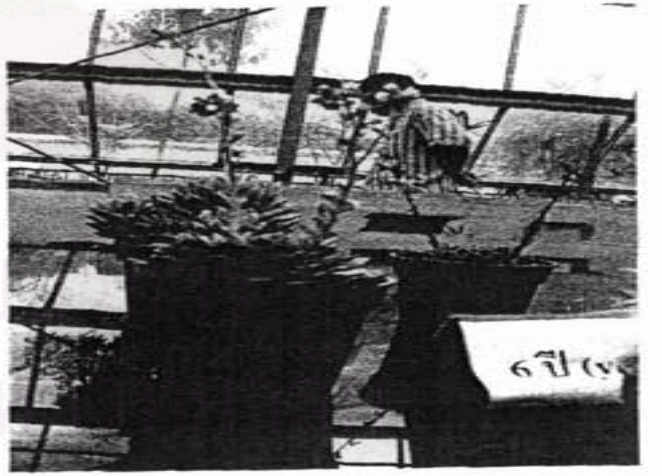


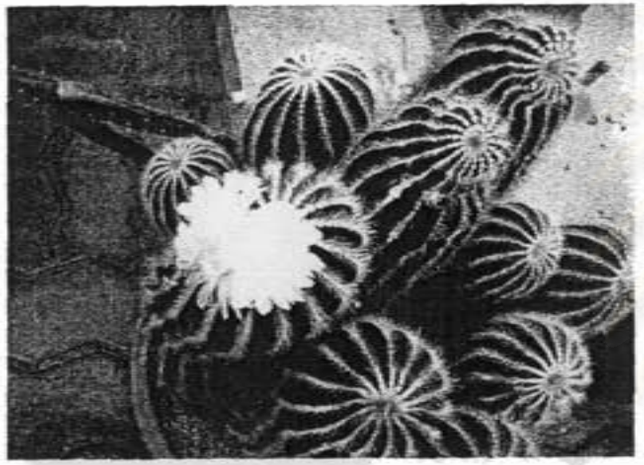


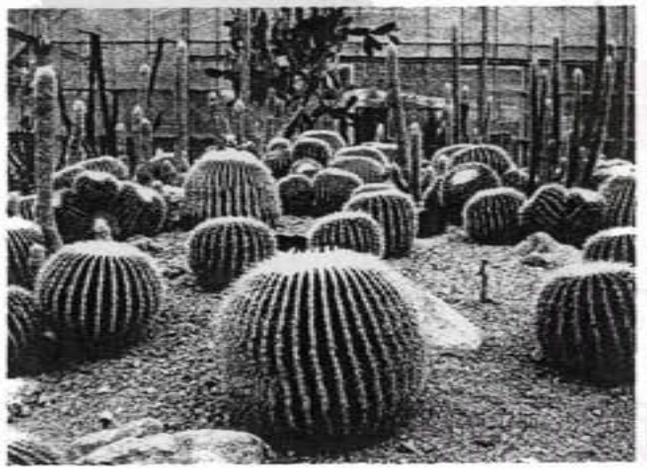


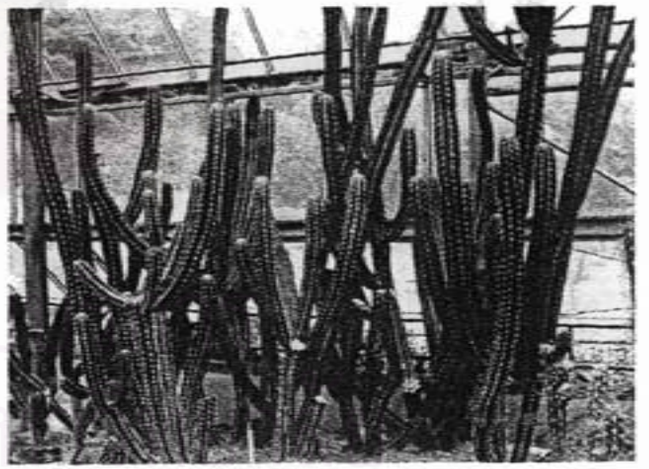




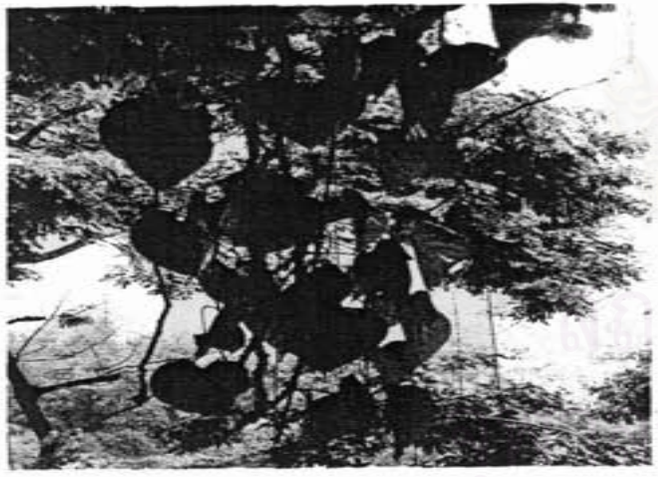


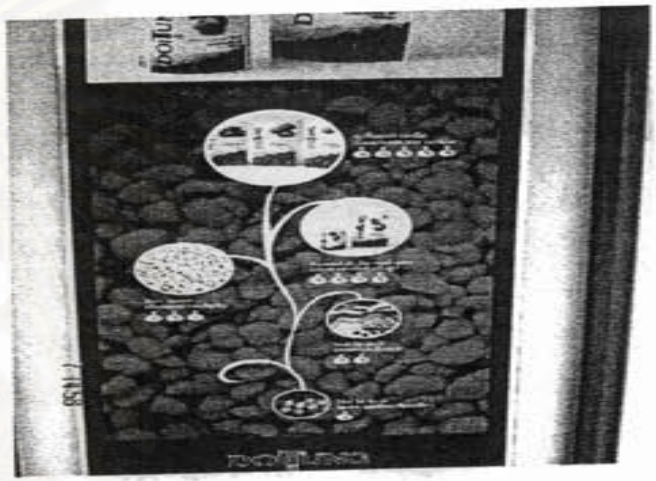


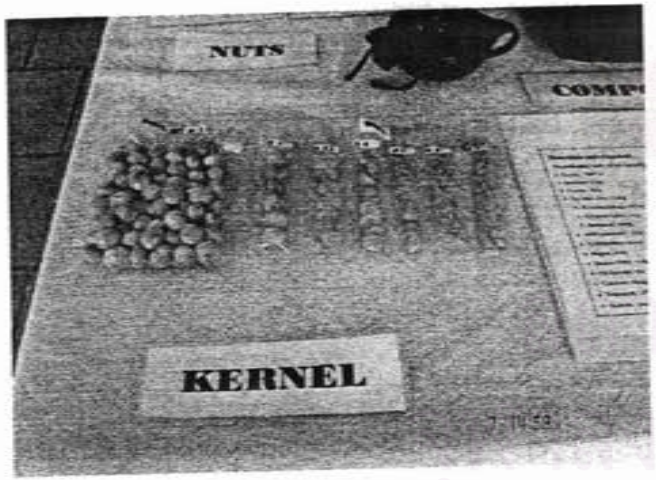




บ้านผาแดง หมู่ 9 ต. ไม้งาม
อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่
สถานีพัฒนาที่ดินเชียงใหม่
สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 5 กรมพัฒนาที่ดิน

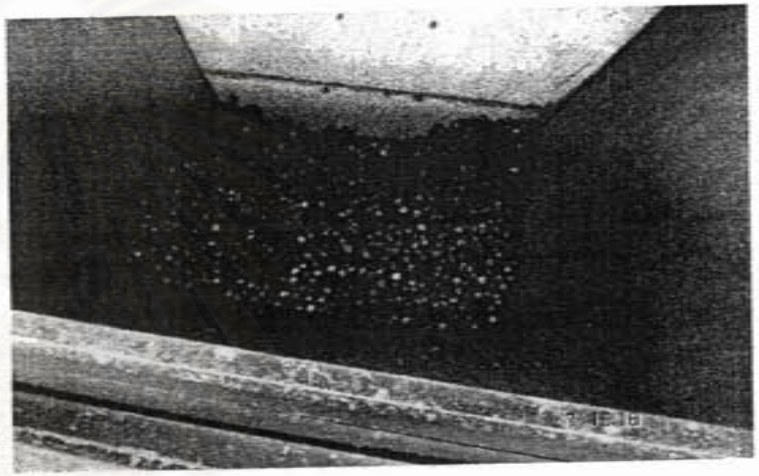


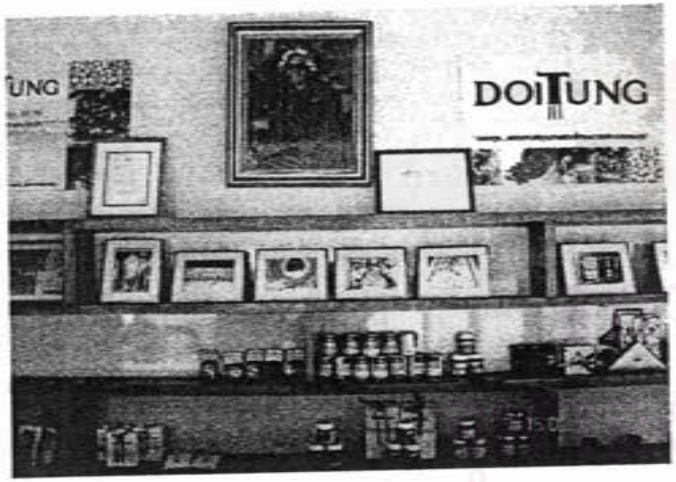


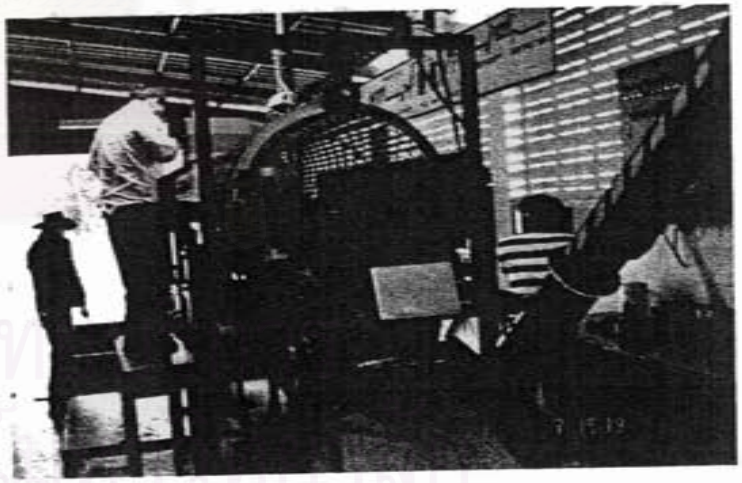

NUTS
KERNEL

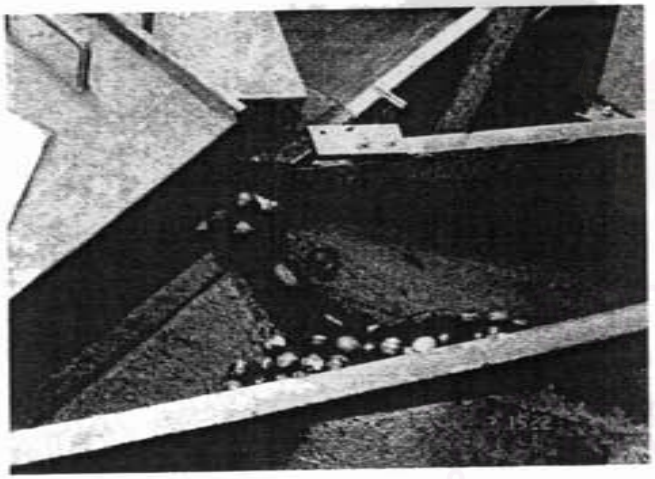
HUSK
SHELL

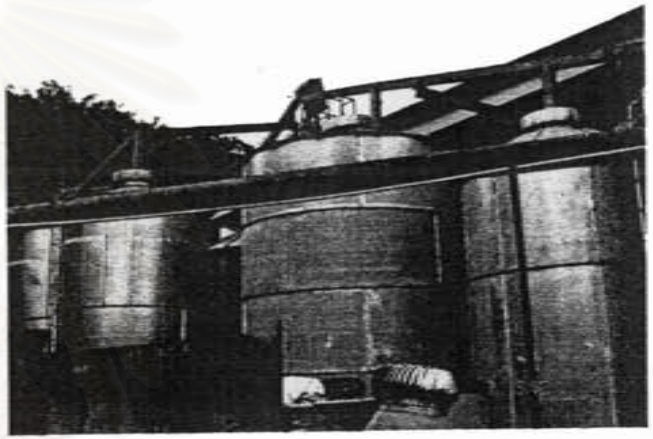
DOITUNG
COOKIES
DOITUNG
DOITUNG
DOITUNG

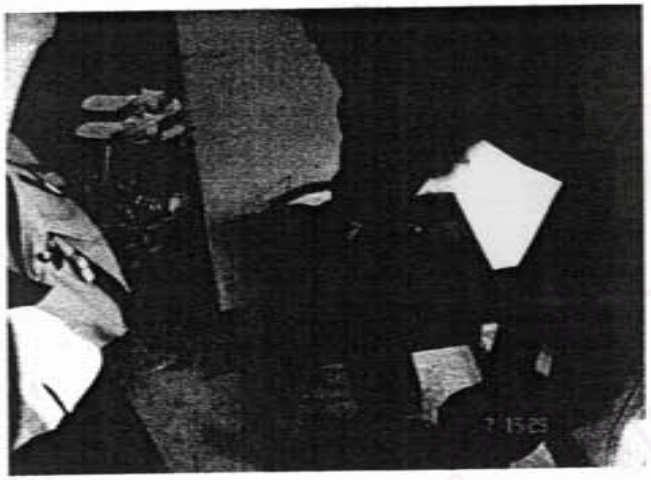



DOITUNG





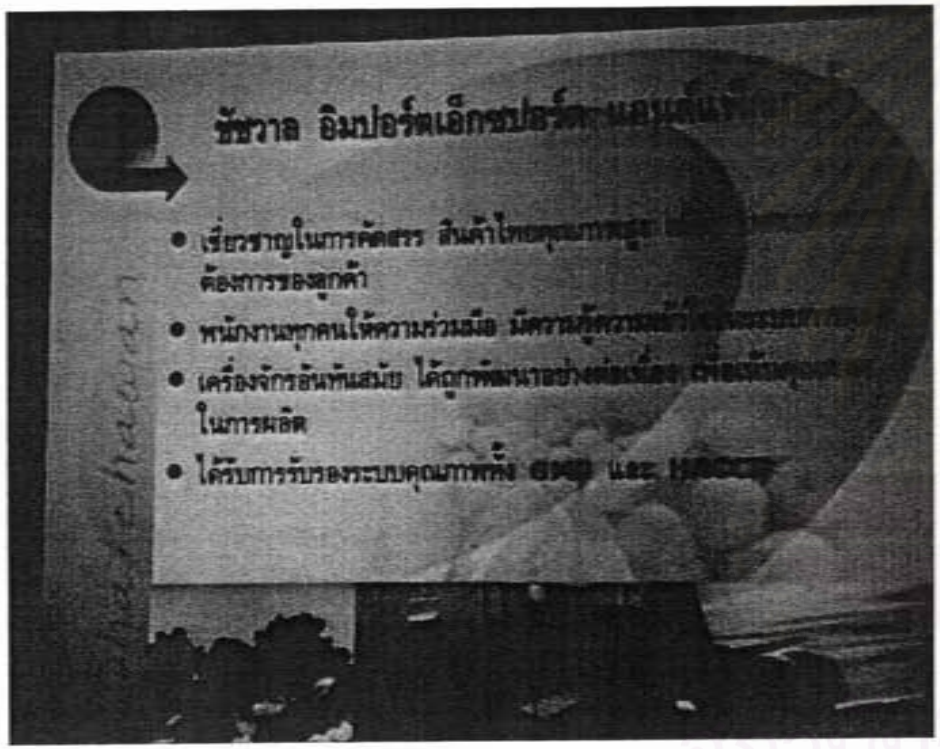




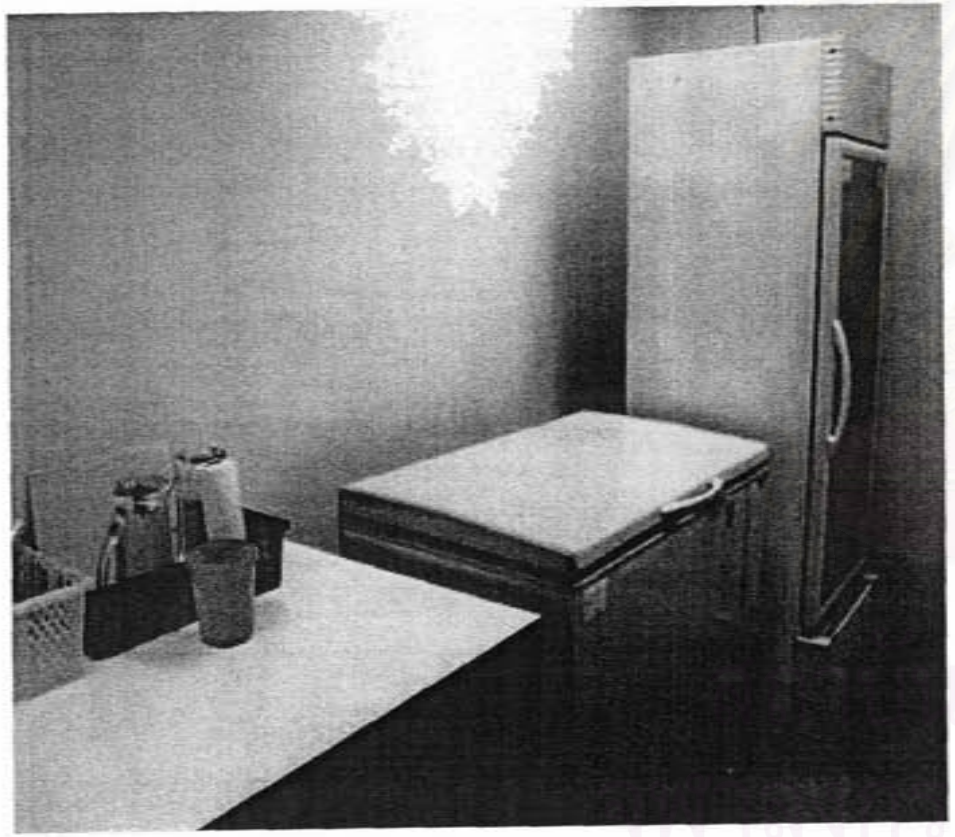
รายงานการเดินทาง ของ รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ก๊กผล รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวาณิชศิริ รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ ไปเยี่ยมชมสวนเกษตรที่ จ.เชียงใหม่ และ ดอยตุง จ. เชียงราย ภายใต้โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ระหว่างวันที่ 7-9 มิถุนายน 2552

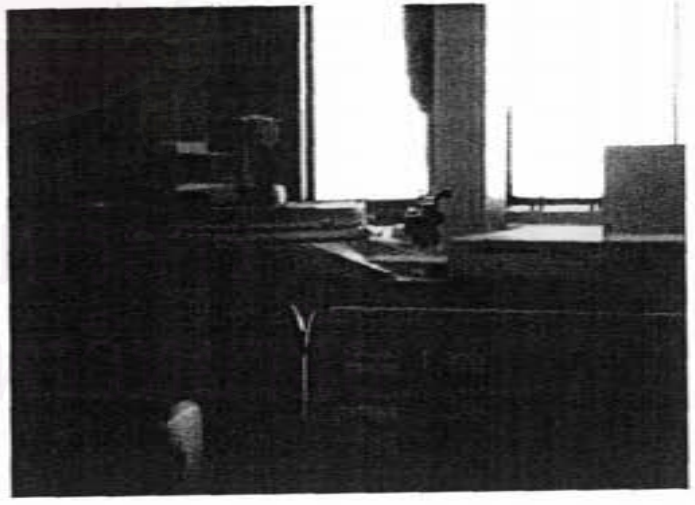
วัน-เดือน-ปี	เวลา	กิจกรรม
อาทิตย์ 7 มิย 52	6.45	พร้อมกันที่สนามบินสุวรรณภูมิ
	7.50	เดินทางไปเชียงใหม่โดยสายการบินไทยที่ TG 120
	9.10	ถึงสนามบินเชียงใหม่
	10.30	เดินทางถึงบ้านพักของคุณประพัทธ์ พิมพ์ประโพธ บนดอยโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เยี่ยมชมสวนเกษตรซึ่งปลูกแมคคาดาเมีย ถั่วศุภโชค (มาฮาบา) พริกเดือยไก่ ฟังการบรรยายและชมขั้นตอนการผลิตแมคคาดาเมีย ตั้งแต่การเก็บผลแมคคาดาเมีย การปอกเปลือกหุ้มภายนอก การอบที่อุณหภูมิ 50°C การแกะเนื้อแมคคาดาเมียออกจากกะลา การเตรียมผลิตภัณฑ์แมคคาดาเมียได้แก่ แมคคาดาเมียคลุกเกลือ ได้พูดคุยถึงความเป็นไปได้ในการศึกษาและวิจัยการนำวัสดุเหลือใช้จากกระบวนการผลิตแมคคานาเมีย เช่น กะลาเพื่อมาผลิต activated carbon น้ำมันแมคคาดาเมีย ใบแมคคาดาเมีย และเปลือกผลภายนอก
	13.00	รับประทานอาหารกลางวัน
	14.30	เยี่ยมชมสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ในสวนมีการจัดแสดงพันธุไม้ต่างๆ เป็นกลุ่มๆ เช่น บัว พันธุ์ไม้เขตร้อนชื้น สมุนไพร พืชทนแล้ง พืชกินแมลง เป็นต้น
	19.00	รับประทานอาหารเย็นและพักผ่อน
จันทร์ 8 มิย 52	8.00	เดินทางไปเยี่ยมชมสวนแมคคาดาเมีย บนดอยนกกก
	10.00	เดินทางไปดอยตุง จังหวัดเชียงราย
	14.00	ถึงสถานีผลิตแมคคานาเมีย ดอยตุง ฟังการบรรยายสรุปและชมขั้นตอนการผลิตแมคคาดาเมียด้วยโรงงานขนาดย่อมและผลิตภัณฑ์จากแมคคาดาเมีย เช่น คุ๊กกี้แมกคาดาเมียคลุกเกลือ และรสชาติอื่นๆ น้ำผึ้งจากดอกแมคคาดาเมีย เป็นต้น
	16.00	เยี่ยมชมที่ทำการดอยตุง ชมวิดิทัศน์การพัฒนาดอยตุง
	19.30	ถึงที่พัก บ้านล้านนา จังหวัดเชียงราย
อังคาร 9 มิย 52	9.00	ออกเดินทางจากที่พักไปสนามบิน
	10.10	เดินทางกลับกรุงเทพ ด้วยสายการบิน TG 131
	11.35	ถึงกรุงเทพโดยสวัสดิภาพ

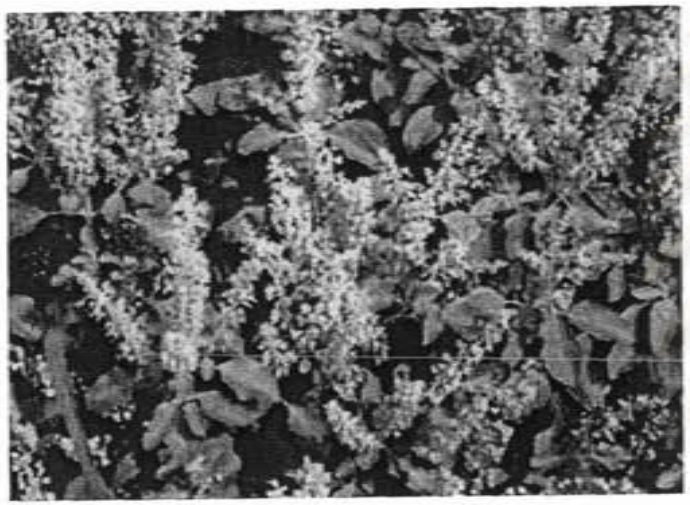
ไปเยี่ยมชมโรงงาน (หจก. อิมปอร์ต เอ็กซ์ปอร์ต เอนด์ เพ็ล เกจจิ้ง)
จ.นครปฐม วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2552

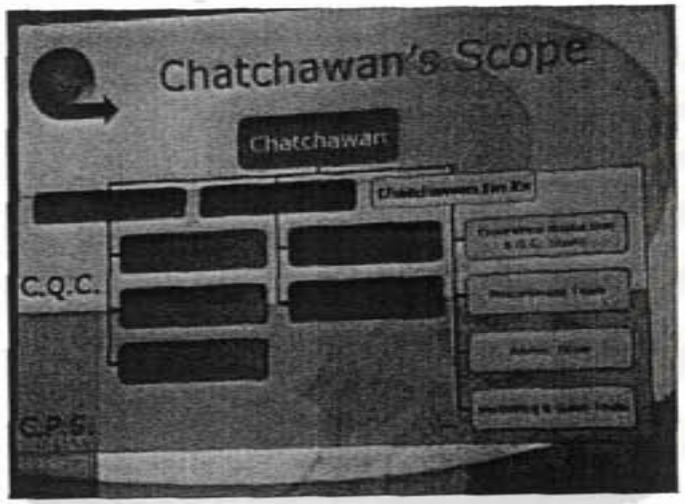


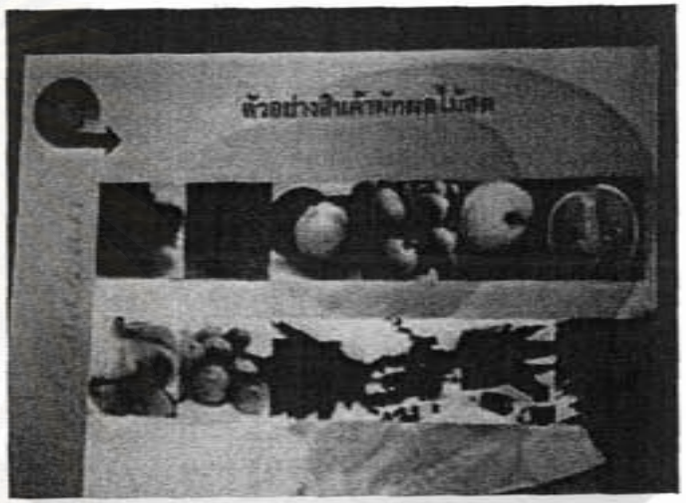
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



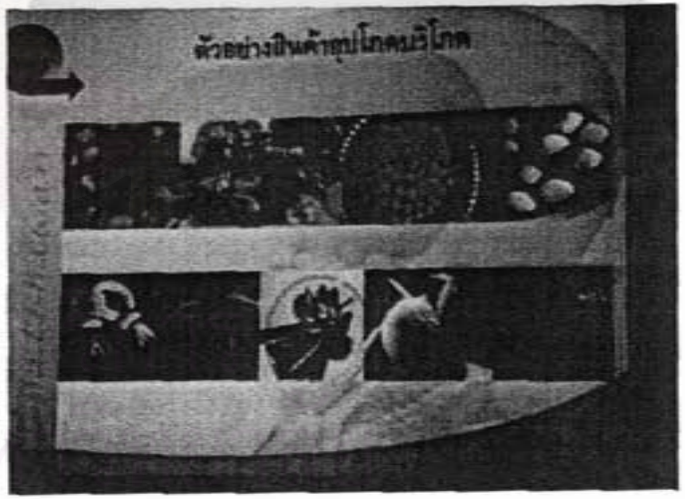


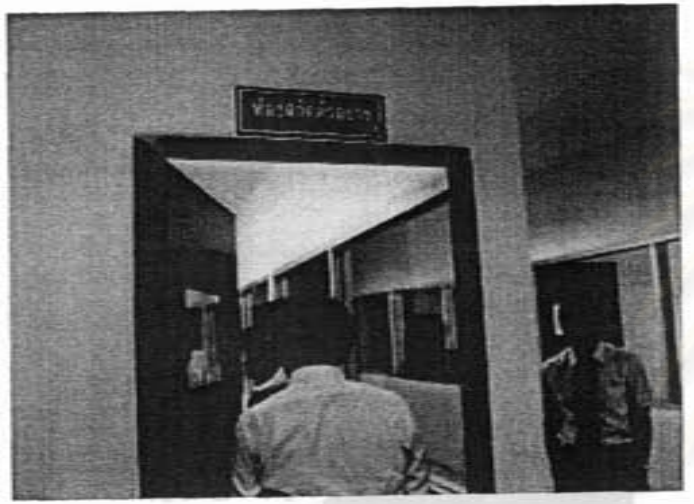


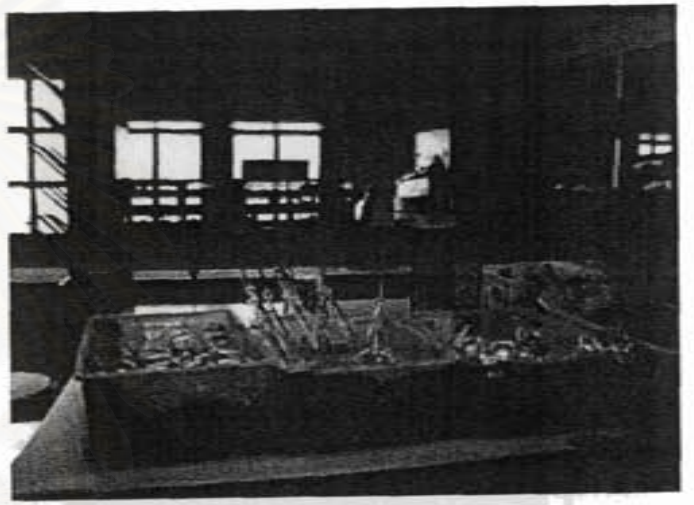

Chatchawan's Scope
Chatchawan
C.Q.C.
C.P.S.

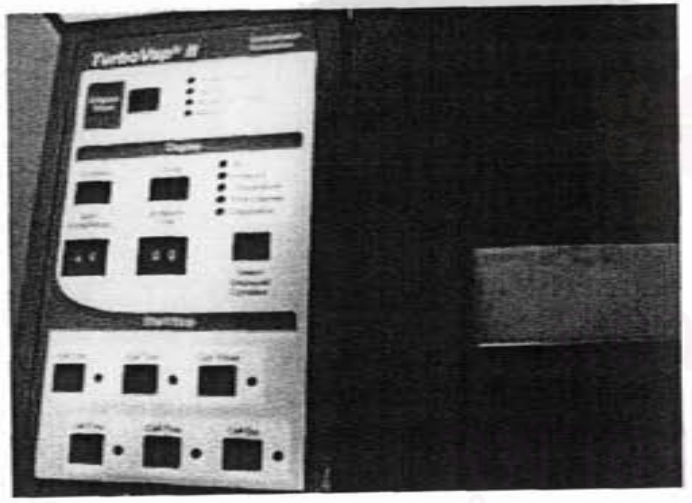

ตัวอย่างสินค้าผักผลไม้สด

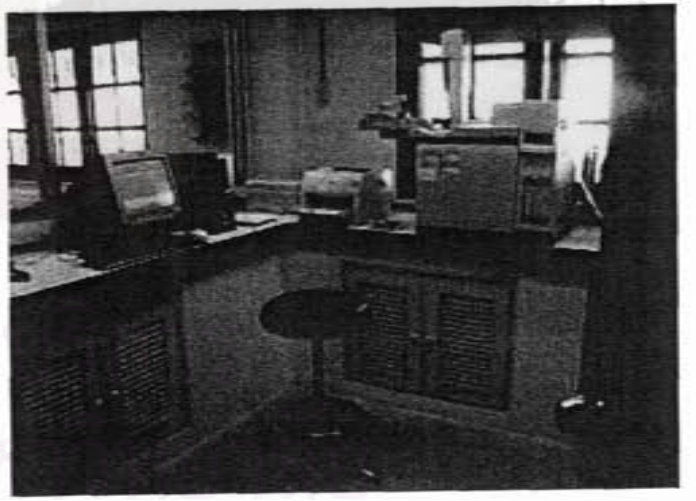
ตัวอย่างสินค้าอาหารทะเลแปรรูป

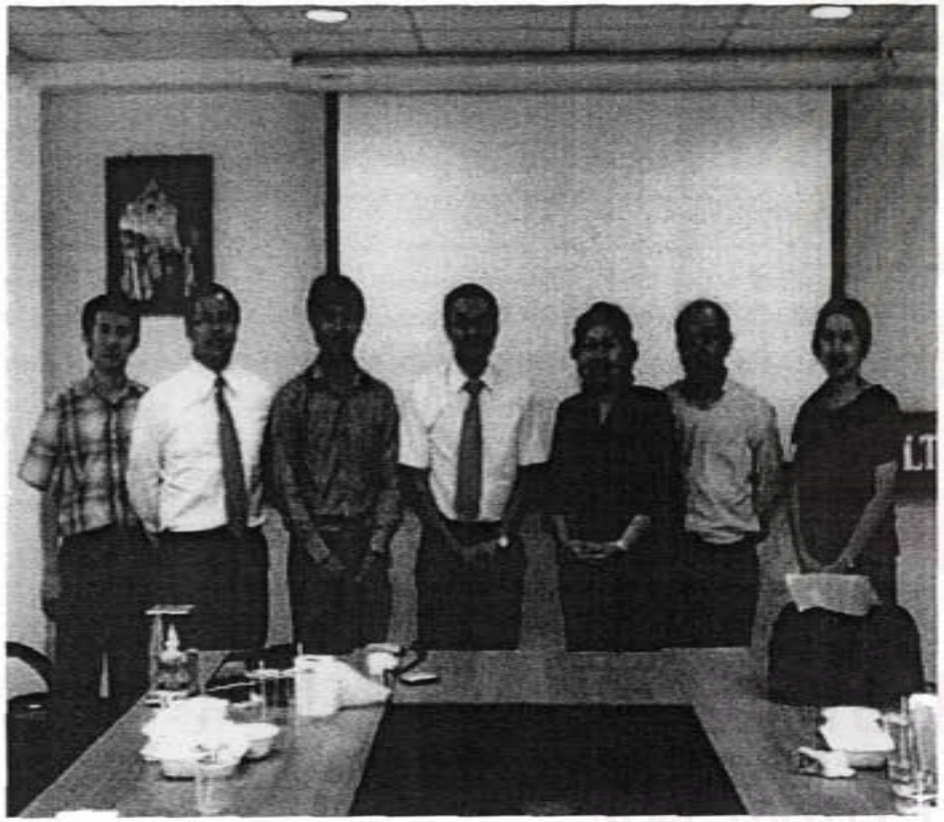

ตัวอย่างสินค้าอุปโภคบริโภค

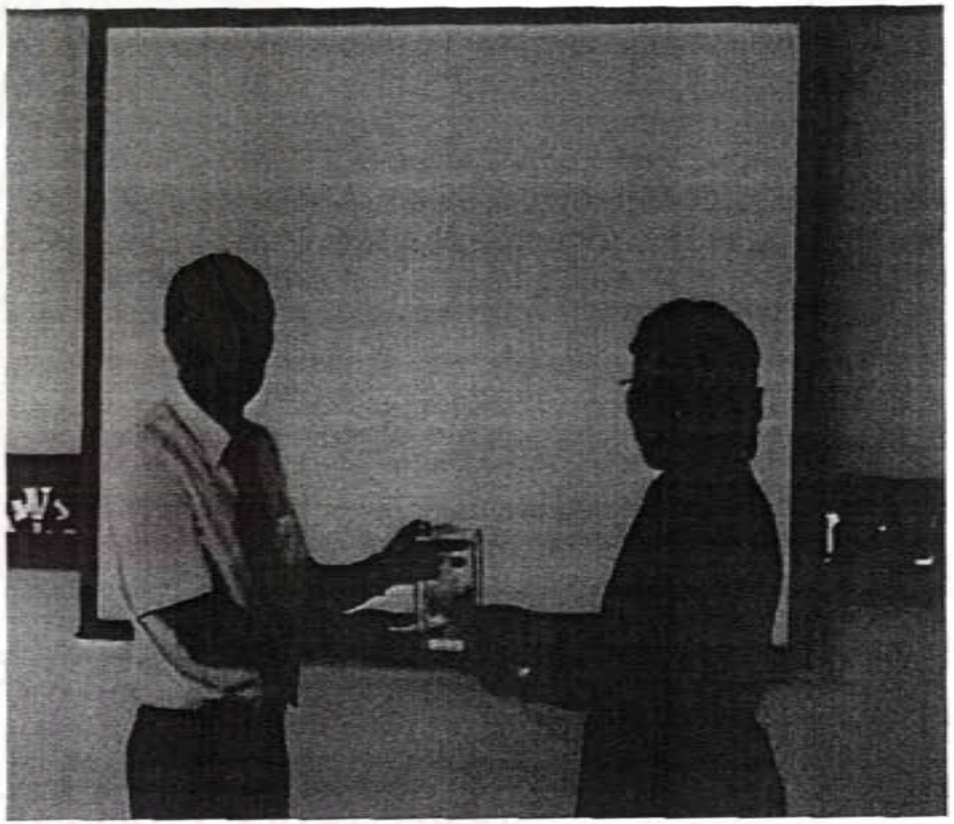




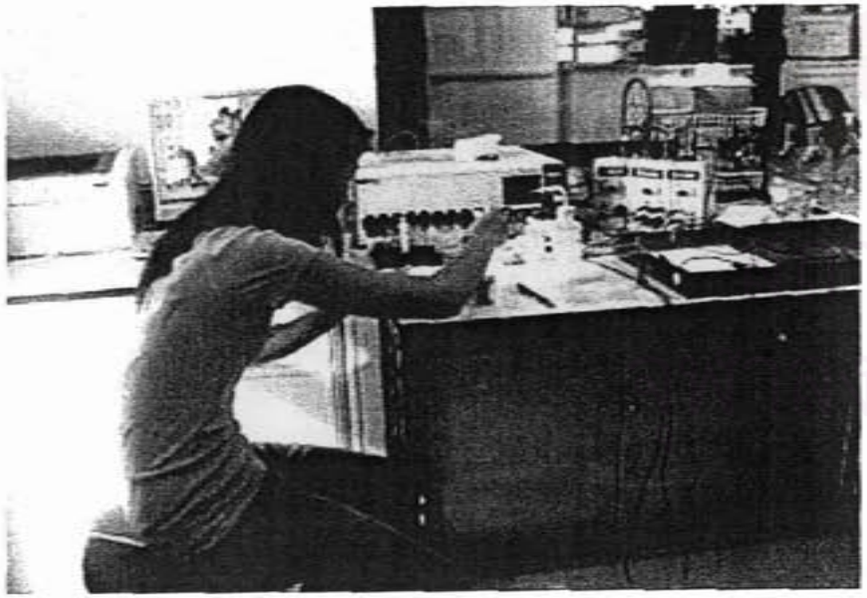

TurboVap® II

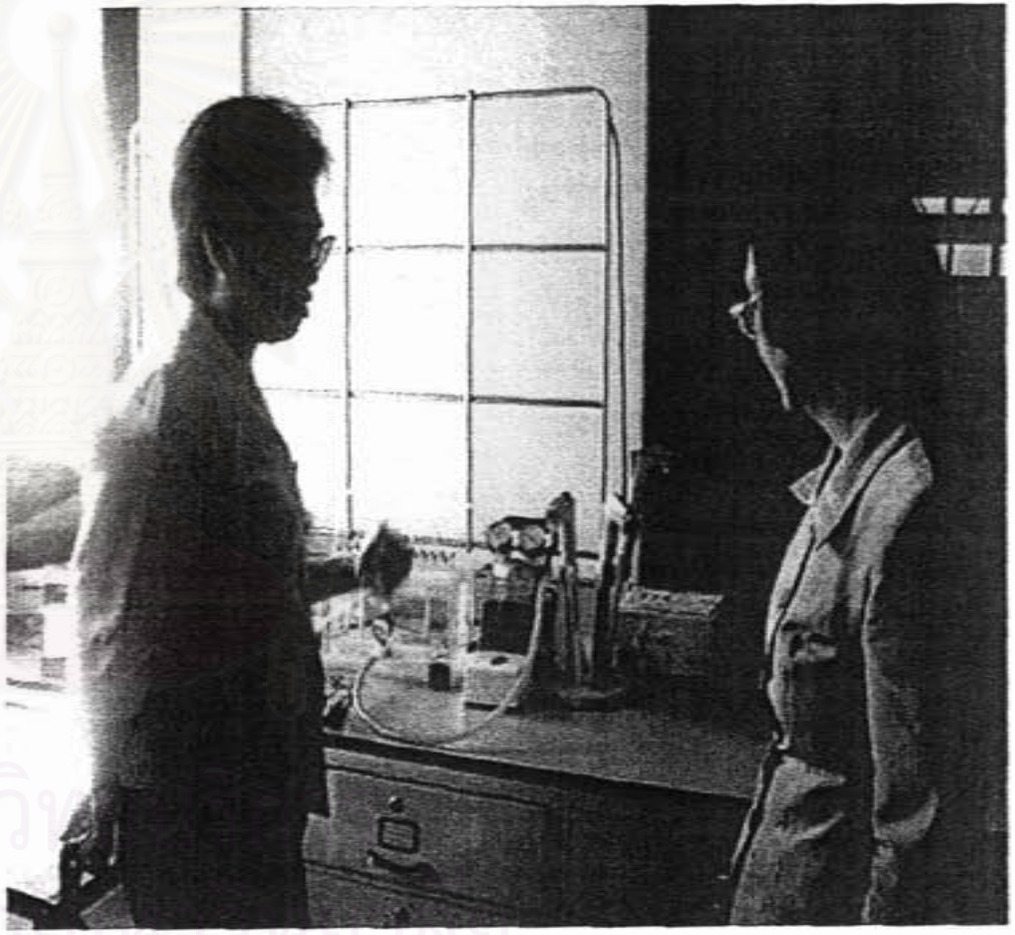


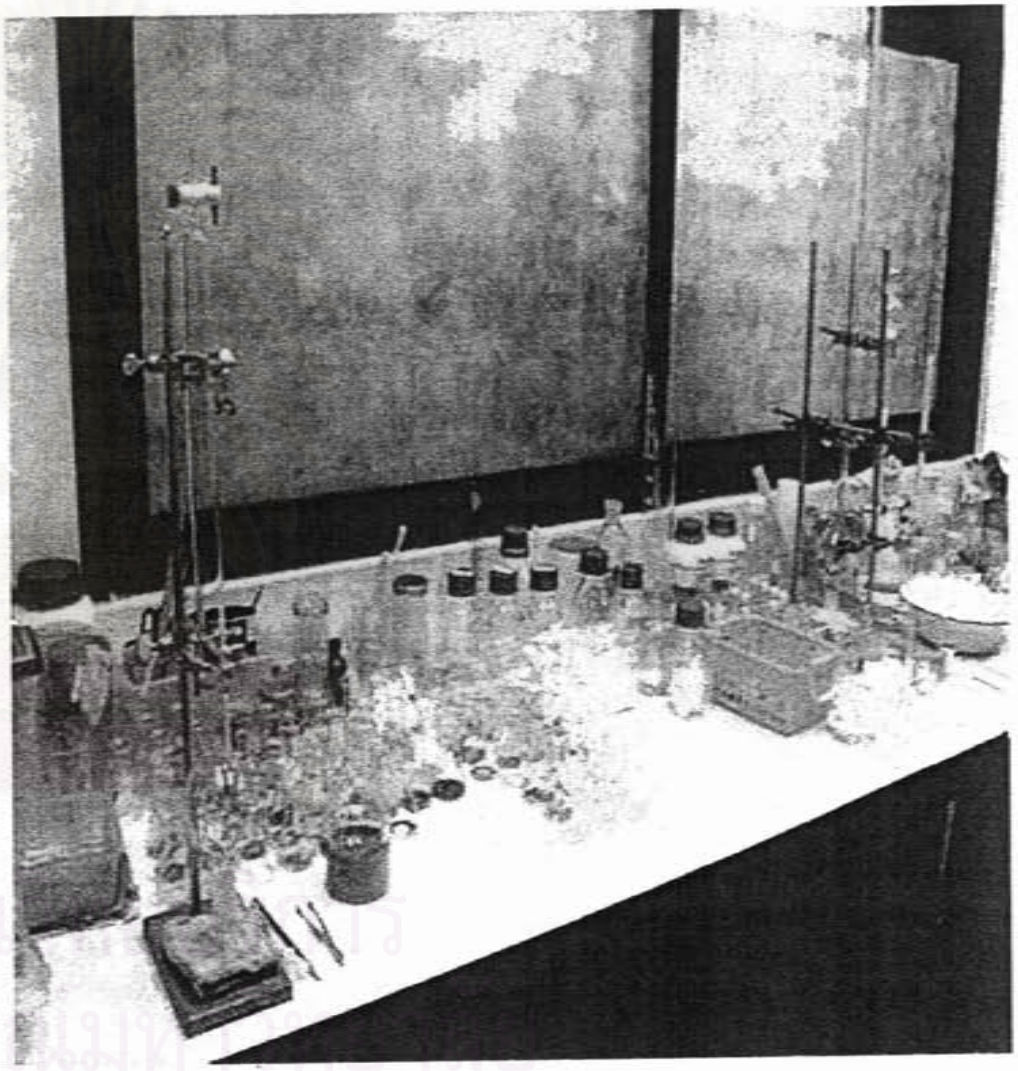


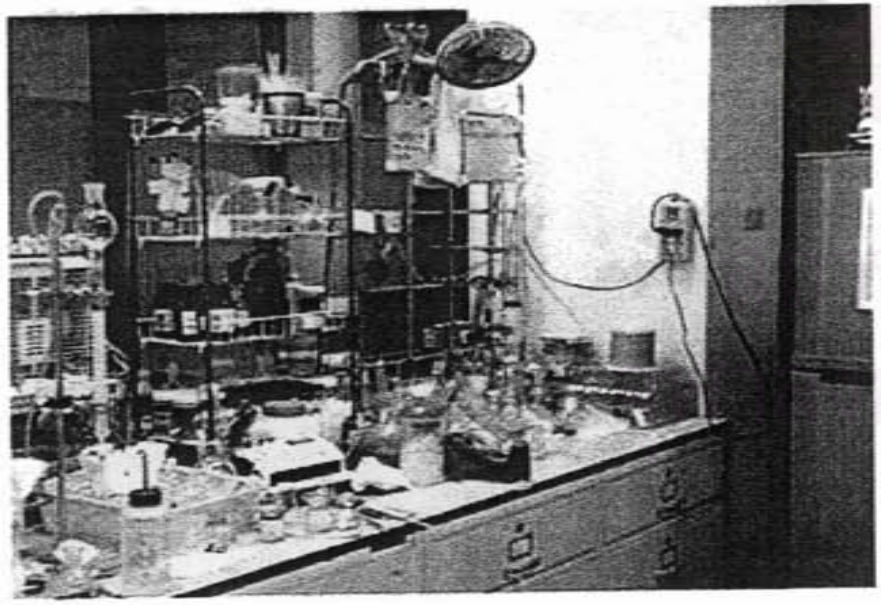


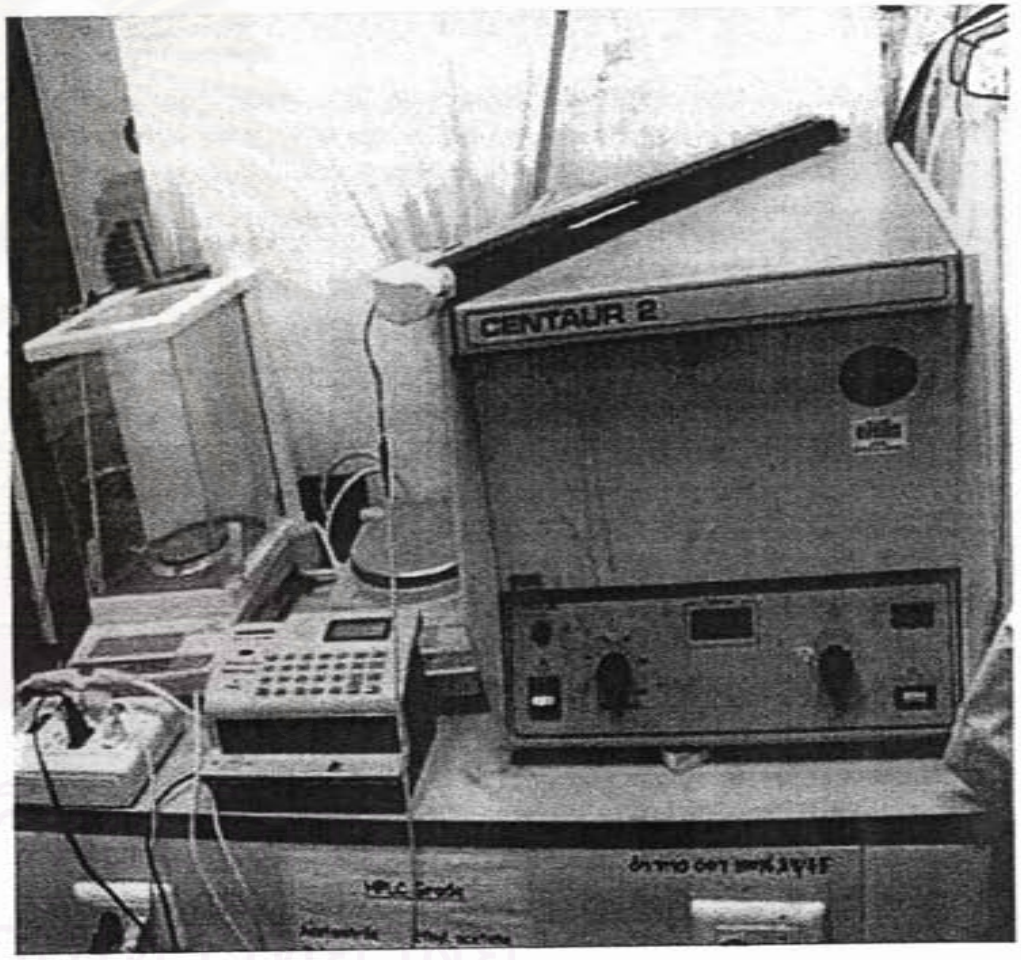
เยี่ยมชมห้องปฏิบัติการของผู้ร่วมวิจัย

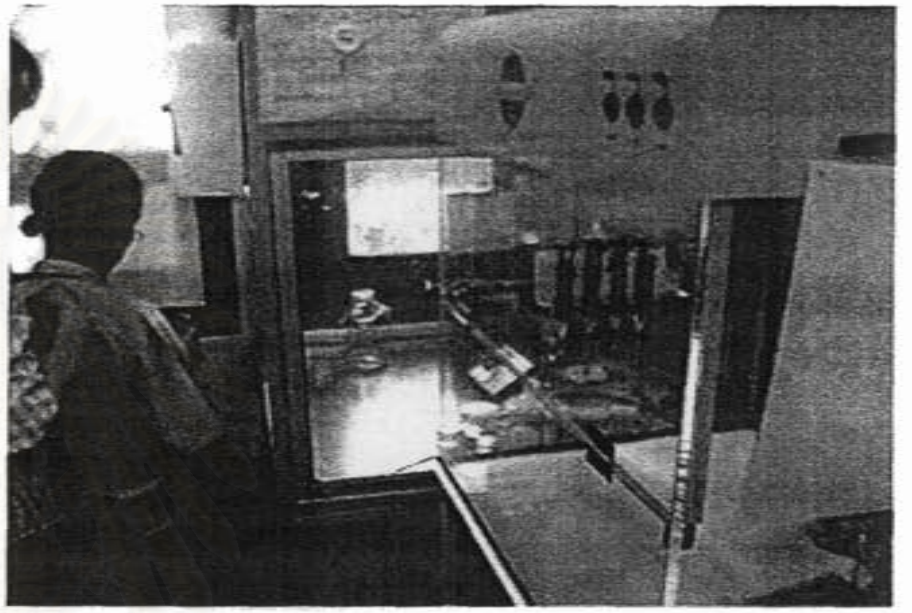


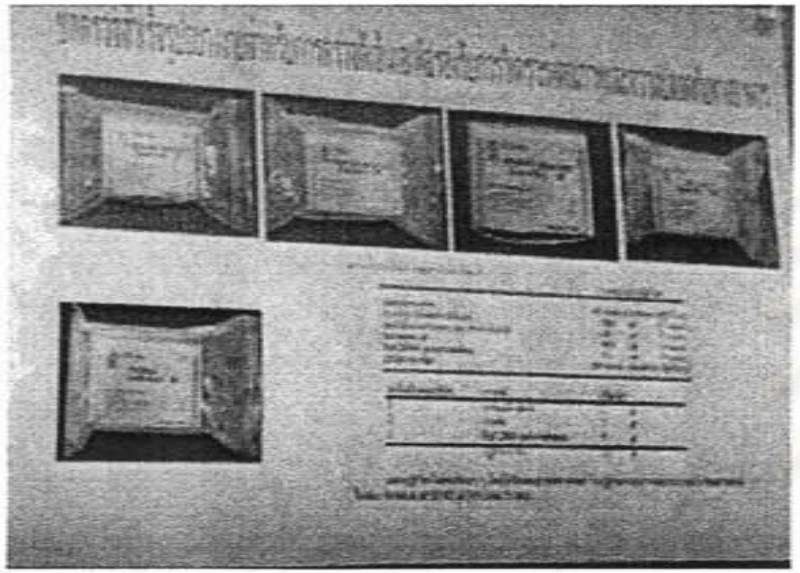


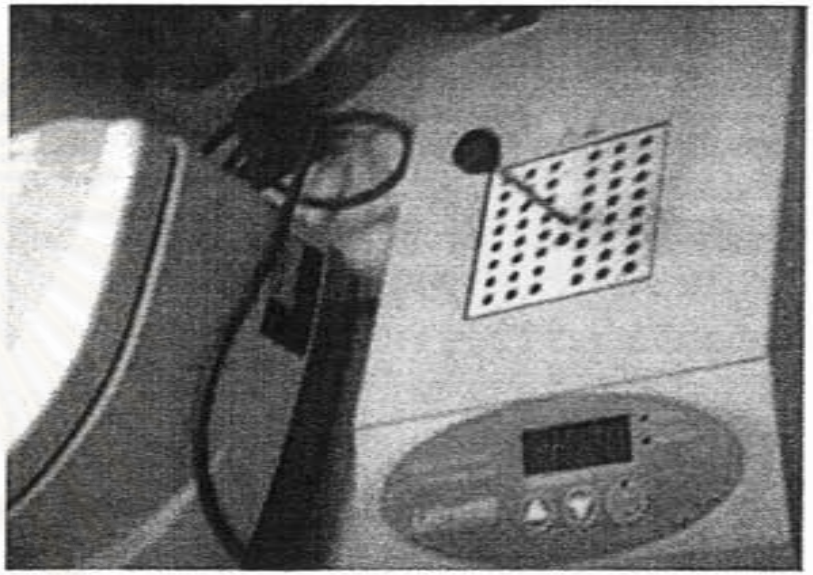


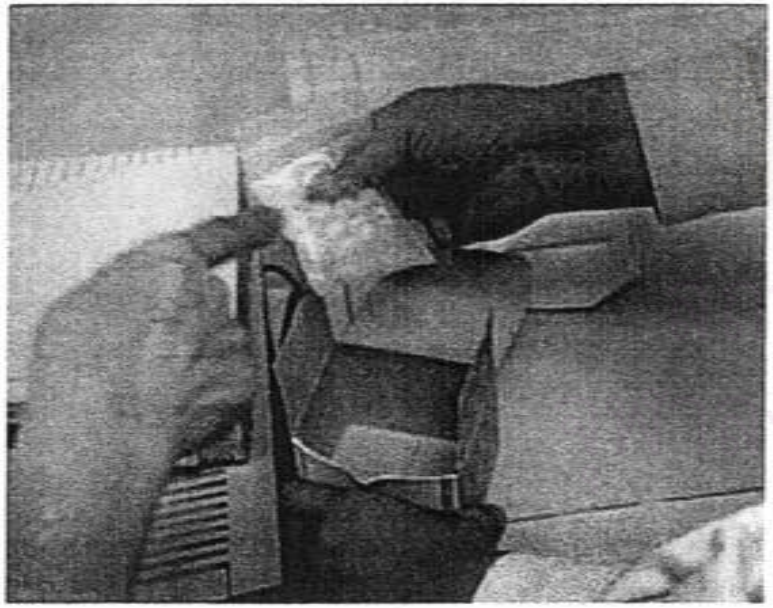


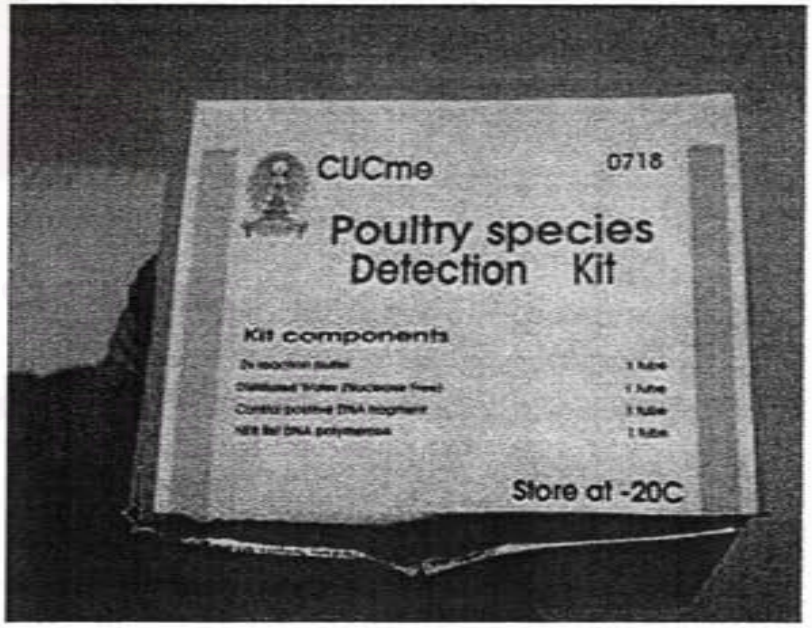

CENTAUR 2

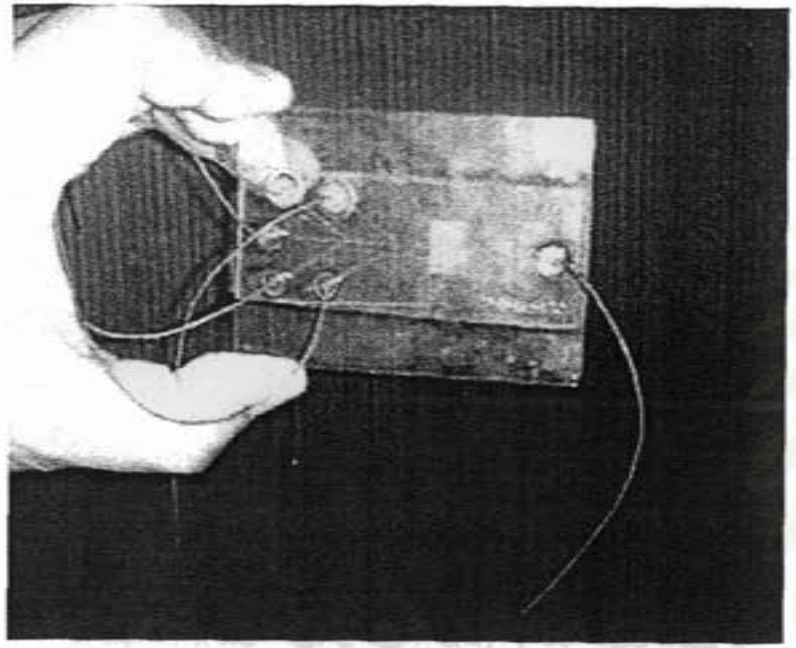


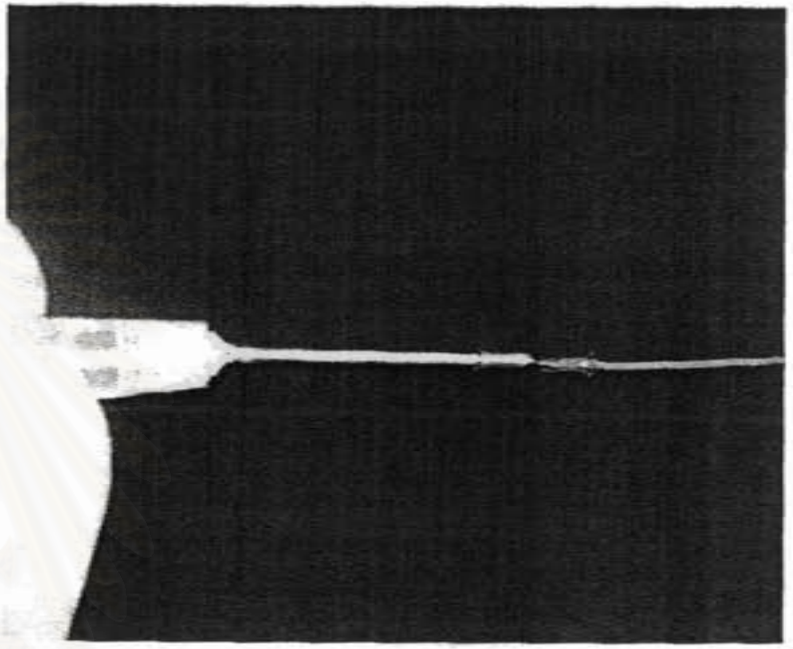


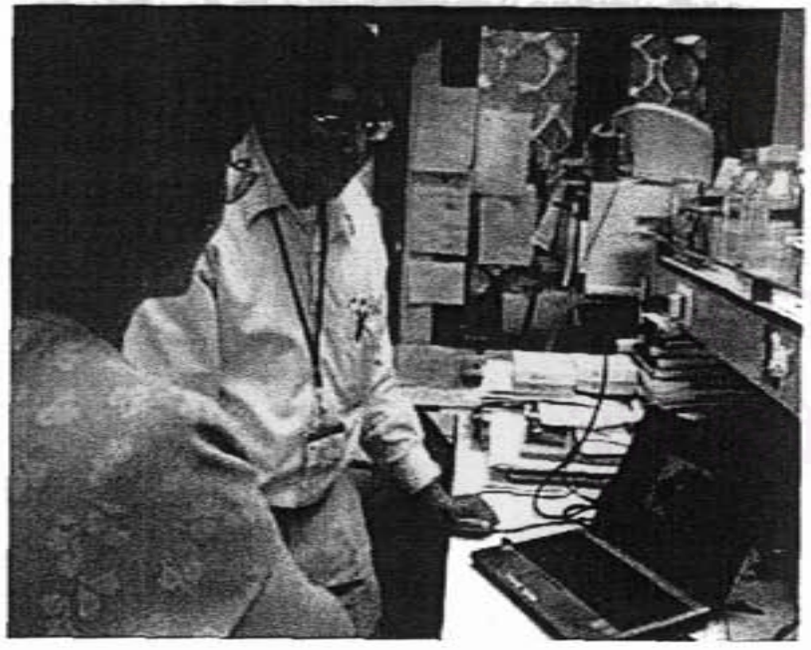




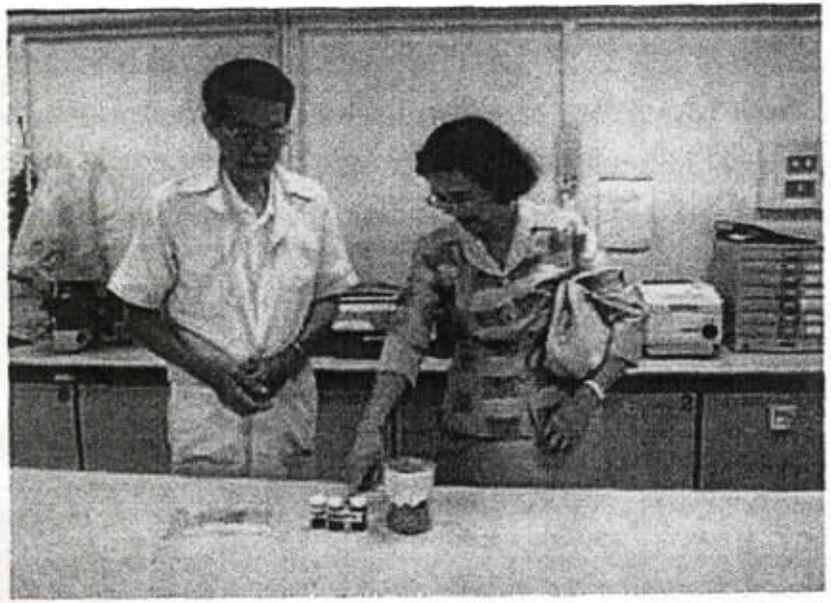

CUCme
0716
Poultry species
Detection Kit
Kit components
Store at -20C

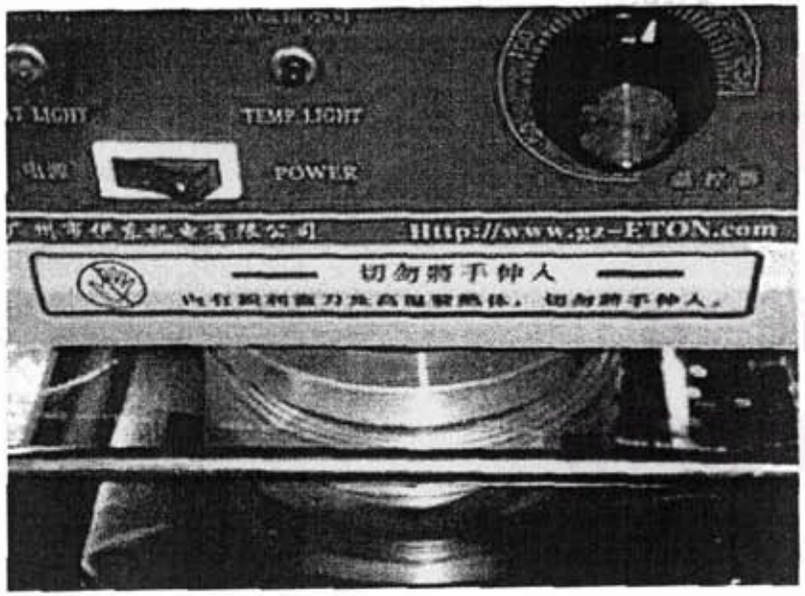


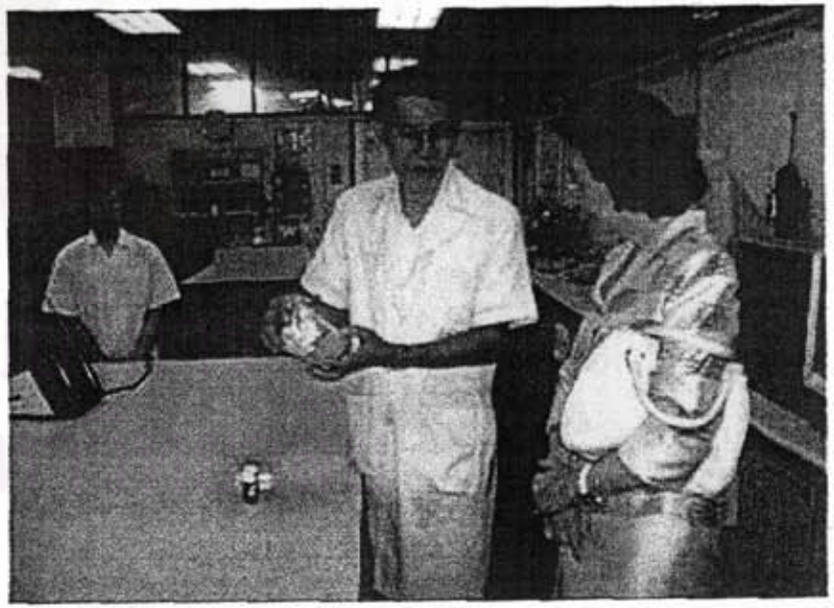


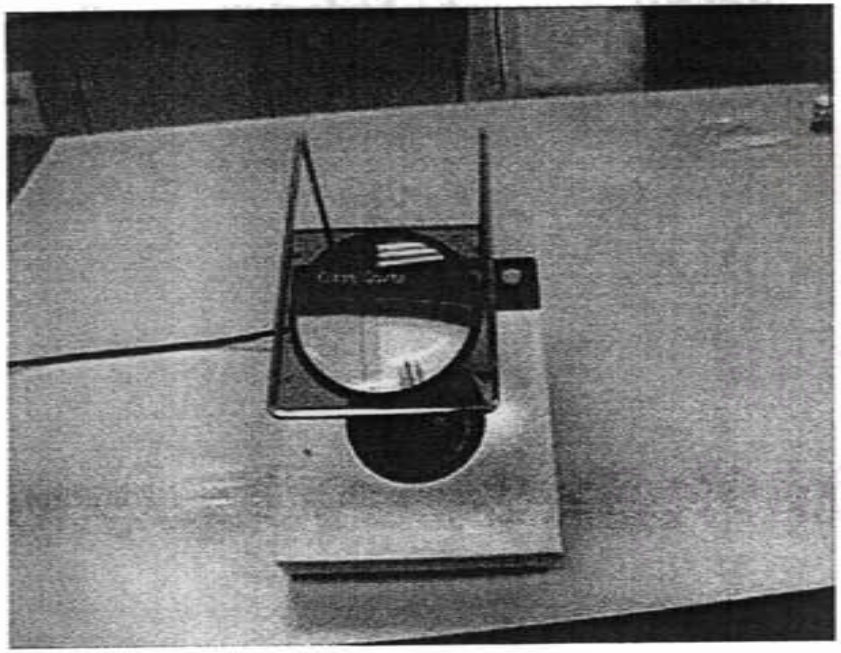


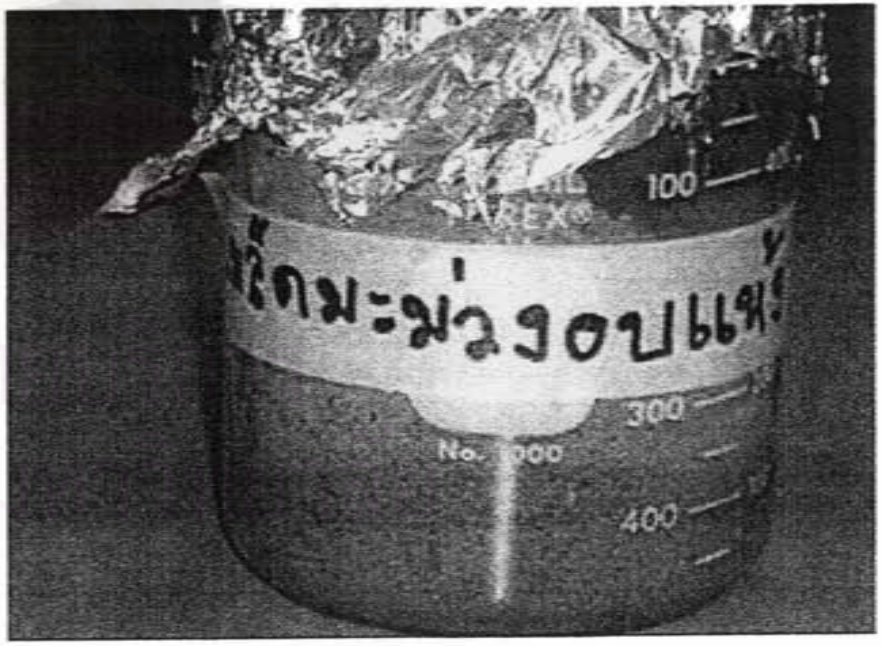
www. cugmoonline.com




TEMP.LIGHT
POWER
Http://www.gz-ETON.com
切勿將手伸入






100
300
400

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยเรื่อง(ภาษาไทย): โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยแนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

(ภาษาอังกฤษ): DNA molecule for novel development in quality and safety analysis of raw materials and processed foods

บทนำ

ประเทศไทยส่งออกอาหารไม่น้อยกว่า 2 แสนล้านบาทต่อปี การประกันคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารจึงเป็นหัวใจหลักในการสร้างความเชื่อมั่นในตัวสินค้าที่เชื่อมโยงไปสู่ความสามารถในการแข่งขันในอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ การตรวจวิเคราะห์เพื่อยืนยันคุณภาพและความปลอดภัยด้วยหลักการทางวิทยาศาสตร์จึงเข้ามามีบทบาท ในอดีตการตรวจวิเคราะห์ใช้วิธีการทางกายภาพ เคมี และชีววิทยา แต่เนื่องจากอาหารส่วนใหญ่แปรรูปไปจากวัตถุดิบเดิมมากจนทำให้การวิเคราะห์มีความยากลำบากขึ้น ความก้าวหน้าทางชีววิทยาโมเลกุลช่วยให้สามารถใช้โมเลกุลธรรมชาติ เป็นดัชนีในการตรวจสอบ โดยพบว่าในบรรดาโมเลกุลชีวภาพเหล่านั้น ดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลที่มีเสถียรภาพมากที่สุด ที่ผ่านมามีผู้นำดีเอ็นเอมาใช้ตรวจเอกลักษณ์บุคคล ความเป็นเครือญาติ และงานนิติเวชศาสตร์กับตัวอย่างที่ผ่านภาวะที่ไม่เหมาะสม ซึ่งการวิเคราะห์ได้ผลชัดเจนเป็นที่ยอมรับและช่วยลดข้อโต้แย้งได้ดี อย่างไรก็ดีเทคนิคในปัจจุบัน มีข้อจำกัดที่จำเป็นต้องใช้ บุคลากรที่มีความรู้ ทักษะ ต้องลงทุนด้านเครื่องมือและห้องปฏิบัติการ และที่สำคัญไม่สามารถใช้งานได้ในภาคสนาม จึงทำให้การประยุกต์มีขอบเขตจำกัด

โครงการนี้อาศัยข้อได้เปรียบในการตรวจด้วยโมเลกุลดีเอ็นเอ มาใช้ในการพัฒนาการตรวจบนพื้นฐานเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า isothermal DNA amplification และคุณสมบัติเรืองแสง และสมบัติทางไฟฟ้าเคมีของดีเอ็นเอ ช่วยให้การตรวจสามารถดำเนินการได้ในภาคสนาม ตอบหลักการ point of care เน้นการตรวจการปนของ GMOs การปนชนิดพันธุ์ข้าว การรับรองความแท้ หรือการปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือเพื่อเป็นแม่แบบเริ่มต้นและผลในรูปชุดสำเร็จที่ใช้เทคนิคที่ไม่ต้องพึ่งพาห้องปฏิบัติการ ไม่ใช้น้ำยาราคาแพงทำให้ลดค่าใช้จ่ายและข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ที่มีในปัจจุบันลงอย่างสิ้นเชิง นอกจากนี้ยังเน้นการสร้างโมเลกุลมาตรฐานเพื่อทดแทนการใช้ Certified Referance Materials ที่มีราคาแพง

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการมีแผนงานวิจัยที่จะต้องดำเนินการในปีงบประมาณ 2551 แบ่งเป็น 5 ส่วนได้แก่

1.) พัฒนาชุดสำเร็จในการตรวจสอบชนิดของข้าวและชนิดของรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอ การปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือ

ในปีงบประมาณ 2551 ได้ดำเนินการ

- การพัฒนาวิธีการอย่างง่ายและมีประสิทธิภาพในการตรวจการปนของข้าว เน้นการรับรองพันธุ์หอมมะลิ 105 (เพื่อในอนาคตจะเปรียบเทียบสัดส่วนจีโนมของพันธุ์หอมมะลิ 105 กับ internal sps ยีน เริ่มจากการเลือกใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์และมาร์คเกอร์ A15 เพื่อการออกแบบคู่ไพรเมอร์ และประกอบปฏิกิริยาในการวิเคราะห์โดยใช้โมเลกุลดีเอ็นเอเป็นหลักและปรับระบบให้มีความง่ายและสะดวกในการดำเนินการสำหรับการทดสอบปฏิกิริยาที่สังเคราะห์ขึ้น

2.) พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยด้วยอุณหภูมิระนาบเดียวในรูปแบบชุดสำเร็จรูป โดยได้ศึกษาข้อมูลยีน ออกแบบและไพรเมอร์และทดสอบประสิทธิภาพของ ไพรเมอร์ในระบบสำหรับการตรวจ screening GMOs ระบบสำหรับตรวจ bovine species ระบบสำหรับการตรวจการติดเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv citri และระบบสำหรับการตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้จากถั่วลิสง โดยแสดงผลได้ทั้งในรูปการเรืองแสงและการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเคมี ทั้งหมดทดสอบปฏิกิริยา ผ่านเกณฑ์ 3 ประการได้แก่ specificity sensitivity และ reproducibility

3.) พัฒนาวิธีการวิเคราะห์บนพื้นฐานการนำไฟฟ้าภายในมวลโมเลกุลในลักษณะดีไวซ์ ศึกษาและพัฒนารูปแบบการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้การจับตัวระหว่าง binder กับ ดีเอ็นเอในระบบตรวจสอบ ศึกษาเงื่อนไขของปฏิกิริยาเพื่อต่อยอดเข้ากับชุดสำเร็จรูปที่พัฒนาขึ้น

4.) พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิง

- เตรียมโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิงตามที่มีรายงานในวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์ด้วยวิธีของ Meyer *et. al.*, 1995 การตรวจสอบรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอและการตรวจสอบ ตรวจสอบชนิดของข้าวตามข้อ 1.) โคลนชิ้นดีเอ็นเอเข้าสู่ พลาสมิดโดยหลักการ TA cloning คัดเลือกโคลนที่ได้ เพื่อสังเคราะห์เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน

5) สร้างระบบการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐาน ISO 17025 เริ่มจาก SOP และ worksheet ที่เกี่ยวข้องและรูปแบบการดำเนินการ

ผลการวิจัย

โครงการนี้อาศัยข้อได้เปรียบในการตรวจด้วยโมเลกุลดีเอ็นเอ มาใช้ในการพัฒนาการตรวจบนพื้นฐานเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เริ่มตั้งแต่การสกัดดีเอ็นเอที่ง่ายและเร็ว การเพิ่มดีเอ็นเอรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า isothermal DNA amplification และการตรวจด้วยคุณสมบัติทางไฟฟ้าเคมีทำให้การตรวจสามารถดำเนินการได้ในภาคสนาม ไม่พึ่งพาห้องปฏิบัติการ ตอบหลักการ point of care เน้นการปนชนิดพันธุ์ การตรวจการปนของ GMOs การปนของเชื้อและดีเอ็นเอจากโคและกระบือเพื่อเป็นโมเดลสำเร็จรูปเริ่มต้นและผลในรูปชุดสำเร็จ นอกจากนี้ยังเน้นการสร้างโมเลกุลมาตรฐานเพื่อทดแทนการใช้ Certified Referance Materials ที่มีราคาแพงและการวางระบบเพื่อการทำงาน การตรวจวิเคราะห์สอดคล้องกับหลักสากล

ผลการดำเนินงานได้พัฒนาวิธีตรวจสอบความแท้ของข้าวพันธุ์หอมมะลิ105 โดยวิธีอยู่บนพื้นฐานของการออกแบบระบบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจำเพาะต่อชนิดดีเอ็นเอ A15 ที่ได้หลังการโคลนและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ การตรวจสอบบนพื้นฐานของเทคนิค PCR จะใช้แยกพันธุ์หอมมะลิ105 และปทุมธานี 1 ออกจากกันขณะเดียวกันหากตรวจสอบผ่านระบบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียว จะเฉพาะเจาะจงต่อพันธุ์ข้าวหอมมะลิ105

ในส่วนของการพัฒนาชุดทดสอบ โครงการได้นำหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียวมาใช้เป็นกลไกในการเพิ่มสัญญาณดีเอ็นเอ และพัฒนาต่อยอดในรูปชุดตรวจสำเร็จรูป ครอบคลุมการตรวจดังนี้

- การตรวจ GMOs แบบ screening พัฒนาบนพื้นฐานของการตรวจไปที่ 35S promoter element ชุดทดสอบดังกล่าวจำเพาะต่อข้าวโพด E176 ถั่วเหลืองGTS 40-3-2
- การตรวจ bovine species พัฒนาบนพื้นฐาน การตรวจชิ้นยีน bovine parathyroid ยีน ยีนชุดดังกล่าวเหมาะสมกับการตรวจการปนของ bovine ในอาหารสัตว์
- การตรวจการติดเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv citri (Xac I) พัฒนาบนพื้นฐานของยีน rpf gene ซึ่งให้ความจำเพาะต่อ Xac I
- การตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้จากถั่วลิสง บนพื้นฐานของยีน Ara hI

ทุกชุดตรวจสำเร็จรูปที่พัฒนาขึ้น ผ่านการทดสอบตามเกณฑ์สากล 3 อย่าง คือ ทดสอบ specificity sensitivity และ reproducibility ชุดทดสอบสามารถนำไปใช้งานต่อยอดในการตรวจได้ทั้งการตรวจสอบการเรืองแสงและการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้า

ในส่วนของการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์บนพื้นฐานการทำปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีในรูปดีไวซ์ ได้ศึกษาเงื่อนไขหลักของปฏิกิริยา ทั้งอุณหภูมิ ความเข้มข้นของ DNA binder และ

รูปแบบในการวัดเปรียบเทียบทั้งระบบที่ดำเนินการโดย PCR และระบบที่ดำเนินการโดยเทคนิค isothermal DNA amplification นอกจากนี้ยังได้นำ DNA stick มาประยุกต์ใช้ ทำให้การตรวจวัดกับระบบการเพิ่มปริมาณอันใหม่นี้ ทำได้รวดเร็วขึ้น

ในส่วนของโมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการอ้างอิง ได้ดำเนินการเสร็จสิ้นในปีงบประมาณ 2550 แล้ว ดังนั้นในปีงบประมาณ 2551 จึงดำเนินการเพิ่มเติมเฉพาะในส่วนที่ใช้ประกอบกับชุด kit ได้แก่ โมเลกุลอ้างอิงสำหรับการตรวจการปนของถั่วลิสง การปนของข้าว และการตรวจสอบการติดเชื้อของ canker

การดำเนินการข้างต้นทำให้โครงการมีผลงานเผยแพร่ทั้งหมดดังนี้

Piyasak Chaumpluk. 2008. Simple and Rapid Detection of Trace Amounts of Peanut in Foods Based on *Ala h1* Gene Using Loop-mediated Isothermal DNA Amplification and Electrochemical DNA Sensor. Pure and Applied Chemistry International Conference 2008 (PACCON2008) 30 Jan -3 Feb 2008. Sofitel Centara Grand Bangkok.

ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ และเออิชิ ทามิย่า. 2551.ดีเอ็นเอสติ๊คสำหรับการตรวจชนิดของเนื้อสัตว์และรับรองความถูกต้อง. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ ณัฐพร อุดมพงษ์ พีระศักดิ์ ฉายประสาท และเออิชิ ทามิย่า . 2551.การตรวจวิเคราะห์แคงเกอร์(*Xanthomonas axonopodis* pv citri)อย่างง่ายและรวดเร็วสำหรับสมโอส่งออก. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วรุณ สุวรรณกิตติ ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ และเออิชิ ทามิย่า. 2551. การตรวจวิเคราะห์โมเลกุลภูมิแพ้ที่มีแหล่งกำเนิดจากธัญพืชในอาหารที่ง่ายและรวดเร็ว. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ วรุณ สุวรรณกิตติ. 2551. การตรวจการปนของโมเลกุลภูมิแพ้ที่มีแหล่งกำเนิดจากไม้ผลบางชนิดด้วยเทคนิคไบโอเซ็นเซอร์. การประชุมวิชาการงานวันเกษตรแห่งชาติ 8-10 กันยายน 2551. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

และส่วนหนึ่งของข้อมูลงาน meat species detection มาประกอบการตีพิมพ์ในผลงาน

Boonjira Boontha, Jeerawat Nakkuntod, Nattiya Hirankarn, Piyasak Chaumpluk, and Tirayut Vilaivan. 2008. Multiplex Mass Spectrometric Genotyping of Single Nucleotide Polymorphisms Employing Pyrrolidinyl Peptide Nucleic Acid in Combination with Ion-Exchange Capture. *Anal. Chem.*. 80 (21), 8178-8186.

ผลงานของโครงการวิจัยส่วนหนึ่งช่วยผลิตนักศึกษาจบการศึกษา 1 คน ได้แก่ นายวรุณ สุวรรณกิตติ. 2551. ELECTROCHEMICAL GENESENSOR BASED ON DNA SEQUENCES FOR THE DETECTION OF ALLERGENIC FOODS OF PLANT ORIGIN. Master Thesis, Faculty of Science, Chulalongkorn University

นอกจากนี้ผลสัมฤทธิ์ของโครงการได้รับการถ่ายทอดโดยผู้ประกอบการผ่านการจัดงานสัมมนาร่วมกับผู้ประกอบการภาคเอกชนในเรื่องดีเอ็นเอกับ point of care test ในอุตสาหกรรมอาหาร วันศุกร์ที่ 25 กรกฎาคม 2551 เวลา 8.30-16.00 ณ ห้องบรรยายพิเศษ 1002/4 ชั้น 10 และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีผู้เข้าร่วมจากภาคเอกชน 23 คน

สำหรับระบบการตรวจวิเคราะห์และการดำเนินการตาม worksheet ได้ประกอบใช้ในการอบรมและปัจจุบันได้นำไปใช้งานจริงในการตรวจวิเคราะห์ร่วมกับห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการได้พัฒนาเทคนิคและรูปแบบการตรวจให้อยู่ในรูปชุดสำเร็จรูป แบบใหม่เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการตรวจการปนของพันธุ์ข้าว ตรวจการปนของ GMOs การปนของเชื้อ การปนของดีเอ็นเอจากโคและกระบือ และการปนของโมเลกุลที่ทำให้เกิดภูมิแพ้ โดยทั้งหมดได้ดำเนินการในรูปแบบของชุดตรวจสำเร็จรูป ที่สามารถใช้งานได้โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งพาห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังประยุกต์การตรวจสอบสัญญาณให้ทำได้ทั้งการเรืองแสงและการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โครงการยังได้พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงตามแผน และได้นำไปใช้งานจริงในห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ซึ่งมีตัวอย่างเข้ามาวิเคราะห์ในรายการที่ต้องใช้โมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงปีละมากกว่า 1250 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้พัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงเพิ่มเติมสำหรับใช้ในชุดสำเร็จรูป ท้ายสุดการสร้างระบบการตรวจวิเคราะห์และการดำเนินการตาม worksheet ยังช่วยให้การดำเนินการตรวจวิเคราะห์มีประสิทธิภาพ

กิจกรรมหลัก	การดำเนินการในปีงบประมาณ 2550		การดำเนินการในปีงบประมาณ 2551	
	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง
1. การพัฒนาชุดสำเร็จในการตรวจสอบชนิดของข้าวและชนิดของ recombinant DNA	-พัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเออย่างง่าย -ใช้ข้อมูลนิวคลีโอไทด์ในการพัฒนาระบบการตรวจ การออกแบบคู่ไพรเมอร์ การประกอบปฏิกิริยาในการวิเคราะห์โดยใช้ไมเลกุลดีเอ็นเอเป็นหลักและปรับระบบให้มี ความง่ายและสะดวกในการดำเนินการ (การประกอบปฏิกิริยาและประเมินประสิทธิภาพอยู่ในปี 51)	-พัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเออย่างง่ายจาก - ข้าวสาร/ ข้าวเปลือก 1 เมล็ดในรูปแบบชุดสำเร็จ -เมล็ดธัญพืช และตัวอย่างพืชเพื่อการ GMOs ในรูปแบบชุดสำเร็จ -รอยบาดแผลบนผลส้มโอ เพื่อการตรวจการปนของเชื้อ *Xanthomonas* ในรูปวิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่เพื่อการส่งออก -.อาหารสัตว์ในรูปวิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่โดยใช้ diatomaceous earth แทน resin -ทดสอบไพรเมอร์และปฏิกิริยาจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ -.มาร์กเกอร์ที่ใช้จำแนกข้าวพันธุ์ต่าง ๆ เช่นชิ้นยีน.....M 015 017 018 พบว่ามีบางมาร์กเกอร์สามารถใช้จำแนกข้าวหอมมะลิ	-พัฒนาชุดสำเร็จ ทดสอบปฏิกิริยาทดสอบประสิทธิภาพของชุด - ทดสอบปฏิกิริยาที่สังเคราะห์ขึ้น - ทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบ	- พัฒนาวิธีทดสอบพันธุ์ข้าวหอมมะลิ105 ซึ่งเป็นหอมมะลิแท้ โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อยีน มาร์กเกอร์ A15 ที่ได้โคลนและตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์เองในห้องปฏิบัติการ พัฒนาวิธีการตรวจบนพื้นฐานการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยหลักการ isothermal DNA amplification และทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับพันธุ์ข้าว -ต่อยอดวิธีการทดสอบ GMOs ....MON810 LL rice และมะละกอ 50-1 ผ่านการเรืองแสงและการตรวจทางเคมีไฟฟ้าและทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบ -พัฒนาชุดทดสอบต่าง ๆ (ดู 2 การพัฒนา วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียว ประกอบ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

		และปทุมธานี 1 ออกจากกันในเชิงคุณภาพได้ -ตรวจสอบมาร์กเกอร์และพัฒนาระบบการตรวจ GMOs ข้าวโพด MON 810 ด้วยวิธี PCR และ PCR electrochemical biosensor -ตรวจสอบและพัฒนา marker สำหรับการตรวจมะละกอ GMOs จากยีนโปรตีนเปลือกหุ้มของ PRSV -ออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ XacI ในการตรวจ *Xanthomonas* -พัฒนาระบบการตรวจ bovine species จากยีน bovine parathyroid gene และ 12S rRNA ใช้วิธีมาตรฐานพร้อม validationและได้ผลงานตีพิมพ์นานาชาติ 1 ผลงาน		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การพัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยอุณหภูมิระนาบเดียว	ศึกษาโครงสร้างของดีเอ็นเอ เลือกบริเวณออกแบบ..เลือกใช้ไพรเมอร์และประกอบปฏิกิริยา .(ตามแผนเริ่ม 2 เดือนสุดท้ายของปีงบประมาณ 50)	-พัฒนาเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ยีน pth ยีน ทดสอบการทำงาน	ประกอบปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียวและทดสอบปฏิกิริยา (ต่อเนื่องจากปี 2550)	-ได้พัฒนาชุดตรวจสำเร็จรูปและทดสอบประสิทธิภาพปฏิกิริยาของแต่ละชุด ผลงานครอบคลุม -การตรวจ GMOs แบบ screening ใน E176 GTS40-2-3 -การตรวจสอบ bovine species -การตรวจสอบ canker(XacI) ในส้มโอส่งออก -การตรวจการปนของโมเลกุล allergen จากถั่วลิสง ชุดสำเร็จทั้งหมดสามารถประยุกต์ได้ทั้งการตรวจโดยดูการเรืองแสงและการตรวจทางเคมีไฟฟ้า
3.การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์พื้นฐานการนำไฟฟ้าในชุดดีไรซ์	พัฒนารูปแบบการจับตัวระหว่าง binderกับดีเอ็นเอจากทั้ง PCR และ LAMP แต่ละรูปแบบ (เริ่มกิจกรรมของแผน 2 เดือนสุดท้ายของปีงบประมาณ 2550)	พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน pth ยีน ด้วย PCR และ LAMP และศึกษารูปแบบการวัดทางเคมีไฟฟ้า	ศึกษารูปแบบการจับตัว (ต่อ) แปรผันปฏิกิริยาเพื่อหาเงื่อนไขที่เหมาะสมและประกอบดีไรซ์	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าทางเคมีไฟฟ้าและผลของสิ่งแวดล้อม อุณหภูมิ ความเข้มข้นของ binder และเปรียบเทียบรูปแบบการวัดของทั้ง 2 ระบบ การประยุกต์การวัดด้วย DNA stick

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.การพัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเอข้าว เพื่อการอ้างอิง	-ตรวจสอบข้อมูล -เพิ่มปริมาณ -โคลนและคัดเลือก -ทดสอบการใช้งาน (เดือนที่ 5-12 ของปีงบประมาณ 2550)	ดำเนินการค้นโมเลกุลดีเอ็นเอมาตรฐานเสร็จสิ้นทุกระบบตามแผนได้แก่ ยีนอ้างอิงในการทดสอบ bovine porcine poultry species ชิ้นส่วนของ sps ยีน ยีน MON810 (เสร็จสิ้นเร็วกว่าแผน)	การสร้างระบบการตรวจวิเคราะห์ วางระบบการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐาน ISO17025 เริ่มจาก sop และ worksheets ที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการระบบการตรวจGMOs	ดำเนินการเพิ่มในส่วนของ -canker -ข้าว -โมเลกุลภูมิแพ้จากถั่วลิสง (เพิ่มจากแผนที่เสร็จสิ้นแล้ว) สร้างระบบการจัดการและการตรวจ GMOs

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ GRB_๒๖_๕๑_๒๓_๐๒

โครงการวิจัยเรื่อง แผนงานวิจัยนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหาร
สู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

การรายงานความก้าวหน้าผลการดำเนินงาน(ครั้งที่)

โครงการย่อยเรื่อง โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยแนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่.....ถึงวันที่.....

ชื่อหัวหน้าโครงการ.....นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์.....

หน่วยงาน: .....ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์.....

๑. การดำเนินงาน: [X] ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ และ

[ ] ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้คือ

.....

.....

.....

๒. สรุปผลการดำเนินงาน

พัฒนาวิธีการตรวจคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารรูปแบบใหม่ โดยใช้โมเลกุลดีเอ็นเอเป็นสื่อเน้นวิธีที่ลดการพึ่งพาห้องปฏิบัติการ โครงการแบ่งงานเป็น 4 ส่วน ได้แก่ การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยอุณหภูมิระนาบเดียว การพัฒนาการตรวจสอบบนพื้นฐานทางเคมีไฟฟ้า การพัฒนาโมเลกุลดีเอ็นเออ้างอิงร่วมในการทดสอบ และการวางระบบในการตรวจสอบ โครงการสามารถพัฒนาเทคนิคและชุดสำเร็จรูปสำหรับตรวจการปนของข้าวตรวจสอบพืชดัดแปรพันธุกรรม E176 และ GTS 40-3 ตรวจการปนของ bovine species ตรวจการปนของเชื้อ *Xanthomonas* ใช้ยีน *Xac*1 และการตรวจเพื่อหาการปนของดีเอ็นเอ จากวัตถุดิบถั่วลิสง โดยได้ทดสอบความเฉพาะเจาะจง ความไวของปฏิกิริยาและความสามารถในการทำซ้ำ ปฏิกิริยาอยู่บนพื้นฐานของ LAMP เพิ่มดีเอ็นเอได้ภายใน 40 นาที โดยไม่ต้องพึ่งพาเครื่อง PCR และแสดงผลได้ทั้งในรูปการเรืองแสงและการตรวจบนหลักการไฟฟ้าเคมี ในส่วนของการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์บนหลักการไฟฟ้าเคมีได้ทดสอบภาวะที่เหมาะสม และการนำ DNA stick มาใช้งานในภาคปฏิบัติ ทั้งหมดทำให้การตรวจดีเอ็นเอง่าย รวดเร็วและสนองหลักการ point of care ท้ายสุดได้โคลนชิ้นส่วนของยีนเพื่อใช้เป็นอ้างอิงประกอบการวินิจฉัยกับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นและได้วางและจัดระบบการตรวจสอบรองรับ

๓. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

.....ประกอบปฏิกิริยาให้อยู่ในรูป Lab on chip. ทดสอบประสิทธิภาพ

.....

.....

.....

.....

๔. อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

.....การล่าช้าของงบประมาณ ต้องแก้ไขจากหน่วยเหนือ.....

.....

.....

.....

(นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์)

...../...../.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-VISIBLE

Determination of Malachite Green and Its Metabolite Residue in Aquacultures Using LC-MS/MS and HPLC-UV-Visible

ชื่อผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์ *
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จูอนุวัฒนกุล
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. บทนำ

ในเบื้องต้นมาลาไคต์กรีน (Malachite green, MG) ใช้เป็นสีย้อมในอุตสาหกรรมสิ่งทอ แต่ต่อมาได้ถูกนำมาใช้เป็นยาต้านปรสิต เชื้อรา และต้านจุลชีพในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยงได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงมีการใช้อย่างแพร่หลายในการเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงปลาและกุ้ง เมตะบอลซึมของสัตว์น้ำจะเปลี่ยนมาลาไคต์กรีนไปเป็นลิวโคมาลาไคต์กรีน (Leucomalachite green, LMG) สะสมอยู่ในชั้นไขมันของเนื้อสัตว์น้ำ ต่อมาได้มีการพบว่ามาลาไคต์กรีนอาจทำให้เกิดโรคมะเร็งและกลายพันธุ์ในสัตว์ต่างๆรวมถึงในระดับเซลล์ด้วย ดังนั้นในปีค.ศ.1978 ประเทศสหรัฐอเมริกาจึงควบคุมการใช้มาลาไคต์กรีนอย่างเข้มงวดและอนุญาตให้ใช้เฉพาะหน่วยงานเพาะเลี้ยงเพื่อแพร่พันธุ์เท่านั้น ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปไม่อนุญาตให้ใช้เช่นกัน การห้ามใช้เพราะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ นี้จะต้องมีวิธีตรวจวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ที่จะตรวจยืนยันการตกค้างของสารปฏิชีวนะนี้

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ MG และ LMG พร้อมกันในตัวอย่างสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ให้มีความถูกต้องแม่นยำสูง ด้วยการเตรียมตัวอย่างที่มีขั้นตอนง่ายและรวดเร็วขึ้น ใช้เตาอบไมโครเวฟในการสกัดและคลีนอัพ และวิเคราะห์ MG และ LMG ด้วยเทคนิค LC-MS/MS มีสารคริสตัลไวโอเล็ต (Crystal violet, CV) เป็น internal standard ที่ ionpairs ดังนี้ : MG 329.3/208.2, 329.3/313.1, LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3 และ CV(internal standard) 372.2/356.3

และเนื่องจากว่าเครื่อง LC-MS/MS เป็นเครื่องมือที่มีราคาสูงมากและต้องอาศัยทักษะขั้นสูงในการใช้ จึงไม่ค่อยมีใช้ในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์อาหารทั่วไป งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารส่วนมาก คือการตรวจวิเคราะห์มาลาไคต์กรีน ลิวโคมาลาไคต์กรีน คริสตัลไวโอเล็ต ลิวโคคริสตัลไวโอเล็ต ตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง เช่น ปลา กุ้ง พร้อมกันด้วยเทคนิค HPLC-DAD(multiwavelength) คอลัมน์ชนิด Zorbax stable bond C18, 150x4.6 mm, 5 µm พร้อม guard column ชนิดเดียวกัน mobile phase คือ ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) และ acetonitrile และใช้ gradient elution ตรวจวัดสารทั้งสี่ชนิดพร้อมกันด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ diode array detector (DAD) ที่หลายความยาวคลื่นได้แก่ 618 nm(0.00-7.00 min), 585 nm(7.01-12.00 min), 265 nm(12.01-20.00 min) วิเคราะห์ปริมาณโดยอาศัย external calibration curve ของ total MG (ปริมาณ MG+LMG) และของ total CV (ปริมาณ CV+LCV)

2. วิธีทดลอง

วิเคราะห์โดยเทคนิค LC-MS/MS

<u>เครื่องมือและสภาวะที่เหมาะสม</u>

HPLC: Agilent 1100

Column: Higgins C18, 3x150 mm, 5 μm

Mobile phase: A: 0.05 M Ammonium acetate pH 4.5 B: Acetonitrile

Gradient mode:

Time (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
6	5	95
8	5	95
9	95	5
12	95	5

Injection volume: 25 μL

Flow rate: 800 μL/min, split 275:525

Column temperature: 40°C

Mass spectrometer: API 3000 (Triple quadrupoles mass spectrometer)

Scan type: MRM

Polarity: positive

Ion source: Turbo spray

Ion pairs: MG 329.3/208.2, 329.3/313.1

LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3

CV (internal standard) 372.2/356.3

<u>วิธีเตรียมตัวอย่าง</u>

ชั่งเนื้อปลา (หรือกุ้ง) สดที่บดแล้ว 2.00±0.01 g ใส่ในขวดแก้วรูปทรงกระบอกขนาด 50 mL เติมตัวทำละลายผสม 1: 3 0.05 M ammonium acetate pH 4.5 : acetonitrile ปริมาตร 8.00 mL นำไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 24000 rpm เป็นเวลา 10 วินาที จำนวน 3 ครั้ง ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์มโดยเผยอบางส่วน นำไปวางในอ่างแก้วกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว ที่บรรจุน้ำ 600 mL นำอ่างทั้งชุดใส่ในเตาอบไมโครเวฟ ให้คลื่นไมโครเวฟที่ 270 watts เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 4400g เป็นเวลา 10 นาที ใช้ปิเปตดูดสารละลายใสมา 4.00 mL ใส่ในขวดอีกใบหนึ่ง นำไปพ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 40°C จนแห้ง ปิเปต internal standard CV (100 μg/L) ปริมาตร 50 μL และตัวทำละลาย 1:1 0.05 M ammonium acetate pH 4.5 : acetonitrile ปริมาตร 950 μL ผสมให้เข้ากันดี นำไปกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.45 μm ลงสู่ขวด HPLC vial

วิธีวิเคราะห์ปริมาณ

วิธีวิเคราะห์คือ standard addition method และ internal standard calibration curve โดยเตรียมชุดตัวอย่างดังนี้

ตัวอย่าง 2.00 g

ตัวอย่าง 2.00 g + 1 µg/kg MG + 1 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 2 µg/kg MG + 2 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 3 µg/kg MG + 3 µg/kg LMG

ตัวอย่าง 2.00 g + 5 µg/kg MG + 5 µg/kg LMG

นำ signal ของชุดตัวอย่างมาสร้าง internal standard calibration curve และหาปริมาณ MG และ LMG ในตัวอย่างจากสมการของ curve

Linear equation: $y = mx + b$

ปริมาณ MG (หรือ LMG) = b/m

ผลการทดลอง

ตัวอย่าง: ปลาแซลมอน

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)	Precision (%RSD)
MG	329.3/313.2	Y=0.02x + -0.00124	0.9991	81.8-115	12.46
	329.3/208.4	Y=0.0669x + -0.00215	0.9996	87.1-108	6.45
LMG	331.3/165.4	Y=0.00758x + 0.000421	0.9858	93.9-112	11.06
	331.3/239.4	Y=0.102x + -0.0169	0.9913	95.9-116	7.77

ตัวอย่าง: ปลาทับทิม

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)
MG	329.3/313.2	Y=0.00966x + -0.000237	0.9579	78.6-103
	329.3/208.4	Y=0.036x + -0.00363	0.9892	68.8-106
LMG	331.3/165.4	Y=0.0207x + -0.00431	0.9917	66.8-122
	331.3/239.4	Y=0.25x + -0.0645	0.9829	83.8-110

ตัวอย่าง: กุ้ง

compound	mass	Linear equation	r	Accuracy (%recovery)
MG	329.3/313.2	Y=0.0178x + 0.00274	0.9792	83.6-107
	329.3/208.4	Y=0.0618x + 0.0169	0.9805	93.4-103
LMG	331.3/165.4	Y=0.00562x + -0.00287	0.9716	92.5-123

	331.3/239.4	Y=0.00552x + -0.00581	0.9977	93.0-120

วิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC-DAD

เครื่องมือและสภาวะที่เหมาะสม

HPLC: Agilent 1100

Column: Zorbax stable bond C18, 150x4.6 nm, 5 μm

Guard column: Zorbax stable bond C18, 4x4 nm, 5 μm

Column temperature: 30°C

Mobile phase: ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) : acetonitrile

Gradient mode: 50:50 (0.00-7.00 min)

65:35 (7.01-12.50 min)

80:20 (12.11-20.00 min)

Flow rate: 2 mL/min

Detection: Diode array detector (DAD, multiwavelength

618 nm (0.00-7.00 min)

585 nm (7.01-12.00 min)

265 nm (12.01-20.00 min)

วิธีเตรียมตัวอย่าง

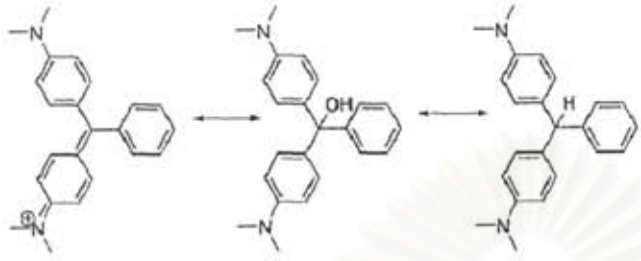
นำเนื้อปลา (หรือกุ้ง)สดบดแล้ว 50.00±0.05 g ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 mL เติมสารละลาย hydroxylamine 25 % ปริมาตร 5 mL สารละลาย p-toluenesulfonic acid 1 M ปริมาตร 0.5 mL และสารละลาย ammonium acetate buffer 0.05 M (pH 4.5) 15 mL แล้วโฮโมจีไนซ์ที่ 10000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เติม acetonitrile 75 mL โฮโมจีไนซ์อีก 1 นาที 3 ครั้ง นำเข้าเตาอบไมโครเวฟที่ 450 watts เป็นเวลา 20 วินาที นำมากรองดูดด้วยกรวยบุคเนอร์โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 ถ่ายสารละลายที่กรองได้ลงสู่ขวดก้นกลมขนาด 250 mL นำไปกลั่นแบบลดความดันที่ 40°C จนสารละลายมีปริมาตรเหลือประมาณ 5 mL ถ่ายสารละลายลงสู่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยสารละลายผสมของ 0.05 M ammonium acetate buffer (pH 4.5) และ acetonitrile (1:1) กรองสารละลายด้วย syringe filter ขนาด 0.45 μm ลงใน HPLC vial

วิธีวิเคราะห์ปริมาณ

จากการค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับสารทั้งสี่เพิ่มเติมพบว่า MG ซึ่งมีสีฟ้า-เขียว หรืออาจเรียก chromatic MG เมื่อเข้าไปอยู่ในเซลล์ของสัตว์น้ำ เช่น ปลา จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป carbinol MG อยู่ที่ผิวนอกของเซลล์ และถูกเปลี่ยนไปเป็น leucomalachite green (LMG) ด้วยเมตะบอลิซึมของปลา รูปต่างๆ ของ MG แสดงในรูปที่ 1

เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค LC-MS พบว่า carbinol MG จะมีค่า retention time เท่ากับ LMG (co-elution) และเมื่อใช้เทคนิค HPLC-UV จะไม่สามารถตรวจวัดแยกจากกันได้ นอกจากนี้ยังพบว่า

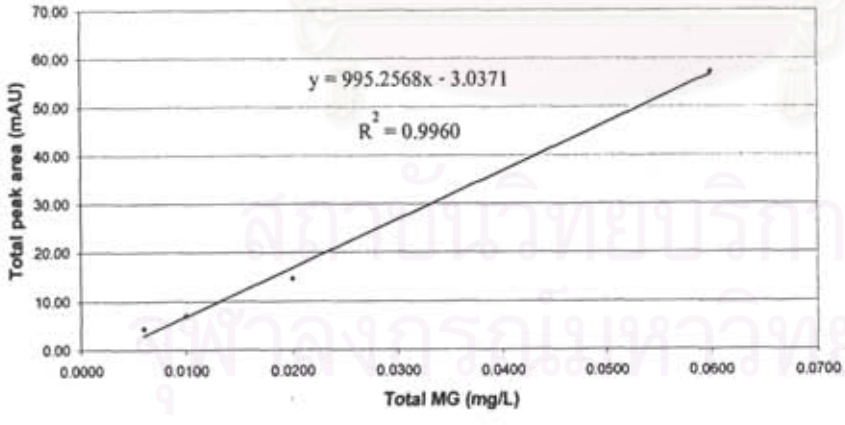
สารละลายมาตรฐาน MG เมื่ออยู่ในตัวทำละลายที่มี ammonium acetate จะปรากฏ carbinol form อยู่ด้วยเสมอ ปรากฏการณ์เช่นนี้มีผลให้ค่า % recovery ของ MG ต่ำเกินไปและของ LMG สูงเกินไป อยู่เสมอและเกิดในทำนองเดียวกันกับ CV และ LCV ด้วย



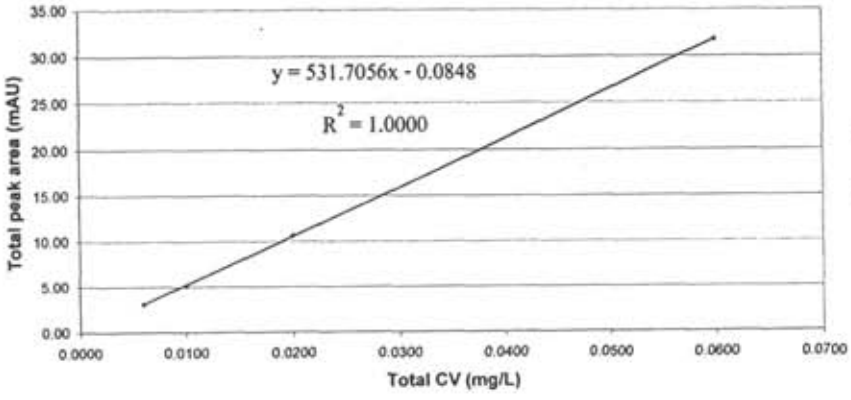
รูปที่ 1 โครงสร้างเมตะบอไลต์ของ MG

Chromatic MG	Carbinol Base	Leuco MG
มีสี	ไม่มีสี	ไม่มีสี

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณตกค้างของสารทั้ง 4 จะรายงานผลเป็นปริมาณ total malachite green (total MG) ซึ่งคือปริมาณของ MG รวมกับเมตะบอไลต์ LMG และปริมาณ total crystal violet (total CV) ซึ่งเท่ากับปริมาณ CV รวมกับปริมาณเมตะบอไลต์ LCV ดังนั้นจึงได้ออกแบบการประมวลผลและหาปริมาณในรูปของ total MG และ total CV โดย calibration curve เป็นการพล็อตค่าพื้นที่พีกของ MG และ LMG รวมกัน และค่าพื้นที่พีกของ CV และ LCV รวมกัน กับค่าความเข้มข้นของ MG + LMG หรือ total MG และ CV + LCV หรือ total CV กราฟมาตรฐานทั้ง 2 แสดงดังรูปที่ 2 และ 3 ตามลำดับ



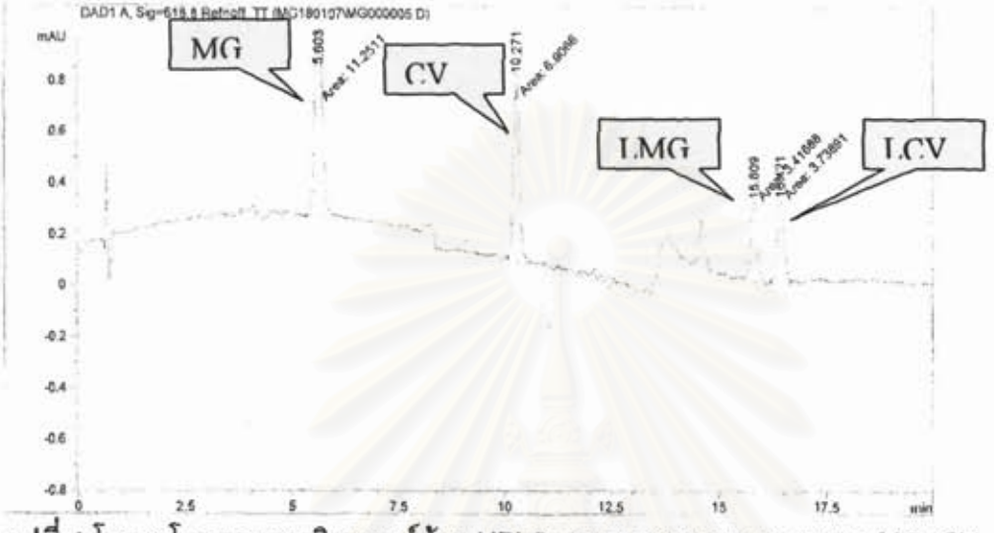
รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานระหว่าง Total MG (mg/L) กับ Total peak area (mAU)



รูปที่ 3 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่าง Total CV (mg/L) กับ Total peak area (mAU)

ผลการทดลอง

จากสภาวะของการทดลองได้โครมาโทแกรมดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ด้วย HPLC ของสารมาตรฐานผสมของ MG, CV, LMG และ LCV ที่ความเข้มข้น 0.010 mg/L

ความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

Linearity: $r^2 \geq 0.9900$ (ทั้ง total MG และ total CV)

Linear working concentration range: 0.6 µg/kg – 6 µg/kg (ทั้ง total MG และ total CV)

Limit of detection (LOD): 0.5053 µg/kg สำหรับ total MG

0.4087 µg/kg สำหรับ total CV

Limit of quantitation (LOQ): 1.684 µg/kg สำหรับ total MG

1.362 µg/kg สำหรับ total CV

% recovery (ที่ระดับ 2 µg/kg): 55.95 % ถึง 75.92 %สำหรับ total MG

68.01 % ถึง 104.47 % สำหรับ total CV

% RSD (ที่ระดับ 2 µg/kg) : 4.36 – 9.60 % สำหรับ total MG

1.26 – 6.44 % สำหรับ total CV

ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามที่กำหนดไว้ใน AOAC โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/kg กำหนด %recovery อยู่ในช่วง 40-120% และ % RSD ไม่เกิน 30%

3. ผลการวิจัย (ประโยชน์ที่ได้รับ)

1. เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนที่มีการเสนอมาก่อนหน้านี้ในวารสารวิจัยต่างๆ ยังได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ในงานวิจัยนี้ได้เสนอ "การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้าง

ในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS" ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำสูง วิธีเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและรวดเร็วขึ้น และวิธีการหาปริมาณที่ง่ายและรวดเร็วขึ้น และวิธีการหาปริมาณที่กำจัดการรบกวนของเมทริกซ์

2. งานวิจัยนี้ได้พัฒนาการตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค HPLC-UV-VISIBLE ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารโดยทั่วไป โดยพัฒนาการเตรียมตัวอย่างให้สามารถวิเคราะห์ได้ในระดับ MRPL 2 μg/kg และวิธีการหาปริมาณที่เพิ่มความแม่นยำโดยการคำนึงถึงการรบกวนจากเมทริกซ์

3. การตีพิมพ์งานวิจัยในข้อ 1 และ ข้อ 2 ในวารสารวิจัยเพื่อเผยแพร่ต่อไป

4. ข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันงานวิจัยทางด้านสารตกค้างในอาหารเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตด้านความปลอดภัยในอาหารเป็นไปในแนวทางที่เรียกว่า "chasing zero" ซึ่งต้องอาศัยเครื่องมือขั้นสูง ดังนั้นการพิจารณาให้ทุนวิจัยควรคำนึงถึงงบประมาณทางครุภัณฑ์ขั้นสูงเหล่านี้ด้วย จึงจะทำให้งานวิจัยเป็นงานเชิงรุกเพื่อแก้ปัญหาในด้านการวิเคราะห์อาหารในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมอันดับหนึ่งของประเทศได้อย่างฉับไว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย : การตรวจวิเคราะห์สารมาลาไคต์กรีนและเมตะบอไลต์ลิวโคมาลาไคต์กรีนตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเทคนิค HPLC-UV-VISIBLE

Determination of Malachite green and its metabolite residues in aquacultures using LC-MS/MS and HPLC-UV-VISIBLE

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	แผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1. ประมวลข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลจากงานวิจัยที่มีผู้ทำมาแล้ว	ตุลาคม 2549	1. ดำเนินการแล้ว
2. เขียนร่างวิธีวิเคราะห์	พฤศจิกายน 2549	2. ดำเนินการแล้ว
3. จัดเตรียมสารมาตรฐาน สารเคมี เครื่องมือ อุปกรณ์	พฤศจิกายน 2549	3. ดำเนินการแล้ว
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐาน	ธันวาคม 2549 – กุมภาพันธ์ 2550	4. ดำเนินการแล้ว
5. ออกแบบวิธีเตรียมสารตัวอย่าง การสกัด และการคลีนอัพ	มีนาคม 2550 – กันยายน 2550	5. ดำเนินการแล้ว
6. วิเคราะห์สารตัวอย่าง รายงานผลพร้อมค่าบ่งชี้ความถูกต้อง แม่นยำ	มีนาคม 2550 – มีนาคม 2551	6. ดำเนินการแล้ว

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	แผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
5. ออกแบบวิธีเตรียมสารตัวอย่าง การสกัด และการคลีนอัพ	กันยายน 2550 – มีนาคม 2551	5. ดำเนินการแล้ว
6. วิเคราะห์สารตัวอย่าง รายงานผลพร้อมค่าบ่งชี้ความถูกต้อง แม่นยำ	กันยายน 2550 – มีนาคม 2551	6. ดำเนินการแล้ว
7. วิเคราะห์ สรุปผลการวิจัย และเขียนรายงาน	เมษายน – กันยายน 2551	7. ดำเนินการแล้ว
8. เขียนบทความเพื่อเสนอผลงานในการประชุมวิชาการหรือตีพิมพ์ในวารสาร	เมษายน – กันยายน 2551	8. ดำเนินการแล้ว

โครงการวิจัยที่ 1.3 การระบุชนิดและแหล่งต้นทางของการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

มูลเหตุจูงใจและปัญหา

การปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์เป็นปัญหาสำคัญที่ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นมูลค่ามหาศาล โดยมีสาเหตุจากความไม่พร้อมในการต่อรองของภาครัฐและเอกชนเมื่อประเทศคู่ค้าได้ปรับข้อกำหนดให้เข้มงวดขึ้น เช่น การขาดแคลน
ห้องปฏิบัติการตรวจสอบเฉพาะทางการขาดแคลนผู้เชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย
การขาดศักยภาพของภาคอุตสาหกรรมด้านวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการปรับกระบวนการ
ผลิตให้สอดคล้องกับมาตรฐานและข้อกำหนดของประเทศคู่ค้าเหตุผลเหล่านี้ทำให้ประเทศไทยขาดศักยภาพในการต่อรองทางการค้าในตลาดโลก

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักในการศึกษาชนิดและระดับของการปนเปื้อนอันเกิดจากบรรจุภัณฑ์ในอาหารที่ผลิตขึ้นในประเทศไทยโดยเลือกศึกษาบรรจุภัณฑ์ประเภทพลาสติกเนื่องจากมีการ ใช้งานกว้างขวาง
มีปัญหาของการ blooming สูง และยังมีการควบคุมที่ไม่รัดกุมพอจากรัฐบาล
พลาสติกที่ใช้กันในการผลิตบรรจุภัณฑ์มีกว่า 30 ชนิด ชนิดที่มีปัญหาสูงสุด คือ พีวีซี เนื่องจากมีการใช้สารเติมแต่งพลาสติกสูงถึงร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก พีวีซีเป็นวัสดุที่ใช้กันมากในฝาด้านในของขวดแก้วบรรจุอาหาร
ที่ต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็นเวลานานที่อุณหภูมิสูง กรณีที่ฝาด้านใน
เกิดการสัมผัสกับเนื้ออาหารจะเกิดการปนเปื้อนขึ้นได้ มีรายงานว่าปริมาณของการปนเปื้อนอาจพบในปริมาณสูงกว่าข้อกำหนดของสหภาพยุโรปกว่า 100 เท่า

สารเติมแต่งที่ใช้ในการผลิตพีวีซีมีหลายกลุ่ม เช่น พทาเลท เซบาเคท อะดิเพท เอไมด์ ไปจนถึงสารประกอบโมเลกุลใหญ่ประเภทไตรกลีเซอร์ไรด์ด้วย ดังนั้นการวิเคราะห์การปนเปื้อน ของสารเหล่านี้ในเนื้ออาหารจึงทำได้ยากและมีขั้นตอนซับซ้อน งานวิจัยในปีนี้ได้เน้นในการพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์สารเติมแต่งพีวีซีเพื่อใช้ในการศึกษาแบบจำลองของการปนเปื้อนที่เกิดจากบรรจุภัณฑ์จริงในปีต่อไป

วัตถุประสงค์

1. หาวิธีระบุชนิดและปริมาณของสารปนเปื้อนในปะเก็นฝาขวดแก้วบรรจุอาหาร

2. ร่วมมือกับภาครัฐและ/หรือภาคอุตสาหกรรมในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนที่พบในปะเก็นพีวีซีของฝาโลหะ

3. รวบรวมข้อมูลเรื่องการปนเปื้อนเพื่อเผยแพร่แก่ประชาชน

วิธีดำเนินการและผลการวิจัย

1. วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาและทดสอบมีดังนี้

	การเตรียมตัวอย่าง	การวิเคราะห์	เวลาในการวิเคราะห์ (นาที)	ตัววิเคราะห์
การคราจวัดเบื้องต้น (screening)				
1) Normal Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	10	ATBC, ESBO, ELO, DBS, DEHS,
2) Contact-and Collect Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	15	OA, EA, DEHP, DINP, DINCH,
3) Absorbtion Enhancement Mode	ไม่มี	ATR FT-IR Microspectroscopy	20	TAC, acPG, Pas
การวิเคราะห์เชิงปริมาณ				
1) การวิเคราะห์โดยตรง	LLE	GC/FID	45	ATBC, DBS, DEHS, OA, EA, DEHP, DINP, DIDP, DINCH, TAC, acPG, 2-EHA
2) การวิเคราะห์หลังการทำอนุพันธ์	การทำอนุพันธ์, LLE	GC/FID	55	ESBO, Pas

2. ความร่วมมือกับภาครัฐ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นหน่วยงานที่ได้รับการถ่ายทอดวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่ได้พัฒนาขึ้น ขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์บริการกำลังดำเนินการประเมินวิธีการวิเคราะห์ (method validaton) และเริ่มเปิดรับบริการตรวจวิเคราะห์ฝาโลหะตัวอย่างให้แก่ภาคเอกชนเร็ว ๆ นี้

3. การเผยแพร่ข้อมูลเรื่องการปนเปื้อน

ได้ดำเนินการจัดทำเวปไซต์เกี่ยวกับการปนเปื้อนบรรจุภัณฑ์ที่ได้ทดลองเผยแพร่อยู่ ณ http://pack.cutip.net/foodcon/

สรุปและเสนอแนะ

1. ผลงานในปีนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารเติมแต่งในปะเก็นพีวีซีของฝาโลหะ พบว่าการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถใช้ได้ดีในการระบุชนิดและปริมาณของสารเติมแต่ง อย่างไรก็ดีวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีนี้ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ต้นทุนสูง และต้องใช้บุคคลากรที่มีความชำนาญสูง

2. คณะผู้วิจัยจึงได้สำรวจวิธีวิเคราะห์เบื้องต้นที่ง่าย รวดเร็ว และเหมาะสมในการตรวจวัดเบื้องต้นสำหรับภาคอุตสาหกรรม และพบว่าเทคนิค ATR FT-IR Microspectroscopy แบบ

Normal Mode ให้ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพตรงกับผลจากการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี

3. วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีนี้ (GC/FID) ยังไม่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ในเมทริกที่ซับซ้อน เช่น อาหาร เนื่องจากมีการแทรกซ้อนจากองค์ประกอบต่าง ๆ ของอาหาร ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ที่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ในเมทริกที่ซึ่งคณะผู้วิจัยจะดำเนินการในปีที่ 3

4. วิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปทดลองวิเคราะห์ฝาโลหะจากขวดอาหาร 20 ชนิด พบว่าใช้ได้ผลดี ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าผู้ประกอบการในประเทศไทยได้เริ่มใช้สารปนเปื้อนชนิดใหม่ๆ ในบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารส่งออกเพื่อให้สอดคล้องกับกฎข้อบังคับของสหภาพยุโรปในปัจจุบัน สารเติมแต่งพลาสติกที่พบคือ epoxidized soybean oil, erucamide, polyadipates, dibutyl sebacate, และ triacetin โดยมีปริมาณของสาร ปนเปื้อนทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 28.3–41.2 โดยน้ำหนักฝา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปความก้าวหน้าของการวิจัย

โครงการที่ 1-4 13 การระบุชนิดและแหล่งที่มาของการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร

(ชื่อเดิม การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร)

<u>สรุปการดำเนินการในปี 2550</u>

แผนการวิจัยที่เสนอในปี 2550	การวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้วเสร็จ
การสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อตั้งแนวทางการวิจัยให้สอดคล้องกับปัญหาปัจจุบันและเพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมอาหารของประเทศไทย	• บทความสรุปปัญหาการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหารชนิดต่าง ๆ คณะวิจัยได้เลือกประเด็นการปนเปื้อนจากสารเติมแต่งพลาสติกเป็นแนวทางหลักของงานวิจัยเพื่อช่วยเร่งแก้ปัญหาตามความต้องการของรัฐบาลและอุตสาหกรรมอาหารของประเทศ
การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่	• พัฒนาวิธีการวิเคราะห์พทาเลทเอสเทอร์ 6 ชนิดโดยเทคนิค GC/FID • ประเมินความเป็นไปได้ในการนำเทคนิค ATR-FTIR microspectroscopy มาใช้ในการระบุชนิดของพลาสติไซเซอร์ในชิ้นพลาสติก
การพัฒนาวิธีการเตรียมอาหารตัวอย่าง	• วิธีเตรียมตัวอย่างโดย solid phase extraction เพื่อการวิเคราะห์พทาเลทเอสเทอร์ 6 ชนิดจากบรรจุภัณฑ์พลาสติก
การวิเคราะห์สารปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์	• ผลการวิเคราะห์เครื่องอุปโภคบริโภคที่มีขายทั่วไปในท้องตลาดจำนวน 10 ชนิดพบการปนเปื้อนจาก dimethyl phthalate, di-*n*-butyl phthalate และ di(2-ethylhexyl)phthalate ในปริมาณต่ำกว่า 1 ppm
การเขียนรายงานและเผยแพร่ข้อมูล	• รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1 (พ.ศ. 2550) • การเสนอผลงานวิจัยเรื่องการปนเปื้อนทางเคมีที่เกิดจากบรรจุภัณฑ์หรือวัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติก (oral presentation และ poster) ณ การประชุมเพื่อเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร วันที่ 18 ธันวาคม 2550 ณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปการดำเนินการในปี 2550

แผนการวิจัยที่เสนอในปี 2550	การวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้วเสร็จ
การสืบค้นข้อมูล	• มีการดำเนินการต่อเนื่องเพื่อสร้างฐานข้อมูลสนับสนุนงานวิจัย
การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่เพื่อระบุชนิดและปริมาณพลาสติไซเซอร์ในพีวีซี	• พัฒนาวิธีการวิเคราะห์พทาเลทเอสเทอร์ 13 ชนิดโดยเทคนิค GC/FID • การวิเคราะห์พทาเลทเอสเทอร์ในชิ้นพลาสติกโดเทคนิค ATR-FTIR microspectroscopy
การพัฒนาวิธีการเตรียมอาหารตัวอย่าง	• วิธีสกัดสกัดชิ้นตัวอย่างด้วย MTBE เพื่อการวิเคราะห์โดยตรงโดย GC/FID • วิธีการทำอนุพันธ์ด้วยปฏิกิริยา transesterification หลังการสกัดเพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์โดยตรงและเพื่อการวิเคราะห์สารเติมแต่งมวลโมเลกุลสูง
การวิเคราะห์สารปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์ประเภทพีวีซี	• ผลการวิเคราะห์อาหารที่บรรจุในขวดแก้วที่มีฝาโลหะ 20 ชนิดพบการปนเปื้อนจาก di-isononyl cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH), oleamide (OA), epoxidized soybean oil (ESBO), erucamide (EA), polyadipates (PAs), dibutyl sebacate (DBS) และ triacetin ปริมาณพลาสติไซเซอร์ที่พบคิดเป็นร้อยละ 28.3–41.2 โดยน้ำหนักของพลาสติก
การศึกษากลไกและปัจจัยของการปนเปื้อนโดยแบบจำลอง (stimulant)	• กำลังดำเนินการ
การจัดทำเวปไซด์เรื่องการปนเปื้อนจากบรรจุภัณฑ์อาหาร	• การออกแบบแล้วเสร็จสมบูรณ์ และจะเริ่มทดลองเผยแพร่ในเดือนมกราคม 2552
การเขียนรายงานและเผยแพร่ข้อมูล	• รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ปีที่ 2 (พ.ศ. 2551) • การเสนอโปสเตอร์เรื่อง Rapid determination of plasticizers in PVC gasket by ATR FT-IR microspectroscopy ณ การประชุมทางวิชาการ 16th IAPRI World Conference on Packaging วันที่ 8-12 มิถุนายน 2551 ณ โรงแรม The Miraqcle Grand กรุงเทพฯ

สรุปการดำเนินการในปี 2550 (ต่อ)

การเขียนรายงานและเผยแพร่ข้อมูล (ต่อ)	• การร่วมประชุมเชิงวิชาการเรื่อง กฎระเบียบกับการทดสอบพลาสติไซเซอร์และสารปนเปื้อนในอาหารและผลิตภัณฑ์พลาสติกของสหภาพยุโรป วันที่ 1 กันยายน 2551 ณ กรมวิทยาศาสตร์บริการ • การเสนอผลงานวิจัยเรื่อง การวิเคราะห์สารเติมแต่งพลาสติกโดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟฟีพร้อมเครื่องตรวจวัดแบบ FID (oral presentation และ poster) ณ การประชุมเพื่อเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร วันที่ 17-18 ธันวาคม 2551 ณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปรายงานการวิจัย (Executive Summary)

ปีที่ 2 (ต.ค. 2550 ถึง ก.ย. 2551)

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด: พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริก

1. บทนำ

มูลเหตุจูงใจและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พริกมีกลุ่มสารที่สำคัญที่ทำให้มีรสเผ็ดร้อนและมีกลิ่นฉุน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids, CAPs) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคปไซซิน (capsaicin, CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin, DCAP) เมื่อเร็วๆ นี้ สหภาพยุโรป (European Commission) ได้รายงานความคิดเห็นของคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ทางอาหารเกี่ยวกับ CAPs โดยมีสาระที่สำคัญว่าการบริโภคอาหารรสเผ็ดจัดมีความสัมพันธ์และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะ และการจำแนกประเภทของอาหารตามปริมาณของ CAPs

อาหารไทยส่วนใหญ่มีพริกเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงรส เช่น ซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปต่างๆ และประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกรวมของซอสพริกและเครื่องแกงเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาท ทำให้ต้องแข่งขันกับตัวเองในด้านคุณภาพและความปลอดภัย แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดของการติดฉลากระบุปริมาณ CAPs ในอาหาร แต่มีแนวโน้มว่าองค์การอาหารและยาของอเมริกาและยุโรป จะมีข้อกำหนดดังกล่าวเพื่อความปลอดภัยและสุขอนามัยของประชาชน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการแยกและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CAP และ DCAP ในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ดเป็นสิ่งที่จำเป็น แม้ว่าจะมีวิธีมาตรฐานของการวิเคราะห์สารดังกล่าวในพริกและส่วนสกัดของพริก แต่วิธีการแยกและวิเคราะห์รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งที่จำเป็น โดยเฉพาะอาหารประเภทซอสพริกและแกงของไทย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างที่นาน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ราคาแพง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างซอสพริกให้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และให้ความถูกต้องของปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนทิกโครมาโทกราฟี (micellar electrokinetic chromatography, MEKC) ที่ได้พัฒนาขึ้นมาในปีที่ 1

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

	ปี 2					
	เดือนที่					
	2	4	6	8	10	12
1. การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP	←					→
1.1 หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก	←	→				
1.2 หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย			←	→		
1.3 ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)					←	→

3. ผลการวิจัย

ซอสพริกมีลักษณะเป็นของเหลวข้น มีส่วนประกอบเป็น กระเทียม น้ำตาล เกลือ น้ำส้มสายชู (กรดแอซิติกและน้ำ) น้ำ และพริก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำประมาณ 20-50 เปอร์เซ็นต์ (คิดจากน้ำ+น้ำส้มสายชู) เพื่อความปลอดภัยทางอาหาร สหภาพยุโรป (European Commission) แนะนำว่าในซอสพริกควรมี CAPs ไม่เกิน 50 ppm (mg/kg) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริกสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1

ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการสกัดซอสพริกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดและผลของการเติมเกลือ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของเอทิลอะซิเตต (EtOAc) และอะซิโตไนไทรล์ (ACN) ทั้งแบบที่เติมเกลือและไม่เติมเกลือ โดยใช้ซอสพริกเตรียมที่มี CAPs 50 และ 100 ppm (μg/g) และตัวอย่างซอสพริกจริง (S1-h45 และ S6-x30) อย่างละ 3 ชุด พบว่าการสกัด

ตัวอย่างด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ ให้ประสิทธิภาพในการสกัด CAPs ดีกว่าการสกัดด้วย ACN เนื่องจาก ACN เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำ ในขณะที่ EtOAc เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำและไม่มีขั้วมากกว่า ACN ส่วน CAPs เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อยมาก จึงละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่า ดังนั้นการสกัด CAPs จากซอสพริกด้วย EtOAc จึงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า และการเติมเกลือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากผลของ salting-out effect และช่วยแยกชั้นน้ำออกจากตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น

ในการศึกษาหาปริมาณเกลือที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs 100 ppm และซอสพริกจริง S1-h45 เป็นตัวอย่างทดสอบ พบว่าปริมาณของเกลือที่เติมลงไป 0.5 เท่าของน้ำหนักสารตัวอย่าง (เติม anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) ก็เพียงพอสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส 2.5 กรัม และได้ทำการสกัดซอสพริกจริงซ้ำ 2 ครั้งเทียบกับการสกัด 1 ครั้ง พบว่าการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง ด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ (0.5 เท่าของน้ำหนักซอสพริกจริง) ได้ปริมาณ CAPs เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น (เพิ่มน้อยกว่า 4% สำหรับตัวอย่างซอสพริก S1-h45 และ เพิ่มน้อยกว่า 2% สำหรับ ตัวอย่างซอสพริก S6-x30) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสกัดซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อความสะดวกและประหยัดเวลา

ดังนั้นภาวะการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์ CAPs ในตัวอย่างซอสพริกที่ได้พัฒนาขึ้นคือ สกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง

จากการตรวจสอบความเที่ยงของวิธีการสกัดซอสพริก ได้ทำการหาความเที่ยงของการสกัดภายในวัน (intraday precision, n = 5 batch) และต่างวันกัน (interday precision, n = 5 วัน โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs ที่ความเข้มข้น 20, 50 และ 100 ppm พบว่า %RSD ของ %Recovery ที่วิเคราะห์ได้แต่ละวันน้อยกว่า 3.7% และ %RSD ของค่าเฉลี่ย %Recovery ทั้ง 5 วัน (n = 25) น้อยกว่า 2.5% เช่นกัน แสดงว่ามีความเที่ยงสูงของการสกัดภายในวันและต่างวัน และ %Recovery โดยรวมอยู่ในช่วง 96-105% แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดสูง

จากการประยุกต์เทคนิค MEKC สำหรับปริมาณวิเคราะห์ของ CAPs ในซอสพริกจริงตัวอย่าง โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีปริมาณ CAPs ในช่วง 21-128 ppm โดยที่ 3 ตัวอย่างมีปริมาณ CAPs มากกว่า 50 ppm ซึ่งเกินปริมาณจำกัด นอกจากนี้ปริมาณ CAPs ที่วิเคราะห์ได้จากต่างยี่ห้อกันไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณพริกที่ระบุไว้ในซอสพริก และระดับความเผ็ดที่ระบุไว้ ดังนั้น MEKC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนี้ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริก เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

4. สรุปและเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก คือทำการสกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1 ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ใช้ปริมาณตัวอย่างและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อย และใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อย

ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิค CE แบบ MEKC น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก และอาหารรสเผ็ดซึ่งคาดว่าตัวอย่างต่างๆ กัน จะมีปริมาณของสารดังกล่าวแตกต่างกันและหากมีการระบุหรือติดฉลากปริมาณของสารในตัวอย่างดังกล่าวจะเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภค

5. ประโยชน์ที่ได้รับและการเผยแพร่ผลงาน

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของนิสิตระดับปริญญาโท ซึ่งจะได้มหาบัณฑิต 1 คน หลังสิ้นสุดงานวิจัยปีที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการดำเนินการในปี 2550	วิธีการดำเนินการในปี 2551
การพัฒนาวิธีการแยกและวิเคราะห์แคปไซซิน (CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (DCAP) โดยใช้สารมาตรฐานและส่วนสกัดพริกเป็นสารทดสอบ (test analyte) 1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล 2. หาภาวะของ CE แบบ MEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 3. หาภาวะของ CE แบบ MEEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 4. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validation of method) 5. การเปรียบเทียบปริมาณวิเคราะห์จาก MEKC, MEEKC และ HPLC 6. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง	การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP 1. หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก 2. หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3. ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปรายงานการวิจัย (Executive Summary)

ปีที่ 2 (ต.ค. 2550 ถึง ก.ย. 2551)

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด: พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริก

1. บทนำ

มูลเหตุจูงใจและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พริกมีกลุ่มสารที่สำคัญที่ทำให้มีรสเผ็ดร้อนและมีกลิ่นฉุน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids, CAPs) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคปไซซิน (capsaicin, CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin, DCAP) เมื่อเร็วๆ นี้ สหภาพยุโรป (European Commission) ได้รายงานความคิดเห็นของคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ทางอาหารเกี่ยวกับ CAPs โดยมีสาระที่สำคัญว่าการบริโภคอาหารรสเผ็ดจัดมีความสัมพันธ์และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะ และการจำแนกประเภทของอาหารตามปริมาณของ CAPs

อาหารไทยส่วนใหญ่มีพริกเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงรส เช่น ซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปต่างๆ และประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกรวมของซอสพริกและเครื่องแกงเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาท ทำให้ต้องแข่งขันกับตัวเองในด้านคุณภาพและความปลอดภัย แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดของการติดฉลากระบุปริมาณ CAPs ในอาหาร แต่มีแนวโน้มว่าองค์การอาหารและยาของอเมริกาและยุโรป จะมีข้อกำหนดดังกล่าวเพื่อความปลอดภัยและสุขอนามัยของประชาชน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการแยกและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CAP และ DCAP ในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ดเป็นสิ่งที่จำเป็น แม้ว่าจะมีวิธีมาตรฐานของการวิเคราะห์สารดังกล่าวในพริกและส่วนสกัดของพริก แต่วิธีการแยกและวิเคราะห์รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งที่จำเป็น โดยเฉพาะอาหารประเภทซอสพริกและแกงของไทย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างที่นาน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ราคาแพง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างซอสพริกให้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และให้ความถูกต้องของปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนทิกโครมาโทกราฟี (micellar electrokinetic chromatography, MEKC) ที่ได้พัฒนาขึ้นมาในปีที่ 1

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

	ปี 2					
	เดือนที่					
	2	4	6	8	10	12
1. การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP	←	—	—	—	—	→
1.1 หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก	←	→				
1.2 หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย			←	→		
1.3 ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)					←	→

3. ผลการวิจัย

ซอสพริกมีลักษณะเป็นของเหลวข้น มีส่วนประกอบเป็น กระเทียม น้ำตาล เกลือ น้ำส้มสายชู (กรดแอซิติกและน้ำ) น้ำ และพริก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำประมาณ 20-50 เปอร์เซ็นต์ (คิดจากน้ำ+น้ำส้มสายชู) เพื่อความปลอดภัยทางอาหาร สหภาพยุโรป (European Commission) แนะนำว่าในซอสพริกควรมี CAPs ไม่เกิน 50 ppm (mg/kg) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริกสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1

ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการสกัดซอสพริกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดและผลของการเติมเกลือ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของเอทิลอะซิเตต (EtOAc) และอะซิโตไนไทรล์ (ACN) ทั้งแบบที่เติมเกลือและไม่เติมเกลือ โดยใช้ซอสพริกเตรียมที่มี CAPs 50 และ 100 ppm (µg/g) และตัวอย่างซอสพริกจริง (S1-h45 และ S6-x30) อย่างละ 3 ชุด พบว่าการสกัด

ตัวอย่างด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ ให้ประสิทธิภาพในการสกัด CAPs ดีกว่าการสกัดด้วย ACN เนื่องจาก ACN เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำ ในขณะที่ EtOAc เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำและไม่มีขั้วมากกว่า ACN ส่วน CAPs เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อยมาก จึงละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่า ดังนั้นการสกัด CAPs จากซอสพริกด้วย EtOAc จึงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า และการเติมเกลือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากผลของ salting-out effect และช่วยแยกชั้นน้ำออกจากตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น

ในการศึกษาหาปริมาณเกลือที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs 100 ppm และซอสพริกจริง S1-h45 เป็นตัวอย่างทดสอบ พบว่าปริมาณของเกลือที่เติมลงไป 0.5 เท่าของน้ำหนักสารตัวอย่าง (เติม anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) ก็เพียงพอสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส 2.5 กรัม และได้ทำการสกัดซอสพริกจริงซ้ำ 2 ครั้งเทียบกับการสกัด 1 ครั้ง พบว่าการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง ด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ (0.5 เท่าของน้ำหนักซอสพริกจริง) ได้ปริมาณ CAPs เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น (เพิ่มน้อยกว่า 4% สำหรับตัวอย่างซอสพริก S1-h45 และ เพิ่มน้อยกว่า 2% สำหรับ ตัวอย่างซอสพริก S6-x30) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสกัดซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อความสะดวกและประหยัดเวลา

ดังนั้นภาวะการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์ CAPs ในตัวอย่างซอสพริกที่ได้พัฒนาขึ้นคือ สกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง

จากการตรวจสอบความเที่ยงของวิธีการสกัดซอสพริก ได้ทำการหาความเที่ยงของการสกัดภายในวัน (intraday precision, n = 5 batch) และต่างวันกัน (interday precision, n = 5 วัน โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs ที่ความเข้มข้น 20, 50 และ 100 ppm พบว่า %RSD ของ %Recovery ที่วิเคราะห์ได้แต่ละวันน้อยกว่า 3.7% และ %RSD ของค่าเฉลี่ย %Recovery ทั้ง 5 วัน (n = 25) น้อยกว่า 2.5% เช่นกัน แสดงว่ามีความเที่ยงสูงของการสกัดภายในวันและต่างวัน และ %Recovery โดยรวมอยู่ในช่วง 96-105% แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดสูง

จากการประยุกต์เทคนิค MEKC สำหรับปริมาณวิเคราะห์ของ CAPs ในซอสพริกจริงตัวอย่าง โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีปริมาณ CAPs ในช่วง 21-128 ppm โดยที่ 3 ตัวอย่างมีปริมาณ CAPs มากกว่า 50 ppm ซึ่งเกินปริมาณจำกัด นอกจากนี้ปริมาณ CAPs ที่วิเคราะห์ได้จากต่างยี่ห้อกันไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณพริกที่ระบุไว้ในซอสพริก และระดับความเผ็ดที่ระบุไว้ ดังนั้น MEKC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนี้ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริก เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

4. สรุปและเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก คือทำการสกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1 ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ใช้ปริมาณตัวอย่างและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อย และใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อย

ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิค CE แบบ MEKC น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก และอาหารรสเผ็ดซึ่งคาดว่าตัวอย่างต่างๆ กัน จะมีปริมาณของสารดังกล่าวแตกต่างกันและหากมีการระบุหรือติดฉลากปริมาณของสารในตัวอย่างดังกล่าวจะเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภค

5. ประโยชน์ที่ได้รับและการเผยแพร่ผลงาน

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของนิสิตระดับปริญญาโท ซึ่งจะได้มหาบัณฑิต 1 คน หลังสิ้นสุดงานวิจัยปีที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการดำเนินการในปี 2550	วิธีการดำเนินการในปี 2551
การพัฒนาวิธีการแยกและวิเคราะห์แคปไซซิน (CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (DCAP) โดยใช้สารมาตรฐานและส่วนสกัดพริกเป็นสารทดสอบ (test analyte) 1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล 2. หาภาวะของ CE แบบ MEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 3. หาภาวะของ CE แบบ MEEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 4. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validation of method) 5. การเปรียบเทียบปริมาณวิเคราะห์จาก MEKC, MEEKC และ HPLC 6. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง	การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP 1. หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก 2. หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3. ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปรายงานการวิจัย (Executive Summary)

ปีที่ 2 (ต.ค. 2550 ถึง ก.ย. 2551)

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด: พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริก

1. บทนำ

มูลเหตุจูงใจและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พริกมีกลุ่มสารที่สำคัญที่ทำให้มีรสเผ็ดร้อนและมีกลิ่นฉุน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids, CAPs) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคปไซซิน (capsaicin, CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin, DCAP) เมื่อเร็วๆ นี้ สหภาพยุโรป (European Commission) ได้รายงานความคิดเห็นของคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ทางอาหารเกี่ยวกับ CAPs โดยมีสาระที่สำคัญว่าการบริโภคอาหารรสเผ็ดจัดมีความสัมพันธ์และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะ และการจำแนกประเภทของอาหารตามปริมาณของ CAPs

อาหารไทยส่วนใหญ่มีพริกเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงรส เช่น ซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปต่างๆ และประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกรวมของซอสพริกและเครื่องแกงเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาท ทำให้ต้องแข่งขันกับตัวเองในด้านคุณภาพและความปลอดภัย แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดของการติดฉลากระบุปริมาณ CAPs ในอาหาร แต่มีแนวโน้มว่าองค์การอาหารและยาของอเมริกาและยุโรป จะมีข้อกำหนดดังกล่าวเพื่อความปลอดภัยและสุขอนามัยของประชาชน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการแยกและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CAP และ DCAP ในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ดเป็นสิ่งที่จำเป็น แม้ว่าจะมีวิธีมาตรฐานของการวิเคราะห์สารดังกล่าวในพริกและส่วนสกัดของพริก แต่วิธีการแยกและวิเคราะห์รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งที่จำเป็น โดยเฉพาะอาหารประเภทซอสพริกและแกงของไทย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างที่นาน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ราคาแพง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างซอสพริกให้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และให้ความถูกต้องของปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนทิกโครมาโทกราฟี (micellar electrokinetic chromatography, MEKC) ที่ได้พัฒนาขึ้นมาในปีที่ 1

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

	ปี 2					
	เดือนที่					
	2	4	6	8	10	12
1. การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP	←	—	—	—	—	→
1.1 หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก	←	—	→			
1.2 หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย			←	—	→	
1.3 ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)					←	— →

3. ผลการวิจัย

ซอสพริกมีลักษณะเป็นของเหลวข้น มีส่วนประกอบเป็น กระเทียม น้ำตาล เกลือ น้ำส้มสายชู (กรดแอซิติกและน้ำ) น้ำ และพริก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำประมาณ 20-50 เปอร์เซ็นต์ (คิดจากน้ำ+น้ำส้มสายชู) เพื่อความปลอดภัยทางอาหาร สหภาพยุโรป (European Commission) แนะนำว่าในซอสพริกควรมี CAPs ไม่เกิน 50 ppm (mg/kg) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างซอสพริกสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1

ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการสกัดซอสพริกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดและผลของการเติมเกลือ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดของเอทิลอะซิเตต (EtOAc) และอะซิโตไนไทรล์ (ACN) ทั้งแบบที่เติมเกลือและไม่เติมเกลือ โดยใช้ซอสพริกเตรียมที่มี CAPs 50 และ 100 ppm (µg/g) และตัวอย่างซอสพริกจริง (S1-h45 และ S6-x30) อย่างละ 3 ชุด พบว่าการสกัด

ตัวอย่างด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ ให้ประสิทธิภาพในการสกัด CAPs ดีกว่าการสกัดด้วย ACN เนื่องจาก ACN เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำ ในขณะที่ EtOAc เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำและไม่มีขั้วมากกว่า ACN ส่วน CAPs เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อยมาก จึงละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่า ดังนั้นการสกัด CAPs จากซอสพริกด้วย EtOAc จึงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่า และการเติมเกลือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากผลของ salting-out effect และช่วยแยกชั้นน้ำออกจากตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น

ในการศึกษาหาปริมาณเกลือที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs 100 ppm และซอสพริกจริง S1-h45 เป็นตัวอย่างทดสอบ พบว่าปริมาณของเกลือที่เติมลงไป 0.5 เท่าของน้ำหนักสารตัวอย่าง (เติม anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) ก็เพียงพอสำหรับการสกัดตัวอย่างซอส 2.5 กรัม และได้ทำการสกัดซอสพริกจริงซ้ำ 2 ครั้งเทียบกับการสกัด 1 ครั้ง พบว่าการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง ด้วย EtOAc แบบเติมเกลือ (0.5 เท่าของน้ำหนักซอสพริกจริง) ได้ปริมาณ CAPs เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น (เพิ่มน้อยกว่า 4% สำหรับตัวอย่างซอสพริก S1-h45 และ เพิ่มน้อยกว่า 2% สำหรับ ตัวอย่างซอสพริก S6-x30) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสกัดซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อความสะดวกและประหยัดเวลา

ดังนั้นภาวะการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์ CAPs ในตัวอย่างซอสพริกที่ได้พัฒนาขึ้นคือ สกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง

จากการตรวจสอบความเที่ยงของวิธีการสกัดซอสพริก ได้ทำการหาความเที่ยงของการสกัดภายในวัน (intraday precision, n = 5 batch) และต่างวันกัน (interday precision, n = 5 วัน โดยใช้ซอสเตรียมที่มี CAPs ที่ความเข้มข้น 20, 50 และ 100 ppm พบว่า %RSD ของ %Recovery ที่วิเคราะห์ได้แต่ละวันน้อยกว่า 3.7% และ %RSD ของค่าเฉลี่ย %Recovery ทั้ง 5 วัน (n = 25) น้อยกว่า 2.5% เช่นกัน แสดงว่ามีความเที่ยงสูงของการสกัดภายในวันและต่างวัน และ %Recovery โดยรวมอยู่ในช่วง 96-105% แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดสูง

จากการประยุกต์เทคนิค MEKC สำหรับปริมาณวิเคราะห์ของ CAPs ในซอสพริกจริงตัวอย่าง โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีปริมาณ CAPs ในช่วง 21-128 ppm โดยที่ 3 ตัวอย่างมีปริมาณ CAPs มากกว่า 50 ppm ซึ่งเกินปริมาณจำกัด นอกจากนี้ปริมาณ CAPs ที่วิเคราะห์ได้จากต่างยี่ห้อกันไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณพริกที่ระบุไว้ในซอสพริก และระดับความเผ็ดที่ระบุไว้ ดังนั้น MEKC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนี้ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริก เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

4. สรุปและเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก คือทำการสกัดตัวอย่างซอสพริก 2.5 กรัม ด้วย EtOAc 10 ml แบบเติมเกลือ (anhydrous $MgSO_4$ 1.0 กรัม และ NaCl 0.25 กรัม) และทำการสกัด 1 ครั้ง จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ด้วยเทคนิค MEKC ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยในปีที่ 1 ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ใช้ปริมาณตัวอย่างและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อย และใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อย

ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิค CE แบบ MEKC น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก และอาหารรสเผ็ดซึ่งคาดว่าตัวอย่างต่างๆ กัน จะมีปริมาณของสารดังกล่าวแตกต่างกันและหากมีการระบุหรือติดฉลากปริมาณของสารในตัวอย่างดังกล่าวจะเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภค

5. ประโยชน์ที่ได้รับและการเผยแพร่ผลงาน

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของนิสิตระดับปริญญาโท ซึ่งจะได้มหาบัณฑิต 1 คน หลังสิ้นสุดงานวิจัยปีที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการดำเนินการในปี 2550	วิธีการดำเนินการในปี 2551
การพัฒนาวิธีการแยกและวิเคราะห์แคปไซซิน (CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (DCAP) โดยใช้สารมาตรฐานและส่วนสกัดพริกเป็นสารทดสอบ (test analyte) 1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล 2. หาภาวะของ CE แบบ MEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 3. หาภาวะของ CE แบบ MEEKC สำหรับแยกสารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก 4. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validation of method) 5. การเปรียบเทียบปริมาณวิเคราะห์จาก MEKC, MEEKC และ HPLC 6. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง	การศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง สำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP 1. หาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัด CAP และ DCAP และการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์พริก 2. หาความแม่นและความเที่ยงของการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3. ประยุกต์กับตัวอย่างจริง (ซอสพริก)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

รายงานการวิจัยที่ได้เสนอไปในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550
1. ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง 2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์เบื้องต้น โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี 3. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี 4. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity) 5. ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได (Limit of Quantitative ; LOQ) 6. ศึกษาหาความแม่นยำ (Precision) และ ความถูกต้อง (Accuracy) ในการตรวจวัดซัลโฟนาไมด์ 7. วิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ ในเนื้อกุ้งด้วยวิธี Standard addition พร้อมทั้งหาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี	1. ได้ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง 2. ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์เบื้องต้น โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี 3. ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี 4. ได้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity) 5. ได้ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitative ; LOQ) ของซัลโฟนาไมด์ 6. ได้ศึกษาหาความแม่นยำ (Precision) และความถูกต้อง (Accuracy) ในการตรวจวัดซัลโฟนาไมด์ 7. ได้วิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ ในเนื้อกุ้งด้วยวิธี Standard addition พร้อมทั้งหาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัยที่ได้เสนอไปในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2551
1. ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง	1. ได้ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง
2. ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงโดยใช้การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมตรี	2. ได้ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงโดยใช้การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมตรี
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง พร้อมทั้งตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี	3. ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง พร้อมทั้งตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี
4. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)	4. ได้ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)
5. ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได (Limit of Quantitative ; LOQ)	5. ได้ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได (Limit of Quantitative ; LOQ)
6. ศึกษาหาความแม่นยำ (Precision) และ ความถูกต้อง (Accuracy) ในการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง	6. ได้ศึกษาหาความแม่นยำ (Precision) และ ความถูกต้อง (Accuracy) ในการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง
7. ศึกษาหาปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี	7. ได้ศึกษาหาปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมทรีสำหรับการวิเคราะห์ไอออนโลหะ (MICROCHIP CAPILLARY ELECTROPHORESIS WITH AMPEROMETRIC DETECTION FOR METAL ION ANALYSIS)

มูลเหตุจูงใจ

ไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิส (Microchip capillary electrophoresis) เป็นเทคนิคที่ได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากมีขนาดเล็ก สามารถแยกสารได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของสารผ่านตัวกลางที่เป็นสารละลายอิเล็กโตรไลต์ซึ่งบรรจุในคะพิลลารีขนาดเล็กภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้า มีการประยุกต์เทคนิคนี้ในการแยกสารที่อยู่ในอาหารและสิ่งแวดล้อม

โลหะหนักที่เจือปนในอาหารและสิ่งแวดล้อมเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดความวิตกกังวล โดยทั่วไปโลหะหนักจะไม่ถูกสลายด้วยกระบวนการทางชีววิทยา โลหะหนักสามารถสะสมในมนุษย์ได้ จากการที่มนุษย์บริโภคพืชและน้ำที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสุขภาพ เช่น ไตวาย อาการเป็นพิษเรื้อรัง ตับถูกทำลาย ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลก จึงได้มีข้อกำหนดเรื่องการควบคุมปริมาณโลหะหนักเช่น ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม และโลหะหนักอื่น ๆ ในอาหารเพื่อความปลอดภัยแก่สาธารณชน

ตะกั่วและแคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบมากบนโลกและมีความเป็นพิษ ถ้าในอาหารมีความเข้มข้นของโลหะนี้มากจะเป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ โรคไต โรคเกี่ยวกับระบบประสาท และกระดูก นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุในการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ (การผ่าเหล่า) และเป็นสาเหตุของความพิการของทารกในครรภ์ ทองแดงและโลหะอื่นในปริมาณน้อยเป็นโลหะที่มีความจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ และมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาการเผาผลาญสารภายในเซลล์ ความไม่สมดุลของทองแดงสามารถเป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วยรุนแรง เหตุผลหลักที่ต้องมีการเฝ้าระวังระดับความเป็นพิษของโลหะหนักในอาหารเนื่องจากมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น แหล่งสร้างมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมมาจากโรงงานอุตสาหกรรมและการจราจร การเกษตร ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของโลหะหนักในอาหารจึงต้องการวิธีการตรวจวัดที่ง่าย มีความไวและมีความแม่นยำ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในอาหารประเภทน้ำดื่มซึ่งข้อดีของเทคนิคดังกล่าวคือสามารถวิเคราะห์โลหะหนักได้อย่างรวดเร็วและสะดวกในการตรวจวัดเนื่องจากเครื่องมือที่ใช้มีขนาดเล็กสามารถพกพาไปตรวจวัดในสถานที่จริงได้

จุดประสงค์งานวิจัย

1. พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักที่มีความไวในการตรวจวัดสูง ราคาถูก และมีขนาดเล็กสามารถพกพาได้

2. ประยุกต์ใช้ไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรีหาปริมาณโลหะหนักในเครื่องดื่ม

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. **ค้นคว้าข้อมูลและเอกสารที่เกี่ยวข้อง**

2. **ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง โดยใช้การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมตรี**

ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะตะกั่วในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง -0.95 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะแคดเมียมในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง -0.9 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

ศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโลหะทองแดงในช่วงศักย์ไฟฟ้า 0 ถึง -0.95 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส พีเอช 7 ที่ scan rate 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

2.4 ศึกษาผลของ scan rate ต่อสัญญาณการตรวจวัดของโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง

3. **ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง พร้อมทั้งตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี**

3.1 ศึกษาผลของพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอสและแอลฮีสทีดีนในช่วงพีเอช 6 – 8.5

3.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอสและแอลฮีสทีดีนในช่วง 10 -25 mM

3.3 ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดโลหะทั้งสามด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี

3.4 ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะทั้งสามชนิด

4. **ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด** (Linearity)

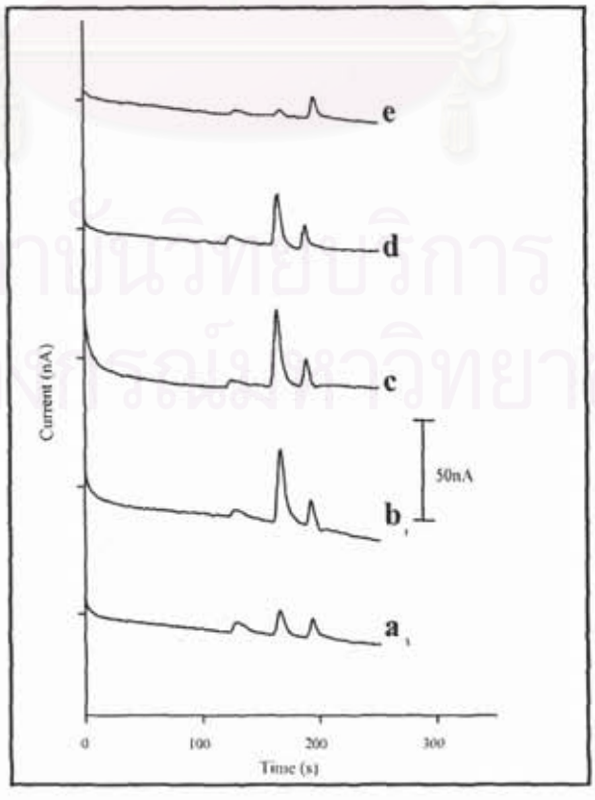
5. **ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์** (Limit of Determination; LOD) **และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้** (Limit of Quantitative ; LOQ)

6. **ศึกษาหาความแม่นยำ** (Precision) **และ ความถูกต้อง** (Accuracy) **ในการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดง**

7. **ศึกษาหาปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี**

<u>ผลการวิจัย</u>

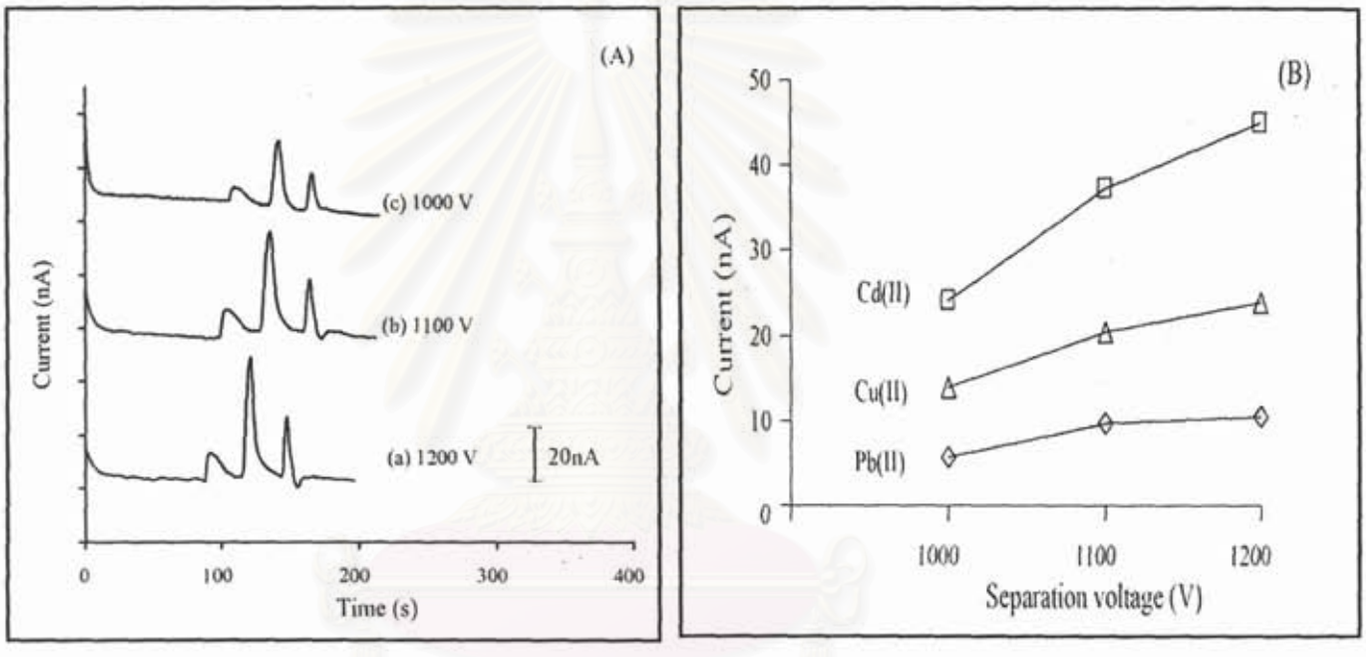
1. ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดโลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงด้วยเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี



รูปที่ 1 อิเล็กโทรฟิโรแกรมของ 1.0 มิลลิโมลาร์ของโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดงที่ค่าศักย์ไฟฟ้าตรวจวัดต่าง ๆ (a) -0.90 โวลต์ (b) -0.85 โวลต์ (c) -0.80 โวลต์ (d) -0.75 โวลต์ และ (e) -0.70 โวลต์ ที่สารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส 25 มิลลิโมลาร์และแอลฮีสทีดีน พีเอส 7.0 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยก 1000 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

2. ศึกษาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดง

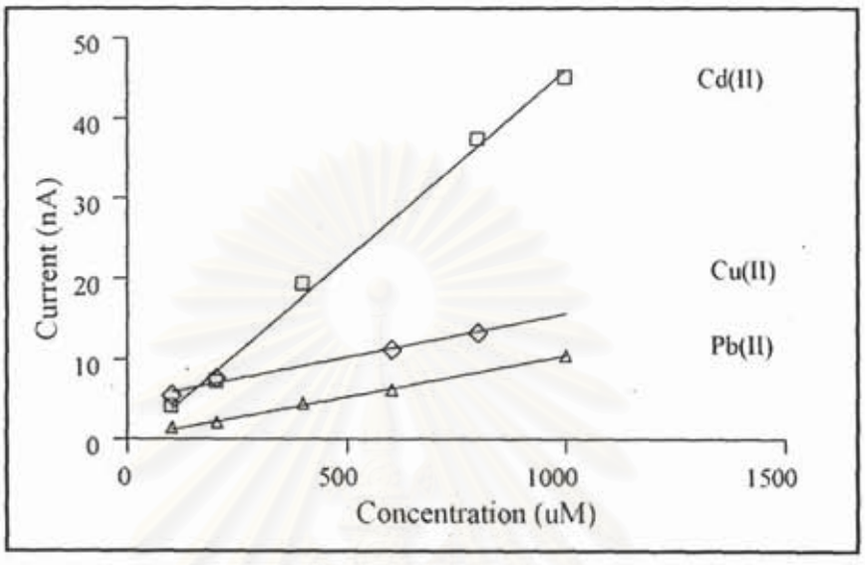
ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการแยกโลหะทั้งสามที่ 1200 โวลต์



รูปที่ 2 อิเล็กโทรฟิโรแกรมของโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดงที่ศักย์ไฟฟ้าการแยกต่างๆ กัน (A) แสดงความสัมพันธ์ของสัญญาณการตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้าที่ (a) 1200 โวลต์ (b) 1100 โวลต์ (c) 1000 โวลต์ กับเวลา (B)) แสดงความสัมพันธ์ของสัญญาณการตรวจวัดกับศักย์ไฟฟ้าการแยก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)



รูปที่3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับความเข้มข้นของโลหะตะกั่ว แคดเมียมและ ทองแดงที่สารละลายบัฟเฟอร์เอ็มอีเอส 25 มิลลิโมลาร์และแอลฮีสทีดีน พีเอส 7.0 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยก 1200 โวลต์ ศักย์ไฟฟ้าตรวจวัด -0.8 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

<u>สรุปและเสนอแนะ</u>

งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคไมโครซิพคะพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรีมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักเป็นครั้งแรกซึ่งการใช้เทคนิคนี้มีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยสามารถวิเคราะห์โลหะตะกั่ว แคดเมียม และทองแดงได้ภายในเวลา 3 วินาที เป็นวิธีที่ง่ายสำหรับการตรวจวัด มีความไวในการตรวจวัดสูง และใช้สารเคมีน้อย จากข้อดีดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในผลไม้ได้ ให้ ร้อยละการกลับคืนในช่วง 91.93 ถึง 107.90

รายงานการวิจัย "การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล"

1.บทนำ

1) มูลเหตุจูงใจและปัญหา

ไคติน (chitin) เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ประกอบด้วยโครงสร้างทางเคมีคือ poly(β-(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-*D*-glucose) หรือเอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน (*N*-acetyl-*D*-glucosamine) เป็นหน่วยซ้ำหลักในสายพอลิเมอร์ ส่วนไคโตซาน (chitosan) ได้จากการทำปฏิกิริยาดีอะซิทิเลชันของไคตินในสารละลายด่างเข้มข้น ดังนั้นไคโตซานจึงประกอบด้วยโครงสร้างทางเคมีส่วนใหญ่เป็น poly(β-(1-4)-2-amino-2-deoxy-*D*-glucose) หรือดี-กลูโคซามีน (*D*-glucosamine) เป็นหน่วยซ้ำหลัก ไคตินและไคโตซานมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับเซลลูโลส แตกต่างกันที่หมู่แทนที่บนคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่สองในวงแหวนไพราโนส (pyranose ring) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของเซลลูโลสโดยหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งนี้ของเซลลูโลสจะเป็นหมู่ไฮดรอกซิลแต่ของไคตินเป็นหมู่อะซิทาไมด์ (NHAc) ส่วนไคโตซานเป็นหมู่อะมิโน (NH_2)

ไคติน-ไคโตซานที่ผลิตขึ้นภายในประเทศส่วนใหญ่จะส่งออกในรูปของวัตถุดิบราคาถูก (กิโลกรัมละ 400-1000 บาท) ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น จึงเป็นการช่วยเปลี่ยนของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งให้กลายเป็นทรัพยากรที่มีค่าของประเทศ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นการวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีที่มั่นคงและยั่งยืน เอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน ที่ขายในรูปสารเคมีปัจจุบันมีราคากว่า 57,700 บาท/กิโลกรัม ส่วนไดเมอร์ของไคตินคือ เอ็น,เอ็น-ไดแอซีทิลไคโตไบโอส มีราคาสูงกว่า 900,000 บาท/กรัม และโอลิโกเมอร์ที่มีขนาด 3-7 หน่วยนั้นมีราคาสูงขึ้นไปอีกตามลำดับ[1] ซึ่งสารเหล่านี้ใช้เป็นส่วนผสมหลักในยารักษาอาการเจ็บปวดตามข้อกระดูกสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคออสทีโออาร์ไทรทีส (osteoarthritis)[2] โครงการวิจัยนี้จึงอาจถือได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นของการแปรรูปวัถดุดิบคือไคติน และไคโตซานให้เป็นสารเคมีโมเลกุลขนาดเล็กลงที่มีประโยชน์ในทางเภสัชกรรมที่มีราคาสูงขึ้น

ในงานวิจัยที่ผ่านของเราพบว่าเอนไซม์จาก Burkoderia cepacia สามารถใช้ผลิตเอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน จาก ไคติน มากกว่า 90% ในเวลา 1 วัน โดยอัตราค่าใช้จ่ายในการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการจะอยู่ที่ประมาณ 800-1500 บาท/กิโลกรัม และถ้าขยายขนาดการผลิตก็จะสามารถลดราคาการผลิตต่อกิโลกรัมลงอย่างมีนัยสำคัญได้อีก อย่างไรก็ตามจุดเด่นของการวิจัยนี้ไม่ได้อยู่ที่ต้นทุนการผลิตต่ำแต่เพียงอย่างเดียว แต่อยู่ที่ความปลอดภัยและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมที่มีมากกว่าวิธีการผลิตโดยใช้สารเคมีซึ่งมีกระบวนการทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ที่ยุ่งยากซับซ้อน

2) วัตถุประสงค์

2.1) เพื่อศึกษาการย่อยไคตินด้วยเอนไซม์เพื่อเตรียม เอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน และ เอ็น,เอ็น-ไดแอซีทิลไคโตไบโอส และ ศึกษาหาวิธีแยกผลิตภัณฑ์ดังกล่าวออกจากของผสมในปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

2.2) เพื่อศึกษาการย่อยไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริคโดยมีคลื่นอัลตราโสนิกช่วยเพื่อเตรียมเกลือกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์และ ศึกษาหาวิธีแยกผลิตภัณฑ์ดังกล่าวออกจากของผสมในปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

1) การย่อยด้วยเอนไซม์

a. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
b. จัดหาสารเคมีและวัตถุดิบที่จำเป็น
c. นำ *Aeromonas hydrophila* MOK-1 ที่คัดเลือกสายพันธุ์แล้วว่าสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยไคตินได้ จากดร. รัฐ พิชญางกูร ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาทำการเลี้ยงเพิ่มจำนวนเพื่อนำไปศึกษาต่อ และเก็บเป็น stock เชื้อ
d. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์ของ *Aeromonas hydrophila* MOK-1 หาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ในปริมาณมาก เช่น
   - การใช้แอลฟาและเบต้าไคตินที่ระดับ 0.5, 1, 1.5 และ 2% เป็นแหล่งคาร์บอน
   - อุณหภูมิที่ 30 – 50°C
e. หาสภาวะที่เหมาะสมกับการย่อยของเอนไซม์
   - อุณหภูมิที่เหมาะสมแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ 30 – 45°C และ 45 - 60°C
   - พีเอชที่เหมาะสมโดยศึกษาในช่วง pH 3.5 - 8
f. ย่อยไคตินด้วยเอนไซม์ให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลแอมิโนโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ โดยใช้วิธีการหมักแบบครั้งเดียว, แบบกึ่งต่อเนื่อง และแบบต่อเนื่อง
g. ทำการแยกน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้บริสุทธิ์
h. วิเคราะห์ สรุปผล และเขียนเขียนรายงาน และเตรียมบทความเพื่อลงตีพิมพ์ หรือ จดสิทธิบัตร

2) การย่อยด้วยกรด

a. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
b. จัดหาสารเคมีและวัตถุดิบที่จำเป็น
c. ศึกษาการย่อยไคตินจากเปลือกกุ้งบดขนาด 200 mesh ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (12 M) ที่ระยะเวลาต่างๆกัน โดยใช้โซนิเคเตอร์ช่วย
d. ทำการแยกผลิตภัณฑ์เกลือกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซนต์ผลผลิต เปรียบเทียบกับการย่อยโดยไม่ใช้คลื่นโซนิเคเตอร์
e. หา activity ของการย่อยโดยใช้ โซนิเคเตอร์เป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย
f. ศึกษาปัจจัยของอัตราส่วนระหว่างปริมาณไคตินกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นที่มีต่อเปอร์เซนต์ผลผลิตแบบใช้โซนิเคเตอร์
g. หาค่า pH และ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อย
h. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วย HPLC
i. แยกผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วย การตกตะกอน หรือโครมาโทกราฟฟี
j. เขียนรายงาน และเตรียมบทความเพื่อลงตีพิมพ์ หรือ จดสิทธิบัตร

3. ผลการวิจัย

1) การย่อยด้วยเอนไซม์

เอนไซม์จากรา *Aspergillus fumigatus* (4 U/1 g of chitin) สามารถย่อยไคติน (3% w/v) ที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเปอร์เซนต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน

การย่อยไคติน (3% w/v) ด้วยเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* (1 U/1 g of chitin) ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่มเป็นเวลา 6 วันให้ผลิตภัณฑ์เป็น $(GlcNAc)_2$ และ GlcNAc ด้วยเปอร์เซนต์ผลิตภัณฑ์ 43% และ 2.6% หลังจากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยขบวนการที่พัฒนาแล้วความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้สูง

2) การย่อยด้วยกรด

การย่อยไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยการใช้และไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิคเพื่อให้ได้เกลือกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการเตรียมเกลือ GlcNHCl คืออัตราส่วนไคตินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:1 (w/w)

4. สรุปและเสนอแนะ

ในขั้นต่อไปจะศึกษาการย่อยโดยใช้โซนิเคเตอร์เป็นจุดหมายต่อไปซึ่งเราจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยการศึกษาปฏิกิริยาการย่อย ณ อุณหภูมิและเวลาที่ต่างกัน นอกจากนั้นยังต้องพัฒนาการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วย HPLC

รวมไปถึงการปรับปรุงขบวนการที่แสดงไว้ให้ดีขึ้นโดยปรับเปลี่ยนปริมาณของรีเอเจนต์หรือ ปัจจัยอื่นๆต่อไป จากนั้นรวบรวมข้อมูลและผลการทดลองที่ได้มาเขียนรายงาน และดำเนินการตามแผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้ต่อไป

ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยนี้คือการพัฒนากรรมวิธีการในการย่อยไคตินที่มีประสิทธิภาพสูงให้ได้ โมโนเมอร์ (GlcNAc), ไดเมอร์ $[(GlcNAc)_2]$ รวมทั้งเกลือโมโนเมอร์ (Glc) ของไคตินที่สามารถนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารเสริมป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบสรุปรายงานปี 2551

ผลิตภัณฑ์ผัก และผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์และแอนติออกซิเดนท์

Local Fruits and Vegetables Products with Functional Substance of Prebiotic and Antioxidants

---

1. บทนำ

มูลเหตุจูงใจ ปัญหา

โครงการวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการผลิตสารสกัดจากผักผลไม้ในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคทางเอนไซม์เพื่อย่อยสลายเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้ สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ตามแต่ละชนิดของวัตถุดิบ โดยไม่ผ่านกระบวนการแยกกากหรือใยอาหารออก ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิมแต่มีความเข้มข้นมากขึ้น สามารถนำไปใช้ผสมในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ (functional food) เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ สะดวกต่อการใช้งานและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์ ผลลัพธ์

โครงการวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อผลิตสารสกัดจากผักและผลไม้ โดยใช้เทคนิคทางเอนไซม์ในการย่อยสลายเนื้อเยื่อพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดของเหลวต่างๆ รวมทั้งสารให้ สี กลิ่น รส และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ทำให้สารสกัดที่ได้ยังคงรักษาองค์ประกอบเดิมและยังคงใยอาหารไว้แต่มีความเข้มข้นมากขึ้น สามารถนำไปใช้ผสมในอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ เพื่อทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ สะดวกต่อการใช้งานและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

จากงานวิจัยในปี 2550 ผู้วิจัยได้ศึกษาและคัดเลือกผักและผลไม้ท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ ซึ่งพบว่าพืชที่มีลักษณะเด่นและมีสารหน้าที่เฉพาะด้านสารพรีไบโอติกได้แก่ กล้วยหอมและพุทรา ส่วนพืชกลุ่มที่ให้สีและสารต้านออกซิเดชันได้แก่ ใบเตยหอม ฝรั่งแดง มะตูม มะม่วง แคนตาลูป และแก้วมังกรแดง นำมาสู่งานวิจัยในปี 2551 ที่ได้ศึกษากระบวนการแปรรูปและภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของวัตถุดิบแต่ละชนิดด้วยเอนไซม์ โดยประกอบด้วยขั้นตอนการคัดเลือกวัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบให้มีความคงตัวด้านสีและองค์ประกอบต่างๆ ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ และศึกษาลักษณะเฉพาะของสารสกัดที่ได้ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของสารสกัด ช่วยเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและคุณสมบัติการเป็นอิมัลชันของผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้น

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินการวิจัย ประกอบด้วย การหาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท เพื่อการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามแต่ชนิดของผลิตภัณฑ์ จากนั้นหาภาวะการสกัดโดยวิธีเอนไซม์ และศึกษาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินงานวิจัยในปี 2551

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปี 2551											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 หาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท	←	—	→									
2 หาสภาวะในการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์	←	—	—	—	—	→						
3 หาภาวะการสกัดโดยวิธีเอนไซม์	←	—	—	—	—	→						
4 หาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←	—	—	—	—	—	→
5 วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์						←	—	—	—	—	—	→

3. ผลการวิจัย

ในแต่ละโครงการย่อยมีข้อสรุปดังนี้

โครงการย่อยที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกลิ่นของใบเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius*) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีเขียวของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ในใบเตย โดยวิธี metallochlorophyll complexes คือ ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 4-6. ความเข้มข้นของ $ZnCl_2$ 400 ppm และอุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 110 °C นาน 15 นาที

โครงการย่อยที่ 2 กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอม (*Musa acuminate L.*) เพื่อเป็นอาหารหน้าที่เฉพาะ พบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอมเพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสทางการค้า คือ Pectinex® Ultra SP-L

ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยา 3 ชั่วโมง จะได้ไซรัปกล้วยหอมที่สีเหลืองนวล มีกลิ่นกล้วยหอมชัดเจน มีเสถียรภาพสูง

โครงการย่อยที่ 3 ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง (*Psidium guajava* L.) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ด้วยเพคติเนส (Pectinex® Ultra SP-L) คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 300 นาที ที่อุณหภูมิ 35°C

โครงการย่อยที่ 4 การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม (*Aegle marmel* L.) พบว่า การแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex® Ultra SP-L) ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ไซรัปมะตูมที่เวลาการย่อย 2 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นๆ โดยมีพฤติกรรมการไหล แบบ thixotropic โดยเมื่อระยะเวลาการย่อยมากขึ้น ไซรัปจะมีค่า yield stress (τ_0) และ flow behaviour index (n) มากขึ้น แต่มีค่า consistency coefficient (K) และ apparent viscosity (η) ที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} ลดลง

โครงการย่อยที่ 5 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเสทของมะม่วงน้ำดอกไม้ *Mangifera indica* L พบว่า ภาวะที่อิมัลชันคงตัว คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 300 นาที และ 1.0% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 90 นาที

โครงการย่อยที่ 6 การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส *Ziziphus mauritiana* Lam. พบว่า สมบัติเชิงหน้าที่ของมิวซิเลจผงที่ได้จากพุทราพันธุ์สามรส โดยนำมาเปรียบเทียบกับกัวกัมและแซนกัม จากการวัดค่าสีพบว่ามิวซิเลจผงมีค่าความสว่างสูงกว่ากัวกัมแต่ต่ำกว่าแซนแทนกัม ความสามารถในการอุ้มน้ำของมิวซิเลจผงมีค่าเท่ากับ 73.35 กรัมน้ำ/กรัมตัวอย่างแห้ง

โครงการย่อยที่ 7 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose* พบว่า วัตถุดิบแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง มีค่าแอกทิวิตีของสารต้านออกซิเดชัน เท่ากับ 2.66 และ 1.94 µg / µg DPPH และค่า reducing sugar 36.38 และ 23.48 mg glucose/g ตามลำดับ ปริมาณกรดทั้งหมด 0.30 และ 0.09 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เป็น 6.37 และ 2.20 °Brix ตามลำดับ เป็นภาวะที่เหมาะสมของวัตถุดิบ

โครงการย่อยที่ 8 การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป *Cucumis melo* var. *cantalupensis* พันธุ์ซันเลดี้ด้วยเอนไซม์ พบว่า แคนตาลูป เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับเลือกใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารหน้าที่เฉพาะ เนื่องจากมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดทั้งในส่วนเนื้อและส่วนเปลือก

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

จากแผนการดำเนินการวิจัยที่แบ่งออกเป็น 3 ปี คือในปี 2550 ในการศึกษาและคัดเลือกผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะ สามารถคัดเลือกพืชที่มีลักษณะเด่นและคุณสมบัติเฉพาะที่สำคัญที่จะพัฒนาเป็นสารสกัดทางชีวภาพด้านสารพรีไบโอติก ได้แก่ กล้วยหอม พุทรา และกลุ่มที่ให้สารต้านออกซิเดชันและสารให้สี ได้แก่ ฝรั่งแดง แคนตาลูป มะม่วง ใบเตยหอม มะตูมและ แก้วมังกรแดง ซึ่งวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีวิธีการเตรียมวัตถุดิบให้เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

สำหรับในปี 2551 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาทางเอนไซม์ เพื่อสกัดลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท ศึกษาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของแต่ละผลิตภัณฑ์ และในปี 2552 วางแผนศึกษาอายุการเก็บรักษา การประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร (food ingredient) สร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบ การเผยแพร่ผลงานวิจัย ทั้งในรูปโปสเตอร์และสื่อสิ่งพิมพ์ต่างๆ ซึ่งผลการวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาศักยภาพของผักและผลไม้ของไทย และทดแทนการนำเข้าสารแต่งสีและกลิ่นได้อีกประการหนึ่งด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1. สำรวจ,คัดเลือก วัตถุดิบ	1. สามารถคัดเลือกพืชที่มีลักษณะเด่นและคุณสมบัติเฉพาะที่สำคัญที่จะพัฒนาเป็นสารสกัดทางชีวภาพ ด้านสารพรีไบโอติก ได้แก่ กล้วยหอม พุทรา และกลุ่มที่ให้สารต้านออกซิเดชันและสารให้สี ได้แก่ ฝรั่งแดง แคนตาลูป มะม่วง ใบเตยหอม มะตูมและ แก้วมังกรแดง
2. การเตรียมวัตถุดิบ และวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของวัตถุดิบ	2. ได้วิธีการเตรียมวัตถุดิบตามชนิดและสมบัติของวัตถุดิบแต่ละชนิด ดังนี้ 1) ใบเตย เลือกใบเตยที่แก่จัด ทำการลวก เพื่อกำจัดกลิ่นเขียว และปรับปรุงสีของใบเตย โดยลวกที่อุณหภูมิ 70° C เวลา 1 นาที ในภาวะที่มีซิงค์คลอไลด์ 1300 ppm 2) กล้วยหอม เลือกระยะสุกที่ 7 เพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล โดยลวกที่อุณหภูมิ 85°C เวลา 5 นาที และเติม ascorbic acid 0.5 % โดยน้ำหนัก 3) ฝรั่งแดง เลือกวัตถุดิบที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 12-13° Brix เลือกระยะสุกที่ 2 ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล โดย เลือกที่อุณหภูมิ 85°C เวลา 5 นาที 4) มะตูม เลือกมะตูมที่แก่จัด ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดย ลวกที่อุณหภูมิ 85°C เวลา 3 นาที และเติม ascorbic acid 0.3 % โดยน้ำหนัก 5) พุทรา เลือกพุทราที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 9 วัน ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดย ลวกที่อุณหภูมิ 85°C เวลา 3 นาที 6) มะม่วง เลือกมะม่วงที่แก่จัด ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดย ลวกที่อุณหภูมิ 85°C เวลา 5 นาที และเติม ascorbic acid 0.5 % โดยน้ำหนัก 7) แก้วมังกร เลือกวัตถุดิบที่มีอายุประมาณ 45-50 วัน นำมาเก็บไว้ในอุณหภูมิ -18°C

	8) แคนตาลูป เลือกวัตถุดิบที่มีอายุ 45 วัน นำมาบ่มเป็นเวลา 6 วัน
3. เลือกและกำหนดกรรมวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ตามชนิดผลไม้	3. ได้วิธีการแปรรูปของวัตถุดิบแต่ละชนิด ดังตารางที่ 1
4. เผยแพร่ผลงาน	4. เผยแพร่ผลงานวิจัย ได้แก่ ในงานนวัตกรรมจากการบูรณาการผลงานวิจัยด้านอาหาร จัดโดย สำนักงานเทคโนโลยี SMEs มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี สนับสนุนโดย สำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม วันที่ 28 พฤศจิกายน 2550 ห้องราชเทวี 2 โรงแรมเอเชีย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
1 หาลักษณะเฉพาะที่ต้องการสำหรับวัตถุดิบแต่ละประเภท	1. ได้ลักษณะเฉพาะของวัตถุดิบแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 1
2 หาภาวะในการเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสมตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์	2. ได้วิธีการเตรียมวัตถุดิบดังแสดงในตารางที่ 1
3 หาภาวะการสกัดโดยวิธีเอนไซม์ และการเตรียมวัตถุดิบ	3. ได้ภาวะการเตรียมวัตถุดิบและการใช้เอนไซม์ในแต่ละโครงการย่อยมีข้อสรุปดังนี้ **โครงการย่อยที่** 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดและตรึงรูปสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกลิ่นของใบเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius*) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีเขียวของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ในใบเตย โดยวิธี metallochlorophyll complexes คือ ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 4-6 ความเข้มข้นของ $ZnCl_2$ 300 ppm และอุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 110 °C นาน 15 นาที **โครงการย่อยที่** 2 กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอม (*Musa acuminate L.*) เพื่อเป็นอาหารหน้าที่เฉพาะ พบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับแปรรูปไซรัปกล้วยหอมเพื่อเป็นอาหารที่มีหน้าที่เฉพาะโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสทางการค้า คือ Pectinex® Ultra SP-L ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยา 3 ชั่วโมง จะได้ไซรัปกล้วยหอมที่สีเหลืองนวล มีกลิ่นกล้วยหอมชัดเจน มีเสถียรภาพสูง **โครงการย่อยที่** 3 ผลของการสกัดด้วยเอนไซม์ต่อสารหน้าที่เฉพาะในฝรั่งแดง (*Psidium guajava* L.) พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปไซรัปฝรั่งแดงด้วยเอนไซม์ด้วยเพคติเนส (Pectinex® Ultra SP-L) คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 300 นาที ที่อุณหภูมิ 35°C **โครงการย่อยที่** 4 การผลิตด้วยเอนไซม์และการหาลักษณะเฉพาะของไซรัปมะตูม (*Aegle marmel* L.) พบว่า การแปรรูปไซรัปมะตูมด้วยเอนไซม์เพกทิเนส (Pectinex® Ultra SP-L)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

	ที่ความเข้มข้น 2.5% (v/w) ไซรัปมะตูมที่เวลาการย่อย 2 ชั่วโมงขึ้นไป จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าไซรัปที่ได้จากภาวะอื่นๆ โดยมีพฤติกรรมการไหล แบบ thixotropic โดยเมื่อระยะเวลาการย่อยมากขึ้น ไซรัปจะมีค่า yield stress (τ_0) และ flow behaviour index (n) มากขึ้น แต่มีค่าconsistency coefficient (K) และ apparent viscosity (η) ที่อัตราเฉือน 100 s^{-1} ลดลง **โครงการย่อยที่** 5 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อเสถียรภาพของอิมัลชันจากไฮโดรไลเสทของมะม่วงน้ำดอกไม้ *Mangifera indica* L พบว่า ภาวะที่อิมัลชันคงตัว คือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Pectinex® Ultra SP-L 0.5% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 300 นาที และ 1.0% ปริมาตรต่อน้ำหนัก นาน 90 นาที **โครงการย่อยที่** 6 การสกัดด้วยเอนไซม์และสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารจากพุทราพันธุ์สามรส *Ziziphus mauritiana* Lam. พบว่า สมบัติเชิงหน้าที่ของมิวซิเลจผงที่ได้จากพุทราพันธุ์สามรส โดยนำมาเปรียบเทียบกับกัวกัมและแซนแทนกัม จากการวัดค่าสีพบว่ามิวซิเลจผงมีค่าความสว่างสูงกว่ากัวกัม แต่ต่ำกว่าแซนแทนกัม ความสามารถในการอุ้มน้ำของมิวซิเลจผงมีค่าเท่ากับ 73.35 กรัมน้ำ/กรัมตัวอย่างแห้ง **โครงการย่อยที่** 7 ผลของการใช้เอนไซม์ต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง *Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose* พบว่า วัตถุดิบแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง มีค่าแอกทิวิตีของสารต้านออกซิเดชัน เท่ากับ 2.66 และ 1.94 µg / µg DPPH และค่า reducing sugar 36.38 และ 23.48 mg glucose/g ตามลำดับ ปริมาณกรดทั้งหมด 0.30 และ 0.09 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เป็น 6.37 และ 2.20 °Brix ตามลำดับ เป็นภาวะที่เหมาะสมของวัตถุดิบ **โครงการย่อยที่** 8 การสกัดสารหน้าที่เฉพาะจากแคนตาลูป *Cucumis melo* var. *cantalupensis* พันธุ์ชันเลดี้ด้วยเอนไซม์ พบว่า แคนตาลูป เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับเลือกใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารหน้าที่เฉพาะ เนื่องจากมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดทั้งในส่วนเนื้อและส่วนเปลือก
4 หาลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์	4. ระหว่างการติดตามผล

5 วิเคราะห์และติดตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์	5. ระหว่างการติดตามผล

ตารางที่ 1 วัตถุดิบที่คัดเลือกเพื่อการผลิตสารสกัดทางชีวภาพและลักษณะเด่นและหน้าที่เฉพาะและเทคโนโลยีการผลิต

กลุ่ม	วัตถุดิบ	หน้าที่เฉพาะ	เทคโนโลยีการผลิต
สารพรีไบโอติกส์	กล้วยหอม	สารพรีไบโอติก วิตามิน และกลิ่นเฉพาะตัวของกล้วยหอม	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment
	พุทรา	ใยอาหารละลายน้ำในกลุ่มของมิวซิเลจและสารพรีไบโอติกส์	(1) Pretreatment (2) Extraction (3) Enzyme Treatment (4) Freeze drying
สารต้านออกซิเดชันและสารให้สี	ฝรั่งแดง	สารให้สีแดงของไลโครปีน วิตามินซี ใยอาหารและสารต้านออกซิเดชัน	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment
	แคนตาลูป	สารให้สีเหลืองของคาร์โรทีนอยด์ กลิ่นและใยอาหาร	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment
	มะม่วง	สารให้สีเหลืองของเบต้าแคโรทีนด์ กลิ่นเฉพาะตัวของเทอร์พีน วิตามินเอและซีและคุณสมบัติการเป็นอิมัลชั่น	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment
	ใบเตยหอม	สารให้สีเขียวของคลอโรฟิลล์ สารให้กลิ่น 2 AP และสารต้านออกซิเดชัน	(1) Re-greening process (2) Enzyme Treatment (3) Concentrate (4) Encapsulation
	มะตูม	สารให้สีเหลืองของคาร์โรทีนอยด์ สารฟีนอลิก กลิ่น และใยอาหาร	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment
	แก้วมังกรแดง	สารให้สีแดงของเบต้าไซยานิน (betacyanin) ใยอาหารและสารต้านออกซิเดชัน	(1) Pretreatment (2) Enzyme Treatment

รายงานการวิจัย

การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

Production of microbial polymer for the application in food industry

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นายสุเทพ ธนียวัน และคณะ
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I บทนำ

1) มูลเหตุจูงใจ ปัญหา

จุลินทรีย์ได้รับการใช้ในการผลิตสารต่างๆ แทนการสังเคราะห์โดยทางเคมี เนื่องจากสะดวก ใช้ค่าใช้จ่ายที่ถูกลง ทุ่นเวลา ไม่เกิดปัญหาทางด้านมนุษยธรรมและสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารทางชีวภาพเหล่านี้ ได้แก่ อินซูลิน กรดไฮยารูโลนิค สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ต่างๆ และฮอร์โมน เป็นต้น

การผลิตสารโดยจุลินทรีย์ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้ามีราคาสูงมาก ซึ่งไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงเชื้อในระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการใช้ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามสารอาหารหลักที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถใช้ได้จากผลิตผลเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ข้าวฟ่าง ชานอ้อย กากถั่วเหลือง เป็นต้น และในประเทศไทยเป็นประเทศทางการเกษตร มีวัตถุดิบทางการเกษตรมากมายหากจำหน่ายโดยไม่มีการแปรรูปจะได้ราคาต่ำ แต่เมื่อนำวัสดุทางการเกษตรเหล่านั้นมาแปรรูปเพื่อใช้ในเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จะส่งผลให้มูลค่าของวัสดุทางการเกษตรเพิ่มขึ้นและเป็นการลดต้นทุนการผลิตของสารอีกด้วย

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิดสามารถผลิตสารที่มีคุณค่าสูงโดยใช้วัสดุทางการเกษตรได้ หนึ่งในสิ่งเหล่านี้ได้แก่ การผลิตสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์หรือพอลิเพปไทด์ที่สามารถใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร มีรายงานว่า สารพวกเดกซ์แทรนโดย *Leuconostoc mesenteroides* แซนแทนโดย *Xanthomonas campestris* เดอร์ดแลนโดย *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* สเครอโรกลูแคนโดย *Sclerotium roffsii* ฯลฯ ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้โดยแบคทีเรียและรา สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดยให้ความหนืดเมื่อเติมลงในไอศกรีม น้ำสลัด และน้ำเกรวี่ ในขณะเดียวกันสารพอลิเพปไทด์ เช่น กรดพอลิแกมมากลูตามิคซึ่งผลิตโดยแบคทีเรีย ก็ได้รับรายงานว่ามีความหนืดและใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ในการทำไบโอฟิล์มได้ การผลิตสารเหล่านี้ทำได้โดยง่ายโดยอาศัยวัตถุดิบในประเทศซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์หรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและยังอาจใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้ภายในประเทศ

2) วัตถุประสงค์และผลลัพธ์

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยปีที่ 1 (งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2550) ที่มุ่งหาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ที่สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร งานที่ได้รายงานไว้ในรายงานฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1 นั้นขณะนี้ได้มีการดำเนินการต่อเนื่อง สำหรับปีที่สองนี้งานที่เสนอไว้คือการหาสูตรอาหารราคาถูกแทนอาหารเชิงการค้าที่มีราคาแพงและการหาภาวะสำหรับการเลี้ยงให้เหมาะต่อการผลิตพอลิเมอร์

ได้คัดเลือกตัวแทนจุลินทรีย์สายพันธุ์ EN02 เป็นสายพันธุ์ตัวแทนในการศึกษานี้ทั้งนี้สายพันธุ์ที่เลือกนี้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงจากจุลินทรีย์ที่เลือก ในขั้นต้นได้ศึกษาหาภาวะและปัจจัยต่างๆ ที่จำเป็นต้องทราบซึ่งทำโดยการเลี้ยงในอาหารเชิงพาณิชย์ ส่วนสูตรอาหารที่จะพัฒนาขึ้นใหม่นั้นจะยึดตามสูตรอาหารที่เลือกจากนั้นใช้วิธีการแทนที่ด้วยสารอาหารราคาถูก เช่น วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลังการแปรรูป โดยส่วนที่สำคัญที่สุดคือ แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน และปรับสิ่งที่เหลือเพื่อให้ได้สูตรอาหารราคาถูกสำหรับใช้

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในปีที่ 2 นี้ จะศึกษาส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ รวมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นและหาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ และพัฒนาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนและสูตรอาหารจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรสำหรับผลิตพอลิเมอร์โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

II วิธีการวิจัย

1. การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 ศึกษารูปแบบการเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลวกำหนดสูตร เลี้ยงแบคทีเรียอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield รวมกับวิธีของ Tallgren และคณะ (1998) โดยแปรแหล่งคาร์บอน 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และแลคโตส ติดตามการเจริญของแบคทีเรีย

1.2 ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield ซึ่งมีการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน รวมทั้งปริมาณของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

1.3 หาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 จากนั้นศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเร็วรอบที่เหมาะสม และการเปลี่ยนอุณหภูมิในช่วงการเจริญแบบทวีคูณ

1.4 วิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ สกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 และภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 1.3 โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอล

1.5 ศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ การเตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอลทำซ้ำ 3 รอบ นำพอลิแซ็กคาร์ไรด์ที่ได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding วิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์

1.6 เตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ ด้วยชุดเครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) เพื่อหาชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

2. การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเซลลูเลส GC220 (Genecor) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสและเอนไซม์บีต้ากลูโคลซิเดสตามวิธีของ Ghose (1987) และ Stemberg (1976) ตามลำดับ นำภาวะที่เหมาะสมมาย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ทำการปรับสภาพจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสตด้วยวิธี DNSA

2.2 ศึกษาการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและไฮโดรไลเสตโดยวิธี Kjeldah คำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

2.3 ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมโดยที่แปรผันแหล่งคาร์บอนได้แก่ กลูโคส แป้งมันสำปะหลัง กากน้ำตาล และไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบ และศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรต และไฮโดรไลเสตของกากถั่วเหลือง กากทานตะวัน และกากงา เมื่อได้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม จากนั้นจึงทำการแปรผันปริมาณที่เหมาะสมต่อไป

2.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ในอาหารสูตรดัดแปลง โดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสม ทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆดังนี้ ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

III ผลการวิจัย

1. การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตร Bromfield โดยใช้ 4% ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที จุลินทรีย์แสดงการเจริญที่เข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) โดยทันทีและเข้าสู่ระยะ stationary ใน 18 ช.ม. การเจริญของเซลล์เมื่อติดตามโดย O.D. 550 nm และน้ำหนักแห้งให้รูปแบบที่เทียบเคียงกันได้ สำหรับผลผลิตของพอลิเมอร์นั้นพบว่าสอดคล้องกับการเจริญโดยพบร่วมกับกรเจริญและให้ผลผลิตสูงสุดที่ระยะ Late log ถึง stationary จากนั้นค่อย ๆ ลดลง เมื่อผันแปรปริมาณซูโครสที่ใช้จาก 0-5% พบว่าที่ 2-4% ให้ผลผลิตระหว่าง 7.0-7.45 ที่เวลาการเลี้ยง 12 ช.ม. แต่หากให้เป็น 5% จะได้ผลผลิต 7.4 g/l ที่เวลาการเลี้ยง 15 ช.ม. การแปรเปลี่ยนแหล่งน้ำตาลเป็นกลูโคส และแลคโตสนั้นพบว่า น้ำตาลทั้งสามที่ 3-5% เท่า ๆ กันให้ผลไม่ต่างกันนักคือให้พอลิเมอร์ในราว 7.3-7.4 g/l ที่ 12 ช.ม. แต่แลคโตสที่ความเข้มข้นต่ำ ข/๔ ให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้ซูโครสและกลูโคส (7.1-7.4 g/l เมื่อเทียบกับ 5-5.9 g/l) ค่าที่ได้นี้จะเป็นค่าเบื้องต้นเพื่อใช้ในการเข้าสูตรอาหารต่อไป จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมพบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 6.5 และความเร็วรอบในการให้อากาศเป็น 200 รอบต่อนาที ส่งผลให้แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงเท่ากับ 8.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่แบคทีเรียผลิตได้มีสมบัติเป็นประจุลบ

2. การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

การวิเคราะห์แอคทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 (Genecor) พบว่าเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส มีแอคทิวิตีเท่ากับ 86.66 unit/ml และเอนไซม์บีต้ากลูโคซิเดสมีแอคติวิตีเท่ากับ 131.39 unit/ml และในการศึกษาภาวะบางประการที่มีผลต่อการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเอนไซม์เซลลูเลสGC220 พบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยชานอ้อยด้วยเซลลูเลส GC220 คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบส 6.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อภาวะดังกล่าวของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 ย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว พบว่าภาวะดังกล่าวเหมาะแก่การย่อยชานอ้อยและรำข้าวแต่ถ้าเพิ่มเวลาเป็น 96 ชั่วโมง เอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยรำข้าวได้ดีที่สุด และในการคัดเลือกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า กากถั่วเหลือง และกากงา ให้ไนโตรเจนปริมาณ 3.570 เปอร์เซ็นต์และ 3.010 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

IV สรุปและเสนอแนะ

งานที่ได้นำเสนอนี้ส่วนใหญ่ได้ดำเนินไปตามเป้าหมาย แต่ยังมีล่าช้าในบางส่วนเนื่องจากงานในส่วนของปีที่ 1 จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการศึกษาค่อนข้างนานเพื่อผลการวิจัยที่สมบูรณ์ และเนื่องด้วยในปีแรกและปีที่ 2 นั้นการวิจัยประสมปัญหาในเรื่องทุนที่ได้รับน้อยกว่าที่ขอไปมากจึงต้องปรับงานบางส่วนให้มีความเหมาะสมกับงบประมาณ แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้จะยังทำการวิจัยในกรอบตามโครงร่างที่ได้เสนอไว้

รายงานการวิจัย

การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

Production of microbial polymer for the application in food industry

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นายสุเทพ ธนียวัน และคณะ
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I บทนำ

1) มูลเหตุจูงใจ ปัญหา

จุลินทรีย์ได้รับการใช้ในการผลิตสารต่างๆ แทนการสังเคราะห์โดยทางเคมี เนื่องจากสะดวก ใช้ค่าใช้จ่ายที่ถูกลง ทุ่นเวลา ไม่เกิดปัญหาทางด้านมนุษยธรรมและสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารทางชีวภาพเหล่านี้ ได้แก่ อินซูลิน กรดไฮยารูโลนิค สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ต่างๆ และฮอร์โมน เป็นต้น

การผลิตสารโดยจุลินทรีย์ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้ามีราคาสูงมาก ซึ่งไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงเชื้อในระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการใช้ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามสารอาหารหลักที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถใช้ได้จากผลิตผลเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ข้าวฟ่าง ชานอ้อย กากถั่วเหลือง เป็นต้น และในประเทศไทยเป็นประเทศทางการเกษตร มีวัตถุดิบทางการเกษตรมากมายหากจำหน่ายโดยไม่มีการแปรรูปจะได้ราคาต่ำ แต่เมื่อนำวัสดุทางการเกษตรเหล่านั้นมาแปรรูปเพื่อใช้ในเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จะส่งผลให้มูลค่าของวัสดุทางการเกษตรเพิ่มขึ้นและเป็นการลดต้นทุนการผลิตของสารอีกด้วย

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิดสามารถผลิตสารที่มีคุณค่าสูงโดยใช้วัสดุทางการเกษตรได้ หนึ่งในสิ่งเหล่านี้ได้แก่ การผลิตสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์หรือพอลิเพปไทด์ที่สามารถใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร มีรายงานว่า สารพวกเดกซ์แทรนโดย *Leuconostoc mesenteroides* แซนแทนโดย *Xanthomonas campestris* เคอร์ดแลนโดย *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* สเครอโรกลูแคนโดย *Sclerotium roffsii* ฯลฯ ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้โดยแบคทีเรียและรา สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดยให้ความหนืดเมื่อเติมลงในไอศกรีม น้ำสลัด และน้ำเกรวี่ ในขณะเดียวกันสารพอลิเพปไทด์ เช่น กรดพอลิแกมมากลูตามิคซึ่งผลิตโดยแบคทีเรีย ก็ได้รับรายงานว่ามีความหนืดและใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ในการทำไบโอฟิล์มได้ การผลิตสารเหล่านี้ทำได้โดยง่ายโดยอาศัยวัตถุดิบในประเทศซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์หรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและยังอาจใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้ภายในประเทศ

2) วัตถุประสงค์และผลลัพธ์

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยปีที่ 1 (งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2550) ที่มุ่งหาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ที่สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร งานที่ได้รายงานไว้ในรายงานฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1 นั้นขณะนี้ได้มีการดำเนินการต่อเนื่อง สำหรับปีที่สองนี้งานที่เสนอไว้คือการหาสูตรอาหารราคาถูกแทนอาหารเชิงการค้าที่มีราคาแพงและการหาภาวะสำหรับการเลี้ยงให้เหมาะต่อการผลิตพอลิเมอร์

ได้คัดเลือกตัวแทนจุลินทรีย์สายพันธุ์ EN02 เป็นสายพันธุ์ตัวแทนในการศึกษานี้ทั้งนี้สายพันธุ์ที่เลือกนี้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงจากจุลินทรีย์ที่เลือก ในขั้นต้นได้ศึกษาหาภาวะและปัจจัยต่างๆ ที่จำเป็นต้องทราบซึ่งทำโดยการเลี้ยงในอาหารเชิงพาณิชย์ ส่วนสูตรอาหารที่จะพัฒนาขึ้นใหม่นั้นจะยึดตามสูตรอาหารที่เลือกจากนั้นใช้วิธีการแทนที่ด้วยสารอาหารราคาถูก เช่น วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลังการแปรรูป โดยส่วนที่สำคัญที่สุดคือ แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน และปรับสิ่งที่เหลือเพื่อให้ได้สูตรอาหารราคาถูกสำหรับใช้

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในปีที่ 2 นี้ จะศึกษาส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ รวมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นและหาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ และพัฒนาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนและสูตรอาหารจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรสำหรับผลิตพอลิเมอร์โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

II วิธีการวิจัย

1. การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 ศึกษารูปแบบการเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลวกำหนดสูตร เลี้ยงแบคทีเรียอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield รวมกับวิธีของ Tallgren และคณะ (1998) โดยแปรแหล่งคาร์บอน 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และแลคโตส ติดตามการเจริญของแบคทีเรีย

1.2 ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ดัดแปลงจากอาหารสูตร Bromfield ซึ่งมีการแปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน รวมทั้งปริมาณของคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

1.3 หาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 จากนั้นศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเร็วรอบที่เหมาะสม และการเปลี่ยนอุณหภูมิในช่วงการเจริญแบบทวีคูณ

1.4 วิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ สกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 1.2 และภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 1.3 โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอล

1.5 ศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ การเตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอลทำซ้ำ 3 รอบ นำพอลิแซ็กคาร์ไรด์ที่ได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding วิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์

1.6 เตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ ด้วยชุดเครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) เพื่อหาชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบจากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

2. การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

2.1 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเซลลูเลส GC220 (Genecor) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสและเอนไซม์บีต้ากลูโคลซิเดสตามวิธีของ Ghose (1987) และ Sternberg (1976) ตามลำดับ นำภาวะที่เหมาะสมมาย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ทำการปรับสภาพ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสตด้วยวิธี DNSA

2.2 ศึกษาการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและไฮโดรไลเสตโดยวิธี Kjeldah คำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

2.3 ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมโดยที่แปรผันแหล่งคาร์บอนได้แก่ กลูโคส แป้งมันสำปะหลัง กากน้ำตาล และไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบ และศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรต และไฮโดรไลเสตของกากถั่วเหลือง กากทานตะวัน และกากงา เมื่อได้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม จากนั้นจึงทำการแปรผันปริมาณที่เหมาะสมต่อไป

2.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดแยกได้เพื่อผลิตพอลิเมอร์ในอาหารสูตรดัดแปลง โดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสม ทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆดังนี้ ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

III ผลการวิจัย

1. การหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตร Bromfield โดยใช้ 4% ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที จุลินทรีย์แสดงการเจริญที่เข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) โดยทันทีและเข้าสู่ระยะ stationary ใน 18 ช.ม. การเจริญของเซลล์เมื่อติดตามโดย O.D. 550 nm และน้ำหนักแห้งให้รูปแบบที่เทียบเคียงกันได้ สำหรับผลผลิตของพอลิเมอร์นั้นพบว่าสอดคล้องกับการเจริญโดยพบร่วมกับกรเจริญและให้ผลผลิตสูงสุดที่ระยะ Late log ถึง stationary จากนั้นค่อย ๆ ลดลง เมื่อผันแปรปริมาณซูโครสที่ใช้จาก 0-5% พบว่าที่ 2-4% ให้ผลผลิตระหว่าง 7.0-7.45 ที่เวลาการเลี้ยง 12 ช.ม. แต่หากให้เป็น 5% จะได้ผลผลิต 7.4 g/l ที่เวลาการเลี้ยง 15 ช.ม. การแปรเปลี่ยนแหล่งน้ำตาลเป็นกลูโคส และแลคโตสนั้นพบว่า น้ำตาลทั้งสามที่ 3-5% เท่า ๆ กันให้ผลไม่ต่างกันนักคือให้พอลิเมอร์ในราว 7.3-7.4 g/l ที่ 12 ช.ม. แต่แลคโตสที่ความเข้มข้นต่ำ ข/๔ ให้ผลผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้ซูโครสและกลูโคส (7.1-7.4 g/l เมื่อเทียบกับ 5-5.9 g/l) ค่าที่ได้นี้จะเป็นค่าเบื้องต้นเพื่อใช้ในการเข้าสูตรอาหารต่อไป จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมพบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 6.5 และความเร็วรอบในการให้อากาศเป็น 200 รอบต่อนาที ส่งผลให้แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงเท่ากับ 8.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่แบคทีเรียผลิตได้มีสมบัติเป็นประจุลบ

2. การพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการผลิตพอลิเมอร์จากวัสดุทางการเกษตร

การวิเคราะห์แอคทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 (Genecor) พบว่าเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส มีแอคทิวิตีเท่ากับ 86.66 unit/ml และเอนไซม์บีต้ากลูโคซิเดสมีแอคติวิตีเท่ากับ 131.39 unit/ml และในการศึกษาภาวะบางประการที่มีผลต่อการย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรด้วยเอนไซม์เซลลูเลสGC220 พบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยชานอ้อยด้วยเซลลูเลส GC220 คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเบส 6.0 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อภาวะดังกล่าวของเอนไซม์เซลลูเลส GC220 ย่อยวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว พบว่าภาวะดังกล่าวเหมาะแก่การย่อยชานอ้อยและรำข้าวแต่ถ้าเพิ่มเวลาเป็น 96 ชั่วโมง เอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยรำข้าวได้ดีที่สุด และในการคัดเลือกวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า กากถั่วเหลือง และกากงา ให้ไนโตรเจนปริมาณ 3.570 เปอร์เซ็นต์และ 3.010 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

IV สรุปและเสนอแนะ

งานที่ได้นำเสนอนี้ส่วนใหญ่ได้ดำเนินไปตามเป้าหมาย แต่ยังมีล่าช้าในบางส่วนเนื่องจากงานในส่วนของปีที่ 1 จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการศึกษาค่อนข้างนานเพื่อผลการวิจัยที่สมบูรณ์ และเนื่องด้วยในปีแรกและปีที่ 2 นั้นการวิจัยประสมปัญหาในเรื่องทุนที่ได้รับน้อยกว่าที่ขอไปมากจึงต้องปรับงานบางส่วนให้มีความเหมาะสมกับงบประมาณ แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้จะยังทำการวิจัยในกรอบตามโครงร่างที่ได้เสนอไว้

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1. การแยกแบคทีเรียที่สร้าง พอลิเมอร์ และทำให้บริสุทธิ์	1. ได้ดำเนินการตามที่เสนอ ในปีแรกแล้วเสร็จ
2. การหาสมบัติทางเคมีและสัณฐานวิทยา ของพอลิเมอร์ที่ได้	2. ดำเนินการ แล้ว และได้ส่งผลงานตีพิมพ์ แล้ว
3. หา spectrum การทำงานของไซยีน	3 ดำเนินการแล้ว
4.	4.

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
1. การศึกษาองค์ประกอบของสารเคมีเพื่อทำนายเส้นทางการเชื่อมโยง	1. ดำเนินการมาได้ประมาณ 80%-90% เนื้องานนี้ต้องใช้การศึกษา 1 ภาคการศึกษา
2. ศึกษาหาเส้นทางในการผลิตพอลิเมอร์โดยใช้เอนไซม์	2. ดำเนินการแล้ว กำลังส่งตีพิมพ์ ENOR ได้หาเส้นทางทำนายแล้ว
3. หาสมบัติและสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์ที่ได้เพิ่มเติมจากปีที่ 1	3. ดำเนินการแล้ว .

ขอแจ้งเพิ่มเติม การผลิตพอลิเมอร์ในปีที่ 2 เพื่อประกอบการพิจารณาของ

ผศ.ดร. สุเทพ ดวงใจ

รายงานการวิจัย

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

Biosurfactant production by microorganism for food industry

รศ.จิราภรณ์ ธนียวัน และ คณะ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปี 2551

บทนำ

มูลเหตุจูงใจ ปัญหา

เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน มีความต้องการสารอาหารที่เป็นสารจากธรรมชาติ ซึ่งสารธรรมชาติต่างๆเหล่านี้กำลังทวีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้นกว่าสารสังเคราะห์ทางเคมี และความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพ ราคาต้นทุนก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความต้องการสารที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถก่ออิมัลชั่นได้ดี สร้างได้จากแบคทีเรีย รา และยีสต์บางชนิด โดยเข้ามามีส่วนแบ่งในตลาดของสารที่สังเคราะห์ทางเคมี มีโครงสร้างหลากหลาย มีโครงสร้างเป็นแอมฟิฟาติก (Amphiphatic structure) ทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน และยังคงมีคุณสมบัติที่ดี คงทนได้อยู่ใน pH ช่วงกว้าง อุณหภูมิและเกลือความเข้มข้นต่างๆ เป็นผลให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหาร ยา เครื่องสำอาง และ ปิโตรเคมี นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารที่ย่อยสลายได้ ในธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่ำ และสามารถผลิตได้จากวัสดุทางการเกษตรภายในประเทศ จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำการผลิตสารลดแรงตึงผิงชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อมาใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี และมีความปลอดภัยสูง

อาหารบางชนิดที่เกิดจากการผสมของเฟสที่เป็นน้ำ (aqueous) และส่วนที่มีลักษณะน้ำมัน เช่น ครีม น้ำสลัด มายองเนส ผลิตภัณฑ์จากนม เนย ขนมหวาน และเบเกอรี่ต่างๆ โดยผลิตภัณฑ์นั้นต้องอยู่ในรูปของอิมัลชัน อีกทั้งเมื่อเกิดแล้วลักษณะดังกล่าวต้องมีความเสถียรจึงจะอยู่ในรูปลักษณ์และลักษณะเมื่อรับประทานที่เป็นที่ยอมรับโดยผู้บริโภค ลักษณะอิมัลชันดังกล่าวเกิดจากการลดความตึงระหว่างผิวประจัน (intersurface tension) ระหว่างทั้งสองเฟสจนได้เป็นอิมัลชันขึ้น โดยกระบวนการทำให้เกิดอิมัลชันนั้นมีบทบาททำให้อาหารเหนียวข้นและดูมีเนื้อมากขึ้น

การที่จะให้เกิดอิมัลชันในอาหารนั้นต้องการสารก่ออิมัลชันที่เรียกว่าอัลสิไฟเออร์ซึ่งการทำงานนั้นขึ้นกับสมดุลย์ ความชอบน้ำ (hydrophilic)/ ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) สารที่สามารถใช้เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหารมีหลายชนิด เช่น เลซิธินและอนุพันธ์ของเลซิธิน เอสเทอร์ของกรดไขมันของซอร์บิแทน เป็นต้น ปัจจุบันสามารถผลิตสารก่ออิมัลชันได้จากจุลินทรีย์ที่เรียกกันว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งการที่จุลินทรีย์ผลิตสารขึ้นเพื่อการสลายและนำสารอาหารเข้าเซลล์นั้น เป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษ เนื่องจากเป็นการผลิตที่ง่าย รวดเร็ว ใช้ต้นทุนต่ำ และไม่ก่อปัญหาทางสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นที่รู้จักกันได้แก่ ไกลโคลิพิดจาก *Arthrobacter* sp. โซโฟโรสลิพิดจาก *Torulopsis bombicola* แรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas* spp. อีมัลแซน จาก *Acinetobacter calcoaceticus* และ ไลโพโปรตีน (เซอร์แฟคติน) โดย *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis* เป็นต้น สารเหล่านี้ได้รับการใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวชนิดสังเคราะห์ทางเคมีในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การใช้ ไกลโคลิพิด (glycolipid) แทนเอสเทอร์กรดไขมันของโม

โนและโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อ เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหาร การใช้โซโฟลิพิดกับแป้งเพื่อให้คุณภาพดีและยืดอายุการเก็บ การใช้ผนังเซลล์ที่ได้รับการไฮโดรไลซ์ของยีสต์ (*Saccharomyces uvarum*) ในการผลิตมาการีน เป็นต้น

จากสถิติการนำเข้าสารลดแรงตึงผิว สารก่ออิมัลชั่นและสารอนุพันธุ์ของกรมศุลการกร ประจำปี 2547 พบว่ามีการนำเข้าเป็นมูลค่ากว่า 105 ล้านบาทต่อปี และมีแนวโน้มสูงขึ้น เพื่อเป็นการทดแทนการนำเข้า อีกทั้งเพื่อเป็นการพึ่งตนเองได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าและผลิตสารชีวโมเลกุลที่สามารถลดแรงตึงผิวและก่ออิมัลชั่นได้ดี เพื่อทดแทนสารดังกล่าวมาใช้ ซึ่งเป็นผลให้ประเทศสามารถผลิตอาหารที่มีมาตรฐานสูงขึ้น สามารถแข่งขันกับสินค้าจากต่างประเทศและยังเป็นการส่งเสริมการตลาดภายใน และภายนอกประเทศอีกด้วย

Pichia anomala PY1 เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่คัดแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้าน (ข้าวหมาก) (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 29-30 mN/m ค่าการกระจายน้ำมัน 69.43 ตารางเซนติเมตร ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) 180 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิด และมีมวลโมเลกุลเทียบเคียงกับโซโฟโรลิพิดโซโฟโรลิพิด (sophorolipid) เป็นสารที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย ซึ่งยีสต์สามารถผลิตโซโฟโรลิพิดโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำ (hydrophilic carbon source) และจะเพิ่มผลผลิตมากขึ้นได้เมื่อเติมแหล่งคาร์บอนที่ไม่ละลายในน้ำ (hydrophobic carbon source) (Casas และคณะ,1997; Hommel และคณะ,1994; Stuwer และคณะ, 1987; Bednarski และคณะ, 2004; Gumienna และคณะ, 2005)

วัตถุประสงค์

คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมอาหาร ศึกษาถึงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตสาร ศึกษาคุณลักษณะสมบัติของสาร การกลายพันธุ์จุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น ตลอดจนทราบขบวนการในการผลิตสารในระดับขยายส่วน

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การผลิตและสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า

โดยเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว YM จนมีอายุ 18 ชั่วโมง ถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่เหมาะสม ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน นำน้ำเลี้ยงเชื้อ มาปั่นแยกเซลล์ออก ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำน้ำส่วนใสมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตปริมาตร 1 เท่า นำส่วนล่างมาแยกสกัด 3 ครั้ง แล้วนำส่วนบนมาระเหยเอทิลอะซิเตตออกด้วยเครื่อง evaporator ภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยเมทานอล และล้างด้วยเฮกเซน 2 รอบ เพื่อกำจัดน้ำมันส่วนเกินออกไป นำสารที่ได้มาทดสอบการกระจายน้ำมันและหาน้ำหนักเซลล์แห้งของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

2.การทำบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีโครมาโตกราฟี

2.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย analytical Thin-Layer Chromatography

2.2 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย preparative Thin-Layer Chromatography

2.3 การแยกและวิเคราะห์สารด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

3.วิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

3.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีแมสสเปกโตรเมทรี (Liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS)

3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

4.ลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

4.1 ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.2 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.3 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.4 ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.5 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.6 วัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index)

4.7 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC)

ผลการวิจัย

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดยีสต์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ $NaNO_3$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง 10.67 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 5.33 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยมีภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 0.95 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว คือให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้สารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรตร่วมกับสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมันจะให้ผลผลิตมากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว (Linton, 1991; Hommel และคณะ, 1994) โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในขบวนการเมทาบอลิซึมขั้นแรกของเซลล์ และสังเคราะห์ส่วนของ hydroxyl fatty acid ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสารตั้งต้นที่เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมัน และเชื่อมต่อโดยตรงกับส่วนที่เป็นน้ำตาลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิด (Webber และคณะ, 1992) ผลผลิตที่ได้ก็จะมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เพราะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำมันพืชส่วนมากจะเป็น lactonic form ที่ไม่บริสุทธิ์ (Hu และ Ju, 2001a)

การวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี analytical TLC ด้วยไอระเหยของไอโอดีน และมอรีส รีเอเจนท์ พบว่าสามารถแยกสารออกได้เป็น 3 ลำดับส่วน คือ F1 ถึง F3 โดยมีค่าคงที่ของอัตราส่วนการเคลื่อนที่ (R_f) เป็น 0.88, 0.72 และ 0.62 ตามลำดับ ซึ่ง F2 มีค่าการกระจายน้ำมันสูงที่สุด และเมื่อตรวจสอบด้วยมอรีส รีเอเจนท์พบว่า F2 และ F3 ให้ผลบวก จึงสันนิษฐานได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ผลิตได้มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบหรือเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด จากนั้นเตรียมสาร F2 ด้วย preparative TLC เพื่อนำมาวิเคราะห์สารและทำให้บริสุทธิ์ด้วย HPLC พบว่าลำดับส่วนที่เก็บได้จาก RT ที่ 15.3, 19.2, 21.9, 26.2 และ 31.4 นาที ให้ชื่อว่าตัวอย่าง C D E F และ G ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าการกระจายน้ำมันมาก และอีกสองลำดับส่วนที่มี RT ใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของ HPLC จากสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ คือ RT ที่ 7.5

และ 8.9 นาที โดยให้ชื่อว่าตัวอย่าง A และ B ตามลำดับ จึงนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-MS ต่อไป จากผลการวิเคราะห์สารด้วยวิธี LC-MS บอกถึงน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารและสามารถวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ในการทดลองพบว่ามวลโมเลกุลของสารส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารโซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C22]_{Lactone}$ และ $[C22:1]_{Lactone}$ จากนั้นนำตัวอย่างสาร G ที่มีปริมาณมากพอไปวิเคราะห์ด้วยวิธี NMR พบว่า ^{1}H-NMR spectrum มีพีกปรากฏในช่วง chemical shift ที่ 0.9 ppm เป็นหมู่เมทิล ($-CH_3$) ที่ 1.2 และ 2.0 ppm จะเป็นสายยาวไฮโดรคาร์บอน $(-CH_2)_n$ ที่ 2.4 ppm เป็น $-CH_2$-COOH และพบพันธะคู่ -CH=CH- ที่ chemical shift ที่ 5.4 ppm ซึ่งเป็นส่วนที่คล้ายคลึงกับส่วนของสายไฮโดรคาร์บอนที่ปรากฏใน ^{1}H-NMR spectrum ของสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบที่ chemical shift ที่ 1.2 2.0 และ 5.4 ppm

การศึกษาลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ โดยเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจาง 100 เท่าด้วย 50 มิลลิโมลาร์ ทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานและความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นสารสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ เท่ากับ 8.0 ซึ่งให้ค่าแรงตึงผิวต่ำที่สุดเท่ากับ 34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมันสูงสุด 7.07 ตารางเซนติเมตร (มีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.004 มิลลิกรัมในบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใช้ในการทดสอบ) ในวันแรกจนถึง 30 วันของการทดลอง และผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถทำงานได้ดีเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง โดยมีค่าแรงตึงผิว 33-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 3.0-6.0 ตารางเซนติเมตร และยังคงความเสถียรได้จนถึงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส อีกด้วย นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ยังสามารถทำงานและคงความเสถียรได้ดีที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าแรงตึงผิวเริ่มต้น 32-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 9.0-14.0 ตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 30 วัน

การศึกษาความสามารถในการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยการวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index) เปรียบเทียบกับน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ พบว่าค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันที่ 24 ชั่วโมง ต่อน้ำมันคาโนลา น้ำมันงา น้ำมันสลัด น้ำมันรำข้าว น้ำมันดอกคำฝอยและน้ำมันถั่วเหลือง มีค่ามากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำมันคาโนลา และน้ำมันดอกคำฝอยมีค่าความเสถียรลดลงน้อยที่สุดใน 3 วันแรก คือ 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันสลัดและน้ำมันงา ลดลง 15-25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและลดลงประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ภายใน 7 วัน ในน้ำมันทุกชนิดดังกล่าว

นอกจากนี้การหาค่าจุดวิกฤติของความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC) จากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่ามีค่าเท่ากับ 132 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (γ_{CMC}) เท่ากับ 35 mN/m ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่นำมาเปรียบเทียบ คือ เคมเทค 307 ไทรทอน เอกซ์ 100 และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และยังมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอื่น เช่น โซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* และแรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* ที่มีค่า CMC เท่ากับ 130 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Otto และคณะ, 1999; Pornsunthorntawee และคณะ, 2008)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 โดยใช้แหล่งคาร์บอน 2 ชนิดร่วมกันคือ กลูโคสและน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งยีสต์สามารถเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ปริมาณมากกว่าถึง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีโครงสร้างเป็น C22 อะตอม ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของผู้อื่นที่ส่วนมากจะรายงานกรดไขมันที่เป็นชนิด C18 และ C20 อะตอม จากโครงสร้างนี้ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า CMC ที่ต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์บางชนิดและต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในรายงานของ ธนัสถา เชียงอุทัย (2549) ที่รายงานมาก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ยังสามารถก่ออิมัลชันกับน้ำมันพืชได้หลากหลายชนิด สามารถจะประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ในอนาคต และงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพฉบับแรกที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยและใช้ได้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

โครงการวิจัยนี้ผลิตมหาบัณฑิตได้ 1 คน มีนิสิตระดับปริญญาโท 2 คน และนิสิตระดับปริญญาตรี 1 คน ได้ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ 1 ฉบับ

Thaniyavarn J, Chianguthai T, Sangvanich P, Roongsawang N, Washio K, Morikawa M, Thaniyavarn S.
Production of sophorolipid biosurfactant by *Pichia anomala*.Biosci Biotechnol Biochem. 2008 Aug;72(8):2061

สรุปและเสนอแนะ

วัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ในปีที่สองของการศึกษาตามที่เสนอไว้ในข้อเสนอการวิจัย คือการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร และศึกษาลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในปีนี้ประสบผลสำเร็จตามที่ได้เสนอไว้ ส่วนการศึกษาหาแนวทางพัฒนาและวิธีการเพื่อเพิ่มผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1จะทำวิจัยในขั้นต่อไป

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1.เก็บตัวอย่างต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	1.การคัดเลือกยีสต์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแหล่งต่างๆ สามารถแยกยีสต์สายพันธุ์ PY1 จากอาหารหมักดองพื้นบ้านของประเทศไทย จากอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี มีสามารถสูงสุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
2.จำแนกสกุลของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ทางอนุกรมวิธาน โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การทดสอบสมบัติทางชีวเคมี และจำแนกโดยใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์	2.เมื่อจำแนกสายพันธุ์โดยการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา การทดสอบสมบัติของกระบวนการเมตาบอลิซึมหรือสมบัติทางชีวเคมี การบ่งชี้ชนิดของราในระดับสปีชีส์โดยการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ประมวลรหัสของตำแหน่ง ITS พบว่าเป็น *Pichia anomala*
3.การศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมที่เหมาะสมในการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	3. *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี4% น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน และ 0.4% $NaNO_3$เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด และเมื่อใช้อาหารปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย10.67% น้ำมันถั่วเหลือง และ 5.33% กลูโคส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$ ซ ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน จะให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวเพิ่มเป็น 0.95 กรัมต่อลิตร สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 33 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน เท่ากับ 75.39cm^2
4. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในภาวะที่เหมาะสม	4.การศึกษาการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเหลวกำหนดสูตร ของ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 พบว่าเชื้อยีสต์สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่ไปกับการเจริญของเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
1.การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	1.สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 33 mN/m ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 132 mg/l ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 75.39 cm^2 และให้ผลผลิตเท่ากับ 0.95 กรัมต่อลิตร
2.การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีโครมาโตกราฟี วิเคราะห์โครงสร้างและ	2.ทำการเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วน เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารพบว่าเป็นสารประเภทไกลโคลิปิด และ เมื่อวิเคราะห์สารด้วย LC- MS แสดงค่ามวลโมเลกุลลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารโซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C22]_{Lactone}$ และ $[C22:1]_{Lactone}$
3.การศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทดสอบความสามารถและทดสอบความเสถียรของสารในช่วง pH อุณหภูมิ และ NaCl ความเข้มข้นต่างๆกัน และทดสอบคุณสมบัติการก่ออิมัลชันต่อไขมันที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micelle *Concentration* ; CMC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้กับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์บางชนิด	3.เมื่อศึกษาลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่าสามารถทำงานได้ดี และมีความเสถียรที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8 มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่างๆได้จนถึงอุณหภูมิ 121° ซ และยังคงความเสถียรได้ดีในภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 % และสามารถก่ออิมัลชันต่อน้ำมันพืชได้ดี เช่น น้ำมันคาโนโนลา น้ำมันงา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

Biosurfactant production by microorganism for food industry

รศ.จิราภรณ์ ธนียวัน และ คณะ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปี 2551

บทนำ

มูลเหตุจูงใจ ปัญหา

เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน มีความต้องการสารอาหารที่เป็นสารจากธรรมชาติ ซึ่งสารธรรมชาติต่างๆเหล่านี้กำลังทวีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้นกว่าสารสังเคราะห์ทางเคมี และความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพ ราคาต้นทุนก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความต้องการสารที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถก่ออิมัลชั่นได้ดี สร้างได้จากแบคทีเรีย รา และยีสต์บางชนิด โดยเข้ามามีส่วนแบ่งในตลาดของสารที่สังเคราะห์ทางเคมี มีโครงสร้างหลากหลาย มีโครงสร้างเป็นแอมฟิฟาติก (Amphiphatic structure) ทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน และยังคงมีคุณสมบัติที่ดี คงทนได้อยู่ใน pH ช่วงกว้าง อุณหภูมิและเกลือความเข้มข้นต่างๆ เป็นผลให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหาร ยา เครื่องสำอาง และ ปิโตรเคมี นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารที่ย่อยสลายได้ ในธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่ำ และสามารถผลิตได้จากวัสดุทางการเกษตรภายในประเทศ จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำการผลิตสารลดแรงตึงผิงชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อมาใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี และมีความปลอดภัยสูง

อาหารบางชนิดที่เกิดจากการผสมของเฟสที่เป็นน้ำ (aqueous) และส่วนที่มีลักษณะน้ำมัน เช่น ครีม น้ำสลัด มายองเนส ผลิตภัณฑ์จากนม เนย ขนมหวาน และเบเกอรี่ต่างๆ โดยผลิตภัณฑ์นั้นต้องอยู่ในรูปของอิมัลชัน อีกทั้งเมื่อเกิดแล้วลักษณะดังกล่าวต้องมีความเสถียรจึงจะอยู่ในรูปลักษณ์และลักษณะเมื่อรับประทานที่เป็นที่ยอมรับโดยผู้บริโภค ลักษณะอิมัลชันดังกล่าวเกิดจากการลดความตึงระหว่างผิวประจัน (intersurface tension) ระหว่างทั้งสองเฟสจนได้เป็นอิมัลชันขึ้น โดยกระบวนการทำให้เกิดอิมัลชันนั้นมีบทบาททำให้อาหารเหนียวข้นและดูมีเนื้อมากขึ้น

การที่จะให้เกิดอิมัลชันในอาหารนั้นต้องการสารก่ออิมัลชันที่เรียกว่าอัลสิไฟเออร์ซึ่งการทำงานนั้นขึ้นกับสมดุลย์ ความชอบน้ำ (hydrophilic)/ ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) สารที่สามารถใช้เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหารมีหลายชนิด เช่น เลซิธินและอนุพันธ์ของเลซิธิน เอสเทอร์ของกรดไขมันของซอร์บิแทน เป็นต้น ปัจจุบันสามารถผลิตสารก่ออิมัลชันได้จากจุลินทรีย์ที่เรียกกันว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งการที่จุลินทรีย์ผลิตสารขึ้นเพื่อการสลายและนำสารอาหารเข้าเซลล์นั้น เป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษ เนื่องจากเป็นการผลิตที่ง่าย รวดเร็ว ใช้ต้นทุนต่ำ และไม่ก่อปัญหาทางสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นที่รู้จักกันได้แก่ ไกลโคลิพิดจาก *Arthrobacter* sp. โซโฟโรสลิพิดจาก *Torulopsis bombicola* แรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas* spp. อีมัลแซน จาก *Acinetobacter calcoaceticus* และ ไลโพโปรตีน (เซอร์แฟคติน) โดย *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis* เป็นต้น สารเหล่านี้ได้รับการใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวชนิดสังเคราะห์ทางเคมีในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การใช้ ไกลโคลิพิด (glycolipid) แทนเอสเทอร์กรดไขมันของโม

โนและโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อ เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหาร การใช้โซโฟลิพิดกับแป้งเพื่อให้คุณภาพดีและยืดอายุการเก็บ การใช้ผนังเซลล์ที่ได้รับการไฮโดรไลซ์ของยีสต์ (*Saccharomyces uvarum*) ในการผลิตมาการีน เป็นต้น

จากสถิติการนำเข้าสารลดแรงตึงผิว สารก่ออิมัลชั่นและสารอนุพันธุ์ของกรมศุลการกร ประจำปี 2547 พบว่ามีการนำเข้าเป็นมูลค่ากว่า 105 ล้านบาทต่อปี และมีแนวโน้มสูงขึ้น เพื่อเป็นการทดแทนการนำเข้า อีกทั้งเพื่อเป็นการพึ่งตนเองได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าและผลิตสารชีวโมเลกุลที่สามารถลดแรงตึงผิวและก่ออิมัลชั่นได้ดี เพื่อทดแทนสารดังกล่าวมาใช้ ซึ่งเป็นผลให้ประเทศสามารถผลิตอาหารที่มีมาตรฐานสูงขึ้น สามารถแข่งขันกับสินค้าจากต่างประเทศและยังเป็นการส่งเสริมการตลาดภายใน และภายนอกประเทศอีกด้วย

Pichia anomala PY1 เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่คัดแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้าน (ข้าวหมาก) (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 29-30 mN/m ค่าการกระจายน้ำมัน 69.43 ตารางเซนติเมตร ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) 180 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิด และมีมวลโมเลกุลเทียบเคียงกับโซโฟโรลิพิดโซโฟโรลิพิด (sophorolipid) เป็นสารที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย ซึ่งยีสต์สามารถผลิตโซโฟโรลิพิดโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำ (hydrophilic carbon source) และจะเพิ่มผลผลิตมากขึ้นได้เมื่อเติมแหล่งคาร์บอนที่ไม่ละลายในน้ำ (hydrophobic carbon source) (Casas และคณะ,1997; Hommel และคณะ,1994; Stuwer และคณะ, 1987; Bednarski และคณะ, 2004; Gumienna และคณะ, 2005)

วัตถุประสงค์

คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณสมบัติเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมอาหาร ศึกษาถึงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตสาร ศึกษาคุณลักษณะสมบัติของสาร การกลายพันธุ์จุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น ตลอดจนทราบขบวนการในการผลิตสารในระดับขยายส่วน

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การผลิตและสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า

โดยเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว YM จนมีอายุ 18 ชั่วโมง ถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่เหมาะสม ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน นำน้ำเลี้ยงเชื้อ มาปั่นแยกเซลล์ออก ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำน้ำส่วนใสมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตปริมาตร 1 เท่า นำส่วนล่างมาแยกสกัด 3 ครั้ง แล้วนำส่วนบนมาระเหยเอทิลอะซิเตตออกด้วยเครื่อง evaporator ภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยเมทานอล และล้างด้วยเฮกเซน 2 รอบ เพื่อกำจัดน้ำมันส่วนเกินออกไป นำสารที่ได้มาทดสอบการกระจายน้ำมันและหาน้ำหนักเซลล์แห้งของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

2.การทำบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีโครมาโตกราฟี

2.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย analytical Thin-Layer Chromatography

2.2 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย preparative Thin-Layer Chromatography

2.3 การแยกและวิเคราะห์สารด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

3.วิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

3.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีแมสสเปกโตรเมทรี (Liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS)

3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

4.ลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

4.1 ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.2 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.3 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.4 ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.5 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.6 วัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index)

4.7 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (*Critical micelle concentration; CMC*)

ผลการวิจัย

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดยีสต์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ $NaNO_3$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง 10.67 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 5.33 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยมีภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 0.95 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว คือให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร (ธนัสถา เชียงอุทัย, 2549) สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้สารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรตร่วมกับสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมันจะให้ผลผลิตมากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว (Linton, 1991; Hommel และคณะ, 1994) โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในขบวนการเมทาบอลิซึมขั้นแรกของเซลล์ และสังเคราะห์ส่วนของ hydroxyl fatty acid ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสารตั้งต้นที่เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมัน และเชื่อมต่อโดยตรงกับส่วนที่เป็นน้ำตาลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิด (Webber และคณะ, 1992) ผลผลิตที่ได้ก็จะมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เพราะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำมันพืชส่วนมากจะเป็น lactonic form ที่ไม่บริสุทธิ์ (Hu และ Ju, 2001a)

การวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี analytical TLC ด้วยไอระเหยของไอโอดีน และมอรีส รีเอเจนท์ พบว่าสามารถแยกสารออกได้เป็น 3 ลำดับส่วน คือ F1 ถึง F3 โดยมีค่าคงที่ของอัตราส่วนการเคลื่อนที่ (R_f) เป็น 0.88, 0.72 และ 0.62 ตามลำดับ ซึ่ง F2 มีค่าการกระจายน้ำมันสูงที่สุด และเมื่อตรวจสอบด้วยมอรีส รีเอเจนท์พบว่า F2 และ F3 ให้ผลบวก จึงสันนิษฐานได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ผลิตได้มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบหรือเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด จากนั้นเตรียมสาร F2 ด้วย preparative TLC เพื่อนำมาวิเคราะห์สารและทำให้บริสุทธิ์ด้วย HPLC พบว่าลำดับส่วนที่เก็บได้จาก RT ที่ 15.3, 19.2, 21.9, 26.2 และ 31.4 นาที ให้ชื่อว่าตัวอย่าง C D E F และ G ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าการกระจายน้ำมันมาก และอีกสองลำดับส่วนที่มี RT ใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของ HPLC จากสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ คือ RT ที่ 7.5

และ 8.9 นาที โดยให้ชื่อว่าตัวอย่าง A และ B ตามลำดับ จึงนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-MS ต่อไป จากผลการวิเคราะห์สารด้วยวิธี LC-MS บอกถึงน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารและสามารถวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ในการทดลองพบว่ามวลโมเลกุลของสารส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารโซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C22]_{Lactone}$ และ $[C22:1]_{Lactone}$ จากนั้นนำตัวอย่างสาร G ที่มีปริมาณมากพอไปวิเคราะห์ด้วยวิธี NMR พบว่า ^{1}H-NMR spectrum มีพีกปรากฏในช่วง chemical shift ที่ 0.9 ppm เป็นหมู่เมทิล ($-CH_3$) ที่ 1.2 และ 2.0 ppm จะเป็นสายยาวไฮโดรคาร์บอน $(-CH_2)_n$ ที่ 2.4 ppm เป็น $-CH_2$-COOH และพบพันธะคู่ -CH=CH- ที่ chemical shift ที่ 5.4 ppm ซึ่งเป็นส่วนที่คล้ายคลึงกับส่วนของสายไฮโดรคาร์บอนที่ปรากฏใน ^{1}H-NMR spectrum ของสารโซโฟโรลิพิดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบที่ chemical shift ที่ 1.2 2.0 และ 5.4 ppm

การศึกษาลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ โดยเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจาง 100 เท่าด้วย 50 มิลลิโมลาร์ ทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานและความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นสารสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ เท่ากับ 8.0 ซึ่งให้ค่าแรงตึงผิวต่ำที่สุดเท่ากับ 34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมันสูงสุด 7.07 ตารางเซนติเมตร (มีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.004 มิลลิกรัมในบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่ใช้ในการทดสอบ) ในวันแรกจนถึง 30 วันของการทดลอง และผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถทำงานได้ดีเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง โดยมีค่าแรงตึงผิว 33-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 3.0-6.0 ตารางเซนติเมตร และยังคงความเสถียรได้จนถึงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส อีกด้วย นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ยังสามารถทำงานและคงความเสถียรได้ดีที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าแรงตึงผิวเริ่มต้น 32-34 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน 9.0-14.0 ตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 30 วัน

การศึกษาความสามารถในการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยการวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index) เปรียบเทียบกับน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ พบว่าค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันที่ 24 ชั่วโมง ต่อน้ำมันคาโนลา น้ำมันงา น้ำมันสลัด น้ำมันรำข้าว น้ำมันดอกคำฝอยและน้ำมันถั่วเหลือง มีค่ามากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำมันคาโนลา และน้ำมันดอกคำฝอยมีค่าความเสถียรลดลงน้อยที่สุดใน 3 วันแรก คือ 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันสลัดและน้ำมันงา ลดลง 15-25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและลดลงประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 7 วัน ในน้ำมันทุกชนิดดังกล่าว

นอกจากนี้การหาค่าจุดวิกฤติของความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC) จากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่ามีค่าเท่ากับ 132 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (γCMC) เท่ากับ 35 mN/m ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่นำมาเปรียบเทียบ คือ เคมเทค 307 ไทรทอน เอกซ์ 100 และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และยังมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอื่น เช่น โซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* และแรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* ที่มีค่า CMC เท่ากับ 130 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Otto และคณะ, 1999; Pornsunthorntawee และคณะ, 2008)

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 โดยใช้แหล่งคาร์บอน 2 ชนิดร่วมกันคือ กลูโคสและน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งยีสต์สามารถเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ปริมาณมากกว่าถึง 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีโครงสร้างเป็น C22 อะตอม ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของผู้อื่นที่ส่วนมากจะรายงานกรดไขมันที่เป็นชนิด C18 และ C20 อะตอม จากโครงสร้างนี้ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า CMC ที่ต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์บางชนิดและต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในรายงานของ ธนัสถา เชียงอุทัย (2549) ที่รายงานมาก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ยังสามารถก่ออิมัลชันกับน้ำมันพืชได้หลากหลายชนิด สามารถจะประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ในอนาคต และงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพฉบับแรกที่ผลิตได้จากยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยและใช้ได้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

โครงการวิจัยนี้ผลิตมหาบัณฑิตได้ 1 คน มีนิสิตระดับปริญญาโท 2 คน และนิสิตระดับปริญญาตรี 1 คน ได้ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ 1 ฉบับ

Thaniyavarn J, Chianguthai T, Sangvanich P, Roongsawang N, Washio K, Morikawa M, Thaniyavarn S. Production of sophorolipid biosurfactant by *Pichia anomala*.Biosci Biotechnol Biochem. 2008 Aug;72(8):2061

สรุปและเสนอแนะ

วัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ในปีที่สองของการศึกษาตามที่เสนอไว้ในข้อเสนอการวิจัย คือการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร และศึกษาลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ในปีนี้ประสบผลสำเร็จตามที่ได้เสนอไว้ ส่วนการศึกษาหาแนวทางพัฒนาและวิธีการเพื่อเพิ่มผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1จะทำวิจัยในขั้นต่อไป

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1.เก็บตัวอย่างต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	1.การคัดเลือกยีสต์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแหล่งต่างๆ สามารถแยกยีสต์สายพันธุ์ PY1 จากอาหารหมักดองพื้นบ้านของประเทศไทย จากอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี มีสามารถสูงสุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
2.จำแนกสกุลของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ทางอนุกรมวิธาน โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การทดสอบสมบัติทางชีวเคมี และจำแนกโดยใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์	2.เมื่อจำแนกสายพันธุ์โดยการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา การทดสอบสมบัติของกระบวนการเมตาบอลิซึมหรือสมบัติทางชีวเคมี การบ่งชี้ชนิดของราในระดับสปีชีส์โดยการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ประมวลรหัสของตำแหน่ง ITS พบว่าเป็น *Pichia anomala*
3.การศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมที่เหมาะสมในการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	3. *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี4% น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน และ 0.4% $NaNO_3$เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด และเมื่อใช้อาหารปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย10.67% น้ำมันถั่วเหลือง และ 5.33% กลูโคส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$ ซ ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน จะให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวเพิ่มเป็น 0.95 กรัมต่อลิตร สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 33 mN/m และค่าการกระจายน้ำมัน เท่ากับ 75.39cm^2
4. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในภาวะที่เหมาะสม	4.การศึกษาการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเหลวกำหนดสูตร ของ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 พบว่าเชื้อยีสต์สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่ไปกับการเจริญของเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
1.การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	1.สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 33 mN/m ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 132 mg/l ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 75.39 cm^2 และให้ผลผลิตเท่ากับ 0.95 กรัมต่อลิตร
2.การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีโครมาโตกราฟี วิเคราะห์โครงสร้างและ	2.ทำการเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วน เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารพบว่าเป็นสารประเภทไกลโคลิปิด และ เมื่อวิเคราะห์สารด้วย LC- MS แสดงค่ามวลโมเลกุลลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารโซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C22]_{Lactone}$ และ $[C22:1]_{Lactone}$
3.การศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทดสอบความสามารถและทดสอบความเสถียรของสารในช่วง pH อุณหภูมิ และ NaCl ความเข้มข้นต่างๆกัน และทดสอบคุณสมบัติการก่ออิมัลชันต่อไขมันที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micelle Concentration ; CMC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้กับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์บางชนิด	3.เมื่อศึกษาลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่าสามารถทำงานได้ดี และมีความเสถียรที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8 มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่างๆได้จนถึงอุณหภูมิ 121° ซ และยังคงความเสถียรได้ดีในภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 % และสามารถก่ออิมัลชันต่อน้ำมันพืชได้ดี เช่น น้ำมันคาโนโนลา น้ำมันงา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัย

การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

Chilli and Sesamin Variety Selection for the Applications in Food Industry and Food Supplements

1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและมีแนวนโยบายจะพัฒนาประเทศให้เป็นครัวของโลก งาและพริกจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากขึ้นทุกปี เนื่องจากความต้องการเมล็ดงาและพริกทั้งในและต่างประเทศมีสูงขึ้นเรื่อยๆ ในประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกพริกเฉลี่ย 383,000 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 420,000 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ในการบริโภคในประเทศ และยังคงมีความจำเป็นในการนำเข้าพริก (แห้ง) เพื่อใช้ในงานด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม ประมาณปีละ 3,000-5,000 ตัน มูลค่าประมาณ 100 ล้านบาท และมีแนวโน้มของความต้องการเพิ่มมากขึ้นตามการเติบโตของอุตสาหกรรมอาหารในประเทศที่ต้องการพริกเป็นส่วนประกอบ เช่น อาหารกระป๋อง น้ำพริก เป็นต้น หรือนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารเสริม เช่น ผลิตภัณฑ์ที่มี capsaisin หรือสารสกัดจากพริกเป็นองค์ประกอบมีรายงานว่าช่วยลดการสะสมของไขมัน โดยการเพิ่มระดับเอนไซม์ในตับ ช่วยเร่งกระบวนการเมทาโบลิซึมในร่างกาย และสามารถใช้ในการควบคุมน้ำหนัก เป็นต้น

ในส่วนของงามีรายงานว่าประเทศไทยผลิตงาได้ปีละ 35,000 ตัน บริโภคภายในประเทศร้อยละ 45 ส่งออกไปต่างประเทศต่างๆ เช่น ไต้หวัน ญี่ปุ่น สิงคโปร์ มาเลเซียและออสเตรเลีย ร้อยละ 55 ในขณะที่ตลาดโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งยุโรปและอเมริกายังมีความต้องการงาอีกมาก การใช้ประโยชน์ของงาในอุตสาหกรรมอาหารในประเทศ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มหรืออาหารที่มีการผสมงาโดยตรง ในอาหารเสริม สิ่งสกัดจากงาได้รับการพิสูจน์ว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระ อาการบกพร่องระบบสืบพันธุ์ ช่วยชะลอความแก่ ความดันโลหิตสูง อาการสมองเสื่อม แก้ปวดข้อ กระดูก กล้ามเนื้อ แก้การเกิดไมแกรน เป็นต้นอย่างไรก็ดี อุปสรรคสำคัญของการส่งออกน้ำมันงาหรือกาควบคุมคุณภาพพริกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม คือ ความแปรปรวนของสารสำคัญที่มีอยู่ในพืช ซึ่งผลกระทบส่วนใหญ่นี้มาจากสายพันธุ์ที่ต่างชนิดกัน นอกจากนั้นอาจเกี่ยวข้องกับวิธีขั้นตอนการเก็บเกี่ยว กระบวนการสกัด วิธีและขั้นตอนในการเก็บรักษา การควบคุมคุณภาพน้ำมันงาและพริก เป็นต้น

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง พบว่าในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาวิจัยอย่างเป็นระบบสำหรับการคัดเลือกสายพันธุ์พริกและงาที่ให้ปริมาณสารสำคัญมากที่สุด รวมถึงวิธีการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญที่มากที่สุดและยังคงรักษาคุณภาพของของสารสกัดที่ได้ การประกันคุณภาพโดยการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในพริกและงาเป็นวิธีการหนึ่งในการส่งเสริมให้ประเทศมีแนวทางการพัฒนาประเทศด้านการเกษตรที่ยั่งยืน ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำไปแนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกพริกและงาด้วยสายพันธุ์ที่ให้ปริมาณสารสำคัญเป็นไปตามความต้องการ และสามารถแนะนำอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกระบวนการสกัดเพื่อให้รักษาคุณภาพที่ดีที่สุดจากพริกและงาไว้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสกัด แยกสารสำคัญจากพริกและงา เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสิ่งสกัดของพริกและงาสายพันธุ์ต่างๆ
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญกับสายพันธุ์พริกและงา
4. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดและตรวจสอบคุณภาพของสิ่งสกัดที่ได้
5. เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์ของสารสำคัญหรือสิ่งสกัดในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

2. วิธีดำเนินการวิจัย

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปีที่ 2											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ศึกษาและค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับพริกและงาทั้งด้านการเกษตร เคมี และการประยุกต์ทางอาหาร	◄	···	···	···	···	···	···	···	···	···	···	►
2. การสกัดและแยกสารสำคัญจากพริกและงา	◄	···	···	►								
3. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญกับสายพันธุ์พริกและงา	◄	···	···	···	►							
4. การศึกษาการใช้ประโยชน์อย่างเต็มศักยภาพจากพริกและงา			◄	···	···	···	···	···	···	···	···	►
5. ศึกษาแนวทางประยุกต์สารสำคัญและ/หรือสิ่งสกัดที่ได้จากพริกและงาในอุตสาหกรรมอาหาร												◄···►
6. สรุปผลและเขียนรายงาน												◄···►

3. ผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้แบ่งการศึกษาเป็นสองส่วนคือ พริกและงา งานวิจัยในส่วนของพริก ได้ศึกษาวิธีการสกัดแยก capsaicinoid เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานเพื่อลดการนำเข้าสารมาตรฐานจากต่างประเทศซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง และพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีการสกัดด้วย solvent extraction และวิธีวิเคราะห์ HPLC จากการศึกษาในปีที่ผ่านมาสามารถหาภาวะ HPLC ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ capsaicinoid ที่ให้ค่า resolution มากกว่า 1 และพบว่าในการวิเคราะห์ linearity range ของสารละลายมาตรฐานแคพไซซินที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 29 ถึง 1313 ppm และสารละลายมาตรฐานไดไฮโดรแคพไซซินที่ ความเข้มข้น 15 ถึง 707 ppm ให้ค่า linear correlation มากกว่า 0.9900 และได้ทดลองวิเคราะห์ปริมาณ capsaicin จากสิ่งสกัดพริกและเปรียบเทียบปริมาณ capsaicin จากสิ่งสกัดพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า จากแหล่งต่างๆ พบว่าได้ผลระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามการพิสูจน์วิธีวิเคราะห์ยังประสบปัญหาเนื่องจากไม่สามารถหาสารตัวอย่างที่ปราศจากสารกลุ่ม capsaicinoid ได้ และไม่มีสารมาตรฐานจำหน่าย นอกจากนี้ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์และตรวจสอบปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (total carotenoid) ในพริกสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในแง่มุมต่างๆ ซึ่งนับว่าเป็นการศึกษาเพื่อใช้ประโยชน์อย่างเต็มศักยภาพของพริก

งานวิจัยในส่วนของงา ได้สกัด แยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของ sesaminol diglucoside และ sesaminol triglucoside ซึ่งพบว่าประกอบด้วยส่วน aglycone คือ sesaminol และมีส่วนของน้ำตาลเป็น glucose จำนวน 2 และ 3 หน่วยตามลำดับ เนื่องจากโครงสร้างมีส่วนของน้ำตาลอยู่ด้วยจึงทำให้สารในกลุ่มนี้มีการละลายในน้ำที่ดีกว่าสารกลุ่ม sesamin และ sesamolin ซึ่งพบในน้ำมันงา สารในกลุ่ม sesaminol glycoside มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ฯลฯ ส่วนใหญ่คล้ายคลึงกับที่มีรายงานใน sesamin และ sesamolin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันงา จึงคาดว่าสารในกลุ่ม sesaminol glycoside อาจเกิดการย่อยสลายได้ sesaminol ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ได้ทัดเทียมกับ sesamin และ sesamolin หากมีการนำกากงาที่ได้จากการสกัดน้ำมันแล้วมาสกัดต่ออีกครั้งเพื่อนำสารในกลุ่ม sesaminol glycoside มาใช้ประโยชน์ จะเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่กากงาเป็นอย่างมาก

ข้อเสนอแนะและปัญหา

งานวิจัยในปีที่สองยังคงมีความร่วมมืออย่างใกล้ชิดกับกรมวิชาการเกษตรเพื่อเก็บพันธุ์พืชทั้งพริกและงา ทำให้ทราบว่า โครงการในลักษณะดังกล่าวสามารถช่วยให้กรมวิชาการเกษตรรวมทั้งในอนาคตกรมส่งเสริมการเกษตร สามารถแนะนำพันธุ์ที่เหมาะสมต่อเกษตรกรเพื่อส่งเสริมการเพาะปลูก งานวิจัยที่ขยายเพิ่มเติมจากปีที่ 1 คือ การสกัดและหาปริมาณแคโรทีนอยด์ในพริก และการสกัด แยกไกลโคไซด์จากกากงา เพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์ของพริกและงาอย่างเต็มศักยภาพต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัย ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2550	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2550
1. คัดเลือกชนิดเกลือแร่และวิตามินที่เหมาะสม	1. เลือกศึกษาเกลือแร่ ได้แก่ แคลเซียม สังกะสี
2.คัดเลือกวิธีการเตรียมฟิล์มหรืออนุภาคนาโนพอลิเมอร์ที่เหมาะสม	1. เตรียมอนุภาคขนาดไมโครหรือนาโนของ calcium carbonate, calcium aginate hydrocolloid, calcium alginate nanosphere และ โอเมกา-3 emulsion droplets โดยเตรียมเป็น emulsion 2.วิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่และสารอาหารลงไปโดยตรง
3. พัฒนาวิธีการเติมเกลือแร่และวิตามินลงในฟิล์มบาง	3. ศึกษาวิธีการเติมแคลเซียม สังกะสี และน้ำมันโอเมกา-3 ลงในฟิล์มบาง

วิธีดำเนินการวิจัยที่เสนอในปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วใน ปี 2551
1. พัฒนาวิธีการเคลือบฟิล์มที่มีเกลือแร่บนผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรให้มีประสิทธิภาพ และปรับเปลี่ยนองค์ประกอบและวิธีการควบคุมปริมาณเกลือแร่ในฟิล์ม	- ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ต่อน้ำหนักของพอลิเมอร์ที่เคลือบบนผิวผลไม้ - ศึกษาผลของการเคลือบผลไม้ด้วยฟิล์มชนิดต่างๆ ต่อลักษณะทางกายภาพของฝรั่ง
2.พัฒนาวิธีการเตรียมฟิล์มบางที่มีเกลือแร่ วิตามิน หรือสารอาหารชนิดอื่นๆ	1. **การพัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่** โดยเตรียมอัลจิเนต เจลาติน และไคโตซานฟิล์มลงไป 2.**การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3** โดย - เตรียม primary emulsion ของน้ำมันทูนาซึ่งมีโอเมกา-3 เป็นองค์ประกอบที่มีขนาดเล็กลง และการกระจายตัวดีขึ้น - เตรียม secondary emulsion โดยใช้ PDAD และ ไคโตซาน - เตรียมฟิล์มที่มีอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ผสมอยู่
3. ทดสอบเสถียรภาพของฟิล์มซึ่งมีการเติมเกลือแร่ วิตามิน หรือ สารอาหาร ต่อเวลา อุณหภูมิ pH	

1. บทนำ

มูลเหตุจูงใจและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันเป็นยุคปฏิรูประบบสุขภาพซึ่งเน้นการป้องกันและสร้างเสริมสุขภาพ การรับ ประทานอาหารที่ ถูกต้อง ปัน วิธีการหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมและป้องกันมิให้ประชากรและผู้สูงอายุเกิดโรคเรื้อรัง สุจิตราและคณะ ได้รายงานว่ารูปแบบการ บริโภคอาหารเป็นอิทธิพลสำคัญ ที่ก่อให้เกิดโรคเรื้อรัง ต่างๆ ในประชากรและ ผู้สูงอายุ โดยประชากรและผู้สูงอายุส่วนใหญ่ ได้รับวิตามินและแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม และวิตามินบีหนึ่งไม่เพียงพอ ซึ่ง เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด โรคหัวใจล้มเหลว โรค ความจำเสื่อม อย่างไรก็ตามแนวทางการดำเนินชีวิตในปัจจุบันมีเอื้อต่อการรับประทานอาหารที่เหมาะสม ปัจจุบันนี้ได้มี งานวิจัยพัฒนาการเพิ่มสารอาหารในอาหารชนิดต่างๆ เช่นการเพิ่มไอโอดีนในเกลือ

การเคลือบผิวเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหารหรือผลไม้ได้มีการใช้กันมาระยะเวลาหนึ่งแล้ว โดยฟิล์มเหล่านี้มี คุณสมบัติในการต้านทานการสูญเสียน้ำ ปรับปรุงคุณภาพของผิว ช่วยรักษากลิ่นและรสของสารระเหยง่าย รวมถึงต้านทานการ เจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ฟิล์มที่ใช้เคลือบผิวสามารถเตรียมจากสารชนิดต่างๆ เช่น พอลิแซคคาไรด์ โปรตีน หรือไขมัน ตัวอย่างเช่นการเคลือบผิวด้วยไคโตซานสามารถปรับปรุงคุณภาพและเพิ่มระยะเวลาในการเก็บสตอเบอร์รี่และราสเบอร์รี่ได้ดี[1] การเพิ่มวิตามิน เกลือแร่ ลงในแผ่นเคลือบผิวของผลไม้จึงได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากสามารถยืดอายุของผลิตภัณฑ์และ เพิ่มคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์นั้นๆ การพัฒนาฟิล์มที่เตรียมจากไคโตซานที่มีการเติมแคลเซียม เหล็ก หรือ วิตามินอี ใน ระดับความเข้มข้นสูง[3]

โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเสริมสร้างสุขภาพของประชากรและผู้สูงอายุโดยการพัฒนาผลไม้ที่เคลือบด้วย เกลือแร่และ วิตามินเพื่อแก้ปัญหาการขาดสารอาหารประเภทวิตามินและเกลือแร่ ทั้งนี้เพื่อช่วยให้ประชากรมีภาวะโภชนาการดีขึ้น

วัตถุประสงค์โครงการ

1. **การพัฒนาฟิล์มที่เติมเกลือแร่ลงไป** โดยเกลือแร่ที่เลือกใช้ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และเหล็ก โดย ปริมาณของเกลือแร่ที่เติมลงไปจะเติมเพียง 10% ของ RDI และเลือกฝรั่งซึ่งจะใช้เป็นผลไม้ต้นแบบ สำหรับการศึกษาในครั้งนี้

2. **การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3** การผสมน้ำมันโอเมกา-3 ลงบนผลไม้โดยตรงเป็นไปได้ยาก ผู้ทำงานวิจัยจึง ได้เตรียมน้ำมันโอเมกา-3 ให้อยู่ในรูปอิมัลชันก่อนแล้วจึงเตรียมเป็นฟิล์ม โดยผู้วิจัยพัฒนาวิธีการเตรียม multilayer emulsion เพื่อให้ได้อิมัลชันของน้ำมันทูนาที่มีความเสถียร และลดอัตราการเกิดออกซิเดชัน โดยในปีนี้ผู้วิจัยเตรียม secondary emulsion ซึ่งเตรียมโดยเคลือบ primary emulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ด้วยพอลิเมอร์ (PDAD และ ไคโตซาน) อีกชั้นหนึ่ง พัฒนาฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ และน้ำมันโอเมกา-3 ที่สามารถเคลือบบนผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรได้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่

1. พัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ โดยเลือกวิธีการเติมเกลือแร่ลงไปโดยตรงในแผ่นฟิล์ม

2. พัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 ขั้นแรกเตรียมอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ที่มีจำนวนชั้นล้อมรอบ มากขึ้น เพื่อเพิ่มความเสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วจึงนำไปเตรียมเป็นแผ่นฟิล์ม

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปีที่ 1 (1 ตุลาคม 2550- 30 กันยายน 2551)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
การพัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่ โดย - ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ต่อน้ำหนักของพอลิเมอร์ที่เคลือบบนผิวผลไม้ - ศึกษาผลของการเคลือบผลไม้ด้วยฟิล์มชนิดต่างๆ ต่อลักษณะทางกายภาพของฝรั่ง - การเตรียมฟิล์มที่เติมเกลือแร่								←	—	—	—	→
การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 โดย - เตรียม primary emulsion ของน้ำมันทูนาซึ่งมีโอเมกา-3 เป็นองค์ประกอบที่มีขนาดเล็กลง และการกระจายตัวดีขึ้น - เตรียม secondary emulsion โดยใช้ PDAD และ ไคโตซาน - เตรียมฟิล์มที่มีอิมัลชันของน้ำมัน โอเมกา-3 ผสมอยู่	←	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	→

3. ผลการวิจัย

3.1 พัฒนาวิธีเตรียมฟิล์มบางที่เติมเกลือแร่

ฟิล์มที่เตรียมจากผสมระหว่างเกลือแร่และพอลิเมอร์โดยตรงแทนการเตรียมแคลเซียมเป็นอนุภาค หรือไฮโดรเจลก่อน โดยพอลิเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาเพื่อเคลือบบนผิวผลไม้ได้แก่ ไคโตซาน เจลาติน และอัลจิเนต คณะผู้วิจัยได้เลือกที่จะเติมเพียง 10% ของค่า RDI ของเกลือแร่แต่ละชนิด โดยในการศึกษาครั้งนี้จะใช้ฝรั่งเป็นผลไม้ต้นแบบในการเคลือบฟิล์ม โดยในขั้นต้นทำการศึกษาปริมาณของพอลิเมอร์ที่สามารถเคลือบบนผลไม้ เป็นตัวแปรที่สำคัญในการกำหนดปริมาณของเกลือแร่ที่จะถูกเคลือบบนผิวของผลไม้ จากการศึกษาพบว่าอัลจิเนต และ เจลาตินสามารถใช้เป็นพอลิเมอร์ตัวกลางได้ โดยผลไม้ที่เคลือบด้วยเจลาตินจะมีความเป็นมันวาวมากกว่า

ฟิล์มที่เติมเกลือแร่ลงไปนั้น พบว่าอัลจิเนตฟิล์มเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียมได้ อย่างไรก็ตามเจลาตินฟิล์มและไคโตซานฟิล์มไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ กับเกลือแร่ที่เติมลงไป

3.2 การพัฒนาฟิล์มที่เติมน้ำมันโอเมกา-3 เป็นองค์ประกอบ

3.2.1 primary emulsion ของโอเมกา-3

emulsion ของโอเมกา-3 สามารถเตรียมได้โดยใช้เคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ ใช้ระบบ oil in water emulsion โดย primary emulsion มีประจุเป็นลบ ซึ่งเป็นการยืนยันว่าอิมัลชันที่เตรียมได้มีเคซีนล้อมรอบ อย่างไรก็ตามเนื่องจากค่า zeta potential มีค่าน้อยกว่า -30mV แสดงให้เห็นว่า primary emulsion ที่เตรียมได้นั้นมีเคซีนล้อมรอบหยดน้ำมันน้อย ทำให้แรงผลักทางไฟฟ้า (electrostatic repulsion) นั้นมีน้อย ส่งผลให้ไม่เสถียรเท่าที่ควร โดย primary emulsion ที่เตรียมโดยใช้ 1.5% เคซีน พบว่าอิมัลชันมีขนาดเล็ก การกระจายตัวของหยดน้ำมันมีการกระจายตัวที่แคบ และขนาดของประจุมีความเป็นลบที่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเคซีนต่างๆ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้ความเข้มข้นนี้

เคซีนเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งดังนั้น pH ย่อมมีผลต่อความเสถียรของ primary emulsion ณ pH ของสารละลายอิมัลซิฟายเออร์มีค่าเท่ากับ 4 และ 5 ซึ่งใกล้กับค่า pI ของเคซีน (pI = 4.7) ซึ่งอิมัลชันที่เกิดขึ้นไม่ค่อยเสถียร และที่ pH 6 อิมัลชันมีความเสถียรมากที่สุด

3.2.2 secondary emulsion

secondary emulsion สามารถเตรียมโดยเคลือบ primary emulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ด้วยพอลิเมอร์ (PDAD และ ไคโตซาน) อีกชั้นหนึ่ง ผู้วิจัยได้ศึกษา

3.2.2.1 ปริมาณ ณ จุดสมมูลระหว่าง primary emulsion และ พอลิเมอร์ที่ใช้ในการเตรียม

ในการศึกษานี้ ทำการติดตาม % transimsision เพื่อสังเกตการณ์เกิดอิมัลชัน พบว่าเมื่อเติม primary emulsion ที่มีเคซีนเป็นอิมัลซิฟายเออร์ และมีประจุลบ (pH 6) ลงไปในสารละลาย PDADMAC ซึ่งมีประจุเป็นบวกจึงเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าระหว่างประจุบวกของ PDAD และประจุลบของเคซีน ทำให้เกิด secondary emulsion ที่มี PDAD ล้อมรอบอยู่ภายนอกขึ้นได้ สารผสมยังอยู่ในรูปของ colloid และไม่เกิดการตกตะกอน เมื่อถึงจุดสมมูลระหว่างปริมาณของ PDAD และ primary emulsion ค่า % transimsision ต่ำสุด เมื่อเติม primary emulsion มากขึ้น พบว่าเกิด complex ขึ้น โดย complex ดังกล่าวตกตะกอนออกมา ส่งผลให้ค่า % transimsision สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเป็นจุดที่แสดงถึงอัตราส่วนน้ำหนักที่มากเกินพอระหว่าง primary emulsion และพอลิเมอร์ที่ใช้ โดย complex ที่เกิดขึ้นนี้เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง primary emulsion ที่มากเกินพอทำปฏิกิริยากับ secondary emulsion ที่เตรียมได้

จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่เหมาะสมระหว่าง PDADMAC และ primary emulsion มีค่าเท่ากับ 2.6 ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่าง primary emulsion (1.5 % เคซีน) และสารละลาย PDAD เท่ากับ 0.25 ดังนั้นในการศึกษาเพื่อเตรียม secondary emulsion ที่ใช้ PDAD นั้นผู้วิจัยเลือกอัตราส่วนน้ำหนักที่น้อยกว่า 2.6 เล็กน้อย

อัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่าง primary emulsion และสารละลาย chitosan 0.1%w/v ที่เหมาะสมเพื่อใช้เตรียม secondary emulsion เป็น 0.2-0.3 ซึ่งมีปริมาณ chitosan ส่วนเกินน้อยที่สุด

3.2.2.2 การศึกษาขนาดของอนุภาคและค่า zeta potential ของ primary emulsion และ secondary emulsion

จากผลการทดลองพบว่าการกระจายตัวของอนุภาคของ primary emulsion ยังคงเป็นแบบ polydisperse แต่สัดส่วนของอนุภาคที่มีขนาดประมาณ 280 ไมครอน มีมากกว่า 95%

ในกรณีที่ใช้ PDAD และไคโตซานเป็นพอลิเมอร์เพื่อเตรียม secondary emlusion นั้นพบว่าการกระจายตัวยังคงเป็นแบบ polydisperse เช่นกัน และเมื่ออัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 0.1 (อัตราส่วนโดยปริมาตรก่อนถึงจุดสมมูล) และ 0.3 (อัตราส่วนโดยปริมาตรใกล้จุดสมมูล) พบว่าอนุภาคของอิมัลชันมีขนาดใหญ่ขึ้น และค่า zeta potential เป็นบวกซึ่งเป็นประจุของ PDAD ที่ล้อมรอบ primary emulsion ไว้ แสดงว่าเกิด secondary emulsion ขึ้น เมื่ออัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนหลังจุดสมมูล พบว่าขนาดของอนุภาคอิมัลชันมีขนาดเล็กลง และประจุบนพื้นผิวมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าอนุภาคส่วนใหญ่ในสารผสมมีประจุเกือบเป็นศูนย์ บ่งบอกถึงการรวมตัวกันระหว่าง secondary emulsion และ PDAD ดังนั้นอัตราส่วนโดยหนักที่เหมาะสมต่อการเตรียม secondary emulsion คือ 2.6

secondary emulsion โดยใช้ไคโตซานได้ มีขนาดใหญ่กว่าที่เตรียมจาก PDAD ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากไคโตซานมีความหนาแน่นของประจุน้อยกว่าจึงต้องใช้ในปริมาณมากกว่าเพื่อจับกับเคซีนที่ล้อมรอบ primary emulsion อยู่

3.2.3 ฟิล์มที่มีอิมัลชันของโอเมกา-3

จากการทดลองพบว่า เจลาตินฟิล์มให้ผลที่ดีที่สุด โดยพบว่าปริมาณอิมัลชันที่สามารถเติมลงในพอลิเมอร์ฟิล์มสูงสุดเท่ากับ 50%

4. สรุป

ในงานวิจัยปีนี้ ผู้วิจัยสามารถเตรียมแผ่นฟิล์มที่มีการเติมเกลือแร่ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และเหล็ก ลงไปโดยตรงได้ และฟิล์มที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถเคลือบลงบนผลไม้ได้โดยการจุ่มซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย โดยพบว่าฟิล์มที่เหมาะสมต่อการเคลือบบนผิวฝรั่งได้แก่ เจลาติน เนื่องจากให้พื้นผิวที่มันวาวและมีสามารถเติมเกลือแร่ลงไปได้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยสามารถเตรียมฟิล์มที่มีอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ได้ โดยพบว่าเจลาตินเป็นพอลิเมอร์ที่ดีที่สุดเพราะมีความโปร่งแสง และสามารถเติมอิมัลชันของน้ำมันโอเมกา-3 ได้ถึง 50% โดยน้ำหนัก

เมื่อเปรียบเทียบ secondary emulsion ได้ถูกเตรียมขึ้นโดยใช้ PDAD และไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ นั้นพบว่าขนาดของ secondary emulsion ที่เตรียมด้วย PDAD มีขนาดเล็กกว่า แต่มีความเสถียรมากกว่า ซึ่งอาจเนื่องมาจาก pH ของสารละลายไคโตซาน

ทั้งนี้งานวิจัยดำเนินไปล่าช้าจากแผนที่วางไว้เนื่องจากได้รับงบประมาณของครึ่งปีหลังล่าช้ากว่ากำหนดมาก

5. แนวทางในการวิจัยในขั้นต่อไป

1. ตรวจวัดการหลุดออกของไอออนต่างๆ และพัฒนาวิธีการเตรียมฟิล์มที่ป้องกันการหลุดออกให้ได้มากที่สุด
2. พัฒนาวิธีเตรียม multilayter emulsion ของน้ำมันโอเมกา-3 และที่มีความเสถียร และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อย ซึ่งจะทำให้สามารถเตรียมฟิล์มเพียงชั้นเดียวที่เติมเกลือแร่และน้ำมันโอเมกา-3 ลงไปพร้อมกันได้
3. วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารที่เติมลงไปในฟิล์มที่พัฒนาขึ้น
4. พัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีแผ่นฟิล์มที่เติมเกลือแร่และน้ำมันโอเมกา-3 เคลือบอยู่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย "สารสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ"

1.บทนำ

1) มูลเหตุจูงใจและปัญหา

สมองเสื่อม (Dementia) เป็นภาวะที่สมองมีระดับความสามารถในการจัดการวางแผน ดำเนินกิจกรรมต่างๆ ลดลง ทำให้ผู้ป่วยมีปัญหาไม่สามารถเรียนรู้สิ่งใหม่ๆ คิดสิ่งต่างๆ ไม่ออก บุคลิกภาพเปลี่ยนแปลง วิตกกังวล รวมทั้งซึมเศร้า ภาวะสมองเสื่อมนั้นต่างจากความจำเสื่อม (Forgetfullness) โดยมักมีอาการอื่นนอกจากความจำเสื่อมร่วมด้วยโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease, AD) เป็นสาเหตุของสมองเสื่อมที่พบได้บ่อยมักพบในผู้สูงอายุ ทำให้เป็นปัญหาแก่ประเทศไทยที่มีจำนวนผู้สูงอายุมากขึ้นทุกปี และภาระในการเฝ้าดูแลรักษาโดยแพทย์ และญาติก็จะต้องมีมากขึ้นด้วย ด้วยเหตุนี้ทั้งประเทศไทยและทั่วโลกจึงให้ความสนใจศึกษาและวิจัยโรคอัลไซเมอร์เป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะในประเด็นป้องกันหรือรักษา ปัจจุบันยังไม่มียาที่รักษาให้หายขาดได้แต่มียาซึ่งอาจช่วยควบคุมอาการต่างๆ ให้น้อยลงได้ชั่วคราว แต่โรคก็จะดำเนินต่อไปเรื่อยๆ เมื่อถึงระยะที่เป็นมากๆ ยาก็จะไม่ได้ผล

สาเหตุของโรคอัลไซเมอร์มีสมมติฐานว่าสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โดยสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่งก็คือ ผู้ป่วยอัลไซเมอร์จะมีปริมาณเซลล์สมองลดลงและสารสื่อประสาท Acetylcholine (ACh) ลดลงด้วย ปัจจุบันมียาที่ช่วยเพิ่มปริมาณของ Ach ในสมอง โดยออกฤทธิ์ต้าน Acetylcholinesterase (AChE) ที่ย่อยสลาย ACh คือ AChE inhibitors เช่น tacrine, rivastigmine และ galantamine ยาเหล่านี้จึงช่วยให้ผู้ป่วยอัลไซเมอร์มีอาการดีขึ้นได้ และชะลอการทรุดลงของโรคถ้าได้ใช้ในระยะเริ่มแรก แต่จะไม่ทำให้โรคหายขาด

จากการศึกษาเบื้องต้นของหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสเบื้องต้นกับสิ่งสกัดสมุนไพร 50 ชนิด ด้วยวิธี TLC assay พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรหลายชนิดแสดงฤทธิ์ที่น่าสนใจ รวมทั้งสิ่งสกัดจากเหง้ากระชายดำ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker จึงได้เลือกสิ่งสกัดสมุนไพรจากกระชายดำ ศึกษาหาสาระสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

ในปัจจุบันพบว่า มีผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์กระชายดำ และอาหารเสริมที่ผลิตจากกระชายดำจำนวนมาก แต่ยังไม่มีการตรวจสอบ วิเคราะห์และควบคุมคุณภาพปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว การใช้ความรู้ด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการช่วยควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยสามารถจำหน่ายได้อย่างยั่งยืนและมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานสากล

2) วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ รวมถึงศึกษาวิธีการเบื้องต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้

2.2 เพื่อประเมินคุณภาพสิ่งสกัด ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากการะชายดำ

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

- การสกัดและแยกสารสำคัญจากกระชายดำ

2.1 สกัดกระชายดำด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเมทานอล เพื่อสกัดสารสำคัญจากพืชตัวอย่าง

2.2 แยกสารสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น คอลัมน์โครมาโทกราฟี โครมาโททรอนหรือ HPLC

2.3 ทำสารสำคัญให้บริสุทธิ์และตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสำคัญด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่น IR, NMR, MS, UV-Vis, GC-MS และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

2.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร (**1-10**) ที่แยกได้จากกระชายดำ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ด้วยวิธี microplate ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) ฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ และฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

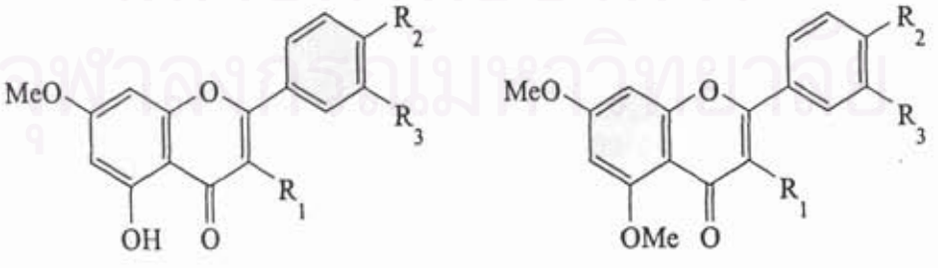
2.5 ศึกษาการสังเคราะห์ฟลาโวนเบื้องต้น (**11-14**) และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ด้วยวิธี microplate

2.6 วิเคราะห์หาปริมาณสาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ เช่น ผลิตภัณฑ์ ชาชงกระชายดำ (ซอง) ไวน์กระชายดำ เครื่องดื่มกระชายดำ กระชายดำแคปซูล และน้ำกระชายดำ ด้วยเทคนิคทาง GC และ HPLC

3. ผลการวิจัย

3.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ากระชายดำ

จากการแยกสารบริสุทธิ์ในสิ่งสกัดเฮกเซน (สาร **1-3**)และไดคลอโรมีเทน (สาร **4-10**) ได้สารฟลาโวนอยด์ประเภทฟลาโวนที่มีปริมาณมากพอ 10 ชนิด ที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ต่อ



1, R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H

2, R_1 = R_2 = R_3 = H

3, R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H

4, R_1 = R_2 = R_3 =OMe

10, R_1 = R_3 = H; R_2 = OMe

5, R_1 = OMe; R_2 = R_3 = H

6, R_1 = R_3 = H; R_2 =OMe

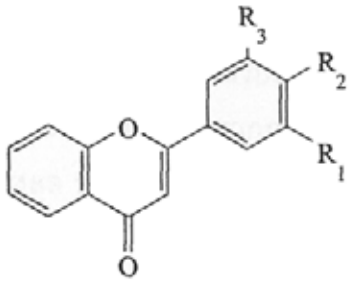
7, R_1 = R_2 = R_3 = H

8, R_1 = R_2 = OMe; R_3 = H

9, R_1 = R_2 = R_3 = OMe

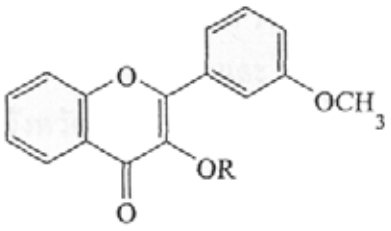
3.2 การสังเคราะห์ฟลาโวนเบื้องต้น

สามารถสังเคราะห์ฟลาโวนได้ 4 ชนิด (สาร **11-14**)

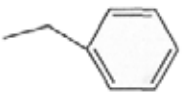


11, $R_1 = R_2 = R_3 = H$

12, $R_1 = R_2 = R_3 = OMe$



13, R = CH3

14, R = 

3.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate

นำสารฟลาโวน **1-14** มาทดสอบ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส ด้วยวิธี microplate เพื่อหาค่า % การยับยั้ง ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ให้ผลดังนี้

สาร	% การยับยั้ง
6	56.20
7	44.20
11	32.30
13	33.80
14	21.90
galantamine (Std.)	93.55

พบว่า สาร **6** และ **7** มีฤทธิ์ยับยั้งเท่ากับ 56.20 และ 44.20 % ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สาร **11, 13** และ **14** มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสน้อยกว่าสาร **6** และ**7**

3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารแยกได้จากกระชายดำ (**1-10**) เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ด้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ จะให้ฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ แต่มีเฉพาะสาร **1** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญาณแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

3.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC และ GC

จากการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค HPLC และ GC เพื่อใช้วิเคราะห์สิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ของกระชายดำ พบว่า วิธีทาง GC ให้ค่า retention time คงที่กว่า เนื่อง GC สะดวก รวดเร็ว และมีตัวแปรน้อยกว่า นอกจากนี้ สารในกลุ่มนี้ไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ส่วนการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดกระชายดำด้วยวิธี GC พบว่า มีปริมาณสาร **6** มากกว่า สาร **7** ทั้ง 3 จังหวัด ส่วนในผลิตภัณฑ์ไวน์ จะมีปริมาณสารสองตัวนี้ในปริมาณสูงสุด รองลงมาได้แก่แคปซูล และชาชง ตามลำดับ จากผลของการสกัดสารในผลิตภัณฑ์กระชายดำด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่ามีสาร **6** และ **7**เป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณสารสำคัญ(**6** และ **7**) ที่ไม่แน่นอนในแต่ละตัวอย่าง

3.6 การแปรรูปกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

พบว่า วิธี ก (สกัดด้วยน้ำ) จะดีกว่าวิธี ข (สกัดด้วย 50% น้ำ-เมทานอล) เนื่องจากวิธี ข จะดูดความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้

4. สรุปและเสนอแนะ

4.1 จากการแยกสารจากเหง้ากระชายดำได้ ฟลาโวนอยด์ 10 ชนิด และนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ที่ความเข้มข้นของสาร 1 *mg/ml* ด้วย*วิธี microplate* พบว่า สาร **6** และ **7** มีฤทธิ์ดีที่สุด ให้ % การยับยั้ง 56.20 และ44.20 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ จะให้ฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ แต่มีเฉพาะสาร **1** ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae*

4.2 การสังเคราะห์สารฟลาโวนเบื้องต้น สามารถสังเคราะห์ฟลาโวนได้ 4 ชนิด (สาร **11-14**) และให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสไม่ดีนัก จึงจำเป็นต้องมีการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ในกลุ่มนี้ให้มีอนุพันธ์หลากหลายขึ้น

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร **6** และ **7** ในสิ่งสกัดและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของกระชายดำ เช่น ผลิตภัณฑ์ ชาชงกระชายดำ (ซอง) ไวน์กระชายดำ เครื่องดื่มกระชายดำ กระชายดำแคปซูล และน้ำกระชายดำ ด้วยเทคนิคทาง GC และ HPLC พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง GC เหมาะสมกว่า เพราะสะดวกรวดเร็วและมีตัวแปรน้อยกว่า นอกจากนี้สารในกลุ่มนี้ไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ส่วนในการวิเคราะห์สาร **6** และ **7** พบว่าในไวน์จะมีปริมาณสาร 2 ตัวนี้ในปริมาณสูงสุด

4.4 การแปรรูปกระชายดำผงด้วยวิธีทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า การสกัดด้วยน้ำจะให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นผงแห้งดีไม่ดูดความชื้น หรือควรมีการปรับปรุงวิธีการแปรรูปให้เป็นผงด้วยวิธีอื่นอีก เช่น การทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (spray-dry) เป็นต้น

ผลการวิจัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550 และ 2551

วิธีการดำเนินการวิจัยเสนอไปแล้วปี 2550	**รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2550**
1. สกัดกระชายดำด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เมทานอลเพื่อสกัดสารสำคัญจากพืชตัวอย่าง 2. แยกสารสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น คอลัมน์โครมาโทกราฟี โครมาโททรอนหรือ HPLC 3. ทำสารสำคัญให้บริสุทธิ์และตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสำคัญด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่น IR, NMR, MS, UV-Vis, GC-MS และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน	1. สกัดกระชายดำด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเมทานอลเพื่อสกัดสารสำคัญจากพืชตัวอย่าง 2. *แยกสารสำคัญจากพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคทาง*โครมาโทกราฟี สามารถแยกสารได้ 14 ชนิด 3. ทำสารสำคัญ 14 ชนิดให้บริสุทธิ์และตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสำคัญด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่น IR, NMR, MS, UV-Vis, GC-MS และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ได้สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ 13 ชนิด 4. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสด้วยวิธี TLC assay ของสาร **1-10** และ **14**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการดำเนินการวิจัยเสนอไปแล้วปี 2551	รายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2551
1. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากกระชายดำ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) และฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพเป็นต้น 2. การประเมินคุณภาพของสิ่งสกัด, ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ ได้แก่ ปริมาณสารสำคัญจากสิ่งสกัดกระชายดำ ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ เช่น ไวน์กระชายดำ แคปซูล ชาผง และสิ่งสกัดดิบจากแหล่งต่างๆ เป็นต้น 3. ศึกษาแนวทางประยุกต์**เบื้องต้น**ของสารสำคัญและ/หรือสิ่งสกัดที่ได้จากกระชายดำในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม และอุตสาหกรรมอาหารเสริม 4. ศึกษาหาวิธีสังเคราะห์**เบื้องต้น**ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่เกี่ยวข้อง	1. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร(**1-10**)ที่แยกได้จากกระชายดำ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ด้วยวิธี Spectrophotometric assay ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (โรคความจำเสื่อม) ด้วยวิธี microplate ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอฟากลูโคซิเดส (โรคเบาหวาน) ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร และฤทธิ์ยับยั้งการส่งสัญญานแคลเซียมด้วยยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *Sacchoromyces cerevisiae* 2. การประเมินคุณภาพของสิ่งสกัด, ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ ได้แก่ ปริมาณสารสำคัญ (สาร **6** และ **7**) จากสิ่งสกัดกระชายดำ ผลิตภัณฑ์และอาหารเสริมจากกระชายดำ ได้แก่ ไวน์กระชายดำ แคปซูล ชาผง น้ำกระชาย และสิ่งสกัดดิบจากแหล่งต่างๆ โดยวิธีวิเคราะห์ทาง HPLCและ GC 3. ศึกษาแนวทางประยุกต์**เบื้องต้น**ของสารสำคัญและ/หรือสิ่งสกัดที่ได้จากกระชายดำในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมและอาหารเสริม โดยวิธีทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) 4. ศึกษาหาวิธีสังเคราะห์**เบื้องต้น** (2 วิธี) ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่เกี่ยวข้อง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย

ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

An Efficiency of Antimicrobial activity from mango (Mangifera indica Linn.) seed extracts

ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ (หัวหน้าโครงการ)

รศ.ดร. สุเมธ ตันตระเธียร

ผศ.ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

อ. ดร. จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณีมหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2551

บทนำ

มูลเหตุจูงใจปัญหา

ความปลอดภัยของอาหารเป็นเรื่องสำคัญที่ทุกคนให้ความสนใจ ในอุตสาหกรรมอาหาร การประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารสุดท้ายเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนการตรวจสอบและควบคุมวัตถุดิบ กระบวนการผลิต ตลอดจนถึงการบรรจุผลิตภัณฑ์ และการเก็บสินค้าก่อนส่งถึงมือผู้บริโภค นอกเหนือจากการปฏิบัติตามหลักเกณฑ์การปฏิบัติที่ดี (Good Manufacturing Practice; GMP) และการมีระบบวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤต (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP) ในการผลิตอาหาร การใช้สารต้านแบคทีเรียยังเป็นวิธีที่ผู้ผลิตจำเป็นต้องใช้เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดแก่ผู้บริโภค หากเกิดเหตุสุดวิสัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการผลิต และเพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียในอาหารที่อยู่ระหว่างการรอจำหน่าย การใช้สารต้านการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการประกันความปลอดภัยของอาหาร สารที่ใช้ต้านการเจริญของแบคทีเรียในอาหารและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ โดยทั่วไปเป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มต่างๆ เช่น อนุพันธ์ของกรดอินทรีย์ และเกลือของกรดอินทรีย์ซึ่งหลาย ๆ ชนิดนั้นมีรายงานว่าสามารถสะสมในร่างกายและก่อเกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นหากมีการพัฒนาสารต้านแบคทีเรียที่สกัดได้จากแหล่งธรรมชาติ โดยเฉพาะจากพืชมาใช้ทดแทนสารต้านแบคทีเรียสังเคราะห์เหล่านั้นก็จะเป็นทางออกหนึ่งที่จะทำให้การใช้สารต้านแบคทีเรียในอาหารมีความปลอดภัยมากขึ้น

มีรายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสามารถนำไปใช้ในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรครวมถึงใช้ในสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคติดเชื้อ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงมาใช้เป็นสารต้านแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

วัตถุประสงค์

ศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงและศึกษาผลของปัจจัยด้าน พันธุ์ แหล่งปลูก กระบวนการแปรรูปเป็นมะม่วงดอง ต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย ดังกล่าว

วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสด โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. พันธุ์มะม่วง ใช้มะม่วง 3 พันธุ์ คือ มะม่วงเขียวมรกต มะม่วงโชคอนันต์ มะม่วงฟ้าลั่น ที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี
2. แหล่งปลูก ใช้มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์สด ที่ปลูกในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดสุพรรณบุรี
3. การแปรรูป ใช้มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์สด และมะม่วงโชคอนันต์ที่ผ่านการดองเค็ม (จากบริษัทผลไม้แปรรูปวรพรจำกัด จังหวัดฉะเชิงเทรา) ที่มีแหล่งปลูกในจังหวัดเชียงใหม่

ตัวอย่างมะม่วงที่ใช้ในงานวิจัยจะควบคุมปัจจัยต่าง ๆ คือ มะม่วงตัวอย่างจะเป็นมะม่วงในระยะเก็บเกี่ยวของแต่ละพันธุ์ (อายุกำลังแก่ ใกล้สุก) และปลูกในพื้นที่ที่เป็นไร่เดียวกัน

สารที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ เอทธานอล และ น้ำ

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. การเตรียมเมล็ดมะม่วง

แกะเมล็ดมะม่วงออกจากเปลือกเมล็ดและล้างให้สะอาด หั่น และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C ทิ้งให้เย็นก่อนบรรจุถุงพลาสติกในสภาวะสุญญากาศเก็บที่อุณหภูมิห้อง และก่อนนำไปสกัดสารจะต้องบดเมล็ดมะม่วงด้วยเครื่องบดมูลิเน็กซ์ให้ละเอียดก่อน

2. การสกัดสารจากเมล็ดมะม่วง

สกัดตัวอย่างเมล็ดมะม่วงที่เตรียมแล้วจากข้อ 1 ด้วยเอทธานอล ในอัตราส่วน 1:4(เมล็ดมะม่วงบด 70 กรัม: เอทธานอล 280 มล.) และเขย่าด้วยอัตราเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองสารสกัดด้วยผ้ากรอง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้แรงดันสุญญากาศ นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 68 □C ถ่ายสารสกัดลงขวดสีชา แล้วเป่าไล่ตัวทำละลายที่ตกค้างและอากาศออกด้วยแก๊สไนโตรเจน ชั่งน้ำหนัก และเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -10□C ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ส่วนสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำ เตรียมโดยสกัดตัวอย่างด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:3 (เมล็ดมะม่วงบด 70 กรัม: น้ำกลั่น 210 มล.) โดยการตีปั่นเป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนละลายด้วยผ้ากรอง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้แรงดันสุญญากาศ และกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 μm และเก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -4 °C ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากมะม่วง

นำสารสกัดจากข้อ 2 มาศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยตรวจสอบ Minimum inhibition concentration (MIC) และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ต่อไป

3.1 การเตรียมสารสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ละลายสารสกัดเมล็ดมะม่วงด้วยเอทธานอล ด้วยสาร dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยปรับความเข้มข้นเป็น 100 mg/100 ml ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ใช้แบคทีเรียมาตรฐานในการทดสอบ 7 ชนิด ชนิดละ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* 25932, *Staphylococcus aureus* 65388, *Bacillus cereus* 6228, *Bacillus cereus* 11778, *Escherichia coli* 25922, *Escherichia coli* 8739, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Choleraesuis ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* , *Clostridium perfringens* 16637 และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบมีเพียงสายพันธุ์เดียว แบคทีเรียมาตรฐานเหล่านี้ได้จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดโดยใช้วิธีการทดสอบแบบ disc agar diffusion assay (Wannissorn และคณะ 1996) โดยการใช้ tetracycline และ chloramphenical เป็น positive control และ DMSO เป็น negative control

ทดสอบโดย spread แบคทีเรียแต่ละชนิดบนอาหาร nutrient agar ยกเว้น *Cl .perfringen* ให้ spread บนอาหาร tryptose sulphite cycloserine agar (TSC agar) จากนั้นจุ่ม sterile paper disc (ขนาด 0.6 cm) ลงในสารที่ใช้ในการทดสอบ และวางลงบนอาหารที่ spread ด้วยแบคทีเรียมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ส่วน *Cl. perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ที่เกิดขึ้นรอบ paper disc หน่วยเป็นเซนติเมตร ทำการทดลอง 2 ซ้ำ หลังจากนั้นตรวจสอบค่า MIC และ MBC ของสารสกัดต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบด้วยวิธี microtitre broth dilution assay (NCCLS, 1995)

3.2.1 การตรวจสอบค่า MIC

ตรวจสอบค่า MIC (NCCLS, 1995) โดยสร้าง standard curve ระหว่าง optical density (วัดที่ 655 nm ด้วยเครื่อง microtitre plate reader , Benchmark) กับ log ของ จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml.) ของ *Escherichia coli* 8739 ด้วยการ spread plate บนอาหาร nutrient agar บ่มที่ 37□C นาน 48 ชั่วโมง ใช้ standard curve สำหรับการประมาณค่าจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นสำหรับการตรวจสอบค่า MIC และ MBC โดยทดสอบแบคทีเรีย 1 ชนิด 1 สายพันธ์ ต่อ 1 microtitre plate ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เตรียม microtitre plate ดังต่อไปนี้

หลุม ที่ 1-10 ใส่สารสกัดที่เจือจางตามลำดับด้วย broth dilution (nutrient broth) เติม culture ของแบคทีเรียที่มีจำนวนเซลล์ประมาณ $2x10^4$ - 10^5 cell/ml

หลุม ที่ 11 ใส่อาหาร nutrient broth ผสม culture ของแบคทีเรีย

หลุม ที่ 12 ใส่อาหาร nutrient broth อย่างเดียวเป็น blank

สำหรับการทดสอบ *Cl. perfringens* ใช้ thioglycollate broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่ม plate ตัวอย่าง ที่ 37□C นาน 24 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ยกเว้น *Cl. perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจผลการทดสอบ โดยการอ่านค่า optical density ด้วยเครื่อง microtitre plate reader แล้วคำนวนหาค่า MIC50 และ MIC90

3.2.2 การตรวจสอบค่า MBC

เลือกตัวอย่างสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้น น้อยกว่าหรือเท่ากับ MIC 50 มา streak ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะเชื้อแบคทีเรียที่นำมาหาค่า MIC ใน microtitre plate ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นจนถึง plate ที่เป็น MIC นำมาลากบนอาหาร PCA ยกเว้น *Cl. perfringens* จะลากบนอาหาร TSC agar แล้วบ่ม plate ที่ 37 ^{0}C นาน 24 ชั่วโมง ในสภาพมีอากาศ ส่วน *Clostridium perfringens* บ่มที่ 37 ^{0}C นาน 48 ชั่วโมง ในสภาพไม่มีอากาศ ตรวจผลการเจริญของแบคทีเรีย ถ้าพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเริ่มต้นระดับความเข้มข้นใด ที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย ให้สรุปว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชนั้นเป็น ค่า MBC

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงต่อการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดทุกครั้งจะใช้สารปฏิชีวนะ tetracycline เป็น positive control และใช้ DMSO เป็น negative control

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารจากเมล็ดมะม่วง

ผลการสกัดสารจากเมล็ดมะม่วงโดยใช้น้ำ และเอทธานอล ซึ่งเป็นสารละลายมีขั้วเพื่อที่จะสกัดสาร polyphenol (Kabuki, 2000) ที่มีรายงานว่าเป็นสารที่มีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร สารสกัดที่ได้มีสีน้ำตาล โดยมะม่วงแต่ละพันธุ์จะให้ปริมาณสารสกัดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมล็ดมะม่วงเขียวมรกตให้ปริมาณสารที่สกัดได้สูงสุด คือ 18.63 % พันธุ์ฟ้าลั่นและพันธุ์โชคอนันต์รองลงมาโดยมีปริมาณสารที่สกัดได้ 17.48 %และ 13.46 %ตามลำดับ มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดเชียงใหม่ ให้ปริมาณสารที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือสกัดได้ 13.46± 1.25% และ14.20 ± 1.80% ตามลำดับ ส่วนเมล็ดมะม่วงที่ผ่านการดอง

เค็มพันธุ์โชคอนันต์ ก็ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติจากเมล็ดมะม่วงสด คือให้สารสกัดเท่ากับ 13.60± 0.02 %และ 14.20± 1.80 % ตามลำดับ

2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ต่างๆ

สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์ และฟ้าลั่นด้วยน้ำ มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ*Pseudomonas aureginosa* ได้ดี และยังพบว่าสารสกัดของเมล็ดมะม่วงพันธุ์เดียวกันสามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียในสปีชีเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ ได้แตกต่างกัน แบคทีเรียที่ทนต่อสารสกัดของเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำได้ดีที่สุดคือ *Cl. perfringens* 16637 และ *E.coli* 8739 สารสกัดของเมล็ดมะม่วงสายพันธุ์ต่างกัน สามารถต้านการเจริญและฆ่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกัน เช่น สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเขียวมรกต สามารถต้านและฆ่า *S. aureus* 25923 ได้ดีกว่าสารสกัดของเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์และฟ้าลั่น และต้าน *B. cereus* 11778 ได้ดีกว่าสารสกัดเมล็ดของมะม่วงฟ้าลั่น อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงทั้งสามพันธุ์ดังกล่าว มีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าสายพันธุ์แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบได้ไม่แตกต่างกัน ส่วนสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์ และฟ้าลั่น ด้วยเอทธานอล สามารถต้านการเจริญของ *Bacillus cereus* 11778 และ*Pseudomonas aureginosa* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 50 เท่ากับ 390.63 µg/ml แต่ต้านการเจริญของ *S. aureus* 65388 ได้น้อยที่สุดคือมีค่าม MIC 50 เท่ากับ 6250 µg/ml อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงทั้งสามชนิดดังกล่าว มีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าสายพันธุ์แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบได้ไม่แตกต่างกัน สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวมรกต โชคอนันต์และฟ้าลั่นด้วยเอทธานอล มีฤทธิ์ในการต้านหรือฆ่าแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่นำมาทดสอบ ได้ต่ำกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ

3. ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดที่เพาะปลูกในพื้นที่ต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงที่ปลูกจากทั้งสองแหล่ง ด้วยน้ำและเอทธานอล พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากเมล็ดมะม่วงทั้งสองแหล่งมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญและทำลายแบคทีเรียได้ดีกว่าสารที่สกัดด้วยเอทธานอล และสารสกัดเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำและเอทธานอลจากทั้งสองแหล่งปลูกแสดงฤทธิ์ต้าน *Bacillus* ได้ดีที่สุด สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ ด้วยน้ำ มีแนวโน้มในการออกฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบได้สูงกว่าสารสกัดจากมะม่วงโชคอนันต์สดที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี โดยสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* (ทั้งสองสายพันธุ์) และ *B. cereus* (ทั้งสองสายพันธุ์) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เพียง 30 µl/ml แต่เมื่อพิจารณาค่า MBC ของสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลูกในเชียงใหม่จะมีฤทธิ์ในการทำลาย *B.cereus* 11778 *Salmonella* Typhimurium และ *L.*

monocytogenes ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เพียง 125 µl/ml ในขณะที่สารสกัดเมล็ดมะม่วงจากจังหวัดสุพรรณบุรีแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญและทำลาย *B. cereus* 11778 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 30 µl/ml และ MBCเท่ากับ 250 µl/ml แต่แสดงฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ ได้น้อย คือมีค่า MBC อยู่ในช่วง 500- >500 µl/ml

4. **ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดและเมล็ดที่ผ่านการแปรรูปโดยการดอง**

สารสกัดเมล็ดมะม่วงสดและเมล็ดมะม่วงที่ผ่านการดองเค็มด้วยน้ำให้ผลในการต้านกาเจริญและฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ใช้ทดสอบได้ใกล้เคียงกัน กล่าวคือสามารถต้าน *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *B. cereus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *Salmonella* Typhimurium และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 50 และ MIC90 ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาที่ค่า MIC 50 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดด้วยน้ำสามารถต้าน *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *B. cereus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonella Typhimurium* และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 30 µg/ml รองลงมาคือ *E. coli* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonella Choleraesuis* โดยมีค่า MIC50 เท่ากับ 60 µl/ml ส่วนการต้านการเจริญของ *Cl. perfringens* และ *P. aeruginosa* มีค่า MIC50 เท่ากับ 125 µl/ml

ผลการนำสารสกัดเมล็ดมะม่วงมาทดสอบค่า MBC พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดและมะม่วงดองด้วยน้ำ สามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *B. cereus* 11778 ได้ดี โดยมีค่า MBC เพียง 125 µl/ml และทำลายเซลล์ *S. aureus* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) *E. coli* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *Salmonella* Choleraesuis ได้ลดลงโดยมีค่า MBC เท่ากับ 250 µl/ml และสารสกัดทั้งสองชนิดนี้จะมีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *Cl. perfringens* (ทั้ง 2 สายพันธุ์) และ *P. aeruginosa* ได้ต่ำกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยมีค่า MBC สูงกว่า 500 µl/ml ส่วนฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ *Salmonella* . Typhimurium และ *L. monocytogenes* ของสารสกัดทั้งสองพบว่ามีความแตกต่างกัน คือ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสดจะสามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่า มีค่า MBCเท่ากับ 125 µl/ ml ผลงานได้รับการตีพิมพ์ทางวิชาการระดับชาติ 1 บทความ (proceeding) คือ

ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก สุเมธ ตันตระเธียร และ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์* 2551 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง (Mangifera indica Linn.) ในเอกสารประกอบการประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมละความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร 3 หน้า วันที่ 17-18 ธันวาคม 2551 อาคารมหามกฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ

สรุปและเสนอแนะ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยที่ตั้งไว้คือศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงและศึกษาผลของปัจจัยด้าน พันธุ์ แหล่งปลูก กระบวนการแปรรูปเป็นมะม่วงดอง ต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย ดังกล่าว การดำเนินการวิจัยประสบผลสำเร็จตามที่ได้เสนอไว้ โดยผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ดังนี้ สารสกัดเมล็ดมะม่วงที่สกัดด้วยน้ำและเอธานอลมีสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ สารสกัดเมล็ดมะม่วงต่างสาพันธุ์ และปลูกในพื้นที่ต่างกันมีฤทธิ์ในการต้านและทำลายแบคทีเรียแตกต่างกัน ในขณะที่การแปรรูปมะม่วงดองไม่แสดงผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง สารสกัดจากตัวอย่างเมล็ดมะม่วงโดยส่วนใหญ่ที่สกัดด้วยน้ำมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* สูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากตัวอย่างเมล็ดมะม่วงโดยส่วนใหญ่ที่สกัดด้วยเอทธานอลมีแนวโน้มในการแสดงฤทธิ์ในการต้าน *B. cereus* สูงที่สุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปรายงานการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วในปี 2551

กิจกรรม/ขั้นตอน การดำเนินงาน	ผลการดำเนินงาน
1.ศึกษาและค้นคว้า รวบรวมข้อมูลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค	ได้ข้อมูลสำหรับใช้เป็นแนวทางวิจัย และข้อมูลที่ใช้ในการสนับสนุนผลการวิจัยได้ ดังแสดงในรายงานฉบับสมบูรณ์
2. ศึกษาวิธีการสกัดสาร	ประเมินหาภาวะที่เหมาะสมและชนิดของตัวทำละลายที่จะใช้ในการสกัดสารเมล็ดมะม่วง ทำให้ได้ภาวะในการสกัดสารจากเมล็ดมะม่วงด้วยน้ำและเอธานอล
3. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษในอาหาร 7 ชนิด	ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด จากเมล็ดมะม่วง ทำให้ทราบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่าง ๆ ของสารสกัดจากมะม่วง และ ทราบอิทธิพลของพันธุ์มะม่วง พื้นที่ปลูก และผลของการแปรรูปต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของมล็ดมะม่วง
4. สรุปผลและเผยแพร่ผลงานวิจัย	ได้รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์และเผยแพร่ผลงานวิจัย ในรูปแบบโปสเตอร์และการนำเสนอแบบบรรยาย ได้ผลงานตีพิมพ์ใน proceeding

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยเรื่อง(ภาษาไทย): โครงการวิจัยเรื่องพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติและการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร: โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

(ภาษาอังกฤษ): Development of two dimension code based system and its integrated control for food safety and quality assurance : initial model in supplemented food products

บทนำ

การประกันคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารทั้งระบบ มีความสำคัญต่อประเทศอย่างยิ่ง ทั้งนี้เนื่องจากผู้บริโภคให้ความสำคัญกับความปลอดภัยและคุณภาพอาหารสูงขึ้นอย่างมาก หลายประเทศวางมาตรการในการให้แสดงข้อมูลกำกับสินค้ามากขึ้น(Lachance, 2004) ดังนั้นการสร้างระบบประกันบนหลักการ traceability ที่ยอมรับในตลาดสากลมาใช้ดำเนินการจึงเป็นทางออกที่สำคัญ(Lachance and Saba, 2002)

อย่างไรก็ดี การดำเนินการผ่านระบบGAP (Good Agricultural Practice) GMP (Good Manufactural Practice) ควบคุมตั้งแต่ต้นทางถึงปลายทาง การดำเนินการจะทำให้มีข้อมูลเกี่ยวข้องเกิดขึ้นมากมาย นับจากข้อมูลวัตถุดิบต้นทางไปสู่รายละเอียดปลายทาง การบูรณาการเพื่อจัดการข้อมูลสู่ระบบข้อมูลสนับสนุน ที่ครอบคลุมทั้ง กรรมวิธี กระบวนการผลิตและผลลัพธ์ในรูปผลิตภัณฑ์ปลายทาง การเชื่อมโยงข้อมูลเหล่านี้ในรูปแบบที่เรียกและโต้ตอบได้จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือช่วยเพื่อให้เกิดความสะดวกรวดเร็ว(WHO, 2003)

บาร์โค้ดได้รับความนิยมและนำมาใช้ในการจัดการและบริหารบางส่วนของข้อมูลในระบบ แต่ก็มีข้อจำกัด ไม่เป็นที่ยอมรับ และจดการได้เฉพาะ กับข้อมูลขนาดเล็กมาก และที่สำคัญผู้บริโภคไม่สามารถทำความเข้าใจ หรือได้ประโยชน์อะไรจากบาร์โค้ดแบบเดิม (Lachance and Saba, 2002 และ Lockley and Bardsley, 2000).

รหัส 2 มิติที่เรียกว่า QR codeได้รับความนิยม รหัสดังกล่าวสามารถจัดการข้อมูลได้มากถึง 4296 ตัวอักษร อ่านและประมวลข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว ไม่ติดเงื่อนไขในรูปสิทธิบัตรในการใช้งานและระบบรหัสนี้ได้รับการรับรองมาตรฐาน AIM JEIDA และ ISO 18004 แล้วและที่สำคัญสามารถอ่านรหัสได้จากโทรศัพท์มือถือ ซึ่งจะเป็นการเปิดมิติของข้อมูลไปสู่ผู้บริโภคปลายทางให้เข้ามามีส่วนร่วมในการรับรู้ข้อมูลและสื่อสารกับระบบเพื่อเป็นหลักประกันในคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารได้ (www.qrcode.com)

รัฐบาลญี่ปุ่นได้นำระบบQR codeมาใช้ เพื่อประกันการบริโภควัวบ้า (BSE) จะไม่ปนในผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคเลือกซื้อ นอกจากนี้ยังใช้กำกับวัตถุดิบทางการเกษตรเพื่อเป็นข้อมูลแสดงการใช้ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง และเคมีเกษตรอื่น ในระบบผลิตผักและผลไม้โดยติดไปกับตัวสินค้าในรูปรหัสและระบบกำลังขยายตัวครอบคลุมอุตสาหกรรมอาหารทั้งหมด

ประเทศไทยยังขาดระบบรองรับที่สามารถเชื่อมโยงข้อมูลตั้งแต่ต้นทางในรูปการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบในระหว่างการผลิตและปลายทางในรูปผลิตภัณฑ์ และขาดช่องทางในการใช้ข้อมูลเหล่านั้นเป็นสื่อในการให้หลักประกันด้านคุณภาพในตัวสินค้าที่ผู้บริโภคสามารถตรวจสอบได้ผ่านระบบสารสนเทศ

โครงการวิจัยนำร่องนี้มีขึ้นเพื่อศึกษาระบบรหัส 2 มิติ และนำระบบรหัส 2 มิติดังกล่าวมาพัฒนาเป็นระบบควบคุมดูแล และแสดงผลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารที่เชื่อมโยงไปสู่การใช้งานจริงโดยเริ่มต้นจากอาหารเสริมสุขภาพที่มีระเบียบควบคุมชัดเจน มีผู้เกี่ยวข้องในระบบไม่มากเกินไปนัก และกลุ่มผู้บริโภคในสินค้าอาหารกลุ่มนี้เป็นผู้มีการศึกษา เพื่อสร้างเป็นระบบทดลองและประเมินประสิทธิภาพโดยรวมของการนำระบบมาใช้ ก่อนปรับและขยายผลไปสู่อาหารในกลุ่มอื่น และมีขอบเขตการดำเนินการครอบคลุม การสำรวจรูปแบบการดำเนินการ การกำหนดรายละเอียดของรายการข้อมูลที่จำเป็น การสร้างฐานข้อมูล รูปแบบในการพัฒนาระบบ จัดทำระบบคอมพิวเตอร์ให้สามารถรับระเบียนข้อมูล เอกสาร คำรับรอง ผลตรวจ และรายละเอียดพื้นฐานของอาหารเสริมสุขภาพ และการพัฒนาระบบรหัส 2 มิติกำกับฐานข้อมูลเพื่อให้การเดินข้อมูลจากฐานที่มีความซ้ำซ้อนสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เน้นข้อมูล ฐานข้อมูลภายในสำหรับเจ้าพนักงานและฐานข้อมูลภายนอกเพื่อการประชาสัมพันธ์ข้อมูลความปลอดภัยของสินค้าเน้นการทำงานด้วยระบบ QR

โครงการวิจัยนำร่องนี้มีขึ้นเพื่อศึกษาระบบรหัส 2 มิติ และนำระบบรหัส 2 มิติดังกล่าวมาพัฒนาเป็นระบบควบคุมดูแล และแสดงผลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารที่เชื่อมโยงไปสู่การใช้งานจริงโดยเริ่มต้นจากอาหารเสริมสุขภาพที่มีระเบียบควบคุมชัดเจน มีผู้เกี่ยวข้องในระบบไม่มากเกินไปนัก และกลุ่มผู้บริโภคในสินค้าอาหารกลุ่มนี้เป็นผู้มีการศึกษา เพื่อสร้างเป็นระบบทดลองและประเมินประสิทธิภาพโดยรวมของการนำระบบมาใช้ ก่อนปรับและขยายผลไปสู่อาหารในกลุ่มอื่น และมีขอบเขตการดำเนินการครอบคลุม การสำรวจรูปแบบการดำเนินการ การกำหนดรายละเอียดของรายการข้อมูลที่จำเป็น การสร้างฐานข้อมูล รูปแบบในการพัฒนาระบบ จัดทำระบบคอมพิวเตอร์ให้สามารถรับระเบียนข้อมูล เอกสาร คำรับรอง ผลตรวจ และรายละเอียดพื้นฐานของอาหารเสริมสุขภาพ และการพัฒนาระบบรหัส 2 มิติกำกับฐานข้อมูลเพื่อให้การเดินข้อมูลจาก

ฐานที่มีความซ้ำซ้อนสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เน้นข้อมูล ฐานข้อมูลภายใน สำหรับเจ้าพนักงานและฐานข้อมูลภายนอกเพื่อการประชาสัมพันธ์ข้อมูลความปลอดภัย ของสินค้าเน้นการทำงานด้วยระบบ QR

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยในโครงการสำหรับปีงบประมาณนี้ ต่อยอดจากการ การศึกษาตัวระบบ รูปแบบฐานข้อมูลที่พัฒนาขึ้นในต่างประเทศจากปีงบประมาณที่แล้ว เน้นการดำเนินการ เชิงเปรียบเทียบเพื่อใช้เป็นแบบอย่างในการดึงเฉพาะรูปแบบที่ดีมาใช้ หรือหลีกเลี่ยงข้อเสีย ต่างๆที่พบ ซึ่งจะยังประโยชน์ต่อการวางรูปแบบและแนวทางการดำเนินการที่เหมาะสมกับ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต้นแบบ วางแนวทางและออกแบบ สำรวจรายการระเบียนข้อมูลที่มี ความจำเป็น เช่น เอกสารกำกับ วัตถุดิบ ใบรับรอง ข้อมูลแหล่งกำเนิดสินค้า และข้อควร ระวังเป็นรายผลิตภัณฑ์ และการปรับรูปแบบเพื่อนำระบบ QR code มาใช้พัฒนา รายละเอียดการดำเนินงานเป็นดังนี้

1) การสร้างฐานข้อมูลและเชื่อมโยงข้อมูลในระบบ 2 มิติ รวบรวมข้อมูลจากกองควบคุม อาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข ทำทะเบียนข้อมูล โดยเก็บข้อมูลในรูป excel file ทั้งหมด 7,314 รายการ ปรับฐานข้อมูลโดยการเปลี่ยน file ให้อยู่ในรูป Php ทีละรายการ โดยใช้โปรแกรม Php Myadmin™ จากนั้นกำหนด domain address ของแต่ละรายการข้อมูลทั้งหมด 7,314 ข้อมูล แปลงข้อมูลทีละรายการ ให้อยู่ในรูป รหัส QR ผ่าน QR generator (www. com) และนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้าง ให้อยู่ในรูป web base โดยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3 สร้างรูปแบบ interactive ผ่านระบบ web จากนั้นเชื่อมโยงข้อมูลให้สามารถสืบค้นได้บนเวปไซต์ (online)
2) สร้าง QR code สำหรับสินค้าและทดสอบการอ่านค่าของข้อมูลผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ สร้าง QR code โดยการพิมพ์สัญลักษณ์และทดสอบการอ่านค่าของ QR code ผ่านทาง โทรศัพท์มือถือ
3) ทดสอบการใช้งานผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ณ จุดจำหน่ายสินค้าโดยตรง โดยการเชื่อม โทรศัพท์กับตัวรหัสผ่านโปรแกรม Kaywa.reader

ผลการวิจัย

ได้ดำเนินการรวบรวมข้อมูลและสร้างฐานข้อมูลแบบอินเทอร์แอกทีฟขนาด 7,314 รายการ ประกอบไปด้วย เลขสารระบบ เลขใบสำคัญ ชื่อผลิตภัณฑ์ ไทยและอังกฤษ สถานะ ประเทศผู้ผลิต ใบอนุญาต ผู้ผลิต ผู้รับอนุญาต ที่อยู่และใบสำคัญ ข้อมูลความปลอดภัยและขั้นตอนที่ผู้บริโภคควรรู้ โดยแปลงข้อมูลจากที่เริ่มต้นเก็บเรค คอร์ดในรูป excel file ให้อยู่ในรูป Access file และ PHP ด้วยโปรแกรม PHP Myadmin™

โครงสร้างโปรแกรมฐานข้อมูลอาหารเสริมสุขภาพ เชื่อมโยงข้อมูลที่เป็น excel file ให้อยู่ในรูป PHP document โดยจัดเก็บไว้ใน server computer ออกแบบการทำงานของโปรแกรมในรูป web brower ทั้งหมดเชื่อมโยงข้อมูลในรูป net interactive ในขั้นต้นกำหนด domain address ของแต่ละฐานข้อมูลให้มี QR เฉพาะของแต่ละรายการเอง และถ่ายลงไปยังฐานข้อมูลรวม

การดำเนินการเพื่อรองรับการทำงานได้ดำเนินการเปิดเว็ปไซต์เป็นของจุฬา มี domain name ว่า http://www.qr.chula.com ทำให้ได้ตัวระบบฐานข้อมูลที่มีรูปแบบการทำงานที่เป็น interactive ในรูป QR code

ผลการทดสอบการอ่านและเชื่อมโยงQR code กับข้อมูลอาหารเสริมสุขภาพ ช่วยให้เครื่องโทรศัพท์เคลื่อนที่สามารถอ่านรหัส QR ได้ โดยเชื่อมโยงอินเตอร์เน็ตกับเวปไซต์ www.kaywa.com และข้อมูลในรายการที่เกี่ยวข้องจาก http://www.qr.chula.com โดยโปรแกรมจะช่วยให้โทรศัพท์เคลื่อนที่สามารถจดจำตรวจสอบตำแหน่งและอ่านรหัส QR และนำพาเข้าสู่ Mode ที่เชื่อมโยงโดยตรงกับโปรแกรม web browser เช่น MS explorer จนนำปสู่ข้อมูลสินค้าและข้อมูลความปลอดภัย

ได้ดำเนินการถ่ายทอดความรู้การจัดทำระบบ การดำเนินการเพื่อใช้งานร่วมกับเจ้าหน้าที่ของ อย.ในรูปแบบการอบรมกลุ่มย่อยในช่วง เดือน สิงหาคม-กันยายน 2551

ได้การตรวจสอบการใช้งานร่วมกับเจ้าหน้าที่ อย. ดำเนินการทดสอบผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ณ จุดจำหน่ายสินค้าโดยร่วมมือกับร้านสหกรณ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการทดสอบการใช้งาน ผลการทดลองการประเมินการใช้งานพบว่า การดำเนินการติดป้าย อธิบายการใช้งาน การแสดงรหัส QR code กับรหัสสินค้า และทดสอบการใช้งานจริงไม่มีความซับซ้อน อย่างไรก็ดีความจำเป็นในการปรับฐานข้อมูลสินค้าร่วมกับภาคเอกชนเพิ่มเติม เนื่องจากยังมีรายการสินค้าที่ไม่มีข้อมูลจากทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอยู่

การเพิ่มรายการข้อมูลให้ครบครันและมีความทันสมัยตั้งแต่ต้นทาง จะช่วยให้การประยุกต์รหัส QR 2 มิติมาใช้งานทำได้ง่ายขึ้น ในทางปฏิบัติการขอความร่วมมือกับ

ผู้ประกอบการอาจทำได้ยาก นอกจากนี้ยังมีความเสี่ยงในการรับรองโดยหน่วยงานรัฐเอง เนื่องจากสามารถนำไปอ้างอิงโฆษณาชวนเชื่อได้ หรือแอบอ้าง อย่างไรก็ดีหากแก้ปัญหาดังกล่าวได้ก็จะช่วยให้การใช้งานมีประสิทธิภาพ

จากตัวสินค้า สามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่จึงตรงไปที่รหัส QR ได้ทันที และขนาดของรหัส QR ที่แสดงบนชิ้นควรมีขนาดใหญ่กว่าปกติ เพื่อสะดวกต่อการใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่จ่อภาพจากระยะห่างได้ การตรวจสอบในเบื้องต้นพบว่าขนาดของ QR code ควรมีมากกว่า 5 ×5 ซม.

ระบบการแสดงข้อมูลโดยการใช้รหัส QR นี้ช่วยให้ผู้บริโภคสามารถเข้าถึงข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจได้ง่ายขึ้น เพิ่มช่องทางในการสื่อสารข้อมูลที่เป็นกลางในรูปแบบข้อมูลวิชาการ หรือการเพิ่มเติมข้อมูลต่าง ๆ ทำให้สามารถตรวจสอบ ควบคุม กับกับดูแลผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพให้เกิดความปลอดภัย ไม่อ้างสรรพคุณเกินควร หรือแอบอ้างโดยไม่ถูกต้องได้

ทั้งหมดของการดำเนินการเป็นไปตามแผนการที่วางไว้ทุกประการ ผลของการดำเนินการยังช่วยเพิ่มทางเลือก.ให้เกิดการควบคุม กำกับดูแลอาหารเสริมสุขภาพและยังเป็นแบบอย่างที่ดีสำหรับอ้างอิงหรือนำไปปรับใช้กับอาหารกลุ่มอื่น เช่นอาหารในกลุ่มขนมเด็กซึ่งก่อให้เกิดโรคอ้วนและโรคขาดสารอาหารในเด็ก ซึ่งเป็นปัญหาทางสังคมอย่างมากและจะได้วางแผนเพื่อการดำเนินการนี้ต่อไป

สรุปและข้อเสนอแนะ

ในปีงบประมาณ 2551 โครงการได้ดำเนินการรวบรวมข้อมูลและสร้างฐานข้อมูลแบบอินเทอร์แอกทีฟขนาด 7,314 รายการบนข้อมูลที่ทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข และได้พัฒนาระบบ QR code รองรับระบบ ทำให้สามารถดำเนินการตรวจสอบผ่านเครือข่ายโดยผู้บริโภคได้โดยตรง เป็นไปตามแผน

การตรวจสอบความพร้อมในการดำเนินการทั้งในส่วน ฐานข้อมูล การเชื่อมโยงกับโทรศัพท์เคลื่อนที่ การทดสอบการใช้งานในสถานที่จำหน่ายจริง ณ. ร้าน สหกรณ์ฯจุฬา ชี้ให้เห็นความพร้อมของตัวระบบ ขณะเดียวกันชี้ให้เห็นจุดอ่อนของข้อมูลที่ได้จาก อ.ย. ที่ไม่ครอบคลุมทุกรายการสินค้า ทำให้เห็นข้อแก้ไขที่จำเป็นต้องเตรียมการในการดำเนินการก่อนการเปิดตัวและทดสอบระบบจริงตามแผนในปีงบประมาณ 2552

สำหรับการดำเนินการที่คาดว่าจะทำได้แก่การทดสอบใช้งานนั้นปัจจุบันได้ประสานงานกับห้าง TESCO LOTUS แล้วซึ่งจะได้รายงานผลในปีถัดไป

เอกสารแนบท้ายสัญญา ๔

สัญญาเลขที่ GRB_๒๖_๕๑_๒๓_0๒

โครงการวิจัยเรื่อง แผนงานวิจัยนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหาร สู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

การรายงานความก้าวหน้าผลการดำเนินงาน(ครั้งที่)

โครงการย่อย การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร: โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่.....ถึงวันที่.....

ชื่อหัวหน้าโครงการ.....ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เดือนใจ ไก้สกุล.....

หน่วยงาน: .....ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์.....

๑. การดำเนินงาน: [X] ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ และ

[X] ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้คือ

.....เพิ่มเติมระบบให้สามารถตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล อนุญาตของอ.ย

.....

.....

.....

๒. สรุปผลการดำเนินงาน

ได้พัฒนาฐานข้อมูล QR code ของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ประกอบไปด้วย record ที่สำคัญสำหรับอาหารเสริมสุขภาพ7314 รายการ ตัวฐานข้อมูลที่สามารถดำเนินการสืบค้นแบบอิเทอร์แอคทีฟผ่าน รหัส 2 มิติ QR code โดยการดำเนินการทั้งหมดเกี่ยวข้องกับการจัดตั้งฐานข้อมูลทั้งหมดขึ้น ในรูป php file และสร้างระบบการเชื่อมโยงในรูปแบบเครือข่ายผ่าน Adobe Dream Weaver การแสดงผลอาศัยการกำหนด domain address ทีละ record แล้วแปลงให้อยู่ในรูป QR code เพื่อให้สามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่เข้ามา interactive กับฐานข้อมูลผ่าน QR code ได้ ฐานข้อมูลแบบอิเทอร์แอคทีฟที่สร้างขึ้นนี้ประกอบด้วยข้อมูล 7314 รายการครอบคลุมอาหารเสริมสุขภาพที่ทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้ดำเนินการไว้ โดยสามารถสืบค้นทุกรายการผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่โดยอาศัยการปฏิบัติการอย่างง่าย และโปรแกรม free ware ของ บริษัท Keywa

การทดสอบการใช้งานฐานข้อมูลเบื้องต้น ในสถานประกอบการผ่านการใช้งานบนเครือข่ายดำเนินการที่สหกรณ์จุฬาฯ ทำให้ทราบจุดแข็งที่สามารถ access ตัว free ware โปรแกรม(QR generator, Keywa reader) และใช้งานกับฐานข้อมูลได้ง่าย นอกจากนี้การอ่าน QR สามารถทำได้ด้วย free ware ได้โดยง่ายเช่นกัน ดังนั้นการแปลและอ่านไม่ใช่อุปสรรคที่สำคัญในการดำเนินการ โดยเฉพาะการนำผลไปต่อยอดกับอาหารในกลุ่มอื่น อย่างไรก็ดีผลการทดสอบชี้ให้เห็นจุดอ่อนของฐานข้อมูลที่ตัวข้อมูลส่งมาจาก อ.ย. ที่ไม่ครอบคลุมทุกผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพที่มีในท้องตลาด การดำเนินการตามแผนงานจะสัมฤทธิ์ผลมากขึ้น หากได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการให้ข้อมูลในส่วนที่ขาดนี้ เพื่อให้สามารถแนะนำให้ผู้บริโภคเข้าใจและมั่นใจได้ ณ จุดหมายโดยตรง

๓. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

.....ทดสอบระบบและการใช้งานกับผลิตภัณฑ์จริง เปิดตัว ประชาสัมพันธ์และทดสอบโมเดลของระบบที่สร้างขึ้นโดย ประเมินจากการใช้งานของผู้บริโภค ณ. จุดจำหน่ายในห้าง Tesco Lotus.....

.....

.....

.....

๔. อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

.....การล่าช้าของงบประมาณ ของหน่วยเหนือ.....

.....ความบกพร่องของรายการข้อมูลของทาง อ.ย. ที่ยังไม่ครอบคลุมทุกรายการสินค้าหรือการหลอกลวงของผู้ผลิตสินค้าทำให้บางสินค้าไม่มีทะเบียนข้อมูล การเพิ่มเติมรายการข้อมูลเพื่อรองรับความต้องการข้อมูลความปลอดภัยโดยผู้บริโภค ต้องประสานกับ อย. และผู้ประกอบการ ที่เข้าร่วมโครงการ. ทำให้ขับวอนและเสียเวลา.....

.....

.....

.....

(นางเตือนใจ ไก้สกุล)

...../...../.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิจกรรมหลัก	การดำเนินการในปีงบประมาณ 2550		การดำเนินการในปีงบประมาณ 2551	
	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง
1. ออกแบบฐานข้อมูลและสร้างระบบ	-การศึกษาตัวระบบ และรูปแบบการดำเนินการที่พัฒนาขึ้นในต่างประเทศ วางแนวทางและออกแบบ รายการระเบียนข้อมูล	ได้ศึกษาบทบาทการทำงานของQR code และแนวทางการใช้ประโยชน์ โดยดูจากต้นแบบระบบที่ใช้ในประเทศญี่ปุ่น ตัวระบบจะประกอบไปด้วยการรวบรวม record ที่สำคัญ การกำหนดระเบียนข้อมูลในแต่ละ record การจัดทำฐานข้อมูลเบื้องต้น และการกำหนดและเชื่อมโยงฐานข้อมูลนั้นและกำหนดเฉพาะข้อมูลที่ต้องการให้อยู่บนเครือข่าย การใช้ QR code Perl CGI& PHP script หรือ QR code generator (Keywa) ในการสร้างรหัส การใช้ Glass หรือ Keywa Reader ในการอ่านรหัส	1. ทดสอบโมเดล สำหรับผู้บริโภค	สร้างระบบปฏิบัติการสมบูรณ์ ที่ประกอบด้วยฐานข้อมูลที่สามารถเชื่อมโยงในระบบ 2 มิติ จากข้อมูลสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยทำทะเบียนข้อมูลโดยเก็บข้อมูลในรูป Php ทั้งหมด 7,314 รายการ กำหนด domain address ของแต่ละรายการ แปลงข้อมูลให้อยู่ในรูป QR ผ่าน QR generator และนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างให้อยู่ในรูป web base โดยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3 สร้างรูปแบบ interactive ผ่านระบบ web จากนั้นเชื่อมโยงข้อมูลให้ผู้บริโภคสามารถสืบค้นได้บนเวปไซต์ http://www.qr.chula.com (online) โดยใช้รหัส QR ผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่และทดสอบการใช้งานระบบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. เชื่อมโยงระบบและผลิตภัณฑ์	เชื่อมโยงระบบและการทะเบียนข้อมูลผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างเป็นฐานข้อมูล	วางรูปแบบการเชื่อมโยง ที่คาดว่าจะสนองตอบต่อการดำเนินงานของทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ผู้บริโภคภาคเอกชนและโครงการเพื่อการสร้างระบบที่เป็นโมเดล	2.ถ่ายทอดสู่หน่วยปฏิบัติและผู้ประกอบการและประชาสัมพันธ์ระบบเพื่อเตรียมการใช้งานสู่ผู้บริโภค(ทดสอบก่อนการใช้งานจริง)	การตรวจสอบการใช้งานร่วมกับเจ้าหน้าที่ อย. โดยดำเนินการผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ณ จุดจำหน่ายสินค้าโดยขอความร่วมมือกับร้านสหกรณ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการทดสอบการใช้งาน สรุปผลการทดลองการประเมินการใช้งานเพื่อแก้ไขก่อนเผยแพร่ใช้งานตามแผนในปีถัดไป
3.ทดสอบโมเดล(ฝ่ายปฏิบัติของราชการ)	ทดสอบโมเดลต้นแบบ โดยการตรวจการสอบผ่านระบบปกติ	ถ่ายโอนข้อมูลภายใน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาด้วยระบบฐานข้อมูลปกติ จัดการและแบ่งข้อมูลเฉพาะส่วนคุณภาพและความปลอดภัย ทดสอบการ interface ข้อมูลร่วมกับหน้าที่จะแสดงด้วยระบบ QR-code โดยเชื่อมโยงประสานงานระหว่างเอกชนภาคธุรกิจที่เกี่ยวข้อง		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ GRB_๒๖_๕๑_๒๓_0๒

โครงการวิจัยเรื่อง แผนงานวิจัยนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหาร
สู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

การรายงานความก้าวหน้าผลการดำเนินงาน(ครั้งที่)

โครงการย่อยเรื่อง โครงการวิจัยเรื่องระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่.....ถึงวันที่.....

ชื่อหัวหน้าโครงการ.....นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์.....

หน่วยงาน: .....ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์.....

๑. การดำเนินงาน: [X] ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ และ
[ ] ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้คือ

.....

.....

.....

๒. สรุปผลการดำเนินงาน

ได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่าง โดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว และรองรับการดำเนินการบนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ ISO17025 การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล ทั้งการตรวจส่วนที่เป็น 35S โปรโมเตอร์ สำหรับการตรวจคัดกรอง (LMBG L 25.03.01 1999) (LMBG L 24.00-1 1997) (LMBG L 23.01.22 1998) สำหรับข้าวโพดและพืช GMOs บางชนิดใช้วิธีเฉพาะที่พัฒนาขึ้น (Matsuoka et al., 2001, Matsuoka, et al. , 2000) ผลการตรวจสอบยืนยันจะเก็บเข้าสู่ฐานข้อมูลเพื่อการดึงมาใช้อย่างเป็นระบบและเชื่อมโยงกับเครือข่าย internet

ระบบการตรวจสอบตัวอย่างนี้ประกอบด้วยรายงานเอกสารที่เกี่ยวข้องในการรองรับการทำงานของการวิเคราะห์ในระบบการตรวจ ซึ่งมีแบบฟอร์มและรูปแบบการทำงานสอดคล้องกับหลักการ และการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์เพื่อออกผลการตรวจ แบบตรวจสอบสภาพของตัวอย่าง เอกสารรับตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ work sheet สำหรับการรับตัวอย่าง เอกสาร calibration เครื่องมือ เอกสารvalidation methods SOPs ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ เอกสารการปฏิบัติงานสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง Work sheet ประกอบกิจกรรมสกัดดีเอ็นเอ เอกสารกำกับดีเอ็นเอ เอกสารกำกับ reference materials เอกสารกำกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง work sheet ประกอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เอกสารกำกับผลการวิเคราะห์ Work sheetประกอบการวิเคราะห์ผล ระเบียนข้อมูลผลและการเชื่อมโยงข้อมูลไปสู่ฐานข้อมูล การออกใบรับรอง การบันทึกข้อมูลส่งระบบ online

ระบบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ รูปแบบการทำงานรวมและการให้บริการตรวจวิเคราะห์และรับรองภาวะการปลอด GMOs รูปแบบการสุ่มตัวอย่างและแบบเอกสารที่เกี่ยวข้องในการตรวจรับรอง

ได้พัฒนารูปแบบการตรวจวิเคราะห์ อ้างอิงการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมตามมาตรฐานรัฐบาลสวิสเซอร์แลนด์ และยุโรป วิธีการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมของรัฐบาลญี่ปุ่น และวิธีวิเคราะห์ข้าวดัดแปรพันธุกรรมของ EU ซึ่งประกอบไปด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอ วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการตรวจวิเคราะห์ผล โดยตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องโดยเทคนิคเจลอิเล็คโตรโฟเรซิส (JAS handbook, 2004,, LMBG documents)

ได้กำหนดและจัดทำ SOPs พร้อมทั้ง validation ในวิธีการตรวจสอบรองรับรายการตรวจ screening ทั้ง 3 รายการดังกล่าวข้างต้น โดย 2 รายการอ้างอิง Standard official methods LMBGL 23.01.22 LMBGL24.01-1 LMBGL25.03.01 LMBGL25.03.01 และEU JRC

ได้จัดทำฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์ แสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com ซึ่งเป็น domain register เพื่อการชี้โดยเฉพาะ โดยจัดทำฐานข้อมูลผ่านโปรแกรม Php My Admin ™ และออกแบบหน้าแสดงด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver ™

ได้เตรียมการให้บริการในการตรวจวิเคราะห์ เริ่มจากการซักซ้อมความเข้าใจในทีมงานในกระบวนการเก็บตัวอย่าง การวิเคราะห์ การบันทึกผลตามแบบ การวินิจฉัยผล การดำเนินการรับรองผลตาม ISO17025 การเชื่อมโยงข้อมูลเข้าสู่ฐานข้อมูลและการออกใบรับรองผล

ได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วย บริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก่อินทรีย์ และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs

ได้ทดสอบประเมินผลการใช้งานจริง

การทดสอบในเบื้องต้นจากระบบการผลิตลูกกุ้งส่งออกเพื่อรับรองสถานะระบบการผลิตปลอดวัตถุดิบอาหาร GMOs ดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ GMOs online ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและ ข้อมูลการวิเคราะห์ผล

ได้ออกแบบ interface ของข้อมูล เน้นการใช้ lot number หรือ product code เป็นสื่อในการตรวจสอบสถานะของตัวอย่างหรือของผลิตภัณฑ์ ผ่านฐานข้อมูลในรูปแบบ interface ผ่านเว็บเบราส์เซอร์ ทั้งหมดดำเนินการในนามจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและดูแลโดยโครงการ

การดำเนินการกับระบบนี้ทำให้สามารถนำมาใช้รับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออก เพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อส่งออกของฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการทำให้สามารถแสดงผลการรับรองออนไลน์ได้

โครงการยังได้ดำเนินการในส่วนการรับรองข้าวส่งออกของบริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว และกำลังดำเนินการร่วมกับบริษัทสหฟาร์มในการรับรองการผลิตไก่อินทรีย์(ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยง) ซึ่งผลการดำเนินการจะตรวจสอบได้บนเว็ปตามเวลาจริง (real time) ซึ่งจะช่วยให้การรับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออก เพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมาก

๓. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

.....ปรับรูปแบบการแสดงผลให้แสดงการรับรองร่วมกับใบแสดงผลการวิเคราะห์.....

.....

.....

.....

.....

๔. อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

.....การล่าช้าของงบประมาณกระทบต่อการวิเคราะห์ตัวอย่าง จึงทำให้ภาพรวมโครงการล่าช้ากว่าที่ระบุในแผนงาน

.....

(นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์)

...../...../.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ GRB_๒๖_๕๑_๒๓_0๒

โครงการวิจัยเรื่อง แผนงานวิจัยนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหาร
สู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

การรายงานความก้าวหน้าผลการดำเนินงาน(ครั้งที่)

โครงการย่อยเรื่อง โครงการวิจัยเรื่องระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่.....ถึงวันที่.....

ชื่อหัวหน้าโครงการ.....นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์.....

หน่ายงาน: .....ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์.....

๑. การดำเนินงาน: [X] ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ และ
[ ] ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้คือ

.....

.....

.....

๒. สรุปผลการดำเนินงาน

ได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่าง โดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว และรองรับการดำเนินการบนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ ISO17025 การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล ทั้งการตรวจส่วนที่เป็น 35S โปรโมเตอร์ สำหรับการตรวจคัดกรอง (LMBG L 25.03.01 1999) (LMBG L 24.00-1 1997) (LMBG L 23.01.22 1998) สำหรับข้าวโพดและพืช GMOs บางชนิดใช้วิธีเฉพาะที่พัฒนาขึ้น (Matsuoka et al., 2001, Matsuoka, et al. , 2000) ผลการตรวจสอบยืนยันจะเก็บเข้าสู่ฐานข้อมูลเพื่อการดึงมาใช้อย่างเป็นระบบและเชื่อมโยงกับเครือข่าย internet

ระบบการตรวจสอบตัวอย่างนี้ประกอบด้วยรายงานเอกสารที่เกี่ยวข้องในการรองรับการทำงานของการวิเคราะห์ในระบบการตรวจ ซึ่งมีแบบฟอร์มและรูปแบบการทำงานสอดคล้องกับหลักการ และการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์เพื่อออกผลการตรวจ แบบตรวจสอบสภาพของตัวอย่าง เอกสารรับตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ work sheet สำหรับการรับตัวอย่าง เอกสาร calibration เครื่องมือ เอกสารvalidation methods SOPs ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ เอกสารการปฏิบัติงานสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง Work sheet ประกอบกิจกรรมสกัดดีเอ็นเอ เอกสารกำกับดีเอ็นเอ เอกสารกำกับ reference materials เอกสารกำกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง work sheet ประกอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เอกสารกำกับผลการวิเคราะห์ Work sheetประกอบการวิเคราะห์ผล ระเบียนข้อมูลผลและการเชื่อมโยงข้อมูลไปสู่ฐานข้อมูล การออกใบรับรอง การบันทึกข้อมูลส่งระบบ online

ระบบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ รูปแบบการทำงานรวมและการให้บริการตรวจวิเคราะห์และรับรองภาวะการปลอด GMOs รูปแบบการสุ่มตัวอย่างและแบบเอกสารที่เกี่ยวข้องในการตรวจรับรอง

ได้พัฒนารูปแบบการตรวจวิเคราะห์ อ้างอิงการตรวจวิเคราะห์ถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมตามมาตรฐานรัฐบาลสวิสเซอร์แลนด์ และยุโรป วิธีการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมของรัฐบาลญี่ปุ่น และวิธีวิเคราะห์ข้าวดัดแปรพันธุกรรมของ EU ซึ่งประกอบไปด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอ วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการตรวจวิเคราะห์ผล โดยตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องโดยเทคนิคเจลอิเล็คโตรโฟเรซิส (JAS handbook, 2004,, LMBG documents)

ได้กำหนดและจัดทำ SOPs พร้อมทั้ง validation **ในวิธีการตรวจสอบรองรับรายการตรวจ** screening **ทั้ง 3 รายการดังกล่าวข้างต้น** โดย 2 รายการอ้างอิง Standard official methods LMBGL 23.01.22 LMBGL24.01-1 LMBGL25.03.01 LMBGL25.03.01 และEU JRC

ได้จัดทำฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์ แสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com ซึ่งเป็น domain register **เพื่อการชี้โดยเฉพาะ** โดยจัดทำฐานข้อมูลผ่านโปรแกรม Php My Admin ™และออกแบบหน้าแสดงด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver ™

ได้เตรียมการให้บริการในการตรวจวิเคราะห์ เริ่มจากการซักซ้อมความเข้าใจในทีมงานในกระบวนการเก็บตัวอย่าง การวิเคราะห์ การบันทึกผลตามแบบ การวินิจฉัยผล การดำเนินการรับรองผลตาม ISO17025 การเชื่อมโยงข้อมูลเข้าสู่ฐานข้อมูลและการออกใบรับรองผล

ได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วย บริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก่อินทรีย์ และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs

ได้ทดสอบประเมินผลการใช้งานจริง

การทดสอบในเบื้องต้นจากระบบการผลิตลูกกุ้งส่งออกเพื่อรับรองสถานะระบบการผลิตปลอดวัตถุดิบอาหาร GMOs ดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ GMOs online ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและ ข้อมูลการวิเคราะห์ผล

ได้ออกแบบ interface ของข้อมูล เน้นการใช้ lot number หรือ product code เป็นสื่อในการตรวจสอบสถานะของตัวอย่างหรือของผลิตภัณฑ์ ผ่านฐานข้อมูลในรูปแบบ interface ผ่านเว็บเบราส์เซอร์ ทั้งหมดดำเนินการในนามจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและดูแลโดยโครงการ

การดำเนินการกับระบบนี้ทำให้สามารถนำมาใช้รับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออก เพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อส่งออกของฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการทำให้สามารถแสดงผลการรับรองออนไลน์ได้

โครงการยังได้ดำเนินการในส่วนการรับรองข้าวส่งออกของบริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว และกำลังดำเนินการร่วมกับบริษัทสหฟาร์มในการรับรองการผลิตไก่อินทรีย์(ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยง) ซึ่งผลการดำเนินการจะตรวจสอบได้บนเว็ปตามเวลาจริง (real time) ซึ่งจะช่วยให้การรับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออก เพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมาก

๓. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

.....ปรับรูปแบบการแสดงผลให้แสดงการรับรองร่วมกับใบแสดงผลการวิเคราะห์.....

.....

.....

.....

.....

๔. อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

.....การล่าช้าของงบประมาณกระทบต่อการวิเคราะห์ตัวอย่าง จึงทำให้ภาพรวมโครงการล่าช้ากว่าที่ระบุในแผนงาน

.....

(นายปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์)

...../...../.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยเรื่อง(ภาษาไทย): โครงการวิจัยเรื่องระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

(ภาษาอังกฤษ): Online system for test control and monitoring of geneticallymodified foods

บทนำ

ระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการแสดงฉลากและควบคุมอาหารดัดแปรพันธุกรรมของประเทศในเครือสหภาพยุโรป Regulation 1829 และ 1830/2003(European Parliamant and the Council of European Union, 2003)มีสาระครอบคลุมการทดสอบระดับการปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมไม่เกิน 0.9% และบังคับให้มีระบบข้อมูลที่สามารถสืบทวนกลับได้ (traceability) นอกจากจะทำให้อาหาร หรือวัตถุดิบอาหารที่เข้าสู่ประเทศในเครือสหภาพยุโรปทั้งหมดต้องผ่านการตรวจสอบอย่างเคร่งครัด แล้วยังทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญในการตรวจสอบข้อมูลภาวะปะปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมมากขึ้น (Lockley and Bardsley. 2000)

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตอาหารส่งออก มีระบบการผลิตที่ใช้วัตถุดิบธรรมชาติที่ แม้มีความได้เปรียบในความเป็นอินทรีย์เป็นทุนเดิม แต่ก็มีการนำเข้าวัตถุดิบจากบางประเทศโดยเฉพาะถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง ที่มีโอกาสในการปนเปื้อนของวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม และแม้ว่ากระทรวงสาธารณสุข ได้ออกประกาศฉบับที่ 251 ขึ้นใช้ในการแสดงฉลากควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้าวโพดและถั่วเหลือง แต่ก็ไม่ครอบคลุมการดำเนินการเรื่องภาวะ GMOs ด้วยระบบสอบทวน (traceability)(กระทรวงสาธารณสุข, 2545) ซึ่งต่างไปมากจากเกณฑ์ที่กำหนดของสหภาพยุโรป ทำให้ระบบการแสดงฉลากไม่สอดคล้องและสัมพันธ์กัน ประเทศยังขาดระบบที่เชื่อมโยงข้อมูลระหว่างการควบคุมวัตถุดิบนำเข้าต้นทางความต้องการใช้และลักษณะจำเพาะของวัตถุดิบ การทดสอบภาวการณ์ใช้วัตถุดิบของผู้ประกอบการ ภาวการณ์ผลิต การควบคุม และการกำกับดูแล และการแสดงรายละเอียดของข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เกิดผลเสียต่อผู้ประกอบการในแง่ระบบตรวจสอบเพื่อการรับรองการส่งออกที่จำเป็นต้องใช้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์และข้อมูลกำกับสอดคล้องกับระบบสอบทวนมาประกอบเพื่อการส่งออกได้ และเกิดผลเสียต่อประเทศในแง่การเสียโอกาสทางการตลาดและศักยภาพในการแข่งขันในระยะยาว

จากวิเคราะห์และประเมินสถานการณ์ของประเทศพบว่า การนำระบบตรวจสอบเข้ามาประยุกต์ใช้และทำให้เชื่อมโยงแบบออนไลน์ในการตรวจและรับรองจะช่วยเพิ่มความพร้อมในการทดสอบ ควบคุมและกำกับคุณภาพและความปลอดภัย การร่วมมือกันระหว่างหน่วยงาน ช่วยสร้างศักยภาพ ยกระดับคุณภาพ สร้างความพร้อมในการแข่งขันในอนาคต

โครงการวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลด้วยเทคโนโลยีสารสนเทศที่สามารถตรวจสอบข้อมูลวัตถุดิบ ภาวะการปน ผลการทดสอบ การผลิต ลักษณะเฉพาะทางคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การแสดงฉลากและระบบรองรับ ที่อยู่บนพื้นฐานของหลักการสอบทวน ที่สามารถตรวจสอบข้อมูลจากฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นผ่านระบบปฏิบัติการเฉพาะด้าน และ accessข้อมูลได้ในรูปสารสนเทศผ่านระบบเครือข่าย โดยเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ผู้ประกอบการ ผู้บริโภค และลูกค้าทั้งในและต่างประเทศ ทั้งนี้เพื่อช่วยเป็นหลักประกันในการรับรองผลิตภัณฑ์ปลอด GMOs ในระบบยกระดับความเชื่อมั่นของตัวสินค้าของประเทศในท้ายที่สุด

การวิจัยครอบคลุมการศึกษาระบบการดำเนินงานและการใช้สารสนเทศเข้ามาเชื่อมโยงในต่างประเทศ ข้อเท็จจริงในการดำเนินการในประเทศ เพื่อเปรียบเทียบ และวางระบบที่เป็นนวัตกรรมของระบบข้อมูล เชื่อมโยงข้อมูลที่จำเป็นสำหรับรองรับระบบ traceability ในการรับรองคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารที่สุ่มเสี่ยงต่อวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม เน้นรายละเอียดตั้งแต่วัตถุดิบต้นทางและประวัติวัตถุดิบ สู่ผลผลิตปลายทาง โดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในรูประบบปฏิบัติการและละมุนภัณฑ์ที่แสดงผลแบบ interface ในลักษณะ web base (on line) โดยแบ่งส่วนข้อมูล และขั้นตอนตามความจำเป็นในการรับข้อมูลและตามบทบาทหน้าที่ของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เชื่อมโยงข้อมูล ดึงและส่งถ่ายข้อมูลเพื่อนำไปสู่การประกันระบบ traceability ที่ใช้กับอาหารในกลุ่มที่ใช้วัตถุดิบที่มีรายงานว่าเป็น GMOs เพื่อให้สามารถตรวจสอบข้อมูลสถานภาพความเป็น GMOs-free ได้ตลอดเวลาจากทั้งในและต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สร้างระบบ traceability รองรับสำหรับการตรวจรับรองภาวะปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม
2. สร้างรูปแบบการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจดีเอ็นเอ
3. สร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลตัวอย่างการวิเคราะห์และผลการวิเคราะห์สู่เครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์เพื่อการอ้างอิงและรับรองภาวะปลอดการดัดแปรพันธุกรรม
4. เชื่อมโยงระบบตรวจสอบทั้งหมด และดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเชื่อมโยงกับผู้ประกอบการ ประเมินผลและและเปิดเป็นโครงข่าย internet สู่การ access จริง

ผลการวิจัย

ผลการเปรียบเทียบระบบการควบคุม กำกับและดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ระหว่างญี่ปุ่น เยอรมันและประเทศไทย พบว่า การสร้างระบบที่สามารถตรวจสอบวัตถุดิบ ณ. ต้นทางมีความเหมาะสม

จึงได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่างโดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว บนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ ISO17025 การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล ทั้งการตรวจวิเคราะห์ยีนส่วนที่เป็น 35S โปรโมเตอร์ สำหรับการตรวจคัดกรอง (LMBG L 25.03.01 1999) (LMBG L 24.00-1 1997) (LMBG L 23.01.22 1998) สำหรับข้าวโพดและข้าวใช้วิธีเฉพาะที่พัฒนาขึ้น (Matsuoka et al., 2001, Matsuoka, et al. , 2000) ผลการตรวจสอบยืนยันจะเก็บเข้าสู่ฐานข้อมูลเพื่อการดึงมาใช้อย่างเป็นระบบและเชื่อมโยงกับเครือข่าย internet

ได้จัดทำระบบการตรวจสอบตัวอย่างให้มีแบบฟอร์มและรูปแบบการทำงานสอดคล้องกับหลักการ และการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์เพื่อออกผลการตรวจแบบตรวจสอบสภาพของตัวอย่าง โดยมี เอกสารรับตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ work sheet สำหรับการรับตัวอย่าง เอกสาร calibration เครื่องมือ เอกสาร validation methods SOPs ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ เอกสารการปฏิบัติงานสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง Work sheet ประกอบกิจกรรมสกัดดีเอ็นเอ เอกสารกำกับดีเอ็นเอ เอกสารกำกับ reference materials เอกสารกำกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง work sheet ประกอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เอกสารกำกับผลการวิเคราะห์ Work sheet ประกอบการวิเคราะห์ผล ระเบียนข้อมูลผลและการเชื่อมโยงข้อมูลไปสู่ฐานข้อมูล การออกใบรับรอง การบันทึกข้อมูลส่งระบบ online

ได้ดำเนินการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ รูปแบบการทำงานรวมและการให้บริการตรวจวิเคราะห์และรับรองภาวะการปลอด GMOs รูปแบบการสุ่มตัวอย่างและแบบเอกสารที่เกี่ยวข้องในการตรวจรับรอง

รูปแบบการตรวจวิเคราะห์ได้กำหนดและจัดทำ SOPs พร้อมทั้ง validation ในวิธีการตรวจสอบรองรับรายการตรวจ screening ทั้ง 3 รายการดังกล่าวข้างต้น โดย 2 รายการอ้างอิง Standard official methods LMBGL 23.01.22 LMBGL24.01-1 LMBGL25.03.01 LMBGL25.03.01 และEU JRC

ผลการวิเคราะห์ได้นำมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์ สามารถแสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com ซึ่งเป็น domain register เพื่อการนี้โดยเฉพาะ ฐานข้อมูลจัดทำผ่านผ่านโปรแกรม Php My Admin ™ และออกแบบหน้าแสดงด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver ™

โครงการได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วย บริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก่อินทรีย์ และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs

การทดสอบประเมินผลการใช้งานจริงเริ่มจากการดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ GMOs online ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและ ข้อมูลการวิเคราะห์ผล การ interfaceข้อมูล เน้นการใช้ lot number หรือ product code เป็นสื่อในการตรวจสอบสถานะของตัวอย่างหรือของผลิตภัณฑ์ ผ่านฐานข้อมูลในรูปแบบ interface ผ่านเว็บเบราส์เซอร์ ทั้งหมดดำเนินการในนามจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและดูแลโดยโครงการ

การดำเนินการกับระบบนี้ทำให้สามารถนำมาใช้รับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออกเพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อส่งออกของฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการทำให้สามารถแสดงผลการรับรองออนไลน์ได้ งานทั้งหมดในส่วนการวางและดำเนินการเป็นไปตามแผนแต่การวิเคราะห์ยังคงล่าช้ากว่าแผนเนื่องจากงบประมาณมีความล่าช้าทำให้การวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูงไม่สามารถดำเนินการได้ตามปฏิทินแผนงาน

สรุปและข้อเสนอแนะ

การเปรียบเทียบระบบกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมระหว่างญี่ปุ่น เยอรมัน และไทย ชี้ให้เห็นการดำเนินการของระบบที่ช่วยในการวางแผนการดำเนินการให้สอดคล้องกับเงื่อนไขของประเทศได้ จุดสำคัญคือการเน้นการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบตั้งแต่ต้นทาง ร่วมกับการใช้ระบบการตรวจสอบที่รัดกุมและปีนไปตามหลักการ traceability

ผลการดำเนินการได้พัฒนาระบบเอกสารและระบบตรวจวิเคราะห์และรับรองสถานภาพของการปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม เพื่อเป็นพื้นฐานในการควบคุม กำกับดูแลการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่าย internet สำหรับอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการการตรวจสอบสภานภาพการปลอด GMOs เริ่มจากการพัฒนาระบบเอกสารควบคุม ที่ครอบคลุมทั้งในส่วนการผลิต เริ่มจากวัตถุดิบต้นน้ำ เอกสารเกี่ยวกับระบบการตรวจวิเคราะห์ครอบคลุมตั้งแต่การสุ่มตัวอย่าง วิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานและ SOP ที่เป็นระบบ อ้างอิงผลการวิเคราะห์ในระบบ ISO 17025 ได้ และสร้างระบบข้อมูลและฐานข้อมูลที่เชื่อมโยงในรูปแบบออนไลน์ โดยผลการพัฒนาได้ดำเนินการผ่านเว็บ www.cugmoonline.com การประชาสัมพันธ์ผ่านสื่อและสภาอุตสาหกรรมอาหารของโครงการได้ผู้ประกอบการที่มีความพร้อมร่วมโครงการโดยสมัครใจ 3 ราย การตรวจวิเคราะห์จริงโดยระบบที่พัฒนาขึ้น ช่วยให้ได้ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์สำหรับการรับรองการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่ายที่สามารถตรวจสอบได้ในเวลาจริงโดยระบบออนไลน์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยเรื่อง(ภาษาไทย): โครงการวิจัยเรื่องระบบทดสอบควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมออนไลน์

(ภาษาอังกฤษ): Online system for test control and monitoring of geneticallymodified foods

บทนำ

ระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการแสดงฉลากและควบคุมอาหารดัดแปรพันธุกรรมของประเทศในเครือสหภาพยุโรป Regulation 1829 และ 1830/2003(European Parliamant and the Council of European Union, 2003)มีสาระครอบคลุมการทดสอบระดับการปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมไม่เกิน 0.9% และบังคับให้มีระบบข้อมูลที่สามารถสืบทวนกลับได้ (traceability) นอกจากจะทำให้อาหาร หรือวัตถุดิบอาหารที่เข้าสู่ประเทศในเครือสหภาพยุโรปทั้งหมดต้องผ่านการตรวจสอบอย่างเคร่งครัด แล้วยังทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญในการตรวจสอบข้อมูลภาวะปะปนด้วยวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรมมากขึ้น (Lockley and Bardsley. 2000)

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตอาหารส่งออก มีระบบการผลิตที่ใช้วัตถุดิบธรรมชาติที่ แม้มีความได้เปรียบในความเป็นอินทรีย์เป็นทุนเดิม แต่ก็มีการนำเข้าวัตถุดิบจากบางประเทศโดยเฉพาะถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง ที่มีโอกาสในการปนเปื้อนของวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม และแม้ว่ากระทรวงสาธารณสุข ได้ออกประกาศฉบับที่ 251 ขึ้นใช้ในการแสดงฉลากควบคุมและกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้าวโพดและถั่วเหลือง แต่ก็ไม่ครอบคลุมการดำเนินการเรื่องภาวะ GMOs ด้วยระบบสอบทวน (traceability)(กระทรวงสาธารณสุข, 2545) ซึ่งต่างไปมากจากเกณฑ์ที่กำหนดของสหภาพยุโรป ทำให้ระบบการแสดงฉลากไม่สอดคล้องและสัมพันธ์กัน ประเทศยังขาดระบบที่เชื่อมโยงข้อมูลระหว่างการควบคุมวัตถุดิบนำเข้าต้นทางความต้องการใช้และลักษณะจำเพาะของวัตถุดิบ การทดสอบภาวการณ์ใช้วัตถุดิบของผู้ประกอบการ ภาวการณ์ผลิต การควบคุม และการกำกับดูแล และการแสดงรายละเอียดของข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เกิดผลเสียต่อผู้ประกอบการในแง่ระบบตรวจสอบเพื่อการรับรองการส่งออกที่จำเป็นต้องใช้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์และข้อมูลกำกับสอดคล้องกับระบบสอบทวนมาประกอบเพื่อการส่งออกได้ และเกิดผลเสียต่อประเทศในแง่การเสียโอกาสทางการตลาดและศักยภาพในการแข่งขันในระยะยาว

จากวิเคราะห์และประเมินสถานการณ์ของประเทศพบว่า การนำระบบตรวจสอบเข้ามาประยุกต์ใช้และทำให้เชื่อมโยงแบบออนไลน์ในการตรวจและรับรองจะช่วยเพิ่มความพร้อมในการทดสอบ ควบคุมและกำกับคุณภาพและความปลอดภัย การร่วมมือกันระหว่างหน่วยงาน ช่วยสร้างศักยภาพ ยกระดับคุณภาพ สร้างความพร้อมในการแข่งขันในอนาคต

โครงการวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลด้วยเทคโนโลยีสารสนเทศที่สามารถตรวจสอบข้อมูลวัตถุดิบ ภาวะการปน ผลการทดสอบ การผลิต ลักษณะเฉพาะทางคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การแสดงฉลากและระบบรองรับ ที่อยู่บนพื้นฐานของหลักการสอบทวน ที่สามารถตรวจสอบข้อมูลจากฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นผ่านระบบปฏิบัติการเฉพาะด้าน และ accessข้อมูลได้ในรูปสารสนเทศผ่านระบบเครือข่าย โดยเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ผู้ประกอบการ ผู้บริโภค และลูกค้าทั้งในและต่างประเทศ ทั้งนี้เพื่อช่วยเป็นหลักประกันในการรับรองผลิตภัณฑ์ปลอด GMOs ในระบบยกระดับความเชื่อมั่นของตัวสินค้าของประเทศในท้ายที่สุด

การวิจัยครอบคลุมการศึกษาระบบการดำเนินงานและการใช้สารสนเทศเข้ามาเชื่อมโยงในต่างประเทศ ข้อเท็จจริงในการดำเนินการในประเทศ เพื่อเปรียบเทียบ และวางระบบที่เป็นนวัตกรรมของระบบข้อมูล เชื่อมโยงข้อมูลที่จำเป็นสำหรับรองรับระบบ traceability ในการรับรองคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารที่สุ่มเสี่ยงต่อวัตถุดิบดัดแปรพันธุกรรม เน้นรายละเอียดตั้งแต่วัตถุดิบต้นทางและประวัติวัตถุดิบ สู่ผลผลิตปลายทาง โดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในรูประบบปฏิบัติการและละมุนภัณฑ์ที่แสดงผลแบบ interface ในลักษณะ web base (on line) โดยแบ่งส่วนข้อมูล และขั้นตอนตามความจำเป็นในการรับข้อมูลและตามบทบาทหน้าที่ของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เชื่อมโยงข้อมูล ดึงและส่งถ่ายข้อมูลเพื่อนำไปสู่การประกันระบบ traceability ที่ใช้กับอาหารในกลุ่มที่ใช้วัตถุดิบที่มีรายงานว่าเป็น GMOs เพื่อให้สามารถตรวจสอบข้อมูลสถานภาพความเป็น GMOs-free ได้ตลอดเวลาจากทั้งในและต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สร้างระบบ traceability รองรับสำหรับการตรวจรับรองภาวะปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม
2. สร้างรูปแบบการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจดีเอ็นเอ
3. สร้างระบบเชื่อมโยงข้อมูลตัวอย่างการวิเคราะห์และผลการวิเคราะห์สู่เครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์เพื่อการอ้างอิงและรับรองภาวะปลอดการดัดแปรพันธุกรรม

4. เชื่อมโยงระบบตรวจสอบทั้งหมด และดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเชื่อมโยงกับผู้ประกอบการ ประเมินผลและและเปิดเป็นโครงข่าย internet สู่การ access จริง

ผลการวิจัย

ผลการเปรียบเทียบระบบการควบคุม กำกับและดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ระหว่างญี่ปุ่น เยอรมันและประเทศไทย พบว่า การสร้างระบบที่สามารถตรวจสอบวัตถุดิบ ณ. ต้นทางมีความเหมาะสม

จึงได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่างโดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว บนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ ISO17025 การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล ทั้งการตรวจวิเคราะห์ยีนส่วนที่เป็น 35S โปรโมเตอร์ สำหรับการตรวจคัดกรอง (LMBG L 25.03.01 1999) (LMBG L 24.00-1 1997) (LMBG L 23.01.22 1998) สำหรับข้าวโพดและข้าวใช้วิธีเฉพาะที่พัฒนาขึ้น (Matsuoka et al., 2001, Matsuoka, et al. , 2000) ผลการตรวจสอบยืนยันจะเก็บเข้าสู่ฐานข้อมูลเพื่อการดึงมาใช้อย่างเป็นระบบและเชื่อมโยงกับเครือข่าย internet

ได้จัดทำระบบการตรวจสอบตัวอย่างให้มีแบบฟอร์มและรูปแบบการทำงานสอดคล้องกับหลักการ และการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์เพื่อออกผลการตรวจแบบตรวจสอบสภาพของตัวอย่าง โดยมี เอกสารรับตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ work sheet สำหรับการรับตัวอย่าง เอกสาร calibration เครื่องมือ เอกสาร validation methods SOPs ทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ เอกสารการปฏิบัติงานสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง Work sheet ประกอบกิจกรรมสกัดดีเอ็นเอ เอกสารกำกับดีเอ็นเอ เอกสารกำกับ reference materials เอกสารกำกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง work sheet ประกอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เอกสารกำกับผลการวิเคราะห์ Work sheet ประกอบการวิเคราะห์ผล ระเบียนข้อมูลผลและการเชื่อมโยงข้อมูลไปสู่ฐานข้อมูล การออกใบรับรอง การบันทึกข้อมูลส่งระบบ online

ได้ดำเนินการพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ รูปแบบการทำงานรวมและการให้บริการตรวจวิเคราะห์และรับรองภาวะการปลอด GMOs รูปแบบการสุ่มตัวอย่างและแบบเอกสารที่เกี่ยวข้องในการตรวจรับรอง

รูปแบบการตรวจวิเคราะห์ได้กำหนดและจัดทำ SOPs พร้อมทั้ง validation ในวิธีการตรวจสอบรองรับรายการตรวจ screening ทั้ง 3 รายการดังกล่าวข้างต้น โดย 2 รายการอ้างอิง Standard official methods LMBGL 23.01.22 LMBGL24.01-1 LMBGL25.03.01 LMBGL25.03.01 และEU JRC

ผลการวิเคราะห์ได้นำมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์ สามารถแสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com ซึ่งเป็น domain register เพื่อการนี้โดยเฉพาะ ฐานข้อมูลจัดทำผ่านผ่านโปรแกรม Php My Admin ™ และออกแบบหน้าแสดงด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver ™

โครงการได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วย บริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก่อินทรีย์ และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs

การทดสอบประเมินผลการใช้งานจริงเริ่มจากการดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ *GMOs online* ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและ ข้อมูลการวิเคราะห์ผล การ interfaceข้อมูล เน้นการใช้ lot number หรือ product code เป็นสื่อในการตรวจสอบสถานะของตัวอย่างหรือของผลิตภัณฑ์ ผ่านฐานข้อมูลในรูปแบบ interface ผ่านเว็บเบราส์เซอร์ ทั้งหมดดำเนินการในนามจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและดูแลโดยโครงการ

การดำเนินการกับระบบนี้ทำให้สามารถนำมาใช้รับรองตัวอย่างเพื่อการส่งออกเพื่อการอ้างอิง และรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs ในกระบวนการเลี้ยงลูกกุ้งเพื่อส่งออกของฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการทำให้สามารถแสดงผลการรับรองออนไลน์ได้ งานทั้งหมดในส่วนการวางและดำเนินการเป็นไปตามแผนแต่การวิเคราะห์ยังคงล่าช้ากว่าแผนเนื่องจากงบประมาณมีความล่าช้าทำให้การวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูงไม่สามารถดำเนินการได้ตามปฏิทินแผนงาน

สรุปและข้อเสนอแนะ

การเปรียบเทียบระบบกำกับดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรมระหว่างญี่ปุ่น เยอรมัน และไทย ชี้ให้เห็นการดำเนินการของระบบที่ช่วยในการวางแผนการดำเนินการให้สอดคล้องกับเงื่อนไขของประเทศได้ จุดสำคัญคือการเน้นการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบตั้งแต่ต้นทาง ร่วมกับการใช้ระบบการตรวจสอบที่รัดกุมและเป็นไปตามหลักการ traceability

ผลการดำเนินการได้พัฒนาระบบเอกสารและระบบตรวจวิเคราะห์และรับรองสถานภาพของการปลอดอาหารดัดแปรพันธุกรรม เพื่อเป็นพื้นฐานในการควบคุม กำกับดูแลการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่าย internet สำหรับอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการการตรวจสอบสภานภาพการปลอด GMOs เริ่มจากการพัฒนาระบบเอกสารควบคุม ที่ครอบคลุมทั้งในส่วนการผลิต เริ่มจากวัตถุดิบต้นน้ำ เอกสารเกี่ยวกับระบบการตรวจวิเคราะห์ครอบคลุมตั้งแต่การสุ่มตัวอย่าง วิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานและ SOP ที่เป็นระบบ อ้างอิงผลการวิเคราะห์ในระบบ ISO 17025 ได้ และสร้างระบบข้อมูลและฐานข้อมูลที่เชื่อมโยงในรูปแบบออนไลน์ โดยผลการพัฒนาได้ดำเนินการผ่านเว็บ www.cugmoonline.com การประชาสัมพันธ์ผ่านสื่อและสภาอุตสาหกรรมอาหารของโครงการได้ผู้ประกอบการที่มีความพร้อมร่วมโครงการโดยสมัครใจ 3 ราย การตรวจวิเคราะห์จริงโดยระบบที่พัฒนาขึ้น ช่วยให้ได้ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์สำหรับการรับรองการผลิตปลอด GMOs ผ่านระบบเครือข่ายที่สามารถตรวจสอบได้ในเวลาจริงโดยระบบออนไลน์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิจกรรมหลัก	การดำเนินการในปีงบประมาณ 2550		การดำเนินการในปีงบประมาณ 2551	
	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง	รายการกิจกรรมตามแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการได้จริง
1. สร้างระบบเทคโนโลยีสารสนเทศ 2. วิเคราะห์และสร้างระบบ 3. ทดสอบประเมินผลการใช้งาน	- ศึกษาระบบการดำเนินงานในไทย - การศึกษาระบบในต่างประเทศ - วิเคราะห์ปัจจัยความพร้อมและลักษณะการดำเนินการ - วางระบบ	ศึกษาเปรียบเทียบระบบและวิธีการควบคุม กำกับและดูแลอาหารดัดแปรพันธุกรรม ระหว่างประเทศญี่ปุ่น ประเทศเยอรมันและประเทศไทย วิเคราะห์ปัจจัยความพร้อมและลักษณะการดำเนินการ พบว่าทั้งสองประเทศเน้นการดำเนินการในการรับรองสอบทวนและตรวจติดตาม โดยญี่ปุ่นให้ความสำคัญกับการตรวจสอบเอกสารและทดสอบวัตถุดิบ ณ. จุดนำเข้า(port) เยอรมันให้ความสำคัญทั้งการตรวจเอกสารการนำเข้าจากแหล่งวัตถุดิบที่เชื่อถือได้เท่านั้น แต่จะทดสอบตัวอย่าง ณ. จุดผลิต ทั้งสองใช้ระบบ traceability ที่เชื่อมโยงหน่วยงานหลักและหน่วยงานท้องถิ่น ญี่ปุ่นเน้นการตรวจเป็นศูนย์หลักในแต่ละโซน ขณะที่เยอรมัน	- วิเคราะห์และสร้างระบบ - เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์ - ทดสอบประเมินผลการใช้งานจริง	ได้ดำเนินการสร้างรูปแบบและระบบเอกสารรองรับการดำเนินการและการทดสอบตัวอย่างโดยดำเนินการกับวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการผลิตของอุตสาหกรรมของประเทศ วางขั้นตอนการดำเนินการและการตรวจวิเคราะห์บนพื้นฐานของ การจัดวางรูปแบบการทดสอบตัวอย่างวัตถุดิบ เน้นระบบควบคุมกำกับดูแลกับอุตสาหกรรมที่ใช้ถั่วเหลืองหรือข้าวโพดหรือข้าว และรองรับการดำเนินการบนพื้นฐานของวิธีการที่เป็นสากล โดยนำหลัก traceability มาปรับใช้ เริ่มจาก การวางระบบเอกสารที่จำเป็นตามหลักการ *ISO17025* การตรวจวิเคราะห์ GMOs ที่เป็นสากล **สร้างระบบการตรวจวิเคราะห์**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

		เน้นการใช้ mobile unit การตรวจเป็นไปตามมาตรฐาน มีวิธีการที่เป็น Official Methods รองรับ สำหรับวิธีการตรวจ ทั้งญี่ปุ่น และเยอรมัน มีการพัฒนาห้องปฏิบัติการรองรับที่ดีกว่า มีวิธีที่เป็น Official methods ซึ่งทั้งสองเป็นจุดที่ประเทศไทยยังขาดอยู่ ทางแก้คือการสร้างระบบที่เชื่อมโยงห้องปฏิบัติการ เจ้าพนักงาน และผู้ประกอบการ การสร้างระบบที่สามารถตรวจสอบวัตถุดิบ ณ. ต้นทางมีความเหมาะสม การวางระบบการควบคุมกำกับดูแลเพื่อแก้ไขปัญหาเฉพาะหน้า ได้ให้ความสำคัญกับผู้ประกอบการที่ส่งออกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองข้าวโพดและข้าว วางแผนการจัดทำระบบคุณภาพและการดำเนินการในระหว่างกระบวนการ รวมถึงการทดสอบทางคุณภาพ ที่เน้นใช้วิธีการตรวจสอบเอกสารร่วมกัน	2.ถ่ายทอดสู่หน่วยปฏิบัติและผู้ประกอบการและประชาสัมพันธ์ระบบเพื่อเตรียมการใช้งานสู่ผู้บริโภค(ทดสอบก่อนการใช้งานจริง)	**ตัวอย่าง** ตัวระบบประกอบด้วยการตรวจสอบเอกสารวัตถุดิบการสุ่มตัวอย่าง การรับตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์เอกสารกำกับการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์ และการนำผลเชื่อมโยงสู่ระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ตออนไลน์ **ได้จัดทำฐานข้อมูลและระบบแสดงผลบนเครือข่ายออนไลน์** แสดงผลดำเนินการผ่าน www.cugmoonline.com **ได้เผยแพร่ระบบและประชาสัมพันธ์** ผ่านสภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยและได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการในการดำเนินการในรูปแบบสมัครใจ ประกอบด้วยบริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว บริษัทสหฟาร์ม บริษัทในเครือชนิสาฟาร์ม ซึ่งทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับการส่งข้าวปลอด GMOs ออกต่างประเทศ การผลิตไก้อินทรีย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

				และการผลิตลูกกุ้งด้วยอาหารสัตว์ปลอด GMOs **ได้ทดสอบประเมินผลการใช้งานจริง** การทดสอบในเบื้องต้นจากระบบการผลิตลูกกุ้งส่งออกเพื่อรับรองสถานะระบบการผลิตปลอดวัตถุดิบอาหาร GMOs ดำเนินการกับชนิสาฟาร์ม จังหวัดกระบี่ ระบบการผลิตข้าวเพื่อการส่งออกเพื่อรับรองภาวการณ์ปลอด GMOs และภาวะอินทรีย์ (ที่จะต้องรับรองว่าไม่เป็น GMOs) โดยบริษัทนครหลวงค้าข้าว จังหวัดกรุงเทพมหานคร ผลการวิเคราะห์นำมารวบรวมเก็บในรูปฐานข้อมูลการวิเคราะห์ GMOs online ฐานข้อมูลที่สร้างขึ้นนี้มีโครงสร้างประกอบด้วย –ข้อมูลวัตถุดิบ ข้อมูลสุ่มตัวอย่างและข้อมูลการวิเคราะห์ผล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย