

# รายงานการวิจัย

โครงการประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมปลอดภัย  
และความรู้ด้านปลอดภัยของอาหาร”

**Seminar on Innovation and Knowledge  
of Food Safety Project**

เสนอโดย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2552

## กำหนดการ

### “การประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552

8.00-8.15	ลงทะเบียน
8.15-8.20	กล่าวต้อนรับและเปิดงาน โดย หัวหน้าโครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ (รศ.ดร.ศิริรัตน์ ก๊กผล)
8.20-9.20	บรรยายพิเศษ เรื่อง สินค้าอาหารไทยสู่ตลาดโลก โดย นักวิชาการพาณิชย์ชำนาญการพิเศษ สำนักบริการส่งออก 1 (คุณสุจิตรา วัฒนอมทรัพย์)
9.20-10.20	บรรยายพิเศษ เรื่อง คุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยของสินค้าเกษตรและอาหาร โดย นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าการเกษตรและอาหารแห่งชาติ (คุณชัยศิริ มหันตชัยสกุล)
10.20-10.30	รับประทานอาหารว่าง
10.30-11.00	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 1 การคัดสายพันธุ์พริกและงาเพื่อการประยุกต์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม (อาจารย์ ดร.พัฒนพร สวัสดิ์)
11.00-11.30	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 2 การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคอกระดูกล้อมจากเปลือกอาหารทะเล (อ.ดร.อนวัช อาชวาคม)
11.30-12.00	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 3 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด และอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิปสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร (นางสาวหฤทัย แสงจรัสวิชัย)
12.00-13.00	รับประทานอาหารกลางวัน
13.00-13.30	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 4 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ในเนื้อสัตว์แช่แข็งในบรรจุภัณฑ์ตัดแปรรบรยากาศ(ผศ.พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์)
13.30-14.00	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 5 การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร(รศ.ดร.สุเทพ ธนียวัน)
14.00-14.30	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 6 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (รศ.จิราภรณ์ ธนียวัน)
14.30-14.40	รับประทานอาหารว่าง
14.40-15.10	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 7 การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด (รศ.ดร.ชรรมณูญ หนูจักร)
15.10-15.40	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 8 สารสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ (ผศ.ดร.ไพฑูรย์ รัชตะสาคร)
15.40-16.10	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 9 โมเลกุลดีเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป (ผศ.ดร.ปิยะศักดิ์ ช่อมพฤษ)
16.10-16.40	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 10 การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (ผศ.ดร.เดือนใจ ไก่สกุล)
16.40-17.10	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 11 ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์(Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์ (Antioxidants) (รศ.ดร.ปราณี อานเป็รื่อง)
17.10-17.40	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 12 ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ ( ดร.สเดฟอน ตูบาส์)
17.40-18.10	เสนอรายงานวิจัย เรื่องที่ 13 ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจาก และเมล็ดมะม่วง (ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์)
18.30	ปิดประชุม

## 1. หลักการและเหตุผล

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตภาคการเกษตรเป็นหลัก อุตสาหกรรมเกษตรจึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาความเข้มแข็งในเชิงเศรษฐกิจของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อุตสาหกรรมอาหาร เพราะอาหารเป็นปัจจัยหลักในการดำรงชีพ ดังนั้นการยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารจะช่วยประกันสุขอนามัยของประชาชนโดยรวม นอกจากนี้ ประเทศไทยยังเป็นผู้ผลิตและส่งออกสินค้าอาหารเป็นอันดับต้นๆ ของโลก โดยทำรายได้ให้ประเทศไทยปีละกว่าหลายแสนล้านบาท ดังนั้น นอกเหนือจากการเพิ่มผลผลิต การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า จึงเป็นสิ่งสำคัญในอันดับต้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในภาวะการณ์ปัจจุบันซึ่งมีการเปิดการค้าเสรีระหว่างประเทศ คุณภาพและความปลอดภัยของอาหารยังมีความสำคัญมากขึ้นอีก เพราะนอกจากตลาดค้าต่างประเทศจะมีการแข่งขันสูงแล้ว ประเทศไทยยังต้องเผชิญกับการกีดกันทางการค้าในรูปของมาตรการควบคุมความปลอดภัยด้านอาหารของประเทศคู่ค้าสำคัญ และเผชิญกับการแย่งชิงตลาดกับสินค้านำเข้าที่มีราคาถูก เช่นสินค้าจากประเทศจีน การยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารไทยให้มีความปลอดภัยจะเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศได้

การพัฒนาศักยภาพการแข่งขันในปัจจุบัน เน้นการเสริมสร้างมูลค่าเพิ่มทางด้านความรู้ (knowledge-based) จำเป็นต้องมีการดำเนินยุทธศาสตร์ด้านนวัตกรรมและการวิจัยและพัฒนา การพัฒนาบุคลากร จึงมีความสำคัญที่จะต้องมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ร่วมสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้วิจัยและพัฒนา สร้างองค์ความรู้เพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหาร พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในอาหาร เพิ่มมูลค่าวัตถุดิบที่มีอยู่ในประเทศเพื่อใช้ในการผลิตและส่งออก และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เสริมสุขภาพ และปลอดภัยจากสารอันตราย จึงเห็นสมควรเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

## 2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อเผยแพร่ความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.2 เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม

2.3 เพื่อสนับสนุนและเพิ่มขีดความสามารถในการใช้นวัตกรรมในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.4 เพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร

2.5 เพื่อสร้างความแข็งแกร่งทางวิชาการให้แก่บุคลากรในภาครัฐและภาคอุตสาหกรรมอาหารเพื่อนำไปสู่การสร้างสรรคนวัตกรรมใหม่ๆ ที่มีคุณภาพและความปลอดภัยสูง

### 3. เป้าหมาย

เผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหารแก่บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อการส่งออกและจำหน่ายในประเทศ นักวิเคราะห์อาหารในห้องปฏิบัติการ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน จำนวนประมาณ 100 คน

### 4. หัวข้อเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

- ความรู้และพัฒนาการด้านความปลอดภัยของอาหาร
- ความรู้และนวัตกรรมการตรวจวิเคราะห์และรับรองคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม
- ความรู้และนวัตกรรมการผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ
- ความรู้และนวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
- ความรู้และพัฒนาการระบบ การจัดการ การควบคุมกำกับดูแลอาหาร ผ่านข้อมูลบาร์โค้ด

### 5. วิทยากร

- นักวิจัยในโครงการบูรณาการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่
- วิทยากรจากหน่วยงานอุตสาหกรรม

### 6. สถานที่และเวลาของการประชุม

ห้องประชุมของภาควิชาเคมี (ห้อง 100 ปี ศาสตราจารย์ ดร.แถบ นีละนิธิ) ชั้น 11 อาคารมหามกุฏ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2550 เวลา 8.00-17.00 น.



## 7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

7.1 ผู้เข้าร่วมประชุมได้รับความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

7.2 ผู้เข้าร่วมประชุมจะได้นำความรู้และนวัตกรรมที่ได้จากการประชุมไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ

7.3 บุคลากรในอุตสาหกรรมมีคุณภาพสูงขึ้น

7.4 ประเทศไทยจะมีศักยภาพในการแข่งขันด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น

## Micro total analysis system ( $\mu$ -TAS) สำหรับการตรวจการปนของปลาปักเป้าในอาหาร

### Micro total analysis system ( $\mu$ -TAS) for detection of puffer fish constituents in foods

ปิยะศักดิ์ ช่อมพฤกษ์<sup>\*1</sup> มะซาโด ไชโด<sup>2</sup> และเออิชิ ทามิยา<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ห้องปฏิบัติการทรานเจนิคเทคโนโลยีในพืชและไบโอเซ็นเซอร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup> Department of Applied Physics, Graduated School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871 Japan

#### บทคัดย่อ

ด้วยความจำเป็นในการตรวจวิเคราะห์การปนของปลาปักเป้าในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 264/2545 ให้สามารถดำเนินการได้ในภาคสนาม จึงได้พัฒนาเทคนิคการตรวจอย่างง่ายที่อยู่บนพื้นฐานการใช้ห้องปฏิบัติการสมบูรณ์ในรูปย่อ Micro total analysis system ( $\mu$ -TAS) หรือชิป (Lab-on-a-chip) ทำจากวัสดุ polydimethylsiloxane (PDMS) สำหรับการตรวจการปนของดีเอ็นเอตัวจุดติดจากปลาปักเป้า การตรวจประกอบด้วยการสกัดดีเอ็นเออย่างง่าย การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียว และการตรวจปฏิกิริยาด้วยการเรืองแสงในชิปเดียวกัน การตรวจวิเคราะห์สามารถดำเนินการได้ภายใน 40 นาที โดยมีขั้นตอนที่ง่ายและที่สำคัญไม่ต้องพึ่งพาห้องปฏิบัติการ การตรวจความไวที่ระดับดีเอ็นเอ 10 copies มีความเฉพาะเจาะจงสูง โดยใช้ต้นทุนการวิเคราะห์ต่ำเพียง 400 บาทต่อตัวอย่าง

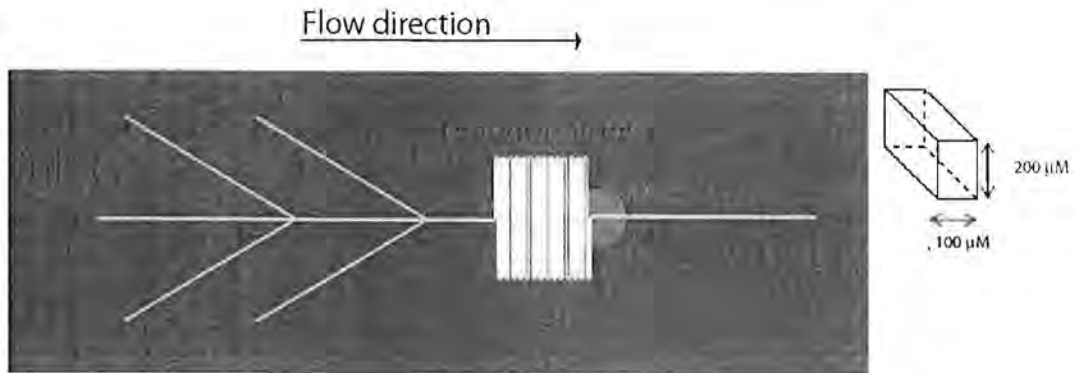
#### วิธีการทดลอง

##### ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

ใช้ตัวอย่างปลาและตัวอย่างอาหารที่ได้จาก ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

##### ชิป การออกแบบ การสร้าง การสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณ

1. ออกแบบโครงสร้างของระบบปฏิบัติการที่ประกอบด้วย ช่องรับตัวอย่างบริเวณปฏิกิริยา และช่องระบายปฏิกิริยาขนาด 100x 200 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1) และขึ้นรูปด้วยหลักการ photolithography และวัสดุ PDMS (Nakayama et al., 2006) เชื่อมต่อระบบเข้ากับสนามแม่เหล็ก และท่อนำปฏิกิริยาโดยใช้ syringe ขนาด 1 mL และเข็มฉีดยาขนาดเบอร์ G20 ตัดปลาย



1 cm.

ภาพที่ 1 โครงสร้างชิปและรายละเอียดของโครงสร้าง

2. พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอของปลาปักเป้าบนพื้นฐานของยีน sagitoxin binding protein มีรายละเอียดดังนี้

2.1 สกัดดีเอ็นเอโดยละลายเนื้อของอาหารในสารละลาย 50mM Tris pH 8.0, 2 mM EDTA, 1 M Guanidine HCl, 0.1M DTT บดด้วยก้านบดขนาดเล็ก 30 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศา เป็นเวลา 8 นาที ปั่นแยกตะกอน ถ่ายส่วนใส ผสมกับ ferrous oxide resin เพื่อจับดีเอ็นเอในสารละลาย 3 % และดูดสารละลายทั้งหมดฉีดเข้าสู่ชิป โดยใช้ syring ขนาด 1 mL ผ่านสารละลายเข้าสู่บริเวณปฏิกิริยา โดย ferrous oxide resin ที่มีดีเอ็นเอเคลือบจะถูกจับตัวไว้ ล้างดีเอ็นเอด้วยสารละลาย 80% propanol และปล่อยให้แห้งโดยผ่านอากาศเข้าสู่บริเวณปฏิกิริยา ขั้นตอนดังกล่าวถือเป็นการเสร็จสิ้นการสกัดดีเอ็นเอ

2.2 ออกแบบไพรเมอร์ให้จำเพาะต่อยีน sagitoxin binding protein เพิ่มปริมาณในปฏิกิริยาที่ประกอบไปด้วย ไพรเมอร์จำเพาะต่อ 6 บริเวณของยีนเป้าหมาย โดยประกอบปฏิกิริยาในบัฟเฟอร์ที่มีส่วนผสมของ 20 mM Tris pH 8.8, 10 mM KCl, 10 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.1%..., 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 400  $\mu\text{M}$  dNTP และ 10 U *Bst* DNA polymerase (NEB, USA และ 50  $\mu\text{M}$  ไบอนด์เดออร์เรืองแสง Syber Green 40X โดยบ่มปฏิกิริยาที่ 63 °C 40 นาที (Notomi *et al*, 2000)

2.2 และ soybean grain ฉีดสารละลายปฏิกิริยาเข้าสู่บริเวณปฏิกิริยาและบ่มชิปไว้ที่อุณหภูมิ 63 องศา เป็นเวลา 30 นาที

2.3 ตรวจสอบสัญญาณดีเอ็นเอโดยนำชิปไปส่องด้วยแสง UV ความยาวคลื่น 320 nm ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอโดยการแยกด้วยสนามไฟฟ้า บนวุ้นอะกาโรส TAE เข้มข้น 2.5%

## ผลการทดลองและอภิปราย

ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 264/2545 ห้ามการนำปลาปักเป้ามาใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารมีผลบังคับใช้เมื่อวันที่ วันที่ 19 ธันวาคม 2545 ทำให้การตรวจวิเคราะห์อาหารที่มีโอกาสปนด้วยวัตถุดิบเป็นรายการที่จำเป็นต้องดำเนินการตามกฎหมาย ในทางปฏิบัติการตรวจสอบทางกายภาพ ไม่สามารถระบุการปนได้ การตรวจสอบส่วนใหญ่จึงมุ่งเน้นไปที่การตรวจทางชีวเคมี ได้แก่ การตรวจขนาดและรูปแบบของโปรตีนโดยเทคนิค polyacryamide gel electrophoresis และตรวจสอบทางเซรั่มวิทยา ซึ่งทั้งสองเทคนิคมีข้อจำกัดในการตรวจสอบในผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปไปจากวัตถุดิบเดิม ทำให้โปรตีนเสียสภาพ และความไวและความแม่นยำ การวิเคราะห์บนพื้นฐานของโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีเสถียรภาพกว่าแม่เนื้ออาหารจะผ่านการแปรรูปก็ไม่มีผลกระทบต่อตรวจสอบจึงมีบทบาทสำคัญ อย่างไรก็ตามมีผู้พัฒนาเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ที่อยู่บนพื้นฐานการตรวจยีนในบริเวณ 16S RNA แต่ด้วยข้อจำกัดในเรื่องข้อมูลชนิดปลาที่ต่างกันในแต่ละประเทศและรายละเอียดทางเทคนิคที่ต้องพึ่งพาเครื่องมือโดยเฉพาะเครื่อง thermocycler และความชำนาญการของเจ้าหน้าที่ทางเทคนิค ทำให้การตรวจโดยเทคนิคนี้ทำได้เฉพาะในห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมเท่านั้น

สำหรับประเทศไทย ปลาปักเป้าส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ประโยชน์และมีการลักลอบนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเป็นชนิด *Lagocephalus lunaris*, *L. inermis* และ *L. spadiceus* โดยการปะปนมักเกิดขึ้น ณ ดันทางการผลิต ทั้งจากแพและล้ง และจากโรงงานแปรรูปอาหารขนาดเล็ก ทำให้ยากต่อการควบคุม กำกับดูแลโดยเจ้าพนักงาน และเงื่อนไขดังกล่าวทำให้จะต้องตรวจสอบการปนในบริเวณแพปลา ล้ง หรือโรงงานในภาคสนาม ซึ่งเป็นข้อจำกัด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาวิธีการตรวจให้สามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว โดยไม่ต้องอาศัยความชำนาญการและไม่พึ่งพาห้องปฏิบัติการ เพื่อช่วยให้การตรวจสอบสามารถทำได้ในภาคสนาม ณ จุดที่ต้องการโดยตรง

การพัฒนาการตรวจชนิดการปนของเนื้อสัตว์ในอาหารแห้งมีขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอนได้แก่ การพัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเออย่างง่าย การพัฒนาเทคนิคการเพิ่มสัญญาณดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพ และการตรวจสอบสัญญาณดีเอ็นเอ

การศึกษาในครั้งนี้ได้นำทั้ง 3 ขั้นตอนมาดำเนินการในห้องปฏิบัติการแบบยอส่วน (Lab on a chip) ใช้ชิป PDMS ขนาด 76 x 26 มม. โดยได้พัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเออย่างง่ายและรวดเร็ว วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจงต่อปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดบนพื้นฐานของยีน *sagitoxin binding protein* ซึ่งเป็นยีนสร้างโปรตีนจับตัวกับพิษ และการพัฒนาระบบการตรวจสอบสัญญาณโดยอาศัยการจับตัวของโมเลกุลดีเอ็นเอไบโเนเตอร์ การตรวจโดยชิปดังกล่าวสามารถตรวจการปนของปลาปักเป้าทั้ง 3 ชนิดได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ

ที่ผ่านมาโครงสร้างชิป PDMS ได้ถูกนำมาดัดแปลงใช้กับการดำเนินปฏิกิริยา PCR ทั้งในรูปแบบ 2 step และ 3 step (Prakash et al., 2006) อย่างไรก็ตามด้วยข้อจำกัดทางเทคนิคที่ปฏิกิริยาอยู่บนการใช้ไพรเมอร์พื้นฐานเพียง 1 คู่ จึงทำให้การปรับปฏิกิริยาเพื่อความจำเพาะทำได้ยาก นอกจากนี้การปรับให้การไหลของน้ำยาสัมพันธ์กันกับจำนวนรอบ ทำให้ การควบคุมปฏิกิริยาทำได้

ยาก จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในรูปการประยุกต์อย่างง่ายและรวดเร็วแต่จะเหมาะกับการประยุกต์ในรูปแบบอัตโนมัติ (automate) อย่างไรก็ตาม เมื่อปฏิบัติการใช้ในการตรวจดีเอ็นเออยู่บนพื้นฐานของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยอุณหภูมิระนาบเดียว ทำให้ไม่จำเป็นต้องปรับการไหลของน้ำยาในปฏิกิริยสัมพันธ์กับอุณหภูมิ การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิเดียวจึงทำได้โดยง่าย

นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติสำคัญของการใช้ไพโรเมอร์มากกว่า 2 คู่ในปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูง แม้จะทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิคงที่เพียงอุณหภูมิเดียวเหล่านี้ ยังผลให้การปรับประยุกต์หลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออุณหภูมิระนาบเดียวในรูปแบบชิป ทำได้ง่าย

โครงสร้างของระบบปฏิบัติการสมบูรณ์อย่างง่าย ช่วยให้สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอาหารได้ภายใน 8-10 นาที และจากการทดสอบเบื้องต้น โดยใช้เนื้ออาหารที่มีการปนของเนื้อปลาปักเป้าในระดับตั้งแต่ 0.1 0.5 และ 1% พบว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ ferrous oxide resin สามารถสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบการปนในระดับ 0.1% ได้ด้วย (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การตรวจสอบประสิทธิภาพในการสกัดดีเอ็นเอจาก matrix ตัวอย่างที่มีเนื้อปลาปักเป้าปนในระดับต่างกัน โดยเทคนิค isothermal DNA amplification เลน 1 ได้แก่ ดีเอ็นเอจาก matrix ปลาปักเป้าใน matrix ไก่ 1% เลน 2 ดีเอ็นเอจาก matrix ปลาปักเป้าใน matrix ไก่ 0.5% เลน 3 ดีเอ็นเอจาก matrix ปลาปักเป้าใน matrix ไก่ 0.1% และเลน 4 ดีเอ็นเอจาก matrix ปลาปักเป้าใน matrix ไก่ 0.01%

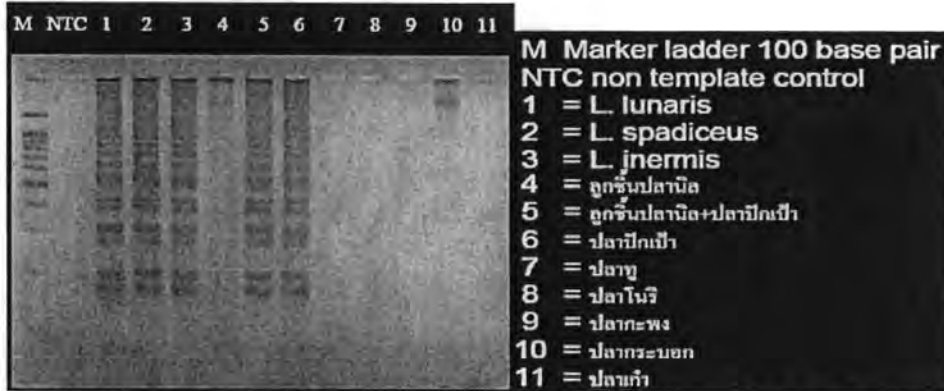
การทดสอบปฏิกิริยาเมื่อไพโรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน พบว่าไพโรเมอร์สามารถให้รูปแบบดีเอ็นเอเฉพาะตัว ขนาดที่เป็น ผลคูณของดีเอ็นเอขนาด 180 nt การทดสอบความจำเพาะของปฏิกิริยา (specificity) ก็กับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเนื้ออาหาร ที่เป็นปลา 9 ชนิด ได้แก่ ปลา *L. lunaris*, *L. spadiceus*, *L. inermis* ปลานิล ปลาทู ปลาโนรี ปลากะพง ปลากะบอก ปลาเก๋า พบว่าชุดไพโรเมอร์ให้ความจำเพาะต่อปลา *Lagocephalus lunaris*, *L. inermis* และ *L. spadiceus* เท่านั้น (ภาพที่ 3)

การทดสอบความไวของปฏิกิริยาโดยใช้ดีเอ็นเอที่ทราบจำนวนในรูปแบบ copy number จาก  $10^5$   $10^4$   $10^3$   $10^2$   $10^1$  และ 1 ชุด พบว่าชุดไพโรเมอร์และปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ สามารถตรวจสอบการปนของปลาปักเป้าในตัวอย่างได้ในระดับ 10 copy ของดีเอ็นเอได้ (ภาพที่ 4)

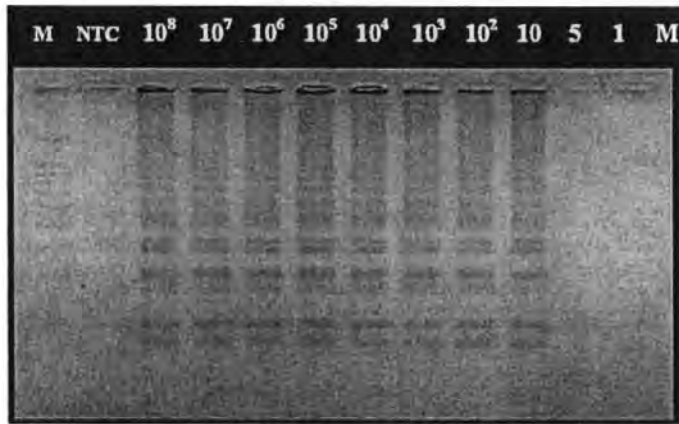
การตรวจการปนของเนื้อปลาปักเป้าในอาหารโดยใช้เนื้ออาหารหลากชนิด พบว่า สามารถจำแนกการปนของเนื้อปลาผ่านความสามารถในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยตรวจสอบจากแถบดีเอ็นเอ



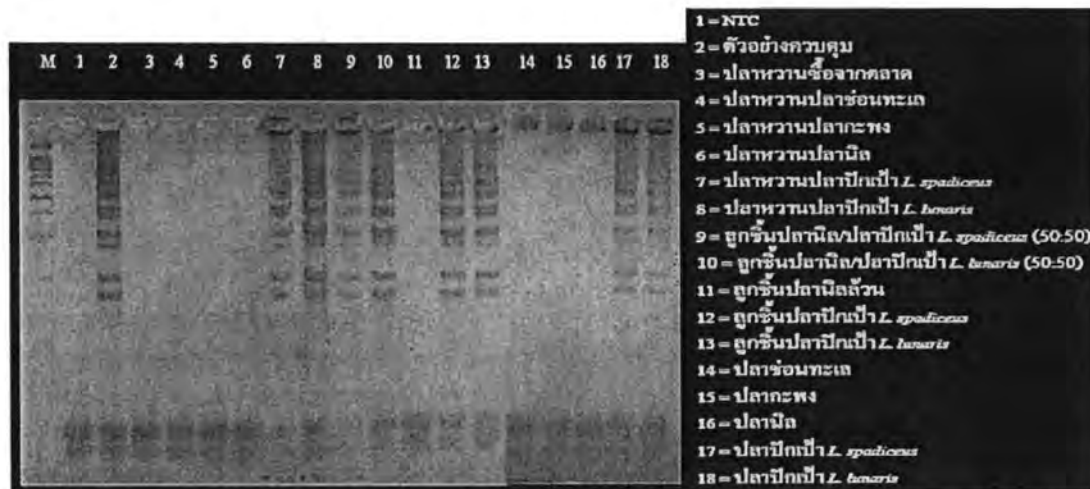
เอได้โดยเฉพาะในเนื้ออาหารที่มีการปนและไม่พบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอในอาหารที่ไม่มีการปนของ  
 วัตถุติดปลาปักเป้าแต่อย่างใด (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 3 การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เลน 1-11 เป็นตัวอย่างดีเอ็นเอจาก  
 ปลาต่างชนิด ntc แสดงตัวควบคุมที่ไม่มีดีเอ็นเอ



ภาพที่ 4 การตรวจสอบความไวของปฏิกิริยาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เลน 1-11 เป็นตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบ  
 จำนวนชุดจาก 100,000,000 ถึง 1 ชุดตามลำดับ ntc แสดงตัวควบคุมที่ไม่มีดีเอ็นเอ



ภาพที่ 5 การตรวจสอบการปนของวัตถุติดปลาปักเป้าในเนื้ออาหารชนิดต่างๆ ntc แสดงตัวควบคุมที่ไม่มีดีเอ็นเอ  
 ตัวอย่างควบคุมเป็นดีเอ็นเอผสมจากปลาทั้ง 3 ชนิด



การแสดงผลของปฏิกิริยาตรวจสอบจาก การเร่งของปฏิกิริยาเมื่อส่องดูด้วยแหล่งกำเนิดแสง UV ในที่มืด และเนื่องจากความสามารถในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแม่ในระบบ 10 ชุด ที่ให้ปริมาณดีเอ็นเอที่มากกว่า ปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR จึงทำให้การเรืองแสงเมื่อทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอไบอนด์เดอร์ มีความสว่างมากพอที่จะตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งทำให้การตรวจมีประสิทธิภาพ (ภาพที่ 6.)



ภาพที่ 6 การตรวจสอบปฏิกิริยาโดยดูจากการเรืองแสงบนชิปบนแหล่งกำเนิดแสง UV ความยาวคลื่น 312 nm และภาพถ่ายมุมใกล้ภายในบริเวณปฏิกิริยาเปรียบเทียบระหว่างไม่เรืองแสง (-) ด้านบนขวา และเรืองแสง (+) ด้านล่างขวา

ด้วยผลการตรวจสอบทั้งความสามารถในการสกัดดีเอ็นเอจำเพาะ ความไวของปฏิกิริยา ทำให้การตรวจการปนของเนื้อปลาลักเป้าในอาหาร สามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในเวลา 40 นาที

การคำนวณต้นทุน พบว่าโครงสร้างชิป มีต้นทุน 250 บาทและต้นทุนของสารเคมี ปฏิกิริยา 150 บาท และหากไม่นับต้นทุนค่าแรงในการดำเนินการและการลงทุนด้านเครื่องมือมากนัก การใช้ระบบปฏิบัติการสมบูรณ์อย่างง่ายนี้ จะช่วยตอบคำถามในการตรวจสอบการปนของปลาลักเป้าในภาคสนามได้เป็นอย่างดี

## เอกสารอ้างอิง

1. Nakayama T., Kurosawa, Y., Furui, S., Kerman, K., Kobayashi, M., Rao., S.R., Yonezawa., Y., Nakano., K., Hino, A., Yamamura., S., Takamura, Y., and Tamiya, E.. 2006. Circumventing air bubbles in microfluidic systems and quantitative continuous-flow PCR applications. *Anal Bioanal Chem* 386: 1327–1333.
2. Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. and Hase, T. 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* 28:e63.

3. Prakash, R., Adamia, S., Sieben, V., Pilarski, P., Pilarski, L.M. and Backhouse, C.J. 2006. Small volume PCR in PDMS biochips with integrated fluid control and vapour barrier. *Sensors and Actuators B: Chemicals* 113:398-409.

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) การศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ในเนื้อสัตว์แช่แข็งในบรรจุภัณฑ์

(ภาษาอังกฤษ) **The study and development of the determination methods of carbon monoxide in packaged frozen meat**

ผู้วิจัย 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์\*  
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จูณวัฒน์กุล  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้นำน้ำเลือดของสัตว์เนื้อแดงประเภทเนื้อปลาทูน่า เนื้อหมู ละเอียดวัว มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ร่องรอยว่าเนื้อสัตว์เหล่านั้นผ่านการบรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบตัดแปรบรรยากาศโดยใช้ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์หรือไม่ โดยใช้เทคนิควิเคราะห์ 2 วิธีคือ เทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี และเทคนิควิสิเบิลสเปกโตรเมตรี สำหรับเทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีนั้นได้พัฒนาการเตรียมตัวอย่างโดยใช้โพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต(III) เพื่อปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ออกจากน้ำเลือดภายใต้สุญญากาศ ตรวจวัดโดยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ระบบ SIM ที่  $m/z$  32 (0-5 นาที) และ  $m/z$  28 (5.01-10 นาที) ได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงสูง สำหรับเทคนิควิสิเบิลสเปกโตรเมตรี ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณคาร์บอกซีไมโอโกลบินในน้ำเลือดที่ค่าความยาวคลื่น 2 ค่าคือ 420 นาโนเมตร และ 431 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการดูดกลืนแสงของคาร์บอกซีไมโอโกลบินและดีออกซีไมโอโกลบินตามลำดับ โดยใช้สารละลายโซเดียมไดไทโอไนต์เป็นตัวรีดิวซ์ ผลวัดได้นำมาคำนวณเป็นปริมาณร้อยละของคาร์บอกซีไมโอโกลบินในปริมาณไมโอโกลบินทั้งหมด วิธีนี้มีการรบกวนจากเมทริกซ์สูง และเหมาะกับการวิเคราะห์เนื้อปลาทูน่าเท่านั้น

คำสำคัญ: คาร์บอนมอนอกไซด์, ไมโอโกลบิน

### Abstract

The meat drips from frozen tuna, beef and pork were analyzed for the trace of carbon monoxide treated-modified atmosphere packaging by using the headspace gas chromatography-mass spectrometry with SIM mode at  $m/z$  32 (0-5 min) and  $m/z$  28 (5.01-10 min), as potassium hexacyanoferrate (III) as a gas-releasing agent. The results had high precision. Another technique used was the visible absorption spectrometry at 420 and 431 nanometer to determine the percentage of carboxymyoglobin in myoglobin solution, using sodium dithionite solution as a reducing agent. The calculated results showed high matrix interferences and this technique was suitable for tuna meat only.

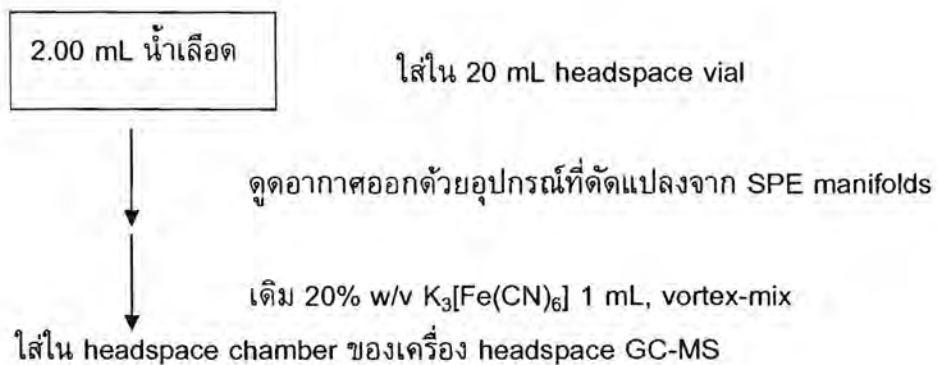
Keywords: carbon monoxide, myoglobin

## วิธีทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของ carboxymyoglobin ในน้ำเลือดของปลาทูน่าแซ่แข็งและสัตว์เนื้อแดงอื่นๆ ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ตัดแปบบรรยากาศ ด้วยเทคนิค headspace Gas chromatography- Mass spectrometry แบบ SIM mode และเทคนิค Visible absorption spectrophotometry แบบ double wavelengths และศึกษาเปรียบเทียบทั้ง 2 วิธี โดยมีผลการวิจัยดังนี้

### 1. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค headspace gas chromatography-mass spectrometry

#### 1.1 วิธีเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Headspace Gas chromatography-Mass – spectrometry



การจัดอุปกรณ์ SPE Manifolds เพื่อดูดอากาศเหนือสารละลายตัวอย่างออก

#### สภาวะของ headspace sampler มีดังนี้

Equilibration time: 15 min พร้อมเขย่า

Injection (purging) time: 5 min

Temperature: 70 °C

#### สภาวะของ GC มีดังนี้

Carrier gas, flow rate: helium gas, 1.5 mL/min

Oven temperature: 40 °C

Column : HP PLOT MOLSIEVE capillary column 30 m X 0.322 mm i.d. X 12  $\mu$ m  
(J&W Scientific)

Detector: Single quadrupoles mass spectrometer

### สภาวะของ MS มีดังนี้

Detector mode: SIM (selected ion monitoring) ที่ m/z 32 (0-5min) และ m/z 28 (5.01-10 min)

Dwell time: 150 msec

Electron ionization (EI) mode: 70 eV

Solvent delay: 1 min

Transfer line temperature: 280  $^{\circ}$ C

### ผลการวิเคราะห์ มีดังนี้

โครมาโทแกรมของตัวอย่างน้ำเลือดปลาทูน่าปรากฏพีคของออกซิเจนที่ 1.17 min และพีคของคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ 6.43 min

ตัวอย่างโครมาโทแกรมของ treated tuna



ผลการวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ปลดปล่อยจากน้ำเลือดของตัวอย่างชนิดต่างๆ และค่าความเที่ยง แสดงในตารางต่อไปนี้

ตารางแสดงปริมาณร้อยละของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ปลดปล่อยจากน้ำเลือด

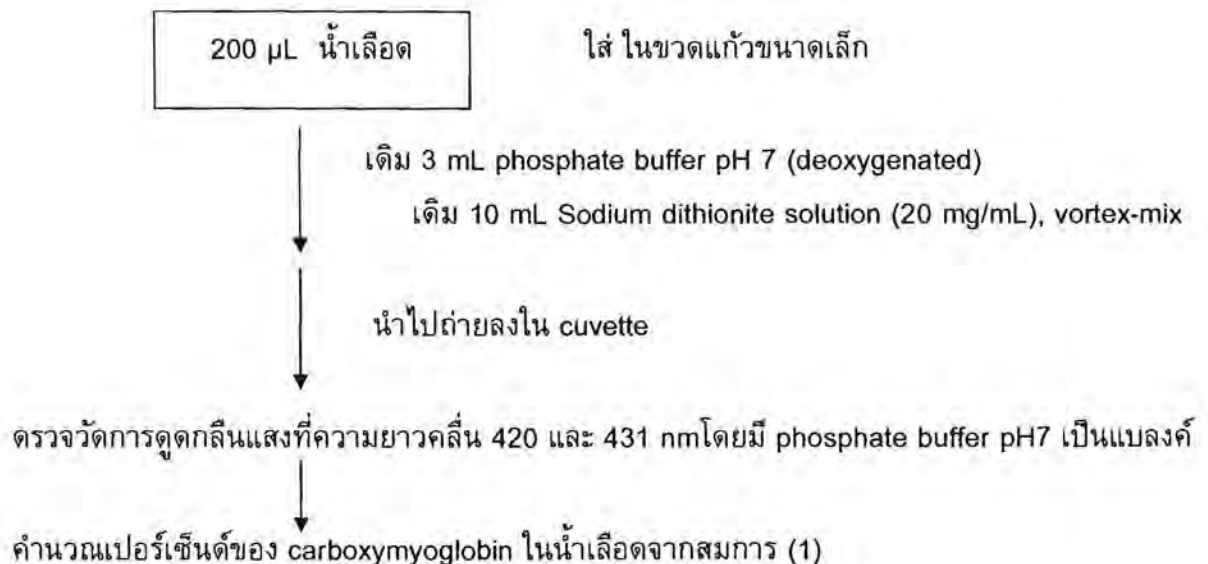
ตัวอย่าง	% CO	% RSD
TT*	74.74	3.00
TP*	74.31	8.59
TB*	76.34	0.14

\*TT = treated tuna, TP = treated pork, TB = treated beef

## อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองจะเห็นว่า เปอร์เซ็นต์ของคาร์บอนมอนอกไซด์ของเนื้อสัตว์แช่แข็งทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อปลาทูน่า เนื้อหมู และเนื้อวัวนั้น มีค่าสูงถึง 70-76 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่าในบรรจุภัณฑ์ของเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิดนั้น ผ่านการตัดแปรรายอากาศโดยมีคาร์บอนมอนอกไซด์อยู่ด้วยจริง และจากค่า %RSD ของการวิเคราะห์ ที่มีค่า 3.00 , 8.59 , 0.14 บ่งบอกว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงสูง

## 2. วิธีเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Visible absorption spectrophotometry - double wavelengths



สมการ (1) :

$$\chi_{\text{co}} = \frac{[A_{(420)} \times 0.78] - [A_{(431)} \times 0.67]}{[A_{(420)} \times 0.32] + [A_{(431)} \times 0.55]}$$

ผลการวิเคราะห์ มีดังนี้

ตัวอย่าง	$\chi_{\text{co}}$ (%)	% RSD
FT**	39.97	5.98
TT*	56.55	8.89
FP**	62.34	-
TP*	137.62	-
FB**	76.52	-
TB*	91.05	-

\*TT, TP, TB = treated tuna, treated pork, treated beef ตามลำดับ

\*\*FT, FP, FB = frozen (non-treated) tuna, pork, beef ตามลำดับ



## อภิปรายผลการทดลอง

1. เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์คาร์บอนมอนอกไซด์ในปลาทUNA 2 แบบ (FT และ TT) เห็นได้ว่าเมื่อเนื้อปลาทUNAบรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์ที่มีการตัดแปรบรรยากาศโดยมีคาร์บอนมอนอกไซด์อยู่ด้วย จะมีค่า  $\chi_{CO}$  (%) สูงกว่า

จากการสังเกตลักษณะของปลาทUNAตัวอย่างในเบื้องต้น พบว่าปลาทUNAสด (FT) นั้น อาจจะไม่สดจริง แต่เป็นการนำปลาทUNAแช่แข็งในบรรจุภัณฑ์ตัดแปรบรรยากาศมาตัดแบ่งเป็นส่วนๆ แล้วบรรจุใหม่ในบรรจุภัณฑ์พลาสติกธรรมดาเพื่อจำหน่าย โดยสังเกตจากเนื้อปลาที่มีสีแดงผิดปกติ และแดงทึบนาน ถึงแม้จะเก็บไว้ในตู้เย็นเป็นเวลานาน ซึ่งเนื้อปลาทUNAสดที่แท้จริงนั้นผู้ทำการทดลอง ไม่สามารถหาซื้อได้ อาจเป็นเพราะปลาทUNAnั้นต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ดังนั้นค่า  $\chi_{CO}$  (%) ที่ได้มีค่าเท่ากับ 39.97 ซึ่งสูงกว่าค่า  $\chi_{CO}$  (%) ของปลาอินทรียีสต์ซึ่งเท่ากับ 17.39 โดยปลาอินทรียีสต์นั้น เป็นปลาสดที่แท้จริง

2. ค่า  $\chi_{CO}$  (%) ของเนื้อหมูสด เนื้อวัวสด มีค่าสูงพอประมาณ แต่ยังไม่ชัดเจน เพราะวัวและหมูเป็นสัตว์บก ในเลือดอาจมี CO อยู่ได้บ้าง เพราะในอากาศก็มี CO ปนอยู่ด้วยเสมอ จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับมลพิษในอากาศ

และเมื่อพิจารณาค่า  $\chi_{CO}$  (%) ของเนื้อวัวและเนื้อหมู ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ตัดแปรบรรยากาศที่มีค่าสูงมากจนผิดปกติ จึงตั้งเป็นข้อสมมติฐานว่า วิธีวิเคราะห์และสมการการคำนวณที่ใช้<sup>1</sup> (สมการ (1)) ไม่เหมาะสมกับน้ำเลือดของเนื้อวัวและเนื้อหมู โดยมีเหตุผลดังนี้

เมื่อสารละลายของผสมระหว่าง carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin ดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 420 และ 431 nm ตามลำดับ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance, A) เป็นดังนี้

$$\text{ที่ } 420 \text{ nm} : A_{\text{total},420} = A_{\text{CO},420} + A_{\text{deoxy},420} \dots\dots\dots (2)$$

$$\text{ที่ } 431 \text{ nm} : A_{\text{total},431} = A_{\text{CO},431} + A_{\text{deoxy},431} \dots\dots\dots (3)$$

โดย  $A_{\text{total},420}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงรวมของ carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin ที่ความยาวคลื่น 420 nm

$A_{\text{total},431}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงรวมของ carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin ที่ความยาวคลื่น 431 nm

$A_{\text{CO},420}$ ,  $A_{\text{CO},431}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ carboxymyoglobin ที่ความยาวคลื่น 420 nm และ 431 nm ตามลำดับ

$A_{\text{deoxy},420}$ ,  $A_{\text{deoxy},431}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ deoxymyoglobin ที่ความยาวคลื่น 420 nm และ 431 nm ตามลำดับ

จาก Beer's Law  $A = \epsilon bc$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

$\epsilon$  คือ ค่า absorptivity (ในที่นี้มีหน่วยเป็น  $\text{cm}^{-1}$ )

b คือ ความกว้างของ cuvette

c คือ ความเข้มข้นของสารละลาย (ในที่นี้มีความเข้มข้นเป็นเศษส่วน (fraction))  
 จากสมการที่ (2) เมื่อ  $b = 1 \text{ cm}$  จะได้

$$A_{\text{total},420} = \epsilon_{\text{CO}(420)}C_{\text{CO}} + \epsilon_{\text{deoxy}(420)}C_{\text{deoxy}} \quad \dots\dots\dots(4)$$

ในทำนองเดียวกับสมการที่ (4) จากสมการที่ (3) จะได้

$$A_{\text{total},431} = \epsilon_{\text{CO}(431)}C_{\text{CO}} + \epsilon_{\text{deoxy}(431)}C_{\text{deoxy}} \quad \dots\dots\dots(5)$$

ความสัมพันธ์ของปริมาณ carboxymyoglobin<sup>1</sup> สามารถหาได้จาก

$$\chi_{\text{CO}} = \frac{C_{\text{CO}}}{C_{\text{CO}} + C_{\text{deoxy}}}$$

หรือ  $\chi_{\text{CO}}$  คือ เศษส่วนปริมาณ (fraction) ของ carboxymyoglobin ในปริมาณรวมของ carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin

ซึ่งการคำนวณโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของ carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin จะได้ความสัมพันธ์ดังสมการ<sup>2</sup>

$$\chi_{\text{CO}} = \frac{A_{(420)}A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(431)} - A_{(431)}A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(420)}}{A_{(420)}[A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(431)} - A^{\text{r}}_{\text{CO}(431)}] + A_{(431)}[A^{\text{r}}_{\text{CO}(420)} - A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(420)}]} \quad \dots\dots(6)$$

โดยเมื่อ  $c = 1$  หมายความว่า เป็นสารบริสุทธิ์ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่งของสารบริสุทธิ์ ( $A^{\text{r}}$ ) จะเท่ากับ  $\epsilon$  ของสารนั้น

จากการแทนค่าการดูดกลืนแสงของสารบริสุทธิ์ จะได้ความสัมพันธ์ดังสมการ<sup>2</sup>

$$\chi_{\text{CO}} = \frac{[A_{(420)} \times 0.78] - [A_{(431)} \times 0.67]}{[A_{(420)} \times 0.32] + [A_{(431)} \times 0.55]} \quad \dots\dots\dots(1)$$

โดย

$$A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(431)} \text{ หรือ } \epsilon_{\text{deoxy}(431)} = 0.78$$

$$A^{\text{r}}_{\text{deoxy}(420)} \text{ หรือ } \epsilon_{\text{deoxy}(420)} = 0.67$$

$$A^{\text{r}}_{\text{CO}(431)} \text{ หรือ } \epsilon_{\text{CO}(431)} = 0.46$$

$$A^{\text{r}}_{\text{CO}(420)} \text{ หรือ } \epsilon_{\text{CO}(420)} = 1.22$$

จากเอกสารอ้างอิง<sup>2</sup> สารบริสุทธิ์ของ carboxymyoglobin และ deoxymyoglobin เตรียมจาก myoglobin ของปลาทูน่า และนำไปแทนค่าในสมการ (6) ได้ผลลัพธ์เป็นสมการ (1) ที่ใช้ในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของ carboxymyoglobin ดังนั้นเมื่อนำสมการ (1) นี้ไปใช้กับน้ำเลือดของสัตว์เนื้อแดงอื่นๆ เช่นเนื้อหมู เนื้อวัว ย่อมมีข้อผิดพลาดได้ เนื่องจากปริมาณของ myoglobin ในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดนั้นแตกต่างกัน

**3. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ในน้ำเลือดของเนื้อสัตว์ ด้วยเทคนิค visible absorption spectrophotometry กับ headspace Gas chromatography-Mass-spectrometry**

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค headspace GC-MS ให้ผลในรูปของเปอร์เซ็นต์ของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ในก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ที่รวมกับก๊าซออกซิเจน ที่ปลดปล่อยมาจากน้ำเลือด เพื่อบ่งชี้ว่าเนื้อสัตว์แช่แข็งนั้นผ่านการบรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด carbon monoxide treated-modified atmosphere packaging (CO-MAP) หรือไม่ ซึ่งเทคนิค headspace จะช่วยให้ไม่มีการรบกวนจากเมทริกซ์ของตัวอย่าง การดูดเอาอากาศเหนือตัวอย่างในขวดออกก่อนเป็นการลดการรบกวนจากก๊าซอื่นโดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซออกซิเจนในอากาศ ปริมาณของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และก๊าซออกซิเจนที่ถูกปลดปล่อยจากน้ำเลือดมีปริมาณไม่มาก และมวลของคาร์บอนมอนอกไซด์ (28) และออกซิเจน (32) ต่างกันไม่มาก การที่จะใช้ full scan mode (m/z 10 ถึง 40) ของ mass spectrometer จึงไม่ไหวพอที่จะตรวจวัดได้ แต่การใช้ SIM mode ที่ m/z 32 และ 28 และตั้งโปรแกรมเป็น 2 ช่วง คือ m/z 32 (0-5 min) และ m/z 28 (5.01-10 ) จะทำให้มีเวลาพอที่จะสะสมสัญญาณ วิธีวิเคราะห์นี้จึงไวต่อการตรวจวิเคราะห์ และจากค่าความเที่ยง (%RSD) ที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่ดีมาก

เนื่องจากงานวิจัยนี้ประสบปัญหา ไม่สามารถสังฆ์ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ หรือก๊าซผสมมาตรฐานที่ทราบสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์มาใช้ได้ จึงไม่สามารถเตรียม carboxymyoglobin บริสุทธิ์ เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณที่แท้จริง (absolute value) ของ carboxymyoglobin ในน้ำเลือดได้ ด้วยเหตุนี้จึงตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี visible absorption spectrophotometry โดยเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค headspace GC-MS ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง และมีความแม่นยำสูง

ผลเปรียบเทียบการวิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธี เป็นดังที่แสดงในตารางต่อไปนี้  
**ตารางเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค visible absorption spectrophotometry กับเทคนิค headspace GC-MS**

ตัวอย่าง	Headspace GC-MS		Visible absorption spectrophotometry		RPD
	% CO	% RSD	$\chi_{CO}$ (%)	% RSD	
TT	74.74	3.00	56.55	8.89	-18.19
TP	74.31	8.59	137.62	-	+63.31
TB	76.34	0.14	91.05	-	+14.71

RPD คือ relative percent difference

เนื่องจากว่าเทคนิค headspace GC-MS นี้จัดว่าเป็นเทคนิคขั้นสูง ที่มีความเที่ยงและเฉพาะเจาะจงสูงจึงจัดไว้เป็นเทคนิคมาตรฐานเพื่อนำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค visible absorption spectrophotometry มาเปรียบเทียบกับ

สำหรับการวิเคราะห์ปลาทูน่า (TT) เทคนิค visible absorption spectrophotometry ให้ผลการวิเคราะห์ต่ำกว่าเทคนิค headspace GC-MS โดยมีค่า RPD เท่ากับ -18.19 ซึ่งน้อยกว่า 20 จึงยอมรับได้ และมีข้อสังเกตอื่นๆ เพิ่มเติมดังนี้

1. สมการ (1) ที่ใช้ในการคำนวณ เป็นสมการที่เหมาะสม เพราะเป็นสมการที่คำนวณมาจากค่า absorptivity ของ myoglobin ของปลาทูน่า แต่ในทางกลับกัน ถ้าคำนึงถึงปลาทูน่าชนิดต่างๆ ที่มีสีเนื้อต่างๆกัน เช่น สีแดงมาก สีส้มออกเหลือง หรือสีเหลืองออกน้ำตาลเป็นต้น จะสามารถใช้สมการ (1) ในการคำนวณโดยไม่เกิดความคลาดเคลื่อนอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่

2. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค headspace GC-MS เป็นเทคนิคที่มีการแยก จึงให้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำปราศจากการรบกวน แต่เทคนิค visible absorption spectrophotometry เป็นการวิเคราะห์ใน bulk solution จึงมีโอกาสสูงที่จะเกิดการรบกวนและเกิด false determination

สำหรับผลการวิเคราะห์เนื้อหมูและเนื้อวัวนั้นยอมรับไม่ได้ โดยมีค่า RPD ที่ค่อนข้างสูงในกรณีของเนื้อวัว (TB) และสูงเกินไปในกรณีของเนื้อหมู (TP) และผลการวิเคราะห์ของเทคนิค visible absorption spectrophotometry แตกต่างจากผลการวิเคราะห์ของเทคนิค headspace GC-MS ในเชิงบวก (สูงกว่า) จึงสรุปเป็นสาเหตุได้ดังนี้

ก. สมการ (1) ไม่เหมาะกับการคำนวณเปอร์เซ็นต์คาร์บอนมอนอกไซด์ในน้ำเลือดของเนื้อวัว(ที่มีสีแดงมาก) และเนื้อหมู (ที่มีสีแดงเรื่อๆ)

ข. ผลการวิเคราะห์ที่สูงเกินไป บ่งบอกว่ามีการรบกวนในลักษณะแทรกเสริม เพราะเป็นการวิเคราะห์ใน bulk solution

แต่อย่างไรก็ดีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Visible absorption spectrophotometry เป็นเทคนิคที่ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทั่วไป และเทคนิค double wavelengths ที่ใช้ก็สามารถปฏิบัติได้ในเครื่อง UV- Visible spectrophotometry ทุกชนิดทุกรุ่น จึงเหมาะที่วิธีนี้เพื่อตรวจวิเคราะห์ร่องรอยของ carboxymyoglobin ในน้ำเลือด เพื่อป้องกันการมีบรรจุภัณฑ์แบบ CO-MAP ซึ่งส่วนใหญ่จะไม่มีกระบวนการทำให้ผู้บริโภคทราบ แต่เนื่องจากว่าเทคนิคนี้เป็น การวิเคราะห์ใน bulk solution จึงมีสิ่งรบกวนต่างๆมากมาย เช่น การเป็นคอลลอยด์ของสารละลาย การตกตะกอนของโปรตีน ความหนาแน่นของไมโอโกลบิน รวมถึงสีของน้ำเลือดในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน และผลการวิเคราะห์ที่แตกต่างจากผลวิเคราะห์ของวิธี headspace GC-MS ยืนยันว่าเทคนิคนี้มีความคลาดเคลื่อนสูง จึงอาจใช้เป็นเพียงวิธีวิเคราะห์เบื้องต้นเท่านั้น แต่อย่างไรก็ดีการวิเคราะห์ร่องรอยของ CO-MAP ก็ไม่มีความจำเป็นที่ต้องวิเคราะห์อย่างละเอียด จึงสามารถใช้วิธีวิเคราะห์นี้ในห้องปฏิบัติการทดสอบอาหารภาคสนาม (at site analysis) ณ สถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ หรือด่านตรวจสอบอาหารนำเข้าได้

## เอกสารอ้างอิง

1. Anderson, C.R. and Wu, W., "Analysis of carbon monoxide in commercially treated tuna (*Thunnus spp.*) and mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) by gas chromatography/mass spectroscopy" *J. Agric. Food Chem.* 53, (2005):7019-7023.
2. Smulevich, G., Droghetti, E., Focardi, C., Coletta, M., Ciaccio, C. and Nocentini, M., "A rapid spectroscopic method to detect the fraudulent treatment of tuna fish with carbon monoxide" *Food Chemistry* 101,(2007) :1071-1077.
3. Martinez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltran, J.A. and Roncales, P., "Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere" *Meat Science* 71,(2005):563-570.
4. Wilkinson, B.H.P., Janz, J.A.M., Morel, P.C.H., Purchas, R.W. and Hendriks, W.H. "The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork" *Meat Science* 73,(2006):605-610.
5. Wicklund, R.A., Paulson, D.D., Tucker, E.M., Stetzer, A.J., DeSantos, F., Rojas, M., MacFarlane, B.J. and Brewer, M.S. "Effect of carbon monoxide and high oxygen modified atmosphere packaging and phosphate enhanced, cased-ready pork chops" *Meat Science* 74,(2006):704-709.
6. Seyfert, M., Mancini, R.A., Hunt, M.C., Tang, J., and Faustman, C., "Influence of carbon monoxide in package atmospheres containing oxygen on colour, reducing activity, and oxygen consumption of five bovine muscles" *Meat Science* 75,(2007):432-442.
7. Czogala, J., Wardas, W. and Goniewicz, M.L., "Determination of low carboxyhemoglobin blood levels by gas chromatography" *Analytica Chimica Acta* 556,(2006):295-300.



## การไมเกรทของพลาสติกไซเซอร์จากแผ่นปะเก็นรองฝาโลหะของขวดแก้วสู่อาหาร

### Migration of Plasticizers from Metal Lid Gasket of Glass Jar into Food

<sup>1</sup>จันทร์จิรา จันท์ประเสริฐ, <sup>2</sup>ดวงททัย เพ็ญตระกูล, <sup>1</sup>ณัฐชนัญ ลิพิพัฒน์ไพบุลย์, <sup>1</sup>ศิริพัสดร์ ไชยันต์

<sup>1</sup>หน่วยวิจัยการแยกสารและโครมาโทกราฟี ภาคเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup>ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทร (02) 218-7608 โทรสาร (02) 254-1309 อีเมลล์ siripastr.ja@chula.ac.th

#### บทคัดย่อ

ปัญหาการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์จากปะเก็นฝาขวดแก้วเข้าสู่อาหารกำลังเป็นที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการส่งออกของไทยอย่างมาก โดยเฉพาะอาหารประเภทที่มีน้ำมันหรือไขมันเป็นองค์ประกอบจะพบปัญหาการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์เกินค่าขีดจำกัดของสหภาพยุโรปอยู่เสมอ แม้ว่าปัจจุบันผู้ประกอบการผลิตฝาโลหะได้ปรับเปลี่ยนชนิดและส่วนผสมของปะเก็นเพื่อลดการไมเกรทของพลาสติกไซเซอร์ให้สอดคล้องกับระเบียบของประเทศคู่ค้าแล้วก็ตาม ปัญหาการไมเกรทชันที่เกินค่าขีดจำกัดยังคงเกิดขึ้น งานวิจัยนี้ได้นำแบบจำลองการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์จากแผ่นปะเก็นมาใช้ในการศึกษาตัวแปรและปัจจัยสำคัญของกระบวนการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์ 4 ชนิด ได้แก่ ESBO, TAC, DBS และ DINCH ในตัวแทนอาหารประเภทน้ำมันซึ่งพบการปนเปื้อนสูงสุด

#### วิธีการทดลอง

##### 1. แบบจำลองที่ใช้

การจำลองการไมเกรทชันทำในขวดแก้วใส ปริมาตรบรรจุ 115 ลิตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 51.2 มิลลิเมตร สูง 86.5 มิลลิเมตร น้ำหนัก 105 กรัม ใช้ฝาปิดชนิดฝาเกลียว RTP เส้นผ่านศูนย์กลาง 48 มิลลิเมตร น้ำหนัก 6.6 กรัม ภายในมีปะเก็นพีวีซีกว้าง 13 มิลลิเมตร น้ำหนักปะเก็น 0.99 กรัม/ฝา

##### วิธีการจำลองการไมเกรทชัน

- เทน้ำมันมะกอกที่ใช้เป็นตัวแทนอาหาร (food simulant) ลงในขวดแก้ว ปิดฝาให้สนิท
- คว่ำขวดแก้วที่บรรจุตัวแทนอาหารใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C เป็นเวลา 30 วัน เพื่อศึกษาผลของเวลาที่ติดต่อการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์ในตัวแทนอาหาร
- ศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชันที่มีต่อปริมาณการไมเกรทชันของพลาสติกไซเซอร์ในตัวแทนอาหาร โดยนำขวดแก้วที่บรรจุตัวแทนอาหารไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในลักษณะคว่ำ จากนั้นทิ้งให้เย็น แล้วนำไปเก็บใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C เป็นเวลา 30 วัน



- สำหรับการศึกษากลของอนุกรมที่มีต่อการไมเกรชันของพลาสติกไซเซออร์ นำขวดแก้วที่บรรจุตัวแทนอาหารไปคว่ำไว้ใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C, 40 °C และ 60 °C เป็นเวลา 10 วัน ตามลำดับ
- วิเคราะห์ปริมาณของพลาสติกไซเซออร์ที่ไมเกรชันในตัวแทนอาหาร

2. การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ epoxidized soybean oil (ESBO): นำน้ำมันมะกอกมาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ริฟิเคชันด้วย 5% methoxide เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปสมบูรณ์แล้ว เติมเฮปแทนและไดโซเดียมไฮโดรเจนซัลไฟด์เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS

3. การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณ monomeric plasticizers: สกัดพลาสติกไซเซออร์ในน้ำมันมะกอกด้วย MTBE/hexane แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย PTV GC-MS

4. สภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสมโดยแก๊สโครมาโทกราฟี

#### 4.1 วิธีการวิเคราะห์ epoxidized soybean oil (ESBO)

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
Column	Agilent Rtx-2330: (90% biscyanopropyl /10% phenylcyanopropyl polysiloxane), 15 m × 0.25 mm i.d. × 0.2 μm
Temperature program	initial 110°C for 1 min, 20°C/min to 200°C, 8°C /min to 260°C (2 min)
Injector	split/splitless, 1 μL, 110°C
Carrier gas	helium, 3 mL/min
Detector	mass spectrometer

#### 4.2 วิธีการวิเคราะห์ monomeric plasticizers (TAC, DBS และ DINCH)

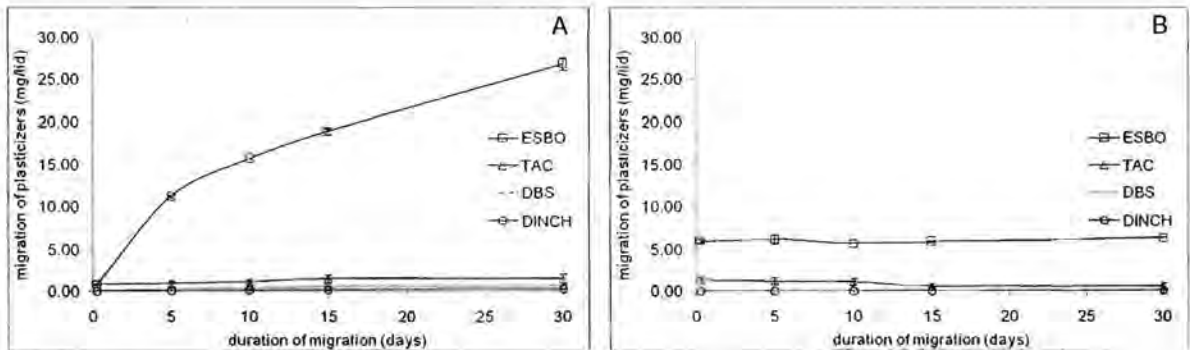
พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
Column	pre-column: Agilent DB-1: (100% dimethyl polysiloxane), 0.5 m × 0.25 mm i.d. T-piece, line to backflush: fused silica tubing: 13 cm × 0.15 mm i.d. separation column: Rtx-225: (50% cyanopropyl/50% phenylmethyl polysiloxane), 15 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm
Temperature program	initial 90°C for 4 min, 25°C/min to 190°C, 20°C/min to 240 (10 min)
Injector	PTV splitless, 2μL, 60°C for 0.2 min, 14.5°C/sec to 250°C (16.8min), 14.5°C/sec to 350°C (5min)
Carrier gas	helium, 50 mL/min
Detector	mass spectrometer

## ผลการทดลอง

ผลการจำลองกระบวนการไมเกรชันของพลาสติกไซเซออร์ในตัวแทนอาหารประเภทน้ำมัน (น้ำมันมะกอก) พบว่าการไมเกรชันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่

1. ระยะเวลาในการสัมผัส (ภาพที่ 1A) การไมเกรชันของพลาสติกไซเซออร์แปรผันโดยตรงกับเวลาในการสัมผัส โดยพบการไมเกรชันสูงสุดที่ 30 วันในกรณีของ ESBO พบการไมเกรชันสูงสุดที่ 26.84 มิลลิกรัม ซึ่งสูงกว่าปริมาณเบื้องต้นถึง 31 เท่า กราฟของการไมเกรชันตัวกลางประเภทน้ำมันของ TAC, DBS และ DINCH นั้นพบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (2-4%) ใน 30 วัน

2. ในกรณีที่อาหารต้องผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชัน พบว่าการให้ความร้อนเบื้องต้นไม่มีผลต่อการไมเกรทของ TAC, DBS และ DINCH แต่อย่างใด ส่วนกรณีของ ESBO นั้นพบว่าการให้ความร้อนเบื้องต้นจะทำให้มีการไมเกรทเบื้องต้นสูงขึ้นเล็กน้อยแต่หลังจากนั้นจะไม่มีมีการไมเกรทเพิ่มขึ้นอีก ปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายได้ว่าการให้ความร้อนสูงในระยะเวลาสั้นนั้นทำให้พลาสติกไซเซออร์ถูกสกัดออกมาเป็นจำนวนมากจนเกิดเป็น layer of de-plasticized ขึ้นบริเวณผิวสัมผัสของปะเก็น เนื่องจากปริมาณของพลาสติกไซเซออร์ในชั้นนี้มีปริมาณน้อยจึงไม่พบการปนเปื้อนจากพลาสติกไซเซออร์เพิ่มขึ้นอีกแม้จะทิ้งให้สัมผัสกับน้ำมันเป็นเวลานานถึง 30 วัน



ภาพที่ 1 ปริมาณ ESBO, TAC, DBS และ DINCH ที่พบในตัวแทนอาหารประเภทน้ำมันเมื่อ incubate ที่อุณหภูมิ 30 °C ที่ระยะเวลาต่างๆ (A) การ incubate ที่อุณหภูมิตั้งที่ (B) การ incubate หลังกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 1 ชั่วโมง

3. อุณหภูมิของการสัมผัสแปรผันโดยตรงกับปริมาณการปนเปื้อน พบว่าการ incubation ที่ 60 °C จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนสูงสุดดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของพลาสติกไซเซออร์สามารถเคลื่อนที่ได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้พบปริมาณโมเลกุลพลาสติกไซเซออร์ในตัวแทนอาหารสูงขึ้น

**ตารางที่ 1** ปริมาณ ESBO, TAC, DBS และ DINCH ในตัวแทนอาหารที่อุณหภูมิต่างๆ incubation time 10 วัน

Incubation Temperature (°C)	ปริมาณพลาสติกไซเซอรินในตัวแทนอาหาร (mg/lid)			
	ESBO	TAC	DBS	DINCH
30	15.69 ± 0.01	1.19 ± 0.29	0.49 ± 0.09	0.19 ± 0.02
40	17.48 ± 0.69	0.98 ± 0.36	0.62 ± 0.11	0.24 ± 0.02
60	21.12 ± 1.70	1.31 ± 0.52	0.78 ± 0.22	0.29 ± 0.02

4. ผลของขนาดโมเลกุลต่อความสามารถในการไมเกรชัน พลาสติกไซเซอรินโมเลกุลเล็กจะสามารถไมเกรทได้ดีกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ สังเกตจากปริมาณการไมเกรชันของ TAC มากกว่า DBS และ DINCH ตามลำดับ เนื่องจากพลาสติกไซเซอรินโมเลกุลเล็กจะเคลื่อนที่และไมเกรทไปยังบริเวณผิวร่วมได้ง่ายและรวดเร็วกว่าพลาสติกไซเซอรินโมเลกุลใหญ่ จึงถูกสกัดด้วยตัวแทนอาหารได้มากกว่า

**ตารางที่ 2** ปริมาณของ ESBO, TAC, DBS และ DINCH ที่อุณหภูมิ 30 °C

ระยะเวลาสัมผัส (วัน)	ปริมาณพลาสติกไซเซอรินในตัวแทนอาหาร (mg/lid)			
	ESBO (M.W. 950)	TAC (M.W. 218)	DBS (M.W. 314)	DINCH (M.W. 424)
0.25	0.87 ± 0.07	0.88 ± 0.36	0.17 ± 0.05	0.08 ± 0.01
5	11.24 ± 0.16	0.97 ± 0.29	0.32 ± 0.15	0.13 ± 0.00
10	15.69 ± 0.01	1.19 ± 0.29	0.49 ± 0.09	0.19 ± 0.02
15	18.92 ± 0.36	1.24 ± 0.19	0.63 ± 0.12	0.26 ± 0.06
30	26.84 ± 0.78	1.55 ± 0.52	0.74 ± 0.10	0.33 ± 0.05

### สรุปผลการทดลอง

การไมเกรชันของพลาสติกไซเซอรินในปะเก็นสามารถเกิดได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ เวลาที่สัมผัส การพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิสูง อุณหภูมิและขนาดของโมเลกุล โดยพบว่า ESBO จะเกิดการไมเกรชันได้มากที่สุดและมีแนวโน้มที่จะเกินค่าขีดจำกัดการไมเกรชันที่ 60 mg/kg ขณะที่ TAC, DBS และ DINCH จะให้ค่าการไมเกรชันที่ต่ำมาก นอกจากนี้หากตัวแทนอาหารมีการสัมผัสกับความร้อนพลาสติกไซเซอรินจะถูกกระตุ้นให้เกิดการไมเกรชันเพิ่มมากขึ้น แต่หากได้รับความร้อนสูงที่ระยะเวลาสั้นๆ เช่น การทำพาสเจอร์ไรเซชันจะพบว่า การไมเกรชันให้ค่าสูงและคงที่ นอกจากนี้ขนาดของพลาสติกไซเซอรินที่เล็กกว่าจะเกิดการไมเกรชันได้มากกว่ายังมีผลต่อการไมเกรชันที่เพิ่มขึ้นด้วย

### เอกสารอ้างอิง

1. Fiselier, K., Biedermann, M., Grob, K. J. Sep Sci. 2005, 28, 2144.
2. Fankhauser-Noti, A. and Grob, K. Trends in Food Science and Technology. 2006, 233, 447.

วิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ร่วมกับเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส สำหรับแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์

## ON-LINE SOLID PHASE EXTRACTION COUPLED WITH SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS FOR THE SEPARATION AND DETERMINATION OF SULFONAMIDES

อรรรรณ ชัยลภากุล , พิมพ์ขวัญ จันทรทีประ

**บทคัดย่อ:** ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาการแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์ โดยใช้วิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ร่วมกับเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส สำหรับกระบวนการการสกัดด้วยเฟสของแข็งนั้น จะมีคอลัมน์ขนาดเล็กซึ่งทำขึ้นเอง ภายในบรรจุด้วยอนุภาคของตัวดูดซับ กระบวนการนี้จะเป็นอัตโนมัติทั้งในการกำจัดสิ่งเจือปนออกจากตัวอย่างและการสกัด ซึ่งกระบวนการนี้จะต่อกับระบบ ซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส โดยที่ระบบนี้จะประกอบไปด้วย บัมสำหรับควบคุมการไหล และวาล์ว วิธีนี้สามารถที่จะทำได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่การสกัดสารซัลโฟนาไมด์จากตัวอย่างที่เป็นของเหลว ไปจนถึงการแยกสารที่เราสนใจโดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า งานวิจัยนี้ได้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ได้แก่ ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารที่ใช้เป็นตัวชะ, อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชะสารตัวอย่าง และโซนของสารที่ถูกชะออกมา จากการศึกษาพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมของสารที่ใช้ชะคือ เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ 100:0, อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชะสารตัวอย่างที่เหมาะสมคือ 10 ไมโครลิตรต่อวินาที และโซนของสารที่ถูกชะที่เหมาะสมคือ 20-24 วินาที ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของพีกกับความเข้มข้นของสารซัลโฟนาไมด์เป็นเส้นตรงในช่วง 0.01-8 ส่วนในล้านส่วน จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย, รวดเร็ว และมีความไวสูงสำหรับการแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์

### วิธีการทดลอง

นำอนุภาคของแข็งชนิด Oasis HLB จาก SPE จำนวน 0.048 กรัมบรรจุลงในท่อ นำท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งต่อกับเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส เพื่อเตรียมทำการสกัดตัวอย่างแบบอัตโนมัติ จากนั้นนำระบบซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสต่อเข้ากับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยคอลัมน์ที่ใช้คือ โมโนลิติกคอลัมน์ C<sub>18</sub> (monolithic column C<sub>18</sub>) และการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้คือ เทคนิคแอมเพโรเมทรี (Amperometry) ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างโดยการสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน หรือใช้การเดิมสารมาตรฐาน และขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับงานวิจัยนี้คือ ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอน ดังรูป



**รูปที่ 1** การสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติ โดยใช้เทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

**ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติในการวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี**

นำสารละลายมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ 10 ppm ผ่านลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE และหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการชะสารซัลโฟนาไมด์จากเฟสของแข็งพร้อมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสโดยมีคอลัมน์มोनอลิตสำหรับแยกสารทั้ง 7 ชนิด ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

1. ศึกษาอัตราเร็วในการชะเฟสของแข็งที่เหมาะสมของสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดโดยทำการศึกษาที่อัตราเร็ว 8, 9, 10 และ 11 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยทำการผ่านสารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเมทานอล กับmobile phase คือ สารละลายฟอสเฟสไพเฟอร์ต่ออะซีโตนไนไตรด์ต่อเอทานอล ในอัตราส่วน 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 โดยทำการผ่านสารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE

3. ศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชะสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดด้วยเมทานอลโดยทำการผ่านสารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE



## ผลการทดลอง

ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติในการวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

1. ศึกษาอัตราการเร็วของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชะสารตัวอย่างที่เหมาะสมของสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด อัตราเร็วของการชะที่เหมาะสมของสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด คือ 10 ไมโครลิตรต่อวินาทีเนื่องจากสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดมีการแยกที่ดี และให้สัญญาณตอบสนองที่สูงที่สุด

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ต่ออะซีโตนไนไตรด์ต่อเอทานอล อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือ เมทานอล 100% เนื่องจากให้สัญญาณตอบสนองที่สูงที่สุด และได้สัญญาณของสารซัลโฟนาไมด์ครบทั้ง 7 ชนิด

3. ศึกษาเวลาที่ที่เหมาะสมสำหรับการชะสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดด้วยเมทานอลโดยทำการผ่านสารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE พบว่าเวลาที่ที่เหมาะสมสำหรับการชะสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด คือ วินาทีที่ 20-24 วินาที เนื่องจากให้สัญญาณตอบสนองที่สมบูรณ์ที่สุด

ค่าความเป็นเส้นตรง และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้

ตารางที่ 1 แสดง Linearity, LOD และ LOQ

Analyte	Linearity ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Slope (peak area units / ppm)	Intercept ( $\mu\text{A}$ )	$R^2$	LOD ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
Sulfaguanidine	0.01-8	0.0101	0.014	0.9972	1.75	5.85
Sulfadiazine	0.01-8	0.0348	0.0152	0.9981	0.27	0.88
Sulfamethazine	0.01-8	0.0244	0.0117	0.9998	0.34	1.13
Sulfamonomethoxine	0.01-8	0.0186	0.0104	0.9993	0.42	1.42
Sulfamethoxazole	0.01-8	0.0165	0.0114	0.9997	0.44	1.47
Sulfadimethoxine	0.1-8	0.006	0.0088	0.9972	1.23	4.1
Sulfaquinolaxine	0.1-8	0.0035	0.0082	0.9941	1.85	6.18



## สรุปผลการทดลอง

การสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัดโนมิติโดยใช้เทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส ใช้ระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อยและลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย ในการทดลองนี้ได้ศึกษา สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัดโนมิติ ร่วมกับเทคนิค ซีเควินเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสและเทคนิคแอมเพอโรเมตรีดังนี้ อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการ ผ่านสารตัวอย่างและการชะสารตัวอย่าง คือ 10 ไมโครลิตรต่อวินาที, อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือ 100:0 และ เวลาที่เหมาะสมสำหรับการชะสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด คือ วินาทีที่ 20-24 วินาที จากสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเฟสของแข็ง แบบอัดโนมิติทำให้สามารถตรวจวัดสารซัลโฟนาไมด์ 7 ชนิด โดยใช้ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโคร มาโทกราฟีร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมตรีได้สัญญาณการตอบสนองที่ดีและลดเวลาในการ เตรียมตัวอย่างลง

## บรรณานุกรม

- [1] Preechaworapun, A., Chuanuwatanakul, S., Einaga, Y., Grudpan, K., Motomizu, S., Chailapakul, O., "Electroanalysis of sulfonamides by flow injection system/high-performance liquid chromatography coupled with amperometric detection using boron-doped diamond electrode", *Talanta*, 68 . (2006) : 1726-1731.
- [2] Cubarsi, M. G., Castellari, M., Valero, A., Ragueiro, J. A., "A simplified LC-DAD method with an RP-C<sub>12</sub> column for routine monitoring of three sulfonamides in edible calf and pig tissue" *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 385. (2006) : 1218-1224.
- [3] Gehring, T. A., Griffin, B., Williams, R., Geiseker, C., Rushing, L. G., Siitonen, P. H., "Multiresidue determination of sulfonamides in edible catfish shrimp and salmon tissues by high-performance liquid chromatography with postcolumn derivatization and fluorescence detection", *Journal of Chromatography B*, 840. (2006) : 132-138.
- [4] Kishida, K., Furusawa, N., "Matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatographic determination of residual sulfonamides in chicken", *Journal of Chromatography A*, 937. (2001) : 49-55.
- [5] Fuh, M. S., Chu, S., "Quantitative determination of sulfonamide in meat by solid-phase extraction and capillary electrophoresis", *Analytica Chimica Acta*, 499. (2003) : 215-221.

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินใน  
ผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด: การประยุกต์ในเครื่องแกงต่าง ๆ

Development of Analytical Methods and Determination of Capsaicin and  
Dihydrocapsaicin in Chili Products and Hot Spicy Food: Application to Chili Paste

ธรรมบุญ หนูจักร\*, กนกวรรณ วรดง, วาสนา โดเลี้ยง, อมร เพชรสม

หน่วยปฏิบัติการวิจัยการแยกและโครมาโทกราฟี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

ได้พัฒนาวิธีการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินอยด์ (CAPs) ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์ อิเล็กโตรโครมาโทกราฟี (MEKC) พร้อมด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่าง เครื่องแกงสำเร็จรูป โดยใช้ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกและหาปริมาณวิเคราะห์แคปไซซินอยด์ที่ ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ คือ uncoated fused silica capillary ขนาด 50  $\mu\text{m}$  i.d.  $\times$  40.2 cm (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด) บรรจุสารด้วยความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 5 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm ศักย์ไฟฟ้า 25 kV และควบคุมอุณหภูมิที่ 25  $^{\circ}\text{C}$  และบัฟเฟอร์ของ MEKC ประกอบด้วยบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 mM ที่ pH 9.2 โซเดียมโตะเตกซิลซัลเฟต 60 mM เป็นไมเซลลาร์เฟส และอะซิโตนในโทลล์ 15 % โดยปริมาตร และได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ CAPs ในซอสพริก โดยทำการสกัด CAPs ในตัวอย่างด้วยเอทิลอะซิเตต พร้อมทั้งเติมเกลือลงไปเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด นอกจากนี้ยังวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับตัวอย่างที่เป็นเครื่องแกงสำเร็จรูป ชนิดต่างๆ เช่น น้ำพริกแกงส้ม เครื่องต้มยำ น้ำพริกพะแนง น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงมัสมั่น เป็นต้น ดังนั้นเทคนิค MEKC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้น สามารถใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปบางชนิดได้ เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

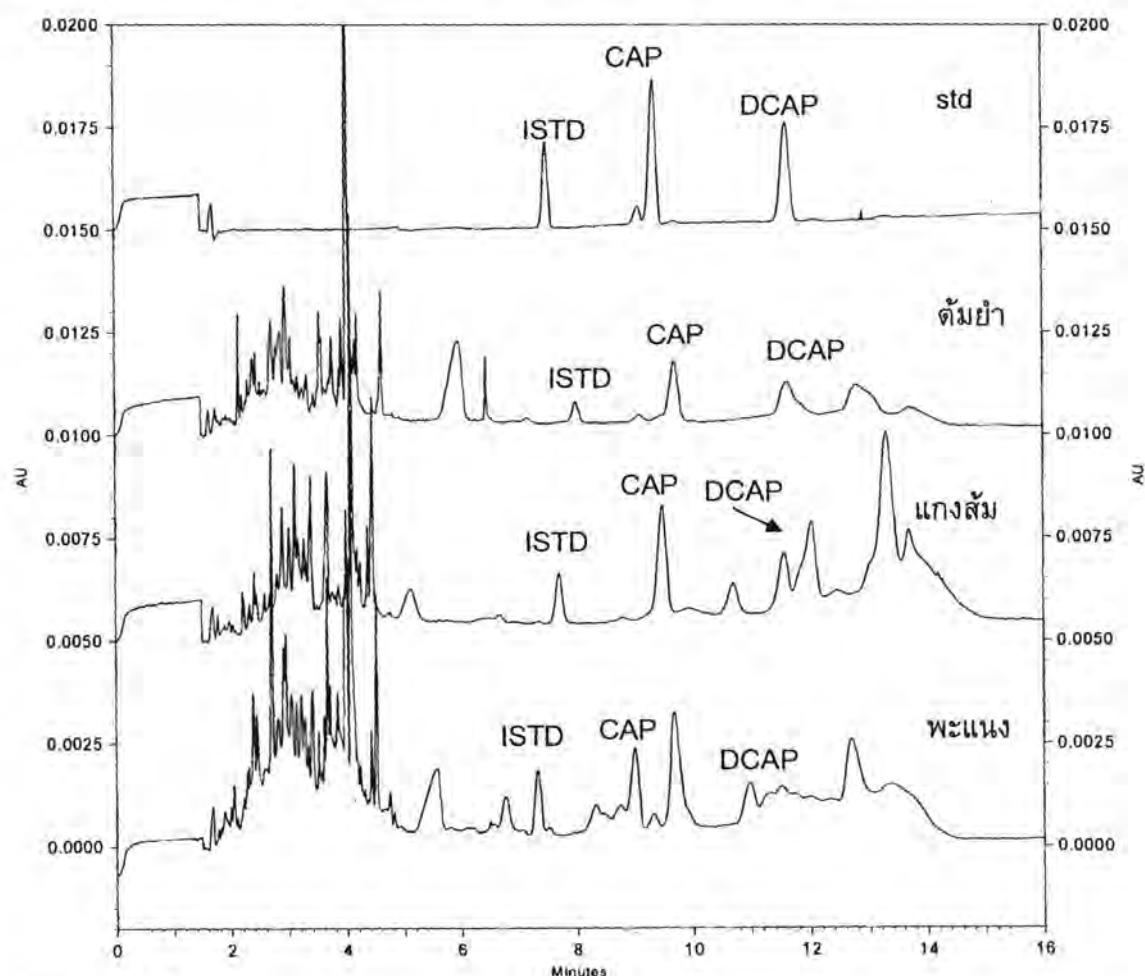
### วิธีการทดลอง

วิธีการเตรียมตัวอย่างเครื่องแกงสำเร็จรูป ชั่งตัวอย่างเครื่องแกง 2.5 กรัม ลงในหลอดพลาสติกขนาด 50 mL เติมเอทิลอะซิเตต 10 mL และนำไปออร์เทกซ์เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเติม anhydrous  $\text{MgSO}_4$  1.0 กรัมและ NaCl 2.5 กรัม แล้วนำไปออร์เทกซ์อีกครั้งเป็นเวลา 4 นาทีและเซนตริฟิวจ์ที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเปิดชั้นเอทิลอะซิเตต 8.0 mL ลงในหลอดทดลอง และนำไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (rotary evaporator) แล้วนำส่วนที่ระเหยแห้งมาละลายโดยให้สารละลายตัวอย่างที่พร้อมนำไปวิเคราะห์ด้วย MEKC ประกอบด้วย 50 ppm บิสฟีนอลเอ (เป็น internal standard) 60 mM SDS และ 15% อะซิโตนในโทลล์ และกรองด้วย 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE syringe filter ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย MEKC

ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์แคปไซซินอยด์ในตัวอย่างเครื่องแกงสำเร็จรูป ใช้เครื่องกะพิลลารีอิลีกโทรฟอริซิสรู่น P/ACE MDQ ยี่ห้อ Beckman กะพิลลารีคอลัมน์เป็น uncoated fused silica capillary ขนาด 50  $\mu\text{m}$  i.d.  $\times$  40.2 cm (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด) บรรจุสารด้วยความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 5 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm ศักย์ไฟฟ้า 25 kV และควบคุมอุณหภูมิที่ 25  $^{\circ}\text{C}$  และบัฟเฟอร์ของ MEKC ประกอบด้วยบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 mM ที่ pH 9.2 โซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต 60 mM เป็นไมเซลลาร์เฟส และอะซิโตนไนโตรล์ 15 % โดยปริมาตร

### ผลการทดลอง

ได้ประยุกต์วิธีการเตรียมตัวอย่าง และภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs ที่ได้พัฒนาในงานวิจัยก่อนหน้านี้มาใช้กับตัวอย่างเครื่องแกงสำเร็จรูปชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำพริกแกงส้ม เครื่องต้มยำ น้ำพริกพะแนง น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงมัสมั่น ตัวอย่างอิลีกโทรฟิโรแกรมของน้ำพริกแกงส้ม น้ำพริกพะแนง และเครื่องต้มยำ แสดงดังรูป



### เอกสารอ้างอิง

1. Laskaridou-Monnerville, A. *Journal of Chromatography A* (1999) **838**, 293-302.
2. Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, and D. Schenck, F.J. *Journal of AOAC International* (2003) **86**, 412-431.

## ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล

### (ภาษาอังกฤษ) Production of food supplement for Osteoarthritis prevention from sea food shells

<u>ชื่อผู้วิจัย</u>	1) รศ.ดร. มงคล สุขวัฒนาสินธุ์ 2) อ.ดร. อนวัช อาชวาคม
<u>หน่วยงานที่สังกัด</u>	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

#### บทคัดย่อ

การย่อยไคตินจากแกนหมึกด้วยเอนไซม์จากรา *Aspergillus fumigatus* และโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* สามารถผลิตเอ็น-แอสซีทิล-ดี-กลูโคซามีน (GlcNAc) และเอ็น,เอ็น-ไดแอสซีทิลโคโดไบโอส [(GlcNAc)<sub>2</sub>] อย่างเฉพาะเจาะจงได้ เอนไซม์จากรา *Aspergillus fumigatus* สามารถย่อยไคติน (3% w/v) ที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน ส่วนเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่มเป็นเวลา 6 วันสามารถผลิตผลิตภัณฑ์เป็น (GlcNAc)<sub>2</sub> และ GlcNAc ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 43% และ 2.6% ตามลำดับ การทำให้ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> บริสุทธิ์สามารถทำได้โดยการตกตะกอนตามด้วยการกำจัดสีด้วยผงถ่านกัมมันต์หรือใช้คอลัมน์ที่มีผงถ่านกัมมันต์ให้ GlcNAc บริสุทธิ์ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 64% และ (GlcNAc)<sub>2</sub> บริสุทธิ์ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 40% และสามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์สูงถึง 100%

การย่อยไคตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยการใช่และไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิคเพื่อให้ได้เกลือกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการเตรียมเกลือ GlcNHCl คืออัตราส่วนไคตินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:1 (w/w) และที่อุณหภูมิ 40°C ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตคือ 60% และผลการย่อยไคตินโดยใช้คลื่นไมโครเวฟนั้นสามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคตินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตคือ 52% ซึ่งสามารถประหยัดพลังงานในการย่อยลงไปได้มหาศาลเมื่อเทียบกับการกรรมวิธีการย่อยในปัจจุบัน

#### วิธีการทดลอง

วิธีการทดลองหลักมี 2 แนวทางคือดำเนินการย่อยด้วยเอนไซม์และกรด

##### I) การย่อยด้วยเอนไซม์ ดำเนินการเป็นลำดับดังนี้

1) การเตรียมไคตินจากแกนหมึก ( $\beta$ -chitin) โดยการบั่นให้มีขนาด 500  $\mu$ m และการเตรียมคอลลอยด์ตอลไคตินโดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไปไคติน กวนอย่างรวดเร็วจนสารละลายมี



ลักษณะเหนียวหนืดตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 5°C ทั้งคืนจากนั้นนำมากรอง จะได้ตะกอนสีขาวของไคตินพร้อมนำมาทำการทดลอง

## 2) การเตรียมเอนไซม์ติบจากฟังไจ (*Aspergillus fumigatus*)<sup>1</sup>

นำฟังไจ *Aspergillus fumigatus* (TISTR 3045) มาเพาะเชื้อใน PDB (อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จากมันฝรั่ง) เป็นเวลา 5 วัน นำเส้นใยของฟังไจที่ได้มาเลี้ยงใน PDA (PDB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C แล้ว) ต่อเป็นเวลา 5 วัน นำเชื้อราบน PDA มาเพาะเลี้ยงต่อใน Colloidal Chitin Minimum Medium (CCMM) (300 mL) (แหล่งของไนโตรเจนเพื่อใช้ในการผลิตเอนไซม์) ที่อุณหภูมิ 30°C ระยะเวลา 9 วัน ด้วยเครื่องเขย่า จากนั้นแยกเอนไซม์ติบด้วยกรรมวิธีเซนตริฟิวจ์

## 3) การเตรียมเอนไซม์ติบจากแบคทีเรีย (*Serratia sp.*)

เอนไซม์ติบจากแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ ได้รับมาจากอาจารย์รัฐ พิชยางกูร ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เอนไซม์ติบจากแบคทีเรีย *Serratia sp.* แสดงแถบโปรตีน 4 แถบจากส่วน chitinase activity ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40, 50, 60 และ 90 KDa จาก SDS-PAGE หลังจากนั้นแยกเอนไซม์ติบ chitinase ขนาด 60 KDa ออกมาบรรจุใส่พลาสติก PKKChi60<sup>2</sup>

## 4) การทดสอบฤทธิ์ของเอนไซม์ไคติเนส

กิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสที่สนใจนั้น นำมาวิเคราะห์โดยการวัดหาจำนวนปลายรีติวซ์ ซึ่งเท่ากับจำนวน GlcNAc ที่ได้จากการย่อย คอลลอยด์คอลล ไคตินด้วยเอนไซม์ตามวิธีของ Schales method<sup>3</sup> ปริมาณของปลายรีติวซ์ของน้ำตาลถูกวัดด้วยเครื่อง UV-Vis สเปกโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 nm โดยใช้ น้ำ DI เป็นตัวเปรียบเทียบ ทั้งการวิเคราะห์และการควบคุมจะทำ 3 ครั้ง และค่าเฉลี่ยของค่าความดูดกลืนแสง (Absorbance (A)) ที่ได้จะนำมาใช้ในการคำนวณค่า activity unit ต่อปริมาตร (mL) ของเซรุ่มซึ่งคำนวณได้จากความแตกต่างของค่า absorbance ( $\Delta A$ ) ระหว่างตัววิเคราะห์ (A1) และตัวควบคุม (A0)

## 5) วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย HPLC

นำสิ่งที่ถูกย่อยแล้วมาต้มให้เดือดเพื่อฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเอาส่วนใสหลังผ่านการเซนตริฟิวจ์ (100  $\mu$ L) มาเจือจางด้วยน้ำ Milli-Q (900  $\mu$ L) นำเอาสารละลายที่ได้ (0.300 mL) มาผสมกับอะซิโตไนโตรล (0.700 mL) กรองและฉีดเข้าเครื่อง HPLC ผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> จะถูกตรวจพบในช่วงเวลาการชะ (retention time) เท่ากับ 5.6 และ 6.5 ตามลำดับ คำนวณหาพื้นที่ใต้พีคซึ่งแสดงถึงปริมาณของ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub>

## 6) การเตรียม GlcNAc

6.1) Single batch hydrolysis การย่อยไคตินด้วยกรรมวิธี single batch นี้เป็นการย่อยแบบครั้งต่อครั้ง ไคตินจากแกนหมึก (6 g) ถูกนำมาเพาะบ่มกับเอนไซม์จากฟังไจ (24 U) ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 300 mL ด้วยน้ำ DI เดิมเอทานอล (15 mL) ในตัวที่เก็บไว้ ค่า pH ของของผสมในปฏิบัติการ ถูกปรับด้วยกรดแอสซิดิก (1 M) ให้เป็น 3 จากนั้นส่วนของผสมถูกบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 5 วัน และหยุดปฏิบัติการด้วยการจุ่มภาชนะลงไปในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ไคตินที่เหลืออยู่ถูกกำจัด

ออกไปด้วยการเซนตริฟิวจ์ เอนไซม์ดิบถูกเก็บไว้ในสถานะของแข็งหลังจากการ freeze dry การวิเคราะห์ด้วย HPLC แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ดิบมีปริมาณ GlcNAc ประมาณ 60% (w/w)

6.2) Fed-batch hydrolysis การย่อยโคตินด้วยกรรมวิธี fed-batch นี้เป็นการย่อยแบบต่อเนื่อง เริ่มด้วยโคติน 6 g และ เอนไซม์ 24 U ในของผสมในปฏิกริยาปริมาตร 200 mL และส่วนที่เท่ากัน ของ reactant ถูกเติมลงไปของผสมปฏิกริยาหลังจากผ่านไป 2 วัน หลังจากนั้น 4 วันให้ความร้อนแก่ของผสมในปฏิกริยาในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 15 นาที นำเอาส่วนที่ถูกย่อยแล้ว (350 mL) มากรอง และทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยที่อุณหภูมิไม่เกิน 70°C เดิมเอทานอลลงไปจะเกิดตะกอนขนาดเล็กที่สามารถละลายน้ำได้ ส่วนสีที่ได้จากการกรองนั้นนำมาระเหยได้ของแข็งสีเหลืองอ่อน (9 g) นำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า 91%(w/w) ของของแข็งที่ได้เป็น GlcNAc คิดเป็น 71% ของผลผลิตที่ได้

#### 7) การเตรียม *N,N'*-diacetylchitobiose [(GlcNAc)<sub>2</sub>]

นำเอาโคตินจากแกนหมึกมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ค่า pH 3 (ปรับ pH ด้วยกรดแอสติก) และที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 6 วัน ผลิตภัณฑ์เบื้องต้นที่ได้ถูกเก็บไว้ในรูปของแข็งหลังจาก freeze dried จากนั้นวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เบื้องต้นนั้นประกอบด้วย ~63% ของ (GlcNAc)<sub>2</sub> นำเอา (GlcNAc)<sub>2</sub> ไม่บริสุทธิ์ดังกล่าวมากำจัดสิ่งเจือปนด้วยการตกตะกอน แล้วผ่านขบวนการเซนตริฟิวจ์ทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เพื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์ recovery, และความบริสุทธิ์ของตะกอนด้วย HPLC จากนั้นนำเอาตะกอนที่ทำให้แห้งแล้วมาแยก GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> ออกจากกันด้วยกรรมวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีผงดำนกัมมันต์ สารละลายของผลิตภัณฑ์เบื้องต้นของสารผสม GlcNAc/(GlcNAc)<sub>2</sub> ถูกบรรจุลงในคอลัมน์ผงดำนกัมมันต์ (60 g) ในน้ำ (200 mL) และตัวชะที่ประกอบด้วยเอทานอลต่อน้ำ (~ 30%) ที่ 2 mL/min

## II) การย่อยด้วยกรด

การย่อยด้วยกรดนี้ยังแบ่งออกเป็น 2 วิธีอีกด้วยคือ

1) การย่อยโดยมีคลีนอัลตราโซนิคเป็นตัวช่วย ผลการวิจัยการย่อยของแอลฟา-โคตินที่ได้จากเปลือกกุ้ง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการละลายโคตินโดยการใช้คลีนอัลตราโซนิคพบว่าสามารถช่วยในการละลายโคตินได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ GlcNHCl ได้ดีกว่าการให้ความร้อนโดยไม่ใช้คลีนอัลตราโซนิคเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญที่อัตราส่วนต่อกรดเท่ากัน (Figure 1) และปริมาณของ conc. HCl ยิ่งสูงขึ้นเท่าไรก็ยังสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้นเท่านั้นทั้งในกรณีของการละลายโดยใช้และไม่ใช้คลีนอัลตราโซนิคช่วย โดยที่อัตราส่วนโคติน / conc. HCl เท่ากับ 0.2 จะให้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์มากที่สุดถึง 80% และต่ำที่สุด (43%) ที่อัตราส่วน 1 / 1

2) การย่อยโดยมีคลีนไมโครเวฟเป็นตัวช่วย ในส่วนของการย่อยโคตินด้วย conc. HCl โดยมีคลีนไมโครเวฟเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกริยานั้น ซึ่งจากสมมุติฐานถ้าใช้คลีนไมโครเวฟคาดว่าจะสามารถย่อยได้ที่อุณหภูมิมีประสิทธิภาพและใช้เวลาที่สั้นลงอีกและผลิตภัณฑ์หลักจากการย่อยนี้น่าจะเป็นเกลือ GlcNHCl เริ่มด้วยการเตรียมสารละลายโคตินพร้อมด้วยการผสม conc. HCl ในอัตราส่วนที่ต่างกันแล้ว และเครื่องไมโครเวฟที่ใช้ในการทดลองการย่อยในครั้งนี้คือ M183 (ของบริษัท



Samsung) ซึ่งได้ทำการปรับแต่งให้สามารถใช้สำหรับทำปฏิกิริยาเคมีได้โดยการเจาะรูในส่วนด้านบนของเครื่องไมโครเวฟเพื่อใช้เป็นทางต่อท่อคอนเดนเซอร์เข้ากับพลาสติกที่อยู่ภายในรีแอกเตอร์ด้านใน จากนั้นทำการศึกษาสภาวะเกี่ยวกับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยมีปัจจัยแปรผันต่าง อาทิเช่น เวลาในการใช้คลื่นไมโครเวฟ (4-16 นาที), พลังงานวัตต์ที่ใช้ (100-850 watts), ความเข้มข้นของสารละลายต่อปริมาณ conc. HCl (1:2, 1:3, 1:4) เป็นต้น และจากการ optimization สามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคตินต่อ conc. HCl = 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts ให้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 52% และถ้ามีเครื่องเมคานิคัลสเตอริไรเซอร์มาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคนจะสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์เป็น 58% ได้

### สรุปผลการทดลอง

#### 1) การย่อยด้วยเอนไซม์

เอนไซม์จากรา *Aspergillus fumigatus* สามารถย่อยไคตินที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน การย่อยไคตินด้วยเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่มเป็นเวลา 6 วันให้ผลิตภัณฑ์เป็น (GlcNAc)<sub>2</sub> และ GlcNAc ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ 43% และ 2.6% หลังจากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยขบวนการที่พัฒนาแล้วความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้สูง

#### 2) การย่อยด้วยกรด

การย่อยไคตินด้วย conc. HCl โดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อให้ได้เกลือ GlcNHCl ซึ่งสภาวะที่ใช้คืออัตราส่วนไคตินต่อ conc. HCl = 1:1 (w/w) และที่อุณหภูมิ 40°C ให้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 60% ส่วนผลการวิจัยในส่วนของการย่อยไคตินโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟนี้สามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคตินต่อ conc. HCl = 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts โดยมีเครื่องเมคานิคัลสเตอริไรเซอร์มาช่วยจะได้เกลือ GlcNHCl ด้วยเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ 58% ซึ่งใกล้เคียงกับกรรมวิธีการย่อยในปัจจุบันสามารถประหยัดพลังงานในการย่อยลงไปได้นับว่าสำคัญ

### เอกสารอ้างอิง

1. Heftmann, E., "Chapter 4 Adsorption", *Chromatography second edition*, Litton Educational Publishing, Inc., New York, 1967, 43-44
2. Kuttiyawong, K., "Cloning and nucleotide sequencing of chitinase gene from *Burkholderia cepacia* TU09", *Master Thesis of Science, Biochemistry, Faculty of Science Chulalongkorn University*, 2001.
3. Imoto, T., and Yagishita, K., "A Simple Activity Measurement of Lysozyme", *Agr. Biol. Chem.* 1971, 35, 1154-1156.
4. Yoon, J.H., "Enzymatic synthesis of chitooligosaccharides in organic cosolvents", *Enzyme and Microbial Technology*, 2005, 37, 663-668.

## ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ท้องถิ่นที่มีหน้าที่เฉพาะของสารพรีไบโอติกส์และแอนติออกซิเดนท์

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

**คณะผู้วิจัย** รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อานแป็อง \*\*, ปรวีรัตน์ เซ็นกลาง, สมฤดี ไทพาณิชย์, วสาวิ ถ้วยทอง, ชมัยพร แร่งกลาง, สุวิมล เจริญสิทธิ, เกวลี ครุณาสวัสดิ์, นัฏภพร วุฒิสิทธิ, และ กรรณิการ์ สอนโยธา ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีระยะเวลาประมาณ 4-5 ปี นับตั้งแต่ปี 2550 วัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิคเอนไซม์ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารให้กลิ่น และสารหน้าที่เฉพาะอื่นๆ จากผักผลไม้เขตร้อนและกึ่งร้อน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบปรุงแต่งอาหาร ในงานวิจัยมุ่งเป้าไปที่ผักและผลไม้ที่มีศักยภาพในการปลูก การส่งเสริมการปลูกในประเทศ ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน จากการสำรวจและวิจัยในปี 2550 พบว่ามีไบเดย กล้วยหอม ฝรั่งแดง มะตูม มะม่วงน้ำดอกไม้ พุทราสามรส แก้วมังกรแดง แคนตาลูป แล มังคุด และอาจจะมียื่นๆ อีก

สำหรับในรายงานวิจัยในปี 2551 ซึ่งได้รายงานไปแล้วว่า สารออกฤทธิ์ที่พบในไบเดยหอม คือ คลอโรฟิลล์ให้สีเขียว สามารถแปรรูปเป็นสารอนุพันธ์ที่มีสีเขียวที่ทนความร้อนและกรดได้ดีกว่ารูปเดิม ฝรั่งแดงเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของวัตถุดิบ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงขึ้น และสีเหลืองเพิ่มขึ้น ส่วนไซรัปมะตูม เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์พบคุณสมบัติเนสพบว่าได้ปริมาณคาร์โบทีนอยด์มากขึ้น สำหรับไฮโดรไลเลสมะม่วงที่มีระดับการย่อยสลายพบเคตินดอปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อเสถียรภาพของอิมัลชัน เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยในปี 2552 พบว่า เมื่อใช้เอนไซม์เพคตินเนสสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไบเดยหอม พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิเดนท์ได้เป็น 17.3 และ 1.9 เท่าตามลำดับ สำหรับกล้วยหอมได้ผลิตภัณฑ์ไซรัปที่มีสารหน้าที่เฉพาะที่มีความโดดเด่นสามารถนำไปใช้ทดแทนวัตถุดิบปรุงแต่งกลิ่น รสกล้วยหอมสังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี ในฝรั่งแดงพบว่าไซรัปที่ได้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และไลโคพีนเพิ่มมากขึ้น สำหรับไซรัปมะตูมพบว่ามีปริมาณใยอาหาร ค่าแอกทีวิตีของพรีไบโอติก สารระเหย และสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ในการย่อยสลายเพคตินในมะม่วง พบว่าเอนไซม์ช่วยเพิ่มปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารเบต้าแคโรทีนได้ ส่วนวิจัยพุทราสามรส พบว่า เมื่อประมาณเอนไซม์และเวลาการย่อยสลายสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำได้สูงขึ้น งานวิจัยแก้วมังกรและแคนตาลูป พบว่าการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลทำได้โดยใช้กรดแอสคอบิกร่วมกับความร้อน และการใช้เอนไซม์ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแก้วมังกรสูงขึ้นเป็น 1.5 เท่า และแคนตาลูปเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

จากผลการวิจัยที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่า การใช้เอนไซม์สามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเฉพาะของวัตถุดิบให้มีความโดดเด่น และสามารถพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี

### เอกสารอ้างอิง

- ปราณี อำนประื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- Baumann, J. W. 1981. Application of enzymes in fruit juice technology. In G.G. Birch, N. Blakebrough, and K.J. Parker (ed.), Enzymes and Food Processing, pp. 129-146. England: Applied Science Publishers.
- Choudhari, S. M. and Ananthanarayan, L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissue. Food Chemistry 102(1): 77-81.
- Çinar, I. 2005 a. Stability studies on the enzyme extracted sweet potato carotenoproteins. Food Chemistry 89(3): 397-401.
- Çinar, I. 2005 b. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. Process Biochemistry 40: 945-949.
- Fan, G., Han, Y., Gu, Z. and Chen, D. 2008. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). Lebensm.-Wiss.U.-Technol 41(1): 155-160.
- Fenema, O.W. 1985. Food Chemistry. Marcel Dekker. New York.
- Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal. 17: 770-775.
- Maarse, H. 1991. Volatile Compounds in Foods and Beverages. New York: Marcel Dekker.
- Muñoz, O., Sepulveda, M. and Schwartz, M. 2004. Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from Chilean wine. Food Chemistry 87: 487-490.
- Mutlu, M., Sarioğlu, K., Demir, N., Ercan, M. T., and Acar, J. 1999. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part I: viscosimetric determination of enzyme activity. Journal of Food Engineering. 41: 147-150.

- Pilnik, W. and Voragen, A. G. J. 1993. Pectic enzymes in fruit juice and vegetable juice manufacture. In Reeds, G. (ed.), Enzymes in Food Processing, pp. 363-399. New York: Academic Press.
- Rai, P., Majumdar, G.C., Dasgupta, S. and De, S. 2004. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. Journal of Food Engineering 64: 397-403.
- Roy, D., Daoudi, L. and Azaola, A., 2002. Optimization of galacto-oligosaccharide production by *Bifidobacterium infantis* RW-8120 using response surface methodology. Journal of Industry Microbiology&Biotechnology 29: 281-285.
- Roy, S. K. and Khurdiya, D. S. 1995. Other subtropical fruit. In D.K. Salunkhe; S. S. Kadam (ed.), Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing, pp. 539-543. New York: Marcel Dekker.
- Schweiggert, U., Hofmann, S., Reichel, M., Schieber, A. and Carle, R. 2008. Enzyme-assisted liquefaction of ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Rosc.) for the production of spray-dried and paste like ginger condiments. Journal of Food Engineering 84, 28-38.
- Sun, T. Power, J.R. and Tang, J. 2007. Effect of enzymatic macerate treatment on rutin content, antioxidant activity, yield, and physical properties of asparagus juice. Journal of Food Science 72(4): S267-270.
- Waliszewski, N.K., Ovndo, S.L. and Pardo, V.T. 2007. Effect of hydration and enzymatic pretreatment of vanilla beans on the kinetics of vanillin extraction. Journal of Food Engineering 78: 1267- 1273.



## การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร Production of microbial polymer for the application in food industry

สุเทพ ธานีวัน<sup>1</sup>, จิราภรณ์ ธานีวัน<sup>1</sup>, ปาหนัน เรืองสำราญ<sup>1</sup>, สุชาดา จันทร์ประทีป<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ได้รับการคัดเลือกจากตัวอย่างผลไม้เน่าเสียและจัดอยู่ในกลุ่มที่สามารถผลิตพอลิเมอร์ชนิดพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงกว่าเชื้อที่แยกได้อื่น งานวิจัยนี้มุ่งต่อการนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้ปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสูตรเดิมของ Bromfield ร่วมกับวิธีของ Tallgren และคณะ (1998) ให้มีต้นทุนที่ต่ำลง พบว่า ในสูตรอาหารปรับปรุงไม่จำเป็นต้องมีการเติมสารสกัดยีสต์ จุลินทรีย์ก็สามารถเจริญได้และผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้เช่นกัน แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 และแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นบางสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ CU-CH4 และ EN14 มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูง พอลิเมอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์เหล่านี้มีลักษณะทางเคมีและกายภาพที่น่าสนใจ เช่น ความสามารถในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืด เป็นต้น และให้ผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุดที่ 0.98 2.380 และ 2.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มีน้ำตาลทั้งหมด 87.5% และมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ 2.8% ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 มีน้ำตาลทั้งหมด 60.7% และมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ 8.5% การชักนำแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ให้กลายเป็นพอลิเมอร์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ติดตามด้วย NTG พบว่า แบคทีเรียที่ถูกชักนำด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตมีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียที่ถูกชักนำให้เกิดการกลายเป็นพอลิเมอร์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต และสาร NTG แบคทีเรียสายพันธุ์ UV1-8 และสายพันธุ์ UV1-9 โดยสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ดั้งเดิมถึง 8 และ 12 เท่า ตามลำดับ

### วิธีการทดลอง

#### 1. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

- 1.1 หาดองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02
- 1.2 หาดภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตรดัดแปลง
- 1.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตรดัดแปลง
- 1.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02



1.5 วิเคราะห์การหลอมเหลวของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02

## 2. การศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ แบ่งออกเป็น 2 ชุด แต่ละชุดมีขั้นตอนดังนี้

2.1 ผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียที่คัดแยกจากธรรมชาติ

2.2 ศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมี และกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์

2.3 คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสม ศึกษารูปแบบการเจริญ และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

2.4 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียที่ทำการคัดเลือก

## 3. การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์

3.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต

3.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG

3.3 การคัดเลือกเชื้อและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลวของแบคทีเรียสายพันธุ์กลายผลการทดลอง

## 1. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่นำมาใช้ศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว รำข้าว แกลบ และกากน้ำตาล และวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่นำมาใช้ศึกษาชนิดแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน และกากงา ไม่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์เพื่อผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ได้ โดยหลังการพัฒนาสูตร พบว่าอาหารสูตรดัดแปลงใหม่ประกอบด้วยซูโครสความเข้มข้น 3.0% และแอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ความเข้มข้น 0.06% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนตามลำดับ และแมกนีเซียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.02% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งเกลือแร่ภายใต้ภาวะที่ปรับค่าความเป็นค่ากรด-เบสเริ่มต้นที่ 6.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใน 6 ชั่วโมงแรก และปรับเป็น 40 องศาเซลเซียส ใน 6 ชั่วโมงต่อมา ทำให้สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ปริมาณสูงสุดที่ 4.86 กรัมต่อลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อ การศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้โดย พบว่าเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดประจุลบ (acidic heteropolysaccharide) ประกอบด้วย ไซโลสเป็นส่วนใหญ่ โดยมีกลูโคสและโปรตีนเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิที่หลอมเหลวของพอลิแซ็กคาไรด์ คือ 227.5 องศาเซลเซียส

## 2. การศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์ คือ CU-CH1, CU-CH4, CU-E3, CU-F6, CU-M2, CU-M4 และ CU-M5 มีน้ำตาลแรมโนสและไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก และจากกาวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมตริกแอนนาไลซิส (TGA) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง โดยมีช่วงอุณหภูมิการย่อยสลายตั้งแต่ 220-310 °C การศึกษาความสามารถการเป็น Emulsifier พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH1, CU-CH4, CU-E3, CU-F6 มีความสามารถการเป็น Emulsifier โดย

สายพันธุ์ CU-CH4 มีความสามารถสูงสุด 21.94% เมื่อทดสอบในน้ำมันถั่วเหลือง และพบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH1, CU-CH4 ละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิห้องและมีความหนืด การศึกษาความสามารถในการอ้วนน้ำของพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์จาก CU-CH4 มีความสามารถในการอ้วนน้ำสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มีประสิทธิภาพการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด โดยมีการผลิตสูงสุดที่ 2.380 กรัมต่อลิตร จึงคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มาทำการศึกษาคือ

นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่คัดแยกโดย สมฤดี ชุณหโรจน์ฤทธิ์ (2551) พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูง มีน้ำตาลโมลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ คือ แรมโนส, กลูโคส, ไซโลส และ กาแลคโตส มีความสามารถในการละลายน้ำ แต่ไม่สามารถละลายในสารละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการอ้วนน้ำ พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดมีความสามารถในการอ้วนน้ำดี ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์จากพันธุ์ EN14, EP04, EP11 และ EP14 มีความสามารถในการเป็น Emulsifier ในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะกอก จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 มีอัตราส่วนน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ต่อน้ำหนัเซลล์สูงสุด คือ 0.84 และมีคุณสมบัติในการแยกเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ทั้งนี้ยังมีลักษณะทางเคมีและกายภาพที่น่าสนใจ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 อาจนำมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมได้

### 3. การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์

การชักนำแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ให้กลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ติดตามด้วย NTG พบว่า แบคทีเรียที่ถูกชักนำด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตมีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียที่ถูกชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต และสาร NTG แบคทีเรียสายพันธุ์ UV1-8 และสายพันธุ์ UV1-9 โดยสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ดั้งเดิมถึง 8 และ 12 เท่า ตามลำดับ

#### เอกสารอ้างอิง

- Bromfield, S. M. 1954. Reduction of ferric compounds by soil bacteria. Gen. Microbiol. 11:1-6.
- Ghose, T.K. 1987. Measurement of cellulose activities (Recommendations of Commission on Biotechnology IUPAC). Pure Appl. Chem. 59: 257-268.
- Sternberg, D., Vijaykumar, P., and Reese, E.T. 1977.  $\beta$ -Glucosidase : microbial production and effect on enzymatic hydrolysis of cellulose. Can. J. Microbiol. 23:139-147.
- Tallgren, A. H., Airaksinen, U., Weissenberg, R. V., Ojamo, H., Kuusisto, J. and Leisola, M. 1998. Exopolysaccharide-Producing Bacteria from Sugar Beets. Appl. Envi. Microb. 65: 862-864.

## การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

### Biosurfactant production by microorganism for food industry

จิราภรณ์ ธานีวัน<sup>1</sup>, ไพเราะ ปิ่นพานิชการ<sup>1</sup>, สุเทพ ธานีวัน<sup>1</sup>, สุชาดา จันทร์ประทีป<sup>1</sup>, วรณา ดุลยธัญ<sup>2</sup>, Masaaki Morikawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>3</sup> Graduate school of environmental earth science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

#### บทคัดย่อ

*Pichia anomala* PY1 เป็นสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่คัดแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้าน (ข้าวหมาก) ที่อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นยีสต์ที่ร้อนที่สามารถเจริญ และผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pichia anomala* PY1 เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิพิด และมีมวลโมเลกุลเทียบเคียงกับโซโฟโรลิพิด ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาการพัฒนาสายพันธุ์โดยการการกลายพันธุ์ *Pichia anomala* PY1 เพื่อเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยทำการกลายพันธุ์ *Pichia anomala* PY1 ด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต *Pichia anomala* PY1 ที่ 1% การยู่รอด สามารถคัดเลือกสายพันธุ์กลาย (MU28) ได้และสายพันธุ์สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้มากที่สุดจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อเมตรเป็น 39 มิลลินิวตันต่อเมตร ขณะที่ให้พื้นที่กระจายน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 17.56 ตารางเซนติเมตร ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการทดสอบความเสถียรพบว่าทั้งนี้ยีสต์สายพันธุ์กลาย MU28 สามารถแสดงการกระจายน้ำมันได้ดีที่สุดบนอาหารแข็ง Yeast Malt Extract ที่มีน้ำมันดิบกระจายอยู่ทั่วในรุ่นแรก 1.3 ถึง 1.8 เซนติเมตร ต่อมาในรุ่นที่ 5 จะมีค่าลดลงเล็กน้อย ส่วนยีสต์สายพันธุ์ PY1 สามารถแสดงการกระจายน้ำมันได้คงที่ จากนั้นนำ MU28 มาทำการกลายพันธุ์อีกครั้งด้วยสาร Ethyl methane sulphonate (EMS) หลังจากทำการคัดเลือกที่ 2.3% การยู่รอด พบว่าสายพันธุ์กลายของ MU28 (MUE24) นั้นให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 17.64 ตารางเซนติเมตร และค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 35 มิลลินิวตันต่อเมตรในวันที่ 5 และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.1 เท่า และเร็วกว่าสายพันธุ์เดิม

## วิธีการทดลอง

### 1. การกลายพันธุ์จุลินทรีย์

#### 1.1. การกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต

โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ระยะห่างจากแสง 10 เซนติเมตร โดยมีระยะเวลาให้การฉายแสงต่าง ๆ กันที่ 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12 และ 14 วินาที

#### 1.2. การกลายพันธุ์ ด้วยสาร Ethyl methanesulfonate (EMS)

โดยการเติมสาร EMS ปริมาตร 20, 25, 30, 35 และ 40 ไมโครลิตร

### 2. คัดเลือกสายพันธุ์กลายที่สามารถเจริญ และให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สูงกว่าสายพันธุ์เดิม และทดสอบความเสถียรของสายพันธุ์กลาย

การคัดเลือกสายพันธุ์กลายจากงานเพาะเลี้ยงเชื้อในข้อ 1 ที่มีค่าร้อยละการรอดในช่วง 1-10% สำหรับการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และ 0-50 % สำหรับการกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS จากนั้นทำการคัดเลือกบนอาหารแข็ง อาหารเหลว และติดตามความเสถียรของยีสต์สายพันธุ์กลาย

### 3. หากภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆ ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของสายพันธุ์กลาย

3.1. การหาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

3.2. การหาปริมาณคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

3.3. การหาชนิดแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

3.4. การหาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

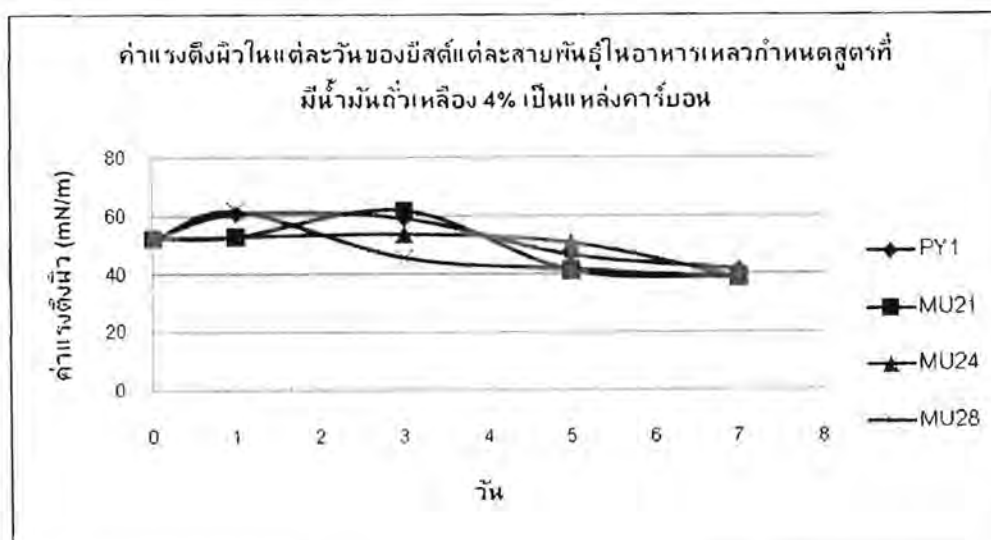
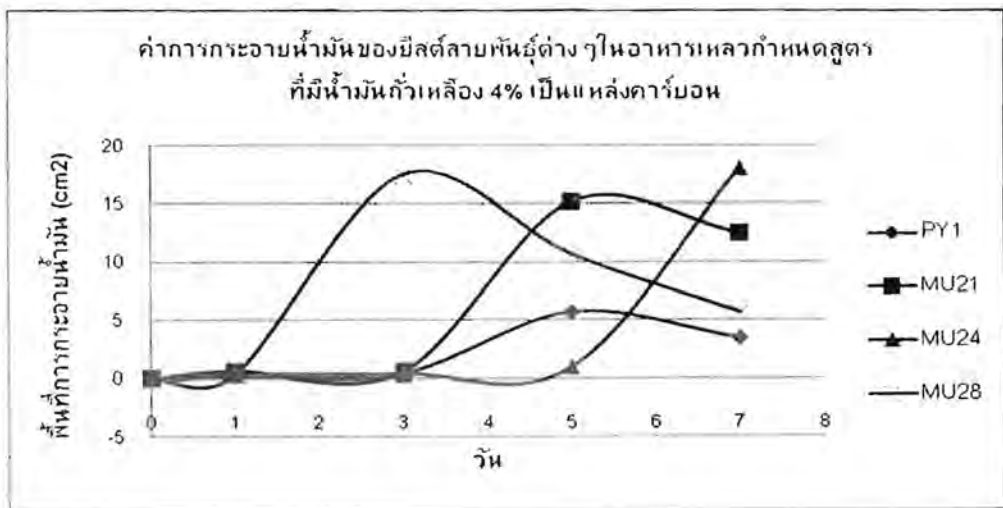
## ผลการทดลอง

ทำการกลายพันธุ์สายพันธุ์ PY1 ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต และได้สายพันธุ์กลาย 104 สายพันธุ์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ PY1 และสายพันธุ์กลายในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่ายีสต์สายพันธุ์ PY1 และสายพันธุ์กลายสามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีมากกว่าการใช้อาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีกลูโคส 8% เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์กลาย MU21 สามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีที่สุดในวันที่ 5 เป็น 15.26 ตารางเซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้ว MU21 สามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 2.67 เท่า และลดค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 41.5 มิลลินิวตันต่อเมตร สายพันธุ์กลาย MU24 สามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีที่สุดในวันที่ 7 เป็น 18.09 ตารางเซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.16 เท่า และลดค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 39 มิลลินิวตันต่อเมตร ส่วนสายพันธุ์กลาย MU28 สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้มากที่สุดในวันที่ 7 จาก 52.5 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 39 มิลลินิวตันต่อเมตร ขณะที่ให้พื้นที่การกระจายน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 17.56 ตารางเซนติเมตรในวันที่ 3 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอน และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1



ประมาณ 3.1 เท่า จากนั้นนำ MU28 มาทำการกลายพันธุ์อีกครั้งด้วยสาร Ethyl methane sulphate (EMS) หลังจากทำการคัดเลือกที่ 36.36-2.14% การยู่รอด พบว่าสายพันธุ์กลายของ MU28 (MUE24) นั้นให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 17.64 ตารางเซนติเมตร และค่าแรงดึงผิวต่ำสุด 35 มิลลินิวตันต่อเมตรในวันที่ 5 และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.1 เท่า และเร็วกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม

สายพันธุ์	วัน	พื้นที่การกระจายน้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	ΔST
PY1	7	3.46	10.8
MU21	5	15.26	11.0
MU24	7	18.09	13.5
MU28	3,7	17.56	13.5
MUE24	5	17.64	17.5





## เอกสารอ้างอิง

- ธันสนา เชียงอุทัย. 2549. การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ที่คัดเลือกได้ วิทยานิพนธ์  
ปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ผกาภาส ราชมนตรี. 2551. ผลของการเสริมน้ำตาลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* PY1  
และลักษณะของสารที่ได้ วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- Casas, J. A., S. Garcia de Lara, and F. Garcia-Ochoa. 1997. Optimization of a synthetic medium for  
*Candida bombicola* growth using factorial design of experiments. *Enz. Microb. Technol.*  
21:221-229.
- Cooper, D. G., and J. E. Zajic. 1980. Surface-active compounds from microorganisms. *Adv. Appl.  
Microbiol.* 26:229-253.
- Desai, J. D., and I. M. Banat. 1997. Microbial production of surfactant and their commercial potential.  
*Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61:47-64.
- Gumienna, M., M. Czarnecka, and Z. Czarnecki. 2005. Effect of selected lipid substrate on the process of  
biosynthesis of surface-active compounds by the *Candida bombicola* yeasts. [Online].  
<http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue2/art-12.html>. (Aug. 8, 2008)
- Kim, S. Y., D. K. Oh, K. H. Lee, J. H. Kim. 1997. Effect of soybean oil and glucose on sophorose lipid  
fermentation by *Torulopsis bombicola* in continuous culture. *Appl. Microbiol Biotechnol* 48: 23±26
- Kosaric, N., W. L. Cairns, N. C. C. Gray, D. Stechey, and J. Wood. 1984. The role of nitrogen in  
multiorganism strategies for biosurfactant production. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:1735-1743.
- Mahmoud, Y.A. 1999. Effect of ethyl methane sulphonate on biomass and protein production by *Candida  
tropicalis*. *Cytobios* ;99(391):123-8
- Mukherjee, S., P. Das, and R. Sen. 2006. Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends  
in Biotechnology* 24 (11):509-515.
- Passoth, V., E. Fredlund, U. Druvefors, and J. Schnürer. 2006. Biotechnology physiology and genetics of  
the yeast *Pichia anomala*. *FEMS Yeast Res.* 6 (1):3-13.
- Thaniyavarn, J., T. Chainguthai, P. Sangvanich, N. Roongsawang, K. Washio, M. Morokawa, and S.  
Thaniyavarn. 2008. Production of sophololipid biosurfactant by *Pichia anomala*. *Biosci.  
Biotechnol. Biochem.* 72 (8): 2061-2068.
- Winston, F. 2008. EMS and UV mutagenesis in yeast. In: *Curr. Protoc. Mol. Biol.*: John Wiley and Sons.  
Inc., Massachusetts, p. 13.13B.1-13.13B.5.

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

วรินทร์ ชวศิริ\*, สันติ ทิพย์วงศ์, ธรรมบุญ หนูจักร, ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล, ลักษณ์มา ดุบาส และ พัฒตรา สวัสดิ์  
หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

### บทคัดย่อ

**พริก** เป็นอาหารที่อยู่คู่อาหารของคนไทยมานาน พริกมีสารสำคัญ คือ สารที่ให้ความเผ็ด หรือ แคพไซซินอยด์ และ สารที่ให้สี หรือ คาโรทีนอยด์ สารเหล่านี้มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นสมองส่วนกลางให้หลั่งสารเอ็นโดรฟิน ทำให้ผ่อนคลายและลดความดันโลหิต เป็นต้น ในงานวิจัยนี้มุ่งพัฒนาเทคนิคการสกัดแคพไซซินอยด์ในพริก รวมทั้งการเปลี่ยนสารสกัดพริกให้อยู่ในรูปของฟิล์มเพื่อประโยชน์การใช้งานที่ง่ายขึ้นและเพิ่มมูลค่าของพริก

ในการพัฒนาเทคนิคการสกัดแคพไซซินอยด์ในพริก ได้ใช้เทคนิคไมโครเวฟแอสซิสต์เอ็กซ์แทรกชัน (microwave-assisted extraction, MAE) และการวิเคราะห์ด้วยไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วยวิธี factorial design โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสกัด ซึ่งตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ กำลังของเครื่องไมโครเวฟ (400-800 วัตต์) เวลาในการสกัด (3-10 นาที) และปริมาณของเอทานอล (10-30 มิลลิลิตร) จากการทดลองพบว่าที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กำลังของเครื่องไมโครเวฟ ระยะเวลาในการสกัด และปริมาณ รวมทั้งปัจจัยร่วมระหว่างกำลังและเวลา และกำลังและปริมาณมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด อย่างไรก็ตามปัจจัยร่วมระหว่างปริมาณและเวลามีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดน้อย ภาวะการทดลองที่เหมาะสมได้แก่ กำลังเครื่อง 800 วัตต์ ทำการสกัดนาน 3 นาที โดยใช้เอทานอล 20 มิลลิลิตร

นอกจากนี้ยังได้ทำการวิจัยการเพิ่มมูลค่าของพริก โดยเปลี่ยนรูปสารสกัดพริกให้อยู่ในรูปฟิล์มละลายเร็ว เพื่อประโยชน์การใช้งานที่ง่ายขึ้น เช่น ใช้ใส่ในอาหารร้อนแทนการใช้พริกปน โดยได้ใช้ hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) เป็นสารก่อฟิล์ม ร่วมกับการใช้กลีเซอริน เพื่อให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่ดี จากการทดลองเบื้องต้น พบว่าสารสกัดพริก หรือโอเลโอเรซิน ไม่สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวได้ดีกับสารก่อฟิล์ม ทำให้ผิวฟิล์มมีน้ำมันของสารสกัดพริกอยู่มาก ดังนั้น จึงได้ทำการเตรียมสารผสมพริกก่อนนำไปทำเป็นฟิล์ม โดยนำสารสกัดพริกมาวนกับโพลีเมอร์ชนิดหนึ่งเพื่อให้สารสกัดพริกสามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น เมื่อนำไปขึ้นรูปเป็นฟิล์ม พบว่าให้ลักษณะการกระจายของพริกในเนื้อฟิล์มดีขึ้นอย่างมาก ผิวไม่มีน้ำมันไหลเยิ้มออกมา แต่ยังพบปัญหาของการลอกฟิล์มออกจากเพลทแก้ว

ง7 นิยมใช้ในการประกอบอาหาร เมล็ดงาประกอบด้วยมีไขมัน โปรตีน และกรดอะมิโน ที่จำเป็นต่อร่างกาย 2 ชนิด คือ methionine และ tryptophan ซึ่งพบได้น้อยในพืชชนิดอื่น นอกจากนี้เมล็ดงามีลักษณะเด่นกว่าพืชชนิดอื่น คือ มีสารในกลุ่ม lignan ได้แก่ sesamin และ sesamololol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักและมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่มเดียวกันอีกหลายชนิด เช่น sesamol, sesamololol และ pinoresinol นอกจากนี้ยังพบว่า sesamin และ sesamololol มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญหลายอย่าง เช่น ลดความเป็นพิษของ สารเคมีที่มีผลต่อดับ สมบัติ antioxidative stress ในเซลล์สมอง ลดความดันโลหิตสูง ลด อาการบวมอักเสบและโรคภูมิแพ้ สำหรับกากงาที่เหลือจากการสกัดน้ำมันแล้ว จะมีสารกลุ่ม lignan glucoside ที่สำคัญได้แก่ sesamololol diglucoside และ sesamololol triglucoside ซึ่งเป็น สารที่ออกฤทธิ์คล้ายกับสารกลุ่ม lignan ชนิดอื่น เพียงแต่มีขั้วมากกว่าและละลายได้ดีใน อัลกอฮอล์

กากงา (*Sesamum indicum* pulp) เป็นวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันงา ซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่ม sesamololol glucoside ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายรวมทั้งสมบัติต้าน อนุมูลอิสระ การสกัดสารกลุ่ม sesamololol glucoside จากกากงาก่อนส่งเป็นวัตถุดิบในการผลิต อาหารสัตว์เป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือใช้ ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาการสกัดสารกลุ่มดังกล่าว โดยการใชโพลีเมอริกเรซิน ในที่นี้เลือกใช้ Diaion HP20 ซึ่งเป็นโพลีเมอริกเรซินที่นิยมใช้ในการ สกัดสารกลัยโคไซด์ซึ่งเป็นสารที่มีขั้ว จากการวิจัยพบว่าการใช้ Diaion HP20 ในการสกัดด้วย ตัวทำละลายทั้ง 3 ระบบ คือ 85:15 MeOH-H<sub>2</sub>O, 85:15 EtOH-H<sub>2</sub>O และ 85:15 propanol-H<sub>2</sub>O ให้ปริมาณ sesamololol glucoside ใกล้เคียงวิธีเดิมของ Moazzami แต่ประหยัดเวลากว่า

## ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

### Fruit coated mineral supply for healthy aging

สเตฟอน ดูบาส<sup>๑</sup>, ลักษณะ ดูบาส<sup>๒</sup>

<sup>๑</sup>สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>๒</sup>ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

#### บทคัดย่อ

พื้นผิวของผลไม้ได้ผ่านการตัดแปรด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพด้วยเทคนิค Layer-by-Layer โดยการเคลือบผลไม้ด้วยวิธีดังกล่าวจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางธรรมชาติของพื้นผิวผลไม้ จากความไม่ชอบน้ำมาเป็นความชอบน้ำ โดยผลไม้ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย ฝรั่ง แอปเปิ้ล และมะม่วง โดยพื้นผิวของผลไม้จะถูกตัดแปรโดยการสลับการจุ่มผลไม้ลงในสารละลายพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีประจุบวกและประจุลบโดยที่สารละลายพอลิเมอร์ที่นำมาใช้ ในการเคลือบผลไม้ได้แก่ พอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีประจุบวก และพอลิสไตรีนซัลโฟเนตที่มีประจุลบ ความชอบน้ำของพื้นผิวประเมินโดยวัดมุมสัมผัสที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิว(surface contact angle) ค่ามุมสัมผัสที่เกิดขึ้นพบว่ามีค่าลดลงตามลำดับจาก 90 องศาของผลไม้ที่ไม่ผ่านการเคลือบ ลดลงเป็น 45 องศา และ 30 องศา หลังจากเคลือบผิวผลไม้ด้วยฟิล์มบาง 2 และ 4 ชั้น ยิ่งไปกว่านั้นการเพิ่มขึ้นของจำนวนชั้นฟิล์มที่ใช้ในการเคลือบ จะส่งผลให้ผิวของผลไม้มีความชอบน้ำมากยิ่งขึ้นเนื่องจาก มีค่ามุมสัมผัสที่ต่ำมากเกินกว่าที่จะตรวจวัดได้

#### บทนำ

ประเทศไทยได้รับสมยานามว่า "ครัวของโลก" อันเนื่องมาจากปริมาณการส่งออกอาหารและผลไม้เป็นอันดับต้นๆของโลก โดยมีการส่งออกผลไม้หลากหลายชนิดเช่น มะม่วง ฝรั่ง มังคุด กัลยัม ฯลฯ ไปยังแถบประเทศในทวีปยุโรป ซึ่งใช้ระยะเวลาในการขนส่งสินค้าที่ยาวนานเป็นเหตุให้ผลไม้เกิดการเน่าเสียก่อนถึงมือผู้บริโภค ได้มีการแก้ปัญหาดังกล่าวด้วยการขนส่งทางอากาศซึ่งมีต้นทุนในการขนส่งสูงเมื่อเทียบกับการขนส่งทางน้ำ ดังนั้นการแก้ปัญหาอีกวิธีหนึ่งคือการยืดอายุในการเก็บรักษาผลไม้เพื่อการขนส่งทางน้ำที่ต้องใช้ระยะเวลายาวนานกว่าทางอากาศ เป็นเหตุให้งานวิจัยทางด้านอาหารได้รับความสนใจสูง

การใช้พอลิเมอร์ทางชีวภาพจึงถือเป็นทางเลือกที่ดึงดูดแก่อุตสาหกรรมส่งออกผลไม้ โดยพอลิเมอร์ทางชีวภาพอันได้แก่ ไคโตซาน เจลาติน อัลจิเนต ได้นำมาใช้เพื่อยืดอายุของผลไม้เนื่องจากสมบัติการต้านแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา ควบคุมการแพร่ผ่านเข้าออกของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณผิวของผลไม้ได้ การเคลือบผิวผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพนั้นยังมี

สมบัติการต้านแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา ความคุมการแพร่ผ่านเข้าออกของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณผิวของผลไม้ได้ การเคลือบผิวผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพนั้นยังมีปัญหาอันเนื่องมาจากลักษณะความไม่ชอบน้ำของผิวผลไม้ทำให้การเคลือบด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพมีความไม่สม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกันในขั้นตอนการเคลือบผิว งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการใช้เทคนิคการเคลือบผิวผลไม้ด้วยสารพอลิอิเล็กโทรไลต์เป็นฟิล์มบางหลายชั้นเพื่อทำหน้าที่เป็นยึดระหว่างผิวผลไม้และพอลิเมอร์ชีวภาพ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ในมีระยะเวลายาวนานขึ้น

## วิธีการทดลอง

### วัสดุและสารเคมี

พอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (น้ำหนักโมเลกุล 200,000-350,000) และพอลิสไตรีนซัลโฟเนต (น้ำหนักโมเลกุล 70,000) สั่งซื้อจากบริษัทอัลดริช ประเทศไทย โคโคซาน สั่งซื้อจากบริษัทซีเฟรชโคโคซาน (แล็บ) จำกัด ประเทศไทย ส่วนผลไม้สดที่ใช้สำหรับเคลือบฟิล์มได้แก่ ฝรั่ง มะม่วง แอปเปิ้ลเขียว แอปเปิ้ลแดง และชมพู สั่งจากที่อุปซูปเปอร์มาร์เก็ต ประเทศไทย

### การเคลือบผิวผลไม้ด้วยฟิล์มบางหลายชั้นของพอลิอิเล็กโทรไลต์ โดยเทคนิค Layer-by-Layer

สารละลายพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (พอลิอิเล็กโทรไลต์ประจุบวก) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และสารละลายพอลิสไตรีนซัลโฟเนต (พอลิอิเล็กโทรไลต์ประจุลบ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เพื่อใช้ในการเคลือบผิวผลไม้ ได้แก่ ฝรั่ง มะม่วง แอปเปิ้ลเขียว แอปเปิ้ลแดง และชมพู โดยเป็นการเคลือบผิวผลไม้สลับชั้นระหว่างพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ กับพอลิสไตรีนซัลโฟเนต ด้วยเทคนิค Layer-by-Layer เพื่อสร้างเป็นฟิล์มบางหลายชั้นลงบนผิวของผลไม้เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาโดยที่ไม่ทำให้คุณลักษณะและคุณภาพของผลไม้เปลี่ยนแปลงไป

โดยในขั้นแรก ทำการล้างผลไม้ด้วยน้ำเปล่าให้สะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นทำการจุ่มผลไม้ลงในสารละลายพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำผลไม้ที่ได้ดังกล่าวล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งเพื่อกำจัดพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ส่วนที่ไม่ได้ติดอยู่บนผิวผลไม้ออกไป ทั้งนี้บริเวณผิวผลไม้จะถูกเคลือบด้วยพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นชั้นแรก

จากนั้นนำผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์มาจุ่มในสารละลายพอลิสไตรีนซัลโฟเนตเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำผลไม้ที่ได้ดังกล่าวล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งเพื่อกำจัดพอลิสไตรีนซัลโฟเนต ส่วนที่ไม่ได้ติดอยู่บนผิวผลไม้ออกไป ซึ่งผิวของผลไม้ดังกล่าวจะถูกเคลือบด้วยพอลิสไตรีนซัลโฟเนตเป็นชั้นที่สอง เนื่องจากพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์สามารถจับกับพอลิสไตรีนซัลโฟเนตด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุที่ตรงกันข้าม

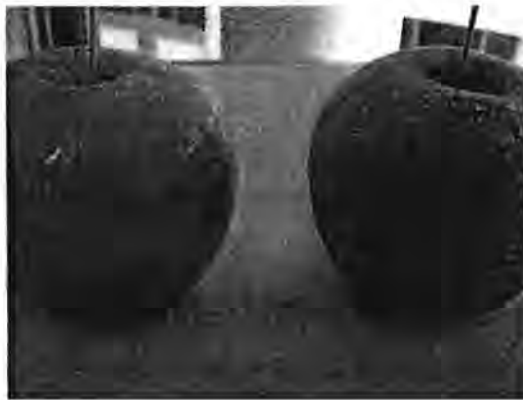
ขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้นจะถูกทำซ้ำเพื่อเคลือบผิวผลไม้ด้วยฟิล์มบางหลายชั้นระหว่างพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์และพอลิสไตรีนซัลโฟเนต จำนวน 2 ชั้นและ 4 ชั้น



การทดสอบแรงตึงผิวของผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยฟิล์มบางหลายชั้นเปรียบเทียบกับผิวผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ (Surface contact angle measurement)

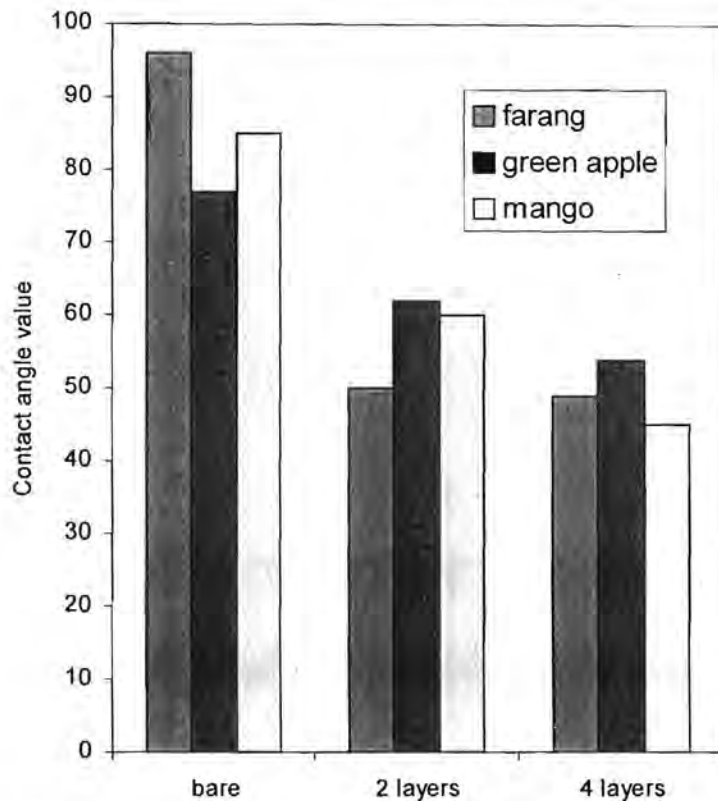
ขั้นตอนแรกทำการหยดน้ำปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยฟิล์มบางหลายชั้นแล้วทำการถ่ายภาพและวัดมุมของหยดน้ำที่อยู่บนพื้นผิวผลไม้ที่เกิดขึ้น ณ. เวลาต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ เพื่อศึกษาคุณสมบัติความเป็น hydrophobic และ hydrophilic ที่เปลี่ยนแปลงไปบนผิวผลไม้ทั้งก่อนและหลังเคลือบ

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่1: ภาพถ่ายผลแอปเปิ้ลที่ผ่านการเคลือบ (ซ้าย) และไม่ผ่านการเคลือบ (ขวา) ที่ผ่านการพ่นน้ำ

จากรูปที่1 แสดงผลของการเคลือบผิวแอปเปิ้ลด้วยพอลิเอทิลีนโกลีคอลเป็นฟิล์มบางหลายชั้นเทียบกับผิวแอปเปิ้ลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ ซึ่งผิวแอปเปิ้ลที่เคลือบด้วยพอลิเอทิลีนโกลีคอลเป็นฟิล์มบางหลายชั้นนั้นมีลักษณะที่ขอบน้ำแตกต่างจากผิวของแอปเปิ้ลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบที่แสดงลักษณะความไม่ชอบน้ำอย่างชัดเจน ดังจะเห็นได้จากการเทียบของลักษณะหยดน้ำบนผิวของแอปเปิ้ลที่เกิดขึ้น บนผิวแอปเปิ้ลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบจะแสดงลักษณะหยดน้ำที่เกาะบริเวณพื้นผิวอย่างชัดเจน แต่บนผิวแอปเปิ้ลที่เคลือบด้วยพอลิเอทิลีนโกลีคอลเป็นฟิล์มบางหลายชั้นแสดงลักษณะผิวที่เรียบของน้ำที่ทำการฉีดลงไปซึ่งเป็นลักษณะของพื้นผิวที่ชอบน้ำ



รูปที่2: ผลของการเคลือบด้วยพอลิอิลีกทรอไลท์เป็นฟิล์มบางหลายชั้นบนพื้นผิวของผลไม้ (ฝรั่ง, แอปเปิ้ลเขียว และมะม่วง) ต่อค่ามุมสัมผัส

จากรูปที่ 2. แสดงผลกระทบบุคคลสมบัติทางธรรมชาติของการเคลือบผิวผลไม้ โดยสามารถที่จะสรุปได้ว่า ฝรั่ง แอปเปิ้ล และมะม่วงมีคุณสมบัติการไม่ชอบน้ำ โดยค่าการวัดมุมสัมผัสของหยดน้ำบนพื้นผิวมีค่าระหว่าง 80-90 องศา ภายใต้การเคลือบผิวฟิล์มบางหลายชั้นทำให้พื้นผิวผลไม้มีคุณสมบัติการชอบน้ำต่ำลงในช่วงระหว่าง 45-55 องศา

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยฟิล์มบางหลายชั้นสามารถเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของผลไม้โดยเพิ่มคุณสมบัติความชอบน้ำให้กับพื้นผิวของผลไม้เพื่อสามารถนำไปใช้สำหรับการเคลือบพื้นผิวของผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ชีวภาพต่อไป

สารสำคัญและการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

### Active Constituents and Quality Assessment of Food Supplements from *Kaempferia parviflora*

สันติ ทิพยางค์\*, วรินทร์ ชวศิริ, ปรีชา ภูวไพโรศิริกาล, พัฒรา สวัสดิ์, ไพฑูรย์ รัชตะสาคร  
หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### บทคัดย่อ

ฟลาโวนอยด์ 10 ชนิด ที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ (KD) เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิลิลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี microplate assay พบว่า สาร 7 (5,7-dimethoxyflavone) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิลิลโคลีนเอสเตอเรสค่อนข้างสูง เท่ากับ 84.6% ส่วนสาร 6 (5,7,4'-trimethoxy-flavone) มีฤทธิ์ยับยั้งเพียง 46.2 % สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสของสารในไตรฟลาโวน (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโวน (สาร 3-4) และเอไมด์ฟลาโวน (สาร 5-6) ที่สังเคราะห์ได้ พบว่า ค่า % การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ของสาร 1 (2-(3-nitro-phenyl)-chromen-4-one) จะให้ % การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด เท่ากับ 72.58 % ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิลิลโคลีนเอสเตอเรส พบว่าสาร 5 (N-[3-(4-oxo-4H-chromen-2-yl)-phenyl]-cetamide) จะให้ % การยับยั้งเอนไซม์บิวทิลิลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด เท่ากับ 69.45 % ในการแปรรูปกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า วิธี ก (สกัดด้วยน้ำ) จะดีกว่าวิธี ข (สกัดด้วย 50% น้ำ-เมทานอล) เนื่องจากวิธี ข จะดูความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญด้วยเทคนิค GC ของการสกัดด้วยน้ำ (วิธี ก) พบว่าไม่มีปริมาณสาร 6 และ 7 ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นส่วนประกอบ

#### วิธีการทดลอง

1. แยกสารบริสุทธิ์ในสิ่งสกัดเฮกเซน (สาร 1-3) และไดคลอโรมีเทน (สาร 4-10) ได้สารฟลาโวนอยด์ประเภทฟลาโวนที่มีปริมาณมากพอ 10 ชนิด ที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิลิลโคลีนเอสเตอเรส
2. การสังเคราะห์ไนโตรฟลาโวน (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโวน (สาร 3-4) และเอไมด์ฟลาโวน (สาร 5-6)
  - 2.1 การสังเคราะห์ไนโตรฟลาโวน  
สังเคราะห์โดยผ่าน 3 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการเตรียม nitro-benzyl chloride (b) โดยนำ nitrobenzoic acid ในตัวทำละลายเบนซีน นำมาเติม  $\text{SOCl}_2$  รีฟลักซ์เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 1 นำ o-hydroxyacetophenone (C) มาทำปฏิกิริยา esterification โดยการเติม pyridine ตามด้วย b ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน เติม HCl จะได้ nitro-benzoic acid 2-acetyl-phenyl ester (d)

ขั้นตอนที่ 2 นำผลิตภัณฑ์ d ที่ได้จากขั้นตอนแรก มาทำปฏิกิริยา acyl rearrangement โดยการเติม KOH ตามด้วย pyridine จะได้ 1-(2-hydroxy-phenyl)-3-(nitro-phenyl)-propane-1,3-dione (e)

ขั้นตอนที่ 3 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอน 2 มาทำปฏิกิริยา cyclization โดยการเติม glacial acetic acid และ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ให้ความร้อนและรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ 2-(3-nitro-phenyl)-chromen-4-one (1) และ 2-(4-nitro-phenyl)-chromen-4-one (2)

## 2.2 การสังเคราะห์อะมิโนฟลาโวน

ขั้นตอนที่ 1 นำ nitroflavone มาทำปฏิกิริยา reduction of nitro group โดยการเติม HOAc และ conc. HCl จากนั้นค่อยๆ เติม Sn จะได้ 2-(3-nitro-phenyl)-chromen-4-one (3)

ขั้นตอนที่ 2 นำ nitroflavone เติม Pd/C(10%) จากนั้นเติม NH<sub>4</sub>HCO<sub>2</sub> และ MeOH จะได้ 2-(4-amino-phenyl)-chromen-4-one (4)

## 2.3 การสังเคราะห์เอไมด์ฟลาโวน

นำ aminoflavone มาทำปฏิกิริยา acylation โดยการเติม Ac<sub>2</sub>O และ triethylamine จากนั้นเติม CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> จะได้ N-[3-(4-oxo-4H-chromen-2-yl)-phenyl]-acetamide (5) และ N-[4-(4-oxo-4H-chromen-2-yl)-phenyl]-acetamide (6)

## 3. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี TLC assay<sup>1</sup>

2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี microplate<sup>2</sup>

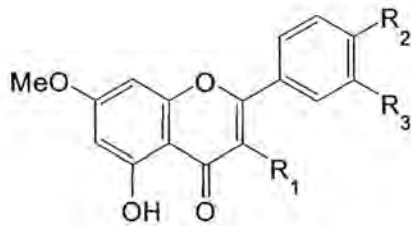
## 4. การเตรียมกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

วิธีที่ 1 สกัดด้วยน้ำ แล้วนำไปทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

วิธีที่ 2 สกัดด้วย 50% เมทานอล-น้ำ แล้วนำไปทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

## ผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี microplate ของสารที่แยกได้จากกระชายดำ (1-10) พบว่าสาร 7 (84.6 %) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด ตามด้วย สาร 6 (46.2 %), 10 (22.8 %), 8 (17.9 %) และ 9 (16.5 %) ตามลำดับ



- 1,  $R_1 = \text{OMe}; R_2 = R_3 = \text{H}$
- 2,  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
- 3,  $R_1 = R_2 = \text{OMe}; R_3 = \text{H}$
- 4,  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OMe}$
- 10,  $R_1 = R_3 = \text{H}; R_2 = \text{OMe}$

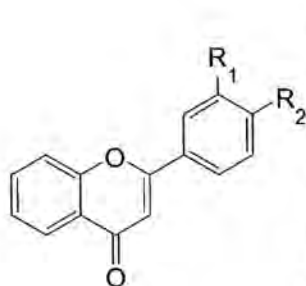


- 5,  $R_1 = \text{OMe}; R_2 = R_3 = \text{H}$
- 6,  $R_1 = R_3 = \text{H}; R_2 = \text{OMe}$
- 7,  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
- 8,  $R_1 = R_2 = \text{OMe}; R_3 = \text{H}$
- 9,  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OMe}$

### รูปที่ 1 โครงสร้างของฟลาโวนที่แยกได้ (1-10)

นอกจากนี้ จากเอกสารอ้างอิง<sup>3</sup> ที่ผ่านมาพบว่าสาร 2 และ 4 มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ (antiallergic activity) โดยมีค่า  $\text{IC}_{50}$  เท่ากับ 20.6 และ 8.0  $\mu\text{M}$  ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน ketotifen fumarate ( $\text{IC}_{50} = 47.50 \mu\text{M}$ )

2. การสังเคราะห์ในไตรฟลาโวน (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโวน (สาร 3-4) และเอไมด์ฟลาโวน (สาร 5-6) พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเตอเรส



- 1,  $R_1 = -\text{NO}_2$
- 2,  $R_2 = -\text{NO}_2$
- 3,  $R_1 = -\text{NH}_2$
- 4,  $R_2 = -\text{NH}_2$
- 5,  $R_1 = -\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_3$
- 6,  $R_2 = -\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_3$

### รูปที่ 2 โครงสร้างของอนุพันธ์ฟลาโวนสังเคราะห์ (สาร 1-6)

3. จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ของสารที่สังเคราะห์ได้ (1-6) พบว่า ค่า % การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ของสาร 1 จะ



ให้ % การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด (72.58%) ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บีวทริลโคลีนเอสเตอเรส พบว่าสาร 5 จะให้ % การยับยั้งเอนไซม์บีวทริลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด (69.45 %) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสและบีวทริลโคลีนเอสเตอเรสของสารในโศรฟลาวิน (สาร 1-2) อะมิโนฟลาวิน (สาร 3-4) และเอไมด์ฟลาวิน (สาร 5-6) ที่สังเคราะห์ได้

สาร	% ยับยั้งอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส	% ยับยั้งบีวทริลโคลีนเอสเตอเรส
1	72.58	67.74
2	62.25	25.00
3	70.87	63.24
4	15.13	63.67
5	21.75	69.45
6	56.14	64.98
Eserine (Standard)	91.91	98.09

4. การแปรรูปกระชายดำผง โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า วิธี ก (สกัดด้วยน้ำ) จะดีกว่าวิธี ข (สกัดด้วย 50% น้ำ-เมทานอล) เนื่องจากวิธี ข จะดูความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญด้วยเทคนิค GC ของการสกัดด้วยน้ำ (วิธี ก) พบว่าไม่มีปริมาณสาร 6 และ 7 ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นส่วนประกอบ ขณะนี้กำลังทำการสกัดด้วยน้ำที่มีเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลต่ำๆ คาดว่าจะมีสาร 6 และ 7 ออกมาบ้าง ในขณะที่เดียวกันคาดว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำให้แห้งแบบแช่แข็งด้วยวิธีนี้จะไม่ดูความชื้น

#### เอกสารอ้างอิง

1. In K., R., Michiel M., Kornkanok I., Robert V. *Journal of Chromatography A*. **2001**, 915, 217-223.
2. Ingkaninan, K.; Temkitthawon, P.; Chuenchom, K.; Yuyaem, T.; Thongnoi, W. J. *Ethnopharmacol.* **2003**, 89, 261-264.
3. Tewtrakul, S.; Subhadhirasakul, S.; Kummee, S. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, 116, 191-193.

ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดเปลือกทับทิม (*Punica granatum* Linn.

An Efficiency of antimicrobial activity from pomegranate (*Punica granatum* Linn. ) peel extracts

สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์\* สุเมธ ดันตระเชียร ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา จันทรประภา อิ่มจงใจรัก  
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมสายพันธุ์ต่าง ๆ ด้วยน้ำและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ผลพบว่าสารสกัดเปลือกผลทับทิมด้วยน้ำและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคส่วนใหญ่ที่ใช้ทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ โดยจะยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 และ *P. fluorescens* TISTR 385 สารที่สกัดด้วย เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์จะออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ โดยเปลือกของผลทับทิมสายพันธุ์แสงตะวันจะออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ที่พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์แสงตะวันยับยั้งได้ใกล้เคียงกัน

### วิธีการทดลอง

#### 1. การสกัดสารจากเปลือกผลทับทิม

นำเปลือกผลทับทิมทั้งสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และ พันธุ์แสงตะวัน (อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C) มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วน 1:4 จากนั้นระเหยตัวทำละลายเอทานอลออกด้วย rotary evaporator การสกัดด้วยน้ำกลั่นทำ 2 วิธี คือ สกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 1:15 ทำโดยการเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แบบที่ 1) และ สกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 1:3 ทำ โดยการตีปั่นเป็นเวลา 5 นาที (แบบที่ 2) นำสารสกัดด้วยน้ำมากรองหยาบและปั่นเหวี่ยงแล้วนำส่วนใสกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 µm ตรวจสอบร้อยละของสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธี

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม

นำสารสกัดจากข้อ 1 มาศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี paper-disc diffusion โดยประเมินจากขนาดของวงใสโดยใช้แบคทีเรียมาตรฐานในการทดสอบ 10 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC 1729, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Salmonella* Enteritidis DMST 17368, *S. Anatum* DMST 17362, *S. Derby* DMST 16814 ,

S. Typhimurium ATCC 13311, S. Choleraesuis ATCC 10708 , *Pseudomonas fluorescens* TISTR 385 และ *P. aeruginosa* ATCC 15442 โดยใช้สารปฏิชีวนะ tetracycline เป็น positive control และใช้ DMSO เป็น negative control ทำการทดลอง 6 ซ้ำ

## ผลการทดลอง

### 1 ปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม

ผลการสกัดสารจากเปลือกผลทับทิม ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน และ พันธุ์แสงตะวัน โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดเปลือกผลทับทิม ทั้ง 3 พันธุ์ที่ สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารสกัด  $28.30 \pm 1.04$  ,  $26.65 \pm 1.21$  และ  $21.17 \pm 0.75$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด แล้วทำแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ปริมาณสารสกัด  $22.07 \pm 1.55$  ,  $9.89 \pm 0.94$  และ  $13.30 \pm 1.22$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยการตีปั่น แล้วกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน ตรวจสอบปริมาณของสารสกัดตามวิธี A.O.A.C (1990 ) พบว่ามีปริมาณเท่ากับ  $12.03 \pm 0.56$  ,  $7.17 \pm 0.62$  และ  $9.71 \pm 0.65$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

### 2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์ต่างๆ

การใช้สารสกัดเปลือกทับทิมพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน และ พันธุ์แสงตะวันที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และน้ำกลั่นเพื่อใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 10 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus* ATCC 1729 และ *S. aureus* ATCC 6538P พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมทั้ง 3 พันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และสกัดด้วยน้ำทั้ง 2 วิธี สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 6538P ได้ดีกว่า ดังแสดงในตารางที่ 1 และยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบได้ทั้ง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922 , *S. Enteritidis* DMST 17368, *S. Anatum* DMST 17362, *S. Derby* DMST 16814 , *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Choleraesuis* ATCC 10708 , *P. fluorescens* TISTR 385 และ *P. aeruginosa* ATCC 15442 โดยยับยั้ง *P. aeruginosa* ATCC 15442 ได้ดีใกล้เคียงกับ *P. fluorescens* TISTR 385 สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำทั้ง 2 วิธี และสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์แสงตะวันมีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดเปลือกทับทิม ด้วยวิธี paper-disc diffusion

แบคทีเรียทดสอบ	สารสกัดเปลือกทับทิม								
	เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์			น้ำ (แบบที่ 1)			น้ำ (แบบที่ 2)		
	พื้นเมือง	จีน	แสงตะวัน	พื้นเมือง	จีน	แสงตะวัน	พื้นเมือง	จีน	แสงตะวัน
<i>B. cereus</i>	9.5±1.0	5.8±1.4	14.5±1.1	7.4±0.8	3.6±0.8	10.3±1.0	8.8±0.7	4.3±1.0	11.5±2.3
<i>S. aureus</i>	16.6±0.8	12.0±1.4	21.0±1.1	12.3±1.7	5.8±0.8	14.8±1.0	18.5±1.0	10.7±1.9	16.6±1.2
<i>E. coli</i> ATCC	7.3 ±1.4	3.7 ± 0.8	13.3±0.8	5.3±0.5	2.2±0.4	8.0±0.6	5.5±1.2	2.3±0.5	8.7±6.8
<i>S. Enteritidis</i>	7.5±0.8	2.2±1.2	8.8 ± 1.9	4.8±0.8	-	6.8±0.4	5.2±1.2	0.8±0.8	6.8±0.4
<i>S. Anatum</i>	5.8±0.8	2.0±0.9	7.8 ± 1.5	2.8±0.8	0.3±0.5	7.3±0.8	3.3±0.8	1.7±1.0	7.8±0.8
<i>S. Derby</i>	7.3±1.0	4.7±0.8	8.2±0.8	3.5±0.8	1.3±0.5	6.2±1.2	4.3±0.9	1.3±0.5	7.7±1.2
<i>S. Typhimurium</i>	7.3±1.0	4.7±0.8	10.2±0.8	4.6±0.7	2.7±0.5	7.5±1.2	6.3±1.0	3.2±1.2	9.3±0.8
<i>S. Choleraesuis</i>	10.1±0.7	6.17±0.7	12.50±1.05	9.8±0.4	8.0±0.6	12.6±1.0	6.6±0.8	5.5±0.5	5.9±0.8
<i>P. fluorescens</i>	12.2±1.3	11.8±1.3	16.5±1.5	7.8±0.9	5.5±1.2	13.3±1.2	6.1±1.2	3.3±2.1	11.5±2.1
<i>P. aeruginosa</i>	17.2±1.1	13.4±1.6	16.3±1.8	13.2±1.2	9.7±2.4	12.8±0.8	12.8±0.9	9.3±1.9	14.2±1.7

- หมายถึง ไม่ปรากฏวงใส  
ตัวเลขในตาราง คือ ค่าเฉลี่ยของขนาดวงใส (มม.) ± SD

### สรุปผล

สารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด โดยพันธุ์แสงตะวันที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และน้ำ มีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้สูงกว่าพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์มีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

### เอกสารอ้างอิง

- Al-Zoreky NS. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. International Journal of Food Microbiology 134(3):244-248.
- Iqbal S, Haleem S, Akhtar M, Zia-ul-Haq M, Akbar J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. Food Research International 41(2):194-200.

# การประยุกต์ QR code สำหรับระบบการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองคุณภาพเพื่อกา ส่งออก

## Application of QR Code to High Quality Nam Dok Mai Sritong Mango for Export

เดือนใจ โก้สกุล<sup>1</sup> และปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤษ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup> ห้องปฏิบัติการทรานเจนิคในพืชและไบโอเซ็นเซอร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ 10330

### บทคัดย่อ

ประเทศไทยส่งออกมะม่วงปีละกว่า 1500 ตัน เป็นมูลค่า 547.73 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) การพัฒนาศักยภาพให้มากขึ้นจำเป็นต้องอาศัยการพัฒนามะม่วงให้ได้คุณภาพและมีการรับรองที่ดี จึงได้พัฒนาระบบ QR code สำหรับการเพิ่มมูลค่าในการรับรองและประกันคุณภาพและความปลอดภัยในการผลิตมะม่วงเกรดส่งออกต่างประเทศ จากการสร้างฐานข้อมูลการผลิต การใช้สารเคมีโดยระบบการผลิตและข้อมูลการควบคุมคุณภาพตามหลัก Eurep GAP และปรับให้อยู่ในรูปแบบฐานข้อมูล php พัฒนาการเชื่อมโยงข้อมูลสู่ผู้บริโภค ทำได้โดยการใช้รหัส QR ผ่าน website [www.qrthai mango .com/qr](http://www.qrthai mango .com/qr) ที่สร้างขึ้นด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3 การดำเนินการในรูปแบบสาธิตแสดงให้เห็นว่า สามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่เข้าตรวจสอบข้อมูลผ่าน keywa reader ในการเรียกดูข้อมูลการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยได้โดยตรง เป็นช่องทางที่ช่วยเสริมการรับรองคุณภาพและช่วยให้เกิดภาพลักษณ์ที่ดีแก่สินค้าส่งออกของประเทศ

### วิธีการทดลอง

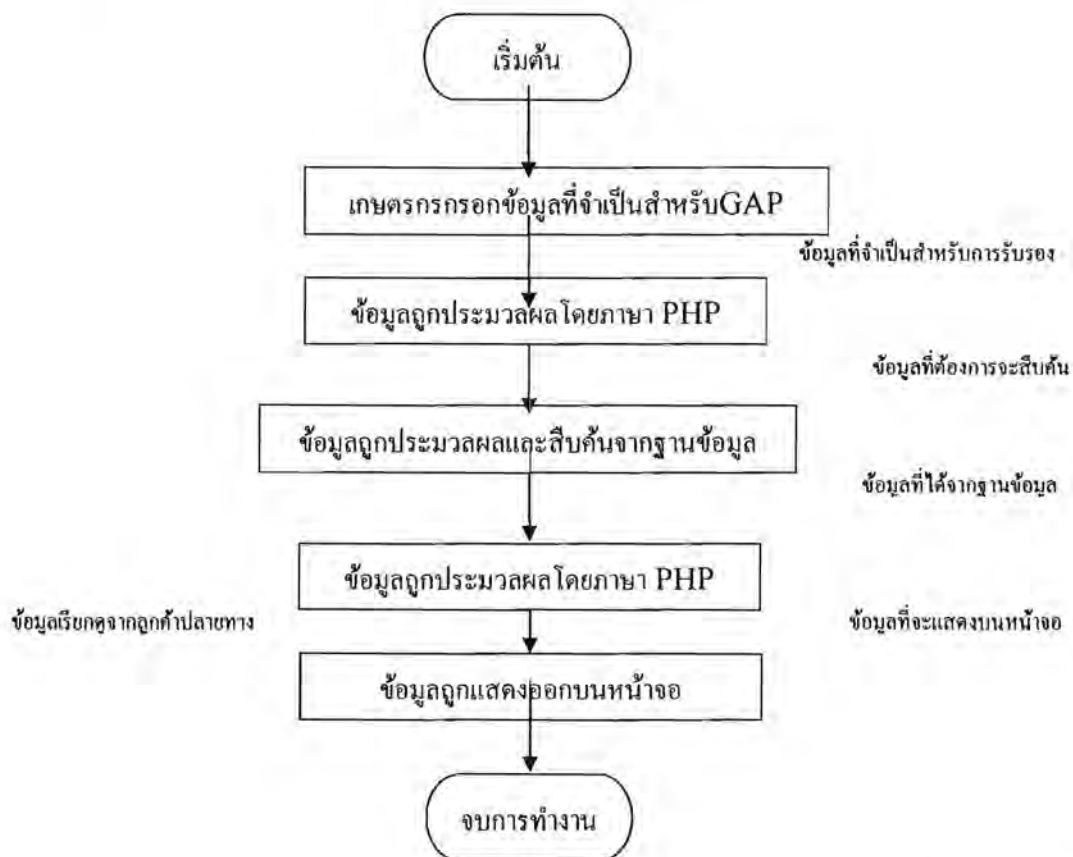
1. สร้างฐานข้อมูลการผลิตและการควบคุมคุณภาพด้วยหลัก Eurep GAP จากกลุ่มเกษตรกรผู้ส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก ด้วยโปรแกรม php My Admin จากนั้นเชื่อมโยงข้อมูลในรูปแบบโครงข่ายที่ตรวจสอบได้จากอินเทอร์เน็ตด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3
2. แปลงข้อมูลทั้งหมดให้อยู่ในรูปแบบเชื่อมโยงกับรหัส QR ผ่านโปรแกรม QR code generator
3. ตรวจสอบโดยการสาธิตการทำงานบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ โดยการเชื่อมโยงโทรศัพท์กับรหัสผ่านโปรแกรม keywa reader และการเชื่อมโยงไปสู่การรับรองคุณภาพ



## ผลการทดลอง

สร้างฐานข้อมูลการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อการส่งออกที่ส่งตามระบบ Eurep GAP ประกอบไปด้วย ข้อมูลการปลูก การใช้สารเคมีในระหว่างการผลิตในแต่ละล็อต ข้อมูลการเก็บเกี่ยวและปรับปรุงพันธุ์ ฯลฯ

ฐานข้อมูลดังกล่าวจัดเก็บในรูปแบบ .xsl การปรับให้อยู่ในรูปแบบ php file และทำให้อยู่ในรูปแบบ interactive โดยใช้โปรแกรม Php My Admin โดยการเชื่อมโยงมีโครงสร้างดังแสดงในภาพ (ภาพที่ 1.)



แต่ละรายการเมื่อแปลงให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถตรวจสอบผ่าน interactive ด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver แล้ว ใช้โปรแกรม QR code generator สร้างรหัส 2 มิติ เชื่อมโยงข้อมูลรายการที่ให้การรองรับ (ภาพ QR code) ข้อมูล QR code เมื่อนำมาสัมพันธ์กับเครือข่ายอินเทอร์เน็ตทางเว็บไซต์ <http://www.qrthaimango.com/qr> จะได้ระบบที่มีการทำงานในรูปแบบ interactive ระหว่างข้อมูลในฐานข้อมูลที่สามารถเรียกดูผ่าน QR code ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่

การเรียกดูข้อมูลทำโดยผ่านการใช้โปรแกรม keywa reader โดยสามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่ที่เชื่อมโยงกับอินเทอร์เน็ตที่สามารถถ่ายภาพได้ ทำให้สามารถตรวจสอบข้อมูลการผลิตและการรับรองคุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผลิตเพื่อการส่งออกได้

ตัวระบบช่วยให้ผู้ส่งออกและเกษตรกร ผู้ผลิตสามารถรับรองคุณภาพและความปลอดภัยในตัวสินค้าขณะเดียวกันยังช่วยให้ผู้บริโภคปลายทางสะดวกในการค้นหาข้อมูลประกอบการตัดสินใจหรือข้อมูลรับรองที่ทำให้เกิดความพึงพอใจ ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการพัฒนาข้อมูลที่เชื่อมโยงกับระบบการส่งออกให้ทันสมัย ส่งผลดีต่อการรักษามาตรฐานด้านคุณภาพและภาพลักษณ์ของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองของไทยได้ในระยะยาว

## เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. “มะม่วง” ไม้ผลของคนไทย ไปไกลถึงต่างแดน อ้างใน <http://www.biotech.or.th/biotechnology-th/newsdetail.asp?id=1923> (30 พฤศจิกายน 2552)

Anonymous. 2002. QR code for food safety assurance. Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services Ministry of Agriculture Fishery and Forestry, Japan, internal document No. 2154. (in Japanese)

GLOBALGAP. 2009. General Regulations V 3.1 Integrated Farm Assurance (IFA) Standard [http://www.globalgap.org/cms/front\\_content.php?idart=147 &idcat=48&lang=1&client=1](http://www.globalgap.org/cms/front_content.php?idart=147 &idcat=48&lang=1&client=1)

**สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร  
และอาหารแห่งชาติ : มกอช.**

The National Bureau of Agricultural  
Commodity and Food Standards : ACFS

**กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

6 ก.พ. 2562



**วิสัยทัศน์สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตร  
และอาหารแห่งชาติ (มกอช.)**

**“เกษตรกรผลิตสินค้าที่มีคุณภาพ  
ได้มาตรฐาน และคนไทยบริโภคอาหาร  
ที่มีความปลอดภัย”**



**พันธกิจมกอช.**

- & ดำเนินงานด้านมาตรฐานของสินค้าเกษตรและอาหาร
- & เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านอาหาร
- & สร้างระบบตรวจสอบ รับรองคุณภาพตลอดโซ่อุปทาน
- & เจรจด้านมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารในเวทีโลก
- & เป็นศูนย์กลางข้อมูลด้านมาตรฐาน



**บทบาทของ มกอช.**

**ด้านการมาตรฐาน** : กำหนด ส่งเสริม ตรวจสอบและ  
รับรอง **accredit**

**ด้านภายในประเทศ** : เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านอาหาร  
ส่งเสริมการผลิตสินค้าที่มีคุณภาพ

**ด้านต่างประเทศ** : เจรจด้านมาตรฐานสินค้าเกษตร  
และอาหารวางระบบกักกันพืชและสัตว์  
**(Quarantine System)**



การจัดองค์กร

**สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.)**

กลุ่มตรวจสอบภายใน

กลุ่มพัฒนาระบบบริหาร

สำนักงานเลขานุการกรม

ศูนย์สารสนเทศ

กองนโยบายมาตรฐาน  
สินค้าเกษตรและอาหาร

สำนักมาตรฐานสินค้า  
และระบบคุณภาพ

สำนักรับรองมาตรฐาน  
สินค้าและระบบคุณภาพ

**ROAD MAP OF FOOD SAFETY**



## Strategies

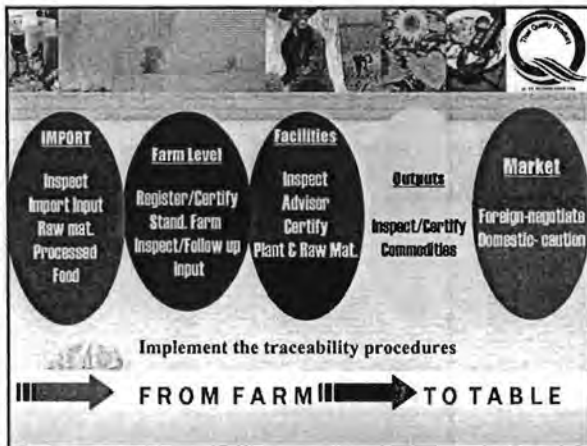
### 1. Strategies for FOOD SAFETY

- Importing : Inspection Quarantine and Control of Inputs
- Domestic : Single Standards for both export and domestic product
- Exporting : Certify to Comply with Importing Requirement

### 2. Develop and Promote Good Agriculture Practice (GAP)

- Consumer Hygiene and Safety
- Increasing Farmer Income
- Reduce Pesticide Usage

Stakeholders : Food Safety is the responsibility of every body in Food Chain



## Road Map of Food Safety : Outcomes

**Plant :** Strictly Control and Monitoring of Import Hazardous Substance and Chemical Products

**Livestock :** Strictly Control on Safety and Standards of Import of Meet Products ,Feed, Live animals and Carcasses

**Fishery :** Strictly Control Safety and Standards of Import Aquatic Feeds

## Road Map of Food Safety : Outcomes

**Plant :** 27 Major Exporting Agricultural Products  
 GAP Farms Production

**Livestock :** Cattle, Swine and Poultry

GAP Farms Production meet and except by International standards and requirements

**Fishery :** Shrimp and Fishery Farms  
 GAP/CoC Farm Productions

## Road Map of Food Safety : Outcomes

**Plant :** Certify Food Processing Plant ,Packaging House and Export Agricultural and Food Product to 52 Countries

**Livestock :** Certify Animal Feed Plant , Processing Facilities and Slaughter House

**Fishery:** Certify Fishery Frozen , Processing Plant and Aquatic Animal Feed Plant



### Road Map of Food Safety : Outcomes

*Inspect and Certify*

**Outcomes**

- Plant and Plant Products
- Meat and Meat Products
- Fish and Fish Products

**Inspect/Certify Commodities**

Meet international standards and customer's requirements





### Road Map of Food Safety : Outcomes

**Market**

Foreign-negotiate Domestic-caution

1. Reach MRA Agreement with China, Vietnam, Singapore, Australia and New Zealand and Focal Point for ASEAN Food Safety Network and APEC Food Sectoral MRA
2. Designed Standards
3. Accredited Private and Public Certify Body with ISO 17025





### Road Map of Food Safety : Outcomes

**Market**

Foreign-negotiate Domestic-caution

4. Develop Electronic Certification System e – Certificate Livestock Products
5. Develop Traceability System
6. Initiate and Focal Point for
  - ASEAN Food Safety Network
  - ASEAN Single Window
  - APEC Food Sectoral MRA





### Thailand's Experiences Problems

1. Organization and Regulation problems
2. Farm management
3. Industry and inspection problems
4. Physical forms of export products
5. Quarantine and inspection systems
6. Research and Development



## มาตรฐาน

หมายถึง.. ข้อกำหนด (rules) คุณลักษณะ (characteristics) หรือแนวทาง (guidelines) สำหรับผลิตภัณฑ์ หรือกระบวนการผลิตและวิธีการผลิตที่เกี่ยวข้อง ซึ่งอาจรวมถึงคำศัพท์ สัญลักษณ์ การบรรจุภัณฑ์ การใส่เครื่องหมาย และการติดฉลาก



### ข้อตกลงระหว่างประเทศ เกี่ยวกับมาตรฐาน

1. WTO : (1) Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures (SPS). Est. 1994
- (2) Agreement on Technical Barriers to Trade (TBT). Est. 1994





2. FAO ร่วมกับ WHO : Codex Alimentarius

Commission Est. 1961/62 , revised  
หลายครั้ง

3. FAO : International Plant Protection

Convention (IPPC). Est. 1952 ,  
revised in 1997

4. OIE : International Agreement for the  
Creation of an Office International  
des Epizooties in Paris. Est. 1942

มกอช. เป็นหน่วยงานกลางในการประสานงาน  
กับ WTO ในส่วนที่เกี่ยวกับสินค้าเกษตรและ  
อาหาร ตามข้อตกลง SPS และ TBT Codex  
IPPC และ OIE

การจัดทำมาตรฐานระหว่างประเทศ ข้อแนะนำ  
(Recommendations) และแนวทาง (Guidelines)

- |                                 | หน่วยงานที่รับผิดชอบ |
|---------------------------------|----------------------|
| 1) เกี่ยวกับความปลอดภัยของอาหาร | Codex ภายใต้ FAO/WHO |
| 2) เกี่ยวกับสุขอนามัยพืช        | IPPC ภายใต้ FAO      |
| 3) เกี่ยวกับสุขอนามัยสัตว์      | OIE                  |

Standards Development in Thailand

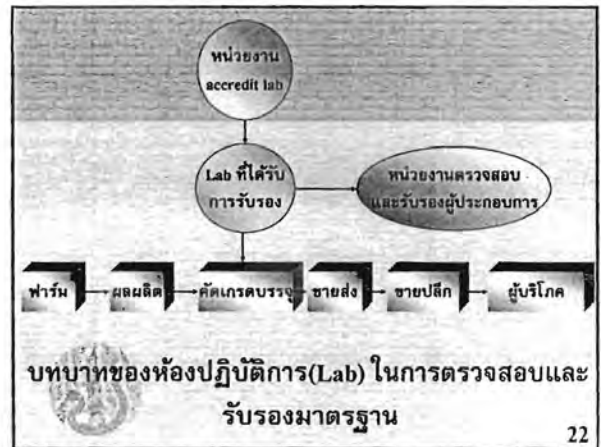
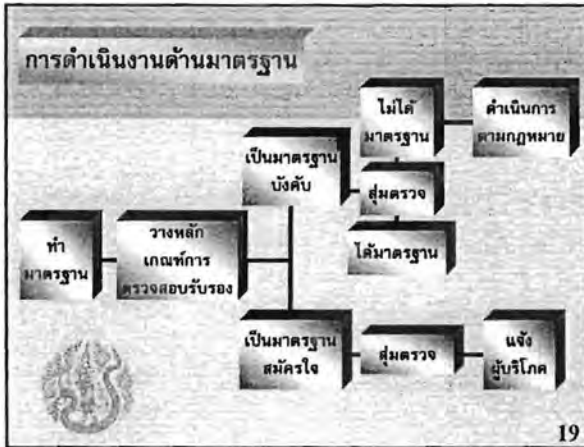


การสร้างมาตรฐานภายในประเทศ



9 Steps for set up Thailand Standard





### Q - Mark: An Accreditation Mark for Qualified Products

Quality and Safe Product

### GAP Certification Criteria → Q Mark

1. CB's GAP Certification program
2. Product Certification
  - derived from certified GAP farms
  - sampling testing / inspection

AC 11-11-11111-1111111-111

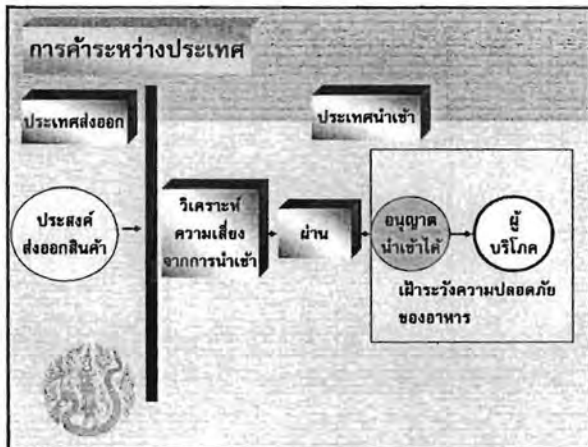
Code Group 1 CB

Code Group 2 Certification Category

Code Group 3 Standards

Code Group 4 Farm / operators

Code Group 5 type of product



**ACFS vs Risk Analysis**

Food Safety Risk Analysis  
 Plant/Animal Health Risk Analysis  
 Import/Export Risk Analysis

**ACFS : Food Safety Risk Analysis**

1. For standard setting

: Food Safety standard

- MRL for pesticides residue, veterinary drug,..
- ML for contaminants

: Standard based on risk assessment data

process for standard setting = risk management + risk communication

**ACFS : Food Safety Risk Analysis**

2. For International Standard

- Codex Standard
- Import / Export Risk Analysis

**ACFS : Food Safety Risk Analysis**

3. Capacity Building On Risk Analysis

- Training Seminar
- Risk Analysis model
- on - the -job -Training

**ACFS**

**มกช**

- National Codex Contact Point
- SPS Notifying / Enquiry Body
- TBT(Food) / Enquiry Body
- IPPC Contact Point
- OIE Contact Point

### ACFS : RASFF

Rapid Alert System for Food and Feed

ปัญหาสินค้าไทยที่ส่งออกไปยังยุโรป ปี 2551

- สินค้าพืช 82 รายการ
- สินค้าประมง 13 รายการ
- สินค้าปศุสัตว์ 8 รายการ
- สินค้าอื่นๆจำนวน 5 รายการ



### ACFS : RASFF

Rapid Alert System for Food and Feed

ปัญหาสินค้าไทยที่ส่งออกไปยังยุโรป ปี 2552

- สินค้าพืช 81 รายการ
- สินค้าประมง 11 รายการ
- สินค้าปศุสัตว์ 3 รายการ
- สินค้าอื่นๆจำนวน 1 รายการ



### ACFS : RASFF

ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ย. 2552

สินค้า	ประเทศ	สาเหตุ
ใบตอง	สเปน	Salmonella spp.
ใบบัวบก	สวีเดน	Salmonella spp.
ตะกวดสด	สวีเดน	E.Coli และ Samonella spp.
ผักแพว	สวีเดน	Salmonella spp.



### ACFS : RASFF

ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ย. 2552

สินค้า	ประเทศ	สาเหตุ
พริกหยวก	ฟินแลนด์	Formetanate (6.8mg/kg)
ใบกระเพรา	อิตาลี	Omethoate Dimethoate (8.3mg/kg)
น้ำปลา	อิตาลี	Histamine (243-275 mg/kg)
ปลาทูน่า	เนเธอร์แลนด์	Carbon monoxide treatment



35

### ACFS : RASFF

ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ย. 2552

สินค้า	ประเทศ	สาเหตุ
ปลากระโทงแทง คาบ	เนเธอร์แลนด์	Carbon monoxide treatment
ควีนองแกง	สาธารณรัฐสโลวีเนีย	ESBO (2,281 mg/kg)



35

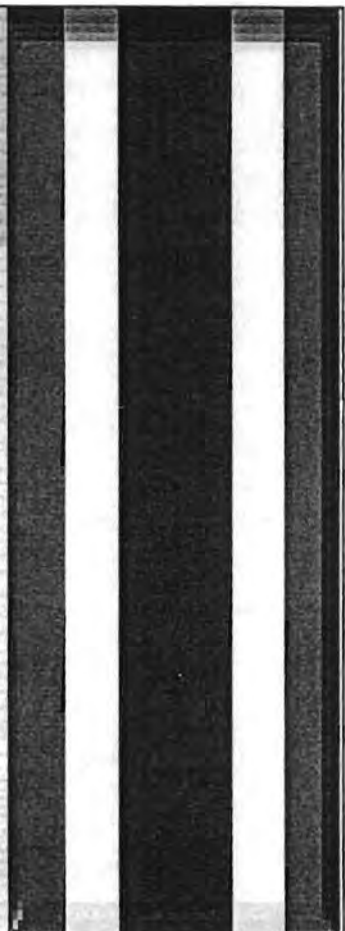
### CONCLUSION

- ☛ From Farm to Table ; takes times, costs, benefits
- ☛ From Farm to Table Policy lead to Food Safety ; Highest customer's benefits
- ☛ All stakeholders in food chain involve with policy's success.
- ☛ Food Safety # Trade Barrier
- ☛ Thailand strongly believes that food safety could be achieved if sound scientific justification is provided and based on international standards





**T  
H  
A  
N  
K  
  
Y  
O  
U**





# สินค้าอาหารไทยสู่ตลาดโลก

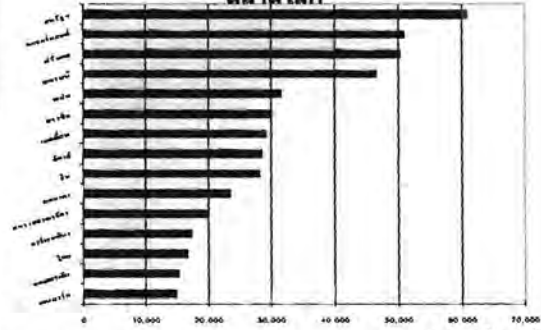
โดย นางสุจิตรา กนอมทรัพย์  
ผู้อำนวยการกลุ่มสินค้าเกษตรและแปรรูป  
สำนักบริการส่งออก 1  
กรมส่งเสริมการส่งออก กระทรวงพาณิชย์



- ➡ การส่งออกสินค้าอาหารของไทยในปัจจุบัน
- ➡ กลยุทธ์การส่งออกปี 2553
- ➡ แนวโน้มนวัตกรรมในสินค้าอาหารในตลาดโลก
- ➡ การดำเนินงานของกรมส่งเสริมการส่งออก เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่

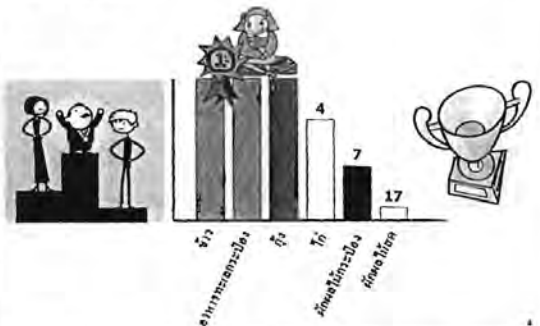


## ประเทศผู้ส่งออกสำคัญของสินค้าอาหารในตลาดโลก



ข้อมูลจาก Global Trade Atlas, 2007

## ความสามารถในการแข่งขันของสินค้าอาหารไทยในตลาดโลก



## สถานการณ์ส่งออกสินค้าอาหารและเกษตรสำคัญของไทย

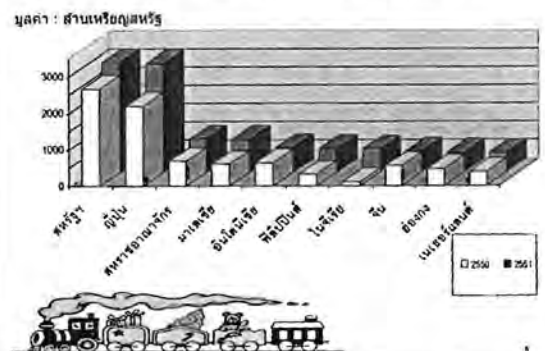
(ล้านเหรียญสหรัฐฯ)

	มูลค่าการส่งออก		อัตราการขยายตัว (%)		สัดส่วน (%)
	ปี 2551	ปี 2552 (ม.ค.-ต.ค.)	ปี 2551	ปี 2552 (ม.ค.-ต.ค.)	ปี 2552 (ม.ค.-ต.ค.)
รวมทั้งสิ้น	177,841	124,114	15.6	-19.8	100.0
สินค้าเกษตรอุตสาหกรรม	28,367	20,382	30.1	-29.5	16.4
รวมเกษตร					
1) ข้าว	6,284	4,178	78.9	-25.5	3.4
2) ยางพารา	6,792	3,151	20.4	-46.6	2.5
3) ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	1,456	1,141	3.6	-12.5	0.8
4) น้ำตาล	1,450	1,507	14.7	17.8	1.2
5) สินค้าอาหาร	13,465	10,414	24.8	-8.2	8.4
- อาหารทะเลแช่แข็ง	6,535	5,091	18.6	-8.8	4.1
- กระป๋อง แปรรูป					
-- กุ้งแช่แข็งและแปรรูป	2,380	2,127	-5.0	8.5	1.7
-- นม ผักผลไม้สดแช่แข็งกระป๋อง	2,282	1,871	15.1	-4.3	1.5
- แปรรูป					
- ไก่แช่แข็งแปรรูป	1,560	1,175	62.5	-7.5	0.9
- อาหารอื่น ๆ	3,088	2,015	37.6	-14.1	1.7

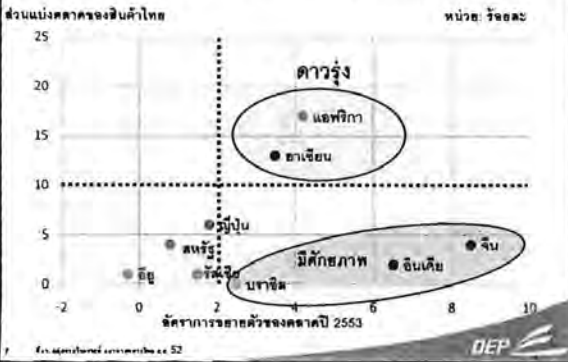
ข้อมูลจากกระทรวงพาณิชย์ โดยกรมวิจัยข้อมูลเกษตรและการค้า



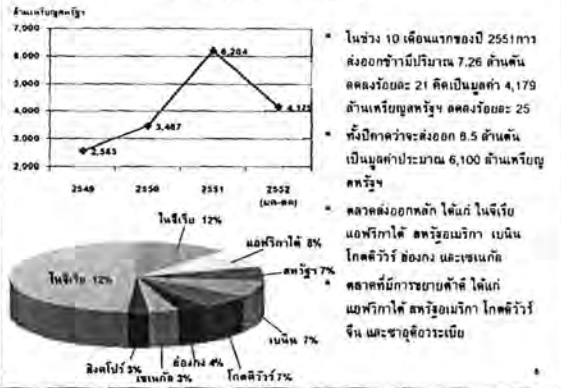
## ตลาดส่งออกสินค้าอาหารของไทย 10 อันดับแรก



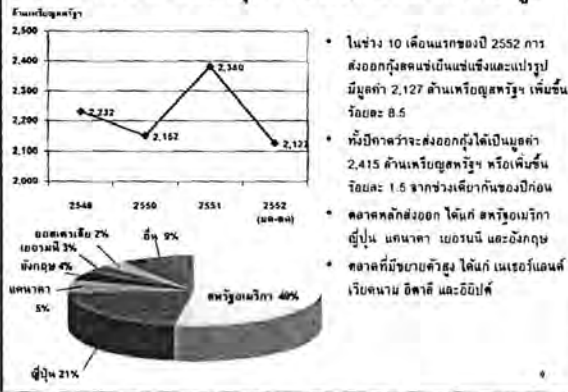
### โอกาสทางการตลาดของสินค้าอาหารและเกษตรของไทย



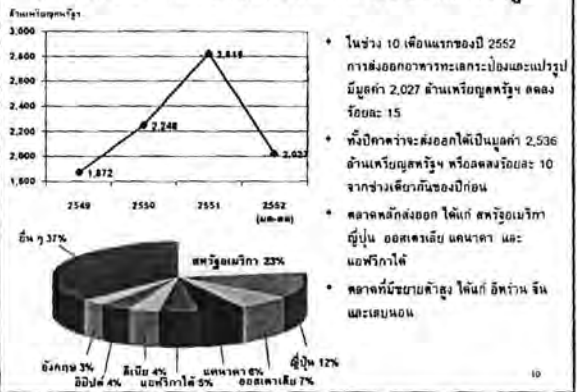
### แนวโน้มตลาดส่งออกข้าว



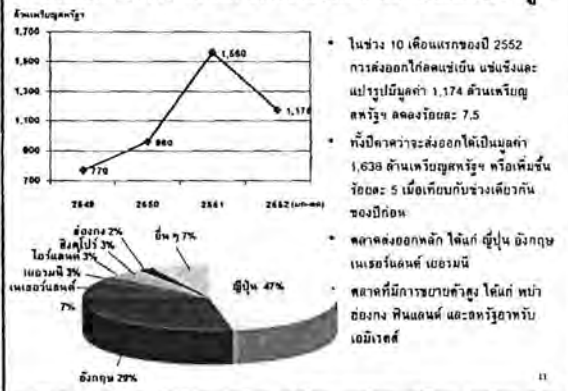
### แนวโน้มตลาดส่งออกกุ้งสดแช่เย็น แช่แข็ง และแปรรูป



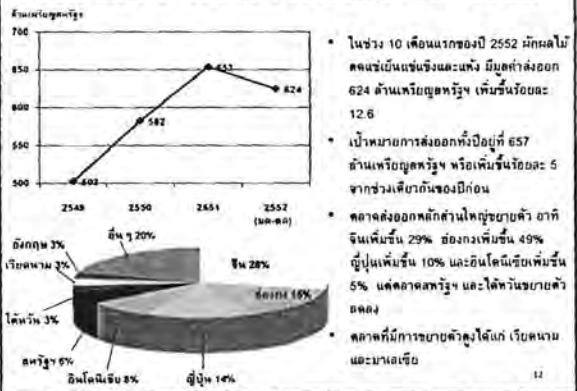
### แนวโน้มตลาดส่งออกอาหารทะเลกระป๋องและแปรรูป

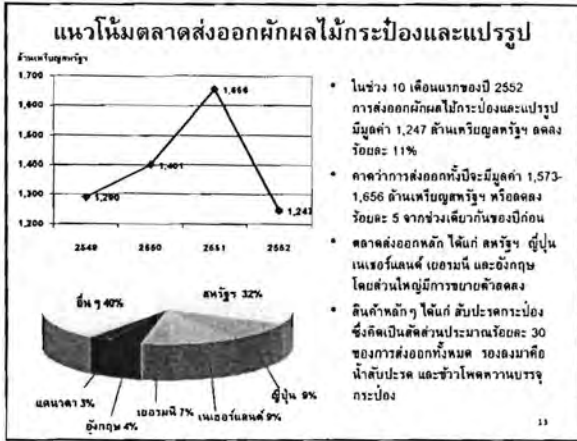


### แนวโน้มตลาดส่งออกไก่สดแช่เย็น แช่แข็งและแปรรูป




### แนวโน้มตลาดส่งออกผักผลไม้สดแช่เย็น แช่แข็ง แช้ง





#### 4. ผู้ประกอบการ SMEs

ด้านผลิตภัณฑ์	<ul style="list-style-type: none"> <li>เน้น Design ผลิตภัณฑ์ให้มีความเหมาะสม</li> <li>พัฒนาบรรจุภัณฑ์</li> </ul>
ด้านต้นทุน	<ul style="list-style-type: none"> <li>บ่มเพาะผู้ส่งออก (incubation) ให้ผู้ประกอบการมีความพร้อมในการทำธุรกิจการส่งออก</li> <li>จัดฝึกอบรม</li> </ul>
ด้านตลาด	<ul style="list-style-type: none"> <li>ส่งเสริมการส่งออกผ่าน E-Commerce และกิจกรรมการเข้าตลาดต่างประเทศ</li> </ul>

19 



## ยุทธศาสตร์ส่งเสริมการส่งออก ปี 2553

20 


### ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

สถานการณ์

- สินค้าอาหารที่สำคัญ ได้แก่ อาหารทะเลกระป๋องและแปรรูป กุ้งแช่แข็งและแปรรูป ไข่แช่แข็ง และแปรรูป อัญมณีมีค่า แอชเชียน แช่แข็งและแห้ง ผักและผลไม้กระป๋อง
- สิ่งเป้าหมายการส่งออกสินค้าเกษตรให้ขยายตัวมากกว่าเท่าตัวจากที่ส่งออกในปี 2552 มูลค่า 13,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ
- ขนาดการตลาดของอุตสาหกรรมอาหารอาหารทั่วโลก


(1) ผู้บริโภคอาหารสะอาดทั่วโลกมีจำนวนประมาณ 1,800 ล้านคนคิดเป็นสัดส่วนเกือบร้อยละ 30 ของประชากรโลก แบ่งตามภูมิภาค ได้แก่ เอเชีย 1,237 ล้านคน แอฟริกา 491 ล้านคน ยุโรป 51 ล้านคน และอเมริกา 10 ล้านคน

(2) กลุ่มประเทศมุสลิม (57 ประเทศที่เป็นสมาชิกของ OIC หรือ Organization of Islamic Conference) มีการนำเข้าสินค้าอาหารมูลค่า 84,095 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ในปี 2551 ขยายตัวร้อยละ 35.2

21 

### ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

- ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรอินทรีย์ (Organic)
- สร้างมาตรฐาน Food Safety
- สร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพและความไว้วางใจในสินค้าไทย ผ่าน SR Mark โดยเชื่อมโยงกับการใช้ Contract Farming ในประเทศ
- ค่าเป็นโครงการสำคัญ ได้แก่ การจัดสัมมนา การสำรวจตลาดการจัดงาน THAIFEX-World of Food Asia 2010 และการเข้าร่วมงานแสดงสินค้าในต่างประเทศ (ตลาดหลัก 7 งาน และตลาดใหม่ 8 งาน) การจัด In-store Promotion การประชาสัมพันธ์ภาพลักษณ์สินค้าและส่งเสริมตรา SR Mark

22 

### แนวโน้มและลักษณะของ NTBs ในปัจจุบัน

- มีการกำหนดมาตรฐานทางด้านสุขอนามัย สำหรับสินค้าเข้าที่มีความเข้มงวดสูงขึ้น
- การป่าประเด็นด้านอื่นๆ อาทิ เรื่องการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม การใช้แรงงานที่ถูกกฎหมาย และธรรมชาติบาลในการค้า มาเกี่ยวข้องกับมาตรฐานสินค้า



23

### แนวโน้มการใช้มาตรการกีดกันทางการค้าที่มีไม่พหามิ



24

### เหตุผลเบื้องหลังการใช้มาตรการกีดกันทางการค้า



1. เพื่อปกป้องอุตสาหกรรมการผลิตภายในประเทศ
2. เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ และสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคถึงคุณภาพและมาตรฐานของสินค้านำเข้า
3. สร้างรายได้ให้กับประเทศจากการจัดเก็บภาษีนำเข้า
4. เพื่อเป็นข้อต่อรองทางการทูตและการค้าระหว่างประเทศ และใช้ในการตอบโต้ประเทศคู่ค้า



### แนวโน้มความต้องการสินค้าอาหาร

1. ด้านสุขภาพ : คุณค่าทางโภชนาการ ความสะอาด
2. ด้านความสะดวกรวดเร็ว : อาหารพร้อมรับประทาน บรรจุภัณฑ์ที่สะดวกต่อการใช้งาน
3. ด้านธรรมชาติของธุรกิจ : เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรอินทรีย์ สิทธิมนุษยชน การใช้แรงงานถูกกฎหมาย ฯลฯ
4. ด้านความรื่นรมย์ในการบริโภค :รสชาติความพึงพอใจัน เคล็ดล้นพิเศษในสูตรอาหาร ตรงกับไลฟ์สไตล์ในปัจจุบัน



### การพัฒนานวัตกรรมสินค้าอาหาร



คุณภาพดี

มีประโยชน์และคุ้มค่า

ราคาเหมาะสม

มีคุณสมบัติหลากหลาย

### ประโยชน์ที่ได้จากการพัฒนานวัตกรรมสินค้า

- สร้างมูลค่าเพิ่ม
- สร้างขีดความสามารถในการแข่งขัน
- สามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้ในหลายๆ ด้าน



### ตัวอย่างนวัตกรรมสินค้าในตลาดต่างประเทศ

ความเชื่อมโยงระหว่างอาหารและความงาม:

- โยเกิร์ต Day Light ผลมบลูเบอร์รี่ ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ เสริมสร้างความชุ่มชื้นแก่ผิวพรรณ ป้องกันมลภาวะจากภายนอก รวมทั้งแสงแดด
- เครื่องดื่ม CranB สำหรับสตรีมีครรภ์ ผลมสารสกัดจากแครนเบอร์รี่และโอเมก้า 3 เพื่อเพิ่มและเพิ่มความชุ่มชื้นและช่วยป้องกันการติดเชื้อในระบบปัสสาวะ



### ตัวอย่างนวัตกรรมสินค้าในตลาดต่างประเทศ





### แนวทางการดำเนินงาน ของกรมส่งเสริมการส่งออก เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่

- โครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์และรูปแบบบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยนำผู้เชี่ยวชาญจากทั้งในประเทศและในต่างประเทศ มาให้ความรู้และคำแนะนำแก่ผู้ประกอบการ
- การจัดประกวดออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหารเป็นประจำทุกปี โดยมีแนวคิดที่สอดคล้องกับความต้องการในตลาดต่างประเทศ
- การจัดแสดงนิทรรศการบรรจุภัณฑ์อาหารที่ชนะการประกวด รวมทั้งนวัตกรรมอาหารใหม่ในงานแสดงสินค้าอาหารระดับนานาชาติ (Thaifex)



11

### แนวทางการดำเนินงาน ของกรมส่งเสริมการส่งออก เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่ (ต่อ)

- การจัดให้คำปรึกษาแนะนำการออกแบบให้แก่ผู้ประกอบการเป็นรายบริษัท (Design Clinic)
- การจัดทำข้อมูลแนวโน้มการออกแบบ (Design Trend) ในตลาดต่างประเทศ เพื่อเผยแพร่แก่ผู้ส่งออก



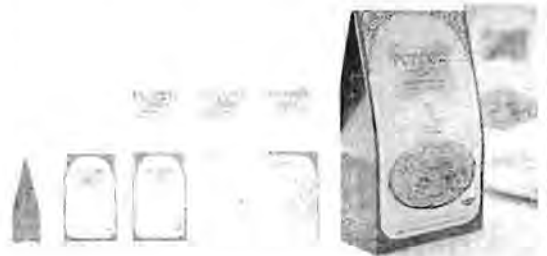
12

### โครงการพัฒนาบรรจุภัณฑ์อาหาร FOOD PACKAGING DESIGN DEVELOPMENT



11

### ผลิตภัณฑ์อาหารที่เข้าร่วมพัฒนาในโครงการฯ FOOD PACKAGING DESIGN DEVELOPMENT



11

### การสร้างมูลค่าโดย พัฒนาบรรจุภัณฑ์



### โครงการพัฒนา บรรจุภัณฑ์อาหาร



 **BEFORE**

 **AFTER**

โครงการพัฒนา  
บรรจุภัณฑ์อาหาร

37

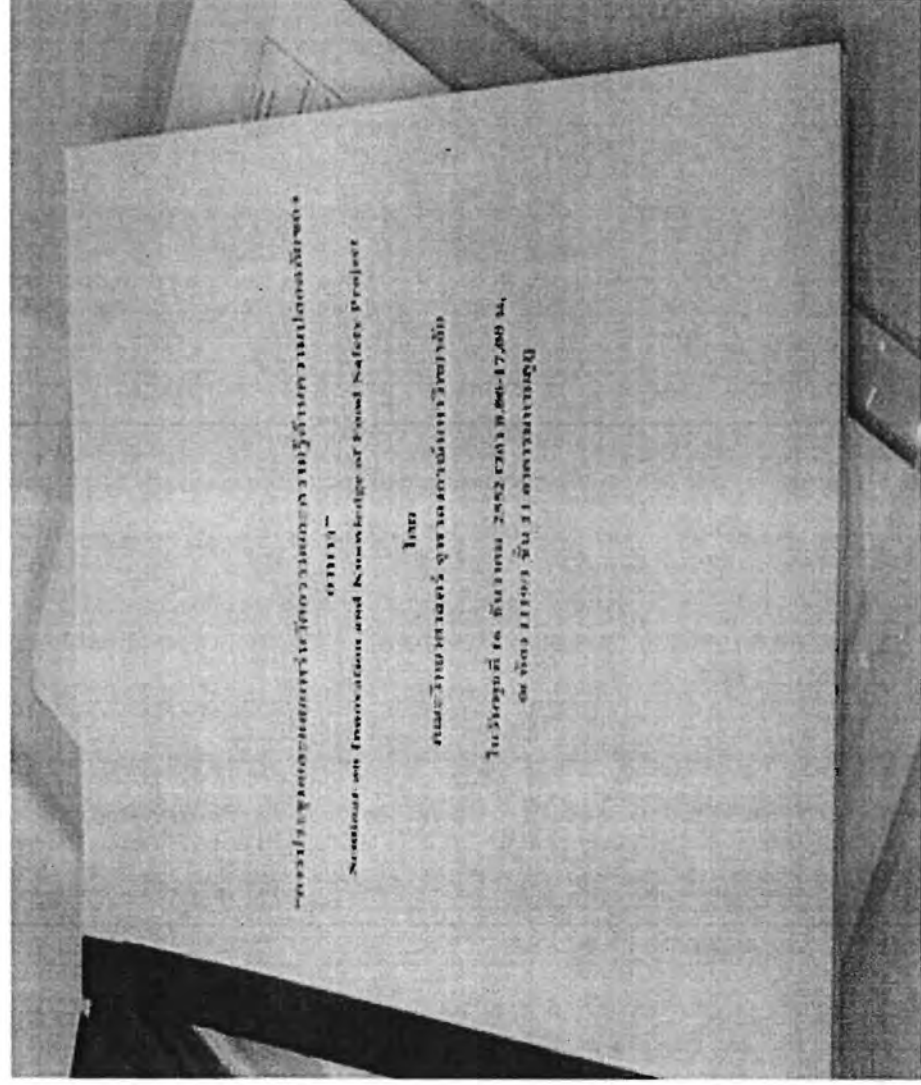


**ขอบคุณ**

38

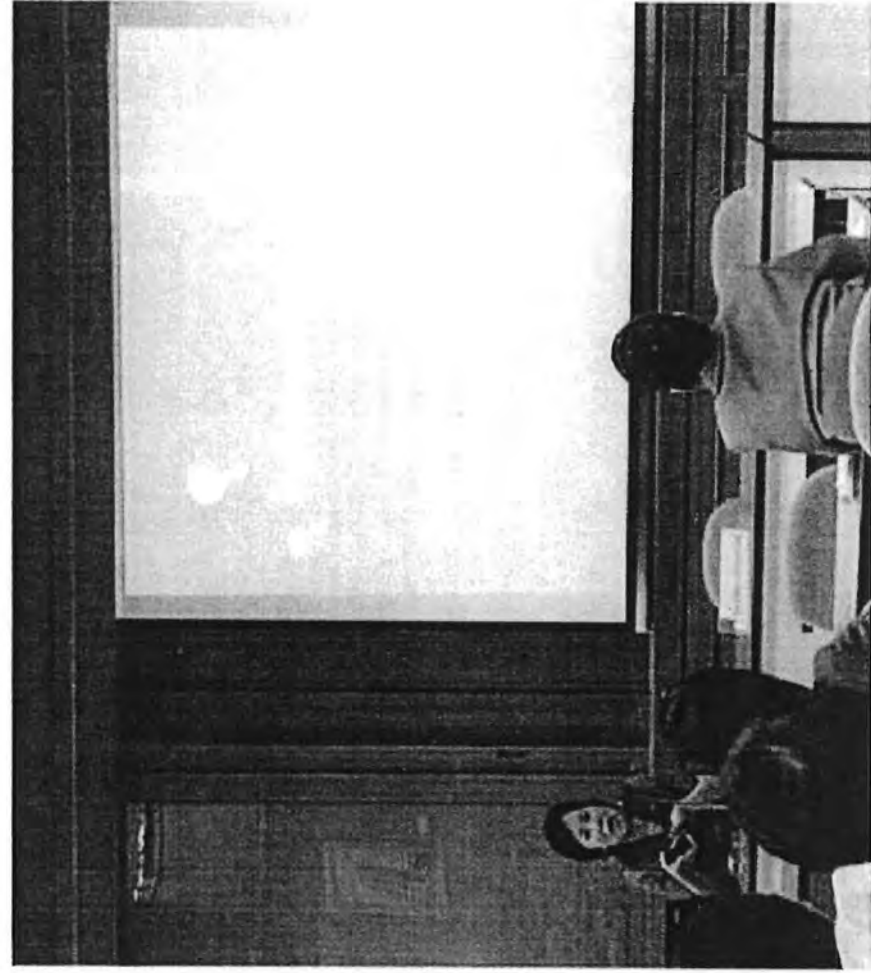
รูปภาพประกอบ

# การประชุมและเผยแพร่แนวคิดกรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552



## บรรยายพิเศษ เรื่อง สินค้าอาหารไทยสู่ตลาดโลก

โดย นักวิชาการพาณิชย์ชำนาญการพิเศษ สำนักบริการส่งออก (คุณสุจิตรา ฉานอมทรัพย์)

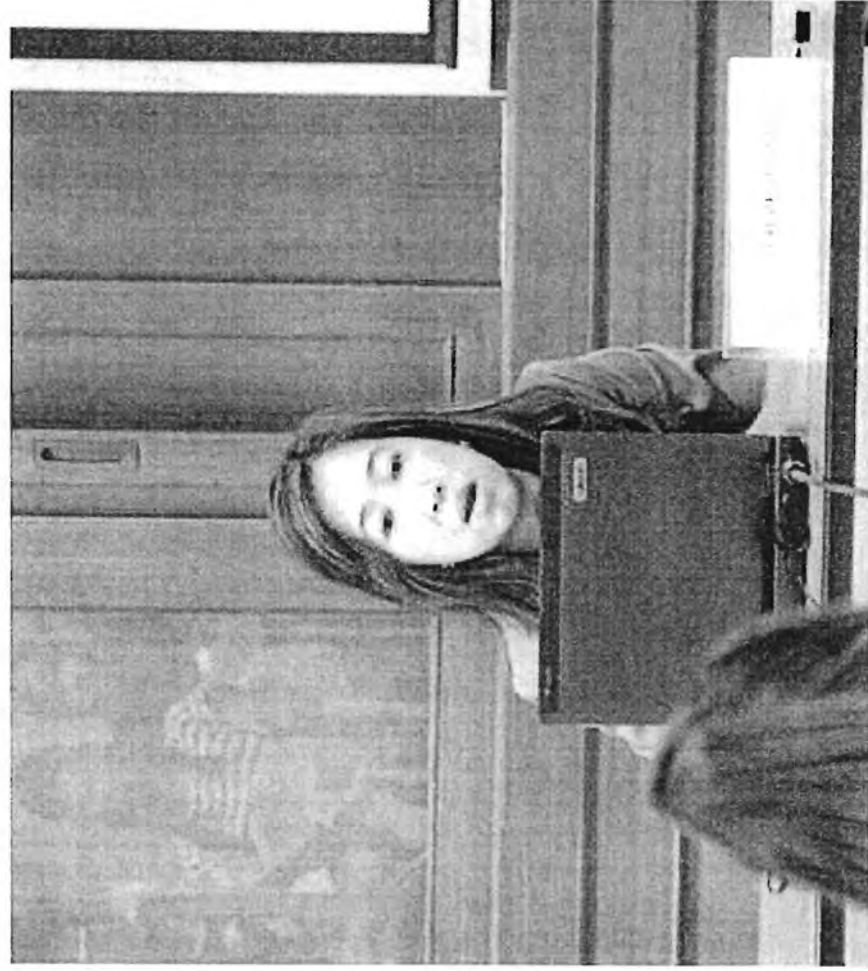




**บรรยายพิเศษ เรื่อง คุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยของสินค้าเกษตรและอาหาร  
โดย นายด้วงเทพชำนาญการพิเศษด้านมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าการเกษตร  
และอาหารแห่งชาติ(คุณชัยศิริ มหันตชัยกุล)**

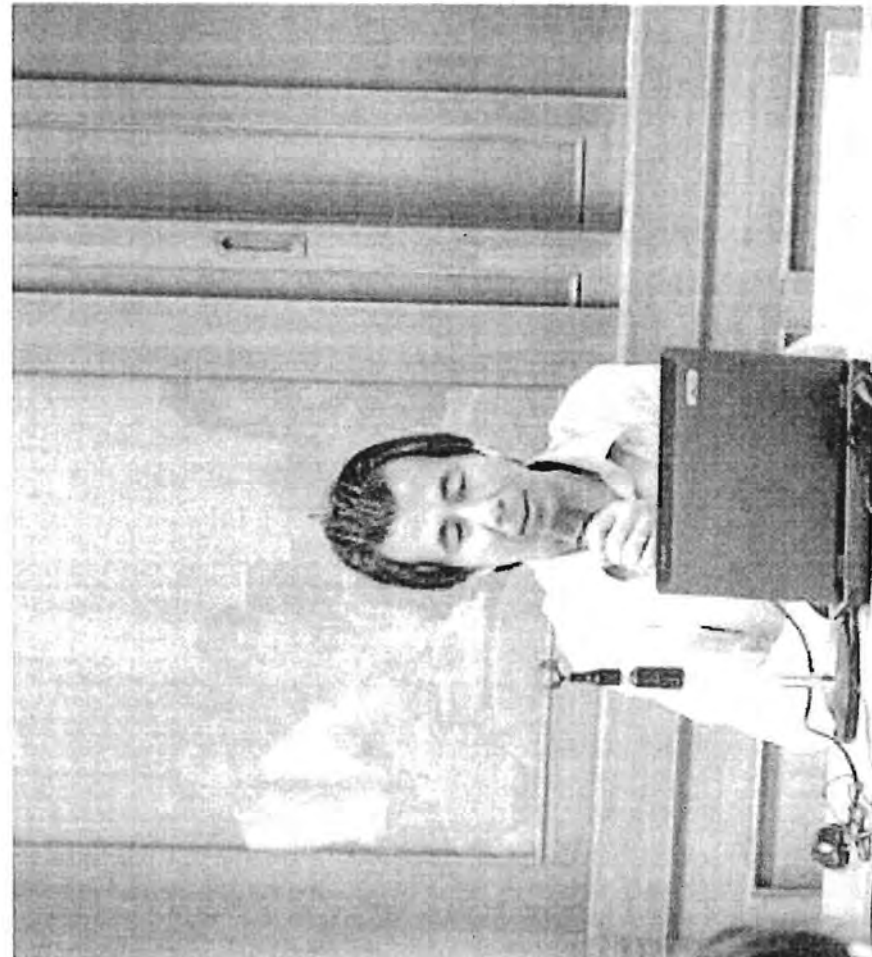


**ผู้ร่วมวิจัยแผนอภยงานการวิจัย**  
**เรื่อง การคัดสรรอาชีพที่ปรึกษาเพื่อการประมู่คดีด้านอุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม**



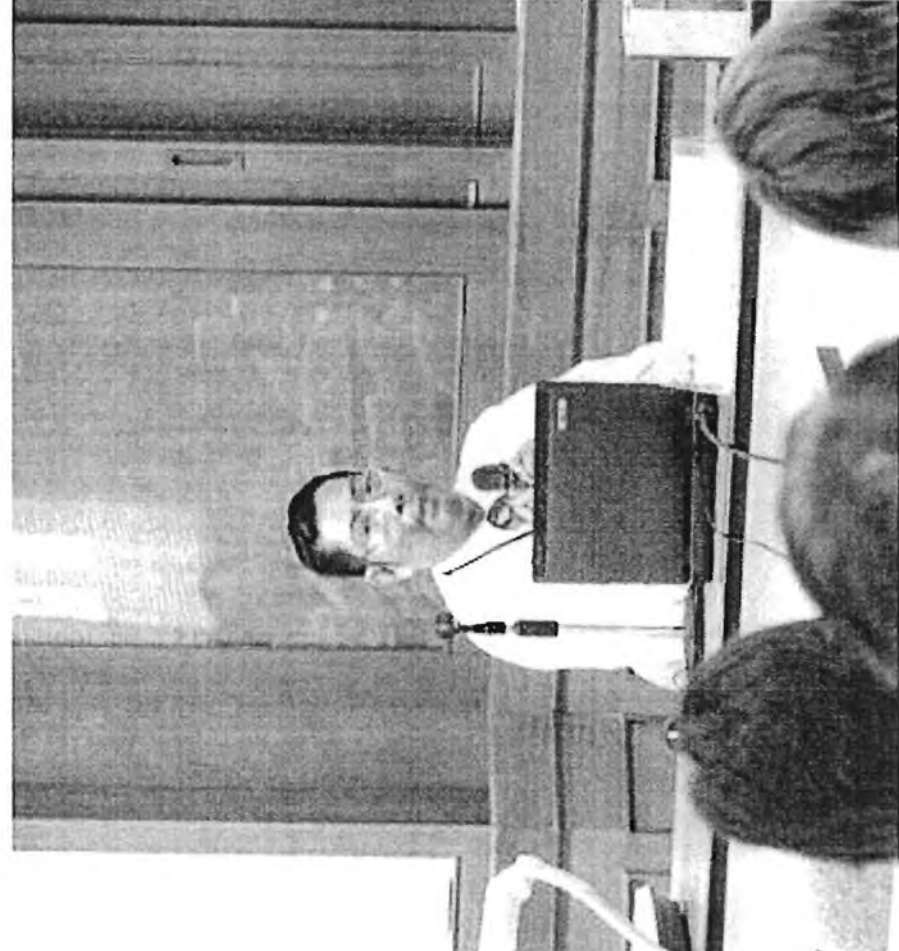
## ผู้ร่วมวิจัยสถานการณ์การวิจัย

เรื่อง การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และหาปริมาณแคปไซซินและไฮโดรแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารรสเผ็ด



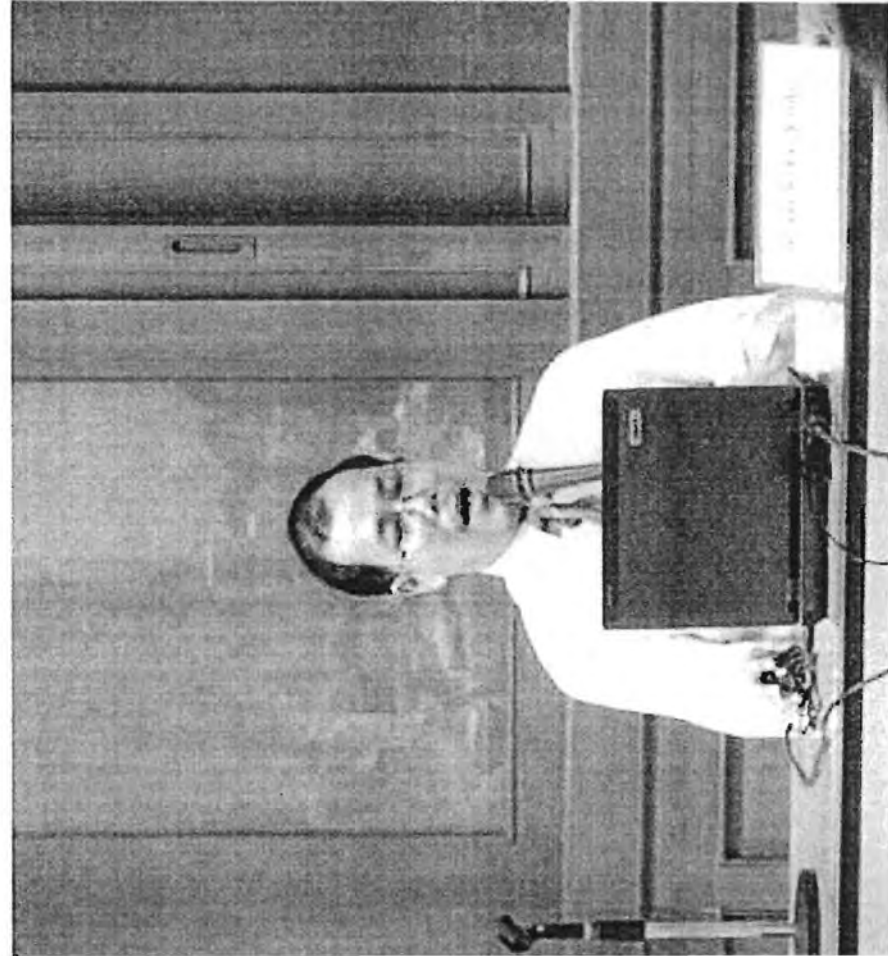
## ผู้ร่วมวิจัยแผนอภยงานการวิจัย

เรื่อง โมเดลธุรกิจเอ็นเอเพื่อการพัฒนาการวิเคราะห์คุณภาพและปลอดภัย แนวใหม่ในวัตถุดิบและอาหารแปรรูป





**ผู้ร่วมวิจัยแผนอภยงานการวิจัย**  
**เรื่อง การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล**





## ผู้ร่วมวิจัยเสนอรายงานการวิจัย

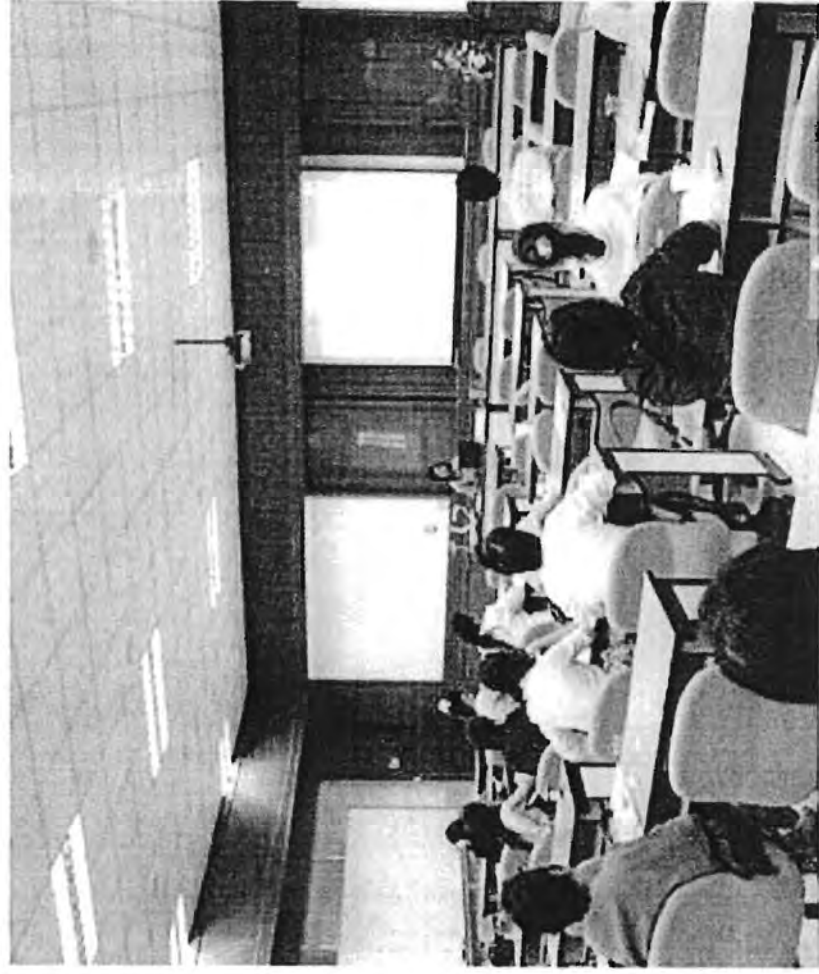
เรื่อง การพัฒนาระบบข้อมูลรหัส 2 มิติ และการควบคุมเชิงบูรณาการในการกำกับดูแลคุณภาพและความปลอดภัยของ

อาหาร : โมเดลเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร



## ผู้ร่วมวิจัยแผนงานการวิจัย

เรื่อง ผลคัมภีร์ผักผลไม้ท้องถิ่นมีเฉพาะของสารพรีไบโอติกส์(Prebiotics) และแอนติออกซิแดนต์(Antioxidants)



## ผู้ร่วมวิจัยเสนอรายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผล<sup>๓</sup>ไม่เพื่อสุขภาพที่เปลี่ยนแปลงและวิถีมลพิษสำหรับผู้สูงอายุ



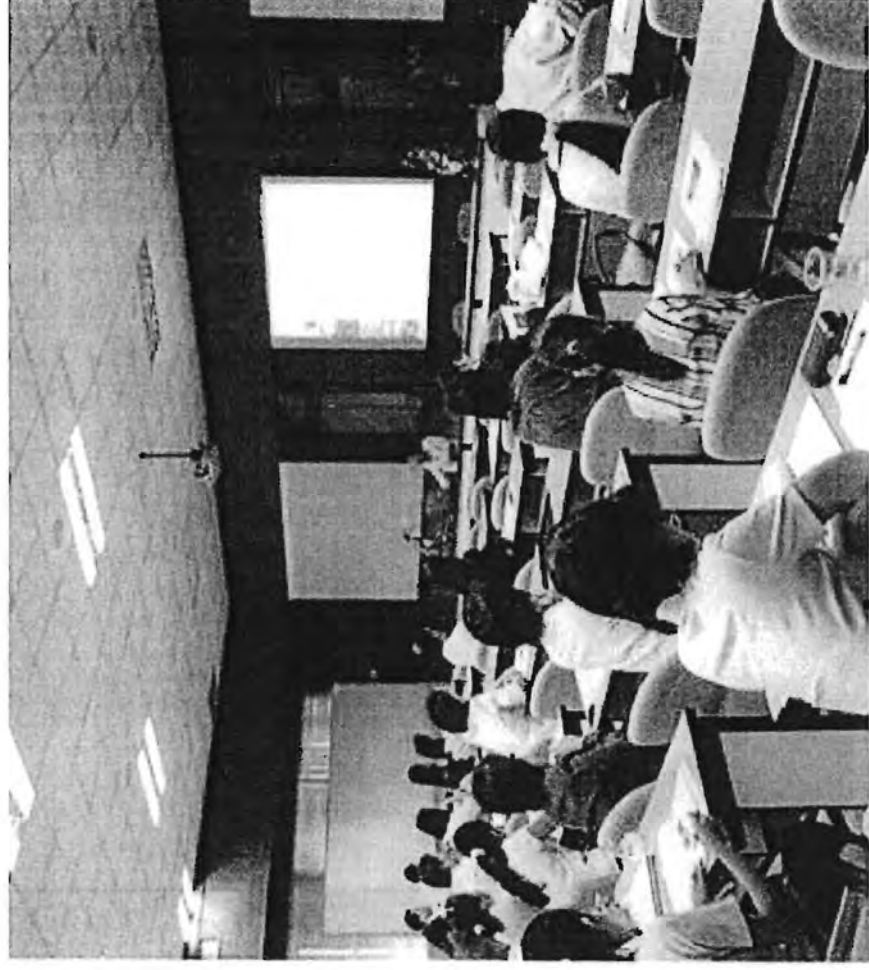
## ผู้ร่วมวิจัยเสนอรายงานการวิจัย

เรื่อง การผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร



## ผู้ร่วมวิจัยสหราชอาณาจักร

เรื่อง การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนนอกไซส์ในเนื้อสัตว์แช่แข็งในบรรจุภัณฑ์ตัดแปรรายภาค





**ผู้ร่วมวิจัยแผนอภยาณการวิจัย  
เรื่องการผลิตสารลดแรงตึงผิวจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**



**ผู้ร่วมวิจัยศูนย์นอร์ธงานการวิจัย**  
**เรื่อง สารต้านภัยและภาวะการประกันคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ**

