



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การใช้กรดแอสคอร์บิกเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในบีดแอลจีเนต
Use of ascorbic acid for anti-oxidation of clove oil in alginate beads

ชื่อนิสิต นางสาวพรรณนัมนต์ อัสวเมธี

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การใช้กรดแอสคอร์บิกเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในบีตแอลจีเนต

Use of ascorbic acid for anti-oxidation of clove oil in alginate beads

โดย

นางสาวทรรศน์มณฑต์ อัสวเมธี

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การใช้กรดแอสคอบิกเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในปัดแอลจีเนต

โดย นางสาวพรรณนิมน์ อัครเมธี


ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

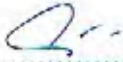
คณะกรรมการสอบโครงการ


.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัทธทรา ชีรพิบูลย์เดช)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญฟ้า ชู่นอบ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดย หัวหน้าภาควิชาเคมี


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พารารสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่..... เดือน พ.ศ.

คุณภาพของการเขียนเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การใช้กรดแอสคอร์บิกเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในปัดแอลจินเต
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวพรรณมณฑล ัศวเมธี เลขประจำตัว 5533087023
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒตรา ธีรพิบูลย์เดช
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการกักเก็บน้ำมันกานพลูในปัดแอลจินเตในรูปแบบใหม่คือแบบแคปซูล เพื่อศึกษาความสามารถของกรดแอสคอร์บิกในเปลือกปัดแอลจินเต ในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูที่บรรจุอยู่ภายใน ได้เตรียมปัด 3 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ ปัดแอลจินเต (A-beads) ปัดแอลจินเตที่ ผสมกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.05% (AA5-beads) และ 0.10% (AA10-beads) โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร ศึกษาความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนในอากาศของน้ำมันกานพลูในปัดทั้ง 3 ชนิดนี้ ณ เวลา 0, 5, 20 และ 40 วัน พบว่าแสงมีผลต่อปริมาณการลดลงของยูจินอลในน้ำมันกานพลู แต่ออกซิเจนในอากาศมีผลน้อยมาก อาจเนื่องจากเปลือกแอลจินเตป้องกันการแพร่ของอากาศเข้าไปสู่น้ำมันกานพลูภายใน จากผลการทดลองยังพบว่ากรดแอสคอร์บิกสามารถป้องกันการสลายตัวของยูจินอลในน้ำมันกานพลูได้ แต่จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าปัดทั้งสามชนิดนี้ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากสารต้านออกซิเดชันโดยรวมในน้ำมันกานพลูมีค่าเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนัก นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการเพิ่มความแข็งแรงให้กับเปลือกปัด A-beads ด้วยสารละลายเจลาตินความเข้มข้นต่างๆและแช่ในเวลาต่างๆ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและเวลาที่แช่จะเพิ่มความแข็งแรงให้กับปัดได้

คำสำคัญ: แอลจินเต, น้ำมันกานพลู, กรดแอสคอร์บิก, ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน, ความเสถียร

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Title Use of ascorbic acid for anti-oxidation of clove oil in alginate beads
Student name Miss Tasamon Assavamaykee ID 5533087023
Advisor name Assistant Professor Dr. Pattara Thiraphibundet
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2015

Abstract

In this study, new alginate capsules loaded with clove oil were prepared and the efficiency of ascorbic acid in the alginate shell to protect the oxidation of clove oil was investigated. Three kinds of beads were prepared which were alginate beads (A-beads), alginate beads mixed with 0.05% (AA5-beads) and 0.10% ascorbic acid (AA10-beads). The light and oxygen stabilities of clove oil in those beads were determined at time interval; 0, 5, 20 and 40 days. The results showed that light affected the reduction of eugenol in clove oil whereas oxygen was not. This might be the alginate shell can protect the penetration of oxygen to core beads. The results also indicated that ascorbic acid can protect the decomposition of clove oil. However, all kinds of beads showed the same anti-oxidation activity because the anti-oxidant amount in clove oil was not change. In addition, the strength of shell by gelatin solution was determined by varying the concentration and incubate time. It is found that concentration of gelatin increased, the strength of shell increased.

Keywords: Alginate, Clove oil, Ascorbic acid, Anti-oxidation, Stability

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยและรายงานฉบับนี้ จะสำเร็จไม่ได้หากไม่ได้รับความกรุณา เป็นอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัทธมา ธีรพิบูลย์เดช อาจารย์ที่ปรึกษาในงานวิจัยนี้ ที่คอยให้ความรู้ คำแนะนำสนับสนุนการดำเนินงานวิจัย ติดตามผลงานและให้กำลังใจช่วยเหลืออย่างดีตลอดระยะเวลา ที่ทำการวิจัยอีกทั้งสละเวลามาตรวจทานแก้และช่วยเหลือในการทำรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญฟ้า อุ่นอบ ที่ให้ความกรุณาสละเวลาตรวจทานแก้ไข พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เกิดประโยชน์ในการปรับปรุงข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นและ ให้เกียรติเป็นประธานและกรรมการในการสอบวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณรุ่นพี่นิสิตปริญญาโทที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการใช้เครื่องมือต่างๆคอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัยครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณต่อภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ต่างๆ อันมีประโยชน์แก่ผู้วิจัยตลอดเวลา 4 ปี ที่ผู้วิจัยได้ศึกษาอยู่ซึ่งทำให้สามารถนำความรู้เหล่านั้นมาใช้กับงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัว รวมถึงพี่และเพื่อนๆในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยขอระลึกถึงความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง	
1.2.1 แอลจีเนต (Alginate)	2
1.2.2 น้ำมันกานพลู (Clove oil)	4
1.2.3 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)	5
1.2.4 เจลาติน (Gelatin)	6
1.2.5 เทคนิคการวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน (DPPH assay)	6
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	7
บทที่ 2 การทดลอง	
2.1 สารเคมี และเครื่องมือที่สำคัญ	8
2.2 การเตรียมบีตแอลจีเนต (A-beads)	8
2.3 การเตรียมบีตแอลจีเนตที่ผสมกรดแอสคอร์บิก (AA-beads)	8
2.4 การศึกษาขนาดของบีต	9
2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay	9
2.6 การศึกษาความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของบีตน้ำมันกานพลู	
2.6.1 การตรวจวัดปริมาณน้ำมันกานพลูในบีต ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy	10
2.6.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูด้วย DPPH assay	11
2.7 การศึกษาเพิ่มความหนาของเปลือกแคปซูลแอลจีเนตด้วยสารละลายเจลาติน	11
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	
3.1 ลักษณะทางกายภาพของบีต	12
3.2 การศึกษาขนาดของบีต	13

3.3 ค่า IC_{50} ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH assay	13
3.4 ความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของน้ำมันกานพลูในปิดชนิดต่างๆ	15
3.5 ผลความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินต่อความหนาของเปลือกปิดแอลจีเนต	19
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	
4.1 สรุปผลการทดลอง	22
4.2 ข้อเสนอแนะ	22
บรรณานุกรม	23
ภาคผนวก ก	26
ประวัติผู้วิจัย	28



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 ภาพจำลองการเก็บสารในปิดแอลจินเตแบบ (ก) ทั่วไป (ข) แคปซูลแอลจินเต (ค) แคปซูลแอลจินเตเคลือบด้วยสารละลายเจลาติน	2
รูปที่ 1.2 โครงสร้างโมเลกุลหน่วยย่อยของแอลจินเตแบบ ก. G ข. M และ ค. MG-blocks	2
รูปที่ 1.3 การเกิด Egg-box Model ของแอลจินเต	3
รูปที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) eugenol (ข) eugenyl acetate และ (ค) β -caryophyllene	4
รูปที่ 1.5 โครงสร้างของกรดแอสคอร์บิก	5
รูปที่ 1.6 โครงสร้างของเจลาติน	6
รูปที่ 1.7 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างสารละลาย DPPH และสารต้านอนุมูลอิสระ(AH)	7
รูปที่ 2.1 ตัวอย่างการหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% จากกราฟ	9
รูปที่ 2.2 ภาพจำลองการศึกษาความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของน้ำมันกานพลูที่กักเก็บในปิด แอลจินเตใน 4 สภาวะ (ก) ได้รับแสงและออกซิเจน (ข) ได้รับแสง แต่ไม่ได้รับออกซิเจน (ค) ได้รับออกซิเจน แต่ไม่ได้รับแสง (ง) ไม่ได้รับทั้งแสงและออกซิเจน	10
รูปที่ 3.1 ลักษณะปิดแอลจินเตที่กักเก็บน้ำมันกานพลูด้วยวิธีใหม่ (ก) ปิดที่เตรียมได้ใหม่ๆ และ (ข) ปิดเมื่อแห้งแล้ว	12
รูปที่ 3.2 ลักษณะปิดแอลจินเตที่กักเก็บน้ำมันกานพลูด้วยวิธีทั่วไป (ก) ปิดที่เตรียมได้ใหม่ๆ และ (ข) ปิดเมื่อแห้งแล้ว	12
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลู ที่ความเข้มข้นต่างๆ	14
รูปที่ 3.4 กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ	14
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์ (Y) และระยะเวลาที่ศึกษา(X) ในสภาวะ (1) ได้รับแสงและออกซิเจน (2) ได้รับแสงอย่างเดียว (3) ได้รับออกซิเจนอย่างเดียว (4) ไม่ได้รับแสงและออกซิเจน	17
รูปที่ 3.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสัมพันธ์ (Y) และระยะเวลา ที่ศึกษา(X) ในสภาวะ (1) ได้รับแสงและออกซิเจน (2) ได้รับแสงอย่างเดียว (3) ได้รับออกซิเจนอย่างเดียว (4) ไม่ได้รับแสงและออกซิเจน	18
รูปที่ 3.7 ปิดแอลจินเตที่ไม่แช่ในสารละลายเจลาติน ก.เตรียมใหม่ ข.หลังทำแห้ง	20

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่เตรียมใหม่และเมื่อแห้งแล้ว	13
ตารางที่ 3.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH assay	13
ตารางที่ 3.3 ค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์ของบีด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่สภาวะและเวลาต่างๆ	15
ตารางที่ 3.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสัมพันธ์ของบีด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่สภาวะและเวลาต่างๆ	16
ตารางที่ 3.5 แสดงภาพของบีดแอลจินิตและเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินด้วยความเข้มข้นและเวลาต่างๆ ที่เตรียมใหม่	19
ตารางที่ 3.6 แสดงภาพของบีดแอลจินิตที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินด้วยความเข้มข้นและเวลาต่างๆ เมื่อทำแห้งแล้ว	20
ตารางที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จริง ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy	26
ตารางที่ 2 แสดงค่า %การต้านออกซิเดชัน ด้วยเทคนิค DPPH assay	27

บทที่ 1

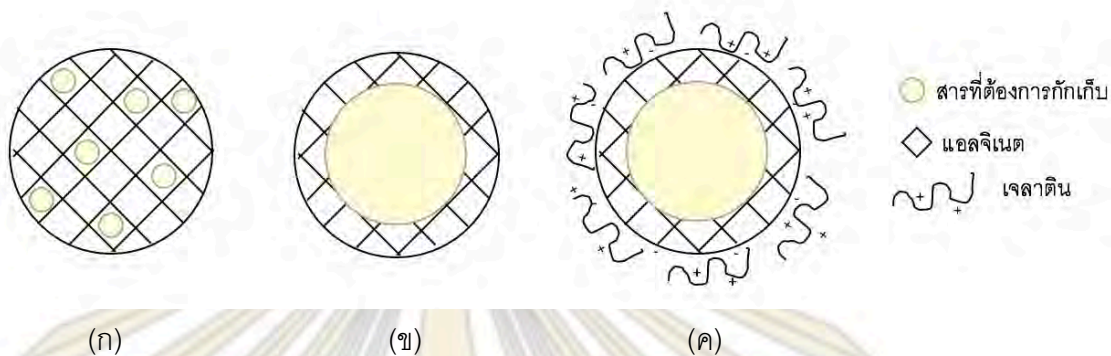
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

ในปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยได้รับความนิยมอย่างมากนอกจากจะมีกลิ่นหอมแล้วยังมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย ทำให้มีการใช้น้ำมันหอมระเหยอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นด้านสุขภาพบำบัดด้านการแพทย์ รวมไปถึงในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ข้อจำกัดของน้ำมันหอมระเหยคือระเหยได้ง่ายเนื่องจากมีจุดเดือดต่ำ ไม่ละลายน้ำ เสื่อมสภาพได้ง่ายหากโดนแสงและอากาศ (1-2) จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยลดลง มีงานวิจัยมากมายที่ทำการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีต่างๆ ที่เหมาะสมกับการใช้งานโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความเสถียร ควบคุมการระเหยหรือเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย

โดยรูปแบบหนึ่งที่ใช้ในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยคือการกักเก็บในบีตแอลจีเนต ซึ่งแอลจีเนตเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่าย ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ สายพอลิเมอร์แอลจีเนตจะมีหมู่คาร์บอกซิเลตที่สามารถเกิดเจลลาชันได้กับไดวาเลนต์ไอออนต่างๆ เช่น แคลเซียมไอออน อย่างไรก็ตามการเตรียมบีตแอลจีเนตในรูปแบบทั่วไป คือการผสมน้ำมันหอมระเหยในสารละลายแอลจีเนต แล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทำให้มีปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่กักเก็บในบีตแอลจีเนตเพียง 20-26% (3) นอกจากนี้ยังต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารลดแรงตึงผิว ในการผสมน้ำมันหอมระเหยให้เข้ากับสารละลายแอลจีเนตด้วย ในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการเตรียมบีตแอลจีเนตแบบใหม่ ที่สามารถกักเก็บน้ำมันหอมระเหยได้มากขึ้นและไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ โดยน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือน้ำมันกานพลู ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (4) ฤทธิ์ต้านไวรัส (5) ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (6) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (7) เป็นต้น แต่น้ำมันกานพลูละลายน้ำได้น้อย ระเหยได้ง่าย และไม่เสถียรต่อแสงและอากาศ (8-9) นอกจากนี้ยังศึกษากรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซีที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง (10) จึงนำกรดแอสคอร์บิกไปใส่ลงในเปลือกแคปซูลบีต เพื่อช่วยด้านการออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในบีต

รูปที่ 1.1 (ก) แสดงภาพจำลองการกักเก็บในบีตแอลจีเนตแบบทั่วไป ซึ่งจะเห็นว่าสารที่กักเก็บจะกระจายตัวอยู่ทั่วไปในสารละลายแอลจีเนต โดยผิวรอบๆ บีตจะเกิดเจลชันกับแคลเซียมไอออน ส่วนการกักเก็บด้วยบีตแอลจีเนตแบบใหม่นี้จะคล้ายกับแคปซูล ดังแสดงในรูปที่ 1.1 (ข) ที่สารที่ถูกกักเก็บจะบรรจุอยู่ภายใน โดยมีสารละลายแอลจีเนตที่เกิดเจลชันกับแคลเซียมไอออนที่เปลือกของบีตเท่านั้น และเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเปลือกบีตแอลจีเนตนี้ ได้แช่บีตแอลจีเนตลงในสารละลายเจลาติน เนื่องจากบริเวณผิวรอบบีตแอลจีเนตจะมีประจุลบของหมู่คาร์บอกซิเลต ซึ่งเมื่อแช่บีตนี้ในสารละลายเจลาตินซึ่งมีประจุบวกของหมู่เอมีน (11) จะเกิดแรงดึงดูดของไอออนทำให้สารละลายเจลาตินมาเกาะ อยู่บริเวณผิวของบีตแอลจีเนตได้ง่าย (รูปที่ 1.1 ค)

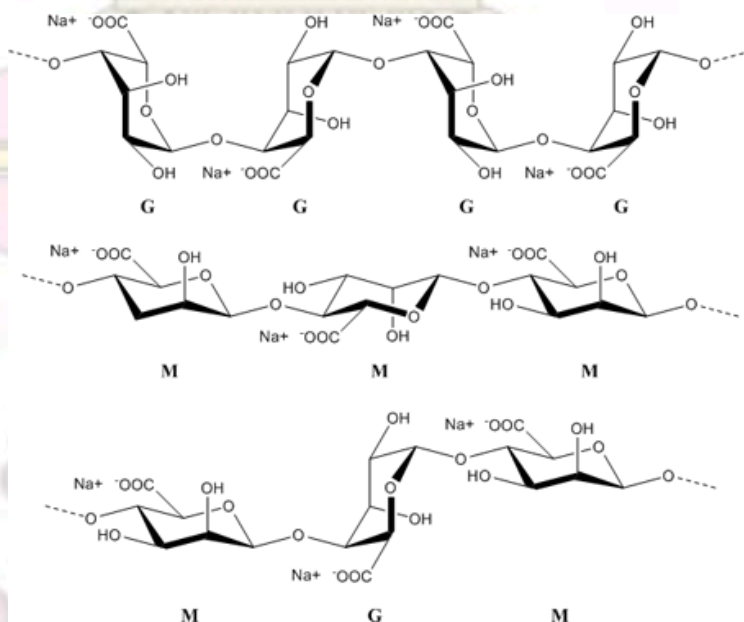


รูปที่ 1.1 ภาพจำลองการกักเก็บสารในเบ็ดแอลจีเนตแบบ (ก) ทั่วไป (ข) แคปซูลแอลจีเนต (ค) แคปซูลแอลจีเนตเคลือบด้วยสารละลายเจลาติน

1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง

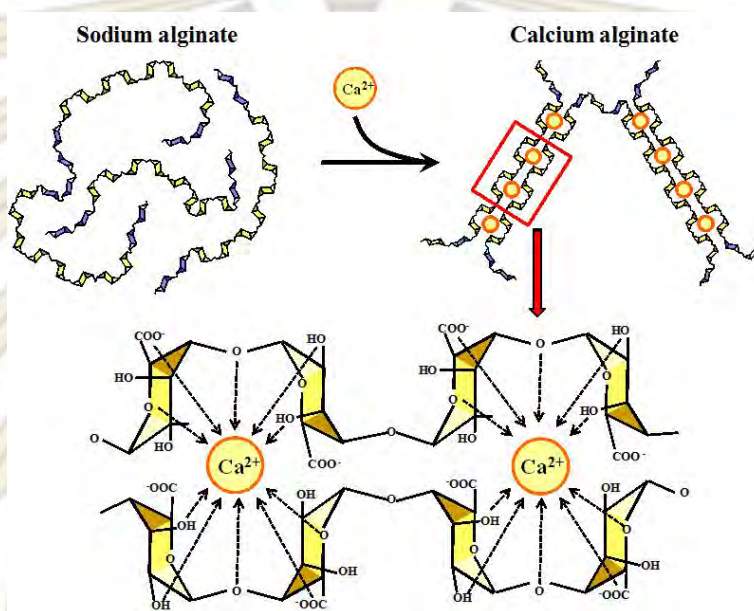
1.2.1 แอลจีเนต (Alginate)

แอลจีเนต เป็นโพลิแซคคาไรด์ธรรมชาติ ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Macrocystis pyrifera* โดยมีโครงสร้างเป็นโคโพลิเมอร์ ประกอบด้วย กรดเบตา-D-แมนนูโรนิก (β -D-mannuronic acid, M) และ กรดแอลฟา-L-กลูคูโรนิก (α -L-guluronic acid, G) ในสายโซ่นี้อาจอยู่ในรูปของโฮโมโพลิเมอร์ คือ MM และ GG Blocks หรือเฮเทอโรโพลิเมอร์ คือ MG-Block โดยมีหมู่คาร์บอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ สามารถละลายน้ำและอยู่ในรูปคาร์บอกซิเลต ดังแสดงในรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 โครงสร้างโมเลกุลหน่วยย่อยของแอลจีเนตแบบ ก. G- ข. M- และ ค. MG-blocks (12)

โดยเกลือแอลจินเตสามารถทำการเชื่อมโยงกันด้วยไอออนไดวาเลนต์ เช่น แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และเหล็กไอออน (Fe^{2+}) จะทำให้เกิดเป็นเจล และขึ้นรูปเป็นปืดได้ การเกิดเป็นเจล จะเกิดได้ดีและมีความแข็งแรงมาก จะเกิดจากโครงสร้าง GG Block ที่จับกับแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เรียกรวมการเชื่อมโยงแบบนี้ว่า Egg-box Model ดังแสดงในรูปที่ 1.3 (13-15)



รูปที่ 1.3 การเกิด Egg-box Model ของแอลจินเต (16)

มีงานวิจัยมากมายที่ใช้ปืดแอลจินเตในการกักเก็บสารสำคัญต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความเสถียรของสารสำคัญ ดังตัวอย่างงานวิจัยต่อไปนี้

ในปี 2013 Hesseini และคณะ ได้ทำการกักเก็บน้ำมัน *Satureja hortensis* โดยนำแอลจินเตไปผสมกับน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการไฮไมจีเนส แล้วไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ให้เกิดการจับกันอยู่ในลักษณะปืด จากผลการทดลองจะพบว่าสามารถกักเก็บน้ำมันน้ำมันหอมระเหยในปืดได้ 20-26% โดยน้ำหนัก และสามารถป้องกันการสลายตัวของสารในน้ำมันได้ดีเมื่อเทียบกับน้ำมันที่ไม่ได้ทำการกักเก็บ (3)

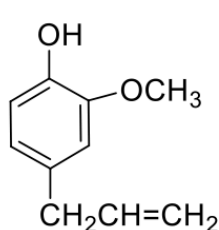
ในปี 2014 Erick และคณะ ได้ทำการกักเก็บน้ำมัน *Lippia sidoides* ด้วยแอลจินเตและ Cashew gum เพื่อเพิ่มความสามารถในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ ด้วยการทำให้อยู่รูปแบบอิมัลชัน แล้วไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ให้เกิดการจับกันอยู่ในลักษณะปืด จากผลการทดลองจะพบว่าปริมาณน้ำมันหอมระเหยในปืด 1.9-2.6% โดยน้ำหนักและสามารถรักษาความเสถียรของน้ำมันได้ดี เมื่อเทียบกับน้ำมันที่ไม่ได้ทำการกักเก็บ (10)

ในปี 2016 Vasile และคณะ ได้ทำการศึกษาการกักเก็บความเสถียรของน้ำมันปลา โดยนำแอลจินเตไปผสมกับน้ำมันปลา แล้วไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ให้เกิดการจับกันอยู่ในลักษณะปิด จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันปลาในปิดสามารถลดการสลายตัวของสารมากกว่า น้ำมันปลาที่ไม่ได้กักเก็บในปิด นอกจากนี้การกักเก็บในปิดยังสามารถรักษาคุณภาพของน้ำมันปลาได้อีกด้วย (17)

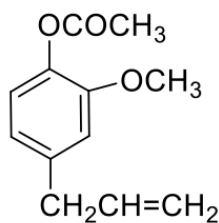
1.2.2 น้ำมันกานพลู (Clove oil)

กานพลูเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณมากมาย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium aromaticum* จัดอยู่ในวงศ์ชัมพู หรือ MYRTACEAE นิยมนำดอกตูมของกานพลูมาสกัดน้ำมันหอมระเหย น้ำมันกานพลูมีกลิ่นหอมและมีสรรพคุณมากมาย เช่น ขับลม แก้ปวดท้อง ท้องร่วง แก้ไอ แก้ชาปลายมือปลายเท้า แก้โรคลมระงับปวด ระงับอาการปวดฟัน ทำให้ผิวหนังชา ระงับกระดูก เป็นต้น (18) นอกจากนี้ยังมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายของน้ำมันกานพลู ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น ทำให้น้ำมันกานพลูถูกใช้ประโยชน์ ทั้งด้านเภสัชกรรม เครื่องสำอาง รวมไปถึงในอุตสาหกรรมอาหาร

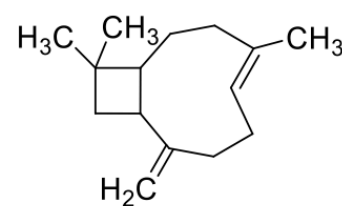
น้ำมันกานพลูมีองค์ประกอบทางเคมีหลักๆ 3 ชนิด ได้แก่ ยูจีนอล (eugenol), ยูจีนิลอะซิเตต (eugenyl acetate) และ เบตา-คาร์ยอฟิลลีน (β -caryophyllene) โดยยูจีนอล จะเป็นองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณมากที่สุดคือน้ำมันกานพลู (99%) โดยองค์ประกอบต่างๆของน้ำมันกานพลูมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.4 (8-9)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) eugenol (ข) eugenyl acetate และ (ค) β -caryophyllene

อย่างไรก็ตามน้ำมันกานพลูละลายน้ำได้น้อย ระเหยได้ง่าย และไม่เสถียรต่อแสงและอากาศ จึงมีผู้วิจัยทำการกักเก็บน้ำมันกานพลูด้วยวิธีต่างๆ เพื่อรักษาความเสถียรและเพิ่มความสามารถในการกระจายในน้ำตัวอย่างงานวิจัย ได้แก่

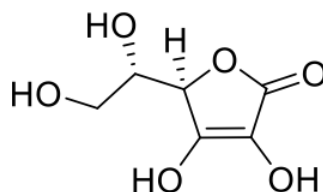
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปี 2015 Sebaaly และคณะ ได้ทำการกักเก็บน้ำมันกานพลูในไลโปโซม จะพบว่าสามารถกักเก็บได้ถึง 77% โดยน้ำหนักและเมื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำมันกานพลูในไลโปโซมจะพบว่ามีความเสถียรมากกว่าน้ำมันกานพลูที่ไม่ได้ทำการกักเก็บ (9)

ในปี 2015 Purwanti และคณะ ได้ทำการกักเก็บน้ำมันกานพลูในรูปแบบอิมัลชัน พบว่าน้ำมันที่กักเก็บอยู่ในอิมัลชัน เนื่องจากอิมัลชันจะช่วยคงความเสถียรของน้ำมันกานพลู และเมื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำมันกานพลูในอิมัลชัน พบว่ามีความเสถียรมากกว่าน้ำมันกานพลูที่ไม่ได้ทำการกักเก็บ (19)

1.2.3 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)

กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซีเป็นกรดอ่อน ละลายน้ำได้ดี ไม่ค่อยเสถียรต่อแสงและอากาศ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง มักพบมากในผลไม้ นิยมนำกรดแอสคอร์บิกไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง เพื่อเป็นสารต้านออกซิเดชัน (20) กรดแอสคอร์บิกมีโครงสร้างดังรูป 1.5



รูปที่ 1.5 โครงสร้างของกรดแอสคอร์บิก

โดยมีงานวิจัยที่นำกรดแอสคอร์บิกไปต้านการออกซิเดชันดังนี้

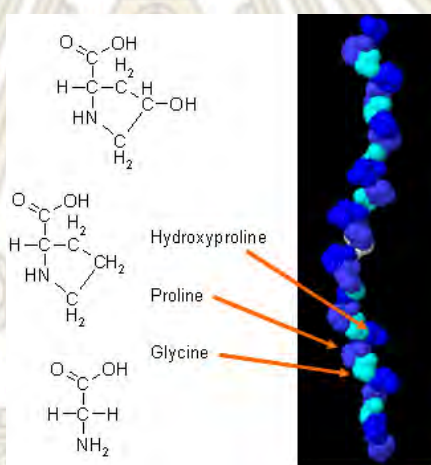
ในปี 2013 Ko และคณะ ได้ทำการถนอมน้กเกิดไก่อทั้งแบบดิบและแบบทอด ด้วยการใส่สารสกัดจากใบ *ganghwayakssuk* ผสมกับกรดแอสคอร์บิกจากการทดลองพบว่าน้กเกิดไก่อที่มีกรดแอสคอร์บิกอยู่สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดีกว่าน้กเกิดไก่อที่ไม่มีกรดแอสคอร์บิก (21)

ในปี 2016 De'Nobili และคณะ ได้ทำการกรดแอสคอร์บิกไปผสมกับแอลจินेट เพื่อทำเป็นฟิล์มในการถนอมอาหาร จากการทดลองพบว่าฟิล์มนี้สามารถช่วยถนอมอาหารได้ เนื่องจากมีกรดแอสคอร์บิกช่วยต้านการเกิดออกซิเดชันไว้ (20)

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2.4 เจลาติน (Gelatin)

เจลาตินเป็นไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ได้จากการเสียสภาพธรรมชาติ และสกัดได้จาก คอลลาเจน ซึ่งเป็นโปรตีนธรรมชาติที่มีอยู่ใน กระดูก หนังสัตว์ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ของสัตว์ เช่น ควาย หมู วัว โดยใช้ความร้อนและกรดหรือด่างเพื่อ ย่อยหรือสลายให้โมเลกุลของคอลลาเจนเล็กลงเปลี่ยนเป็นเจลาติน (22) กรดอะมิโนในเจลาตินจะมีลักษณะไม่แตกต่างจากกรดอะมิโนที่พบในคอลลาเจนต้นแบบ โดยจะมีลักษณะการจัดเรียงตัวแบบ Gly-X-Y แบบนี้ไปอย่างต่อเนื่อง ซึ่งที่ตำแหน่ง X ส่วนใหญ่จะเป็น โพรลีน และที่ตำแหน่ง Y จะเป็น Hydroxyproline ดังแสดงในรูปที่ (23)



รูปที่ 1.6 โครงสร้างของเจลาติน

เนื่องจากเจลาตินมีความสามารถในการเป็นเจล จึงทำให้เจลาตินนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) ที่คืนตัวเป็นของเหลวได้เมื่อได้รับความร้อน (thermoreversible gel) ใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดความคงตัว (stabilizer) เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ทำให้น้ำกับไขมันรวมตัวกันได้ดี ไม่แยกชั้น ใช้ทดแทนไขมัน (fat replacer) ในอาหารที่มีไขมันต่ำ ใช้สำหรับการจับและเก็บรักษากลิ่นรส (flavor encapsulation) ใช้เคลือบผิวเพื่อรักษาความชุ่มชื้น เป็นต้น (22)

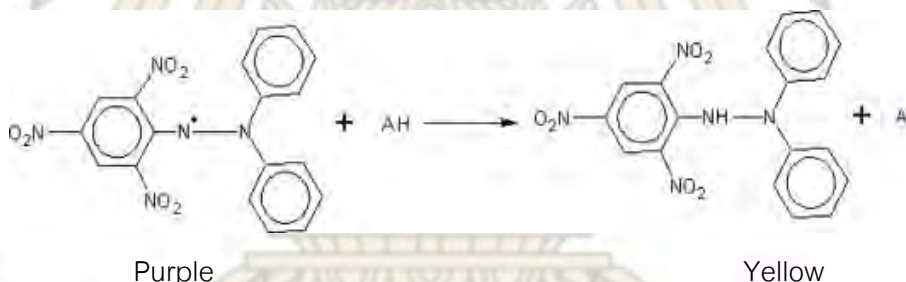
1.2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay

สารต้านออกซิเดชันหรืออาจเรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (24) โดยมีวิธีต่างๆ ในการวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (25) แต่วิธีที่นิยมได้แก่วิธี DPPH assay เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้อง และแม่นยำสูง (26)

DPPH assay เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH• โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•)



เมื่อ DPPH• ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่าง นิยมรายงานเป็นค่าความสามารถในการยับยั้งที่ 50% (Inhibition concentration at 50%, IC₅₀) โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นและความสามารถในการยับยั้ง ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH• ลดลง 50% (26-28)



รูปที่ 1.7 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างสารละลาย DPPH และสารต้านอนุมูลอิสระ(AH) (29)

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. พัฒนาการกักเก็บน้ำมันกานพลูในบีดแอลจินตแบบแคปซูล
2. ศึกษาความสามารถของกรดแอสคอบิกในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูในบีดแอลจินตได้
3. ศึกษาการเพิ่มความหนาของเปลือกบีดแอลจินตด้วยเจลาติน

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 สารเคมี และเครื่องมือที่สำคัญ

- น้ำมันกานพลู ที่ได้จากบริษัทเครื่องหอมไทย-จีน สกัดด้วยวิธีกลั่นไอน้ำ มีปริมาณยูจีนอล 96%
- โซเดียมแอลจีเนต ได้รับจากบริษัท ทริปเปิ้ลไนน์ โซลูชั่น จำกัด ความหนืด 850 cps
- กรดแอสคอร์บิก ($C_6H_8O_6$) ผู้ผลิตบริษัท คาร์โล เออร์บา รีเอเจนต์ จำกัด
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ผู้ผลิตบริษัท Aldrich chemical จำกัด
- เจลาติน ยี่ห้อแม็กกาแรต ซื้อจากร้าน Tops
- เครื่องยู่วี-วิลิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Agilent 8453
- เครื่องอ่านไมโครเพลท ยี่ห้อ TECAN รุ่น infinite F50

2.2 การเตรียมบีดแอลจีเนต (A-beads)

เตรียมสารละลายแอลจีเนต 2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยแช่ผงโซเดียมแอลจีเนต 2 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นกวนให้เข้ากันจะได้สารละลายใส หยดนํ้ามันกานพลูและสารละลายแอลจีเนตด้วยเครื่องมือที่ออกแบบใหม่ (ไม่สามารถลงรูปได้เนื่องจากเป็นความลับที่จะจดสิทธิบัตรอุปกรณ์ต่อไป) ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยระยะห่างระหว่างหัวหยดและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ คือ 10 เซนติเมตร แช่บีดไว้ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พร้อมกวนเบาๆเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองและล้างบีดด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผิวของบีดออก แช่บีดกานพลูที่ได้นี้ลงในสารละลายเจลาติน ความเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พร้อมกวนเบาๆ เป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างบีดด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง จะได้บีดกานพลูที่เคลือบด้วยเจลาตินที่เรียกชื่อย่อว่า A-beads จากนั้นทำให้บีดกานพลูแห้งด้วยการทิ้งไว้ในภาชนะเปิดเป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง

2.3 การเตรียมบีดแอลจีเนตที่ผสมกรดแอสคอร์บิก (AA-beads)

เตรียมบีดแอลจีเนตที่ผสมกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธีเช่นเดียวกันกับหัวข้อ 2.2 แต่ให้ผสมสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.05% และ 0.10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรลงในสารละลายแอลจีเนต ก่อนหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จะได้บีดที่เรียกชื่อย่อว่า AA5-beads และ AA10-beads ตามลำดับ

2.4 การศึกษาขนาดของบีด

ทำการวัดขนาด (เส้นผ่านศูนย์กลาง) ของบีดแห้ง ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier Calipers) โดยนำบีดมาเรียงต่อกันเป็นเส้นตรงจำนวน 20 บีด จำนวน 3 ชุด เพื่อหาค่าเฉลี่ย

2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay

ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH assay (30) เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (Inhibition concentration at 50%, IC_{50}) ดังนี้

หยดสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ในเมทานอล 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทแบบ 96 หลุม ตามด้วยสารละลายตัวอย่าง ได้แก่ น้ำมันกานพลู และกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.02-0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยใช้เมทานอลและน้ำเป็นตัวทำละลาย ตามลำดับ ทำการบ่มในตู้ที่บแสงเป็นเวลา 30 นาที

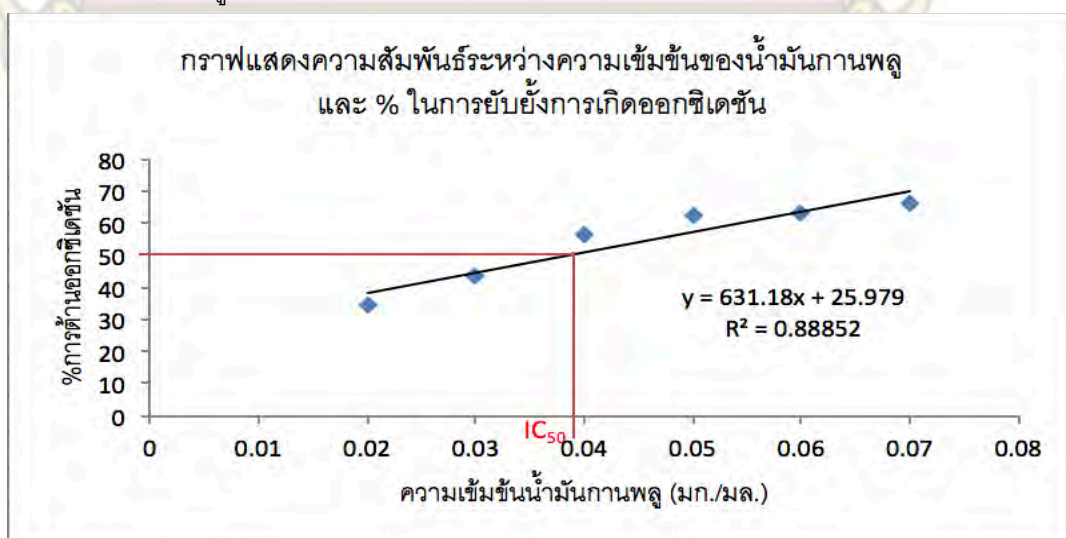
จากนั้นนำสารละลายไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายควบคุม (ใช้เมทานอลและน้ำแทนสารตัวอย่างตามลำดับ) คำนวณค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยสมการด้านล่างนี้

$$\% \text{ การยับยั้งอนุมูลอิสระ} = [(X_{\text{blank}} - X_{\text{sample}}) / X_{\text{blank}}] \times 100$$

เมื่อ X_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเมทานอลหรือน้ำ และ

X_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงสารตัวอย่าง

นำค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน X) และค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ (แกน y) จะได้ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) โดยลากเส้นตรงขนานแกน X ที่ค่าการยับยั้ง 50% ตัดเส้นกราฟแล้วลากเส้นตรงขนานแกน Y มายังค่าความเข้มข้น ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างการหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

จากกราฟ

2.6 การศึกษาความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของบีดน้ำมันกานพลู

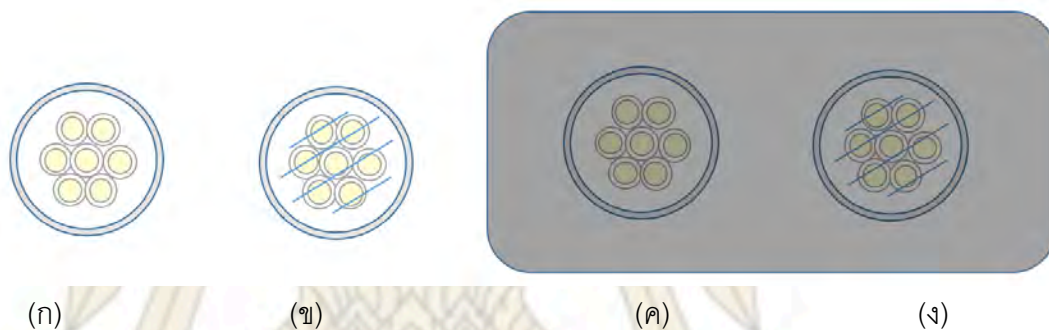
นำบีด 3 ชนิด ได้แก่ A-beads, AA5-beads และ AA10-beads มาศึกษาความเสถียรใน 4 สภาวะ ดังนี้

สภาวะที่ 1 : วางไว้ในภาชนะเปิด รับแสงธรรมชาติในห้องทดลอง บีดจะได้รับแสงและออกซิเจน

สภาวะที่ 2 : เก็บไว้ในภาชนะแก้วปิด รับแสงธรรมชาติในห้องทดลอง บีดจะได้รับแสง แต่ไม่ได้รับออกซิเจน

สภาวะที่ 3 : วางไว้ในภาชนะเปิด ในตู้ที่ปิดไม่มีแสง บีดจะได้รับออกซิเจน แต่ไม่ได้รับแสง

สภาวะที่ 4 : เก็บไว้ในภาชนะแก้วปิด ในตู้ที่ปิดไม่มีแสง บีดจะไม่ได้รับทั้งแสงและออกซิเจน



รูปที่ 2.2

ภาพจำลองการศึกษาความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของน้ำมันกานพลูที่กักเก็บในบีดแอลจินेटใน 4 สภาวะ (ก) ได้รับแสงและออกซิเจน (ข) ได้รับแสง แต่ไม่ได้รับออกซิเจน (ค) ได้รับออกซิเจน แต่ไม่ได้รับแสง (ง) ไม่ได้รับทั้งแสงและออกซิเจน

เพื่อศึกษาความเสถียรต่อแสง และออกซิเจนของน้ำมันกานพลูที่กักเก็บในบีด ดังภาพจำลอง ในรูปที่ 2.2 โดยทำการตรวจวัดปริมาณด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy และทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมัน กานพลูด้วย DPPH assay เมื่อเก็บบีดเป็นระยะเวลา 0, 5, 20 และ 40 วัน ดังนี้

2.6.1 การตรวจวัดปริมาณน้ำมันกานพลูในบีด ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy

นำบีดที่กักเก็บน้ำมันกานพลู 1 เม็ด ทำให้แตกแล้วคูดน้ำมันกานพลูประมาณ 2.0 มิลลิกรัม จากนั้นเจือจางด้วยเมทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 0.070 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปตรวจหาปริมาณยูจินอลในน้ำมันกานพลู ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

2.6.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูด้วย DPPH assay

นำปืดอกานพลูแอลจิเนต มา 1 เม็ด ทำให้แตก แล้วดูคือน้ำมันมา 2.0 มิลลิกรัม จากนั้นเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 0.040 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปตรวจวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.5

2.7 การศึกษาเพิ่มความหนาของเปลือกแคปซูลแอลจิเนตด้วยสารละลายเจลาติน

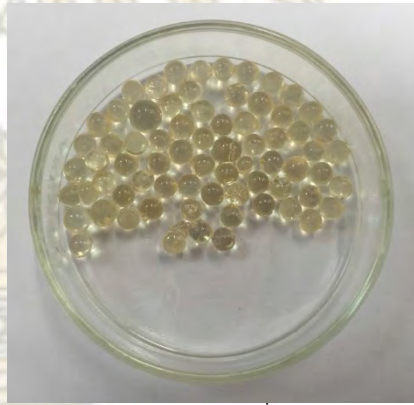
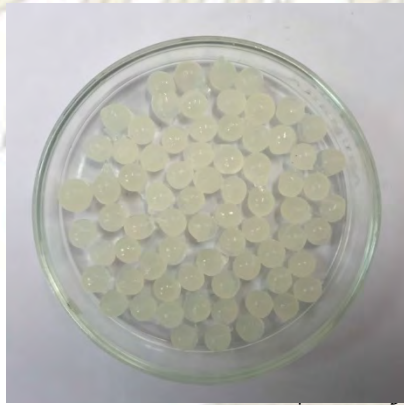
เตรียมปืดด้วยวิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.2 แต่ใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 5%, 10% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแช่ปืดไว้ในสารละลายเจลาตินเป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที จากนั้น ตรวจสอบความหนาของเปลือกปืดแอลจิเนต ด้วยกล้องกำลังขยายสูง

บทที่ 3

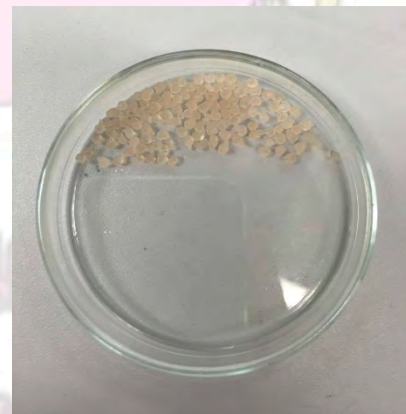
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 ลักษณะทางกายภาพของบีด

ได้เตรียมบีด 3 ชนิด คือ A-beads, AA5-beads และ AA10 beads ดังที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 2.2 และ 2.3 พบว่า จากการดูด้วยตาเปล่าบีดทั้ง 3 ชนิดนี้มีลักษณะเหมือนกัน คือ บีดที่เตรียมได้ใหม่ๆ ส่วนใหญ่จะเป็นทรงกลม บางเม็ดมีลักษณะคล้ายหยดน้ำ ผิวเรียบแต่ขุ่น มองเห็นน้ำมันกานพลูไม่ชัดเจน (รูปที่ 3.1 ก) แต่เมื่อบีดแห้งจะได้เม็ดกลมที่มีลักษณะใส มองเห็นน้ำมันกานพลูที่บรรจุอยู่อย่างชัดเจน เปลือกบาง แตกง่าย (รูปที่ 3.1 ข) ซึ่งต่างจากบีดแอลจินेटที่เตรียมด้วยวิธีทั่วไป ที่ผสมน้ำมันกานพลูลงในสารละลายแอลจินेट แล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (รูปที่ 3.2 ก และ ข)



รูปที่ 3.1 ลักษณะบีดแอลจินेटที่กักเก็บน้ำมันกานพลูด้วยวิธีใหม่ (ก) บีดที่เตรียมได้ใหม่ๆ และ (ข) บีดเมื่อแห้งแล้ว



รูปที่ 3.2 ลักษณะบีดแอลจินेटที่กักเก็บน้ำมันกานพลูด้วยวิธีทั่วไป (ก) บีดที่เตรียมได้ใหม่ๆ และ (ข) บีดเมื่อแห้งแล้ว

3.2 การศึกษาขนาดของบีด

ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีดที่เตรียมได้ ทั้งบีดที่เตรียมใหม่และเมื่อแห้งแล้ว ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่เตรียมใหม่และเมื่อแห้งแล้ว

ชนิดบีด	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบีด (มิลลิเมตร)	
	เตรียมใหม่	เมื่อแห้ง
A-beads	3.45 ± 0.02	3.05 ± 0.12
AA5-beads	3.32 ± 0.08	2.89 ± 0.18
AA10-beads	3.16 ± 0.10	2.67 ± 0.04

จากผลการทดลองพบว่า เส้นผ่านศูนย์กลางของบีดทั้ง 3 ชนิด ทั้งแบบเตรียมใหม่และเมื่อแห้ง จะมีขนาดลดลง อาจเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ความเป็นกรดจะทำให้ความหนืดของสารละลายแอลจินेटลดลง เมื่อความหนืดลดลงอัตราการหยุดของบีดจะเร็วขึ้นทำให้ขนาดของเม็ดบีดจึงลดลงไปด้วย

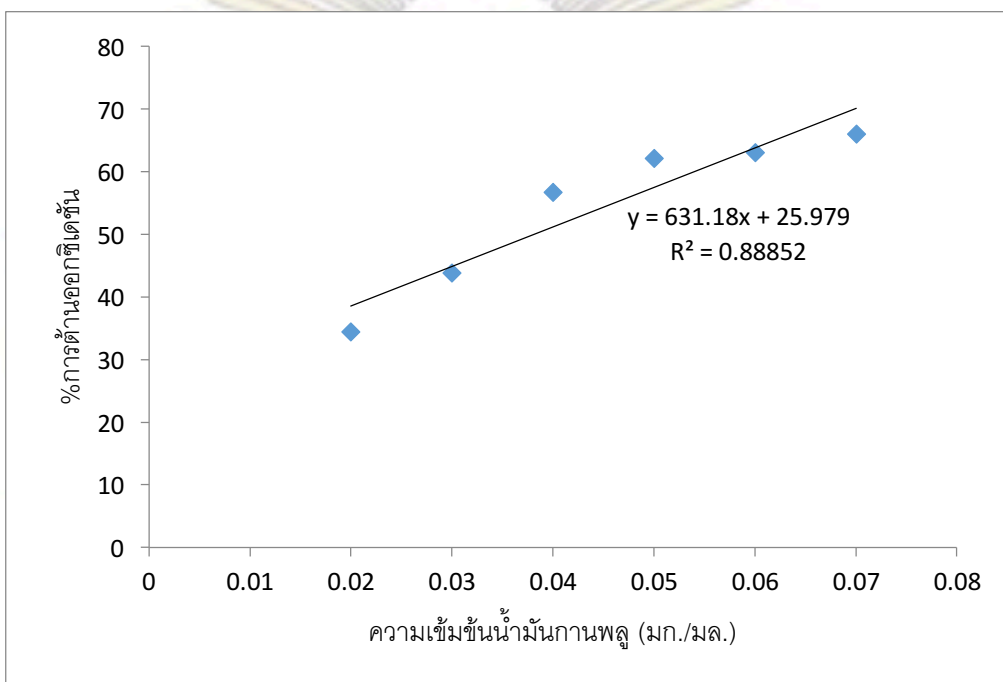
3.3 ค่า IC_{50} ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH assay

ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH assay ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH assay

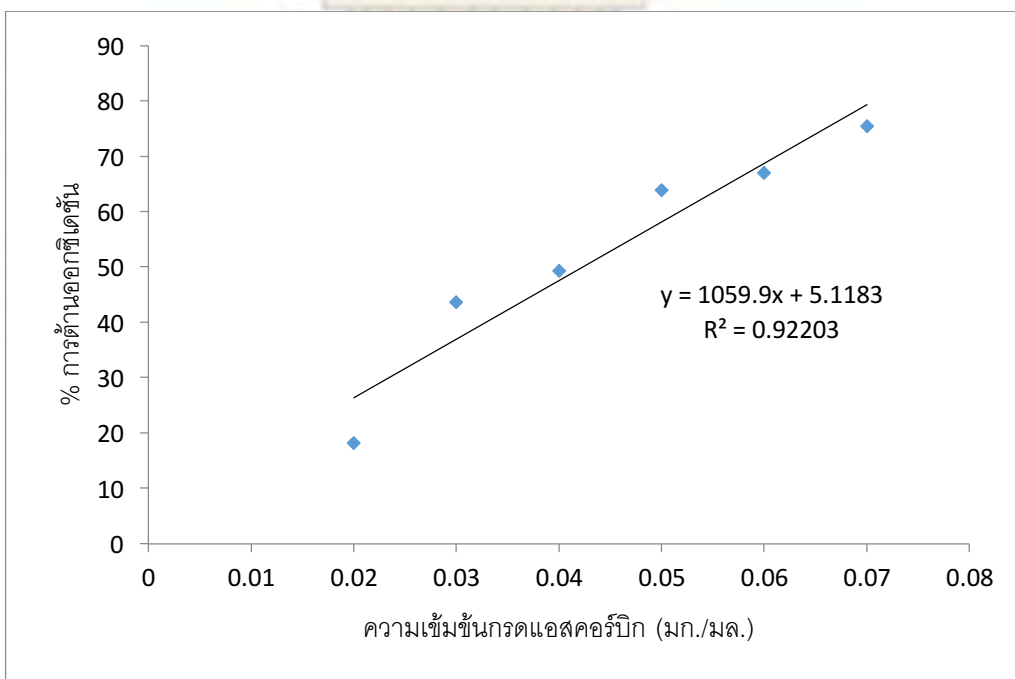
ความเข้มข้น (มก./มล.)	% ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	
	น้ำมันกานพลู	กรดแอสคอร์บิก
0.02	34	18
0.03	44	44
0.04	57	49
0.05	62	64
0.06	63	67
0.07	66	75

เมื่อนำค่าในตารางที่ 3.2 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลู และกรดแอสคอร์บิก ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ



รูปที่ 3.3

กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากกราฟจะได้ค่า IC_{50} ของน้ำมันกานพลูและกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ 0.038 และ 0.042 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารทั้งสองชนิดนี้มีค่า IC_{50} ที่ใกล้เคียงกันมาก ในการทดลอง จึงเลือกใส่กรดแอสคอร์บิกในสารละลายแอลจีเนต ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ IC_{50} และมากกว่า 2 เท่า ซึ่งก็คือ 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในปัด AA5-beads และ AA10-beads ตามลำดับ และติดตามฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลูที่กักเก็บในปัด ณ เวลาต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.4 ความเสถียรต่อแสงและออกซิเจนของน้ำมันกานพลูในปัดชนิดต่างๆ

ทำการศึกษาผลของแสงและออกซิเจนต่อความเสถียรของน้ำมันกานพลูในปัด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ใน 4 สภาวะ ณ เวลา 0, 5, 20 และ 40 วัน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันกานพลู จากนั้นนำค่าที่ได้มาคิดเป็นค่าสัมพัทธ์เพื่อติดตามการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่เปลี่ยนไป ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.3-3.4 (ข้อมูลดิบแสดงไว้ในภาคผนวก ก)

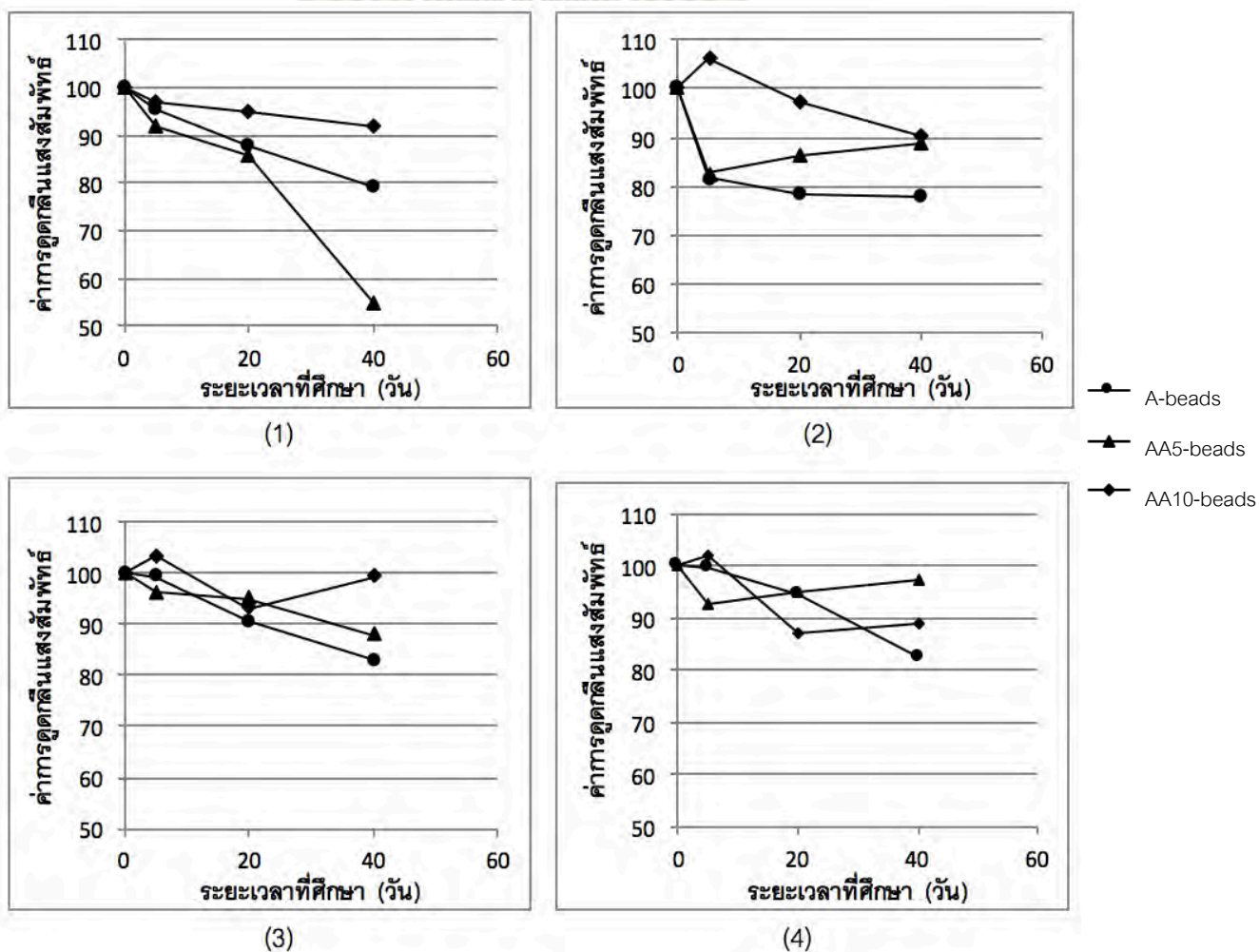
ตารางที่ 3.3 ค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ของน้ำมันกานพลูที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตรในปัด A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่สภาวะและเวลาต่างๆ ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy

สภาวะ	ชนิดปัด	ค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ ณ ระยะเวลาที่ศึกษา (วัน)			
		0	5	20	40
1. ได้รับแสง และ ออกซิเจน	A-beads	100	96	88	79
	AA5-beads	100	92	86	55
	AA10-beads	100	97	95	92
2. ได้รับแสง อย่างเดียว	A-beads	100	82	78	78
	AA5-beads	100	83	86	89
	AA10-beads	100	106	97	90
3. ได้รับ ออกซิเจน อย่างเดียว	A-beads	100	99	91	83
	AA5-beads	100	96	95	88
	AA10-beads	100	104	93	99
4. ไม่ได้รับ แสงและ ออกซิเจน	A-beads	100	100	95	83
	AA5-beads	100	93	95	98
	AA10-beads	100	102	87	89

ตารางที่ 3.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสัมพัทธ์ของบีต A-beads, AA5-beads และ AA10-beads ที่สภาวะและเวลาต่างๆ ด้วย DPPH-assay

สภาวะ	ชนิดบีต	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (%) และ ระยะเวลาที่ศึกษา (วัน)			
		0	5	20	40
1. ได้รับแสง และ ออกซิเจน	A-beads	100	115	124	111
	AA5-beads	100	115	100	104
	AA10-beads	100	95	86	100
2. ได้รับแสง อย่างเดียว	A-beads	100	115	124	111
	AA5-beads	100	104	102	126
	AA10-beads	100	88	86	93
3. ได้รับ ออกซิเจน อย่างเดียว	A-beads	100	117	104	115
	AA5-beads	100	115	100	104
	AA10-beads	100	95	86	100
4. ไม่ได้รับ แสงและ ออกซิเจน	A-beads	100	120	100	117
	AA5-beads	100	100	115	145
	AA10-beads	100	84	82	93

นำข้อมูลที่ได้จากตาราง 3.3 มาสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์ (Y) และระยะเวลาที่ศึกษา (X) ในสถานะต่างๆ จะได้กราฟทั้งหมดดังแสดงในรูปที่ 3.5

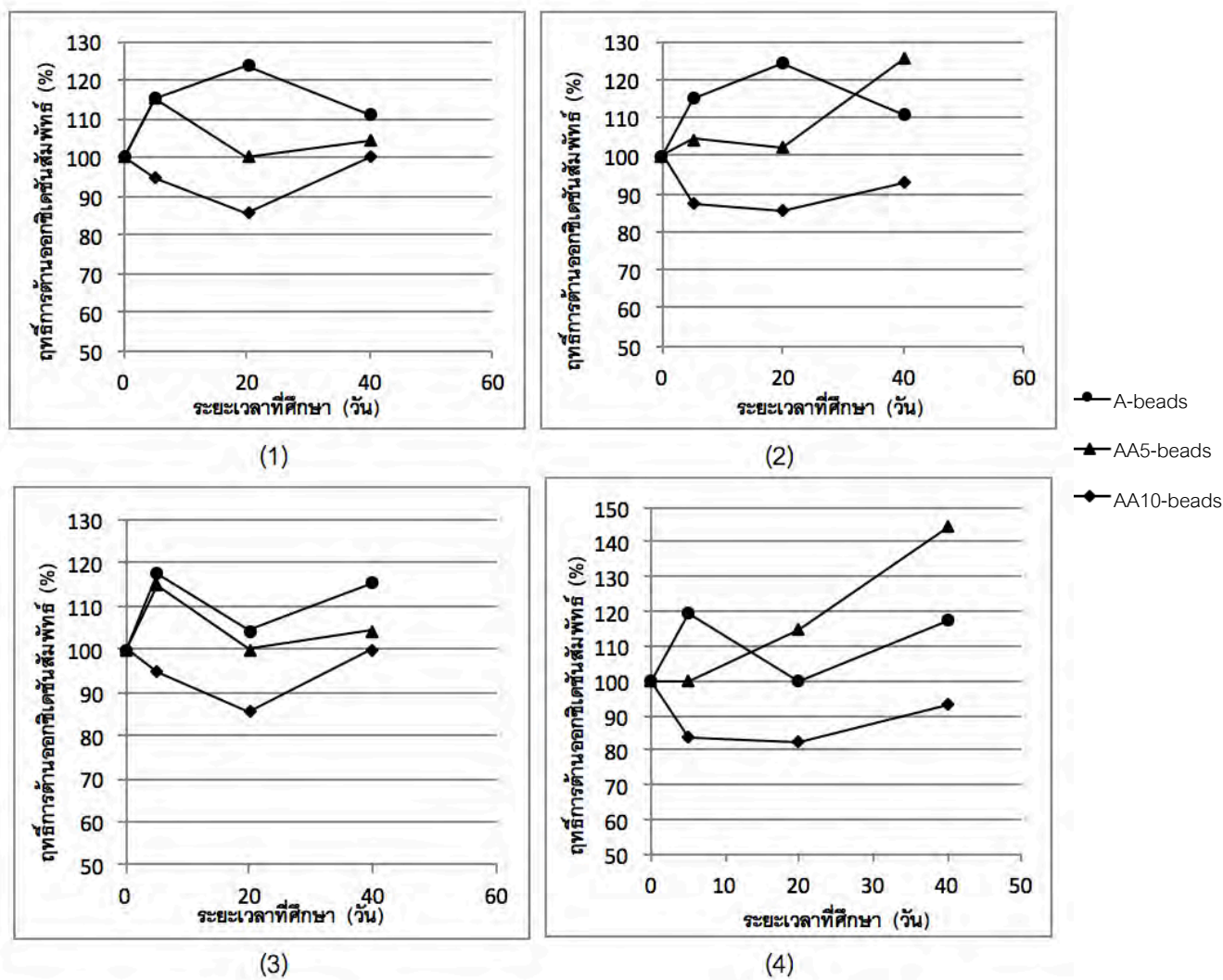


รูปที่ 3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์ (Y) และระยะเวลาที่ศึกษา (X) ในสถานะ (1) ได้รับแสงและออกซิเจน (2) ได้รับแสงอย่างเดียว (3) ได้รับออกซิเจนอย่างเดียว (4) ไม่ได้รับแสงและออกซิเจน

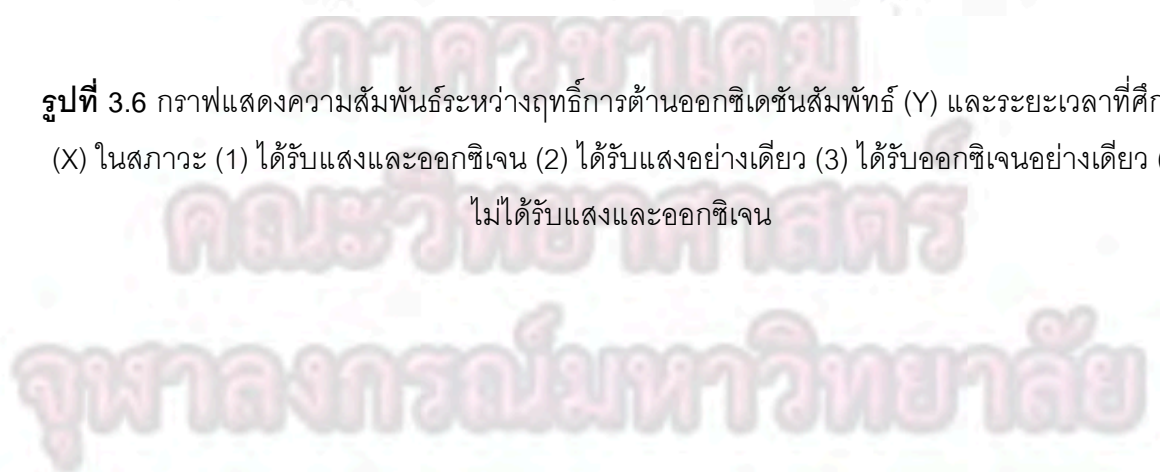
จากกราฟที่ได้ในรูป 3.5 จะพบว่าค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์จะค่อยลดลงเรื่อยๆเมื่อเวลาผ่านไป แสดงว่าน้ำมันกานพลูมีปริมาณยูจินอลลดลงตามเวลาที่เก็บ สภาวะที่ 1 และ 2 จะมีการลดลงมากกว่าสภาวะที่ 3 และ 4 แสดงให้เห็นว่าแสงมีผลต่อการลดลงของปริมาณยูจินอลมากกว่าออกซิเจนในอากาศ เนื่องจากปิดแอลจินเตด้านนอกมีความโปร่งแสง แสงจึงสามารถเข้าไปถึงน้ำมันกานพลูและทำให้เกิดการสลายตัวได้ ในขณะที่ชั้นแอลจินเตสามารถป้องกันออกซิเจนในอากาศเข้าไปทำปฏิกิริยากับน้ำมันกานพลูในปิดได้ นอกจากนี้การผสมกรดแอสคอร์บิกมากขึ้น จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการสลายตัวของยูจินอลในน้ำมันกานพลูได้ดีขึ้น จากผลการทดลองส่วนใหญ่จะเห็นได้ว่า AA5-beads และ A-beads จะมีค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน อาจเนื่องมาจากในชั้นตอน

การเตรียมปิดแอลจินเต้นั้น กรดแอสคอร์บิกที่ผสมอยู่กับสารละลายแอลจินเตเมื่อหยดลงไป ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีการละลายออกมาอยู่ภายนอกปิดได้ ทำให้มีปริมาณกรดแอสคอร์บิก ในเปลือกปิดน้อยมากใกล้เคียงกับที่ไม่ได้ใส่

และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตาราง 3.4 มาสร้างกราฟระหว่างฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสัมพัทธ์ (Y) และระยะเวลาที่ศึกษา(X) ในสภาวะต่างๆ จะได้กราฟทั้งหมดดังแสดงในรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสัมพัทธ์ (Y) และระยะเวลาที่ศึกษา (X) ในสภาวะ (1) ได้รับแสงและออกซิเจน (2) ได้รับแสงอย่างเดียว (3) ได้รับออกซิเจนอย่างเดียว (4) ไม่ได้รับแสงและออกซิเจน


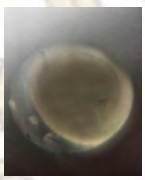
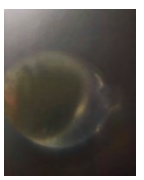

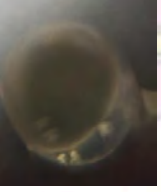
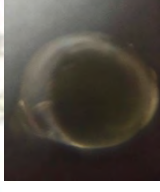
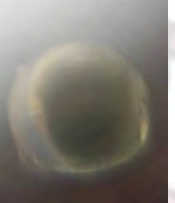
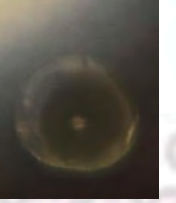



จากรูปที่ 3.6 จะพบว่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสัมพัทธ์ของปิดทั้งสามชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน และฤทธิ์ยังคงใกล้เคียงกับ ณ เวลา 0 วัน อาจเนื่องมาจากปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำมันกานพลูมีค่าลดลงไม่มากนัก ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของฤทธิ์ได้อย่างชัดเจน

3.5 ผลความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินต่อความหนาของเปลือกปิดแอลจินेट

การทดลองการเพิ่มความหนาของเปลือกปิดชนิด A-beads ด้วยสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 5% 10% และ 15% แช่ในเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ 10 นาที 20 นาที และ 30 นาที เมื่อถ่ายด้วยกล้องกำลังขยายสูง (40X) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.5 และตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.5 ภาพของปิดแอลจินेटและเคลือบด้วยสารละลายเจลาตินด้วยความเข้มข้นและเวลาต่างๆ ที่เตรียมใหม่

ความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน	ภาพปิดเตรียมใหม่เมื่อแช่ในสารละลายเจลาตินเป็นเวลา		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
5%			
10%			
15%			

จากผลการทดลองพบว่าไม่สามารถมองเห็นความหนาของเปลือกปิดที่ความเข้มข้นต่างกันของสารละลายเจลาตินได้อย่างชัดเจนแต่จะสังเกตด้วยตาเปล่าได้ว่า ปิดที่แช่ในเจลาตินจะมีลักษณะขุ่น ส่วนปิดที่ไม่แช่ในเจลาตินจะใส โดยปิดที่ไม่แช่ในสารละลายเจลาตินจะแสดงในรูป 3.7



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.7 ปิดแอลจินเนตที่ไม่แช่ในสารละลายเจลาติน ก.เตรียมใหม่ ข.หลังทำแห้ง

ตารางที่ 3.6 ภาพของปิดแอลจินเนตที่เคลือบด้วยสารละลายเจลาตินด้วยความเข้มข้นและเวลาต่างๆ เมื่อทำแห้งแล้ว

ความเข้มข้น ของสารละลายเจลาติน	ภาพปิดแห้งเมื่อแช่ในสารละลายเจลาตินเป็นเวลา		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
5%			
10%			
15%			

จากผลการทดลองพบว่าปัดมีลักษณะคล้ายคลึงกันเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า แต่ถ้าใช้มือบีบให้ปัดแตก จะพบว่าปัดที่แช่ในเจลาติน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นและแช่เป็นเวลานานกว่า จะมีความแข็งของเปลือกมากกว่า



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

สามารถเตรียมปิดแอลจินเตในรูปแบบแคปซูลได้ โดยเตรียมปิด 3 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ ปิดแอลจินเต (A-beads) ปิดแอลจินเตที่ผสมกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.05% (AA5-beads) และ 0.10% (AA10-beads) โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากการศึกษาลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่าและขนาดของปิดทั้ง 3 ชนิดนี้พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปิดมีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีน้ำมันกานพลูบรรจุภายใน เปลือกแอลจินเตด้านนอกบาง ปิดที่เตรียมใหม่จะมีลักษณะขุ่นแต่เมื่อแห้งจะมีสีปิดเตรียมใหม่ และเมื่อแห้งแล้วมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.2-3.5 และ 2.7-3.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากการศึกษาความสามารถของกรดแอสคอร์บิกในเปลือกปิดแอลจินเตในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันกานพลู จากสภาวะที่มีแสงและออกซิเจนในอากาศ ณ เวลา 0, 5, 20 และ 40 วัน พบว่าแสงมีผลต่อปริมาณการลดลงของยูจินอลในน้ำมันกานพลู แต่ออกซิเจนในอากาศมีผลน้อยมาก อาจเนื่องจากเปลือกแอลจินเตที่ห่อหุ้มน้ำมันกานพลูป้องกันแสงไม่ได้ แต่ป้องกันการแพร่ของออกซิเจนไม่ให้เข้าไปทำปฏิกิริยากับน้ำในกานพลูในปิด และกรดแอสคอร์บิกสามารถป้องกันการสลายตัวของยูจินอลในน้ำมันกานพลูได้เมื่อเทียบกับไม่ได้ใส่ แต่จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่าปิดทั้งสามชนิดนี้ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากสารต้านออกซิเดชันโดยรวมในน้ำมันกานพลูมีค่าเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนัก นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการเพิ่มความแข็งแรงให้กับเปลือกปิด A-beads ด้วยสารละลายเจลาตินความเข้มข้นและแช่ในเวลาต่างๆ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและเวลาที่แช่จะเพิ่มความแข็งแรงให้กับปิดได้

4.2 ข้อเสนอแนะ

- ศึกษาความเสถียรของน้ำมันกานพลูที่ไม่ถูกกักเก็บในปิดแอลจินเตเพื่อเปรียบเทียบกับที่ถูกกักเก็บ
- ตรวจสอบปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่มีอยู่จริงในเปลือกปิดแอลจินเต

บรรณานุกรม

- (1) Frankova, A.; Smid, J.; Bernardos, A.; Finkousova, A.; Marsik, P.; Novotny[®], Veronika Legarová, D.; Pulkrabek, J.; Kloucek, P. The antifungal activity of essential oils in combination with warm air flow against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Food Control* **2016**, *68*, 62-68.
- (2) Perdones, A.; Escriche, I.; Chiralt, A.; Vargas, M. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. *Food Chem.* **2016**, *197*, 979–986.
- (3) Hosseini, S.M.; Hosseini, H.; Mohammadifar, M.A.; Mortazavian, A.M.; Mohammadi, A.; Darani, K.K.; Aliabadi, S.S.; Dehghan, S.; Khaksar, R.; Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *Int J Biol Macromol.* **2013**, *62*, 582-588.
- (4) Yogalakshmi, B.; Viswanathan, P.; Anuradha, C.V. Investigation of antioxidant, anti-inflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicology.* **2010**, *268*, 204-212.
- (5) Hussein, G.; Miyashiro, H.; Nakamura, N.; Hattori, M.; Kakiuchi, N.; Shimotohno, K. Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. *Phytother Res.* **2000**, *14*, 510-516.
- (6) Teixeira, B.; Marques, A.; Ramos, C.; Neng, N.R.; Nogueira, J.M.F.; Saraiva, J.A.; Nunes, M.L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crop Prod.* **2013**, *43*, 587-595.
- (7) Bachiega, T.F.; de Sousa, J.P.; Bastos, J.K.; Sforcin J.M. Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *J Pharm Pharmacol.* **2016**.
- (8) Sebaaly, C.; Charcosset, C.; Stainmesse, S.; Fessi, H.; Greige-Gerges, H. Clove essential oil-in-cyclodextrin-in-liposomes in the aqueous and lyophilized states: From laboratory to large scale using a membrane contactor. *Carbohydr Polym.* **2016**, *138*, 75-85.
- (9) Sebaaly, C.; Jraij, A.; Fessi, H.; Charcosset, C.; Greige-Gerges, H. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. *Food Chem.* **2015**, *178*, 52-62.
- (10) de Oliveira, E.F.; Paula, H.C.B.; de Paula, R.C.M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* **2014**, *113*, 146-151.
- (11) <http://www.mfu.ac.th/school/agro2012/events/482> (accessed Feb 23,2016)

- (12) <http://www.rsc.org/learn-chemistry/resources/chemistry-in-your-cupboard/images/gaviscon/figure4.gif> (accessed Feb 23,2016)
- (13) Meng, S.; Winters, H.; Liu, Y. Ultrafiltration behaviors of alginate blocks at various calcium concentrations. *Water Res.* **2015**, *83*, 248-257.
- (14) Li, J.; Kim, S. Y.; Chen, X.; Park, H. J. Calcium-alginate beads loaded with gallic acid: Preparation and characterization. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2016**, *68*, 667-673.
- (15) Nakamura, M.; Funami, T.; Fang, Y. Calcium binding and calcium-induced gelation of sodium alginate modified by low molecular-weight polyuronate. *Food Hydrocoll.* **2016**, *55*, 65-76.
- (16) http://www.intechopen.com/source/html/37702/media/image2_w.jpg (accessed Feb 23,2016)
17. Vasile, F.E.; Romero, A.M.; Judis, M.A.; Mazzobre, M.F. *Prosopis alba* exudate gum as excipient for improving fish oil stability in alginate–chitosan beads. *Food Chem.* **2016**, *190*, 1093-1101.
- (18) <http://health.kapook.com/view105795.html> (accessed Feb 26,2016)
- (19) Purwanti, N.; Neves, M.A.; Uemura, K.; Nakajima, M.; Kobayashi, I. Stability of monodisperse clove oil droplets prepared by microchannel emulsification. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* **2015**, *466*, 66-74.
- (20) De'Nobili, M.D.; Soria, M.; Martinefski, M.R.; Tripodi, V.P.; Fissore, E.N.; Rojas, A.M. Stability of L-(+)-ascorbic acid in alginate edible films loaded with citric acid for antioxidant food preservation. *J Food Eng.* **2016**, *175*, 1-7.
- (21) Ko, E.H.; Choi, Y.S.; Choi, S.M. Kim, H.W.; Choi, J.H.; Lee, M.A.; Kim, C.J. 'Antioxidant action of *ganghwayakssuk* (*Artemisia princeps* Pamp.) in combination with ascorbic acid to increase the shelf life in raw and deep fried chicken nugget. *Meat Sci.* **2013**, *95*, 593-602.
- (22) <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0727/collagen-คอลลาเจน> (accessed Feb 23,2016)
- (23) <http://www.mfu.ac.th/school/agro2012/events/482> (accessed Feb 25,2016)
- (24) <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0188/antioxidant-สารต้านออกซิเดชั่น> (accessed Mar 3,2016)
- (25) http://tstj.research.tu.ac.th/Issue21No3_PDF/paper9.pdf (accessed Mar 3,2016)
- (26) <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay-การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชั่น> (accessed Mar 6,2016)
- (27) <http://www.mwit.ac.th/~teppode/c5.pdf> (accessed Mar 8,2016)

(28) <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/specialproject/2549-21.pdf> (accessed Mar 9,2016)

(29) Musa, K.M.; Abdullah, A.; Al-Haiqi, A. Determination of DPPH free radical scavenging activity: Application of artificial neural networks. *Food Chem.* **2016**, *194*, 705-711.

(30) Hua, D.; Zhang, D.; Huang, B.; Yi, P.; Yan, C. Structural characterization and DPPH· radical scavenging activity of a polysaccharide from Guara fruits. *Carbohydr Polym.* **2014**.



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

จากตารางที่ 3.3 การหาค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์หาได้จากข้อมูลดิบ ดังตารางนี้
ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จริง ด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy

สภาวะ	ชนิดบีด	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จริง ณ ระยะเวลาที่ศึกษา (วัน)			
		0	5	20	40
1. ได้รับแสง และ ออกซิเจน	A-beads	0.95352	0.92611	0.85253	0.76626
	AA5-beads	0.93991	0.89647	0.83636	0.53563
	AA10-beads	0.94357	0.90466	0.88464	0.85813
2. ได้รับแสง อย่างเดียว	A-beads	0.53386	0.79159	0.75755	0.75564
	AA5-beads	0.98737	0.80634	0.84063	0.8666
	AA10-beads	0.92323	0.99044	0.90783	0.84409
3. ได้รับ ออกซิเจน อย่างเดียว	A-beads	0.96801	0.96208	0.87991	0.80305
	AA5-beads	0.99641	0.94023	0.92655	0.85756
	AA10-beads	0.93484	0.9681	0.87105	0.92864
4. ไม่ได้รับ แสงและ ออกซิเจน	A-beads	0.98384	0.96737	0.91826	0.80025
	AA5-beads	0.69809	0.90287	0.92859	0.95037
	AA10-beads	0.98338	0.95516	0.81303	0.83193

จากตารางที่ 3.4 การหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสัมพันธ์หาได้จากข้อมูลดิบ ดังตารางนี้
ตารางที่ 2 ค่า %การต้านออกซิเดชัน ด้วยเทคนิค DPPH assay

สภาวะ	ชนิดบีต	%การต้านออกซิเดชัน ณ ระยะเวลาที่ศึกษา (วัน)			
		0	5	20	40
1.ได้รับแสง และ ออกซิเจน	A-beads	39	53	57	51
	AA5-beads	50	54	50	49
	AA10-beads	55	53	48	56
2.ได้รับแสง อย่างเดียว	A-beads	39	53	57	51
	AA5-beads	43	49	48	59
	AA10-beads	58	49	48	52
3.ได้รับ ออกซิเจน อย่างเดียว	A-beads	48	54	48	53
	AA5-beads	50	54	50	49
	AA10-beads	55	53	48	56
4.ไม่ได้รับ แสงและ ออกซิเจน	A-beads	49	55	46	54
	AA5-beads	46	47	54	68
	AA10-beads	55	47	56	52

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวพรรณมณฑล อัครเมธี เกิดวันที่ 10 มกราคม พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายสายสามัญ แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนสายปัญญา ในพระบรมราชินูปถัมภ์ เมื่อปีการศึกษา 2554 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถ ติดต่อได้หลังจบการศึกษาปริญญาตรี 112/293 หมู่ 8 ถนน จอมทอง แขวง จอมทอง เขต จอมทอง กรุงเทพมหานคร 10150



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย