



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การใช้เทคโนโลยีเอ็นแคปซูลชันในการเพิ่มความคงตัวของแอสตาแซนทินธรรมชาติ  
เพื่อประยุกต์ใช้ในโยเกิร์ต

Use of Encapsulation Technology to Enhance Stability of Natural Astaxanthin  
for Application in Yogurt

นามผู้วิจัย นางสาวกมลรัตน์ ทักษิมา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิมล คคล้ายประดิษฐ์, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เยาวภา ไหวพริบ, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์มารุจ ลิมปะวัฒนะ, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ \_\_\_\_\_ เดือน \_\_\_\_\_ พ.ศ. \_\_\_\_\_

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้เทคโนโลยีเอ็นแคปซูลชันในการเพิ่มความคงตัวของแอสตาแซนทินธรรมชาติ เพื่อประยุกต์ใช้ในโยเกิร์ต

Use of Encapsulation Technology to Enhance Stability of Natural Astaxanthin for Application in Yogurt

โดย

นางสาวถกกรรัตน์ ทักขิมา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

สิงสิงห์ มทว. ๒๕๕๘

ถกสิทธิ์ ทักษิมา 2558: การใช้เทคโนโลยีเอ็นแคปซูลชันในการเพิ่มความคงตัวของแอสตาแซนธินธรรมชาติ เพื่อประยุกต์ใช้ในโยเกิร์ต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาวิชาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์, Ph.D. 119 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพิ่มความคงตัวให้กับแอสตาแซนธินธรรมชาติ โดยใช้เทคโนโลยีการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิค coacervation ร่วมกับการใช้ Ultrasonic Atomizer โดยแปรผันระดับความเข้มข้นของอัลจินต (0.8, 1.0 และ 1.2% น้ำหนักโดยปริมาตร) และไคโตซาน (0.5, 0.7 และ 1.0% น้ำหนักโดยปริมาตร) สำหรับการเตรียมเม็ดบีด พบว่าน้ำหนักและขนาดของเม็ดบีดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p > 0.05$ ) ของทุกระดับความเข้มข้นของสารเคลือบ โดยที่สภาวะของการใช้อัลจินต 1.2 % น้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซาน 1.0 % น้ำหนักโดยปริมาตร ให้ค่าร้อยละผลผลิต และประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารได้สูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ  $85.73 \pm 0.25\%$  และ  $91.34 \pm 0.00\%$  ตามลำดับ การวิเคราะห์ชนิดของแอสตาแซนธิน ภายในเม็ดบีด โดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) พบว่ามีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.50 ซึ่งบ่งบอกว่า เป็นแอสตาแซนธินอิสระ และแอสตาแซนธิน โมโนเอสเทอร์ ตามลำดับ การวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินภายในเม็ดบีดด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และ ferrous ion chelating พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินต 1.2 % น้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซาน 1.0 % น้ำหนักโดยปริมาตร มีค่า scavenging effects และ chelating ability สูงที่สุดสำหรับการวิเคราะห์ผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมเม็ดบีด ( $n=130$ ) แบบ 9-point hedonic scale พิจารณาจากลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกภายในปาก และความชอบโดยรวม พบว่าการเสริมเม็ดบีดลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคสูงถึง 86.21% โดยให้คะแนนของแต่ละคุณลักษณะเท่ากับ 6.91, 7.35, 7.12, 5.70, 5.81 และ 6.22 ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาค่าถดถอยโลจิสติกพบว่าสี กลิ่นและความชอบโดยรวมมีอิทธิพล ( $p < 0.05$ ) ต่อการยอมรับของผู้บริโภค และมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อ โยเกิร์ตเสริมเม็ดบีดแอสตาแซนธิน และเมื่อผู้บริโภคได้รับทราบถึงประโยชน์ของแอสตาแซนธินพบว่าการตัดสินใจซื้อสูงขึ้นเป็น 95.57% จากผลการทดลองทั้งหมด พบว่ากระบวนการห่อหุ้มสารสามารถช่วยป้องกัน และรักษาสมบัติของแอสตาแซนธินให้มีความเหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Takunrat Taksima 2015: Use of Encapsulation Technology to Enhance Stability of Natural Astaxanthin for Application in yogurt. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Wanwimol Klaypradit, Ph.D. 119 pages.

This study was aimed to increase stability of natural astaxanthin using encapsulation technology by coacervation technique incorporated with ultrasonic atomizer. To encapsulate astaxanthin, various concentrations of alginate (0.8, 1.0 and 1.2% w/v) and chitosan (0.5, 0.7 and 1.0% w/v) were prepared for use as wall materials. Astaxanthin beads derived from various treatments were not significant difference ( $p < 0.05$ ) in terms of size and weight. However, alginate (1.2% w/v) mixed with chitosan (1.0% w/v) exhibited the highest percentage of yield as well as encapsulation efficiency values, at  $85.73 \pm 0.25\%$  and  $91.34 \pm 0.00\%$  values, respectively. Astaxanthin from encapsulated beads were assessed by thin layer chromatography (TLC), demonstrating orange bands at  $R_f$  of 0.34 and  $R_f$  of 0.50, representing free astaxanthin and monoester astaxanthin, respectively. In addition, antioxidant properties of encapsulated astaxanthin made from alginate (1.2% w/v) mixed with chitosan (1.0% w/v) showed the highest scavenging effects and chelating ability as determined by DPPH free radical scavenging and ferrous ion chelating methods, respectively. Consumer test ( $n=130$ ) of yogurt containing astaxanthin beads was conducted for degree of liking with respect to appearance, color, aroma, taste, texture and overall acceptance. Results indicated that most of consumer positively accepted yogurt with astaxanthin beads (86.21%), giving the scores for each attribute of 6.91, 7.35, 7.12, 5.70, 5.81 and 6.22 respectively on the 9-point hedonic scale. Further data analysis by Logistic Regression, color, aroma and overall liking were significant factors affecting overall acceptance and purchase intent of consumers. After consumers had been informed of astaxanthin benefits, purchase intent was increased up to 95.57%. The results suggest the potential use of encapsulation to protect astaxanthin functional properties for food application.

---

Student's signature

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์มารุจ ลิ้มปะวัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์เยาวภา ไหวพริบ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์รอง ที่ให้คำปรึกษาในการทำวิจัย คำแนะนำ และความช่วยเหลือต่างๆ ในทุกๆด้านและขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร ประธานกรรมการที่ปรึกษา และดร. โสธยา เกิดพิบูลย์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มอบทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ประจำปีงบประมาณ 2553 สำหรับนิสิตที่เข้าศึกษาภาคต้น ปีการศึกษา 2553 และคณาจารย์ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆที่เป็นประโยชน์มากมายให้แก่ข้าพเจ้าจนสามารถนำความรู้เหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือต่างๆในการวิเคราะห์

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นิสิตปริญญาโทและนิสิตปริญญาเอกภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่าน และเพื่อนๆที่ไม่ได้ระบุนามไว้ ณ ที่นี้ ที่คอยให้กำลังใจเป็นที่ปรึกษารวมทั้งให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อทักษิณ ทักษิมา และคุณแม่วิจิตรา เอราวัน และทุกคนที่บ้านที่เป็นทั้งกำลังใจ แรงใจ และเข้าใจเสมอมา

ถกสิทธิ์ ทักษิมา

มกราคม 2558

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	37
อุปกรณ์	37
วิธีการ	40
ผลและวิจารณ์	48
สรุปและข้อเสนอแนะ	89
สรุป	89
ข้อเสนอแนะ	90
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	91
ภาคผนวก	101
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ปริมาณ และความเข้มข้นของสารแอสตาแซนธิน	102
ภาคผนวก ข ภาพสารสกัดจากเปลือกกุ้ง	105
ภาคผนวก ค ภาพขั้นตอนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน	107
ภาคผนวก ง วิธีการเตรียม 50 mM Phosphate buffer pH 7.4	110
ภาคผนวก จ วิธีการวิเคราะห์ผลทางจุลชีววิทยา	112
ภาคผนวก ฉ แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	115
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	119

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณและมูลค่าการส่งออกและนำเข้ากุ้งและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย	6
2	องค์ประกอบทางเคมีของหัว และเปลือกกุ้งขาว	7
3	เทคนิคในการห่อหุ้มสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	26
4	ตัวอย่างกลไกการปลดปล่อยสาร	33
5	น้ำหนัก ขนาด และปริมาณผลผลิตของเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของอัลจินตและไคโตซาน	53
6	ประสิทธิภาพของการห่อหุ้ม (Encapsulation Efficiency, %EE) สารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	56
7	ประสิทธิภาพของการห่อหุ้ม (Encapsulation Efficiency, %EE) สารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	58
8	ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) ของสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์	62
9	ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) ของสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์	65
10	ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี ferrous ion –chelating (FIC) ของสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์	68
11	ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี ferrous ion –chelating (FIC) ของสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์	71
12	ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและโยเกิร์ตแอสตาบีดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 วัน	78

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ข้อมูลทางด้านสังคมและประชากรศาสตร์ของผู้ทดสอบชิมผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและโยเกิร์ตแอสตาบีดคิดเป็นร้อยละ จากจำนวนผู้ทดสอบทั้งสิ้น 130 คน	79
14	ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (n=130) ที่มีต่อลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสูตรควบคุม และโยเกิร์ตเสริมเม็ดปิดแอสตาแซนธิน (โยเกิร์ตแอสตาบีด) ด้วยวิธี 9-point Hedonic scale และร้อยละของการยอมรับและความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์	81
15	ค่า Parameter estimates, probability และ odd ratio estimates ของการยอมรับและความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด (n=130)	85
16	การพยากรณ์การยอมรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด (n=130)	86
17	การพยากรณ์ความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด (n=130)	86
18	การพยากรณ์ความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีดเมื่อทราบว่ามีการเติมสารแอสตาแซนธิน (n=130)	87
<b>ตารางผนวกที่</b>		
ก1	ปริมาณแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือของกุ้ง	103
ก2	ผลของสารละลายมาตรฐานของสารแอสตาแซนธิน (>92%) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 nm.	103

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของ Beta-carotene (a) และ Lycopene (b)	9
2	โครงสร้างทางเคมีของ Canthaxanthin (a) และ Lutein (b)	10
3	โครงสร้างทางเคมีของแอสตาแซนธิน	12
4	โครงสร้างของแคปซูลที่ผ่านการห่อหุ้ม	21
5	ตัวอย่างของเทคโนโลยีการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิค complex coacervation โดยใช้ alginate และโคโคซานสำหรับการเคลือบน้ำมัน	27
6	องค์ประกอบของ Ultrasonic Atomizer	32
7	Thin layer chromatography ของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้น และสารแอสตาแซนธินในเม็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (วันที่ 0)	51
8	Thin layer chromatography ของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้น และสารแอสตาแซนธินในเม็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (4 สัปดาห์)	52
9	การเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดที่เวลา 0 (a), 10 (b), 30 (c), 60 (d), 120 (e) และ 180 (f) นาทีในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด	73
10	การเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดที่เวลา 0 (a), 10 (b), 30 (c) และ 60 (d) นาที ในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบส	74
11	ภาพถ่ายลักษณะ โครงสร้างภายนอกของเม็ดบีดจากกล้อง Scanning Electron Microscope	75
<b>ภาพผนวกที่</b>		
ก1	กราฟสารละลายมาตรฐานของสารแอสตาแซนธิน (>92%) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 nm.	104
ข1	การกรองเปลือกกุ้งออกด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ	106
ข2	การระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ	106
ข3	การสกัดแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง	106

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ค1 สารละลายอัลจินต	108
ค2 สารละลายไคโตซาน	108
ค3 อิมัลชันของสารละลายอัลจินตกับสารแอสตาแซนธิน	108
ค4 เม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร	109
ค5 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และ โยเกิร์ตแอสตาบีด	109

## การใช้เทคโนโลยีเอ็นแคปซูลชันในการเพิ่มความคงตัวของแอสตาแซนทินธรรมชาติ เพื่อประยุกต์ใช้ในโยเกิร์ต

### Use of Encapsulation Technology to Enhance Stability of Natural Astaxanthin for Application in Yogurt

#### คำนำ

แอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นรงควัตถุให้สีในช่วงสีชมพูถึงสีแดง ซึ่งสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองตามธรรมชาติ พบมากในสัตว์น้ำตระกูล crustacean และ salmonids รวมทั้งสาหร่าย และยีสต์บางชนิด แอสตาแซนทินจัดอยู่ในกลุ่มของแซนโทฟิลล์ หรืออาจเรียกว่าคีโตแคโรทีนอยด์ (ketocarotenoid) เนื่องจากมีโครงสร้างที่อยู่ในรูปของ เบต้า-แคโรทีนที่ถูกเติมออกซิเจน โดยโครงสร้างหลักประกอบไปด้วยแกนไฮโดรคาร์บอน ระหว่างคาร์บอนอะตอมจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ ที่เรียกว่า โพลีอีน (polyene) ซึ่งลักษณะโครงสร้างแบบโพลีอีน มีส่วนสำคัญที่ช่วยในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี และทำให้โครงสร้างของแอสตาแซนทินมีลักษณะที่ไม่อิ่มตัว มีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์หลายผลงานได้แสดงให้เห็นถึงสมบัติที่สำคัญของแอสตาแซนทินในการเป็น แอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) หรือสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการเป็นแอนติออกซิแดนท์ของแอสตาแซนทินสูงกว่า เบต้าแคโรทีน ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) และ แคนธาแซนทิน (canthaxanthin) ประมาณ 10 เท่า และมีประสิทธิภาพสูงกว่า วิตามินอี (alpha-tocopherol) ประมาณ 100 เท่า (Nishigaki *et al.*, 1994; Jorgensen and Skibsted, 1993)

แอสตาแซนทินที่จำหน่ายในท้องตลาดปัจจุบัน ส่วนใหญ่ได้มาจากการสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามแนวโน้มความต้องการอาหารจากธรรมชาติที่เพิ่มมากขึ้นของผู้บริโภคเนื่องจากความกังวลในด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์จากการสังเคราะห์ เป็นสาเหตุที่กระตุ้นให้มีการค้นคว้าวิจัยหาแหล่งการผลิตรงควัตถุจากธรรมชาติที่มีศักยภาพสำหรับอุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมกุ้งแช่แข็ง เป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการนำมาทำเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอสตาแซนทิน เนื่องจากความเหมาะสมในด้านของปริมาณที่มีจำนวนมากเพียงพอ ราคาวัตถุดิบที่ถูก และเป็นการเพิ่มมูลค่าในการใช้ประโยชน์จากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตอาหารให้มากขึ้น อีกทั้งแอสตาแซนทินที่ผลิตได้จากเศษเหลือของกุ้ง ยังไม่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อจำหน่ายในทางการค้า การพัฒนาการเทคโนโลยีการผลิตโดยการต่อยอดเทคโนโลยีการผลิตของงานวิจัยที่มีอยู่เดิมจึงมีความน่าสนใจ และมีความเป็นไปได้ในเชิงการค้า อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญที่สุดที่พบ เมื่อมีการประยุกต์ใช้แอสตาแซนทินในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่ ความไม่คงตัวของแอสตาแซนทินเอง เนื่องจากลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของ

แอสตาแซนธินที่มีความไม่อึดตัวสูงดังที่กล่าวข้างต้น ดังนั้นจึงทำให้แอสตาแซนธินเกิดการเสียดสภาพได้ง่ายจากสภาวะแวดล้อม เช่น แสง ความร้อน ออกซิเจน เป็นต้น ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต หรือการเก็บรักษา ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ และสมบัติทางเคมีที่ดีอื่นๆ ดังนั้นในการนำแอสตาแซนธิน ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเพิ่มสมบัติความคงตัวของเคมี-กายภาพ หรือช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงต่างๆ จากสภาวะแวดล้อม ซึ่งเทคโนโลยีหนึ่งที่มีความเป็นไปได้สูง ในการช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของสารแอสตาแซนธินจากสภาวะแวดล้อม คือการใช้เทคโนโลยีการห่อหุ้มสาร (encapsulation) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่มีศักยภาพสูงในการช่วยกักเก็บสารต่างๆ ที่อยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็ง ของเหลว หรือ ก๊าซ ให้อยู่ภายในสิ่งห่อหุ้มที่มีลักษณะคล้ายแคปซูล ที่มีขนาดเล็ก ทั้งระดับไมโครเมตร (microencapsulation) หรือนาโนเมตร (nanoencapsulation) นอกจากนี้ยังช่วยควบคุมอัตราการปลดปล่อยของสารออกจากแคปซูล และช่วยรักษาสมบัติของสารภายในแคปซูลให้คงทน และมีประสิทธิภาพภายใต้สภาวะที่กำหนดในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ประยุกต์ใช้เทคโนโลยี encapsulation โดยวิธี coacervation ร่วมกับการใช้ ultrasonic atomizer เพื่อเพิ่มความคงตัวให้กับแอสตาแซนธินที่ผลิตได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเม็ดบีด ที่มีแอสตาแซนธินถูกกักเก็บไว้ภายใน มีผลทำให้แอสตาแซนธินมีความคงทนต่อสภาวะในการใช้งาน และสภาวะการเก็บรักษา นอกจากนี้แอสตาแซนธินที่ผลิตได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์ และเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ ในด้านการตลาดสำหรับผู้บริโภค

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการผลิตแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้งขาวในลักษณะเม็ดบีด โดยใช้เทคนิค coacervation ร่วมกับการใช้ ultrasonic atomizer

1.1 ศึกษาปริมาณของอัลจินตและโคโคซานที่เหมาะสมในการผลิตเม็ดบีด

1.2 ศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของสารแอสตาแซนธินในเม็ดบีด

2. เพื่อศึกษาและพัฒนาการเสริมแอสตาแซนธินในเม็ดบีดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

## การตรวจเอกสาร

### 1. กุ้ง

กุ้ง (Shrimp) เป็นสัตว์น้ำกลุ่ม crustacean เช่นเดียวกับกั้ง และปู เป็นอาหารทะเลที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั่วโลก พันธุ์กุ้งที่ได้รับความนิยมสำหรับการบริโภค ได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกราม และกุ้งขาว เป็นต้น การพัฒนาอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้งที่มีคุณค่าทางด้านเศรษฐกิจของประเทศไทย ได้มีการพัฒนาการทำนากุ้งธรรมชาติที่ใช้พันธุ์กุ้งที่ได้จากน้ำทะเล ในระยะแรกๆ ของการเลี้ยงกุ้ง ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ต่อมาพบปัญหาเรื่องสายพันธุ์ และโรคของกุ้ง จึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่หันมาเลี้ยงกุ้งขาวแทนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

#### 1.1 กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม เป็นกุ้งที่มีแหล่งกำเนิดมาจากทวีปอเมริกา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* สำหรับประเทศไทยเริ่มนำกุ้งชนิดนี้เข้ามาเลี้ยงประมาณปี พ.ศ. 2541 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไมมีสีของลำตัวเป็นสีขาว กิริяд้านบนมีลักษณะเป็นหยักและถี่ปลายกิริตรง โดยมีปลายพินกิริด้านล่าง 2 อัน และด้านบน 8 อัน ความยาวของกิริจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก และเห็นลำไส้ชัดเจนกว่ากุ้งขาวชนิดอื่นๆ (ภิญโญ, 2545) นอกจากนี้กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งที่สามารถเลี้ยงได้ง่าย โตเร็ว และมีต้นทุนของการผลิตที่ต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ กุ้งขาวแวนนาไมจึงเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทยที่มีการนำเข้ามาเลี้ยงทดแทนกุ้งกุลาดำ และเลี้ยงในพื้นที่บริเวณที่เคยเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาก่อน โดยมีการเลี้ยงในเขตชายฝั่งทะเล และเขตนํ้ากร่อยบริเวณปากแม่น้ำ (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

### 2. อุตสาหกรรมกุ้งในประเทศไทย

#### 2.1 การเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีอยู่ 2 สายพันธุ์หลัก คือ กุ้งขาวซึ่งคิดเป็นร้อยละ 99.8 และกุ้งกุลาดำคิดเป็นร้อยละ 0.2 จากสัดส่วนการเพาะเลี้ยงจะพบว่ากุ้งขาวมีประสิทธิภาพมากกว่ากุ้งกุลาดำ เนื่องจากกุ้งขาวเป็นกุ้งที่เลี้ยงง่าย มีโรคระบาดน้อย และให้ผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับกุ้งกุลาดำ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ผลผลิตกุ้งจากการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ปี 2550-2552 แต่ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา (2552 - 2556) มีแนวโน้มลดลงร้อยละ 15.14 ต่อปี โดยเฉพาะตั้งแต่

ไทรมาสสุดท้ายของปี 2555 ต่อเนื่องถึงปี 2556 ไทยประสบปัญหาการตายของกุ้งจากภาวะอาการตายด่วน (Early Mortality Syndrome: EMS) ทำให้ผลผลิตกุ้งลดลงอย่างมากเหลือเพียง 270,000 ตัน ลดลงจาก 472,881 ตัน ในปี 2555 คิดเป็นร้อยละ 42.90 และทำให้เกษตรกรบางส่วนปรับเปลี่ยนการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมไปเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยมีสัดส่วนการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมร้อยละ 95 และสัดส่วนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำร้อยละ 5 ของผลผลิตกุ้งทั้งหมด

## 2.2 อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์กุ้ง

กุ้งเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายจึงทำให้มีผลิตภัณฑ์แปรรูปกุ้งจำหน่ายในท้องตลาดอย่างมากมาย สินค้ากุ้งแปรรูปของประเทศไทยในปัจจุบันถูกแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก คือ กุ้งแช่เย็น/กุ้งแช่แข็ง กุ้งบรรจุกระป๋อง และกุ้งแปรรูปชนิดอื่นๆ เช่น กุ้งต้มปอกเปลือกแช่เยือกแข็ง ต้มซ่า กุ้งชุบแป้งทอด กุ้งเสียบไม้ เปาะเป็ยะกุ้ง และกุ้งชุบเคิร์ดขนมปัง เป็นต้น

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกกุ้ง และผลิตภัณฑ์จากกุ้งถึงร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมดในรูปแบบกุ้งแช่เย็น กุ้งแช่แข็ง กุ้งปรุงแต่ง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ จากกุ้ง ซึ่งการส่งออกกุ้ง และผลิตภัณฑ์จากกุ้งในปี 2552 – 2556 มีแนวโน้มการส่งออกกุ้ง และผลิตภัณฑ์กุ้งของไทยลดลงทั้งปริมาณและมูลค่าในอัตราร้อยละ 15.73 และร้อยละ 10.36 ต่อปี ตามลำดับ เป็นการส่งออกในประเภทกุ้งแช่เย็นแช่แข็งและผลิตภัณฑ์กุ้งปรุงแต่งประเภทต่างๆ ปี 2556 การส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งของไทยลดลงทั้งปริมาณ และมูลค่าโดยประมาณการปริมาณส่งออก 100,000 ตัน มูลค่า 24,500 ล้านบาท ลดลงจากปริมาณ 175,625 ตัน มูลค่า 43,045 ล้านบาท ของปี 2555 คิดเป็นร้อยละ 43.06 และร้อยละ 43.08 ตามลำดับสำหรับการส่งออกกุ้งปรุงแต่งในปี 2556 ลดลงทั้งปริมาณ และมูลค่าเมื่อเทียบกับปีที่ผ่านมา เช่นกันกล่าวคือส่งออกปริมาณ 90,000 ตัน มูลค่า 32,000 ล้านบาท ลดลงจากปริมาณ 159,362 ตัน มูลค่า 48,309 ล้านบาท หรือลดลงคิดเป็นร้อยละ 43.52 และร้อยละ 33.76 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555)

ตารางที่ 1 ปริมาณ และมูลค่าการส่งออกและนำเข้ากุ้งและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย

รายการ	ปริมาณ: ตัน, มูลค่า: ล้านบาท											
	ปี 2552		ปี 2553		ปี 2554		ปี 2555		ปี 2556*		อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
<b>การส่งออก</b>	<b>396,706</b>	<b>93,017.34</b>	<b>425,403</b>	<b>100,671.50</b>	<b>374,250</b>	<b>105,421.04</b>	<b>334,987</b>	<b>91,354.04</b>	<b>190,000</b>	<b>56,500.00</b>	<b>-15.73</b>	<b>10.36</b>
1. กุ้งสดแช่เย็น กุ้งสดแช่แข็ง	217,801	45,845.94	240,461	52,865.27	183,466	47,625.13	175,625	43,045.01	100,000	24,500.00	-17.06	-13.57
2. กุ้งปรุงแต่ง	178,899	47,171.40	184,942	47,806.23	190,784	57,795.91	159,362	48,309.03	90,000	32,000.00	-14.13	-7.39
<b>การนำเข้า</b>	<b>19,342</b>	<b>1,791.54</b>	<b>21,968</b>	<b>1,622.74</b>	<b>30,166</b>	<b>1,476.37</b>	<b>3,294</b>	<b>838.53</b>	<b>5,000</b>	<b>1,250.00</b>	<b>-36.89</b>	<b>-12.89</b>
1. กุ้งสดแช่เย็น กุ้งสดแช่แข็ง	15,562	1,593.88	16,650	1,399.11	20,289	1,309.84	3,165	799.32	4,966	1,239.20	-32.61	-10.09
2. กุ้งปรุงแต่ง	3,780	197.66	5,318	223.03	9,877	166.53	129	39.21	40	10.80	-72.24	-53.02

หมายเหตุ กุ้งหมายถึงกุ้งขาวแวนนาไม กุ้งกุลาดำ กุ้งน้ำเย็น และกุ้งอื่นๆ

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557)

### 2.3 ปริมาณเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกุ้ง

ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตผลิตภัณฑ์จากกุ้งรายใหญ่ของโลก โดยพบว่าส่วนใหญ่เป็นการผลิตกุ้งแช่เย็นและกุ้งแช่แข็งซึ่งมีผลผลิตจากกระบวนการผลิตอยู่ระหว่างร้อยละ 50 - 70 ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์แปรรูปส่วนใหญ่จะมีการแกะเปลือกเต็ดหัว หรือเต็ดหางออกก่อนจึงส่งผลให้มีส่วนเหลือจากกระบวนการผลิตมากถึงร้อยละ 40 -70 ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบและชนิดผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) กุ้งกะต๋อม หรือ กุ้งหัวแข็ง (*Macrobrachium equidens*) มีส่วนหัวถึงร้อยละ 60 ของน้ำหนักตัว กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) จะมีส่วนหัวประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักทั้งหมด กุ้งขาวจะมีส่วนเศษเหลือประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักทั้งหมด และสำหรับกุ้งที่ผ่าแบบเต็มตัวและชักไส้ออก (peeled deveined) จะมีส่วนที่หางและเปลือกประมาณร้อยละ 25 ซึ่งปริมาณการสูญเสียที่มากนี้จะสามารถลดลงได้โดยการผ่านกระบวนการผลิตที่มีประสิทธิภาพด้วยการใช้เครื่องมือ และเทคโนโลยีที่ทันสมัย (เครือเจริญโภคภัณฑ์, 2540)

### 2.4 องค์ประกอบของเศษเหลือจากกุ้ง

Shoemaker (1991) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางชนิดของเศษเหลือส่วนหัวและเปลือกกุ้งขาวแสดงดัง (ตารางที่ 2) พบว่าเศษเหลือดังกล่าวโดยเฉพาะส่วนหัวมีปริมาณของโปรตีนที่สูง และยังประกอบด้วยกรดไขมัน และไคตินซึ่งสามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าได้อีกด้วย

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของหัว และเปลือกกุ้งขาว

เศษเหลือกุ้ง	องค์ประกอบ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)				
	โปรตีน	ไขมัน	ไคติน	เถ้า	อื่นๆ
ส่วนหัวกุ้ง	53.5	8.9	11.1	22.6	3.9
เปลือกกุ้ง	22.8	0.4	27.2	31.7	17.9

ที่มา: Shoemaker (1991)

## 2.5 การใช้ประโยชน์เศษเหลือจากกุ้ง

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษเหลือที่เกิดจากกุ้ง พบว่ามีองค์ประกอบที่มีคุณค่ามากมาย จึงมีผลงานวิจัยหลายผลงานที่มีการนำเศษเหลือในส่วนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ ดังนี้

### 2.5.1 อาหารสัตว์

การใช้ประโยชน์เศษเหลือของกุ้งสำหรับประเทศไทยโดยส่วนมากแล้ว พบว่าจะนำไปตากแห้งแล้วบดเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งของสารอาหารซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสัตว์

### 2.5.2 ผลิตภัณฑ์อาหาร

พัฒนาเศษเหลือจากกุ้งไปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร และสารอาหารที่อยู่ในรูปของโปรตีนไฮโดรไลเสท (protein hydrolysate) สำหรับผลิตเป็นซอสปรุงรสกุ้ง และสารปรุงแต่งกลิ่นรสกุ้ง (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, 2541)

### 2.5.3 ไคติน ไคโตซาน

เปลือกกุ้งเป็นแหล่งของไคติน (chitin) อยู่ร่วมกับโปรตีน และแร่ธาตุซึ่งส่วนใหญ่เป็นเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต และเมื่อนำไคตินมากำจัดหมู่อะซิติก (acetyl) จะได้อนุพันธ์ของไคตินที่เรียกว่าไคโตซาน ที่สามารถนำมาใช้เพื่อช่วยเรื่องของการบำบัดน้ำเสียนอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางได้ และใช้ในทางเภสัชกรรม (เขาวภา, 2534)

### 2.5.4 แคลโรทีนอยด์

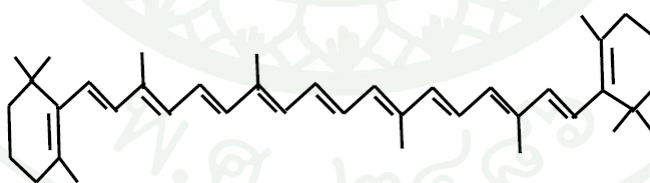
แคลโรทีนอยด์เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่สามารถละลายได้ในไขมันมีช่วงสีที่สามารถมองเห็นได้ในช่วงกว้างที่เห็นได้ชัดเจนที่สุด คือสีเหลือง ส้ม และแดง แคลโรทีนอยด์พบได้ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) และคลอโมพลาสต์ (chloplast) ของพืช ผัก และผลไม้ต่างๆ เช่นแครอท ฟักทอง มันฝรั่ง มะเขือเทศ ผลไม้ที่มีสีเหลือง ส้ม แดง (Zeb, 2004) รวมทั้งยังพบในสัตว์น้ำบางชนิด เช่นกุ้ง ปู แพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) และสาหร่าย เป็นต้น แคลโรทีนอยด์ที่พบในธรรมชาติมีโครงสร้างแตกต่างกันมากกว่า 700 ชนิด (Ong and Tee, 1992) โดยแคลโรทีนอยด์จะช่วยป้องกันการถูกทำลายของเซลล์โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเป็นแหล่งของการสังเคราะห์วิตามินเอ

## โครงสร้างทางเคมีของแคโรทีนอยด์

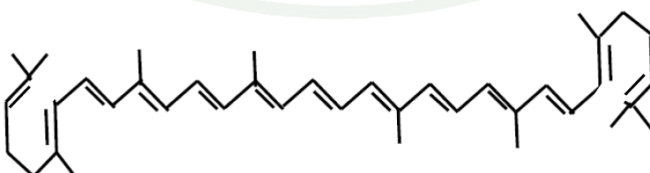
โครงสร้างโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 8 หน่วยต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ ให้เกิดคอนจูเกชันของพันธะคู่ (extensive conjugated double bond) ซึ่งทำให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดกลืนพลังงานแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) และแสงสีขาวยิ่งทำให้แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีสี และมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)

โมเลกุลของแคโรทีนอยด์อาจมีลักษณะเป็นโซ่ตรงดังที่พบในไลโคพีน (lycopene) หรือมีลักษณะเป็นวงแหวนที่ปลายโซ่ของโมเลกุลดังที่พบในบีตาแคโรทีน ( $\beta$ -carotene) ขึ้นอยู่กับหมู่ที่มาแทนที่โมเลกุลของออกซิเจน โดยเมื่อหมู่ keto มาแทนที่โมเลกุลของออกซิเจนจะได้เป็นแคนทาแซนทิน (canthaxanthin) หรือเมื่อแทนที่ด้วย hydroxyl group จะได้บีตาคริปโตแซนทิน ( $\beta$ -cryptoxanthin) ถ้าเป็น epoxy group จะได้ไวโอลาแซนทิน (violaxanthin) และถ้าเป็น aldehyde group มาแทนที่ก็จะได้  $\beta$ -citaurin หรืออาจเป็นพวก acyclic เช่น ไลโคพีน monocyclic เช่น แกมมาแคโรทีน และ dicyclic เช่น แอลฟาแคโรทีน และบีตาแคโรทีน แคโรทีนอยด์ จำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีน (carotene) เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายของไฮโดรคาร์บอน ทำให้เป็นสารที่ละลายได้ในไขมัน และไม่มีขั้ว ตัวอย่างเช่น บีตาแคโรทีน และไลโคพีนซึ่งลักษณะโครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 1



(a)

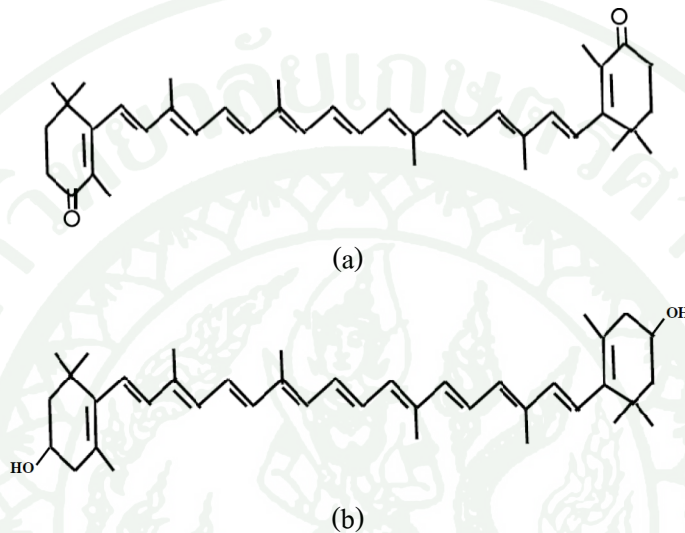


(b)

ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ  $\beta$ -carotene (a) และ lycopene (b)

ที่มา: คัดแปลงจาก Palace *et al.*, (1999)

กลุ่มที่ 2 oxygenated carotenoid derivatives หรือ กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) สารประกอบในกลุ่มนี้มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงทำให้มีสมบัติการมีขั้วมากกว่า และสามารถละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์ในกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างเช่น แคนทาแซนทิน (canthaxanthin) และลูทีน (lutein) ซึ่งลักษณะโครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ canthaxanthin (a) และ lutein (b)

ที่มา: คัดแปลงจาก Palace *et al.*, (1999)

ในธรรมชาติแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่พบในรูปแบบ all-*trans* form (หรือ all-E) และในรูปแบบ *cis* (Z) น้อย ในปลาบางชนิด เช่น koi และสัตว์กลุ่มครัสเตเชียหลายชนิด เช่น *Penaeus japonicus* หรือ *Penaeus monodon* มีระบบของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแคโรทีนอยด์ให้เป็นรูปแบบต่างๆ เช่น แอสตาแซนทิน (Lorenz and Cysewski, 2000)

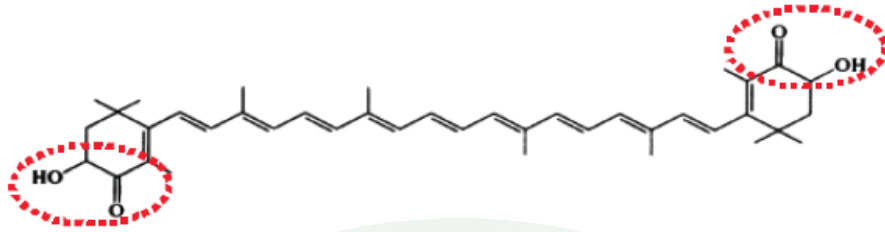
การใช้ประโยชน์จากเศษเหลือของเปลือกกุ้ง พบว่าเปลือกกุ้งมีสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์เป็นหลัก เช่น แอสตาแซนทิน ซึ่งมีสมบัติเป็นสารกันหืนที่สามารถยับยั้ง และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดี เช่นงานวิจัยของ Li *et al.* (1998) ได้ทดลองเคลือบปลา ร็อกฟิชด้วยสารกันหืนที่สกัดจากเปลือกกุ้งพบว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นสามารถยับยั้งการลดลงของค่าสีแดง ( $a^*$ ) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่าปลาที่ไม่ได้เคลือบสารกันหืน และงานวิจัยของ สกฤตคุณ (2546) ที่ศึกษาการสกัดแอสตาแซนทิน และผลของแอสตาแซนทินจากเปลือกกุ้งขาวต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี และค่า TBA ของปลาทับทิม *Oreochromis sp.* แซ่เยิ่น พบว่าสารสกัดจากเปลือกกุ้ง 0.3% (w/v) สามารถยับยั้งการลดลงของค่าสีแดง ( $a^*$ ) ในปลาทับทิมแซ่เยิ่นที่เก็บรักษาเป็น

เวลา 8 วัน ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกกุ้ง 0.5%, 0.7% และ 1.0% (w/v) ส่วนสารสกัดจากเปลือกกุ้ง 0.1% (w/v) ให้ผลไม่แตกต่างกับปลาที่เคลือบด้วยน้ำกลั่น แต่เมื่อพิจารณาค่า TBA ของหนังปลาที่บ่มแล้ว พบว่าหนังปลาที่ไม่ได้เคลือบสารสกัดจากเปลือกกุ้ง (เคลือบด้วยน้ำกลั่น) หรือเคลือบด้วยสารสกัดจากเปลือกกุ้งในปริมาณที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยจะเห็นว่าค่า TBA เพิ่มขึ้นจากวันเริ่มต้นมากที่สุดและในวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่า TBA สูงที่สุด แต่เมื่อเคลือบปลาที่บ่มด้วยสารสกัดจากเปลือกกุ้งในปริมาณที่เหมาะสมจะสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในหนังปลาที่บ่มได้ แสดงให้เห็นว่าปลาที่เคลือบด้วยสารสกัดจากเปลือกกุ้ง 0.5 - 1.0% (w/v) ให้ผลดีในการรักษาสี และชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผิวหนังปลาที่บ่ม

### 3. แอสตาแซนธิน (astaxanthin)

#### 3.1 สมบัติทางเคมีของแอสตาแซนธิน

แอสตาแซนธินเป็นรงควัตถุให้สีในช่วงสีชมพูถึงสีแดงกลุ่ม ketocarotenoid ที่เกิดจากการออกซิไดส์บีตาแคโรทีนไปเป็นเอคินีโนน (echinenone) และแคนทาแซนธิน หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นแอสตาแซนธิน ตามลำดับ แอสตาแซนธินจัดเป็นแคโรทีนอยด์ กลุ่มแซนโทฟิลล์ ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยสายยาวของไฮโดรคาร์บอนที่มีพันธะคู่ในโมเลกุลซึ่งโครงสร้างจะมีสมบัติไม่มีขั้ว จึงสามารถละลายได้ในไขมัน และทางปลายทั้ง 2 ข้างของโครงสร้างเป็นวงแหวนที่มีอะตอมของออกซิเจน และมีสมบัติความมีขั้วซึ่งละลายน้ำได้บ้างแสดงดังภาพที่ 3 ในธรรมชาติแอสตาแซนธินส่วนใหญ่จะผลิตได้จากพืช และสาหร่าย สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เองจึงต้องได้รับผ่านการบริโภคอาหารจำพวกพืชและสาหร่าย (Britton *et al.*, 1995) ในระบบนิเวศทางทะเลภายในห่วงโซ่อาหาร (food chain) แอสตาแซนธินจะถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยสาหร่ายขนาดเล็ก หรือแพลงก์ตอนพืชซึ่งจัดเป็นผู้ผลิตขั้นต้น ต่อมาสาหร่ายขนาดเล็กเหล่านั้นจะถูกบริโภคต่อไปโดยแพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) แมลง หรือสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชีย ซึ่งสัตว์เหล่านี้จะมีการสะสมของแอสตาแซนธิน ส่วนปลาในกลุ่ม salmonoids จะได้รับแอสตาแซนธิน จากการกินสัตว์ทะเลขนาดเล็กที่เรียกว่า กุ้งเคย (krill) และสาหร่ายขนาดเล็ก (Grung, 1992)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของแอสตาแซนธิน

ที่มา: Capelli and Cysewski (2007)

### 3.1 แหล่งของแอสตาแซนธิน

แอสตาแซนธินเป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ ที่ทำให้เกิดสีชมพูจนถึงแดงในสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชีย เช่น กุ้ง กุ้ง ปู และกุ้งมังกร สีของเนื้อปลากลุ่ม salmonids เช่นสีชมพูของเนื้อปลาแซลมอน ปลาเทราท์ นอกจากนี้ยังพบในหอย และสาหร่ายชนิดต่างๆ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเหล่านี้ในเชิงการค้าจึงนิยมเติมแอสตาแซนธิน ลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นแหล่งของสารสี ช่วยเพิ่มสีส้มให้สวยงาม ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มสีส้มแล้วแอสตาแซนธินยังจำเป็นต่อการเจริญและมีส่วนในการช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของสัตว์ด้วย (Torrissen and Christiansen, 1995) ซึ่งแหล่งของแอสตาแซนธินสามารถพบได้ทั้งจากการสังเคราะห์ทางเคมี และพบในแหล่งวัตถุดิบตามธรรมชาติ

#### 3.1.1 แอสตาแซนธินจากการสังเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี

แอสตาแซนธินสามารถสังเคราะห์ได้โดยใช้กระบวนการทางเคมี ซึ่งแอสตาแซนธินที่สังเคราะห์ส่วนใหญ่จะนิยมนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ถึงแม้ว่าสารแอสตาแซนธินที่ใช้อยู่ส่วนใหญ่ในปัจจุบันจะมาจากการสังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีการทางเคมี แต่ผู้บริโภคก็ยังมีความต้องการน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติ เนื่องจากเมื่อนำแอสตาแซนธินที่ได้จากการสังเคราะห์ไปผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสัตว์สามารถดูดซึมได้ไม่ดีเท่ากับแคโรทีนอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ (McCoy, 1999) อีกทั้งกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีนั้นยังมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน และได้แอสตาแซนธินหลายไอโซเมอร์ที่ยังไม่แน่ใจในเรื่องความปลอดภัยนอกจากนี้ยังมีราคาค่อนข้างแพง

### 3.1.2 แอสตาแซนธินจากธรรมชาติ

แอสตาแซนธินที่พบในธรรมชาติจะจับอยู่กับโปรตีน และไขมันที่เรียกว่า carotenoprotein และ carotenolipoprotein ตามลำดับ ซึ่งแอสตาแซนธินที่อยู่ในรูป carotenoprotein พบมากในรงควัตถุสีน้ำเงินของ crustocyanin (Zagalsky and Jones, 1982; Renstrom *et al.*, 1982) รงควัตถุสีเขียวของ ooverdin (Renstrom *et al.*, 1982; Ceccalde *et al.*, 1996) และรงควัตถุสีเหลืองจากกุ้งมังกร (Zagalsky, 1982) เป็นต้น ส่วนแอสตาแซนธินที่อยู่ในรูปของ carotenolipoprotein จะแทรกอยู่ในส่วนของไขมัน เช่น ไข่ของครัสตาเซียน

#### 3.1.2.1 แหล่งจากพืชและสัตว์

ในสัตว์พบว่าการสะสมแอสตาแซนธินในส่วนเปลือกของสัตว์น้ำตระกูล crustacean เช่น กุ้ง และปู ส่วนในปลา เช่น ปลาทองจะมีการสะสมแอสตาแซนธินที่ผิวหนัง และเกล็ด ส่วนปลาแซลมอน และปลาเทราท์จะสะสมมากในส่วนของเนื้อ ทำให้ส่วนต่างๆ ที่มีองค์ประกอบของแอสตาแซนธินเห็นเป็นสีแดงส้ม และในบางครั้งจะพบในตับ และน้ำมันของปลาวาท หรือน้ำมันจากกุ้งเคย (*Euphasia superba*) ในนกจะมีการสะสมแอสตาแซนธินที่ผิวหนัง เท้า จะออยปาก และในไก่จะสะสมแอสตาแซนธินที่ตับ เนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) กล้ามเนื้อ ผิวหนัง และตา ส่วนพืชที่พบแอสตาแซนธิน ได้แก่ มะละกอ พักทอง (Lorenz and Cysewski, 2000)

#### 3.1.2.2 แหล่งจากจุลินทรีย์แบ่งได้ 2 ประเภท ดังนี้

##### 3.1.2.2.1 ราเส้นใยและยีสต์

มีรายงานพบว่าแอสตาแซนธินถูกสังเคราะห์ได้ในราเส้นใยสกุล *Peniophora* (Hymenomycetes) เพียงสกุลเดียวเท่านั้น ส่วนยีสต์ที่พบ ได้แก่ ยีสต์ที่สร้างสีชมพู คือ *Xanthophyllomyces dendrorhous*

##### 3.1.2.2.2 แบคทีเรีย

มีรายงานพบว่าแบคทีเรียชนิดแรกที่สามารถสังเคราะห์แอสตาแซนธินในอาหารที่มีสารไฮโดรคาร์บอนได้ ได้แก่ *Mycobacterium lacticola* แต่จะไม่สร้างแอสตาแซนธินในอาหาร nutrient agar (NA) และแบคทีเรียชนิดที่สองที่สามารถสังเคราะห์

แอสตาแซนธินได้ ได้แก่ *Brevibacterium sp.* โดยการใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์ ส่วนใน mineral medium ที่มี kerosene เข้มข้น 8% จะให้ผลผลิตเซลล์ 3 กรัมต่อลิตร และมีการสร้างแอสตาแซนธินเท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ *Halobacterium salinarium* สามารถสร้างแอสตาแซนธินได้ 265 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนี้ยังมี *Agrobacterium aurantiacum* และ *Paracoccus carotinifaciens* ที่สามารถสังเคราะห์แอสตาแซนธินได้ (Dufosse, 2006)

### 3.2 ประโยชน์ของแอสตาแซนธิน (Yazwa, 2005)

3.2.1 เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งมีส่วนช่วยในการบรรเทาอาการดวงตาอ่อนล้า (eye fatigue) ภาวะสายตาสั้น (myopia) สายตายาว (hyperopia) ต้อกระจก (cataracts) โรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือดแดงบริเวณจอตาแข็ง และไม่ยืดหยุ่น (arteriosclerotic retinopathy) และวิตามินเออาจช่วยในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein cholesterol (LDL) และเพิ่มการผลิต high density lipoprotein cholesterol (HDL) ซึ่งแอสตาแซนธินได้รับการพิสูจน์ว่าไม่มีสมบัติเป็นสารก่อกลายพันธุ์ หรือเป็นพิษ

3.2.2 สมบัติต่อต้านการอักเสบ การต้านมะเร็งในอวัยวะต่างๆ ได้แก่ มะเร็งตับ มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งลำไส้ เป็นต้น

3.2.3 Biological response modifier (BRM) ช่วยบรรเทาอาการแพ้จากภาวะภูมิแพ้ต่างๆ ที่เป็นไปตามพันธุกรรม (atopis) หรือ โรคภูมิแพ้ต่อตัวเอง (systemic lupus erythematosus)

3.2.4 Blood brain barricr pass (BBB) ช่วยลดอาการเนื้องอกตาเนื่องจากโลหิตอุดตัน และโรคสมองเสื่อม

3.2.5 Blood retina barricr pass (BRB) ช่วยบรรเทาอาการต้อกระจก และโรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือดแดงบริเวณจอตาแข็งไม่ยืดหยุ่น

3.2.6 สมบัติส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน พัฒนาระบบสืบพันธุ์ รวมถึงเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมน

3.2.7 สมบัติต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยลดอาการความดันโลหิตสูง

ลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน ภาวะคอเลสเตอรอลสูง ภาวะผนังหลอดเลือดแดงหนา และโรคที่เกิดจากความผิดปกติของผิวหนังบางชนิด นอกจากนี้ยังป้องกันการถูกทำลายของเนื้อเยื่อต่างๆ เนื่องจากปฏิกิริยา photooxidation จากรังสี UV ได้ เช่นการเกิดต่างด้าจากการแก่ตามวัย ลด oxidation stress ในสภาวะ neurodegenerative conditions

แอสตาแซนธินมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการทำหน้าที่เป็นตัวต่อต้านอนุมูลอิสระ เป็นตัวกำจัดออกซิเจน เพื่อหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า แอสตาแซนธินมีสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด เมื่อเทียบกับสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ

### 3.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดแอสตาแซนธิน

สกุลคุณ (2546) ได้ศึกษาวิธีการสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้งโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ ethanol, acetone, iso-propanol และ methanol พบว่า iso-propanol ให้ปริมาณแอสตาแซนธินมากที่สุด คือ  $35.39 \pm 0.59$  ไมโครกรัมจากเปลือกกุ้ง 1 กรัม รองลงมาคือ acetone, ethanol และ methanol ซึ่งให้ปริมาณแอสตาแซนธิน  $22.88 \pm 0.63$ ,  $18.15 \pm 0.63$  และ  $7.11 \pm 0.57$  ไมโครกรัมจากเปลือกกุ้ง 1 กรัม ตามลำดับ

Sachindra *et al.* (2005) ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเศษเหลือกุ้งโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ acetone, methanol, ethyl methyl ketone, isopropyl alcohol (IPA), ethyl acetate, ethanol, petroleum ether, hexane, acetone: hexane (50:50), IPA: hexane (50:50) จากการศึกษาพบว่าการใช้ตัวทำละลาย IPA: hexane (50:50) ได้ประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาคือ isopropyl alcohol (IPA) โดยพบปริมาณสารสกัดที่ได้เท่ากับ 43.9 และ 40.8 ไมโครกรัมจากเศษเหลือ 1 กรัม ตามลำดับ สำหรับการใช้อทานอลในการสกัดพบว่าปริมาณสารสกัดที่ได้เท่ากับ 31.9 ไมโครกรัมจากเศษเหลือ 1 กรัม

Sanchez-Camargo *et al.* (2011) ได้ศึกษาองค์ประกอบของการสกัดแคโรทีนอยด์และไขมันจากเศษเหลือของกุ้ง (*Farfantepenaeus paulansis*) จากการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบของเศษเหลือกุ้งพบว่าแหล่งของโปรตีนและเถ้า และมีไขมันเป็นองค์ประกอบค่อนข้างต่ำที่ร้อยละ 4.9 d.w. สำหรับการวิเคราะห์กรดไขมัน พบ EPA และ DHA เท่ากับ 11.69 และ 12.24 กรัมต่อ 100 กรัม ของกรดไขมันทั้งหมด สำหรับการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายผสม คือ hexane ร่วมกับ isopropanol สามารถสกัดแอสตาแซนธินได้ความเข้มข้นสูงสุดที่ 5.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และได้ประสิทธิภาพของการสกัดสูงสุด คือ 58% และเมื่อศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดโดยใช้ thin layer chromatography พบว่าประกอบด้วยแอสตาแซนธินอิสระ แอสตาแซนธินโมโนเอสเทอร์ และแอสตาแซนธินไดเอสเทอร์

#### 4. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือสารที่มีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอม หรือโมเลกุล มีโครงสร้างไม่เสถียร ว่องไวสามารถสร้างพันธะกับสารอื่นได้อย่างรวดเร็วซึ่งเป็นสาเหตุให้สารเหล่านั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง และเสื่อมเสียสภาพ เมื่อเกิดออกซิเดชันในร่างกายบ่อยๆ และมากขึ้นจะก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ของร่างกายเช่นการเกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร และการเกิดโรคต่างๆ เป็นต้น โดยปกติสารเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาภายในร่างกาย และได้รับสารอนุมูลอิสระจากสภาวะแวดล้อมภายนอก ดังนี้

##### 4.1 ปัจจัยภายในร่างกาย

###### 4.1.1 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation)

ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นได้เอง เช่นการเกิดออกซิเดชันของไขมันซึ่งมีทั้งหมด 3 ระยะ (Nawar, 1996) คือ

1) ระยะเหนี่ยวนำ (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันเกิดการแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระเนื่องจากมีแสง และอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ (1)



2) ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะที่เกิดการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับออกซิเจนเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical,  $\text{ROO}^\bullet$ ) และทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งหากมีแสง และความร้อนเป็นตัวกระตุ้น จะเกิดปฏิกิริยาต่อให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ต่อไปได้เรื่อยๆ ดังสมการที่ (2) และ (3)



3) ระยะสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระเกิดการรวมตัวกันในรูปแบบต่างๆ ดังสมการที่ (4) และ (5)



#### 4.1.2 ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง (Halliwell *et al.*, 1995)

การทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้แก่

4.1.2.1 เอนไซม์ xanthin oxidase (XO) ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการสลาย hypoxanthin เป็น xanthin และ xanthin เป็น uric acid พร้อมกับขับถ่ายอิเล็กตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ( $O_2^\circ$ )

4.1.2.2 เอนไซม์ lipoxygenase (LOX) ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งโมเลกุลของเอนไซม์นี้จะมีเหล็ก ( $Fe^{2+}$ ) เป็นส่วนประกอบอยู่ทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันเกิดเป็นอนุมูลลิพิด และเติมออกซิเจนให้กับกรดไขมันเกิดเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไปได้

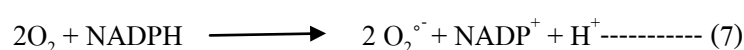
#### 4.1.3 โลหะทรานซิชั่น

โลหะทรานซิชั่น 2 ชนิด คือ  $Fe^{2+}$  และทองแดง ( $Cu^{2+}$ ) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายสามารถสร้างอนุมูลไฮดรอกซิล ( $OH^\circ$ ) จาก  $O_2^\circ$  และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ) ในปฏิกิริยา Fenton (Halliwell *et al.*, 1995) ดังแสดงในสมการ (6)

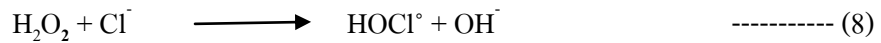


#### 4.1.4 กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว

ขั้นตอนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนเข้าไปภายในเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึงเอาโมเลกุลของออกซิเจน ( $O_2$ ) ออกมาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูล  $O_2^\circ$  จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ NADPH oxidase ที่อยู่เยื่อชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว (Konstan and Berger, 1993) ดังแสดงในสมการที่ (7)



นอกจากนี้ในเม็ดสีของเม็ดเลือดขาวยังมีเอนไซม์ myeloperoxidase ที่ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, HOCl<sup>•</sup>) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้ ดังแสดงในสมการที่ (8)



#### 4.2 ปัจจัยภายนอกในร่างกาย

ร่างกายสามารถรับอนุมูลอิสระได้จากสภาวะแวดล้อมต่างๆ ภายนอก ได้แก่ จากอาหารบางชนิดที่ได้จากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง รวมถึงการนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูงๆ มาใช้ซ้ำอีก นอกจากนี้ยังมียาโรครังสี ควีนบูห์รี่ ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์เมื่อเกิดออกซิเดชันในร่างกายบ่อยๆ และมากขึ้นจะก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ภายในร่างกายได้

### 5. สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือที่เรียกว่าแอนติออกซิเดนท์ คือสารที่สามารถชะลออัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งในอาหาร และในร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไปสามารถจำแนกกลไกการต้านอนุมูลอิสระได้ออกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (primary antioxidant) และสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ (secondary antioxidant) โดยอาศัยหลักของกลไกการทำงานที่แตกต่างกัน (โอภา, 2550) ดังนี้

#### 5.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่สามารถชะลอ หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นเหนี่ยวนำ หรือรบกวนปฏิกิริยาขึ้น propagation โดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน (H<sup>•</sup>) หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงทำให้อนุมูลอิสระต่างๆ นั้น ถูกเปลี่ยนเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารในกลุ่มนี้ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, vanillin และ eugenol เป็นต้น

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging) คือสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียรขึ้น ซึ่งมีกลไกโดยการใหไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่โมเลกุลของอนุมูลอิสระ (Valacchi *et al.*, 2004) ดังสมการที่ (9) – (12)



## 5.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น การจับกับโลหะทรานซิชัน เช่น  $Fe^{2+}$  ดักจับกับ  $O_2$  และ कुछ ชัยรังสียูวี เป็นต้น (Gordon, 2001)

การจับกับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) คือสารต้านอนุมูลอิสระสามารถจับกับโลหะในกลุ่มทรานซิชัน เช่น  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  ได้เพื่อป้องกันและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีโลหะไปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

## 5.3 แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

### 5.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants)

เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เพื่อใช้ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหาร เช่น สี กลิ่น และรสชาติ ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ ได้แก่ สารประกอบในกลุ่ม phenolic สังเคราะห์ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene (BHT) และ tertiary butylhydroquinone (TBHQ) ซึ่งสารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดเรื่องความปลอดภัยสำหรับการนำมาบริโภค (Yang *et al.*, 2000)

### 5.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ (natural antioxidants)

สารในกลุ่มนี้สามารถพบได้ในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ มีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีนอยด์ เบต้าแคโรทีน รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น แซนโทน (xanthone) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่

aromatic hydroxy ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป ซึ่งหมู่ฟังก์ชันของสารเหล่านี้มีบทบาทในการต้านออกซิเดชันได้ (Van Acker *et al.*, 1996)

#### 5.4 วิธีการวิเคราะห์สมบัติในการต้านออกซิเดชัน

##### 5.4.1 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) assay

DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวสูง หากอยู่ในสารละลายจะมีลักษณะเป็นสีม่วง และเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ลงไปจะสามารถเกิดการจับกับอนุมูลอิสระได้ทำให้สารละลายที่มีอนุมูลอิสระเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีม่วงจาง หรือไม่มีสีดังแสดงในสมการที่ (13) ในการวิเคราะห์จะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร



ผลจากการวิเคราะห์สามารถแสดงค่าที่วัดได้เป็น %Inhibition ของ AH ที่ความเข้มข้นต่างๆ หรือแสดงเป็นค่า EC50 โดยที่ %Inhibition คือร้อยละการจับกับอนุมูลอิสระและค่า EC50 คือค่าที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น เป็นต้น

##### 5.4.2 ferrous ion chelating (FIC) assay

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่บ่งบอกถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการจับโลหะกลุ่มโลหะทรานซิชัน ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการเป็น secondary antioxidant โดยในการวิเคราะห์นี้ AH จะทำหน้าที่กำจัดโลหะโดย ferrozine จะเป็นตัวให้กำเนิด  $\text{Fe}^{2+}$ -complex ซึ่งมีสีแดงที่สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วง 562 นาโนเมตร และเมื่อใส่ AH ลงไปจะทำให้สารที่ใช้ทดสอบดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร และหาก AH มีประสิทธิภาพสูงหรือมีปริมาณมากขึ้นการดูดกลืนแสงของสารทดสอบนั้นก็จะลดลงมากตามไปด้วย ซึ่งในวิธีนี้ถูกคำนวณค่าเป็นร้อยละของ chelating ability

### 5.4.3 ยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทอออกซิเจน (singlet oxygen quenching, $^1\text{O}_2^\circ$ )

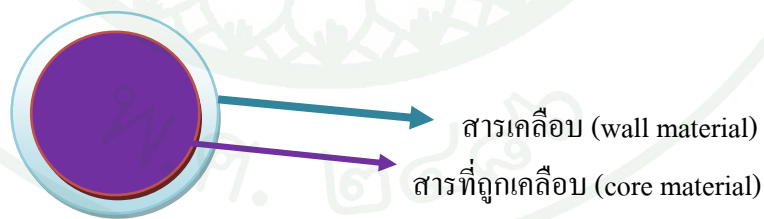
สารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทอออกซิเจนได้ด้วยการเปลี่ยน ( $^1\text{O}_2^\circ$ ) ให้อยู่ในรูปทริปเปิ้ลทอออกซิเจน (triplet oxygen) และปล่อยพลังงานที่รับออกในรูปแบบความร้อนดังสมการที่ (14)



ซิงเกิ้ลทอออกซิเจน 1,000 โมเลกุล ถูกยับยั้งปฏิกิริยาได้โดยสารแคโรทีนอยด์เพียง 1 โมเลกุล (Sies *et al.*, 1992)

## 6. เทคโนโลยีการห่อหุ้มสาร

เทคโนโลยีการห่อหุ้มสาร (encapsulation) คือกระบวนการที่อนุภาคทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ ถูกล้อมรอบด้วยการเคลือบ (coating) หรือเก็บไว้ภายใน (embedded) ในโครงสร้างที่เป็นเนื้อเดียวกัน หรือไม่เนื้อเดียวกันเพื่อให้ได้ลักษณะที่เป็นแคปซูลที่มีอนุภาคที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) โครงสร้างของแคปซูลที่ผ่านการห่อหุ้มจะมีองค์ประกอบ 2 ส่วนที่สำคัญ แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 โครงสร้างของแคปซูลที่ผ่านการห่อหุ้ม

### 6.1 ชนิดของสารเคลือบ (wall material)

สารเคลือบที่นำมาใช้ในเทคโนโลยีการห่อหุ้มสารมีผลต่อประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารและความคงตัวของสารที่ถูกเคลือบในระหว่างกระบวนการห่อหุ้มสาร เนื่องจากสารเคลือบแต่ละชนิดมีสมบัติที่แตกต่างกันไป โดยสารเคลือบที่นิยมนำมาใช้มีด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ สารในกลุ่มของ

คาร์โบไฮเดรต เช่นอัลจินเตมอลโตเดกซ์ทริน เป็นต้น และกลุ่มของโปรตีน เช่น เวย์โปรตีน เป็นต้น (Madene *et al.*, 2006)

### 6.1.1 ชนิดของสารเคลือบในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรต (ไฮโดรคอลลอยด์)

ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids) คือโพลิเมอร์ชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ที่ได้จากสัตว์ พืช จุลินทรีย์ รวมถึงโพลิเมอร์ที่ดัดแปรจากธรรมชาติ หรือสังเคราะห์โดยทั่วไปเป็น โมเลกุลที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และอาจเป็น polyelectrolyte อื่นๆ ซึ่งโพลิเมอร์เหล่านี้จะแสดงหน้าที่ที่สำคัญในอาหาร เช่น เป็นสารให้ความหนืด ทำให้เกิดเจล เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และเป็นสารที่ทำให้เกิดความคงตัว เป็นต้น (Williams and Phillips, 2000)

#### 6.1.1.1 อัลจินเนต (alginate)

อัลจินเนตเป็น unbranched binary copolymer ของ 1,4-b-D-manuronic acid (M) และ L-guluronic acid (G) ใน โมเลกุลประกอบด้วย homopolymeric regions ของ G และ M ที่เรียกว่า G-blocks และ M-blocks ตามลำดับ สัดส่วนของ copolymer และโครงสร้างเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดสมบัติของอัลจินเนต เช่น ถ้าโพลิเมอร์มี G ในปริมาณที่สูงจะมีสมบัติเป็นเจลที่แข็งแต่ถ้าโพลิเมอร์มี M ปริมาณสูงจะมีแนวโน้มที่จะเกิดเจลที่อ่อนนุ่ม และมีสภาวะในการเกิดเจลที่กว้างกว่า อัลจินเนตที่ผลิตจำหน่ายเป็นการค้ามีหลายอนุพันธ์จึงมีสมบัติการละลายในน้ำที่แตกต่างกัน เช่น อนุพันธ์ของเกลือ  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  อนุพันธ์เหล่านี้จะละลายได้ทั้งในน้ำร้อน และน้ำเย็นซึ่งความหนืดของสารละลายอัลจินเนตที่ได้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิความเข้มข้น และน้ำหนักโมเลกุล (George and Abraham, 2006)

#### 6.1.1.2 ไคตินและไคโตซาน (chitin-chitosan)

ไคตินเป็นโพลิเมอร์สายยาวที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine มาเรียงต่อกันเป็นองค์ประกอบใน โครงสร้างของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกหอย ปู กุ้ง เปลือกของแมลง ผงเซลล์ของสาหร่ายยีสต์ และในเห็ดรา

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ออกเรียกว่า deacetylation คือ เปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine เป็น glucosamine ที่ไม่เสถียร (unstable) มีความเป็นขั้วสูง (strong positive polarity) จึงทำให้ไคโตซานมีสมบัติพิเศษพร้อมจะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และมีสมบัติละลายได้ในกรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้น

2-3% ปกติแล้วไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโพลีเมอร์เดียวกันซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation) นี้มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานก็ผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีสายยาว และสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation และน้ำหนักโมเลกุล (George and Abraham, 2006)

#### 6.1.1.3 แชนแทนกัม (xanthan gum)

xanthan gum เป็น gum ที่ได้โดยการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์คือ *xanthomonas campestris* หลังจากกระบวนการหมักแล้วจะนำมาตกตะกอนด้วย isopropyl alcohol แยกเอา xanthan gum ออกมาทำให้แห้งแล้วบดให้ละเอียด xanthan gum หรือเรียกชื่อทางการค้าว่า keltol สามารถละลายได้ทั้งในน้ำเย็น และน้ำร้อน สารละลายที่ได้มีความหนืดสูงทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ มีความคงตัวสูงต่อความร้อน นอกจากนั้นสารละลาย xanthan gum ยังมีสมบัติเป็น pseudoplastic ซึ่งมีความสำคัญต่อกลิ่นลักษณะปรากฏ และความรู้สึกเมื่ออาหารอยู่ในปาก (mouthfeel)

#### 6.1.1.4 กัมอะราบิก (gum arabic)

กัมอะราบิกเป็นสารที่ได้จากยางต้นไม้ ซึ่งเป็นสารเคลือบที่นิยมนำมาใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสารเนื่องจากมีสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี มีความหนืดต่ำ และมีสมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ทำให้อิมัลชันมีความคงตัวดีและสามารถกักเก็บสารต่างๆ ได้ดีแต่อย่างไรก็ตาม กัมอะราบิกก็ยังมีข้อจำกัดคือราคาที่สูงและหาได้ยาก (Madene *et al.*, 2006)

#### 6.1.1.5 สตาร์ช (starch)

สตาร์ชและสารประกอบอื่นๆ ที่ผลิตได้จากสตาร์ชเช่น สตาร์ชดัดแปร (modified starch) มอลโตเดกซ์ทรินและบีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-cyclodextrin) นิยมนำมาใช้เป็นสารเคลือบในการห่อหุ้มสารอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อกักเก็บและปกป้องสาร กลไกการจับตัวระหว่างสารที่ต้องการห่อหุ้ม และสตาร์ชแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบ โดยรูปแบบแรกสารจะถูกล้อมรอบด้วย amylose helix โดยการจับกันของสตาร์ชเป็นแบบ hydrophobic bonding ซึ่งสตาร์ชจะกักสารไว้ภายในโมเลกุล (inclusion complex) รูปแบบที่สองจะเกิดการทำให้ปฏิกิริยาระหว่างขั้วของสารโดยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ระหว่าง hydroxyl groups ของสตาร์ช และสารที่ต้องการห่อหุ้มไว้ภายใน (Arvisenet *et al.*, 2002)

#### 6.1.1.6 มอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin)

มอลโตเดกซ์ทรินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งข้าวโพดบางส่วน โดยการใช้กรด หรือเอนไซม์ให้เป็นสารสั้นๆ ของน้ำตาลกลูโคสที่มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาว ไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อยสามารถละลายน้ำได้ชนิดของมอลโตเดกซ์ทรินสามารถแบ่งได้ตามค่าสมมูล เด็กซ์โทรส dextrose equivalent (DEs) ซึ่ง DE value เป็นการวัดระดับ (degree) ของการย่อยสลาย พอลิเมอร์ของสตาร์ชซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความสามารถในการทำให้เกิดเมทริกซ์ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดการเคลือบผิว (Shahidi and Han, 1993)

#### 6.1.2 ชนิดของสารเคลือบในกลุ่มของโปรตีน

สมบัติของโปรตีนที่มีผลต่อการทำหน้าที่เป็นสารเคลือบที่สำคัญ ได้แก่ค่าการละลาย (solubility) ความหนืด (viscosity) emulsification และสมบัติของการทำให้เกิดฟิล์มซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ได้ดีในกระบวนการห่อหุ้มสารระหว่างเกิดการเกิดอิมัลชัน โมเลกุลของโปรตีนจะดูดซับที่บริเวณ oil-water interface อย่างรวดเร็วทำให้เกิด stericstabilizing layer ขึ้นทันที จึงสามารถป้องกันหยดน้ำมัน (oil droplets) จากการกลับมารวมตัวอีกครั้ง (recoalescence) มีผลทำให้เกิดความเสถียรทางกายภาพของอิมัลชันระหว่างกระบวนการผลิต และการเก็บรักษา (Dickenson, 2001)

##### 6.1.2.1 เวย์โปรตีน (whey protein)

เวย์โปรตีน คือโปรตีนที่มีคุณภาพสูงพบเป็นส่วนน้อยใน โปรตีนนม (โปรตีนในนมจะมี whey protein 20 % และ milk protein 80 %) ผลิตได้จากการนํานมมาสกัดส่วนที่เป็น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลือแร่ ออก ให้เหลือส่วนที่เป็นโปรตีนบริสุทธิ์แล้วทำให้เข้มข้น ซึ่งเวย์โปรตีนนิยมถูกนำมาใช้เป็นสารเคลือบที่สามารถต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในการห่อหุ้มสารชนิดต่างๆ ได้ดี เช่นการห่อหุ้มน้ำมันส้ม (microencapsulated orange oil) โดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Kim and Morr, 1996) การใช้เวย์โปรตีนร่วมกับคาร์โบไฮเดรตสามารถใช้เป็นสารเคลือบในการห่อหุ้มสารให้กลิ่นรสโดยเวย์โปรตีนจะทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์และทำให้เกิดฟิล์มในขณะที่คาร์โบไฮเดรต (มอลโตเดกซ์ทริน หรือ corn syrup solids) จะทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้เกิดเมทริกซ์ (Sheu and Rosenberg, 1998)

### 6.1.2.2 โปรตีนชนิดอื่นๆ

ตัวอย่างสารเคลือบในกลุ่มโปรตีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ polypeptone โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein) หรืออนุพันธ์ของเจลาติน (gelatin derivative) มีสมบัติในการทำให้เกิดอิมัลชันที่เสถียรกับสารให้กลิ่นรสเจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายคอลลาเจน (collagen) ถูกนำมาใช้ในรูปแบบของสารเคลือบในการห่อหุ้มสารให้กลิ่นรสโดยเทคนิค complex coacervation และเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Ducel *et al.*, 2004) เนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดี และมีสมบัติในการเคลือบผิวไมโครแคปซูลของสารให้กลิ่นรสที่ได้โดยใช้เจลาตินเป็นสารเคลือบที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส (seasoning) (Gourdel and Tronel, 2001)

### 6.2 ประโยชน์ของเทคโนโลยีการห่อหุ้มสารในอุตสาหกรรมอาหาร

เทคโนโลยีการห่อหุ้มสารเป็นเทคนิคที่สามารถช่วยป้องกันสารที่ถูกห่อหุ้มไว้จากปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากปัจจัยต่างๆ จากสิ่งแวดล้อมภายนอกเช่น สภาพความเป็นกรด เบส อุณหภูมิ อากาศ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อเป็นการเพิ่มความคงตัวแก่สารสำคัญให้มีความสามารถในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาสารสะดวก และง่ายต่อการขนส่ง สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารในผลิตภัณฑ์อาหารที่สภาวะกำหนด (Reineccius, 1991) ดังในงานวิจัยของ Armenta and Guerrero-Legarreta (2009) ที่ได้ศึกษาการสกัดสารแอสตาแซนธินจากเศษเหลือที่ได้จากกุ้งหมัก และเก็บรักษาสารสกัดไว้ที่สภาวะต่างๆ คือ ที่ไม่มีแสงที่มีแสงน้อย และในที่ที่มีแสงปกติ ซึ่งพบว่าเมื่อเก็บรักษาสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สารแอสตาแซนธินที่เก็บในที่ไม่มีแสงที่มีแสงน้อย และในที่ที่มีแสงปกติ จะเกิดการออกซิเดชันเท่ากับร้อยละ 1, 23 และ 35 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคโนโลยีการห่อหุ้มช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

### 6.3 เทคนิคที่ใช้ในเทคโนโลยีการห่อหุ้มสาร

เทคนิคการห่อหุ้มสารสามารถทำได้หลายวิธีแต่เทคนิคที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร คือ การอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิคอื่นๆ เช่น เทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze deying) และเทคนิคมัลติเฟลอิอิมัลชัน (multiple emulsion) ซึ่งในแต่ละเทคนิคจะเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน การเลือกใช้เทคนิคใดขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เทคนิคในการห่อหุ้มสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

เทคนิคการห่อหุ้ม	ลักษณะที่ได้	การประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์
Coacervation	Paste/powder/capsule	Chewing gum, toothpaste, baked foods
Spray drying	Powder	Confectionery, milk powder, instant dessert, food flavors, instant beverages
Fluid bed drying	Powder/granule	Prepared dishes, confectionery
Spray cooling/chilling	Powder	Prepared dishes, ices
Extrusion	Powder/granule	Instant beverage, confectionery, teas
Molecular inclusion	Powder	Confectionery, instant drinks, extruded snack

ที่มา: คัดแปลงจาก Madene *et al.* (2006)

### 6.3.1 การห่อหุ้มสารด้วยเทคนิค Coacervation

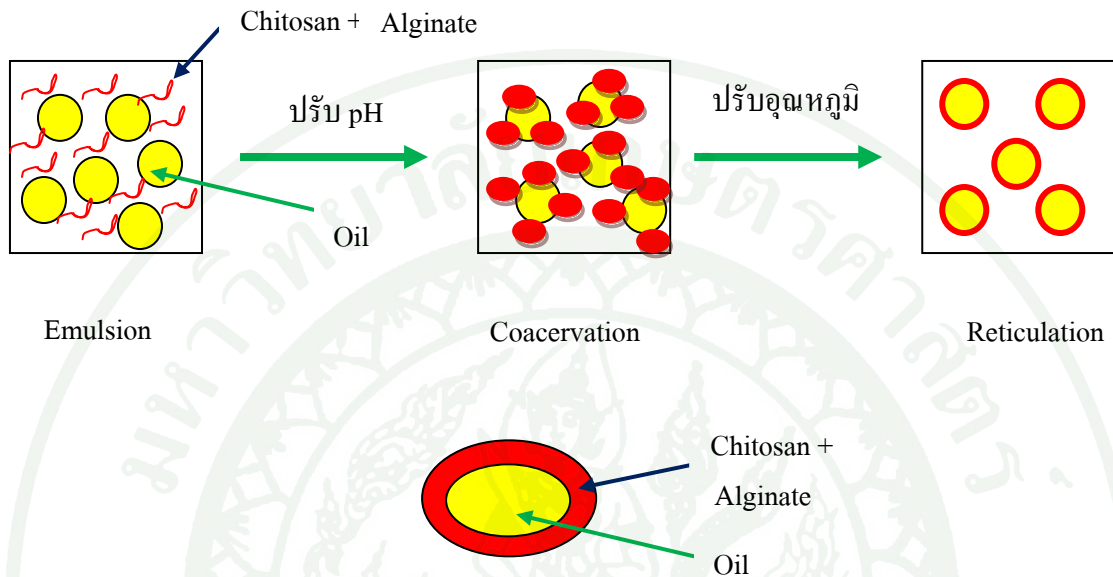
การห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคนี้เป็นวิธีการทางเคมีโดยใช้ปรากฏการณ์การเกิดคอลลอยด์ที่ประกอบไปด้วยเฟส 3 เฟสซึ่งไม่ละลายซึ่งกันและกัน ได้แก่เฟสต่อเนื่อง (continuous phase) สารที่ถูกนำมาห่อหุ้มสาร (core material) และเฟสของสารเคลือบ (coating material phase) (Risch, 1995) การทำให้เกิดการเคลือบผิวในกรณีนี้จะเกี่ยวข้องกับการปรับสภาพของ hydrophillic colloids 2 ชนิด ซึ่งมีประจุต่างกันในอยู่ในสภาวะที่มีประจุเป็นกลาง และเคลือบอยู่บนผิวของสารแกนกลาง ขั้นตอนการใช้เทคนิค coacervation ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ

1) การทำให้เกิดอนุภาคหรือหยดของเหลวที่มีขนาดเล็ก ซึ่งเทคนิคนี้จะต้องควบคุมการผสมเพื่อให้สารเคลือบถูกเคลือบบนผิวของสารแกนกลางได้อย่างสม่ำเสมอ

2) การเกิด coacervative wall เมื่อทำการเติม electrolyte เข้าไปในระบบจะทำให้เกิดการตกตะกอนของคอลลอยด์ โดย electrolyte จะไปทำให้ประจุเป็นกลางซึ่งจะช่วยให้เกิดการเคลือบที่บริเวณผิวของสารแกนกลาง

3) การแยกไมโครแคปซูลที่ได้ออกจากสารละลาย และทำให้ไมโครแคปซูลที่ได้อยู่ในรูป solid microcapsule โดย desolvation หรือ thermal cross – linking (Korus, 2001) ซึ่งตัวอย่างของ

เทคนิค coacervation โดยการใช้สารเคลือบอัลจินตร่วมกับไคโตซานในการเคลือบน้ำมัน แสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ตัวอย่างของเทคโนโลยีการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิค complex coacervation โดยใช้อัลจินตและไคโตซานสำหรับการเคลือบน้ำมัน

ที่มา: คัดแปลงจาก Madene *et al.* 2006

### 6.3.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค coacervation

Klaypradit and Huang. (2008) ศึกษาการห่อหุ้มน้ำมันปลาพุงาโดยการใช่อัลตราซาวด์ atomizer ซึ่งได้ศึกษาชนิดของสารเคลือบ 3 ชนิด คือ chitosan, chitosan ร่วมกับ maltodextrin, chitosan ร่วมกับ whey protein isolate และศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันปลาพุงาที่ระดับ 10 กรัมต่อสารเคลือบ 100 กรัม 20 กรัมต่อสารเคลือบ 100 กรัม และ 30 ต่อสารเคลือบ 100 กรัม พบว่าสภาวะที่ดีที่สุด คือที่ความเข้มข้นของน้ำมันปลาพุงา 20 กรัม และการใช้สารเคลือบ chitosan ร่วมกับ maltodextrin (1:10), chitosan ร่วมกับ whey protein isolate (1:1) ทำให้ได้ อิมัลชันที่มีความคงตัว และมีประสิทธิภาพในการรักษาปริมาณของ EPA, DHA ได้คงที่ ความชื้นต่ำค่าสี และประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารเป็นที่ยอมรับได้

Li *et al.* (2002) ได้ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสาร Adriamycin hydrochloride โดยการ  
ใช้สารเคลือบคืออัลจินต - ไคโตซาน จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มมากขึ้น  
จะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารที่สูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อใช้  
ความเข้มข้นของไคโตซานที่ร้อยละ 1.0 น้ำหนักโดยปริมาตร (ความเข้มข้นสูงสุด) พบว่าไมโครแคปซูล  
ที่ได้มีประสิทธิภาพของการห่อหุ้มที่มีค่าสูงเท่ากับ  $84.13 \pm 0.24 \%$

Li *et al.* (2011) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการปลดปล่อยสาร  $\beta$ -lactoglobulin ที่ถูกห่อหุ้มไว้  
ในเม็ดปิดที่มีสารเคลือบได้แก่ อัลจินตและไคโตซาน (alginate-chitosan beads) การควบคุมการ  
ปลดปล่อยสารที่สภาวะ pH ต่างๆ เพื่อจำลองเป็นสภาวะเหมือนในลำไส้เล็กของมนุษย์ ซึ่งจากการศึกษา  
พบว่า การห่อหุ้มสารโดยใช้อัลจินต และไคโตซานเป็นสารเคลือบสามารถควบคุมการปลดปล่อยสาร  
และการย่อยของไขมันได้ในสภาวะที่กำหนด

Pasparakis *et al.* (2006) ได้ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสาร verapamil โดยใช้  
calcium alginate และ calcium alginate-chitosan เป็นสารเคลือบ พบว่าได้ประสิทธิภาพของการห่อหุ้ม  
สาร(encapsulation efficiency) สูงเกินกว่าร้อยละ 80 และการศึกษาการปลดปล่อยสารที่อยู่ในเม็ด  
ปิด พบว่าร้อยละ 70 ของสาร verapamil ถูกปลดปล่อยออกจาก calcium alginate beads เปียก และ  
calcium alginate beads แห่งภายในระยะเวลา 1 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ

Qv *et al.* (2011) ศึกษาการห่อหุ้มสาร lutein โดยใช้เทคนิค complex coacervation  
โดยสารเคลือบที่ใช้มี 2 ชนิด คือ gum acacia และ gelatin พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นของ  
สารเคลือบร้อยละ 1 อัตราส่วนของสารถูกเคลือบต่อสารเคลือบเท่ากับ 1.25:1 และ pH 4.2 ผลการศึกษา  
ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารทางทฤษฎี และปฏิบัติเท่ากับร้อยละ 86.41 และร้อยละ 85.32  
ตามลำดับ ส่วนขนาดของแคปซูลอยู่ในช่วง 0 –30 ไมโครเมตร เมื่อศึกษาการเก็บรักษาจะพบว่าเมื่อเก็บ  
รักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถป้องกันสารที่ถูกเคลือบได้มากถึงร้อยละ 92.86 เปรียบเทียบ  
กับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถป้องกันสารได้เท่ากับร้อยละ 90.16

### 6.3.3 งานวิจัยเกี่ยวกับกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน

Higuera-Ciapara *et al.* (2004) ศึกษาวิธีการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน โดยใช้เทคนิค  
multiple emulsion/solvent evaporation พบว่าไมโครแคปซูลที่ได้มีขนาดระหว่าง 5 - 50 ไมโครเมตร  
และจากการประเมินค่าความคงตัวของแอสตาแซนธินบนมาตรฐานของปริมาณรงควัตถุที่รักษาไว้ใน  
ระหว่างการเก็บรักษาไมโครแคปซูลที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง  
HPLC ซึ่งความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าที่ 20.68 มิลลิกรัมต่อกรัม และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของแอสตาแซนธินลดลงจากเริ่มต้นเป็น 18.63, 18.08 และ 17.7 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ จากการทดลองทำให้ทราบว่ากระบวนการห่อหุ้มสารสามารถป้องกันการเสื่อมเสียของ แอสตาแซนธินเนื่องจากความร้อน และการเกิดออกซิเดชันได้

Kittikaiwan *et al.* (2007) ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน จากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* โดยใช้สารละลายไคโตซานเป็นสารที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มเพื่อเพิ่มความคงตัว ให้กับแอสตาแซนธิน และได้วิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของเม็ดบีด พบว่าขนาดของเม็ดบีดที่ได้จาก กระบวนการห่อหุ้มสารมีขนาดใกล้เคียงกันโดยพบว่าร้อยละ 75 ของเม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการ ห่อหุ้มมีขนาดอยู่ในช่วง 0.401 - 0.45 เซนติเมตรและมีความคงตัวสูงที่สุด โดยสูงกว่าแอสตาแซนธินที่ อยู่ในรูป dry biomass เมื่อศึกษาโครงสร้างของเม็ดบีดโดยใช้ scanning electron micrograph (SEM) พบว่า จากความหนาของชั้นไคโตซานมีความเหมาะสมทำให้แอสตาแซนธินมีความคงตัวมากขึ้น และ สามารถป้องกันการซึมผ่านได้และจากการศึกษาการเก็บรักษาเม็ดบีดเป็นระยะเวลา 30 สัปดาห์ ที่ สภาวะต่างๆ ดังนี้  $N_2$ atmosphere ที่ -18 องศาเซลเซียส ในที่มืด, Airatmosphere ที่ -18 องศาเซลเซียส ในที่มืด,  $N_2$ atmosphere ที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด, Airatmosphere ที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืด,  $N_2$ atmosphere ที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มีแสง, Airatmosphere ที่ 30 องศาเซลเซียส ในที่มีแสง และ Airatmosphere ที่ 80 องศาเซลเซียส ในที่มืด พบว่าในช่วง 1-2 สัปดาห์แรกปริมาณแอสตาแซนธินมี การเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด การสูญเสียปริมาณของแอสตาแซนธินเริ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาผ่านไป 2 สัปดาห์ ซึ่งอัตราความแตกต่างกันของการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับสภาวะในการเก็บรักษา ซึ่งสภาวะการเก็บรักษา ที่เหมาะสมคือ  $N_2$ atmosphere ที่ -18 องศาเซลเซียส ในที่มืดพบว่าการสูญเสียปริมาณของ แอสตาแซนธินน้อยที่สุดที่ร้อยละ 8 รองลงมาคือที่สภาวะ air atmosphere ที่ -18 องศาเซลเซียส ในที่ มืดพบว่าการสูญเสียที่ร้อยละ 16 และพบว่า แอสตาแซนธินมีการสูญเสียปริมาณมากที่สุดเมื่อเก็บ รักษาที่อุณหภูมิสูง ( $T=80^{\circ}C$ )

Lee *et al.* (2011) ได้ศึกษาการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินจาก *Xanthophyllomyces dendrorhous* ด้วย calcium alginate gel beads โดยการใช้วิธี ionic gelation และได้วิเคราะห์ ประสิทธิภาพในการจับกับสารอนุมูลอิสระรวมถึงลักษณะการปลดปล่อยของสารแอสตาแซนธินที่ถูก ห่อหุ้มไว้ภายใน พบว่า ระยะเวลาในการแข็งตัวของระดับความเข้มข้นของ  $CaCl_2$  มีอิทธิพลต่อ ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่มีความเหมาะสมที่สุดคือ การใช้แอลจินตเข้มข้น ร้อยละ 1.5 และ  $CaCl_2$  เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ โดยใช้เวลาในการแข็งตัวนาน 5 นาที ซึ่งสามารถป้องกันการ สารแอสตาแซนธินจากการเสื่อมเสียได้ดีโดยยังคงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระตลอดการเก็บรักษาเป็น ระยะเวลา 6 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มพบว่าสมบัติในการต้าน อนุมูลอิสระลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาได้ 4 วัน

Pu *et al.* (2011) ได้ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือของกุ้ง โดยการใช้เทคนิค spray dryer พบว่าอิมัลชันและผงไมโครแคปซูลที่ได้เมื่อนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5, 25 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 26 วัน พบว่าความคงตัวของสารแอสตาแซนธินจากการเกิดออกซิเดชันมีความสำคัญซึ่งขึ้นอยู่กับเวลา และอุณหภูมิของการเก็บรักษา เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ hydroperoxide และ TBARS พบว่ามีค่าสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ และเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มมีปริมาณลดลงในระหว่างการเก็บรักษารวมทั้งจากขั้นตอนของกระบวนการห่อหุ้มสาร อย่างไรก็ตามจากการศึกษา และวิจัยนี้สามารถนำกระบวนการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิค spray dryer ไปพัฒนาต่อยอดสำหรับการใช้ห่อหุ้มสารที่ได้จากเศษเหลือของกุ้งต่อไปเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับอุตสาหกรรมกุ้ง

#### 6.4 อิมัลชัน (emulsion)

อิมัลชันเป็นคอลลอยด์ประเภทหนึ่งที่เกิดจากของเหลวที่ไม่สามารถละลายเข้ากันได้ หรือ ไม่ละลายในกัน และกัน 2 ชนิด ถูกทำให้อยู่ในลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการใช้สารที่ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ช่วยเป็นตัวประสานสาร 2 ชนิด ให้เข้าด้วยกันอิมัลชันที่เกิดขึ้นเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 ภูมิภาค คือเห็นเป็นหยดเล็กๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ภูมิภาคภายใน (internal หรือ dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ภูมิภาคภายนอก (external หรือ continuous phase)

##### 6.4.1 กลไกการเกิดอิมัลชัน

โดยปกติแล้วของเหลว 2 ชนิดที่ไม่สามารถผสมเข้ากันได้ เมื่อถูกนำมารวมกันก็จะเกิดแยกเกิดขึ้น เนื่องจากมีแรงดึงดูดตัวเองแต่เมื่อมีการเขย่าจะเป็นการเพิ่มพลังงาน และเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวทั้งสอง จะทำให้ของเหลวนั้นรวมตัวเข้ากันเองมีลักษณะของอิมัลชันเกิดขึ้น แต่เกิดขึ้นแบบชั่วคราวเนื่องจากการเขย่าเป็นเพียงการเพิ่มพลังงานอิสระที่พื้นผิว (surface free energy) ของเหลวจึงผสมเข้ากันได้ชั่วคราว ทำให้สภาวะที่เกิดขึ้นไม่คงสภาพและเมื่อหยุดเขย่าหรือหยุดกวนของเหลวเหล่านั้นก็จะสามารถกลับมารวมตัวกัน และเกิดการแยกชั้นดังเดิมดังนั้นการทำให้อิมัลชันมีความคงตัวสามารถทำได้โดยการเติมสารที่เรียกว่า อิมัลซิไฟเออร์ลงไป เพราะอิมัลซิไฟเออร์จะแทรกตัวเข้าไปอยู่ระหว่างผิวของอนุภาค และตัวกลางอนุภาคคอลลอยด์ทำให้อิมัลชันที่มีความคงตัว เรียกว่าอิมัลชันถาวร ซึ่งมีขั้นตอน คือการทำให้ของเหลวที่เป็นภูมิภาคภายในแตกกระจายเป็นหยดเล็กๆ โดยอาศัยการให้พลังงานซึ่งอาจใช้ในรูปแบบของความร้อน การคนหรือเขย่า (mechanical agitation) การสั่นสะเทือนโดยคลื่นเสียง (ultrasonic vibration) หรือไฟฟ้าเป็นต้น และการทำให้เกิดหยดเล็กๆ ที่กระจายตัวอยู่นั้นคงสภาพอยู่ได้ซึ่งอาศัยตัวทำอิมัลซิไฟเออร์

## 6.5 การทำให้เกิดอนุภาคละอองขนาดเล็ก (ultrasonic atomizer)

การใช้เทคนิค ultrasonic atomizer เป็นการทำให้ของเหลวถูกพ่นเป็นอนุภาคละอองฝอยขนาดเล็ก สม่่าเสมอ ทั้งนี้ขึ้นกับลักษณะของ probe ที่ใช้ และค่าแอมพลิจูดที่เครื่องด้วย (Yoon Yeo, 2004)

### 6.5.1 หลักการทำงานของเครื่อง ultrasonic atomizer

อัลตราโซนิก (ultrasonic) เป็นเครื่องที่สามารถแปลงพลังงานไฟฟ้าให้มาเป็นพลังงานกล โดยการสั่นไปมาซึ่งทำให้เกิดคลื่นเสียงผ่านอัลตราโซนิก เครื่องอัลตราโซนิกประกอบไปด้วย 4 ส่วนหลักๆ แสดงดังภาพที่ 6

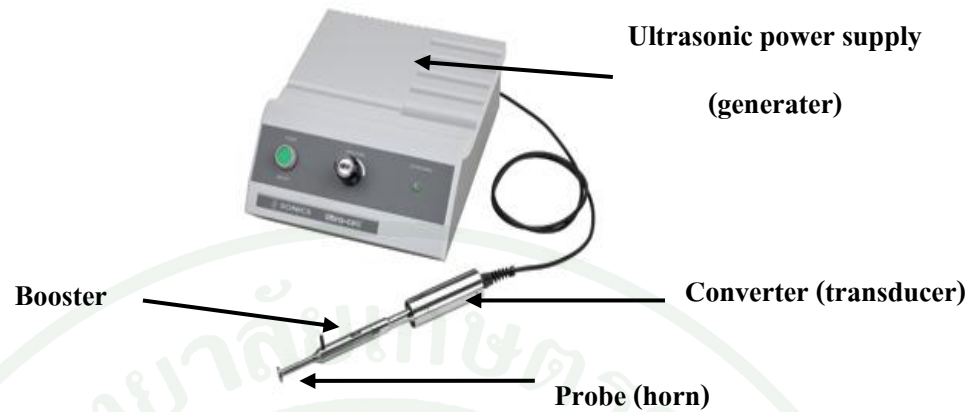
6.5.1.1 Ultrasonic power supply (generator) ทำหน้าที่ให้กำเนิดพลังงานไฟฟ้า

6.5.1.2 Converter (transducer) ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานกล

6.5.1.3 Booster ทำหน้าที่เพิ่มแอมพลิจูด หรือขยายสัญญาณของแอมพลิจูด

6.5.1.4 Probe (horn) ทำหน้าที่เป็นตัวกลางส่งผ่านคลื่นความถี่ไปยังของเหลว

ultrasonic power supply จะให้แรงดันไฟฟ้าแก่เพียร์โซอิเล็กทริกที่อยู่ภายในคอนเวอร์เตอร์ (converter) ทำให้เกิดกลไกการสั่นของแอมพลิจูดเกิดขึ้นตามแนวยาวของคอนเวอร์เตอร์ ส่งผ่านหัวโพรบ (probe) ไปยังตัวกลางที่เป็นของเหลว



ภาพที่ 6 องค์ประกอบของ Ultrasonic Atomizer

ที่มา: Sonics and Materials, Inc. (2006)

#### 6.5.2 ข้อดีของการใช้เครื่อง ultrasonic atomizer

6.5.2.1 ตัวอย่างที่ได้มีขนาดสม่ำเสมอ และลักษณะกลม

6.5.2.2 ขนาดของตัวอย่างที่จะถูกควบคุมโดยความถี่ของอัลตราโซนิกที่ใช้

6.5.2.3 กระบวนการผลิตไม่ยุ่งยากซับซ้อน

6.5.2.4 เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการผลิต ที่ให้ปริมาณผลผลิตสูงในเวลา

อันรวดเร็ว

#### 6.6 การควบคุมการปลดปล่อยสาร

การควบคุมการปลดปล่อยสาร (controlled release) เป็นวิธีการที่ทำให้สารที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในถูกปลดปล่อยออกได้ภายใต้สภาวะและเวลาที่กำหนด โดยวิธีการควบคุมการปลดปล่อยมีหลายวิธีแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์และความเหมาะสมของเทคนิคที่ใช้ในการห่อหุ้มสาร ดังแสดงในตารางที่ 4

#### ตารางที่ 4 ตัวอย่างกลไกการปลดปล่อยสาร

เทคนิคการห่อหุ้มสาร	กลไกในการควบคุมการปลดปล่อย
Simple coacervation	การควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยหลักการพองตัว
Complex coacervation	การควบคุมการปลดปล่อยโดยการแพร่ การใช้ pH effect mechanical, dehydration, dissolution และการใช้เอ็นไซม์
Spray drying	การควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยหลักการพองตัว การใช้ pH และการใช้ความร้อน
Fluid bed drying	การควบคุมการปลดปล่อยโดย pH และการใช้ความร้อน
Extrusion	การควบคุมการปลดปล่อยโดยอาศัยหลักการพองตัว

ที่มา: คัดแปลงจาก Richard and Benoit, 2000

#### 6.6.1 ข้อดีของการควบคุมการปลดปล่อย

6.6.1.1 สารที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในสารเคลือบจะถูกปลดปล่อยภายใต้สภาวะ และเวลาที่สามารถควบคุมได้

6.6.1.2 ช่วยป้องกัน และลดการเสื่อมเสียสารที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในได้ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต และการเก็บรักษา

6.6.1.3 สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นระหว่างองค์ประกอบของสารได้

### 7. ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถผลิตได้จากนมสด หรือนมพาสเจอร์ไรส์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการเทียบเท่ากับนมสดและโปรตีนที่ได้จากโยเกิร์ตนั้นเป็นสารที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ ได้แก่ เคซีน (casein) ซึ่งเป็น โปรตีนคุณภาพสูงและมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่มีส่วนสำคัญต่อระบบต่างๆในร่างกายของมนุษย์รวมถึงสารอาหารที่มีคุณค่ามากมายทั้งคาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามินเอ วิตามินบี แร่ธาตุที่สำคัญๆ เช่น แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส และเชื้อจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานเป็นปกติซึ่งมีหลายประเทศที่ได้ทำการวิจัย และผลการวิจัยพบว่าโยเกิร์ตสามารถป้องกันอาการท้องอืด อาหารไม่ย่อย หรือท้องเดินเมื่อดื่มนม จุลินทรีย์

แลคโตบาซิลลัสจะช่วยย่อยน้ำตาลให้เปลี่ยนเป็นกรดจึงสามารถช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการขาดน้ำย่อยที่ใช้ในการย่อยน้ำตาลแลคโตสที่อยู่ในนมสดได้สำหรับผู้ที่หยุดดื่มนมเป็นระยะเวลานาน (โครงการส่วนพระองค์ฯ, 2543)

## 7.1 ชนิดโยเกิร์ต

โยเกิร์ตสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามกรรมวิธีการผลิต ได้แก่โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yogurt) และโยเกิร์ตชนิดคน (stirred yogurt)

### 7.1.1 โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yogurt)

การผลิตทำได้โดยเพาะเชื้อในน้ำนมแล้วค่อยบรรจุลงในภาชนะแล้วบ่มจนมีลักษณะแข็งเป็นก้อนถ้าคนจะกลายเป็นของเหลวแต่ในที่สุดก็จะแข็งตัวเหมือนเดิมโยเกิร์ตชนิดนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักขึ้นในภาชนะบรรจุ (สำหรับจำหน่ายปลีก) ลักษณะของมวลตะกอนที่ได้เป็นมวลเนื้อเดียวกัน และมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว

### 7.1.2 โยเกิร์ตชนิดคน (stirred yogurt)

การผลิตทำได้โดยเติมเชื้อในนมแล้วบ่มในถังหมักเมื่อนมมีการแข็งตัวเป็นก้อนแล้วทำการคนเพื่อทำลายโครงสร้างตะกอนนมแล้วบรรจุลงในภาชนะ วิธีนี้โยเกิร์ตที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวถ้าคนมากความหนืดจะลดลงแต่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ความหนืดของโยเกิร์ตกลับมาตามเดิม โยเกิร์ตชนิดคนนี้สามารถทำได้ง่ายและลักษณะของมวลตะกอนที่ได้ จะแตก หรือแยกกันเนื่องจากการคนก่อนที่จะนำไปทำความเย็น หรือบรรจุตัวอย่างเช่นนมเปรี้ยวหรือโยเกิร์ตชนิดเหลว

## 7.2 การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี

การเติมองค์ประกอบต่างๆ โดยการให้กลิ่นรส และสีเพื่อเพิ่มรสชาติให้แตกต่างสำหรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จะช่วยเพิ่มความนิยมให้แก่ผู้บริโภค ทั้งนี้ก็ขึ้นกับชนิดของโยเกิร์ตที่ต้องการ รวมถึงสารที่ใช้เติมเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ ดังกล่าวในอุตสาหกรรมการผลิตโยเกิร์ตได้แก่ ผลไม้สารให้กลิ่น สี และสารประกอบอื่นๆเช่นน้ำผึ้งต่างๆมะเขือเทศเป็นต้น ในทางอุตสาหกรรมนิยมทำให้โยเกิร์ตเย็นลงที่อุณหภูมิ 15 – 20 องศาเซลเซียส ก่อนจากนั้นจึงนำมาผสมกับผลไม้ หรือกลิ่นรส แล้วค่อยบรรจุและเก็บไว้ห้องเย็นเพื่อรอการจำหน่ายต่อไป (สมจิต, 2549)

ในทางอุตสาหกรรมการเพิ่มองค์ประกอบอื่นๆ ให้กับโยเกิร์ตเป็นการเพิ่มความหลากหลายหรือความแตกต่าง และเพิ่มความนิยมนให้กับโยเกิร์ตแก่ผู้บริโภค นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มประโยชน์ที่ได้จากองค์ประกอบอื่นๆ เข้าไปด้วย ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยการเติมเมล็ดบดที่บรรจุด้วยสารแอสตาแซนธินจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มประโยชน์ทางโภชนาการ โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์มากมายดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น

### 7.3 มาตรฐานกฎหมายของโยเกิร์ต

ในระยะแรกๆ ยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต แต่ต่อมาได้มีการแบ่งชนิดของโยเกิร์ตออกเป็น 2 แบบ คือ โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yogurt) และ โยเกิร์ตชนิดคน (stirred yogurt) ขึ้นหรืออาจแบ่งตามปริมาณไขมันในโยเกิร์ตก็ได้เช่น โยเกิร์ตไขมันเต็ม โยเกิร์ตไขมันปานกลาง และ โยเกิร์ตไขมันต่ำแต่โยเกิร์ตทุกชนิดจะต้องมีปริมาณกรด และจุลินทรีย์ดังนี้ คือมีค่าความเป็นกรด - เบส (pH) ต่ำกว่า 4.5 ไม่มีน้ำย่อยฟอสฟาเทสเหลืออยู่ไม่มีเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* ใน 0.1 มิลลิลิตร และจำนวนของยีสต์ราแบคทีเรียต้องต่ำกว่า 100 โคลโลนีต่อมิลลิลิตร (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, ฉบับที่ 289)

## 8. การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก (Logistic Regression Analysis)

การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีจุดประสงค์และแนวคิดคล้ายกับการวิเคราะห์ความถดถอยแบบปกติ และการวิเคราะห์จำแนกประเภทที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระกับตัวแปรตามและสร้างสมการความถดถอยไปประมาณหรือพยากรณ์ค่าตัวแปรตามเมื่อกำหนดตัวแปรอิสระ ซึ่งตัวแปรตามจะเป็นตัวแปรเชิงปริมาณในขณะที่ตัวแปรอิสระจะเป็นตัวแปรเชิงปริมาณเพียงอย่างเดียว หรืออาจมีบางตัวแปรเป็นตัวแปรเชิงปริมาณและตัวแปรบางตัวเป็นตัวแปรเชิงกลุ่ม(กัลยา วานิชย์บัญชา, 2554)

### 8.1 ประเภทของการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก

8.1.1 กรณีที่ใช้จำนวนตัวแปรอิสระเป็นเกณฑ์ในการแบ่ง ซึ่งแบ่งได้ 2 ประเภท คือ

8.1.1.1 การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกอย่างง่าย (Simple Logistic Regression Analysis)

8.1.1.2 การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกเชิงพหุ (Multiple Logistic Regression Analysis)

8.1.2 กรณีที่ตัวแปรตามเป็นตัวแปรเชิงกลุ่ม ซึ่งแบ่งได้ 2 ประเภท คือ

8.1.2.1 การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกแบบ 2 กลุ่ม (Binary Logistic Regression Analysis)

8.1.2.2 การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกเชิงหลายกลุ่ม (Multinomial Logistic Regression Analysis)

8.2 จุดประสงค์ของการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก

8.2.1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีผลต่อโอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ของตัวแปรตามพร้อมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระแต่ละตัว

8.2.2 เพื่อสร้างสมการพยากรณ์โอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ที่สนใจจากตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม

8.3 เงื่อนไขของการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก

การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกมีเงื่อนไขดังนี้ (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2554)

8.3.1 ตัวแปรอิสระ (Independent variable) อาจจะเป็นข้อมูลชนิด Dichotomous (มีได้ 2 ค่า) หรือเป็นสเกลอันตรภาค (Interval Scale) และสเกลอัตราส่วน (Ratio Scale) ได้

8.3.2 ตัวแปรตาม (dependent variable) เป็นตัวแปรเชิงกลุ่ม

8.3.3 ตัวแปรอิสระไม่ควรมีความสัมพันธ์กัน (Multicollinearity)

8.4 งานวิจัยเกี่ยวกับการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก

Walker *et al.* (2010) ได้ศึกษาการยอมรับ และความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์เซอร์เบท ไขมันต่ำไม่มีน้ำตาลที่ประกอบด้วยโปรตีนจากถั่วเหลือง โดยการวิเคราะห์ความถดถอยแบบโลจิสติก ที่มีผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 140 คน จากการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคสูงถึงร้อยละ 65% และผู้บริโภคมีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์อยู่ที่ 55.7%

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. วัตถุดิบ

- 1.1 เศษเหลือเปลือกกุ้งจากกุ้งขาวได้รับจากโรงงานกุ้งแช่เยือกแข็งในจังหวัดสมุทรสาคร
- 1.2 นมสดพาสเจอร์ไรส์ (ยี่ห้อเมจิ)
- 1.3 หางนมผง
- 1.4 โยเกิร์ตธรรมชาติ (ยี่ห้อโฟร์โมสต์)

#### 2. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดแอสตาแซนธิน

- 2.1 เอทานอล (ethanol) ร้อยละ 95 grade A (food grade)

#### 3. เครื่องมืออุปกรณ์ในการสกัด

- 3.1 กระดาษกรอง
- 3.2 ขวดระเหยสารขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 3.3 ชุดเครื่องกรองระบบสุญญากาศ
- 3.4 เครื่องระเหยสาร (rotary evaporator), Buchi R-124
- 3.5 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Ohaus รุ่น ARB 120
- 3.6 ตู้แช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- 3.7 ขวดแก้วสีชา

#### 4. สารเคมีในการทำเอ็นแคปซูลชั้น

- 4.1 อัลจินต (Union Chemical, Thailand)
- 4.2 ไคโตซาน (DDร้อยละ80) จากห้องปฏิบัติการ Solid State fermentation and Bioengineering มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- 4.3 แคลเซียมคลอไรด์ (Ajax Finechem)
- 4.4 Tween 80 (Ajax Finechem)

## 5. อุปกรณ์ในการทำเอ็นแคปซูลชั้น

5.1 เครื่อง Ultrasonic Atomizer (Hight Intensity Ultrasonic Processor, VCPVCX130, 500, 750)

5.2 เครื่อง Homogenizer (IKA-T25 digital ULTRA-TURRAX)

5.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Ohaus รุ่น ARB 120

5.4 เครื่อง Mechanical stirrer

5.5 เครื่องแก้วทางวิทยาศาสตร์

## 6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

6.1 เครื่องชั่งละเอียด 4ตำแหน่ง

6.2 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง Shimadzu UV-1700 Spectrophotometer, JAPAN

6.3 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (hot air oven) Memmert UNB400

6.4 ชุดการวิเคราะห์ Thin layer chromatography (TLC)

6.5 เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)

6.6 เครื่อง Scanning Electron Microscope (JEDL, JSM-5410LV, JAPAN)

6.7 เครื่องการวิเคราะห์ขนาด Vernier calipers (150x0.05mm, 6''x1/128m)

6.8 ชุดอุปกรณ์การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ เช่น หลอดทดลอง, เครื่องแก้ว, อาหารเลี้ยงเชื้อ

6.9 ชุดอุปกรณ์การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส เช่น แก้วน้ำ, ถาดชิม, ซ้อน, ถ้วยใส่ตัวอย่าง

## 7. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของสารแอสตาแซนธิน

7.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ TLC ได้แก่ อะซิโตน (analytical grads, BDH), เฮกเซน (analytical grads, BDH)

7.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน ได้แก่ DPPH (1,1-Diphenylm 2-picryl-hydrazil) (analytical grade, Sigma), Ferrozine (analytical grade, Sigma), FeCl<sub>2</sub> (analytical grade, Sigma), เมทานอล (analytical grads, Merck)

7.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ astaxanthin ได้แก่ astaxanthin standard (Ehrenstorfer quality, Germany), Butylhydroxytoluol (BHT)(analytical grade, Sigma),

เฮกเซน (analytical grads, BDH)

## 8. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติของเมล็ดบีดในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรดและเบส

8.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด คือกรดไฮโดรคลอริก(hydrochloric acid, pH 2.0) (analytical grads, Merck)

8.2 สารเคมีที่ใช้เตรียมสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบส คือฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (phosphate buffer, pH 7.4)(analytical grads, Merck)

## 9. อาหารเลี้ยงเชื้อในการวิเคราะห์จุลินทรีย์

9.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ได้แก่ Plate count agar (PCA, Merck)

9.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Psychrotrophic cont ได้แก่ Plate count agar (PCA, Merck)

9.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Coliform ได้แก่ Lauryl sulfate tryptose broth (LST, Difco), Brilliant green lactose bile (BGLB, Difco)

9.4 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria ได้แก่ Man Rosaga Sharp (MRS, Difco)

9.5 การวิเคราะห์ยีสต์และรา ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA, Difco)

## 10. อุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผล

10.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

10.2 โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ

## วิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างเศษเหลือเปลือกกุ้ง

วัตถุดิบเศษเหลือเปลือกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้จากอุตสาหกรรมกุ้งแช่แข็ง จากจังหวัดสมุทรสาคร ทำการแช่น้ำแข็งในระหว่างการขนส่งมายังตึกปฏิบัติการภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากนั้นนำวัตถุดิบที่ได้มาทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำมาสกัดสารตัวอย่างต่อไป

### 2. การสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง

การสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง โดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดแอสตาแซนธินได้ดัดแปลงจากวิธีของ Sachindra *et al.* (2005) ทำได้โดยนำเปลือกกุ้งมาปั่นกับตัวทำละลายในอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อตัวทำละลายเอทานอลเท่ากับ 1:2 (ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร) โดยใช้เครื่องปั่นจนมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำไปกรองเอาเปลือกกุ้งออกด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ดังแสดงในภาคผนวก ข นำสารสกัดจากเปลือกกุ้งที่ได้ใส่ในขวดสีชาสีฟ้าปิด และนำไปเก็บในที่มืดอุณหภูมิ -18 ถึง -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

### 3. การวิเคราะห์องค์ประกอบแอสตาแซนธินที่สกัดได้

#### 3.1 การวิเคราะห์ปริมาณของแอสตาแซนธิน

ปริมาณของแอสตาแซนธินสามารถวิเคราะห์ได้จากน้ำหนักของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือของเปลือกกุ้งเริ่มต้นที่ใช้ แสดงดังสมการที่ (15)

$$\text{ปริมาณของแอสตาแซนธิน (\%Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง}}{\text{น้ำหนักเปลือกกุ้งเริ่มต้นที่ใช้}} \times 100 \quad \text{----- (15)}$$

### 3.2 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอสตาแซนธิน

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้งวิเคราะห์ตามวิธีของ Tolasa *et al.* (2005) โดยการนำสารสกัดแอสตาแซนธินมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี (Shimadzu UV-1700 Spectrophotometer) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 nm และคำนวณความเข้มข้นของแอสตาแซนธินแสดงดังสมการที่ (16)

$$C_{\text{Astaxanthin}} (\mu\text{g/ml}) = \frac{A \times 10,000}{2100} \text{----- (16)}$$

A = absorbance ที่วัดได้, E =2100 (extinction coefficient หรือ standard absorbance)

### 4. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในกระบวนการห่อหุ้ม (encapsulation) สารแอสตาแซนธินโดยใช้วิธี complex coacervation ร่วมกับ ultrasonic atomizer

กระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินเริ่มต้นโดยการเตรียมอิมัลชันซึ่งทำได้โดยการผสมสารละลายอัลจินตที่ระดับความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร กับสารสกัดแอสตาแซนธิน ในอัตราส่วนของอัลจินต: สารแอสตาแซนธินเท่ากับ 1: 3 จากนั้นนำมาปั่นผสมโดยใช้เครื่อง Homogenizer (IKA-T25 digital ULTRA-TURRAX) ที่ความเร็ว 10,000 rpm นาน 15 นาที นำอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมมาผ่านเข้าเครื่อง ultrasonic atomizer (Hight Intensity Ultrasonic Processor, VCPVCX130, 500, 750) ที่แอมพลิจูดเท่ากับ 55 จากนั้นอิมัลชันจะหยดลงมาเป็นเม็ดที่ทำการรองรับด้วยปีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันที่ 0.5, 0.7 และ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ปริมาตร 65 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร (35 มิลลิลิตร) ภายใต้สภาวะที่กวนเป็นระยะเวลา 60 นาที จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเม็ดบีดหลังจากนั้นทำการแยกเม็ดบีดที่ได้ออกจากสารละลายไคโตซาน โดยนำมาใส่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์แล้วกวนต่อเป็นเวลา 30 นาที จึงนำเม็ดบีดมาล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วกรองเม็ดบีดออกจากสารละลาย (แสดงในภาคผนวก ค) จากนั้นทำการเก็บเม็ดบีดใส่ในขวดสีชาสำหรับเก็บตัวอย่าง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอกการวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

## 5. การวิเคราะห์คุณภาพของอัลจินต-โคโคซานปิด (เม็ดปิด)

### 5.1 การวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเม็ดปิด

#### 5.1.1 การวิเคราะห์ขนาดของเม็ดปิด

การวิเคราะห์ขนาดของเม็ดปิดโดยใช้ Vernier calipers (150x0.05mm, 6''x1/128m) ทำได้โดยการสุ่มเม็ดปิดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินมา 30 เม็ด แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางจากขอบด้านยาวของเม็ดปิด จากนั้นจึงคำนวณหาค่าเฉลี่ยขนาดของเม็ดปิดที่ได้

#### 5.1.2 การวิเคราะห์น้ำหนักของเม็ดปิด

การวิเคราะห์น้ำหนักของเม็ดปิดโดยใช้เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (AND GR-200) ทำได้โดยการสุ่มเม็ดปิดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินมา 30 เม็ด แล้วทำการชั่งน้ำหนักของเม็ดปิดทีละเม็ด จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักของเม็ดปิดที่ได้

#### 5.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของเม็ดปิดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร

การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของเม็ดปิดที่ได้จากการกระบวนการห่อหุ้มสาร เมื่อกระบวนการห่อหุ้มสารเสร็จสิ้นลงจะทำการกรองแยกเม็ดปิดที่ได้ออกจากสารละลายทั้งหมดแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก เพื่อวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของเม็ดปิดที่ได้เปรียบเทียบกับน้ำหนักของสารละลายตั้งต้นที่ใช้ แสดงดังสมการที่ (17)

$$\text{ผลผลิตเม็ดปิด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของเม็ดปิดที่ได้}}{\text{น้ำหนักของสารละลายเริ่มต้น}} \times 100 \quad \text{----- (17)}$$

### 5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของแอสตาแซนธินในเม็ดปิดโดยเทคนิค thin layer chromatography

การตรวจสอบสมบัติของแอสตาแซนธินโดยวิธี thin layer chromatography (TLC) ได้ตรวจสอบสมบัติตามวิธีของ Cyanotech Corporation (1998) โดยจุดสารที่เป็นสารสกัดแอสตาแซนธินและสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดลงบนแผ่น TLC จากนั้นนำแผ่น TLC ไปลงในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่ทำหน้าที่เป็น mobile phase คือ acetone/hexane (25:75 ปริมาตร โดยปริมาตร) จากนั้นรอ

จนกว่าสารละลายจะเคลื่อนที่จนถึงจุดที่กำหนดจึงนำแผ่น TLC ออกมา และทำการวัดระยะทางที่สารเคลื่อนที่เพื่อนำมาคำนวณหาค่า Rf ของสารตัวอย่างแสดงดังสมการที่ (18)

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}} \quad \text{----- (18)}$$

### 5.3 การศึกษาโครงสร้างภายนอกของเม็ดบีด

การศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกของเม็ดบีดทำได้โดยการเตรียมตัวอย่างของเม็ดบีดที่ผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดบีดมาวิเคราะห์โดยการวางไว้ที่ scanning electron microscope stub (SEM stub) ที่มีน้ำยาเคลือบติดตัวอย่างแล้วนำ SEM stub มาเคลือบผิวตัวอย่างด้วยทอง จากนั้นก็นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM (JEDL, JSM-5410LV, JEOL, JAPAN) ที่ 15 kV

### 5.4 การวัดประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม (encapsulation efficiency, EE)

การตรวจสอบประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินดำเนินการตามวิธีของ Eng-Seng Chan (2011) โดยการวัดปริมาณของแอสตาแซนธินที่อยู่บนผิวของเม็ดบีดด้วยการใช้กระดาษกรองทำการดูดซับสารที่อยู่บนผิวของเม็ดบีดจากนั้นจึงนำกระดาษกรองไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ จึงนำมาคำนวณค่า %EE ดังแสดงในสมการที่ (19)

$$\%EE = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad \text{----- (19)}$$

กำหนดให้ %EE = ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสาร; W1 = น้ำหนักของแอสตาแซนธินเริ่มต้น และ W2 = น้ำหนักของแอสตาแซนธินที่อยู่บนผิวของเม็ดบีด

## 5.5 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของแอสตาแซนธินในเมล็ดปัด

### 5.5.1 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) assay

การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ได้ดำเนินการตามวิธีของ Devi *et al.* (2008) ซึ่งทำได้โดยการใช้เมทานอลในการกำหนดค่า auto zero จากนั้นนำสารละลายเมทานอลที่มีสารแอสตาแซนธินเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอนุโมลิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร รายงานผลเป็น DPPH scavenging effect (%) การคำนวณดังสมการที่ (20)

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = [A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad \text{----- (20)}$$

เมื่อ  $A_{\text{control}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ในเมทานอล  
 $A_{\text{sample}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมของ DPPH และสารละลายแอสตาแซนธิน  
 $A_{\text{sample blank}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอสตาแซนธิน

### 5.5.2 ferrous ion chelating (FIC) assay

การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FIC ได้ดำเนินการตามวิธีของ Dimis *et al.* (1994) ทำได้โดยการใช้เมทานอลในการกำหนดค่า auto zero จากนั้นนำสารละลายเมทานอลที่มีสารแอสตาแซนธินเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเมทานอล 3.7 มิลลิลิตร และ ferrous chloride ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ ferrozine ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร และคำนวณค่า chelating effect (%) โดยคำนวณตามสมการที่ (21)

$$\text{Chelating effect (\%)} = [A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad \text{----- (21)}$$

เมื่อ  $A_{\text{control}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมของ  $\text{FeCl}_2$  และสารละลาย ferrozine  
 $A_{\text{sample}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอสตาแซนธินที่เติมในสารละลายผสมของ  $\text{FeCl}_2$  และสารละลาย ferrozine  
 $A_{\text{sample blank}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอสตาแซนธิน

เมล็ดบีตที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส และทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติ ด้านต่างๆ ได้แก่ การวิเคราะห์ชนิดของแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารและ สมบัติการต้านออกซิเดชัน

#### 5.6 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเมล็ดบีตในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรดและเบส

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเมล็ดบีตในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด โดยได้ คัดแปลงจากวิธีของ Sansoneet al. (2011) โดยการนำเมล็ดบีตมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ซึ่งมี pH เท่ากับ 2.0 แล้วสังเกตดูการเปลี่ยนแปลงขนาดของเมล็ดบีตโดยการ สังเกตด้วยตาและบันทึกภาพโดยกล้องถ่ายภาพ (SAMSUNG, PL170) ที่เวลา 0, 10, 30, 60, 120 และ 180 นาที และที่สภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบสโดยการนำเมล็ดบีตที่แช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เป็นเวลา 60 นาที มาแช่ต่อในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH เท่ากับ 7.4 (วิธีการเตรียมสารแสดงดังใน ภาคผนวก ง) และสังเกตดูการเปลี่ยนแปลง โดยการสังเกตด้วยตาและบันทึกภาพ โดยกล้องถ่ายภาพที่เวลา 0, 10, 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที

#### 6. การเตรียมเมล็ดบีตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

วิธีการผลิตโยเกิร์ตทำได้โดยนํานมสดปริมาณ 940 กรัม มาอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และใส่หางนมผง 60 กรัม ลงในนมสดที่อุ่นไว้ต่อมานํานมที่ผสมกันแล้วใส่ลงในเครื่องปั่นแล้วปั่นด้วยความเร็วต่ำเป็นเวลา 10 วินาที เพื่อให้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกันและเป็นการตีไขมัน จากนั้นนํานม ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จึงทำให้เย็นลงที่ 45 องศาเซลเซียส แล้ว เติมเชื้อโยเกิร์ตที่เตรียมไว้ (ประมาณ 48 กรัม) ด้วยช้อนตวงที่สะอาดและคนให้เข้ากันจึงนำไปบ่มในตู้ บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 8 – 10 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแล้วนำมาผสมกับ น้ำเชื่อมที่มีส่วนผสมของน้ำตาลร้อยละ 9 กับเมล็ดบีตร้อยละ 15 จากนั้นก็คนให้เข้ากันจึงบรรจุลงใน ภาชนะที่เตรียมไว้แล้วนำเข้าไปเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

#### 7. การตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทางจุลชีววิทยา

7.1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ American Public Health Association (1993) (ภาคผนวก จ1)

7.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Psychrotrophic cont ตามวิธีของ American Public Health Association (1993) (ภาคผนวก จ2)

7.3 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Coliform ตามวิธีของ American Public Health Association (1993) (ภาคผนวก จ3)

7.4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria ตามวิธีของ AOAC. (1998) และ American Public Health Association (1993) (ภาคผนวก จ4)

7.5 วิธีการวิเคราะห์ยีสต์และรา ตามวิธีของ American Public Health Association (1993) (ภาคผนวก จ5)

## 8. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินผลคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และโยเกิร์ตแอสตาบีด พิจารณาจากลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกภายในปาก และความชอบโดยรวม รวมถึงการยอมรับ และความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์หากมีการจำหน่ายจริงตามท้องตลาด โดยมีการทดสอบแบบ Consumer Acceptance โดยมีผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 130 คน แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ฉ

## 9. การประเมินผลทางสถิติ

ในส่วนของการทดลองน้ำหนัก ขนาด และปริมาณผลผลิตของเม้ดบีดได้วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's multiple range test (DMRT)

ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน ตลอดจนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ได้วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's multiple range test (DMRT)

การประเมินผลทางลักษณะประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลระหว่าง 2 กลุ่มตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการ

วิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก (Logistic Regression Analysis) ประเภท Binary Logistic Regression โดยการจำลองคาดการณ์ และระบุคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับ และความถี่ของการซื้อของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผสมเมล็ดบีค



## ผลและวิจารณ์

### 1. สมบัติทางเคมี-กายภาพของสารสกัดแอสตาแซนธินที่ได้จากเปลือกกุ้ง

#### 1.1 ปริมาณและความเข้มข้นของแอสตาแซนธินในสารสกัดจากเปลือกกุ้ง

จากการสกัดสารแอสตาแซนธินจากเศษเหลือของกุ้ง โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เพื่อหาปริมาณของแอสตาแซนธินที่สกัดได้ และวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดโดยนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร และคำนวณหาความเข้มข้นของแอสตาแซนธินพบว่าปริมาณสารที่สกัดได้จากเศษเหลือของเปลือกกุ้งมีค่าเท่ากับ  $24.66 \pm 2.91$  มิลลิกรัม/เปลือกกุ้ง 1 กรัม (แสดงการคำนวณในตารางภาคผนวก ก1) และปริมาณความเข้มข้นของแอสตาแซนธินจากสารที่สกัดได้มีค่าความเข้มข้น  $1.70 \pm 0.05$  มิลลิกรัม/สารสกัด 1 กรัม (แสดงการคำนวณในตารางภาคผนวก ก3) ซึ่งค่าที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sanchez-Camargo *et.al.* (2011a) ที่ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์ และไขมันจากเศษเหลือของเปลือกกุ้งชนิด *Farfantepenaeus paulensis* ด้วยการใช้น้ำตาลในการสกัด คือ acetone และสารผสมระหว่าง n-hexane: isopropyl alcohol (IPA) ในอัตราส่วน (40:60 ปริมาตรโดยปริมาตร) จากการศึกษาพบว่าการใช้ acetone ให้ปริมาณสารที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ  $24 \pm 0.1$  มิลลิกรัม/เศษเหลือ 1 กรัม และเมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอสตาแซนธินมีค่าเท่ากับ  $1.48 \pm 0.04$  มิลลิกรัม/สารสกัด 1 กรัม สำหรับการใช้น้ำผสมระหว่าง n-hexane: IPA พบว่าให้ปริมาณสารที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ  $53 \pm 0.2$  มิลลิกรัม/เศษเหลือ 1 กรัม และความเข้มข้นของแอสตาแซนธินมีค่าเท่ากับ  $1.08 \pm 0.04$  มิลลิกรัม/สารสกัด 1 กรัม และงานวิจัยของ Sachindra *et.al.* (2005) ได้ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์จากเศษเหลือของกุ้งโดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน จากการศึกษาพบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดให้ค่าความเข้มข้นของแอสตาแซนธินเท่ากับ  $31.91 \pm 2.2$  ไมโครกรัม/เศษเหลือ 1 กรัม ซึ่งให้ปริมาณที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ petroleum ether, hexane และ methanol ในการสกัด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ acetone, IPA, ethyl acetone, ethyl methyl ketone และ hexane ผสมกับ isopropyl alcohol (IPA) ในอัตราส่วน (40:60 ปริมาตรโดยปริมาตร) พบว่า การใช้เอทานอลในการสกัดให้ปริมาณสารแอสตาแซนธินที่ต่ำกว่า อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาการสกัดสารแอสตาแซนธินดังในงานวิจัยอื่นๆ พบว่า การใช้เอทานอลในการสกัดไม่ใช่ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด แต่เอทานอลเป็นสารที่มีความปลอดภัยสำหรับนำไปเป็นองค์ประกอบผลิตภัณฑ์อาหาร

## 1.2 ชนิดของแอสตาแซนธินในสารสกัดจากเปลือกกุ้ง

การวิเคราะห์เพื่อยืนยันชนิดของสารสกัดที่ได้จากเศษเหลือของเปลือกกุ้งในข้อ 1.1 ว่าสารที่สกัดได้เป็นอนุพันธ์ของแอสตาแซนธิน ทำได้โดยนำสารที่สกัดได้มาแยกอนุพันธ์แอสตาแซนธิน ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินมาตรฐาน และสารแอสตาแซนธินที่ได้จากการสกัดเศษเหลือของเปลือกกุ้ง พบว่าสารแอสตาแซนธินสังเคราะห์จะพบจุดที่เกิดขึ้น 1 จุด คือที่ค่า  $R_f$  0.34 ซึ่งเป็นแอสตาแซนธินอิสระ (Cyanotech Corporation, 1998) ส่วนสารแอสตาแซนธินที่ได้จากการสกัดพบว่ามีจุดขึ้นบน TLC 2 จุดคือ จุดที่ 1 มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และจุดที่ 2 มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.50 ซึ่งแสดงว่ามีองค์ประกอบของ free astaxanthin และ astaxanthin monoester ตามลำดับ (Cyanotech Corporation, 1998) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sachindra *et al.* (2005) ที่ได้ศึกษาสารประกอบของแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จาก marine crab (*Charybdis cruciata*) ในประเทศอินเดีย พบว่า  $R_f$  ของสารที่สกัดได้เท่ากับ 0.34, 0.51 และ 0.77 ซึ่งหมายถึงการมีองค์ประกอบของ free astaxanthin, astaxanthin monoester และ astaxanthin diester ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Sanchez-Camargo *et al.* (2011b) ที่ได้วิเคราะห์แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ของเศษเหลือจากกุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* โดยใช้เทคนิค TLC และพบว่ามี free astaxanthin, astaxanthin monoester และ astaxanthin diester เป็นองค์ประกอบหลักที่อยู่ในเศษเหลือของกุ้ง

## 2. ผลของการห่อหุ้มสารสกัดแอสตาแซนธินด้วยเทคนิค Complex coacervation ร่วมกับ Ultrasonic Atomizer

อิมัลชันเตรียมได้จากการนำสารละลายอัลจินตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร) ผสมกับสารสกัดแอสตาแซนธินในอัตราส่วน 1:3 และ tween 80 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับอิมัลชัน หลังจากนั้นทำให้ส่วนผสมอิมัลชันเข้ากัน จะมีลักษณะขุ่นและมีสีส้ม (ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ ค3)

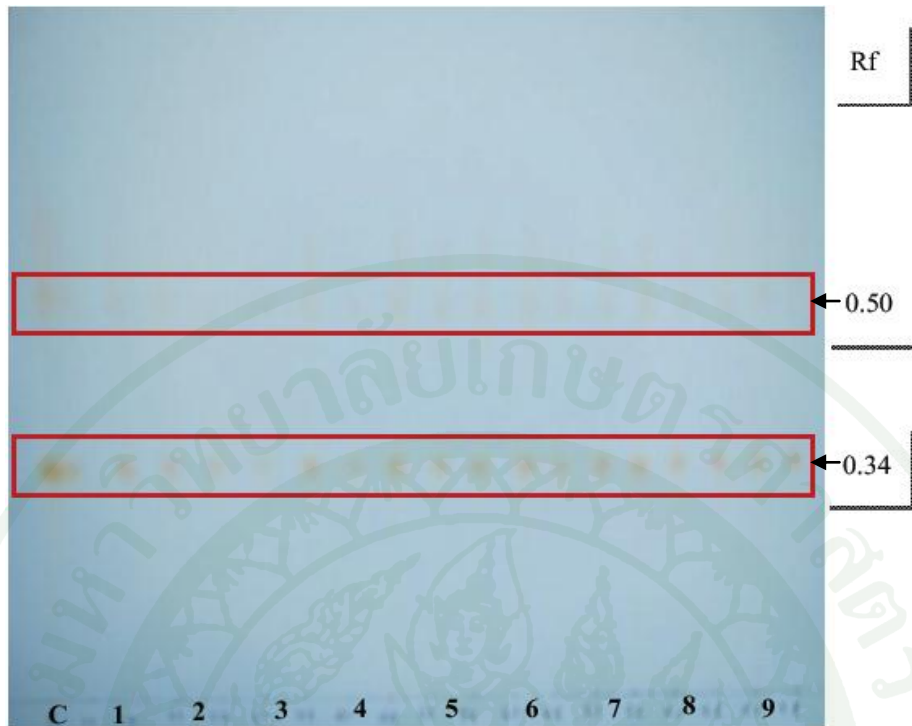
เมื่อนำอิมัลชันที่ได้ไปผ่านเครื่อง ultrasonic atomizer ที่รองรับด้วยสารละลายโคโคซานผสมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเม็ดปิดที่มีลักษณะรูปร่างทรงกลมที่มีสีส้มจาง จากนั้นนำเม็ดปิดที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ได้แก่ องค์ประกอบของแอสตาแซนธินน้ำหนัก ขนาด ปริมาณผลผลิตของเม็ดปิดประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารสมบัติการต้านออกซิเดชันการเปลี่ยนแปลงของเม็ดปิดในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรดและเบส ลักษณะโครงสร้างภายนอกการ

พัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด และวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา และคุณภาพทางประสาทสัมผัสซึ่งได้ผลดังนี้

## 2.1 ชนิดของแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ในเม็ดบีด

TLC เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพสำหรับสารประกอบที่มีปริมาณน้อยเพื่อหาสารที่อยู่ในสารผสมและทำการเปรียบเทียบจากค่า  $R_f$  ของสารที่ต้องการทดสอบกับสารมาตรฐาน การใช้เทคนิค TLC สำหรับการแยกสารแคโรทีนอยด์เป็นวิธีที่ง่าย ไม่มีความซับซ้อน และเหมาะสมสำหรับการแยกสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง โดยเปรียบเทียบจากค่า  $R_f$  ที่วัดได้ ถ้าค่า  $R_f$  ได้เท่ากับ 0.25, 0.33, 0.40, 0.50, 0.75, 0.87, 0.99 จะแสดงถึงการมีองค์ประกอบของ lutein, free astaxanthin, canthaxanthin, astaxanthin monoester, astaxanthin diester, echinenous และ  $\beta$ - carotene ตามลำดับ (Cyanotech Corporation, 1998)

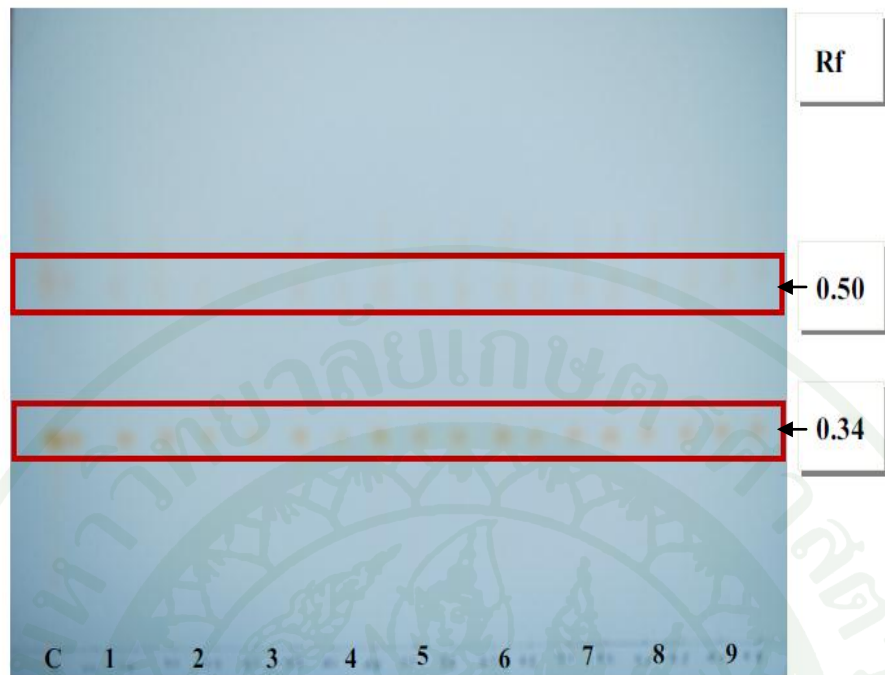
ภาพที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ชนิดของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ในเม็ดบีด โดย (C) คือสารสกัดแอสตาแซนธิน และ (1 - 9) คือ สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์พบว่าค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.50 ซึ่งบ่งบอกว่า เป็น free astaxanthin และ astaxanthin monoester ซึ่งเป็นองค์ประกอบรงควัตถุหลักที่พบได้ในเปลือกกุ้ง และสัตว์น้ำกลุ่ม crustaceans (Sachindra *et al.*, 2005) เมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของแอสตาแซนธินภายในเม็ดบีดที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าค่า  $R_f$  ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (แสดงดังภาพที่ 8) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการกักเก็บ หรือห่อหุ้มสารสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของแอสตาแซนธินไว้ได้



ภาพที่ 7 Thin layer chromatography ของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้นและสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (วันที่ 0)

หมายเหตุ กำหนดให้ C = Control (สารแอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้น)

- 1 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 2 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 3 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 4 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 5 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 6 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 7 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5
- 8 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5
- 9 คือแอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5



ภาพที่ 8 Thin layer chromatography ของสารเอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้นและสารเอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (4 สัปดาห์)

หมายเหตุ กำหนดให้ C = Control (สารเอสตาแซนธินที่สกัดได้เริ่มต้น)

- 1 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 2 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 3 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0
- 4 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 5 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 6 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7
- 7 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.8 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5
- 8 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.0 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5
- 9 คือเอสตาแซนธินปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5

## 2.2 น้ำหนัก ขนาด และปริมาณผลผลิตของเม็บบิด

เม็บบิดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร โดยการใช้นิเทศนิก complex coacervation ได้นำมาทำการวัดน้ำหนัก ขนาด และปริมาณผลผลิตของเม็บบิด ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 น้ำหนัก ขนาด และปริมาณผลผลิตของเม็บบิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของอัลจินเต และไคโตซาน

ตัวอย่าง	น้ำหนัก (mg) <sup>ns</sup>	ขนาด (mm) <sup>ns</sup>	ปริมาณผลผลิตของ เม็บบิด(ร้อยละ)
A 0.8%+ C1.0%	53.96± 3.21	4.13± 0.31	80.83± 0.02 <sup>d</sup>
A 1.0%+ C1.0%	54.29 ± 3.91	4.15 ± 0.14	81.64 ± 0.32 <sup>c</sup>
A 1.2%+ C1.0%	55.47 ± 4.20	4.23 ± 0.32	85.73 ± 0.25 <sup>a</sup>
A 0.8%+ C0.7%	52.99 ± 2.53	4.09 ± 0.25	77.49 ± 0.02 <sup>g</sup>
A 1.0%+ C0.7%	53.25 ± 3.36	4.12 ± 0.24	78.06 ± 0.02 <sup>f</sup>
A 1.2%+ C0.7%	53.68 ± 3.88	4.20 ± 0.27	84.34 ± 0.01 <sup>b</sup>
A 0.8%+ C0.5%	52.48 ± 3.36	4.04 ± 0.23	75.63 ± 0.02 <sup>h</sup>
A 1.0%+ C0.5%	52.53 ± 3.5	4.11 ± 0.23	77.70 ± 0.02 <sup>g</sup>
A 1.2%+ C0.5%	53.65 ± 3.65	4.15 ± 0.21	80.14 ± 0.03 <sup>e</sup>

หมายเหตุ อัลจินเต แสดงเป็น A และ ไคโตซาน แสดงเป็น C

แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> แสดงความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

จากการทดลอง พบว่าน้ำหนักและขนาดของเม็บบิดของทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p > 0.05$ ) เนื่องจากในกระบวนการห่อหุ้มสารได้ใช้เครื่อง ultrasonic atomizer เพื่อผลิตเม็บบิด ซึ่งเครื่องมือดังกล่าวมีประโยชน์คือสามารถควบคุมอัตราการไหลของสารที่ต้องการได้ และใช้พลังงานการสั่นที่ต่ำทำให้เกิดเป็นละอองฝอยซึ่งสามารถควบคุมขนาดของเม็บบิดได้จากการกำหนดค่าพลังงานความถี่ที่ใช้ในกระบวนการผลิต จึงมีผลทำให้ได้ขนาดของเม็บบิดที่มีความสม่ำเสมอมีลักษณะอ่อนเบา และเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงมาก (Yoon Yeo,

2004) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถแก้ไขปัญหาค่าที่ทำได้เม็ดบีดที่มีขนาดแตกต่างกันได้ โดยปัจจุบันงานวิจัยส่วนใหญ่ได้ใช้ syringe ในการผลิตเม็ดบีดซึ่งทำให้ได้เม็ดบีดที่มีขนาดไม่สม่ำเสมอ และกระบวนการผลิตใช้เวลาค่อนข้างนานจากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า ultrasonic atomizer เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินหรือสารอื่นๆ ในรูปแบบของเม็ดบีดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งในด้านความสม่ำเสมอของเม็ดบีด และผลผลิตปริมาณมากในเวลาที่รวดเร็ว ในปัจจุบันยังไม่พบงานวิจัยที่มีการใช้เครื่อง ultrasonic atomizer มาผลิตสารในรูปแบบของเม็ดบีด มีเพียงงานวิจัยของ Klaypradit and Huang. (2008) ที่ได้ศึกษากระบวนการห่อหุ้มน้ำมันปลาทูน่าโดยการใช้อัลตราซาวด์ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มน้ำมันปลาทูน่าได้อย่างดี และงานวิจัยของ Forde *et al.* (2006) ได้ศึกษาขนาดของอนุภาคที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร poly- $\epsilon$ -caprolactone (PCL) โดยการใช้อัลตราซาวด์ พบว่าเป็นวิธีที่ได้ขนาดของไมโครแคปซูลที่มีความใกล้เคียงกันแต่ขนาดของอนุภาคขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่าง คือ ความเข้มข้นของ PCL อัตราการไหลตัวอย่าง (feed flow rate) อัตราส่วน volumetric ของสารเคลือบต่อโปรตีน

ปริมาณผลผลิตของเม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร (ตารางที่ 5) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) คือที่สภาวะการใช้ความเข้มข้นของโคโคซาน 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับความเข้มข้นของอัลจินตที่แตกต่างกัน (0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของอัลจินตเพิ่มขึ้น ค่าปริมาณผลผลิตของเม็ดบีดจะมากขึ้นตามไปด้วย และสำหรับสภาวะการใช้ความเข้มข้นของอัลจินตคงที่ ร่วมกับความเข้มข้นของโคโคซานที่แตกต่างกันพบว่าเมื่อความเข้มข้นของโคโคซานเพิ่มขึ้นค่าปริมาณผลผลิตของเม็ดบีดจะมากขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าน้ำหนักสุทธิของเม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสารขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอัลจินต และโคโคซาน เมื่อความเข้มข้นของอัลจินตและโคโคซานสูงขึ้นจะได้น้ำหนักสุทธิของเม็ดบีดสูงขึ้น โดยที่สภาวะของการใช้อัลจินต 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตรและโคโคซาน 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร สามารถให้ปริมาณผลผลิตของเม็ดบีดสูงที่สุดคือ  $85.73 \pm 0.25\%$

### 2.3 ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน

การศึกษาประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารทำให้ทราบถึงความสามารถของสารเคลือบที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในการรักษาสสมบัติต่างๆ ของสารแอสตาแซนธินไว้ภายใน ทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ในการเลือกสารเคลือบที่ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสารได้อย่างเหมาะสม และเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 5 พบว่าประสิทธิภาพของการห่อหุ้มเริ่มต้น (วันที่ 0) วัดหลังจากกระบวนการห่อหุ้มสารเสร็จสิ้นลงมีค่าสูงกว่าร้อยละ 85 ของทุกตัวอย่าง และตัวอย่างที่มีการใช้ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่สูงขึ้นจะได้ค่าของประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารที่มากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pasparakis and Bouropoulos, (2006) ที่ได้ศึกษาการห่อหุ้มสารโดยใช้แคลเซียมอัลจินต และแคลเซียมอัลจินตร่วมกับไคโตซานซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารนั้นมีค่าสูงมากกว่าร้อยละ 80 และงานวิจัยของ Chan *et al.* (2011) ที่ได้ศึกษาการห่อหุมน้ำมันที่อยู่ในรูปของเม็ดปิดโดยใช้สารเคลือบ คือแคลเซียมอัลจินต ซึ่งจากการวิจัยพบว่าผลของประสิทธิภาพของการห่อหุมน้ำมันสูงถึงร้อยละ 90

อัลจินตเป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบจำนวนมาก (polyanionic polymer) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่มีประจุบวกได้ ทั้งนี้ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติเป็นประจุบวก (polycationic polymer) จึงทำให้เกิดการรวมกันเป็น โครงสร้างของ polymeric complex เกิดจากการ cross-link กันระหว่างหมู่เอมีนของไคโตซานกับหมู่คาร์บอกซิเลตของอัลจินต ซึ่งมีผลทำให้ลดการเสื่อมเสียสารแอสตาแซนธินได้ดียิ่งขึ้น และความหนาแน่นที่พื้นผิวของเม็ดปิดก็เกิดจากการเชื่อมกันด้วยพันธะไฮออนิกของอัลจินต และไคโตซาน (George and Abraham, 2006) ดังนั้นประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินของเม็ดปิดจะสูงขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานเพิ่มมากขึ้น จากสมบัติของการทำปฏิกิริยาร่วมกันของอัลจินตและไคโตซานนั้นทำให้การผลิตเม็ดปิดมีความเหมาะสม และมีประโยชน์ในเรื่องการควบคุมระบบการนำส่งรวมถึงควบคุมการปลดปล่อยของสารแอสตาแซนธินได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ประสิทธิภาพของกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส แสดงผลดังตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของการห่อหุ้ม (Encapsulation Efficiency, %EE) สารแอสตาแซนธินในเมล็ดปัดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Encapsulation Efficiency (%EE)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
A 0.8%+ C1.0%	89.19 ± 1.11 <sup>cA</sup>	81.70 ± 1.11 <sup>bcdB</sup>	80.04 ± 1.11 <sup>bcB</sup>	80.04 ± 0.00 <sup>abB</sup>	72.55 ± 3.33 <sup>abC</sup>
A 1.0%+ C1.0%	90.17 ± 1.00 <sup>bA</sup>	84.11 ± 1.50 <sup>abB</sup>	81.86 ± 0.00 <sup>abBC</sup>	80.64 ± 2.07 <sup>abC</sup>	73.55 ± 1.00 <sup>aD</sup>
A 1.2%+ C1.0%	91.34 ± 0.00 <sup>aA</sup>	84.85 ± 1.44 <sup>aB</sup>	84.84 ± 1.44 <sup>aB</sup>	84.67 ± 1.68 <sup>aB</sup>	74.75 ± 0.96 <sup>aC</sup>
A 0.8%+ C0.7%	87.57 ± 1.28 <sup>gA</sup>	78.96 ± 1.28 <sup>deB</sup>	77.05 ± 3.19 <sup>bcB</sup>	77.05 ± 1.70 <sup>abcB</sup>	66.52 ± 1.28 <sup>cC</sup>
A 1.0%+ C0.7%	88.91 ± 1.11 <sup>dA</sup>	82.14 ± 0.00 <sup>abcB</sup>	79.59 ± 1.13 <sup>bcC</sup>	79.59 ± 1.70 <sup>bcdC</sup>	69.40 ± 0.00 <sup>cD</sup>
A 1.2%+ C0.7%	88.49 ± 1.10 <sup>fA</sup>	81.92 ± 1.09 <sup>abcdB</sup>	81.10 ± 1.64 <sup>bcB</sup>	83.94 ± 3.24 <sup>abcB</sup>	71.23 ± 1.10 <sup>abC</sup>
A 0.8%+ C0.5%	85.99 ± 1.44 <sup>iA</sup>	77.35 ± 0.00 <sup>eB</sup>	74.13 ± 0.00 <sup>dB</sup>	74.13 ± 2.15 <sup>dB</sup>	61.20 ± 0.00 <sup>dC</sup>
A 1.0%+ C0.5%	87.52 ± 1.28 <sup>hA</sup>	79.84 ± 0.00 <sup>cdeB</sup>	76.97 ± 1.92 <sup>cdB</sup>	76.96 ± 1.92 <sup>cdB</sup>	66.40 ± 1.28 <sup>cC</sup>
A 1.2%+ C0.5%	88.66 ± 1.16 <sup>eA</sup>	81.68 ± 1.74 <sup>bcdB</sup>	79.06 ± 1.74 <sup>bcB</sup>	80.81 ± 1.16 <sup>bcdB</sup>	71.20 ± 1.16 <sup>abC</sup>

หมายเหตุ อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ ไคโตซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิด และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ผลการทดลองจากตารางที่ 6 พบว่าประสิทธิภาพของกระบวนการห่อหุ้มสาร แอสตาแซนธินในทุกสภาวะมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) โดยเมื่อเปรียบเทียบการใช้ความเข้มข้นของ ไคโตซานที่ระดับเท่ากันร่วมกับการใช้อัลจินต์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าประสิทธิภาพของกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินสูงขึ้นเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินต์ที่สูงมากขึ้น เช่นเดียวกับการใช้ความเข้มข้นของอัลจินต์ที่ระดับเท่ากัน ร่วมกับการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (0.5, 0.7 และ 1.0 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของไคโตซานสูงขึ้นประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินก็มากขึ้นตามไปด้วย โดยสภาวะการใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินต์ และไคโตซานสูงสุดที่ 1.2 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตรและ 1.0 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตร ตามลำดับ ให้ประสิทธิภาพของกระบวนการ ห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินได้สูงสุด (วันที่ 0) และจากการเก็บรักษามีคพบว่าทุกระดับความเข้มข้น ของอัลจินต์ และไคโตซานมีค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยที่การใช้ระดับความ เข้มข้นของอัลจินต์ และไคโตซานสูงสุดมีค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบอื่นๆ โดยประสิทธิภาพการห่อหุ้มลดลงจาก 91.34% เป็น 74.75% คิด เป็น 18.16% เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่าเมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของสารเคลือบที่เพิ่มขึ้นจะส่งผล ต่อประสิทธิภาพต่อการห่อหุ้มสารที่สูงขึ้นไปด้วย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Li *et al.* (2002) ที่ได้ศึกษา การห่อหุ้มสาร โดยใช้สารเคลือบ คือไคโตซาน และอัลจินต์ ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าเมื่อมีการใช้ความ เข้มข้นของไคโตซานที่ระดับเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารสูงขึ้นไปด้วย โดย เมื่อใช้ความเข้มข้นของไคโตซานสูงสุดที่ระดับ 1.0 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตรพบว่าได้ประสิทธิภาพ ของการห่อหุ้มสารสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ  $84.13 \pm 0.24$

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของการห่อหุ้ม (Encapsulation Efficiency, %EE) สารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดที่ความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ของการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Encapsulation Efficiency(%EE)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
A 0.8%+ C1.0%	89.19 ± 1.11 <sup>cA</sup>	88.55 ± 0.14 <sup>aA</sup>	87.64 ± 0.16 <sup>aA</sup>	85.03 ± 1.66 <sup>abB</sup>	83.92 ± 0.37 <sup>abB</sup>
A 1.0%+ C1.0%	90.17 ± 1.00 <sup>bA</sup>	88.55 ± 0.14 <sup>aAB</sup>	87.76 ± 0.16 <sup>aBC</sup>	86.39 ± 1.00 <sup>abCD</sup>	85.39 ± 0.67 <sup>aD</sup>
A 1.2%+ C1.0%	91.34 ± 0.00 <sup>aA</sup>	89.00 ± 0.23 <sup>aB</sup>	87.89 ± 0.00 <sup>aBC</sup>	86.82 ± 0.84 <sup>aCD</sup>	85.82 ± 0.79 <sup>aD</sup>
A 0.8%+ C0.7%	87.57 ± 1.28 <sup>gA</sup>	85.18 ± 1.07 <sup>bAB</sup>	84.32 ± 0.33 <sup>bAB</sup>	82.47 ± 2.34 <sup>bcdBC</sup>	80.23 ± 1.70 <sup>deC</sup>
A 1.0%+ C0.7%	88.91 ± 1.11 <sup>dA</sup>	85.32 ± 0.15 <sup>bAB</sup>	84.86 ± 0.23 <sup>bB</sup>	82.78 ± 2.55 <sup>bcB</sup>	81.51 ± 1.70 <sup>cdB</sup>
A 1.2%+ C0.7%	88.49 ± 1.10 <sup>fA</sup>	85.80 ± 0.30 <sup>bB</sup>	85.15 ± 1.39 <sup>bB</sup>	84.65 ± 0.75 <sup>abB</sup>	84.09 ± 0.75 <sup>abB</sup>
A 0.8%+ C0.5%	85.99 ± 1.44 <sup>iA</sup>	81.31 ± 0.94 <sup>cB</sup>	81.17 ± 1.03 <sup>cB</sup>	78.74 ± 2.35 <sup>dB</sup>	75.22 ± 0.00 <sup>fC</sup>
A 1.0%+ C0.5%	87.52 ± 1.28 <sup>hA</sup>	82.47 ± 0.94 <sup>cB</sup>	82.01 ± 1.38 <sup>cB</sup>	80.16 ± 1.70 <sup>cdBC</sup>	78.56 ± 0.85 <sup>eBC</sup>
A 1.2%+ C0.5%	88.66 ± 1.16 <sup>eA</sup>	84.56 ± 0.41 <sup>bB</sup>	84.43 ± 0.17 <sup>bB</sup>	83.71 ± 0.78 <sup>abcBC</sup>	83.13 ± 0.77 <sup>bcC</sup>

หมายเหตุ อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ ไคโตซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิด และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ผลการทดลองจากตารางที่ 7 แสดงผลของประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินเมื่อเก็บรักษาเมล็ดบีดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกับการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือ ประสิทธิภาพของกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในทุกสภาวะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดบีดเป็นระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้นของอัลจินตและไคโตซานมีผลต่อประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน โดยประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีระดับการใช้ความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานมากขึ้น จากการทดลองอัลจินต และไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร และ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ตามลำดับ ให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในสัปดาห์ที่ 4 มีค่าสูงสุดที่ร้อยละ 85.82 เมื่อคิดเป็นร้อยละการลดลงของประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารจากวันแรก พบว่ามีค่าลดลงร้อยละ 6 และเมื่อเปรียบเทียบกับ การเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ให้ค่าประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินที่ดีกว่า และลักษณะของเมล็ดบีดมีลักษณะทางกายภาพคงเดิม เนื่องจากการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะสามารถช่วยลดปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดกับเมล็ดบีดได้ดีกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงทำให้สารเคลือบสามารถรักษาสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การคำนวณปริมาณของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเมล็ดบีด 1 กรัม พบว่ามีปริมาณสารแอสตาแซนธินเท่ากับ 0.098 มิลลิกรัม จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าที่สภาวะการใช้ความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานสูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร และ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ตามลำดับ เป็นสภาวะที่มีค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารลดลงน้อยที่สุดเมื่อเก็บเมล็ดบีดเป็นระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ทำให้ความสามารถในการรักษาปริมาณสารแอสตาแซนธินไว้ภายในเมล็ดบีดได้ดีที่สุด และมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้พัฒนา กับผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ

#### 2.4 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน

แอสตาแซนธินเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และต้านการอักเสบต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับร่างกายได้ โดยทำหน้าที่ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรหรือยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระอันเป็นสาเหตุในการทำลายเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย ในปัจจุบันได้มีงานวิจัยหลายผลานที่เผยแพร่เกี่ยวกับสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแคโรทีนอยด์ โดยพบว่าแอสตาแซนธินนั้นมีสมบัติในการเป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อย่างมี

ประสิทธิภาพ เมื่อเปรียบเทียบกับสารชนิดอื่นๆ ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วยกัน (Nishigaki *et al.*, 1994; Jorgensen and Skibsted, 1993)

#### 2.4.1 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH)

DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวสูงจึงสามารถใช้ในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Roy *et al.*, 2010 and Yuan *et al.*, 2012) ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็บบีดของทุกสภาวะการศึกษาดูอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 8 และ 9 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้ม (control) และแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้ม พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มมีประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงจากร้อยละ 70.86 (วันที่ 0) เป็นร้อยละ 13.01 เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อคิดเป็นสัดส่วนจะลดลงถึงร้อยละ 82 และเมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็บบีดของทุกระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารเคลือบ พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป 4 สัปดาห์ สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มจะมีสัดส่วนการลดลงของประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงในช่วงร้อยละ 23.9 - 42.0 เนื่องจากกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินนั้นมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเสื่อมเสียของสารจากสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ดี จึงทำให้สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ยังคงสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการห่อหุ้ม และจากผลการทดลองสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มที่เริ่มต้นพบว่ามีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็บบีด

จากผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของเม็บบีดที่สภาวะระดับความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในเม็บบีดของทุกสภาวะมีค่าการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 4 สัปดาห์ และเมื่อเปรียบเทียบผลของระดับความเข้มข้นของสารเคลือบ พบว่าความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานที่ใช้มีผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์กระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินที่ระดับ

ความเข้มข้นของไคโตซานเท่ากันร่วมกับการใช้อัลจินเตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าค่าประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินสูง ขึ้นเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินเตที่สูงมากขึ้น จากตารางที่ 8 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ ไคโตซานที่ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับอัลจินเตที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.8, 1.0 และ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ให้ค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันเท่ากับร้อยละ 70.93, 72.43 และ 73.96 ตามลำดับ (วันที่ 0 ของการเก็บรักษา) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเมื่อบีบคั้น ผ่านไป 4 สัปดาห์ พบว่าค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันลดลงเท่ากับร้อยละ 52.68, 54.30 และ 56.27 ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการใช้ความเข้มข้นของอัลจินเตที่ระดับเท่ากันร่วมกับการใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (0.5, 0.7 และ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของไคโตซาน สูงขึ้นประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันจะมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่าเมื่อใช้ระดับ ความเข้มข้นของอัลจินเตที่ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ 0.5, 0.7 และ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร พบว่าค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันที่ได้เท่ากับร้อยละ 70.77, 73.97 และ 73.96 ตามลำดับ (วันที่ 0 ของการเก็บรักษา) แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเมื่อบีบ คั้น ผ่านไป 4 สัปดาห์ ค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันลดลงเท่ากับร้อยละ 46.29, 55.91 และ 56.27 ตามลำดับ โดยที่สภาวะการใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินเต และไคโตซานสูงสุดที่ 1.2 ร้อยละ น้ำหนักโดยปริมาตรและ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตรให้ประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของ สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเมื่อบีบคั้นได้สูงที่สุด โดยพบว่าเมื่อเก็บรักษาผ่านไป 4 สัปดาห์ มี ค่าประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงคิดเป็นร้อยละ 23.92 ซึ่งเป็นสภาวะที่มีประสิทธิภาพใน การห่อหุ้มสารไว้ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่สภาวะอื่นๆ ดังนั้นความเข้มข้นของสารเคลือบอัลจินเต และไคโตซานที่ใช้ในการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินธรรมชาติจึงมีผลต่อประสิทธิภาพการต้าน ออกซิเดชัน โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินเต และไคโตซานสูงขึ้นไปจะช่วยรักษาประสิทธิภาพ ของสารแอสตาแซนธินให้มีประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินเต และไคโตซานที่ต่ำลงมา จากการวิเคราะห์สมบัตการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินโดยใช้วิธี DPPH มีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang *et al.* (2012) ที่ได้ศึกษาการสกัดสารแอสตาแซนธิน จาก สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* โดยใช้เทคนิค Supercritical fluid extraction และทดสอบสมบัตการ ต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินใน Sunflower oil เมื่อเก็บรักษาสารไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยพบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารตัวอย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่ อุณหภูมิต่ำ และเมื่อปริมาณของสารตัวอย่างเพิ่มสูงขึ้นจะมีผลต่อการยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ ออกไซด์ได้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) ของสารแอสตาแซนธินในเมล็ดบีคี่ที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Scavenging effect on DPPH(%Inhibition)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สารสกัดแอสตาแซนธิน	70.86 ± 0.03 <sup>cA</sup>	35.85 ± 0.67 <sup>gB</sup>	29.82 ± 0.18 <sup>fC</sup>	22.71 ± 0.25 <sup>hD</sup>	13.01 ± 0.30 <sup>hE</sup>
A 0.8%+ C1.0%	70.93 ± 0.01 <sup>cA</sup>	63.59 ± 0.29 <sup>cdB</sup>	61.25 ± 0.15 <sup>bc</sup>	54.41 ± 0.00 <sup>cd</sup>	52.69 ± 0.24 <sup>ce</sup>
A 1.0%+ C1.0%	72.43 ± 0.01 <sup>bA</sup>	64.91 ± 0.29 <sup>bB</sup>	63.53 ± 0.15 <sup>ac</sup>	56.91 ± 0.00 <sup>bd</sup>	54.30 ± 0.36 <sup>be</sup>
A 1.2%+ C1.0%	73.96 ± 0.09 <sup>aA</sup>	66.52 ± 0.20 <sup>ab</sup>	63.58 ± 0.34 <sup>ac</sup>	58.89 ± 0.11 <sup>ad</sup>	56.27 ± 0.24 <sup>ae</sup>
A 0.8%+ C0.7%	69.07 ± 0.02 <sup>gA</sup>	64.13 ± 0.07 <sup>bb</sup>	59.66 ± 1.14 <sup>cc</sup>	47.92 ± 0.33 <sup>ed</sup>	45.69 ± 0.00 <sup>deE</sup>
A 1.0%+ C0.7%	70.13 ± 0.05 <sup>cA</sup>	62.52 ± 0.55 <sup>eb</sup>	58.56 ± 0.23 <sup>dc</sup>	47.75 ± 0.22 <sup>ed</sup>	45.04 ± 0.16 <sup>efE</sup>
A 1.2%+ C0.7%	73.97 ± 0.09 <sup>aA</sup>	62.96 ± 0.45 <sup>deB</sup>	61.88 ± 0.34 <sup>bc</sup>	59.23 ± 0.22 <sup>ad</sup>	55.91 ± 0.24 <sup>ae</sup>
A 0.8%+ C0.5%	72.50 ± 0.01 <sup>bA</sup>	57.46 ± 0.20 <sup>fb</sup>	55.39 ± 0.46 <sup>cc</sup>	47.09 ± 0.33 <sup>fd</sup>	41.99 ± 0.79 <sup>ge</sup>
A 1.0%+ C0.5%	69.70 ± 0.02 <sup>fA</sup>	57.64 ± 0.26 <sup>fb</sup>	56.24 ± 0.23 <sup>cc</sup>	46.36 ± 0.16 <sup>gd</sup>	44.44 ± 0.36 <sup>fe</sup>
A 1.2%+ C0.5%	70.77 ± 0.03 <sup>dA</sup>	62.72 ± 0.59 <sup>deB</sup>	57.84 ± 0.30 <sup>dc</sup>	49.47 ± 0.16 <sup>dd</sup>	46.29 ± 0.16 <sup>de</sup>

หมายเหตุ อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ ไคโตซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิด และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ผลการทดลองในตารางที่ 9 แสดงผลของประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเมื่อเก็บรักษาเมล็ดบีดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าสอดคล้องและมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นั่นคือประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในทุกสภาวะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดบีดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารสกัดแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้ม (control) มีประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงจากร้อยละ 70.86 (วันที่ 0) เป็นร้อยละ 32.49 เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อคิดเป็นสัดส่วนจะลดลงสูงถึงร้อยละ 54 และเมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเมล็ดบีด พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ดบีดผ่านไป 4 สัปดาห์ สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มจะมีสัดส่วนของประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงในช่วงร้อยละ 13.3 - 19.07 ซึ่งทำให้ทราบว่า การเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถป้องกันและรักษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินได้สูงกว่าเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่ามีสัดส่วนการลดลงของประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันอยู่ในช่วงร้อยละ 23.9 - 42.0 ดังแสดงในตารางที่ 8

จากผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ของการเก็บรักษา พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในเมล็ดบีดของทุกสภาวะมีค่าการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และจากการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสาร พบว่าความเข้มข้นของอัลจินต และ โคลโตซานที่ใช้มีผลต่อประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกับการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินต และ โคลโตซานมากขึ้น โดยที่อัลจินตมีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร และ โคลโตที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ให้ค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเริ่มต้นสูงที่สุดที่ร้อยละ 73.96 และเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ มีค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันลดลงเท่ากับร้อยละ 62.78 หรือคิดเป็นร้อยละการลดลงของประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันเท่ากับร้อยละ 13 ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดสำหรับการรักษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองในตารางที่ 8 และ 9 พบว่าระดับความเข้มข้นของอัลจินต และ โคลโตซาน มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพห่อหุ้มสาร เนื่องจากมีผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสาร

แอสตาแซนธิน โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานเพิ่มมากขึ้นจะเกิดการ cross-link กันระหว่างไคโตซานกับอัลจินตมากขึ้น (George and Abraham, 2006) และช่วยป้องกันหรือลดการเกิดปฏิกิริยาของสารแอสตาแซนธินกับปัจจัยต่างๆ ซึ่งมีผลทำให้ลดการเสื่อมเสียของสารแอสตาแซนธินได้ดียิ่งขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาของเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ให้ค่าประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินได้ดีกว่า เนื่องจากการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะสามารถช่วยลดปฏิกิริยาต่างๆ ที่จะเกิดกับเมล็ดบีด และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงทำให้สารเคลือบสามารถรักษาสสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาเมล็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยังคงมีประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมล็ดบีดมีความคงตัว และสะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชัน โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) ของสารแอสตาแซนธินในเมล็ดบีคี่ที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Scavenging effect on DPPH (%Inhibition)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สารสกัดแอสตาแซนธิน	70.86 ± 0.03 <sup>cA</sup>	47.67 ± 0.35 <sup>gB</sup>	44.90 ± 0.43 <sup>hC</sup>	41.08 ± 0.32 <sup>hD</sup>	32.49 ± 0.16 <sup>gE</sup>
A 0.8%+ C 1.0%	70.93 ± 0.01 <sup>cA</sup>	66.33 ± 0.11 <sup>bb</sup>	65.67 ± 0.18 <sup>dec</sup>	55.38 ± 0.25 <sup>eE</sup>	57.64 ± 0.20 <sup>hD</sup>
A 1.0%+ C 1.0%	72.43 ± 0.01 <sup>bA</sup>	67.73 ± 0.05 <sup>aB</sup>	66.40 ± 0.13 <sup>cC</sup>	62.50 ± 0.53 <sup>ad</sup>	61.64 ± 0.13 <sup>bE</sup>
A 1.2%+ C 1.0%	73.96 ± 0.09 <sup>aA</sup>	67.67 ± 0.11 <sup>aC</sup>	68.13 ± 0.18 <sup>aB</sup>	60.27 ± 0.22 <sup>bE</sup>	62.78 ± 0.08 <sup>ad</sup>
A 0.8%+ C 0.7%	69.07 ± 0.02 <sup>gA</sup>	62.63 ± 0.56 <sup>gB</sup>	62.96 ± 0.18 <sup>hB</sup>	60.43 ± 0.27 <sup>bc</sup>	59.48 ± 0.12 <sup>hD</sup>
A 1.0%+ C 0.7%	70.13 ± 0.05 <sup>cA</sup>	63.87 ± 0.29 <sup>dC</sup>	65.23 ± 0.09 <sup>gB</sup>	58.46 ± 0.24 <sup>hE</sup>	60.80 ± 0.15 <sup>cd</sup>
A 1.2%+ C 0.7%	73.97 ± 0.09 <sup>aA</sup>	66.80 ± 0.27 <sup>bc</sup>	67.70 ± 0.13 <sup>bb</sup>	60.90 ± 0.27 <sup>bd</sup>	59.86 ± 0.12 <sup>hE</sup>
A 0.8%+ C 0.5%	72.50 ± 0.01 <sup>bA</sup>	61.83 ± 0.27 <sup>hB</sup>	61.00 ± 0.27 <sup>gC</sup>	59.23 ± 0.08 <sup>eE</sup>	59.73 ± 0.08 <sup>hD</sup>
A 1.0%+ C 0.5%	69.70 ± 0.02 <sup>fA</sup>	63.03 ± 0.31 <sup>gB</sup>	62.96 ± 0.11 <sup>hC</sup>	60.42 ± 0.25 <sup>bd</sup>	58.96 ± 0.12 <sup>eE</sup>
A 1.2%+ C 0.5%	70.77 ± 0.03 <sup>dA</sup>	65.20 ± 0.27 <sup>gB</sup>	65.80 ± 0.20 <sup>hB</sup>	62.60 ± 0.12 <sup>aC</sup>	60.88 ± 0.52 <sup>cd</sup>

หมายเหตุ อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ โคลโคซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิดและระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

## 2.4.2 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน โดยวิธี ferrous ion chelating (FIC)

FIC เป็นวิธีวิเคราะห์ที่บ่งบอกถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการจับโลหะในกลุ่มโลหะทรานซิชัน ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำหน้าที่เป็น secondary antioxidant โดยในการวิเคราะห์นี้ สารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่กำจัดโลหะที่เป็นตัวเร่งที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Dimis *et al.*, 1994) ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันโดยวิธี FIC ของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็ดปิดของทุกลักษณะการศึกษาคลอดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 10 และ 11 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของอัลจินตและไคโตซาน พบว่าสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มมีประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันลดลงจากร้อยละ 37.08 เป็นร้อยละ 16.13 เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ซึ่งค่าการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็ดปิด พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป 4 สัปดาห์ สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้มีค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากกระบวนการห่อหุ้มสารนั้นมีประสิทธิภาพในการรักษา และป้องกันการเสถียรภาพของสารแอสตาแซนธินได้ดีจึงทำให้สารแอสตาแซนธินยังคงประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้ม

จากผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของเม็ดปิดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 10) พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในเม็ดปิดของทุกระดับความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานมีค่าการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และจากการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสาร พบว่าความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานที่ใช้มีผลต่อประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกับการทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารด้วยวิธี DPPH โดยพบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีระดับการใช้ความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานมากขึ้น โดยที่อัลจินตมีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร และไคโตซานที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ให้ค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเริ่มต้นสูงที่สุดที่ร้อยละ 39.79 และเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ มีค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันเท่ากับร้อยละ 20.25 ซึ่งเป็นสถานะที่ดีที่สุดสำหรับการรักษาสมบัติ

การด้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเมื่อเปรียบเทียบกับทุกระดับความเข้มข้นของอัลจินตและ  
ไคโตซานอื่นๆ



**ตารางที่ 10** ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชันโดยวิธี ferrous ion chelating (FIC) ของสารแอสตาแซนธินในเมล็ดปัดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆ ที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Chelating effect on FIC (%Chelating)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สารสกัดแอสตาแซนธิน	37.08± 0.16 <sup>hA</sup>	20.64± 0.20 <sup>hB</sup>	18.68± 0.35 <sup>gC</sup>	16.65± 0.31 <sup>gD</sup>	16.13± 0.27 <sup>cE</sup>
A 0.8%+ C1.0%	37.90± 0.21 <sup>fA</sup>	29.03± 0.04 <sup>eB</sup>	25.80± 0.090 <sup>cC</sup>	23.41± 0.12 <sup>dC</sup>	19.46± 0.07 <sup>aD</sup>
A 1.0%+ C1.0%	39.93± 0.12 <sup>aA</sup>	29.55± 0.05 <sup>bB</sup>	27.80± 0.54 <sup>aC</sup>	24.90± 0.09 <sup>bB</sup>	19.59± 0.38 <sup>aE</sup>
A 1.2%+ C1.0%	39.80± 0.69 <sup>bA</sup>	29.98± 0.04 <sup>aB</sup>	27.07± 0.08 <sup>bC</sup>	26.60± 0.14 <sup>aD</sup>	20.26± 0.12 <sup>aC</sup>
A 0.8%+ C0.7%	36.35± 0.20 <sup>iA</sup>	22.59± 0.04 <sup>gB</sup>	24.39± 0.25 <sup>eC</sup>	25.03± 0.09 <sup>bD</sup>	19.66± 0.03 <sup>aE</sup>
A 1.0%+ C0.7%	38.99± 0.10 <sup>dA</sup>	29.28± 0.09 <sup>bcB</sup>	26.55± 0.17 <sup>bC</sup>	24.22± 0.14 <sup>cD</sup>	19.60± 0.03 <sup>aE</sup>
A 1.2%+ C0.7%	39.24± 0.05 <sup>cA</sup>	29.41± 0.04 <sup>bb</sup>	26.95± 0.31 <sup>bC</sup>	24.90± 0.00 <sup>bc</sup>	16.56± 0.02 <sup>bcD</sup>
A 0.8%+ C0.5%	35.58± 0.01 <sup>JA</sup>	24.59± 0.11 <sup>fB</sup>	23.62± 0.17 <sup>fC</sup>	23.88± 0.17 <sup>dD</sup>	17.29± 0.16 <sup>bE</sup>
A 1.0%+ C0.5%	37.51± 0.04 <sup>gA</sup>	25.08± 0.04 <sup>eB</sup>	25.12± 0.14 <sup>dB</sup>	21.42± 0.28 <sup>eD</sup>	18.88± 0.10 <sup>aE</sup>
A 1.2%+ C0.5%	38.73± 0.02 <sup>eA</sup>	25.65± 0.21 <sup>dB</sup>	26.69± 0.26 <sup>bC</sup>	20.26± 0.06 <sup>fD</sup>	19.23± 0.03 <sup>aE</sup>

**หมายเหตุ** อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ ไคโตซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิด และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ผลการทดลองในตารางที่ 11 แสดงค่าประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินด้วยวิธี FIC เมื่อเก็บรักษาเม็ดบีดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกับการเก็บรักษาเม็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในทุกสภาวะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเก็บรักษาเม็ดบีดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ไม่ถูกห่อหุ้มในวันที่ 0 มีค่าเท่ากับร้อยละ 37.08 เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินลดลงเหลือเพียงร้อยละ 17.26 ซึ่งมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบกับสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็ดบีด พบว่าสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเม็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินตและไคโตซานที่แตกต่างกันให้ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ของทุกๆ สัปดาห์ตลอดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของเม็ดบีดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ของการเก็บรักษา พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินในเม็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินตและไคโตซานที่แตกต่างกันมีค่าการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และจากการศึกษาประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารอัลจินต และไคโตซานที่ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสาร พบว่าความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานมีผลต่อประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธิน โดยพบว่าเมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของสารอัลจินต และไคโตซานที่สูงขึ้นค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยที่อัลจินตที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.2 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร และไคโตซานที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร ให้ค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเริ่มต้นสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 39.79 และเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ มีค่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันลดลงเท่ากับร้อยละ 22.41 ซึ่งนับเป็นระดับความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานที่ดีที่สุดสำหรับการรักษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดบีดที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินตและไคโตซานอื่นๆ

จากผลการทดลองในตารางที่ 10 และ 11 เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิของการเก็บรักษาเม็ดบีดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส พบว่าประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มในเม็ดบีดของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ให้ค่าประสิทธิภาพการต่อต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส เนื่องจากการเก็บรักษาเมล็ดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถช่วยลดปฏิกิริยาต่างๆ ที่ จะเกิดกับเมล็ดบดให้ช้าลงมากกว่าจึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงทำให้สารเคลือบสามารถรักษาสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในได้อย่างมี ประสิทธิภาพโดยช่วยรักษาสสมบัติของสารในการต้านออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากผลการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินธรรมชาติที่ได้ จากเศษเหลือของเปลือกกุ้งทั้งที่อยู่ในรูปของสารสกัด และที่ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเมล็ดโดยวิธี DPPH และ FIC พบว่าสารแอสตาแซนธินมีบทบาทเชิงหน้าที่ในการเป็น primary antioxidant คือเป็นสารที่สามารถ หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระได้ด้วยกลไกการให้อิออนไฮโดรเจน ( $^{\circ}\text{H}$ ) หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงซึ่ง ทำให้อนุมูลอิสระเหล่านั้นถูกเปลี่ยนเป็นสารที่มีความเสถียรได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับบทบาทเชิง หน้าที่ในการเป็น secondary antioxidant ที่มีความสามารถในการจับกับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการ เกิดออกซิเดชัน พบว่าสารแอสตาแซนธินมีประสิทธิภาพหน้าที่ในการเป็น secondary antioxidant ได้ น้อย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารแอสตาแซนธินมีบทบาทหน้าที่ในการเป็น primary antioxidant แต่มี บทบาทหน้าที่ในการเป็น secondary antioxidant ได้ค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าสมบัติของสารขึ้นอยู่กับสภาวะในการเก็บรักษา เมื่อมีการนำกระบวนการห่อหุ้มสารมาช่วยในการป้องกัน และรักษาสารจาก สภาวะแวดล้อมต่างๆ พบว่าระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ในกระบวนการห่อหุ้มสารมี ความสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อผลของประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของสาร แอสตาแซนธิน โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของอัลจินต และไคโตซานสูงขึ้นจะช่วยรักษา ประสิทธิภาพของสารแอสตาแซนธินให้มีประสิทธิภาพได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้สมบัติของสารก็ยังขึ้นกับ อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่างอีกด้วย โดยพบว่าการเก็บรักษาสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะช่วยคงประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้สูงกว่าเมื่อเก็บรักษาสารตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแต่อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาเมล็ดบดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยังคงให้ประสิทธิภาพ สูง นอกจากนี้ยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษา รวมทั้งยังมีความสะดวกในการนำไป ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee *et al.* (2011) ที่ได้ ศึกษาการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในรูปแบบของเมล็ดบดโดยสารเคลือบอัลจินตเป็นสารเคลือบ จากนั้นวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มเปรียบเทียบกับสาร แอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้ม พบว่าสารแอสตาแซนธินที่ไม่ได้ถูกห่อหุ้มมีประสิทธิภาพในการต้าน ออกซิเดชันได้สูงสุดที่ 4 วัน หลังจากนั้นประสิทธิภาพก็ลดลงเรื่อยๆ ส่วนสารแอสตาแซนธินที่ถูก ห่อหุ้มภายในเมล็ดบดนั้นยังคงประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันได้สูงกว่าที่ 6 วัน เนื่องจากกระบวนการ ห่อหุ้มสารสามารถป้องกันสารจากสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพการยับยั้งออกซิเดชันโดยวิธี ferrous ion chelating (FIC) ของสารแอสตาแซนธินในเมล็ดปัดที่ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบต่างๆที่การเก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตัวอย่าง	Chelating effect on FIC (%Chelating)				
	วันที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สารสกัดแอสตาแซนธิน	37.08± 0.16 <sup>hA</sup>	24.77± 0.31 <sup>hB</sup>	21.98± 0.32 <sup>gC</sup>	19.21± 0.50 <sup>gD</sup>	17.26± 0.09 <sup>gE</sup>
A 0.8%+ C 1.0%	37.90± 0.21 <sup>fA</sup>	29.98± 0.17 <sup>gB</sup>	25.88± 0.14 <sup>fC</sup>	23.76± 0.26 <sup>fD</sup>	20.89± 0.08 <sup>eE</sup>
A 1.0%+ C 1.0%	39.93± 0.12 <sup>aA</sup>	36.34± 0.17 <sup>aB</sup>	29.50± 0.34 <sup>cC</sup>	25.75± 0.05 <sup>dD</sup>	23.06± 0.05 <sup>aE</sup>
A 1.2%+ C 1.0%	39.80± 0.69 <sup>bA</sup>	36.30± 0.03 <sup>aB</sup>	30.01± 0.34 <sup>bC</sup>	29.72± 0.06 <sup>aC</sup>	22.41± 0.07 <sup>bD</sup>
A 0.8%+ C 0.7%	36.35± 0.20 <sup>iA</sup>	30.56± 0.32 <sup>fB</sup>	28.90± 0.06 <sup>dC</sup>	26.99± 0.14 <sup>dD</sup>	20.43± 0.12 <sup>fE</sup>
A 1.0%+ C 0.7%	38.99± 0.10 <sup>dA</sup>	30.78± 0.03 <sup>fB</sup>	28.35± 0.00 <sup>eC</sup>	28.09± 0.26 <sup>bC</sup>	22.02± 0.07 <sup>cD</sup>
A 1.2%+ C 0.7%	39.24± 0.05 <sup>cA</sup>	32.84± 0.13 <sup>dB</sup>	30.77± 0.08 <sup>aC</sup>	27.28± 0.06 <sup>dD</sup>	21.74± 0.04 <sup>dE</sup>
A 0.8%+ C 0.5%	35.58± 0.01 <sup>jA</sup>	34.31± 0.04 <sup>eB</sup>	28.90± 0.06 <sup>dC</sup>	27.38± 0.28 <sup>dD</sup>	21.66± 0.06 <sup>dE</sup>
A 1.0%+ C 0.5%	37.51± 0.04 <sup>gA</sup>	35.66± 0.03 <sup>bB</sup>	28.48± 0.09 <sup>deC</sup>	25.50± 0.14 <sup>eD</sup>	22.29± 0.06 <sup>bE</sup>
A 1.2%+ C 0.5%	38.73± 0.02 <sup>eA</sup>	32.14± 0.13 <sup>eB</sup>	29.41± 0.06 <sup>cC</sup>	26.26± 0.48 <sup>dD</sup>	23.08± 0.00 <sup>aE</sup>

หมายเหตุ อัลจินต แสดงเป็นอักษร A และ ไคโตซาน แสดงเป็นอักษร C แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>ab</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของชนิด และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ A และ C (แนวตั้ง) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

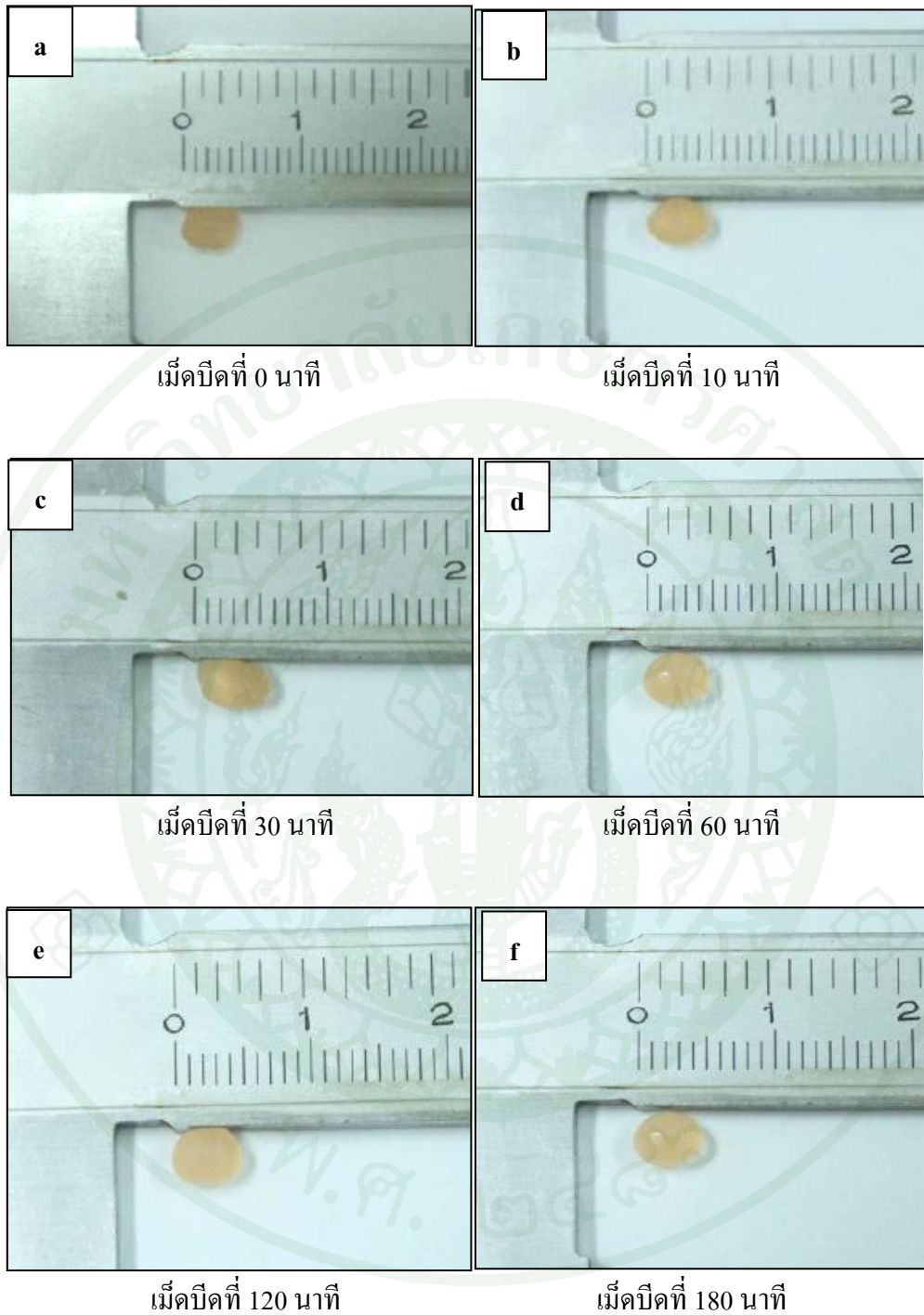
<sup>AB</sup> ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรของระยะเวลาในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (แนวนอน) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

## 2.5 การเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด และเบส

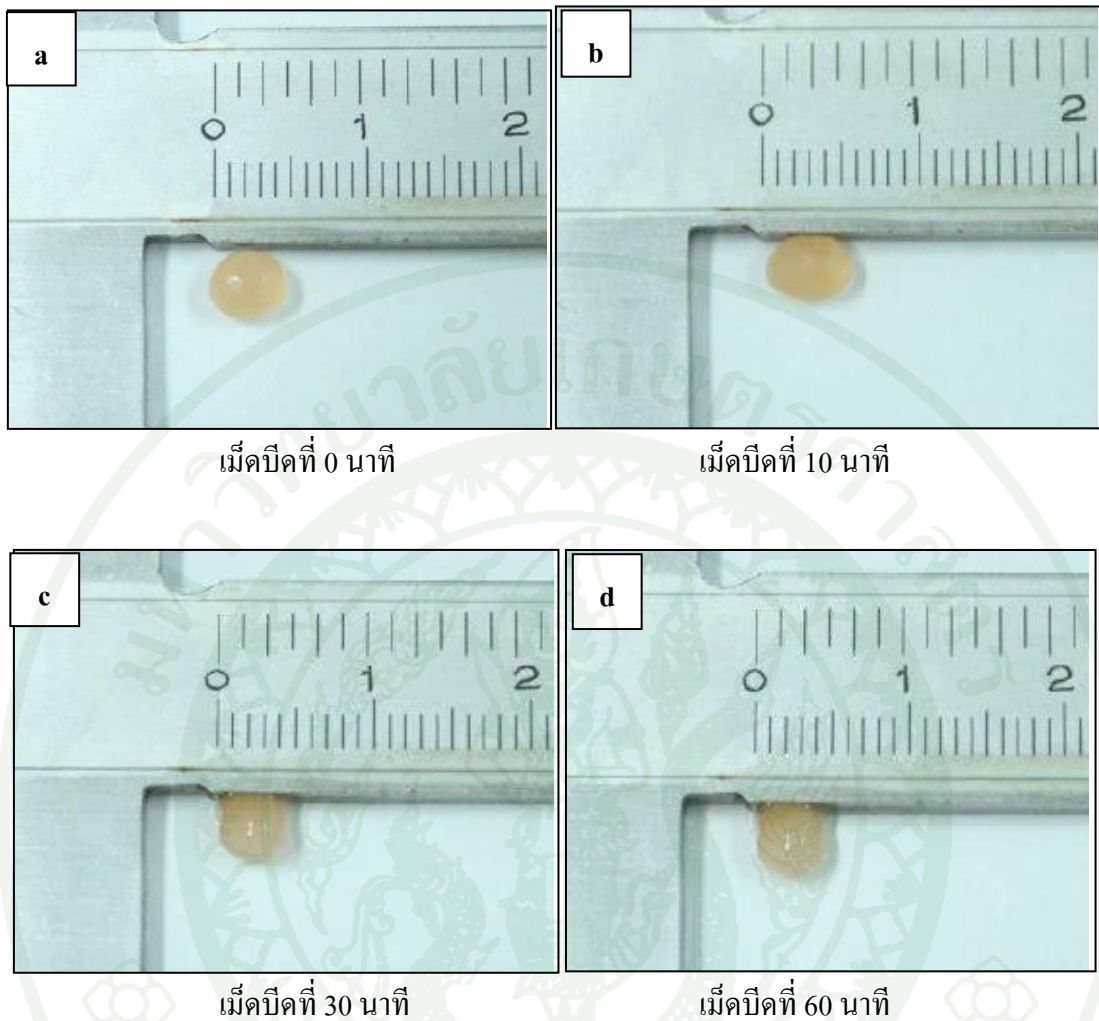
ภาพที่ 9 (a - f) แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด พบว่าเม็ดบีดเกิดการบวมขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ pH 2.0 ตลอดระยะเวลา 180 นาที (ภาพที่ 9f) โดยเม็ดบีดมีขนาดเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่มีการแตกออก แสดงว่าเม็ดบีดสามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรดต่ำได้ดี

ภาพที่ 10 (a - d) แสดงการเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดโดยการเลียนแบบในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบส เมื่อใช้สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ pH 7.4 จากการนำเม็ดบีดที่แช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นระยะเวลา 60 นาที มาแช่ต่อในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ เนื่องจากระบบการย่อยอาหารในทางเดินอาหารของร่างกาย อาหารจะต้องผ่านกระเพาะก่อนที่จะไปถึงส่วนของลำไส้เล็ก ซึ่งจากการทดลองพบว่าเม็ดบีดเกิดการเปลี่ยนแปลงคือ ค่อยๆ หดตัวมีสีซีดจางลงในช่วง 30 นาที (ภาพที่ 10c) และเมื่อแช่ต่อจนถึงเวลา 90 นาที พบว่าเม็ดบีดเริ่มค่อยๆ มีการแตกออกและเม็ดบีดแตกออกอย่างสมบูรณ์เมื่อเวลาผ่านไป 120 นาที ซึ่งแสดงว่าเม็ดบีดถูกย่อยได้ในสภาวะที่เป็นเบสจึงทำให้สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มเกิดการปลดปล่อยออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การควบคุมการปลดปล่อยสารจากกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน โดยใช้อัลจินต และไคโตซาน พบว่าเม็ดบีดมีความคงตัวในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด และสามารถปลดปล่อยสารแอสตาแซนธินในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบสได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 90 นาที ทั้งนี้อธิบายได้ว่าอัลจินตมีสมบัติเกิดการหดตัวได้ที่ pH ต่ำ และละลายได้ที่ pH สูง ในขณะที่ไคโตซานจะละลายที่ pH ต่ำ และไม่ละลายที่ pH สูง ดังนั้นการรวมกันของอัลจินต และไคโตซานจึงมีผลดี โดยอัลจินตช่วยป้องกันไม่ให้ไคโตซานละลายได้ที่ pH ต่ำ และไคโตซานสามารถป้องกันการสลายตัวของอัลจินตได้ที่ pH สูง (George and Abraham, 2006) เมื่อแอสตาแซนธินถูกดูดซึมเข้าไปภายในเซลล์ผนังลำไส้เล็กจะเกิดการรวมกับไขมันและถูกลำเลียงส่งไปที่ตับ โดย chylomicrons จากนั้นจะเกิดการรวมกับ low-density lipoprotein (LDL) และ high-density lipoprotein (HDL) แล้วเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะใน tissues ต่างๆ (Kidd, 2011)



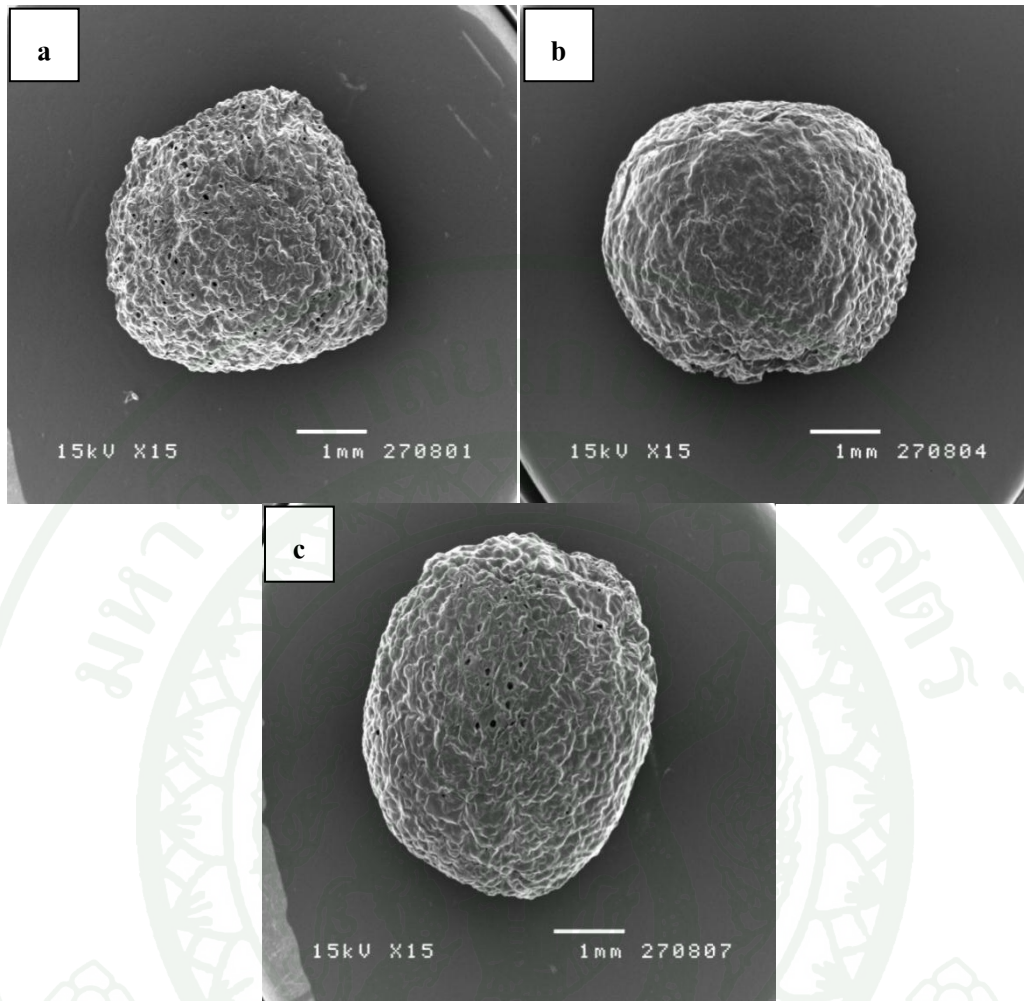
ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดที่เวลา 0 (a), 10 (b), 30 (c), 60 (d), 120 (e) และ 180 (f) นาที  
ในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นกรด



ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของเม็ดบีดที่เวลา 0 (a), 10 (b), 30 (c) และ 60 (d) นาที ในสถานะของเหลวที่มีความเป็นเบส

## 2.5 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเม็ดบีด

Scanning Electron Microscope (SEM) หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่ใช้ electron เป็นแหล่งกำเนิดแสง เป็นเครื่องมือที่ใช้ศึกษาลักษณะพื้นฐานของวัสดุในระดับจุลภาค ที่มีลักษณะรายละเอียดที่เล็กมาก สามารถให้กำลังขยายสูงสุดได้หลายเท่า ภาพโครงสร้างที่เห็นจากเครื่อง SEM จะเป็นภาพลักษณะ 3 มิติ อีกทั้งยังเป็นวิธีที่ประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ ในการศึกษานี้ได้ใช้เครื่อง SEM เพื่อดูรายละเอียดของโครงสร้างภายนอกของเม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร ซึ่งแสดงผลดังในภาพที่ 11 (a-c)



**ภาพที่ 11** ภาพถ่ายลักษณะ โครงสร้างภายนอกของเมล็ดปิดจากกล้อง Scanning Electron Microscope

ภาพ a คือเมล็ดปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.5  
 ภาพ b คือเมล็ดปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 0.7  
 ภาพ c คือเมล็ดปิดที่ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 1.2 ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0

ภาพที่ 11 คือภาพตัวอย่างเมล็ดปิดที่ผ่านการทำให้แห้งด้วย freeze dryer และส่องดูลักษณะ โครงสร้างภายนอกด้วยกล้อง SEM (JEDL, JSM-5410LV, JAPAN) ที่ 15 kV พบว่าลักษณะของเมล็ดปิด ที่ได้มีลักษณะที่กลมรี มีผิวขรุขระ และมีขนาดเล็กกว่าเมล็ดปิดเปียก และจากผลการศึกษาโครงสร้าง ของเมล็ดปิดโดยการเปรียบเทียบจากความเข้มข้นของไคโตซานที่ระดับต่างๆ พบว่าการใช้ไคโตซานที่ ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.7 และ 1.0 ดังแสดงในภาพ b และ c ตามลำดับ เมล็ดปิดมีลักษณะทรงกลม มากกว่าภาพ a ที่ใช้ไคโตซานในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ความเข้มข้น ของไคโตซานที่สูงขึ้นส่งผลต่อการทำปฏิกิริยากับสารอัลจินเตได้มากขึ้น ทำให้กระบวนการห่อหุ้มสาร

เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ผลของการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pasparakis and Bouropoulos, (2006) ที่ได้ศึกษาการห่อหุ้มสาร โดยการใส่แคลเซียมอัลจินต และแคลเซียมอัลจินตร่วมกับไคโตซานได้ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของเม็ดปิด ซึ่งผลการวิเคราะห์ลักษณะของเม็ดปิดที่ได้ พบว่าลักษณะของเม็ดปิดมีรูปร่างทรงกลม

### 3. ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เม็ดปิดลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ สามารถหาซื้อได้ง่าย สะดวกต่อการรับประทาน และเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิการแช่เย็นอาหาร เนื่องจากผลการวิเคราะห์สมบัติประสิทธิภาพการห่อหุ้มสาร และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ในรูปของเม็ดปิดดังแสดงไว้ข้างต้น พบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีผลต่อประสิทธิภาพต่างๆ ของสารแอสตาแซนธินเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ดังนั้นจึงเลือกโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับการนำมาพัฒนาโดยการเติมเม็ดปิดลงในผลิตภัณฑ์ เพื่อเพิ่มความหลากหลาย และเป็นทางเลือกใหม่ๆ สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริม โดยมีชื่อเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่าโยเกิร์ตแอสตาบีด

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเสริมแอสตาบีดทำโดยการเติมเม็ดปิดลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในอัตราส่วนร้อยละ 15 ดังนั้นในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด 1 ถ้วย (น้ำหนักสุทธิ 140 กรัม) จะมีปริมาณสารแอสตาแซนธินบรรจุอยู่ภายในเม็ดปิดประมาณ 2 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการแนะนำให้บริโภคต่อ 1 วัน (Kidd, 2011) จากนั้นก็นำผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีดที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เติมเม็ดปิดลงไปโดยการวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆ ซึ่งได้ผลดังนี้

#### 3.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

โดยปกติแล้วโยเกิร์ตจะมีอายุการเก็บประมาณ 10 วัน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นกรดจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากกิจกรรมของหัวเชื้อที่มีอยู่ในโยเกิร์ต ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและสุดท้ายก็เกิดการแยกชั้นของ curd และ whey ซึ่งมีผลทำให้จุลินทรีย์อื่นๆ เจริญได้ เช่น ยีสต์และรา ดังนั้นในระหว่างกระบวนการผลิต และการบรรจุ จึงต้องคำนึงถึงความระมัดระวังเรื่องของการปนเปื้อนของเชื้อราและยีสต์ในหัวเชื้อโยเกิร์ต (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

เกณฑ์การกำหนดคุณภาพ และมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของโยเกิร์ต ได้กำหนดไว้ว่า จะต้องไม่พบเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichai coli* ในอาหาร 0.1 กรัม และไม่มีจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และไม่มีสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, ฉบับที่ 289) ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และโยเกิร์ตแอสตาบีดแสดงดัง ตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และโยเกิร์ตแอสตาบีดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 วัน

ตัวอย่าง	ชนิดจุลินทรีย์	จำนวนเซลล์		
		เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส		
		วันที่ 0	วันที่ 5	วันที่ 10
โยเกิร์ต	Total bacteria	ND	ND	ND
	Coliform bacteria	<3MPN/ml	<3MPN/ml	<3MPN/ml
	Yeasts and molds	ND	ND	ND
	Psychrotrophic	ND	ND	ND
	Lactic acid bacteria	$37.00 \times 10^6$	$36.75 \times 10^6$	$33.50 \times 10^6$
โยเกิร์ต แอสตาบีด	Total bacteria	ND	ND	ND
	Coliform bacteria	<3MPN/ml	<3MPN/ml	<3MPN/ml
	Yeasts and molds	ND	ND	ND
	Psychrotrophic	ND	ND	ND
	Lactic acid bacteria	$40.75 \times 10^6$	$23.50 \times 10^6$	$12.75 \times 10^6$

หมายเหตุ ND คือ ไม่พบจุลินทรีย์ชนิดนั้น โดยให้ค่าการตรวจนับมีปริมาณน้อยกว่า 10 CFU/g

### 3.1.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ผลการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และโยเกิร์ตแอสตาบีดเมื่อเก็บรักษาที่ 0, 5 และ 10 วัน พบว่าไม่พบการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ตลอดช่วงอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 10 วัน

### 3.1.2 ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค และเป็นพิษ

การตรวจนับเชื้อ Coliform ยีสต์รา และ Psychrotrophic ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และ โยเกิร์ตแอสตาบีด พบว่าไม่พบการเจริญเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ทั้งสองตลอดอายุการเก็บรักษาที่ 0, 5 และ 10 วัน เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Xanthopoulos *et al.* (2012) ที่ได้วิเคราะห์ปริมาณ Coliform ยีสต์ราในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พบว่าตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ 0, 1, 7 และ 14 วัน ไม่พบการเจริญของ Coliform ยีสต์และราเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์

### 3.1.3 ปริมาณแบคทีเรียแลคติก

ผลการตรวจนับเชื้อ Lactic acid bacteria ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จากการวิเคราะห์พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกที่พบใน โยเกิร์ตจะลดลงเรื่อยๆ ตลอดอายุการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 12 เนื่องมาจากการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิต่ำ และค่า pH ที่ลดลงส่งผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ดังนั้นจึงมีผลต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียแลคติก (Kneifel *et al.*, 1993) โดยในสัปดาห์สุดท้ายของการเก็บรักษาพบจำนวนแบคทีเรียแลคติกเหลือรอดอยู่ในช่วง  $36.75 \times 10^6$  และ  $12.75 \times 10^6$  Log CFU/g ของ โยเกิร์ต และ โยเกิร์ตแอสตาบีด ตามลำดับ ซึ่งยังเป็นจำนวนที่มากพอที่เป็นประโยชน์และเหมาะสมสำหรับระบบทางเดินอาหารของร่างกาย Kurman and Rasic, (1991) ได้รายงานไว้ว่าการบริโภคจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจำนวน  $> 10^6$  เซลล์/กรัม ของโยเกิร์ตต่อวันมีประโยชน์ต่อร่างกาย และจากผลการวิเคราะห์ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Xanthopoulos *et al.* (2012) ที่ได้วิเคราะห์จุลินทรีย์ในกลุ่มของ Lactic acid bacteria สำหรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยพบว่าจำนวนแบคทีเรียในกลุ่มของ Lactic acid bacteria มีปริมาณลดลงเล็กน้อยตลอดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ 0, 1, 7 และ 14 วัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไม่พบการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นในขณะที่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติกพบว่าการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอาจมีเหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่น้อยกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกโดยเฉพาะ จึงทำให้เชื้ออาจมีการเจริญได้ยังไม่เต็มที่จึงทำให้ไม่เห็นการเจริญเกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

### 3.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 130 คน ผู้ทดสอบได้ตอบแบบสอบถามข้อมูลทางด้านสังคมและประชากรศาสตร์ก่อนทำการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ข้อมูลทางด้านสังคม และประชากรศาสตร์ของผู้ทดสอบชิมผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และโยเกิร์ต  
แอสตาบิคคิดเป็นร้อยละ จากจำนวนผู้ทดสอบทั้งสิ้น 130 คน

ข้อมูล	รายละเอียด	ร้อยละ (%)
เพศ	ผู้ชาย	33.7
	ผู้หญิง	66.3
อายุ	<18 ปี	4.4
	18-35 ปี	81.0
	36-45 ปี	12.2
	46-55 ปี	2.4
	>55 ปี	0
ระดับการศึกษา	สูงกว่าปริญญาตรี	13.2
	ปริญญาตรีหรือเทียบเท่า	69.8
	ต่ำกว่าปริญญาตรี	17.0
อาชีพ	นักศึกษา	59.0
	ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ	15.1
	พนักงานบริษัทเอกชน	13.7
	ธุรกิจส่วนตัว	9.3
	แม่บ้าน	2.4
รายได้ต่อเดือน	อื่นๆ (อาชีพอิสระ)	0.5
	<10,000 บาท	49.8
	10,001-20,000 บาท	32.2
	20,001-30,000 บาท	16.6
	>30,001 บาท	1.4
ความถี่ของการบริโภค	ทุกวัน	1.0
บริโภค	5-6 ครั้ง/สัปดาห์	4.4
	2-4 ครั้ง/สัปดาห์	33.7
	≥1 ครั้ง/สัปดาห์	24.8
	≥1 ครั้ง/เดือน	36.1

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ข้อมูล	รายละเอียด	ร้อยละ (%)
ปัจจัยที่มีผลต่อการ	ตราสินค้า	14.5
ซื้อผลิตภัณฑ์	คุณค่าทางโภชนาการ	33.2
โยเกิร์ต	คุณภาพผลิตภัณฑ์	19.2
	ราคา	10.4
	สะดวกหาซื้อง่าย	21.2
	อื่นๆ รสชาติ	1.5
ประเภทโยเกิร์ตที่	ธรรมดา	31.7
รับประทาน	กลิ่นรสต่างๆ	53.2
	โยเกิร์ตเสริมคุณค่าทางอาหาร	15.1

จากข้อมูลด้านสังคมและประชากรศาสตร์ของผู้ทดสอบชิม พบว่ากลุ่มผู้ทดสอบเป็นผู้หญิง ร้อยละ 66.3 และผู้ชายร้อยละ 33.7 ส่วนใหญ่มีอายุอยู่ในช่วง 18 - 35 ปี ซึ่งเป็นวัยเรียนและวัยเริ่มต้น ของการทำงาน (ร้อยละ 81.0) ระดับการศึกษาส่วนใหญ่อยู่ในระดับปริญญาตรีหรือเทียบเท่า (ร้อยละ 69.8) อาชีพของกลุ่มผู้ทดสอบพบว่าส่วนใหญ่เป็นนักศึกษา ร้อยละ 59.0 และเป็นกลุ่มคนทำงานอีก ร้อย ละ 41.0 ซึ่งมีรายได้ต่อเดือนน้อยกว่า 10,000 บาท และ 10,000 บาทขึ้นไป ร้อยละ 49.8 และ 50.2 ตามลำดับ

นอกจากนี้ข้อมูลพฤติกรรมการบริโภคโยเกิร์ต ของกลุ่มผู้ทดสอบพบว่าส่วนใหญ่ บริโภค ผลิตภัณฑ์มากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์ (ร้อยละ 63.9) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการบริโภคโยเกิร์ตส่วนใหญ่เป็น คุณค่าทางโภชนาการ ร้อยละ 33.2 รองลงมาคือมีความสะดวกหาซื้อง่าย และ คุณภาพผลิตภัณฑ์ (ร้อยละ 21.2 และ 19.2 ตามลำดับ) ส่วนประเภทโยเกิร์ตที่เลือกรับประทาน ร้อยละ 31.7 ของผู้ทดสอบเลือก ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแบบธรรมดาในขณะที่ร้อยละ 68.3 ของผู้ทดสอบเลือกโยเกิร์ตที่มีการเติมกลิ่นรสและ โยเกิร์ตที่มีการเสริมคุณค่าทางอาหาร

**ตารางที่ 14** ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (n=130) ที่มีต่อลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสูตรควบคุม และโยเกิร์ตเสริมเม็ดบีดแอสตาแซนธิน (โยเกิร์ตแอสตาบีด) ด้วยวิธี 9-point Hedonic scale และร้อยละของการยอมรับและความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต	
	สูตรควบคุม	สูตรเสริมเม็ดบีด
ลักษณะปรากฏโดยรวม <sup>ns</sup>	7.07 ± 0.67	6.91 ± 0.92
สี <sup>ns</sup>	7.35 ± 0.66	7.35 ± 0.94
กลิ่น <sup>ns</sup>	7.23 ± 0.79	7.12 ± 0.98
รสชาติ	6.41 ± 1.39 <sup>a</sup>	5.70 ± 1.46 <sup>b</sup>
ความรู้สึกละในปาก	6.31 ± 1.40 <sup>a</sup>	5.81 ± 1.37 <sup>b</sup>
ความชอบโดยรวม	6.77 ± 1.10 <sup>a</sup>	6.22 ± 1.13 <sup>b</sup>
เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เมื่อเติมเม็ดบีด (%) <sup>#</sup>	-	91.71
การยอมรับของผลิตภัณฑ์ (%) <sup>#</sup>	100.00	86.21
ความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ (%) <sup>#</sup>	100.00	64.53
ความต้องการซื้อเมื่อทราบว่ามีการเติมสารต่อต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ (%) <sup>#</sup>	-	95.57

**หมายเหตุ** อักษร <sup>a,b</sup> ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ )

<sup>ns</sup> แสดงความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

<sup>#</sup> ด้วยการให้สเกลแบบ (ใช่/ไม่ใช่)จากผู้ทดสอบรวม 130 คน

จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 130 คน ที่มีต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตสูตรควบคุม และโยเกิร์ตแอสตาบีดในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกละในปาก และความชอบโดยรวม พบว่าลักษณะปรากฏโดยรวม สี และกลิ่นนั้นผู้บริโภคให้การยอมรับไม่แตกต่างกัน โดยมีคะแนนอยู่ในช่วงความชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.91 - 7.35) แสดงให้เห็นว่าเม็ดบีดที่บรรจุสารแอสตาแซนธินถูกห่อหุ้มไว้ในโครงสร้างอัลจินต-ไคโตซานได้เป็นอย่างดี สามารถป้องกันสี และกลิ่นของแอสตาแซนธินไม่ให้ถูกปลดปล่อยออกมาในผลิตภัณฑ์ ในขณะที่พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในด้านรสชาติ ความรู้สึกละในปาก และความชอบโดยรวม โดยโยเกิร์ตเสริมเม็ดบีดแอสตาแซนธินได้รับ

คะแนนน้อยกว่าในทุกด้านเมื่อเทียบกับโยเกิร์ตสูตรควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากในขณะที่รับประทาน ผู้บริโภคจำนวนหนึ่งพยายามเคี้ยวเมื่อบิดทำให้เมื่อบิดซึ่งแม้ว่าจะมีขนาดเล็กเพียง 4 มิลลิเมตร และเป็นอนุภาคเล็กๆ กระจายอยู่ในเนื้อผลิตภัณฑ์ เกิดการแตก และปลดปล่อยแอสตาแซนธินออกมาในปาก ทำให้รู้สึกขมซึ่งเป็นธรรมชาติของแอสตาแซนธินส่งผลให้ความรู้สึกในปากได้รับคะแนนการยอมรับน้อยลงไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามการเติมเมื่อบิดแอสตาแซนธินในโยเกิร์ตยังคงได้รับคะแนนความชอบโดยรวมในระดับปานกลางเมื่อเทียบกับโยเกิร์ตสูตรควบคุม ดังจะเห็นได้จากร้อยละ 91.7 ของผู้บริโภคยอมรับได้กับเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่มีการเติมเมื่อบิดแอสตาแซนธินจึงเป็นไปได้ว่าควรมีข้อเสนอแนะในการบริโภคให้หลีกเลี่ยงการเคี้ยวเมื่อบิดเพื่อประสิทธิภาพในการดูดซึมแอสตาแซนธินเมื่อสอบถามความคิดเห็นที่มีต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเสริมเมื่อบิดแอสตาแซนธินร้อยละ 86.21 ของผู้บริโภคยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์นี้แต่มีความต้องการซื้อเพียงร้อยละ 64.53 แต่เมื่อได้รับทราบว่าคุณสมบัตินี้ได้รับการเสริมสารต้านออกซิเดชันในรูปของเมื่อบิดที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าวิตามินอี ซึ่งมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน ช่วยป้องกันโรคที่เกิดขึ้นกับดวงตา ป้องกันผิวหนังจากอันตรายของแสงแดด ป้องกันการเกิดจุดด่างดำจากการแก่ตามวัย ลด Oxidation stress ในสภาวะ neurodegenerative conditions เช่น อัลไซเมอร์พาร์กินสันและการบาดเจ็บของกระดูกสันหลังได้ พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์สูงถึงร้อยละ 95.57 จากผู้ทดสอบชิมทั้งหมด

### 3.2.1 ผลการวิเคราะห์การยอมรับโดยรวม และการตัดสินใจซื้อด้วยเทคนิควิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก (Logistic Regression Analysis, LRA)

การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกเป็นเทคนิคเพื่อใช้พิจารณาว่าลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ซึ่งในที่นี้ ได้แก่ ลักษณะปรากฏโดยรวม สี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกในปาก และความชอบโดยรวม ซึ่งเป็นตัวแปรอิสระเชิงปริมาณ มีอิทธิพลต่อการยอมรับโดยรวม (overall acceptability) และระดับการตัดสินใจซื้อ (purchase intent) ซึ่งเป็นตัวแปรตามซึ่งมีลักษณะเป็นตัวแปรเชิงกลุ่มที่มีค่าได้เพียง 2 ค่า คือ ยอมรับและไม่ยอมรับ ซื้อและไม่ซื้อ ตามลำดับ โดยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ hedonic scale ที่มีช่วงของคะแนนเป็น 1-9 ซึ่งมีจุดสำคัญของระดับคะแนน คือ “ไม่ชอบมากที่สุด” มีคะแนนเป็น 1 ถึง “ชอบมากที่สุด” มีคะแนนเป็น 9 และบอกไม่ถูกว่าชอบหรือไม่ชอบมีคะแนนเป็น 5 และเมื่อการทดสอบคุณลักษณะด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีดเสร็จสิ้นลงก็จะเป็นการถามผู้บริโภคถึงการยอมรับของผลิตภัณฑ์ (คำถาม: ผลิตภัณฑ์นี้ยอมรับได้หรือไม่, ตอบว่าได้หรือไม่) และความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ (คำถาม: ท่านจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้หากมีจำหน่ายในท้องตลาดหรือไม่, ตอบว่าซื้อหรือไม่ซื้อ) และหลังจากให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับประโยชน์ทางด้านสุขภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด (คำถาม: ท่านจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้หรือไม่ หากทราบว่าผลิตภัณฑ์นี้ได้รับการเสริมสารต้าน

อนุมูลอิสระในรูปแบบของเม็ดปิด (beads) ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าวิตามิน E ซึ่งมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่างๆ เช่น ของ โรคกระเพาะ โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน ช่วยป้องกันโรคที่เกิดขึ้นกับดวงตา ป้องกันผิวหนังจากอันตรายของแสงแดด ป้องกันการเกิดจุดดำดำจากการแก่ตามวัย ลด Oxidation stress ในสภาวะ neurodegenerative conditions เช่น อัลไซเมอร์ พาร์กินสันและการบาดเจ็บของกระดูกสันหลัง(ตอบว่าซื้อหรือไม่ซื้อ)

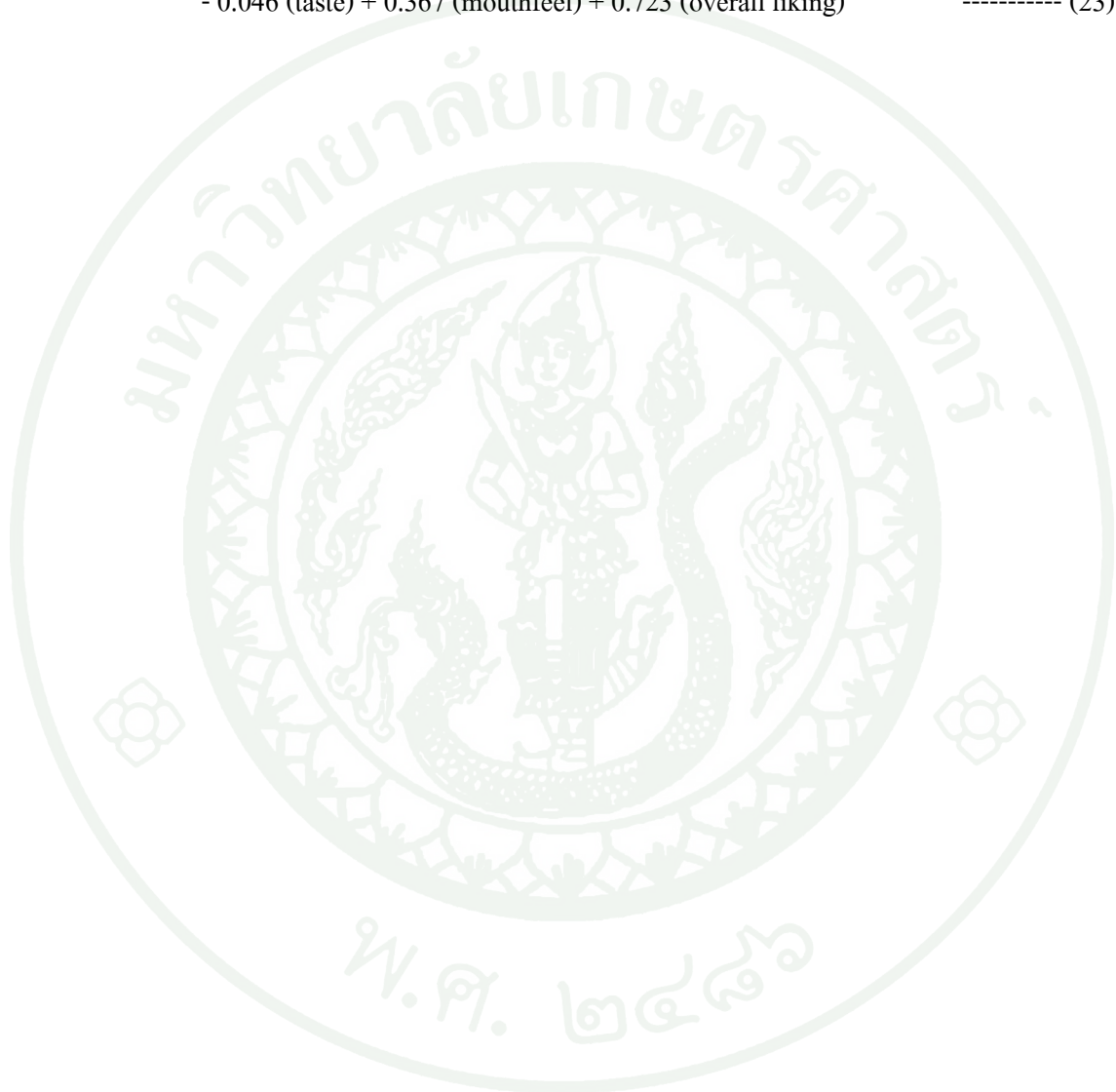
ผลการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการยอมรับโดยรวมหรือการตัดสินใจซื้อเกี่ยวกับลักษณะทางประสาทสัมผัสของ โยเกิร์ตเสริมเม็ดปิดแอสตาแซนธิน และนำสมการถดถอยที่ได้ไปประมาณหรือพยากรณ์การยอมรับหรือการตัดสินใจซื้อ (ตารางที่ 15-18) พบว่า สี กลิ่นและความชอบ โดยรวมเป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับของผลิตภัณฑ์ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มคะแนนทางด้านสี และกลิ่นทำให้ผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้นดังจะเห็นได้จากการที่โยเกิร์ตที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีความหลากหลายของสีและกลิ่น โดยคุณลักษณะด้านสี กลิ่นและความชอบ โดยรวมมีค่า odds ratio ซึ่งในที่นี้เป็น อัตราส่วนของความน่าจะเป็นของการยอมรับและความน่าจะเป็นของการไม่ยอมรับเท่ากับ 2.466, 0.574 และ 2.301 ตามลำดับ หมายความว่าเมื่อคะแนนความชอบด้านสีเพิ่มขึ้น 1 หน่วยบนสเกลแบบ 9-point hedonic ในขณะที่ตัวแปรอิสระอื่นๆหรือลักษณะทางประสาทสัมผัสอื่นๆคงที่ จะทำให้ความน่าจะเป็นของการยอมรับ โดยรวมเป็น 2.466 เท่าของการไม่ยอมรับ โดยรวมหรือกล่าวได้ว่าความน่าจะเป็นของการยอมรับ โดยรวมเพิ่มขึ้น 146 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคะแนนความชอบด้านกลิ่นเพิ่มขึ้น 1 หน่วยจะทำให้ความน่าจะเป็นของการยอมรับ โดยรวมเป็น 0.574 เท่าของการไม่ยอมรับ ดังนั้นในกรณีของความชอบ โดยรวมที่มีค่า odd ratio เท่ากับ 2.301 หมายความว่าความน่าจะเป็นของการยอมรับ โดยรวมเพิ่มขึ้น 130 เปอร์เซ็นต์ทุกๆ การเพิ่มขึ้น 1 คะแนนของคะแนนความชอบ โดยรวมด้วยสเกลแบบ 9-point hedonic จากตารางที่ 15 สามารถเขียนสมการถดถอยโลจิสติกทำนายการยอมรับโดยรวมจากคุณลักษณะด้านต่างๆ ในรูปสมการฟังก์ชันตอบสนอง โลจิทได้ดังสมการที่ (22)

$$\begin{aligned} \text{Log (Odds ratio)} = & -4.080 - 0.489 (\text{overall appearance}) + 0.902 (\text{color}) - 0.556 (\text{aroma}) \\ & + 0.271 (\text{taste}) + 0.130 (\text{mouthfeel}) + 0.833 (\text{overall liking}) \end{aligned} \quad \text{----- (22)}$$

จากตารางที่ 15 พบว่าการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ได้รับอิทธิพลมาจากสี และ ความชอบ โดยรวมที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 คุณลักษณะที่สำคัญที่สุดที่ใช้ในการทำนายการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ตเสริมเม็ดปิดแอสตาแซนธินคือคะแนนความชอบ โดยรวม ซึ่งมีค่า odd ratio เท่ากับ 2.06 ในขณะที่คุณลักษณะด้านสีมีค่า odd ratio เท่ากับ 1.676 อธิบายได้ว่าคะแนนของคุณลักษณะด้านสีที่เพิ่มขึ้น 1 หน่วยจะทำให้การตัดสินใจซื้อเพิ่มขึ้น 67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคะแนนความชอบ โดยรวมเพิ่มขึ้น 1 หน่วย จะทำให้ความน่าจะเป็นของการตัดสินใจซื้อเป็น 2.06 เท่าของการไม่ตัดสินใจซื้อ ทั้งนี้สามารถเขียน

สมการถดถอยโลจิสติกทำนายการตัดสินใจซื้อจากคุณลักษณะด้านต่างๆในรูปสมการฟังก์ชัน  
ตอบสนองโลจิทได้ดังสมการที่ (23)

$$\text{Log (Odds ratio)} = -5.194 - 0.436 (\text{overall appearance}) + 0.517 (\text{color}) - 0.21 (\text{aroma}) \\ - 0.046 (\text{taste}) + 0.367 (\text{mouthfeel}) + 0.723 (\text{overall liking}) \quad \text{----- (23)}$$



ตารางที่ 15 ค่า Parameter estimates, probability และ odd ratio estimates ของการยอมรับและความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด (n=130)

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	การยอมรับของผลิตภัณฑ์			ความต้องการซื้อต่อผลิตภัณฑ์			ความต้องการซื้อต่อผลิตภัณฑ์เมื่อทราบว่ามีสารแอสตาแซนธิน		
	Estimate	Prob>X <sup>2</sup>	Odd ratio	Estimate	Prob>X <sup>2</sup>	Odd ratio	Estimate	Prob>X <sup>2</sup>	Odd ratio
	ลักษณะปรากฏโดยรวม	-0.489	0.13	0.614	-0.436	0.092	0.646	-0.386	0.306
สี	0.902	0.008	2.466	0.517	0.025	1.676	-0.218	0.539	0.804
กลิ่น	-0.556	0.043	0.574	-0.21	0.299	0.81	-0.016	0.962	0.984
รสชาติ	0.271	0.279	1.311	-0.046	0.814	0.955	0.63	0.049	1.877
ความรู้สึกรสในปาก	0.13	0.575	1.139	0.367	0.056	1.444	-0.441	0.13	0.644
ความชอบโดยรวม	0.833	0.003	2.301	0.723	0.001	2.06	0.645	0.047	1.905
Constant	-4.084			-5.194			2.522		

หมายเหตุ การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกที่ระดับความเชื่อมั่นของ parameter และ estimates ที่ 95%

เมื่อผู้บริโภคได้รับทราบว่ายีสต์แอสตาแซนธินมีสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่มีส่วนช่วยในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆ และประเมินการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภคพบว่าคุณลักษณะด้านรสชาติมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเสริมเม็ดปิดแอสตาแซนธินที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 นอกจากนี้คุณลักษณะด้านความชอบโดยรวมมีค่า odd ratio ลดลงจาก 2.06 เป็น 1.905 แสดงว่าผู้บริโภคยอมรับประโยชน์ต่อสุขภาพของการเติมแอสตาแซนธินลงไปโยเกิร์ต ทั้งนี้มีงานวิจัยที่ใกล้เคียงกันดังเช่นงานวิจัยของ Garcia *et al.* (2009) และ Walker *et al.* (2010) ที่พบว่าผู้บริโภคยอมรับประโยชน์ของการเติมน้ำมันรำข้าว และ โปรตีนถั่วเหลืองลงในผลิตภัณฑ์อาหารตามลำดับ

จากการนำผลการยอมรับ และความต้องการซื้อต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาแซนธินมาพยากรณ์การยอมรับและไม่ยอมรับต้องการซื้อ และไม่ต้องการซื้อสามารถแสดงผลดังตารางที่ 16 - 18 ดังนี้

ตารางที่ 16 การพยากรณ์การยอมรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาแซนธิน (n=130)

ผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต	ค่าพยากรณ์ของผลิตภัณฑ์		ร้อยละของการ จำแนก	ร้อยละโดยรวม ของการจำแนก
	การยอมรับ	ไม่ยอมรับ		
การยอมรับ	107	4	96.4	88.5
ไม่ยอมรับ	11	8	42.1	

ตารางที่ 16 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก สมการได้ทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ยอมรับผลิตภัณฑ์จำนวน 111 คน โดยผู้ทดสอบในกลุ่มนี้จะให้การยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ที่เติมเม็ดปิดจำนวน 107 คน และไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์จำนวน 4 คน สมการสามารถทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 96.4 ในขณะที่สมการทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์จำนวน 19 คน โดยพบว่าผู้ทดสอบกลุ่มนี้จะให้การยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ที่เติมเม็ดปิดจำนวน 11 คน และจะไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์จำนวน 8 คน สมการสามารถทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 42.1 สรุปโดยรวมสมการสามารถทำนายความถูกต้องได้ร้อยละ 88.5

ตารางที่ 17 การพยากรณ์ความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาแซนธิน (n=130)

ผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต	ค่าพยากรณ์ของผลิตภัณฑ์		ร้อยละของการ จำแนก	ร้อยละโดยรวม ของการจำแนก
	ต้องการซื้อ	ไม่ต้องการซื้อ		
ต้องการซื้อ	68	10	87.2	76.2
ไม่ต้องการซื้อ	21	31	59.6	

ตารางที่ 17 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก สมการ ได้ทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 78 คน โดยผู้ทดสอบกลุ่มนี้มีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ที่เดิมเม็ดบีดจำนวน 68 คน และที่ไม่มีความประสงค์ซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 10 คน สมการสามารถทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 87.2 ในขณะที่สมการการทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ไม่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 52 คน โดยจะพบว่าผู้ทดสอบจะต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ที่เดิมเม็ดบีดจำนวน 21 คน และไม่มี ความประสงค์ซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 31 คน สมการจึงทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 59.6 สรุปโดยรวมสมการสามารถทำนายความถูกต้องได้ร้อยละ 76.2

ตารางที่ 18 การพยากรณ์ความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีดเมื่อทราบว่ามีการเติมสารแอสตาแซนธิน (n=130)

ผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต	ค่าพยากรณ์ของผลิตภัณฑ์		ร้อยละของการ จำแนก	ร้อยละโดยรวม ของการจำแนก
	ต้องการซื้อ	ไม่ต้องการซื้อ		
ต้องการซื้อ	117	1	99.2	94.6
ไม่ต้องการซื้อ	6	6	50.5	

ตารางที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก สมการ ได้ทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์เมื่อทราบว่ามีการเติมสารแอสตาแซนธินที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจำนวน 118 คน โดยผู้ทดสอบกลุ่มนี้มีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ที่เดิมเม็ดบีดจำนวน 117 คน และไม่มี ความประสงค์ซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 1 คน สมการสามารถทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 99.2 ในขณะที่สมการการทำนายกลุ่มผู้ทดสอบที่ไม่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมเม็ดบีดที่บรรจุสารแอสตาแซนธิน จำนวน 12 คน โดยพบว่าผู้ทดสอบกลุ่มนี้ที่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ที่เดิมเม็ดบีดมีจำนวน 6 คน และไม่มี ความประสงค์ซื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 6 คน สมการจึงทำนายได้ถูกต้องร้อยละ 50.5 สรุปโดยรวมสมการสามารถทำนายความถูกต้องได้ร้อยละ 94.6

จากผลการวิเคราะห์การยอมรับ และความต้องการซื้อต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด จากการคำนวณการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกมีการพยากรณ์ถูกต้องของสมการพบว่าไม่ต่ำกว่าร้อยละ 75 (การพิจารณาว่าเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องเป็นเท่าใดจึงจะเหมาะสมนั้นขึ้นกับเรื่องที่ใช้ไม่มีการกำหนดแน่นอน แต่ยังเป็นเปอร์เซ็นต์สูงเท่าใดยิ่งแสดงว่า model เหมาะสมทำให้มั่นใจในการนำไปใช้) แสดงว่าตัวแบบ (ผลของการยอมรับไม่ยอมรับ ความต้องการซื้อ และไม่ต้องการซื้อ) ดังกล่าวมีความเที่ยงตรง และมีความแม่นยำค่อนข้างสูงในการนำไปพยากรณ์การยอมรับ และความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามยังควรที่จะต้องระวังในการนำตัวแบบไปพยากรณ์เพื่อจำแนก หรือพยากรณ์

การไม่ยอมรับและไม่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ เนื่องจากร้อยละการจำแนกความถูกต้องค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะผลของการไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์จากตารางที่ 16 ซึ่งมีร้อยละการพยากรณ์ที่ 42.1 จากผลการวิเคราะห์ทั้งหมดจะพบจุดเด่นที่มีความน่าสนใจเมื่อนำตัวแบบไปพยากรณ์ต่อของความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์เมื่อทราบว่าผลิตภัณฑ์ที่เดิมเมื่อปีค.ศ. ๒๕๕๖ บรรจุนิสิตอาชีวศึกษาแซนธินที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าการพยากรณ์ความไม่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มของร้อยละการพยากรณ์ถูกต้องเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ร้อยละการพยากรณ์การยอมรับและความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ยังอยู่ในระดับที่น่าสนใจ ดังนั้นตัวแบบการยอมรับและความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์จากการวิจัยนี้จึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้วางแผนเพื่อประกอบการตัดสินใจสำหรับการลงทุนพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบิล

ในส่วนของการพยากรณ์การยอมรับ/ไม่ยอมรับ ความต้องการซื้อ/ไม่ต้องการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบิลด้วยการสร้างตัวแบบจากตัวแปรอิสระ (คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส) ทั้ง 6 ตัวแปร เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวแปรทั้ง 6 ตัว ที่มีนัยสำคัญต่อการยอมรับและความต้องการซื้อ คือการยอมรับของผลิตภัณฑ์จะพบว่าค่าสี (X2) กลิ่น (X3) และค่าความชอบโดยรวม (X6) มีนัยสำคัญต่อการยอมรับของผลิตภัณฑ์ ส่วนความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์จะพบว่าค่าสี (X2) และค่าความชอบโดยรวม (X6) ที่มีนัยสำคัญต่อความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ และสำหรับความต้องการซื้อของผลิตภัณฑ์เมื่อทราบว่ามีการแอสตาแซนธินจะพบว่ามีการรสชาติ (X4) และความชอบโดยรวม (X6) ที่มีนัยสำคัญต่อความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์ ส่วนลักษณะปรากฏ (X1) และความรู้สึกรสในปาก (X5) นั้นไม่มีนัยสำคัญต่อการยอมรับ ความต้องการซื้อ และความต้องการซื้อเมื่อทราบว่ามีการแอสตาแซนธินในผลิตภัณฑ์ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ และควรที่จะติดตามเพื่อตรวจสอบความแม่นยำของการพยากรณ์เมื่อมีการพัฒนารสชาติของเม็ดบีด หรือพัฒนาการนำเม็ดบีดไปใช้ในผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ เพื่อสร้างเครื่องมือที่จะช่วยในการวิเคราะห์ และตัดสินใจเกี่ยวกับการเลือกพัฒนาและลงทุนในท้องตลาดต่อไป

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. ปริมาณและความเข้มข้นของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือของเปลือกกุ้งมีค่าเท่ากับ  $24.66 \pm 2.91$  มิลลิกรัมจากเปลือกกุ้ง 1 กรัม และ  $1.70 \pm 0.05$  มิลลิกรัมจากสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ อนุพันธ์ของสารสกัดแอสตาแซนธินมีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.50 แสดงว่ามีองค์ประกอบของ free astaxanthin และ astaxanthin monoester ตามลำดับ
2. การใช้ความเข้มข้นของสารเคลือบที่อัลจินต 1.2 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตร และ ไคโตซาน 1.0 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตร ให้น้ำหนัก และขนาดสูงที่สุดของเม็บบิดเท่ากับ  $55.47 \pm 4.20$  มิลลิกรัม และ  $4.23 \pm 0.32$  มิลลิเมตร ตามลำดับ และปริมาณผลผลิตของเม็บบิดมีค่าสูงที่สุด  $85.73 \pm 0.25\%$  ระดับความเข้มข้นของสารเคลือบที่มากขึ้นมีผลต่อปริมาณผลผลิตของเม็บบิด
3. อนุพันธ์ของสารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มไว้ในเม็บบิดมีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.34 และ 0.50 แสดงว่ามีองค์ประกอบของ free astaxanthin และ astaxanthin monoester ตามลำดับ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านองค์ประกอบตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 4 สัปดาห์
4. ประสิทธิภาพของกระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธินในเม็บบิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารเคลือบ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด คืออัลจินต 1.2 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตร ร่วมกับ ไคโตซาน 1.0 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตร มีประสิทธิภาพของการห่อหุ้มสารดีที่สุดตลอดอายุของการเก็บรักษา 4 สัปดาห์
5. เม็บบิดสามารถทนต่อสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเป็นกรด และถูกย่อยได้ในสภาวะของเหลวที่มีความเป็นเบส จึงทำให้สารแอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มเกิดการปลดปล่อยออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ
6. แอสตาแซนธินที่ถูกห่อหุ้มภายในเม็บบิดมีสมบัติการต้านออกซิเดชันในด้าน primary antioxidant ที่สูง แต่มีสมบัติในด้าน secondary antioxidant ค่อนข้างต่ำ โดยการใช้ระดับความเข้มข้นของอัลจินตเท่ากับ 1.2 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตร ร่วมกับ ไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.0 ร้อยละ น้ำหนัก โดยปริมาตรมีความสามารถในรักษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารแอสตาแซนธินได้ดีที่สุด

7. ผลการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีด พบว่าผลิตภัณฑ์ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งยืนยันได้ว่าโยเกิร์ตที่ผสมเม็ดบีดมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค สำหรับการตรวจเชื้อแลคติกที่มีชีวิตในผลิตภัณฑ์พบจำนวนของจุลินทรีย์  $> 10^6$  เซลล์/กรัมตลอดการเก็บรักษาของโยเกิร์ต ซึ่งเป็นจำนวนที่มีการรายงานว่ามีประโยชน์ต่อร่างกาย

8. ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแอสตาบีดเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ที่มีคุณค่าทางด้านโภชนาการอาหาร ซึ่งผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับและมีความต้องการซื้อจากผู้ทดสอบชิมสูงถึงร้อยละ 95.57

#### ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาการเพิ่มความคงตัวของสารแอสตาแซนธินที่สภาวะอื่นๆ เช่น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สภาวะที่มีแสง ออกซิเจน หรือศึกษาการเสื่อมเม็ดบีดลงในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกใหม่ๆ ให้กับผู้บริโภค

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กัลยา วาณิชบัญชา. 2552. การวิเคราะห์สถิติขั้นสูง SPSS for Windows. พิมพ์ครั้งที่ 9. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- เครือเจริญโภคภัณฑ์. 2540. อุตสาหกรรมกุ้ง. วารสารข่าวกุ้ง. 109: 9-10.
- โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา. 2543. นมเปรี้ยวผสมจุลินทรีย์สุขภาพ อาหารนมตัวใหม่ล่าสุดที่เกิดจากพระประสงค์ของในหลวง. อุตสาหกรรมสาร. ปีที่ 43 (ม.ค. - ก.พ. 43), กรุงเทพฯ.
- ชลอ ลิมสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกุล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. บริษัท เมจิก พับบลิชซัน จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 289). 2548. เรื่องนมเปรี้ยว. ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 122 ตอนพิเศษ 021 ง ลงวันที่ 11 มีนาคม พ. ศ. 2548.
- ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. **วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (Practical Technology for *Litopenaeus vannamei* Culture)**. สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม่กกาซีน, สมุทรปราการ.
- ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 2541. เศษที่เหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปกุ้งทำอะไรได้บ้าง. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์. 17. 693: 11.
- เยาวภา ไหวพริบ. 2534. การผลิตไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วราวุฒิ ครุสง และ รุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- สกุลคุณ มากคุณ. 2546. การสกัดและผลของแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้งต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีและค่าTBAของปลาทับทิม (*Oreochromis* sp.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมจิต สุรพัฒน์. 2549. **ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. **สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2555**. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. **สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2557**. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

โอภา วัชรคุปต์. 2550. **สารต้านออกซิเดชัน และภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลโดยอนุมูลอิสระ และดัชนีชี้วัด**. สารต้านออกซิเดชัน: RADICAL SCAVENGING AGENTS.

American Public Health Association. 1992. **Standard methods for the examination of dairy products**. American Public Health Assn, New York.

AOAC. 1990. **Official Method of Analysis**. 15<sup>th</sup> ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Armenta, R.E. and I. Guerrero-Legarreta. 2009. Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp by product. **J. Agric. Food Chem.** 57(14): 6090-100.

Arvisenet, G., P. Le Bail, A. Voilley and N. Cayot. 2002. Influence of physicochemical interactions between amylase and aroma compounds on the retention of aroma in food-like matrices. **J. AGR. Food Chem.** 50: 7088–7093.

Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander. 1995. Carotenoids today and challenges for the future. **In: Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander [eds], Carotenoids vol. 1A: Isolation and Analysis**. Basel: Birkhäuser.

Capelli, B. and G. Cysewski. 2007. Natural astaxanthin: King of the carotenoids. **Cyanotech Corporation**. All rights reserved.

- Cardello, A. V. and H.G. Schutz. 2004. Research note. Numerical scale-point locations for construction the LAM (Labeled affective magnitude) scale. **J. Sens. Stud.** 19: 341-346.
- Ceccalde, H.J., D.F. Cheesman and P.E. Zagalsky. 1996. Properties and characteristics of Ovoverdin. **Soc. Biol.** 160: 587.
- Chean, E.S. 2011. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. **Carbohydr. Polym.** 84: 1267-1275.
- Cyanotech Corporation. 1998. Thin-layer chromatography (TLC). System for NatuRose™. Carotenoids, NatuRose™ Technical Bulletin #003.  
[www.ruscom.com/cyam/web02/pdfs/naturrose/asbu/3.pdf](http://www.ruscom.com/cyam/web02/pdfs/naturrose/asbu/3.pdf)(last accessed 26.02.11)
- Devi, K.P., N. Suganthy, P. Kesika and S.K. Pandian. 2008. Bioprotective properties of seaweeds: *In vitro* evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. **BMC. Complementary and Alternative Medicine.** 8: 38.
- Dickinson, E. 2001. Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology. **Colloids. Surface B.** 20: 197–210.
- Dinis, T.C., V.M. Madeira and L.M. Almerida. 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as peroxy radical scavengers. **Arch. Biochem. Biophys.** 315: 161-169.
- Ducel, V., J. Richard, P. Saulnier, Y. Popineau and F. Boury. 2004. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. **Colloids. Surface A.** 232: 239–247.
- Dufossé, L. 2006. Microbial production of food grade pigments. **Food Technol. Biotech.** 44 (3): 313-321.

- Forde, G.M., A.D. Coomes, F.K. Giliam, Y. Han and M.J. Horsfall. 2006. Creation of protein loaded biodegradable microparticles via ultrasonic atomization suitable for nasal delivery. **Chem. Eng. Res. Des.** 84: 178-184.
- Garcia K., Sriwattana S., No H.K., Corredor J.A.H. and Prinyawtatkul W. 2009. Sensory optimization of a mayonnaise-type spread made with rice bran oil and soy protein. **J. Food Sci.** 74: 248-254.
- George, M. and T.E. Abraham. 2006. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan- a review. **J. Control Release.** 114: 1-14.
- Gharsallaoui, A., G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley and R. Saurel. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Res. Int.** 40 (9): 1107–1121.
- Ghazi, H., S. Ushio, G. Hirozo, M. Kinzo, and W. Hiroshi. 2006. Astaxanthin a Carotenoid with Potential in Human Health and Nutrition. **J. Nat. Prod.** 69 (3): 443-449.
- Gordon, M. 2001. The development of oxidation rancidity in food. In J. Pokorny, N. Yanishlieva and M. Gordon (eds.), **Antioxidants in food: practical applications**. Pp. 7-21. New York: CRC Press.
- Gourdell, Y. and J. Tronel. 2001. Flavoured Gelatin Capsules Capable of Containing Various Substances Used in the Food, Animal Feed, Dietetic and Pharmaceutical Sectors. French Patent Application FR 2 807 677 A1, Gourdell Tronel Man, France.
- Grung, M. 1992. 3S, 3'S Astaxanthin sources from *Haematococcus pluvialis*. **J. Appl. Phycol.** 4: 165-171.
- Halliwel, B., R. Aeschbach, J. Loliger and O.L. Aruoma. 1995. The characterization of antioxidant. **Food Chem. Toxicol.** 33: 601-617.

- Higuera-Ciapara, I., L. Felix-Valenzuela, F.M. Goycoolea and W. Arguelles-Monal. 2004. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. **Carbohydr. Polym.** 56: 41–45.
- Jorgensen, K. and L.H. Skibsted. 1993. Carotenoid scavenging of radicals-effect of carotenoid structure and oxygen partial pressure on antioxidant activity. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung.** 196: 423-429.
- Kidd, P. 2011. Astaxanthin, cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and anti-aging potential. *Altern. Med. Rev.* 16(4): 355-365.
- Kittikaiwan, P., S. Powthongsook, P. Pavasant and A. Shotipruk. 2007. Encapsulation of Haematococcus pluvialis using chitosan for astaxanthin stability enhancement. **Carbohydr. Polym.** 70: 378–385.
- Kim, Y.D. and C.V. Morr. 1996. Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray dried orange oil emulsion particles. **J. AGR. Food Chem.** 44: 1314–1320.
- Klaypradit, W. and Y.W. Huang. 2008. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. **LWT.** 41: 1133-1139.
- Kneifel, W., J. Doris and F. Erhard. 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. **Int. J. Food Microbiol.** 18: 179-189.
- Konstan, M.W. and M. Berger. 1993. In fection and flammation in the lungin cystic fibrosis. **In Cystic Fibrosis**, ed. Davis, P.B, pp. 219-276. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Korus, J. 2001. Microencapsulation of flavours in starch matrix by coacervation method. **Polish J. Food Nutr.** 10/51: 17–23.
- Kurman, J.A., and J.L. Rasic. 1991. **Therapeutic Properties of Fermented Milks.** London: Elsevier Applied Food Sciences.

- Lee, J.S., S.A. Park, D. Chung and H.G. Lee. 2011. Encapsulation of astaxanthin-rich *Xanthophyllomyces dendrorhous* for antioxidant delivery. **Int. J. Biol. Macrol.** 40: 268-273.
- Li, S.J., T.A. Seymour and M.T. Morrissey. 1998. Color stability and lipid oxidation of rockfish as affected by antioxidant from shrimp shell waste. **J. Food Sci.** 63 (3): 438-441.
- Li, S., X.T. Wang, X.B. Zhang, R.J. Yang, H.Z. Zhang, L.Z. Zhu and X.P. Hou. 2002. Studies on alginate-chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **J. Control Release.** 84: 87-98.
- Li, Y., M. Hu, Y. DU, H. Xiao and D.J. McClements. 2011. Control of lipase digestibility of emulsified lipids by encapsulation within calcium alginate beads. **Food Hydrocol.** 25: 122-130.
- Lorenz, T.R. and G.R. Cysewski. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends. Biotechnol.** 18: 160-167.
- Madene, A., M. Jacquot, J. Scher and S. Desobry. 2006. Flavour encapsulation and controlled Release-a review. **Int. J. Food Sci. Tech.** 41: 1-21.
- McCoy, M. 1999. Astaxanthin market a hard one to crack. **Chem. Eng. News.** 77: 15-17.
- Nawar, W.W. 1996. Lipid. In O. R. Fennema (eds.). **Food Chemistry.** 210-243. New York.
- Nishigaki, I., A.A. Dmitrovskii, W. Miki and K. Yagi. 1994. Suppressive effect of astaxanthin on lipid peroxidation induced in rats. **J. Clin. Biochem. Nutr.** 16: 161-166.
- Ong, A.S.H. and E.S. Tee. 1992. Natural sources of carotenoids from plants and oils. **Meth. Enzymol.** 213: 142-167.

- Palace, V.P., N. Khaper, Q. Qin and P.K. Singal. 1999. Antioxidant potentials of vitamin a and carotenoids and their relevance to heart disease. **Free Radical Bio. Med.** 26: 746-761.
- Pasparakis, G. and N. Bouropoulos. 2006. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads. **Int. J. Pharm.** 232 (1-2): 34-42.
- Pu, J., J.D. Bankston and S. Sathivel. 2011. Developing microencapsulation flaxseed oil containing shrimp (*Litopenaeus setiferus*) astaxanthin using a pilot scale spray dryer. **Biosyst. Eng.** 108: 121-132.
- QV, X.Y., Z.P. Zeng and J.G. Jiang. 2011. Praperation of lotein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocol.** 25 (6): 1596-1603.
- Reineccius, T.A., G.A. Reineccius and T.L. Peppard. 2002. Encapsulation of flavors using cyclodextrins: comparison of flavor retention in alpha, beta and gamma types. **J. Food Sci.** 67: 3271-3279.
- Renstrom, B., H. Ronnberg, G. Borch, O.M. Skulberg and S.Liaaen-Jensen. 1982. Animal carotenoids 27. further studies on the carotenoproteins crustacyanin and ovoverdin. **Comp. Biochem. Physiol.** 71B: 249.
- Richard, J. and J.P. Benoit. 2000. **Microencapsulation.** In: Techniques de l'ingenieur. J. 2210: 1-20. Paris, Techniques de l'ingenieur.
- Risch, S.J. 1995. **Encapsulation: overview of uses and techniques.** In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredient (edited by S.J. Rish & G.A. Reineccius). Pp. 2-7. Washington, DC: American Chemical Society.
- Roy, M.K., M. Koide, T.P. Rao, T. Okubo, Y. Ogasawara and L.R. Juneja. 2010. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusion: relationship between total polyphenol and individual catechin content. **J. Food Sci.** 61(2): 109-24.

- Sachindra, N.M., N. Bhaskar, G.S. Siddegowda, A.D. Sathisha and P.V. Suresh. 2005. Recovery of carotenoids from ensilaged shrimp waste. **Bioresource Technol.** 98: 1642–1646.
- Sanchez-Camargo, A.P., M.A.A. Meireles, B.L.F. Lopes and F.A. Cabral. 2011.(a) Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). **Food Eng.** 102: 87-93.
- Sanchez-Camargo, A.P., H.A. Martinez-Correa, L.C. Paviani and F.A. Cabral. 2011.(b) Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lipids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). **J. Supercrit. Fluid.** 56: 164-173.
- Sansone, F., P. Picerno, T. Mencherini, F. Villecco, A.M. D'Ursi, R.P. Aquino and M.R. Lauro. 2011. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. **J. Food Eng.** 103: 188-196.
- Shahidi, F. and X.Q. Han. 1993. Encapsulation of food ingredients. **Crit. Rev. Food Sci.** 33: 501–547.
- Sheu, T.Y. and M. Rosenberg. 1998. Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. **J. Food Sci.** 63: 491–494.
- Shoemaker, R. 1991. **Infofish Technical Handbook 4**. Technical Officer, Kuala Lumpur. 20p.
- Sies, H., W. Stahl and A. Sundquist. 1992. Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. **Ann. NY. Acad. sci.** 368: 7-19.
- Tolasa, S., S. Cakli and U. Ostermeyer. 2005. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **Eur. Food Res. Technol.** 221: 787-791.
- Torrissen, O.J. and R. Christiansen. 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. **J. Appl. Ichthyol.** 11: 225-230.

- Valacchi, G., E. Pagnint, A.M. Corbacho, E. Olano, P.A. Davist, L. Packer and C.E. Coross. 2004. In vivo ozone exposure induces antioxidant stress-related responses in murine lung and skin. **Free Radical Bio. Med.** 36 (5): 673-681.
- Van Acker, S.A., D.J. Van Acker Berg, M.N. Tromp, D.H. Griffioen, W.J. Vander Vijgh and A. Bast. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radic. Biol. Med.** 20: 331-342.
- Walker J., Boeneke C.A., Sriwattana S., Herrera-Corredor J.A. and Prinyawiwatkul S. 2010. Consumer acceptance and purchase intent of a novel low-fat sugar-free sherbet containing soy protein. **J. Food Quality.** 33: 27-41.
- Wang, L., B. Yang, B. Yan and X. Yao. 2012. Supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its antioxidant potential in sunflower oil. **Innov. Food Sci. Emerg.** 12: 120-127
- Williams, P.A. and G.O. Phillips. 2000. Handbook of hydrocolloids. pp. 87-213. New York: CRC Press.
- Xanthopoulos, V., C.G. Ipsilandis and N. Tzanetakis. 2012. Use of a selected multi-strain potential probiotic culture for the manufacture of set-type yogurt from caprine milk. **Small Ruminant Res.** 106: 145-153.
- Yang, J.H., J.L. Mau, P.T. Ko and L.C. Huang. 2000. Antioxidant properties of fermented soybean broth. **Food chem.** 71: 249-254.
- Yazawa, K. 2005. **Micro Gaia Astaxanthin.** Available Source: <http://www.hsrmagazine.com/articles/111brand2.htm>, November 11, 2010.
- Yeo, Y. and K. Park. 2004. A new microencapsulation method using an ultrasonic atomizer based on interfacial solvent exchange. **J. Control Release.** 100: 379-388.

Yuan, C., C. Du, Z. Jin and X. Xu. 2012. Storage stability and antioxidant activity of complex of astaxanthin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. **Carbohydr. Polym.** 91: 385-389.

Zeb, A. and S. Mehmood. 2004. Carotenoids content from various sources and their potential health application. **Pakistan J. Nutrition.** 3 (3): 199-204.

Zagalsky, P.F. 1982. A study of the yellow astaxanthin-protein of lobster carapace. **Comp. Biochem. Physiol.** 71B: 243.

Zagalsky, P.F. and R. Jones. 1982. Quaternary structures of the astaxanthin proteins of *Velevella velevella* and of  $\alpha$ -crustacyanin of lobster carapace, as revealed in electron microscopy. **Comp. Biochem. Physiol.** 71B: 237.

\_\_\_\_\_, 2006. Atomizers. Available Source. Sonics & Materials, Inc. 53 Church Hill Road, Newtown, CT 06470-1614 USA: <http://www.sonicsandmaterials.com/lp-atomizers.htm>, March 10, 2011.





ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณและความเข้มข้นของสารสกัดแอสตาแซนธิน

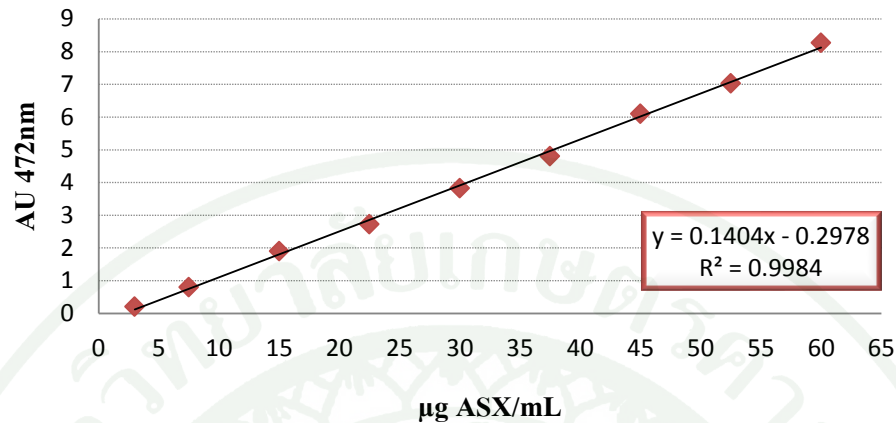
**ตารางผนวกที่ ก1** ปริมาณแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือของกุ้ง

ครั้งที่	ปริมาณสารสกัดจากเปลือกกุ้ง(mg/g)
1	24.53 mg/g
2	22.80 mg/g
3	22.90 mg/g
4	26.30 mg/g
5	18.23 mg/g
6	29.60 mg/g
7	26.20 mg/g
8	24.09 mg/g
9	20.82 mg/g
10	31.10 mg/g
ค่าเฉลี่ย	24.66 ± 2.91 mg/g

**ตารางผนวกที่ ก2** ผลของสารละลายมาตรฐานของสารแอสตาแซนธิน (>92%) ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 472 nm.

ความเข้มข้น(μg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	S.D.
	1	2	3		
3.00	0.19	0.16	0.24	0.20	0.04
7.50	0.77	0.75	0.87	0.80	0.06
15.0	1.95	1.94	1.82	1.90	0.07
22.5	2.72	2.68	2.76	2.72	0.04
30.0	3.93	3.76	3.77	3.82	0.10
37.5	4.75	4.66	4.98	4.80	0.17
45.0	6.16	6.08	6.05	6.10	0.06
52.5	7.15	6.85	7.08	7.03	0.16
60.0	8.28	8.24	8.28	8.27	0.02

## Astaxanthin standard



**ภาพผนวกที่ ก3** กราฟสารละลายมาตรฐานของสารแอสตาแซนธิน (>92%) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 nm.

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเศษเหลือเปลือกกุ้ง

จาก  $Y = 1.40X - 0.297$ ; ค่า absorbance = 0.011

แทนค่า  $0.011 = 1.40X - 0.297$

$X = 0.22$

จากกราฟสารละลายมาตรฐานของสารแอสตาแซนธินซึ่งสารมา 3.0 mg ในตัวทำละลาย 10 ml ดังนั้นสาร 1 ml จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.3 mg/ml

และเมื่อดูดสารมาที่ 0.1 ml มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.03 mg/ml

ทำการเจือจาง 10 เท่า แสดงว่ามีความเข้มข้นเท่ากับ 0.003 mg/ml = 3.0 µg/ml

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดกับสารมาตรฐาน (สารแอสตาแซนธินที่สกัดได้ สารสกัด 23.175 mg)

พบว่า 3.0 µg/ml มีความเข้มข้นสารแอสตาแซนธินเท่ากับ 0.22 µg

ถ้าสารสกัด 23.175 mg จะมีความเข้มข้นของสารแอสตาแซนธินเท่ากับ

$0.22 \mu\text{g} \times 23.175 \text{ mg} / 3.0$  เท่ากับ 1.699 µg/mg

เท่ากับ 1.699 mg/g สารสกัด





ภาพผนวกที่ ข1 การกรองเปลือกกุ้งออกด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ



ภาพผนวกที่ ข2 การระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ



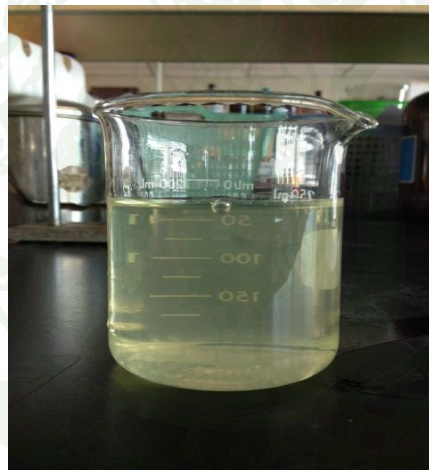
ภาพผนวกที่ ข3 สารสกัดแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง



ภาคผนวก ก  
ภาพขั้นตอนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนธิน



ภาพผนวกที่ ค1 สารละลายอัลจินต



ภาพผนวกที่ ค2 สารละลายไคโตซาน



ภาพผนวกที่ ค3 อิมัลชันของสารละลายอัลจินตกับสารแอสตาแซนธิน



ภาพผนวกที่ ค4 เม็ดบีดที่ได้จากกระบวนการห่อหุ้มสาร



ภาพผนวกที่ ค5 ผลิตกัณฑ์โยเกิร์ตและโยเกิร์ตแอสตาบีด



ภาคผนวก ง  
วิธีการเตรียม 50 mM Phosphate buffer pH 7.4

### วิธีการเตรียม 50 mM Phosphate buffer pH 7.4

เตรียม stock A

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	2.76	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ	100	มิลลิลิตร

เตรียม stock B

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	7.16	กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ	100	มิลลิลิตร

เตรียม 50 mM Phosphate buffer pH 7.4

stock A	21.93	มิลลิลิตร
stock B	3.08	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นจนครบ	100	มิลลิลิตร
*ปรับ pH 7.4 ด้วย 1N NaOH		



**ภาคผนวกที่ ๑1** วิธีการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (American Public Health Association, 1993)

- 1.1 ชั่งโยเกิร์ต 25 กรัม ใส่ลงใน 0.1% peptone water (Difco) 225 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่างที่มีเข้มข้น 1:10
- 1.2 นำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
- 1.3 ปิเปิดอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
- 1.4 ปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเพาะเชื้อ โดยทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ
- 1.5 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ standard plate count agar ที่หลอมเหลว และมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส 15 - 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันกับตัวอย่างอย่างทั่วถึง
- 1.6 ปล่อยให้แข็งตัวให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับงานเพาะเชื้อ
- 1.7 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 1.8 นับจุลินทรีย์ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 -300 โคโลนี
- 1.9 หาผลเฉลี่ยของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ออาหาร 1 กรัม

**ภาคผนวกที่ ๑2** วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Psychrotrophic cont (American Public Health Association, 1993)

ดำเนินการตรวจสอบเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แต่จะทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส

**ภาคผนวกที่ ๑3** วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Coliform (American Public Health Association, 1993)

- 1.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
- 1.2 ปิเปิดตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth 10 มิลลิลิตร ทำระดับความเจือจางละ 3 หลอด
- 1.3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 1.4 ตรวจสอบหลอดที่ให้ผลบวก โดยจะเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ (presumptive test)
- 1.5 ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีก๊าซ ลงใน Brilliant green lactose bile (BGLB)

Broth

- 1.6 BGLB broth นำไปบ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวน

หลอดที่เกิดก๊าซทั้งหมดในขั้นตอนนี้ (Confirm test) นำไปหาค่า MPN ของ Faecal coliform จากตาราง MPN

**ภาคผนวกที่ ๑๔** วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria A.O.A.C. (1998) และ (American Public Health Association. 1993)

- 1.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
- 1.2 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีอาหาร Man Rosaga Sharp
- 1.3 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 1.4 คำนวณจำนวนแบคทีเรียแลคติก แล้วรายงานเป็น Colony Forming Unit (logCFU/g)

**ภาคผนวกที่ ๑๕** วิธีการวิเคราะห์ยีสต์และรา (American Public Health Association. 1993)

- 1.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
- 1.2 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงในงานอาหารเพาะเชื้อโดยทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ
- 1.3 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่ผสมกรดทาร์ทาริกลงไป ประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันกับตัวอย่างอย่างทั่วถึง
- 1.4 ปล่อยให้แห้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับงานเพาะเชื้อ
- 1.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 -5 วัน



## แบบสอบถาม

การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมเสริมคุณค่าทางอาหาร

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม

2 เพศ

ชาย  หญิง

3 อายุ

<18 ปี  18-35 ปี  36-45 ปี  46-55 ปี  >55 ปี

4 ระดับการศึกษา

ต่ำกว่าปริญญาตรี  ปริญญาตรีหรือเทียบเท่า  สูงกว่าปริญญาตรี

5 อาชีพ

นักศึกษา  ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ  พนักงานบริษัทเอกชน  
 ธุรกิจส่วนตัว  แม่บ้าน  อื่นๆ(ระบุ).....

6 รายได้ต่อเดือน

<10,000 บาท  10,001-20,000  20,001-30,000  >30,001

7 ความถี่ในการบริโภคโยเกิร์ต

ทุกวัน  5-6 ครั้งต่อสัปดาห์  2-4 ครั้งต่อสัปดาห์  
 อย่างน้อย 1 ครั้งต่อสัปดาห์  อย่างน้อย 1 ครั้งต่อเดือน

8 ปัจจัยที่มีผลต่อการซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (ตอบได้มากกว่า 1)

ราคาสินค้า  คุณค่าทางโภชนาการ  คุณภาพของผลิตภัณฑ์  
 ราคา  สะดวกหาซื้อได้ง่าย  อื่นๆ(ระบุ).....

9 ประเภทของโยเกิร์ตที่รับประทาน (ตอบซ้ำได้)

ธรรมดา  กลิ่นรสต่างๆ  
 ธรรมดาหรือกลิ่นรสต่างๆที่เสริมคุณค่าทางอาหาร





## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวถกรัตน์ ทักษิมา
วัน เดือน ปี ที่เกิด	21 ธันวาคม 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดกาฬสินธุ์
ประวัติการศึกษา	วทบ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ. ศ. 2552)
ผลงานที่ได้รับตีพิมพ์	Wanwimol Klaypradit, Wanchai Worawattanamateekul, Takunrat Taksima and Watinee Intharapongnuwat. 2014. Characterization of Refined Oils from Atlantic Salmon Belly as Affected by Dedumming. KASETSART UNIVERSITY FISHERIES RESEARCH BULLETIN. 38 (3): 1-15.
ผลงานและรางวัลทางวิชาการ	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kerdpiboon, S., Pilachun, W., Tuksima, T. 2011. "Selected Physical Properties of Jerky Produced from Pon Yang Kham G-Beef," Thailand Research Symposium 2011, Thailand. (In English)</li> <li>2. นิสิตมีความประพฤติดีเด่น มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติจังหวัดสกลนคร (ระดับบัณฑิตศึกษา ปีการศึกษา 2551)</li> <li>3. ได้รับรางวัลรองชนะเลิศผลงาน"แอสตาบีด (astabead)" ในการประกวดนวัตกรรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ. ศ. 2555</li> <li>4. ได้รับรางวัล Popular Vote ผลงาน"แอสตาบีด (astabead)" ในการประกวดนวัตกรรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ. ศ. 2555</li> <li>5. Has actively participated and given the presentation entitled "Use of Encapsulation Technology to Improve Stability of Natural Astaxanthin for Being Used as Dietary Supplement" At the International Fisheries Symposium-IFS 2012 held at Can Tho City. VIETNAM, from 06<sup>th</sup>-08<sup>th</sup> December 2012.</li> <li>6. นิสิตคณะประมงดีเด่น มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ระดับมหาบัณฑิต ปีการศึกษา 2556)</li> </ol>
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ประจำปีงบประมาณ 2553 สำหรับนิสิตที่เข้าศึกษาภาคต้น ปีการศึกษา 2553