

## เอกสารอ้างอิง

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

## การไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์จากแผ่นปะเก็นรองฝาโลหะของขวดแก้วสู่อาหาร

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

<sup>1</sup> จันทร์จิรา จันทร์ประเสริฐ, <sup>2</sup> ดวงหทัย เพ็ญตรากุล, <sup>1</sup> ณัชชนัญ ลิพิตันนีไพบูลย์, <sup>1</sup> ศิริพัสด์ ไชยันน์<sup>\*</sup>

<sup>1</sup> หน่วยวิจัยการแยกสารและโคมไฟกราฟิก ภาควิชามหภาคี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup> ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

#### บทคัดย่อ

ปัญหาการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์จากปะเก็นฝาขวดแก้วเข้าสู่อาหารกำลังเป็นที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการส่งออกของไทยอย่างมาก โดยเฉพาะอาหารประเภทที่มีน้ำมันหรือไขมัน เป็นองค์ประกอบจะพบปัญหาการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์เกินค่าขีดจำกัดของสหภาพยุโรปอยู่เสมอ แม้ว่าปัจจุบันผู้ประกอบกิจการผลิตฝาโลหะได้ปรับเปลี่ยนชนิดและส่วนผสมของปะเก็นเพื่อลดการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์ให้ลดคล้องกับระเบียบของประเทศไทยคุ้มครองสิทธิ์ตาม ปัญหาการไม่เกรทที่เกินค่าขีดจำกัดยังคงเกิดขึ้น งานวิจัยนี้ได้นำแบบจำลองการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์จากแผ่นปะเก็นมาใช้ในการศึกษาด้วยแปรและปัจจัยสำคัญของกระบวนการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์ 4 ชนิด ได้แก่ ESBO, TAC, DBS และ DINCH ในตัวแทนอาหารประเภทน้ำมันซึ่งพนักงานเป็นสูงสุด

#### วิธีการทดลอง

##### 1. แบบจำลองที่ใช้

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

##### วิธีการจำลองการไม่เกรท

- เทน้ำมันมะกอกที่ใช้เป็นตัวแทนอาหาร (food simulant) ลงในขวดแก้ว ปิดฝาให้สนิท
- ค่าวาขวดแก้วที่บรรจุตัวแทนอาหารใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 วัน เพื่อศึกษาผลของเวลาที่มีต่อการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์ในตัวแทนอาหาร
- ศึกษาผลของกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชันที่มีต่อปริมาณการไม่เกรทของพลาสติไซเซอร์ในตัวแทนอาหาร โดยนำขวดแก้วที่บรรจุตัวแทนอาหารไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิ  $100^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในลักษณะค่าว่า จากนั้นทิ้งให้เย็น และนำไปกับใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 วัน

- สำหรับการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการไม่เกรชันของพลาสติกไซเซอร์ นำขวดแก้วที่บรรจุด้วยแทนอาหารไปคั่วไว้ใน incubator ควบคุมอุณหภูมิที่  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}$  และ  $60^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10 วัน ตามลำดับ
- วิเคราะห์ปริมาณของพลาสติกไซเซอร์ที่ไม่เกรชันในด้วยแทนอาหาร

- การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ epoxidized soybean oil (ESBO): นำน้ำมันมะกอกมาทำปฏิกิริยานาโนเทอร์ฟิเดชันด้วย 5% methoxide เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปสมบูรณ์แล้ว เดิมเชปเทนและไดโซเดียมไฮโดรเจนซิเตรตเพื่อยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS
- การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณ monomeric plasticizers: แยกพลาสติกไซเซอร์ในน้ำมันมะกอกด้วย MTBE/hexane และนำไปวิเคราะห์ด้วย PTV GC-MS
- สภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสมโดยแก๊สโคมากทอกราฟี

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

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
Column	Agilent Rtx-2330: (90% biscyanopropyl /10% phenylcyanopropyl polysiloxane), $15\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.} \times 0.2\text{ }\mu\text{m}$
Temperature program	initial $110^{\circ}\text{C}$ for 1 min, $20^{\circ}\text{C/min}$ to $200^{\circ}\text{C}$ , $8^{\circ}\text{C/min}$ to $260^{\circ}\text{C}$ (2 min)
Injector	split/splitless, $1\text{ }\mu\text{L}$ , $110^{\circ}\text{C}$
Carrier gas	helium, $3\text{ mL/min}$
Detector	mass spectrometer

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

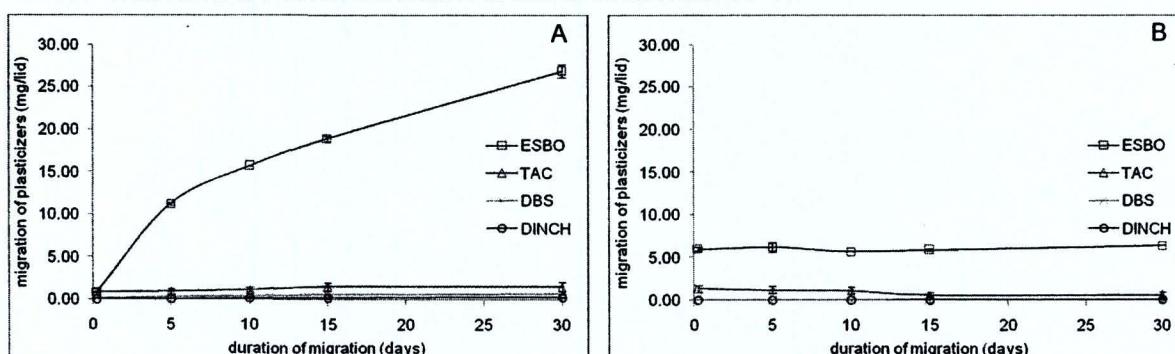
พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
Column	pre-column: Agilent DB-1: (100% dimethyl polysiloxane), $0.5\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.}$ T-piece, line to backflush: fused silica tubing: $13\text{ cm} \times 0.15\text{ mm i.d.}$ separation column: Rtx-225: (50% cyanopropyl/50% phenylmethyl polysiloxane),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

## ผลการทดลอง

ผลการจำลองกระบวนการไม่เกรชันของพลาสติไซเซอร์ในตัวแทนอาหารประเภทน้ำมัน (น้ำมันมะกอก) พบว่าการไม่เกรชันขึ้นอยู่กับจัยต่างๆ ได้แก่

1. ระยะเวลาในการสัมผัส (ภาพที่ 1A) การไม่เกรชันของพลาสติไซเซอร์แปรผันโดยตรงกับเวลาในการสัมผัส โดยพบการไม่เกรชันสูงสุดที่ 30 วันในกรณีของ ESBO พบการไม่เกรชันสูงสุดที่ 26.84 มิลลิกรัม ซึ่งสูงกว่าปริมาณเบื้องต้นถึง 31 เท่า กราฟของการไม่เกรชันตัวกลางประเภทน้ำมันของ TAC, DBS และ DINCH นั้นพบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (2-4%) ใน 30 วัน

2. ในการณ์ที่อาหารต้องผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชัน พบว่าการให้ความร้อนเบื้องต้นไม่มีผลต่อการไม่เกรทของ TAC, DBS และ DINCH แต่อย่างใด ส่วนกรณีของ ESBO นั้นพบว่าการให้ความร้อนเบื้องต้นจะทำให้มีการไม่เกรทเบื้องต้นสูงขึ้นเล็กน้อยแต่หลังจากนั้นจะไม่มีการไม่เกรทเพิ่มขึ้นอีก ปรากฏการณ์สามารถอธิบายได้ว่าการให้ความร้อนสูงในระยะเวลาสั้นนั้นทำให้พลาสติไซเซอร์ถูกสกัดออกมากเป็นจำนวนมากจากเกิดเป็น layer of de-plasticized ขึ้นบริเวณผิวสัมผัสของปะเก็น เนื่องจากปริมาณของพลาสติไซเซอร์ในชั้นนี้มีปริมาณน้อยจึงไม่พบการปนเปื้อนจากพลาสติไซเซอร์เพิ่มขึ้นอีกแม้จะทิ้งให้สัมผัสนานน้ำมันเป็นเวลานานถึง 30 วัน



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

3. อุณหภูมิของการสัมผัสรับผันโดยตรงกับปริมาณการปนเปื้อน พบว่าการ incubation ที่ 60 °C จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนสูงสุดดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของพลาสติไซเซอร์สามารถเคลื่อนที่ได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้พบปริมาณโมเลกุลพลาสติไซเซอร์ในตัวแทนอาหารสูงขึ้น

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

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

4. ผลของขนาดโมเลกุลต่อความสามารถในการไม่เกรชัน พลาสติไซเซอร์โมเลกุลเล็กจะสามารถไม่เกรชันได้ดีกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ สังเกตจากปริมาณการไม่เกรชันของ TAC มากกว่า DBS และ DINCH ตามลำดับ เนื่องจากพลาสติไซเซอร์โมเลกุลเล็กจะเคลื่อนที่และไม่เกรชันไปยังบริเวณผิวร่วมได้ง่ายและรวดเร็วกว่าพลาสติไซเซอร์โมเลกุลใหญ่ จึงถูกสกัดตัวยังตัวแทนอาหารได้มากกว่า

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

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

**สรุปผลการทดลอง**

การไม่เกรชันของพลาสติไซเซอร์ในปะเก็นสามารถเกิดได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ เวลาที่สัมผัส การพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิสูง อุณหภูมิและขนาดของโมเลกุล โดยพบว่า ESBO จะเกิดการไม่เกรชันได้มากที่สุดและมีแนวโน้มที่จะเกินค่าขีดจำกัดการไม่เกรชันที่ 60 mg/kg ขณะที่ TAC, DBS และ DINCH จะให้ค่าการไม่เกรชันที่ต่ำมาก นอกจากนี้หากตัวแทนอาหารมีการสัมผัสก์ความร้อนพลาสติไซเซอร์จะถูกกระตุ้นให้เกิดการไม่เกรชันเพิ่มมากขึ้น แต่หากได้รับความร้อนสูงที่ระยะเวลาสั้นๆ เช่น การพาสเจอร์ไรเซชันจะพบว่าการไม่เกรชันให้ค่าสูงและคงที่ นอกจากนี้ขนาดของพลาสติไซเซอร์ที่เล็กกว่าจะเกิดการไม่เกรชันได้มากกว่า yang มีผลต่อการไม่เกรชันที่เพิ่มขึ้นด้วยเอกสารอ้างอิง

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

วิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ร่วมกับเทคนิคซีเคร็นเชียลอินเจกชันอะนาลิซิส สำหรับแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์

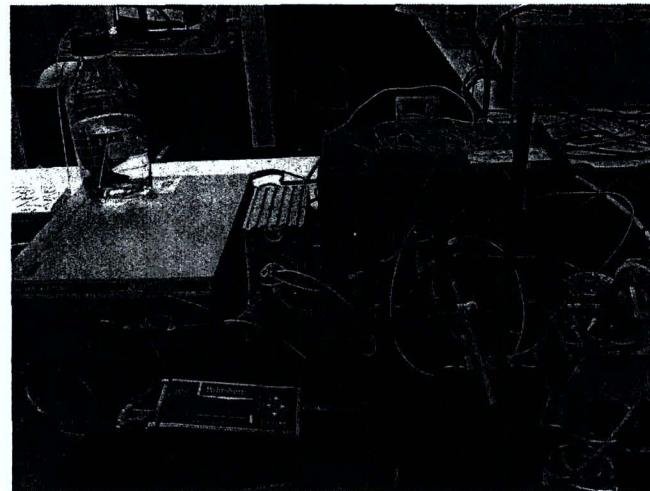
**ON-LINE SOLID PHASE EXTRACTION COUPLED WITH SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS FOR THE SEPARATION AND DETERMINATION OF SULFONAMIDES**

อรวรรณ ชัยลภากุล<sup>1</sup>, พิมพ์ขวัญ จันทร์ทิปะ<sup>2</sup>

**บทคัดย่อ:** ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาการแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์ โดยใช้วิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ร่วมกับเทคนิคซีเคร็นเชียลอินเจกชันอะนาลิซิส สำหรับกระบวนการการสกัดด้วยเฟสของแข็งนั้น จะมีคอลัมน์ขนาดเล็กซึ่งทำขึ้นเอง ภายในบรรจุด้วยอนุภาคของตัวดูดซับ กระบวนการนี้จะเป็นอัตโนมัติทั้งในการกำจัดสิ่งเจือปนออกจากตัวอย่างและการสกัด ซึ่งกระบวนการนี้จะต้องกับระบบ ซีเคร็นเชียลอินเจกชันอะนาลิซิส โดยที่ระบบนี้จะประกอบไปด้วย ปั๊มสำหรับควบคุมการไหล และวาล์ว วิธีนี้สามารถที่จะทำได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่การสกัดสารซัลโฟนาไมด์จากตัวอย่างที่เป็นของเหลว ไปจนถึงการแยกสารที่เรسانใจโดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิคwidโครมาโทกราฟี ร่วมกับการตรวจทางเคมีไฟฟ้า งานวิจัยนี้ได้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบออนไลน์ ได้แก่ ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารที่ใช้เป็นตัวชະ, อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชำระสารตัวอย่าง และโซนของสารที่ถูกชะออกมາ จากการศึกษาพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมของสารที่ใช้จะคือ เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ 100:0, อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชำระสารตัวอย่างที่เหมาะสมคือ 10 ไมโครลิตรต่อนาที และโซนของสารที่ถูกชะที่เหมาะสมคือ 20-24 วินาที ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ของพิกัดความเข้มข้นของสารซัลโฟนาไมด์เป็นเส้นตรงในช่วง 0.01-8 ส่วนในล้านส่วน จากผลการทดลองที่ให้เห็นว่า วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย, รวดเร็ว และมีความไวสูงสำหรับการแยกและวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารซัลโฟนาไมด์

#### วิธีการทดลอง

นำอนุภาคของแข็งชนิด Oasis HLB จาก SPE จำนวน 0.048 กรัมบรรจุลงในห่อ นำห่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งต่อ กับเทคนิคซีเคร็นเชียลอินเจกชันอะนาลิซิส เพื่อเตรียมทำการสกัดตัวอย่างแบบอัตโนมัติ จากนั้นนำระบบซีเคร็นเชียลอินเจกชันอะนาลิซิสต่อเข้ากับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิคwidโครมาโทกราฟี โดยคอลัมน์ที่ใช้คือ โมโนลิทิกคอลัมน์ C<sub>18</sub> (monolithic column C<sub>18</sub>) และการตรวจทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้คือ เทคนิคแอมเพромทรี (Amperometry) ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างโดยการสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน หรือใช้การเดิมสารมาตรฐาน และข้าไฟฟ้าใช้งานสำหรับงานวิจัยนี้คือ ข้าไฟฟ้าเพชรที่โดยด้วยไบرون ดังรูป



รูปที่ 1 การสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติ โดยใช้เทคนิคซีเครนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอร์เมตร

ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติในการวิเคราะห์ชัลฟona ไม Erd โดยใช้เทคนิคซีเครนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอร์เมตร

นำสารละลายน้ำตราชัลฟona ไม Erd 10 ppm ผ่านลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE และหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการชำระสารชัลฟona ไม Erd จากเฟสของแข็งพร้อมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณเดียวเทคนิคซีเครนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสโดยมีคอลัมน์อนอลิตสำหรับแยกสารทั้ง 7 ชนิดทำการตรวจด้วยเทคนิคแอมเพอร์เมตร

1. ศึกษาอัตราเร็วในการชำระเฟสของแข็งที่เหมาะสมของสารชัลฟona ไม Erd ทั้ง 7 ชนิดโดยทำการศึกษาที่อัตราเร็ว 8, 9, 10 และ 11 ไม โครลิตรต่อวินาที โดยทำการผ่านสารมาตรฐานชัลฟona ไม Erd ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเมทานอล กับ mobile phase คือสารละลายน้ำฟอสฟอฟอร์ต่ออะซีโตนในไตรด์ต่อเอทานอล ในอัตราส่วน 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 โดยทำการผ่านสารมาตรฐานชัลฟona ไม Erd ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE

3. ศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชำระสารชัลฟona ไม Erd ทั้ง 7 ชนิดด้วยเมทานอลโดยทำการผ่านสารมาตรฐานชัลฟona ไม Erd ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE

## ผลการทดลอง

ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยไฟของแข็งแบบอัตโนมัติในการวิเคราะห์ชัลโ芬ามีดโดยใช้เทคนิคซีเครนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพโรมetri

1. ศึกษาอัตราการเร็วของสารในขั้นตอนการผ่านสารตัวอย่างและการชำระสารตัวอย่างที่เหมาะสมของสารชัลโ芬ามีดทั้ง 7 ชนิด อัตราเร็วของการชำระที่เหมาะสมของสารชัลโ芬ามีดทั้ง 7 ชนิด คือ 10 ไมโครลิตร์ต่อวินาทีเนื่องจากสารชัลโ芬ามีดทั้ง 7 ชนิดมีการแยกที่ดี และให้สัญญาณตอบสนองที่สูงที่สุด

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือสารละลายฟอสฟอสเปสบัฟเฟอร์ต่ออะซีโตนในไตรต์ต่อเอทานอล อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือ เมทานอล 100% เนื่องจากให้สัญญาณตอบสนองที่สูงที่สุด และได้สัญญาณของสารชัลโ芬ามีดครบทั้ง 7 ชนิด

3. ศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชำระสารชัลโ芬ามีดทั้ง 7 ชนิดด้วยเมทานอลโดยทำการผ่านสารมาตรฐานชัลโ芬ามีดที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ลงท่อที่บรรจุอนุภาคของแข็งจาก SPE พบร่วางเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชำระสารชัลโ芬ามีดทั้ง 7 ชนิด คือ วินาทีที่ 20-24 วินาที เนื่องจากให้สัญญาณตอบสนองที่สมบูรณ์ที่สุด

ค่าความเป็นเส้นตรง และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้

ตารางที่ 1 แสดง Linearity, LOD และ LOQ

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

## สรุปผลการทดลอง

การสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติโดยใช้เทคนิคชีว์เครื่องเชี่ยลินเจกชันอะนาลิซิส ใช้ระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างน้อยและลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย ในการทดลองนี้ได้ศึกษา สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเฟสของแข็งแบบอัตโนมัติ ร่วมกับเทคนิค ชีว์เครื่องเชี่ยลินเจกชันอะนาลิซิสและเทคนิคแอมเพโรมิตรดังนี้ อัตราการไหลของสารในขั้นตอนการ ผ่านสารตัวอย่างและการชำระสารตัวอย่าง คือ 10 ไมโครลิตรต่อวินาที, อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง เมทานอลต่อเฟสเคลื่อนที่ คือ 100:0 และ เวลาที่เหมาะสมสำหรับการชำระสารชัลฟอนามีดทั้ง 7 ชนิด คือ วินาทีที่ 20-24 วินาที จากสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเฟสของแข็ง แบบอัตโนมัติทำให้สามารถตรวจสารชัลฟอนามีด 7 ชนิด โดยใช้ไซเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโคล นาโทกราฟิร่วมกับการตรวจแบบแอมเพโรมิตรได้สัญญาณการตอบสนองที่ดีและลดเวลาในการ เตรียมตัวอย่างลง

## บรรณานุกรม

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

**การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์และการหาปริมาณแคปไซซินและไดไฮดรอแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกและอาหารสเป็ด: การประยุกต์ในเครื่องแกงต่างๆ**

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

ธรรมนูญ หนูจักร\*, กนกวรรณ วรดง, วاسนา โตเลี้ยง, อมร เพชรสุม  
หน่วยปฏิบัติการวิจัยการแยกและโคมากาโทรافي ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

ได้พัฒนาวิธีการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณแคปไซซินอยด์ (CAPs) ด้วยเทคนิคไมเซลลาร์ อิเล็กโทรไคโนทิกโคมากาโทรافي (MEKC) พร้อมด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่าง เครื่องแกงสำเร็จรูป โดยใช้วิถีที่เหมาะสมสำหรับการแยกและทำปริมาณวิเคราะห์แคปไซซินอยด์ที่ได้พัฒนาแล้วจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ คือ uncoated fused silica capillary ขนาด  $50 \mu\text{m}$  i.d.  $\times 40.2 \text{ cm}$  (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด) บรรจุสารด้วยความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 5 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm ศักยไฟฟ้า 25 KV และควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C และบัฟเฟอร์ของ MEKC ประกอบด้วยบอร์บัฟเฟอร์เข้มข้น 10 mM ที่ pH 9.2 โดยเดjm โดಡekaซิลซัลเฟต 60 mM เป็นไมเซลลาร์เฟส และอะซีโตไดไนไทร์ 15 % โดยปริมาตร และได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ CAPs ในซอสพริก โดยทำการสกัด CAPs ในตัวอย่างด้วยเอทิลอะซีเตต พร้อมทั้งเดjm เกลือลงไปเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด นอกจากนี้ยังวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับตัวอย่างที่เป็นเครื่องแกงสำเร็จรูป ชนิดต่างๆ เช่น น้ำพริกแกงส้ม เครื่องดัมยำ น้ำพริกพะแนง น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงมัสมี เป็นต้น ดังนั้นเทคนิค MKEC และวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ CAPs ในซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูปบางชนิดได้ เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นข้อมูลความปลอดภัยของผู้บริโภคได้

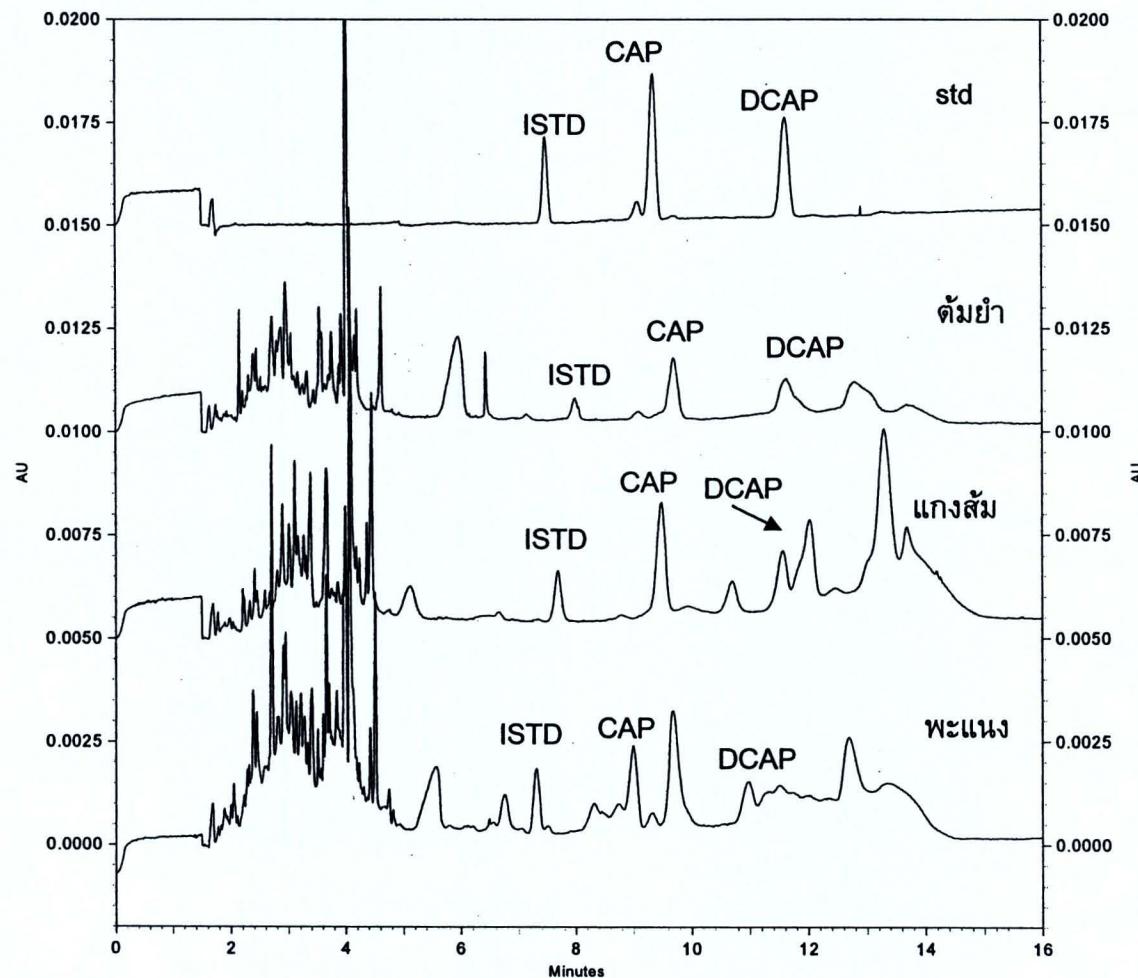
### วิธีการทดลอง

**วิธีการเตรียมตัวอย่างเครื่องแกงสำเร็จรูป** หั่นตัวอย่างเครื่องแกง 2.5 กรัม ลงในหลอดพลาสติกขนาด 50 mL เดjm เอทิลอะซีเตต 10 mL และนำไปอุ่นเทกซ์เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเดjm anhydrous MgSO<sub>4</sub> 1.0 กรัมและ NaCl 2.5 กรัม แล้วนำไปอุ่นเทกซ์อีกครั้งเป็นเวลา 4 นาทีและเช่นน้ำพิวท์ที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปีเปดชั้นเอทิลอะซีเตต 8.0 mL ลงในหลอดทดลอง และนำไประเหยด้วยไฟฟ้าในหมุน (rotary evaporator) แล้วนำส่วนที่ระเหยแห้งมาละลายโดยให้สารละลายตัวอย่างที่พร้อมนำไปวิเคราะห์ด้วย MEKC ประกอบด้วย 50 ppm บิสฟีนอลเอ (เป็น internal standard) 60 mM SDS และ 15% อะซีโตในไทรล์ และกรองด้วย 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE syringe filter ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย MEKC

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

#### ผลการทดลอง

ได้ประยุกต์วิธีการเตรียมตัวอย่าง และภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs ที่ได้พัฒนาในงานวิจัยก่อนหน้านี้มาใช้กับตัวอย่างเครื่องแกงสำเร็จรูปชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำพริกแกงส้ม เครื่องดั้มยำ น้ำพริกพะแนง น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงมัสมัน ตัวอย่างอิเล็กโทรฟอร์ชิสกุนแสดงดังรูป



#### เอกสารอ้างอิง

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

**ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคข้อกระดูกเสื่อมจากเปลือกอาหารทะเล**

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

- ชื่อผู้วิจัย**
- 1) รศ.ดร. มงคล สุขวัฒนาสินิทช์\*
  - 2) อ.ดร. อนวัช อาษาวด

**หน่วยงานที่สังกัด** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

**บทคัดย่อ**

การย่อยไคดินจากแกนหมึกด้วยเอนไซม์จากการ *Aspergillus fumigatus* และโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* สามารถผลิตเอ็น-แอซีทิล-ดี-กลูโคซามีน (GlcNAc) และเอ็น-ได-แอซีทิลไคโตโนโซส [(GlcNAc)<sub>2</sub>] อย่างเฉพาะเจาะจงได้ เอนไซม์จากการ *Aspergillus fumigatus* สามารถย่อยไคดิน (3% w/v) ที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเบอร์เช็นต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน ส่วนเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่ม เป็นเวลา 6 วันสามารถผลิตผลิตภัณฑ์เป็น (GlcNAc)<sub>2</sub> และ GlcNAc ด้วยเบอร์เช็นต์ผลผลิต 43% และ 2.6% ตามลำดับ การทำให้ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> บริสุทธิ์สามารถทำได้โดยการตกรตะกอน ตามด้วยการทำจัดสีด้วยผงถ่านก้มมันต์หรือใช้คลอรัมน์ที่มีผงถ่านก้มมันต์ให้ GlcNAc บริสุทธิ์ด้วยเบอร์เช็นต์ผลผลิต 64% และ (GlcNAc)<sub>2</sub> บริสุทธิ์ด้วยเบอร์เช็นต์ผลผลิต 40% และสามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์สูงถึง 100%

การย่อยไคดินด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยการใช้และไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อให้ได้เกลือกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ (GlcNHCl) ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการเตรียมเกลือ GlcNHCl คืออัตราส่วนไคดินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:1 (w/w) และที่อุณหภูมิ 40°C ให้เบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 60% และผลการย่อยไคดินโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟนั้นสามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคดินต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts ให้เบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 52% ซึ่งสามารถประหยัดพลังงานในการย่อยลงไปได้มากสามเท่าเมื่อเทียบกับการกรรมวิธีการย่อยในปัจจุบัน

**วิธีการทดลอง**

วิธีการทดลองหลักมี 2 แนวทางคือดำเนินการย่อยด้วยเอนไซม์และกรด

**I) การย่อยด้วยเอนไซม์ ดำเนินการเป็นลำดับดังนี้**

- 1) การเตรียมไคดินจากแกนหมึก ( $\beta$ -chitin) โดยการบีบให้มีขนาด 500  $\mu\text{m}$  และการเตรียมคลอลอยด์คลอลไคดินโดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไปในไคดิน ความอ่อนย่างเร็วจนสารละลายมี

ลักษณะเนียนยวานีดตั้งทึ้งไว้ในถ้วยเย็น ที่อุณหภูมิ 5°C ทั้งคืนจากนั้นนำมารอง จะได้ตะกอนสีขาวของไคดินพร้อมนำมาทำการทดลอง

2) การเตรียมเอนไซม์ดิบจากฟังไจ (*Aspergillus fumigatus*)<sup>1</sup>

นำฟังไจ *Aspergillus fumigatus* (TISTR 3045) มาเพาะเชื้อใน PDB (อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จากมันผั่ง) เป็นเวลา 5 วัน นำเส้นใยของฟังไจที่ได้มามาเลี้ยงใน PDA (PDB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C แล้ว) ต่อเป็นเวลา 5 วัน นำเข้าอบบน PDA มาเพาะเลี้ยงต่อใน Colloidal Chitin Minimum Medium (CCMM) (300 mL) (แหล่งของไนโตรเจนเพื่อใช้ในการผลิตเอนไซม์) ที่อุณหภูมิ 30°C ระยะเวลา 9 วัน ด้วยเครื่องเบี้ยง จากนั้นแยกเอนไซม์ดิบด้วยกรรมวิธีเซนทริฟิวจ์

3) การเตรียมเอนไซม์ดิบจากแบคทีเรีย (*Serratia sp.*)

เอนไซม์ดิบจากแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ ได้รับมาจากอาจารย์รัฐ พชรยานกุร ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เอนไซม์ดิบจากแบคทีเรีย *Serratia sp.* แสดงแทนโปรตีน 4 แอนจากส่วน chitinase activity ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40, 50, 60 และ 90 KDa จาก SDS-PAGE หลังจากนั้นแยกเอนไซม์ดิบ chitinase ขนาด 60 KDa ออกจากบรรจุสิ่งพลาสมิด PKKChi60<sup>2</sup>

4) การทดสอบฤทธิ์ของเอนไซม์ไคดีนส์

กิจกรรมของเอนไซม์ไคดีนส์ที่สนใจนั้น นำมาวิเคราะห์โดยการวัดหาจำนวนปลายรีดิวช์ ซึ่งเท่ากับจำนวน GlcNAc ที่ได้จากการย่อย คอลลอยด์ดอล ไคดินด้วยเอนไซม์ตามวิธีของ Schales method<sup>3</sup> ปริมาณของปลายรีดิวช์ของน้ำตาลถูกวัดด้วยเครื่อง UV-Vis สเปคโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 420 nm โดยใช้น้ำ DI เป็นตัวเปรียบเทียบ ทั้งการวิเคราะห์และการควบคุมจะทำ 3 ครั้ง และคำนวณร้อยละความถูกต้องแสง (Absorbance (A)) ที่ได้จะนำมาใช้ในการคำนวณค่า activity unit ต่อบริมาตร (mL) ของเชอร์รุ่นซึ่งคำนวนได้จากการแตกต่างของค่า absorbance ( $\Delta A$ ) ระหว่างตัววิเคราะห์ (A1) และตัวควบคุม (A0)

5) วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย HPLC

นำสิ่งที่ถูกย่อยแล้วมาต้มให้เดือดเพื่อฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเอาส่วนใสหลังผ่านการเซนทริฟิวจ์ (100 μL) มาเจือจางด้วยน้ำ Milli-Q (900 μL) นำเอาสารละลายที่ได้ (0.300 mL) มาผสมกับอะซิโตในไครล์ (0.700 mL) กรองและฉีดเข้าเครื่อง HPLC ผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> จะถูกตรวจพบในช่วงเวลาการชะ (retention time) เท่ากับ 5.6 และ 6.5 ตามลำดับ คำนวณหาพื้นที่ได้พีคซึ่งแสดงถึงปริมาณของ GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub>

6) การเตรียม GlcNAc

6.1) Single batch hydrolysis การย่อยไคดินด้วยกรรมวิธี single batch นี้ เป็นการย่อยแบบครั้งเดียว ไคดินจากแกนหมึก (6 g) ถูกนำมาเพาะบ่มกับเอนไซม์จากฟังไจ (24 U) ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 300 mL ด้วยน้ำ DI เดิมເອຫານอล (15 mL) ในตัวที่เก็บไว้ ค่า pH ของของผสมในปฏิกิริยาถูกปรับด้วยกรดแอดซิติก (1 M) ให้เป็น 3 จากนั้นส่วนของผสมถูกบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 5 วัน และหยุดปฏิกิริยาด้วยการรุ่มภาชนะลงในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ไคดินที่เหลืออยู่ถูกกำจัด

ออกไปด้วยการเซนต์ริฟิวจ์ เอ็นไซม์ดีบุกเก็บไว้ในสถานะของแข็งหลังจากการ freeze dry การวิเคราะห์ด้วย HPLC แสดงให้เห็นว่า เอ็นไซม์ดีบมีปริมาณ GlcNAc ประมาณ 60% (w/w)

6.2) Fed-batch hydrolysis การย่อยไคเดินด้วยกรรมวิธี fed-batch นี้เป็นการย่อยแบบต่อเนื่องเริ่มด้วยไคเดิน 6 g และ เอ็นไซม์ 24 U ในของผสมในปฏิกิริยาปริมาตร 200 mL และส่วนที่เท่ากันของ reactant ถูกเติมลงไปในของผสมปฏิกิริยาหลังจากผ่านไป 2 วัน หลังจากนั้น 4 วันให้ความร้อนแก่ของผสมในปฏิกิริยาในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 15 นาที นำเอาส่วนที่ถูกย่อยแล้ว (350 mL) มากรองและทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยที่อุณหภูมิไม่เกิน 70°C เดิมเอทานอลลงไปจะเกิดตะกอนขนาดเล็กที่สามารถละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่ได้จากการกรองนั้นนำมากรองด้วยเย็บสีเหลืองอ่อน (9 g) นำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC พบร่วมกับ 91% (w/w) ของของแข็งที่ได้เป็น GlcNAc คิดเป็น 71% ของผลผลิตที่ได้

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

นำเอ้าไคเดินจากแกนหมึกมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ค่า pH 3 (ปรับ pH ด้วยกรดอะซิติก) และที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 6 วัน ผลิตภัณฑ์เบื้องต้นที่ได้ถูกเก็บไว้ในรูปของแข็งหลังจาก freeze dried จากนั้นวิเคราะห์ด้วย HPLC พบร่วมกับผลิตภัณฑ์ที่ได้เบื้องต้นนั้นประกอบด้วย ~63% ของ (GlcNAc)<sub>2</sub> นำเอ้า (GlcNAc)<sub>2</sub> ไม่บริสุทธิ์ดังกล่าวมาทำจั๊บสิ่งเจือปนด้วยการคละกอน และผ่านกระบวนการเซนต์ริฟิวจ์ทำให้แห้งภายในได้สภาวะสุญญากาศ เพื่อนำไปทำเปอร์เซ็นต์ recovery, และความบริสุทธิ์ของตะกอนด้วย HPLC จากนั้นนำเอาระบบที่ทำให้แห้งแล้วมาแยก GlcNAc และ (GlcNAc)<sub>2</sub> ออกจากกันด้วยกรรมวิธีคลอลัมโนโครมาโดยราฟฟ์ฟิ้งถ่านกัมมันต์<sup>4</sup> สารละลายน้ำของผลิตภัณฑ์เบื้องต้นของสารผสม GlcNAc/(GlcNAc)<sub>2</sub> ถูกบรรจุลงในคลอลัมโน้ฟถ่านกัมมันต์ (60 g) ในน้ำ (200 mL) และด้วยเวลาที่ประกอบด้วยเอทานอลต่อน้ำ (~ 30%) ที่ 2 mL/min

## II) การย่อยด้วยกรด

การย่อยด้วยกรดนี้ยังแบ่งออกเป็น 2 วิธีอีกด้วยคือ

1) การย่อยโดยมีคลีนอัลตราโซนิกเป็นตัวช่วย ผลการวิจัยการย่อยของแอลฟ่า-ไคเดินที่ได้จากเปลือกหุ้ง ด้วยกรดไฮดรอลอริกเข้มข้น (conc. HCl) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการละลายไคเดินโดยการใช้คลีนอัลตราโซนิกพบว่าสามารถช่วยในการละลายไคเดินได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ GlcNHCl ได้ดีกว่าการให้ความร้อนโดยไม่ใช้คลีนอัลตราโซนิกเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญที่อัตราส่วนต่อกรดเท่ากัน (Figure 1) และปริมาณของ conc. HCl ยิ่งสูงขึ้นเท่าไรก็ยิ่งสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ได้มาก ขึ้นเท่านั้นทั้งในการเผาไหม้และการละลายโดยใช้และไม่ใช้คลีนอัลตราโซนิกช่วย โดยที่อัตราส่วนไคเดิน / conc. HCl เท่ากัน 0.2 จะให้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์มากที่สุดถึง 80% และต่ำที่สุด (43%) ที่อัตราส่วน 1 / 1

2) การย่อยโดยมีคลีนไมโครเวฟเป็นตัวช่วย ในส่วนของการย่อยไคเดินด้วย conc. HCl โดยมีคลีนไมโครเวฟเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยานั้น ซึ่งจากสมมุติฐานถ้าใช้คลีนไมโครเวฟคาดว่าจะสามารถย่อยได้ที่อุณหภูมิมีประสิทธิภาพและใช้เวลาที่สั้นลงอีกและผลิตภัณฑ์หลังจากการย่อยนี้จะเป็นเกลือ GlcNHCl เริ่มด้วยการเตรียมสารละลายน้ำของไคเดินพร้อมด้วยการผสม conc. HCl ในอัตราส่วนที่ต่างกันแล้ว และเครื่องไมโครเวฟที่ใช้ในการทดลองการย่อยในครั้งนี้คือ M183 (ของบริษัท

Samsung) ซึ่งได้ทำการปรับแต่งให้สามารถใช้สำหรับทำปฏิกิริยาเคมีได้โดยการเจาะรูในส่วนด้านบนของเครื่องไมโครเวฟเพื่อใช้เป็นทางต่อท่อคอนเดนเซอร์เข้ากับฟลาสค์ที่อยู่ภายในรีแอคเตอร์ด้านในจากนั้นทำการศึกษาสภาวะเกี่ยวกับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยมีปัจจัยแปรผันต่าง อาทิ เช่น เวลาในการใช้คลีน์ไมโครเวฟ (4-16 นาที), พลังงานวัตต์ที่ใช้ (100-850 watts), ความเข้มข้นของสารละลายต่อปริมาณ conc. HCl (1:2, 1:3, 1:4) เป็นต้น และจากการ optimization สามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคดินต่อ conc. HCl = 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts ให้เบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 52% และถ้ามีเครื่องเมคานิคัลสเตอร์เรอร์มาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคนจะสามารถเพิ่มเบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์เป็น 58% ได้

### สรุปผลการทดลอง

#### 1) การย่อยด้วยเอนไซม์

เอนไซม์จากราก *Aspergillus fumigatus* สามารถย่อยไคดินที่ pH เป็น 3 อุณหภูมิ 40°C ได้ผลิตภัณฑ์เป็น GlcNAc ด้วยเบอร์เช็นต์ผลผลิต 72% ภายในเวลา 2 วัน การย่อยไคดินด้วยเอนไซม์จากโคลนแบคทีเรีย *Serratia sp.* ที่ pH เท่ากับ 6 อุณหภูมิ 37°C ทำการบ่มเป็นเวลา 6 วันให้ผลิตภัณฑ์เป็น (GlcNAc)<sub>2</sub> และ GlcNAc ด้วยเบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์ 43% และ 2.6% หลังจากการทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการที่พัฒนาแล้วความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้สูง

#### 2) การย่อยด้วยกรด

การย่อยไคดินด้วย conc. HCl โดยการใช้คลีนอลตราโซนิคเพื่อให้ได้เกลือ GlcNHCl ซึ่งสภาวะที่ใช้คืออัตราส่วนไคดินต่อ conc. HCl = 1:1 (w/w) และที่อุณหภูมิ 40°C ให้เบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์คือ 60% ส่วนผลการวิจัยในส่วนของการย่อยไคดินโดยการใช้คลีน์ไมโครเวฟนี้สามารถลดระยะเวลาการย่อยลงเหลือเพียง 12 นาทีโดยมีภาวะปฏิกิริยาคืออัตราส่วนไคดินต่อ conc. HCl = 1:3 (w/w) ที่พลังไมโครเวฟ 850 watts โดยมีเครื่องเมคานิคัลสเตอร์เรอร์มาช่วยจะได้เกลือ GlcNHCl ด้วยเบอร์เช็นต์ผลิตภัณฑ์ 58% ซึ่งใกล้เคียงกับกรรมวิธีการย่อยในปัจจุบันสามารถประยุกต์พลังงานในการย่อยลงไปได้มีนัยสำคัญ

### เอกสารอ้างอิง

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

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

คณะผู้วิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง \*\*, ปรรัตน์ เข็นกลาง, สมฤดี ไทยวนิชย์,  
 วสาวดี ถัวยทอง, ชัยพงษ์ แรงกลาง, สุวิมล เจริญสิทธิ์, เกวลี ครุณาสวัสดิ์, นภัสพ  
 รุ่งสิทธิ์, และ กรณีการ สอนโยธา ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีระยะเวลาประมาณ 4-5 ปี นับตั้งแต่ปี 2550 วัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิค  
 เอกไซม์ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารให้กลิ่น และสารหน้าที่เฉพาะอื่นๆ จากผักผลไม้เขต  
 ร้อนและกึ่งร้อน เพื่อใช้เป็นวัตถุปูรุ่งแต่งอาหาร ในงานวิจัยมุ่งเป้าไปที่ผักและผลไม้ที่มีศักยภาพในการ  
 ปลูก การส่งเสริมการปลูกในประเทศ ดังเดื่อดีดึงปัจจุบัน จากการสำรวจและวิจัยในปี 2550 พบร่วมมี  
 ใบเตย ก้อยหอม ผึ้งแดง มะดูม มะม่วงน้ำดอกไม้ พุทราสามรส แก้วมังกรแดง แคนตาลูป และ  
 มังคุด และอาจจะมีอื่นๆ อีก

สำหรับในรายงานวิจัยในปี 2551 ซึ่งได้รายงานไปแล้วว่า สารออกฤทธิ์ที่พบในใบเตยหอม คือ  
 คลอโรฟิลล์ให้สีเขียว สามารถแปรรูปเป็นสารอนุพันธ์ที่มีสีเขียวที่ทนความร้อนและกรดได้ดีกว่ารูปเดิม  
 ผึ้งแดงเมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของวัตถุเดิม มี  
 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงขึ้น และสีเหลืองเพิ่มขึ้น ส่วนไซรัปมะดูม เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วย  
 เอนไซม์เพคตินพบว่าได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากขึ้น สำหรับไอโอดไรเลสมะม่วงที่มีระดับการย่อย  
 สลายเพคตินต่ำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อสุขภาพของอิมัลชัน เป็นดัง

สำหรับงานวิจัยในปี 2552 พบร่วม เมื่อใช้อ่อนไชเม่เพคตินสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใน  
 ใบเตยหอม พบร่วมสามารถเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์และสารแอนติออกซิเดนท์ได้เป็น 17.3 และ 1.9 เท่า  
 ตามลำดับ สำหรับกลิ่นหอมได้ผลิตภัณฑ์ไซรัปที่มีสารหน้าที่เฉพาะที่มีความโดยเด่นสามารถนำไปใช้  
 ทดแทนวัตถุปูรุ่งแต่งกลิ่น รสกลิ่นหอมสังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี ในผึ้งแดงพบว่าไซรัปที่ได้มีฤทธิ์ด้าน  
 ออกซิเดชัน สารประกอบพืชนออลิก พลาโนโนยด์และไลโคพีนเพิ่มมากขึ้น สำหรับไซรัปมะดูมพบว่ามี  
 ปริมาณไข้อาหาร ค่าแอคทีวิตี้ของพรีไบโอติก สารระเหย และสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการ  
 ย่อยด้วยเอนไซม์ ในการย่อยสลายเพคตินในมะม่วง พบร่วมไชเม่ช่วยเพิ่มปริมาณไข้อาหารที่ละลายน้ำ  
 ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารเบต้าแคโรทีน์ ส่วนวิจัยพุทราสามรส พบร่วม เมื่อประมาณ  
 เอนไซม์และเวลาการย่อยสลายสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณไข้อาหารที่ละลายน้ำได้สูงขึ้น งานวิจัยแก้วมังก  
 และแคนตาลูป พบร่วมการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลทำได้โดยใช้กรดแอกโซบิกรั่วมกับความร้อน และการใช้  
 เอนไซม์ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแก้วมังกรสูงขึ้นเป็น 1.5 เท่า และแคนตาลูปเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

จากผลการวิจัยที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่า การใช้อ.enzymeสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเฉพาะของวัตถุในให้มีความโดดเด่น และสามารถพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี

### เอกสารอ้างอิง

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

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

## การผลิตพอลิเมอร์จากจุลทรรศ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

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

สุเทพ ชนียวน<sup>1\*</sup>, จิราภรณ์ ชนียวน<sup>1</sup>, ปานนัน เริงสำราญ<sup>1</sup>, สุชาดา จันทร์ประทีป<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### บทคัดย่อ

แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ได้รับการคัดแยกจากตัวอย่างผลไม้เน่าเสียและจัดอยู่ในกลุ่มที่สามารถผลิตพอลิเมอร์ชนิดพอลิแซคคาไรด์ได้สูงกว่าเชื้อที่แยกได้อื่น งานวิจัยนี้มุ่งต่อการนำพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลทรรศ์มาประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้ปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับผลิตพอลิแซคคาไรด์จากสูตรเดิมของ Bromfield รวมกับวิธีของ Tallgren และคณะ (1998) ให้มีต้นทุนที่ต่ำลง พบว่า ในสูตรอาหารปรับปรุงไม่จำเป็นต้องมีการเติมสารสะกัดเยื่อตับจุลทรรศ์ก็สามารถเจริญได้และผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้เช่นกัน แบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 และแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นบางสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ CU-CH4 และ EN14 มีความสามารถในการผลิตพอลิแซคคาไรด์สูง พอลิเมอร์ที่ได้จากจุลทรรศ์เหล่านี้มีลักษณะทางเคมีและกายภาพที่น่าสนใจ เช่น ความสามารถในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืด เป็นต้น และให้ผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุดที่ 0.98 2.380 และ 2.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มีน้ำตาลทั้งหมด 87.5% และมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ 2.8% ส่วนพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 มีน้ำตาลทั้งหมด 60.7% และมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ 8.5% การขักนำแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ให้กล้ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ดิดตามด้วย NTG พบว่า แบคทีเรียที่ถูกขักนำด้วยแสงอัลตราไวโอเลตมีความสามารถในการผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียที่ถูกขักนำให้เกิดการกล้ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และสาร NTG แบคทีเรีย แบคทีเรียสายพันธุ์ UV1-8 และสายพันธุ์ UV1-9 โดยสามารถผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้สูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ดังเดิมถึง 8 และ 12 เท่า ตามลำดับ

#### วิธีการทดลอง

##### 1. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับผลิตพอลิแซคคาไรด์โดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

1.1 ห้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตพอลิแซคคาไรด์โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02

1.2 หาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซคคาไรด์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตรดัดแปลง

1.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ในอาหารสูตรดัดแปลง

1.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02

- 1.5 วิเคราะห์การหลอมเหลวของพอลิแซ็คคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02
2. การศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของพอลิแซ็คคาไรด์ แบ่งออกเป็น 2 ชุด แต่ละชุดมีขั้นตอนดังนี้

- 2.1 ผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็คคาไรด์จากแบคทีเรียที่คัดแยกจากธรรมชาติ
- 2.2 ศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมี และภัยภาพของพอลิแซ็คคาไรด์
- 2.3 คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสม ศึกษารูปแบบการเจริญ และการผลิตพอลิแซ็คคาไรด์

- 2.4 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรรมวิชานของแบคทีเรียที่ทำการคัดเลือก

### 3. การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์

- 3.1 การซักนำให้เกิดการกลยพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต
- 3.2 การซักนำให้เกิดการกลยพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG
- 3.3 การคัดเลือกเชื้อและการผลิตพอลิแซ็คคาไรด์ในอาหารเหลวของแบคทีเรียสายพันธุ์กลยุ่มการทดลอง

### 1. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับผลิตพอลิแซ็คคาไรด์โดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่นำมาใช้ศึกษา捻ดิของแหล่งคาร์บอน ได้แก่ chan o'oy ฟางข้าว รำข้าว แกลูบ และกา今晚ตาล และวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่นำมาใช้ศึกษา捻ดิแหล่งในโตรเจน ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน และกา冈ง ไม่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งในโตรเจนอินทรีย์เพื่อผลิตพอลิแซ็คคาไรด์จากแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ได้ โดยหลังการพัฒนาสูตร พบร่วมอาหารสูตรดัดแปลงใหม่ประกอบด้วยซูโคโรสความเข้มข้น 3.0% และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH<sub>4</sub>Cl) ความเข้มข้น 0.06% โดยนำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งคาร์บอนและในโตรเจน ตามลำดับ และแมgnีเซียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.02% โดยนำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งเกลือแร่ ภายใต้ภาวะที่ปรับค่าความเป็นค่ากรด-เบสเริ่มต้นที่ 6.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใน 6 ชั่วโมง แรก และปรับเป็น 40 องศาเซลเซียส ใน 6 ชั่วโมงต่อมา ทำให้สามารถผลิตพอลิแซ็คคาไรด์ได้ปริมาณสูงสุดที่ 4.86 กรัมต่อลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อ การศึกษาสมบัติของพอลิแซ็คคาไรด์ที่ผลิตได้สอดคล้องกับที่มีการรายงานไว้ก่อนหน้าโดย พบร่วมเป็นเยอโรพอลิแซ็คคาไรด์ชนิดประจำลูบ (acidic heteropolysaccharide) ประกอบด้วย ไซโลสเป็นส่วนใหญ่ โดยมีกูลูโคสและโปรตีนเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิที่หลอมเหลวของพอลิแซ็คคาไรด์ คือ 227.5 องศาเซลเซียส

### 2. การศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของพอลิแซ็คคาไรด์

พอลิแซ็คคาไรด์จากแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์ คือ CU-CH1, CU-CH4, CU-E3, CU-F6, CU-M2, CU-M4 และ CU-M5 มีน้ำตาลแรมโนสและไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก และจากภาวะที่ปรับสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราฟิเมทริกแอนนาไลซิส (TGA) พบร่วมพอลิแซ็คคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง โดยมีช่วงอุณหภูมิการย่อยสลาย ตั้งแต่ 220-310 °C การศึกษาความสามารถในการเป็น Emulsifier พบร่วมพอลิแซ็คคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH1, CU-CH4, CU-E3, CU-F6 มีความสามารถในการเป็น Emulsifier โดย

สายพันธุ์ CU-CH4 มีความสามารถสูงสุด 21.94% เมื่อทดสอบในน้ำมันถั่วเหลือง และพบว่า พอลิแซ็คไคร์ดที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH1, CU-CH4 ละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิห้องและมีความหนืด การศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของพอลิแซ็คไคร์ดจากแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า พอลิแซ็คไคร์ดจาก CU-CH4 มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตพอลิแซ็คไคร์ดจากแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มีประสิทธิภาพการผลิตพอลิแซ็คไคร์ดสูงสุด โดยมีการผลิตสูงสุดที่ 2.380 กรัมต่อลิตร จึงคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 มาทำการศึกษาต่อ

นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่คัดแยกโดย สมฤดี ชุมหรจน์ฤทธิ์ (2551) พบว่า แบคทีเรียทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็คไคร์ดสูง มีน้ำตาลโมเลกุลเดียวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็คไคร์ด คือ แรมโนส, กลูโคส, ไซโลส และ กาแลคโตส มีความสามารถในการละลายน้ำ แต่ไม่สามารถละลายในสารละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่า พอลิแซ็คไคร์ดทั้งหมดมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ ขณะที่พอลิแซ็คไคร์ดจากพันธุ์ EN14, EP04, EP11 และ EP14 มีความสามารถในการเป็น Emulsifier ในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะกอก จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 มีอัตราส่วนน้ำหนักพอลิแซ็คไคร์ดต่อน้ำหนา เชลล์สูงที่สุด คือ 0.84 และมีคุณสมบัติในการแยกเชลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ทั้งนี้ยังมีลักษณะทางเคมีและกายภาพที่น่าสนใจ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ EN14 อาจนำมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมได้

### 3. การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์

การซักนำแบคทีเรียสายพันธุ์ EN02 ให้กลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอลेट ติดตามด้วย NTG พบว่า แบคทีเรียที่ถูกซักนำด้วยแสงอัลตราไวโอลेटมีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็คไคร์ดได้สูงกว่าแบคทีเรียที่ถูกซักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอลेट และสาร NTG แบคทีเรียแบคทีเรียสายพันธุ์ UV1-8 และสายพันธุ์ UV1-9 โดยสามารถผลิตพอลิแซ็คไคร์ดได้สูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ดังเดิมถึง 8 และ 12 เท่า ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

Bromfield, S. M. 1954. Reduction of ferric compounds by soil bacteria. Gen. Microbiol.

11:1-6.

Ghose, T.K. 1987. Measurement of cellulose activities (Recommendations of Commission on Biotechnology IUPAC). Pure Appl. Chem. 59: 257-268.

Sternberg, D., Vijaykumar, P., and Reese, E.T. 1977.  $\beta$ -Glucosidase : microbial production and effect on enzymatic hydrolysis of cellulose. Can. J. Microbial. 23:139-147.

Tallgren, A. H., Airaksinen, U., Weissenberg, R. V., Ojamo, H., Kuusisto, J. and Leisola, M. 1998. Exopolysaccharide-Producing Bacteria from Sugar Beets. Appl. Envi. Microb. 65: 862-864.

## การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

### Biosurfactant production by microorganism for food industry

จิราภรณ์ ชนียวน<sup>1\*</sup>, ไพระ พันพานิชกุล<sup>1</sup>, สุเทพ ชนียวน<sup>1</sup>, สุชาดา จันทร์ประทีป<sup>1</sup>, วรรณา ดุลยธัญ<sup>2</sup>, Masaaki Morikawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<sup>2</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

#### บทคัดย่อ

*Pichia anomala* PY1 เป็นสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ที่คัดแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้าน (ข้าวหมาก) ที่อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นยีสต์ที่นร้อน ที่สามารถเจริญ และผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pichia anomala* PY1 เป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไกลโคลิก็พิด และมีมวลโมเลกุลเทียบเคียงกับโซโนโลจิก็พิด ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาการพัฒนาสายพันธุ์โดยการการกลایพันธุ์ *Pichia anomala* PY1 เพื่อเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยทำการกลایพันธุ์ *Pichia anomala* PY1 ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต *Pichia anomala* PY1 ที่ 1% การอยู่รอด สามารถคัดเลือกสายพันธุ์กลัย (MU28) ได้และสายพันธุ์สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้มากที่สุดจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อมเมตรเป็น 39 มิลลินิวตันต่อมเมตร ขณะที่ให้พื้นที่กระจายน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 17.56 ตารางเซนติเมตร ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการทดสอบความเสถียรพบว่าทั้งนี้ยีสต์สายพันธุ์กลัย MU28 สามารถแสดงการกระจายน้ำมันได้ดีที่สุดบนอาหารแข็ง Yeast Malt Extract ที่มีน้ำมันดิบกระจายอยู่ทั่วในรุ่นแรก 1.3 ถึง 1.8 เซนติเมตร ต่ำมาในรุ่นที่ 5 จะมีค่าลดลงเล็กน้อย ส่วนยีสต์สายพันธุ์ PY1 สามารถแสดงการกระจายน้ำมันได้ดีที่ จำกันนั่นนำ MU28 มาทำการกลایพันธุ์อีกครั้งด้วยสาร Ethyl methane sulphonate (EMS) หลังจากการคัดเลือกที่ 2.3% การอยู่รอด พบว่าสายพันธุ์กลัยของ MU28 (MUE24) นั้นให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 17.64 ตารางเซนติเมตร และค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 35 มิลลินิวตันต่อมเมตรในวันที่ 5 และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.1 เท่า และเร็วกว่าสายพันธุ์เดิม



## วิธีการทดลอง

### 1. การกลยุทธ์จุลทรรศน์

#### 1.1. การกลยุทธ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต

โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ระยะเวลาจากแสง 10 เซนติเมตร โดยมีระยะเวลาให้การฉายแสงต่างๆ กันที่ 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12 และ 14 วินาที

#### 1.2. การกลยุทธ์ด้วยสาร Ethyl methanesulfonate (EMS)

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

### 2. คัดเลือกสายพันธุ์กล้ายที่สามารถเจริญ และให้ผลผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่สูงกว่าสายพันธุ์เดิม และทดสอบความเสถียรของสายพันธุ์กล้าย

การคัดเลือกสายพันธุ์กล้ายจากจำนวนเพาะเลี้ยงเชื้อในข้อ 1 ที่มีค่าร้อยละการรอดในช่วง 1-10% สำหรับการกลยุทธ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และ 0-50% สำหรับการกลยุทธ์ด้วยสาร EMS จากนั้นทำการคัดเลือกบนอาหารแข็ง อาหารเหลว และติดตามความเสถียรของยีสต์สายพันธุ์กล้าย

### 3. หาภาวะที่เหมาะสมต่างๆ ในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของสายพันธุ์กล้าย

#### 3.1. การหาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

#### 3.2. การหาปริมาณคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

#### 3.3. การหาชนิดแหล่งในโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

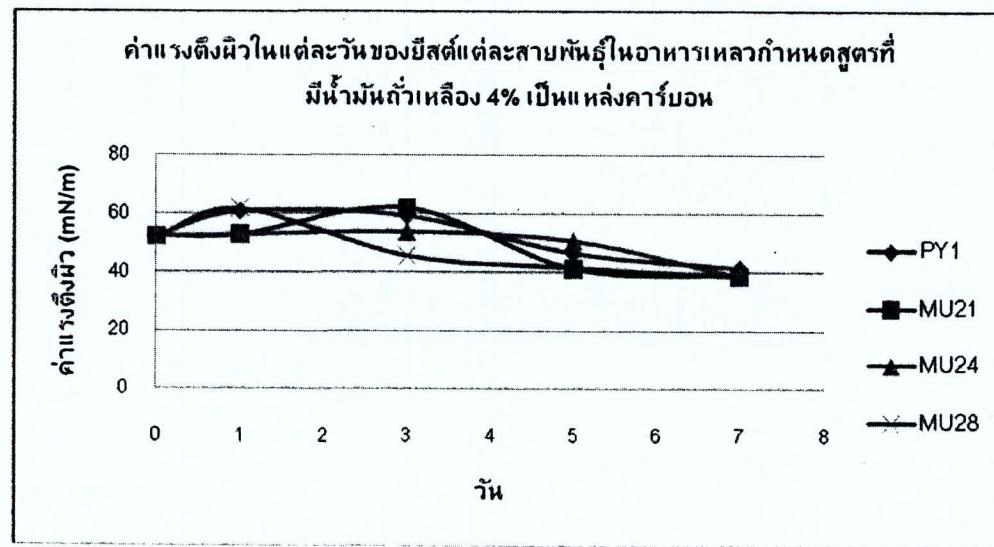
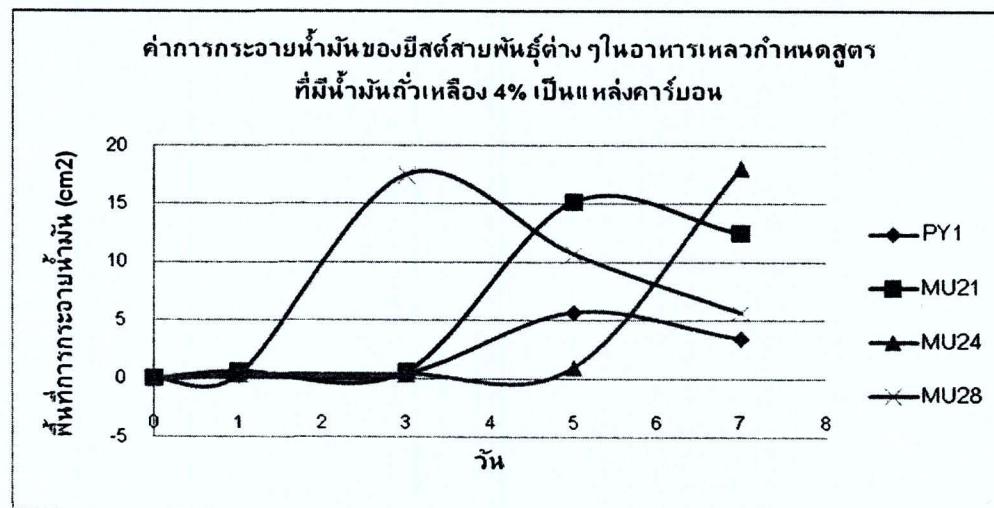
#### 3.4. การหาปริมาณในโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

## ผลการทดลอง

ทำการกลยุทธ์สายพันธุ์ PY1 ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต และได้สายพันธุ์กล้าย 104 สายพันธุ์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ PY1 และสายพันธุ์กล้ายในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอนพบร่วมกับยีสต์สายพันธุ์ PY1 และสายพันธุ์กล้ายสามารถให้พื้นที่การกระจายน้ำมันได้มากกว่าการใช้อาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีกลูโคส 8% เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์กล้าย MU21 สามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีที่สุดในวันที่ 5 เป็น 15.26 ตารางเซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 และ MU21 สามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 2.67 เท่า และลดค่าแรงดึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อมترเป็น 41.5 มิลลินิวตันต่อมتر สายพันธุ์กล้าย MU24 สามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีที่สุดในวันที่ 7 เป็น 18.09 ตารางเซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 และสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.16 เท่า และลดค่าแรงดึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อมترเป็น 39 มิลลินิวตันต่อมตร ส่วนสายพันธุ์กล้าย MU28 สามารถลดค่าแรงดึงผิวได้มากที่สุดในวันที่ 7 จาก 52.5 มิลลินิวตันต่อมตรเป็น 39 มิลลินิวตันต่อมตร ขณะที่ให้พื้นที่กระจายน้ำมันสูงสุดเท่ากับ 17.56 ตารางเซนติเมตรในวันที่ 3 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอน และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 และสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1

ประมาณ 3.1 เท่า จากนั้นนำ MU28 มาทำการกลยุพันธุ์อีกครั้งด้วยสาร Ethyl methane sulphonate (EMS) หลังจากทำการคัดเลือกที่ 36.36-2.14% การอยู่รอด พบว่าสายพันธุ์กล้ายของ U28 (MUE24) นั้นให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 17.64 ตารางเซนติเมตร และค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 5 มิลลิโนว์ตันต่ำเมตรในวันที่ 5 และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 แล้วสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่า PY1 ประมาณ 3.1 เท่า และเร็วกว่าสายพันธุ์ดังเดิม

สายพันธุ์	วัน	พื้นที่การกระจายน้ำมัน ( $\text{cm}^2$ )	$\Delta ST$
PY1	7	3.46	10.8
MU21	5	15.26	11.0
MU24	7	18.09	13.5
MU28	3,7	17.56	13.5
MUE24	5	17.64	17.5



### เอกสารอ้างอิง

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

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

วินทร์ ขาวศิริ\*, สันติ ทิพยานค์, ธรรมนูญ หนูจักร, ปรีชา ภาวนะศิริศาล, ลักษณา ดูบาน, และ พัฒนา สวัสดิ์  
 หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

**บทคัดย่อ**

พริก เป็นอาหารที่อยู่คู่อาหารของคนไทยมานาน พริกมีสารสำคัญ คือ สารที่ให้ความเผ็ด หรือ แคพไซซินอยด์ และ สารที่ให้สี หรือ คาโรทินอยด์ สารเหล่านี้มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นสมองส่วนกลางให้หลังสารออกไซด์ฟีน ทำให้ผ่อนคลายและลดความดันโลหิต เป็นต้น ในงานวิจัยนี้มุ่งพัฒนาเทคนิคการสกัดแคพไซซินอยด์ในพริก รวมทั้งการเปลี่ยนสารสกัดพริกให้อยู่ในรูปของฟิล์มเพื่อประโยชน์การใช้งานที่ง่ายขึ้น และเพิ่มมูลค่าของพริก

ในการพัฒนาเทคนิคการสกัดแคพไซซินอยด์ในพริก ได้ใช้เทคนิคไมโครเวฟแอสซิสต์ อิลิกวิชัน (microwave-assisted extraction, MAE) และการวิเคราะห์ด้วยไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิคิวติคโครมาโทกราฟี โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วยวิธี factorial design โดยใช้อุปกรณ์เป็นตัวทำละลายสกัด ซึ่งตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ กำลังของเครื่องไมโครเวฟ (400-800 วัตต์) เวลาในการสกัด (3-10 นาที) และปริมาตรของเอทานอล (10-30 มิลลิลิตร) จากการทดลองพบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กำลังของเครื่องไมโครเวฟ ระยะเวลาในการสกัด และปริมาตร รวมทั้งปัจจัยร่วมระหว่างกำลังและเวลา และ กำลังและปริมาตรมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด อย่างไรก็ตามปัจจัยร่วมระหว่างปริมาตรและเวลา มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดน้อย ภาวะการทดลองที่เหมาะสมได้แก่ กำลังเครื่อง 800 วัตต์ ทำการสกัดนาน 3 นาที โดยใช้อุปกรณ์ 20 มิลลิลิตร

นอกจากนี้ยังได้ทำการวิจัยการเพิ่มมูลค่าของพริก โดยเปลี่ยนรูปสารสกัดพริกให้อยู่ในรูปฟิล์มละลายเร็ว เพื่อประโยชน์การใช้งานที่ง่ายขึ้น เช่น ใช้ใส่ในอาหารร้อนแทนการใช้พริกป่น โดยได้ใช้ hydroxypropylmethylcellulose (HMP) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) เป็นสารก่อฟิล์ม ร่วมกับการใช้กลีเซอรีน เพื่อให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่ดี จากการทดลองเบื้องต้น พบว่า สารสกัดพริก หรือโอลิโอลีเซอิน ไม่สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวได้กับสารก่อฟิล์ม ทำให้ผิวฟิล์มมีน้ำมันของสารสกัดพริกอยู่มาก ดังนั้น จึงได้ทำการเตรียมสารผสมพริกก่อนนำไปทำเป็นฟิล์ม โดยนำสารสกัดพริกมากรอกกับโพลิเมอร์ชนิดหนึ่งเพื่อให้สารสกัดพริกสามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น เมื่อนำไปเข้ารูปเป็นฟิล์ม พบว่าให้ลักษณะการกระจายของพริกในเนื้อฟิล์มดีขึ้นอย่างมาก ผิวไม่มีน้ำมันไหลเยิ้มออกมาก แต่ยังพบปัญหาของการลอกฟิล์มออกจากเพลทแก้ว

๗ นิยมใช้ในการประกอบอาหาร เมล็ดงาประกอบด้วยมีไขมัน โปรตีน และการดองในที่จำเป็นต่อร่างกาย 2 ชนิด คือ methionine และ tryptophan ซึ่งพบได้น้อยในพืชชนิดอื่น นอกจากนี้เมล็ดงามีลักษณะเด่นกว่าพืชชนิดอื่น คือ มีสารในกลุ่ม lignan ได้แก่ sesamin และ sesamolin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักและมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่มเดียวกันอีกหลายชนิด เช่น sesamol, sesamolinol และ pinoresinol นอกจากนี้ยังพบว่า sesamin และ sesamolin มีฤทธิ์ทางเเเสงชีวิตยาที่สำคัญอย่างยิ่ง เช่น ลดความเป็นพิษของสารเคมีที่มีผลต่อตับ สมบัติ antioxidative stress ในเซลล์สมอง ลดความดันโลหิตสูง ลดอาการบวมอักเสบและโรคภูมิแพ้ สำหรับการงานที่เหลือจากการสกัดน้ำมันแล้ว จะมีสารกลุ่ม lignan glucoside ที่สำคัญได้แก่ sesaminol diglucoside และ sesaminol triglucoside ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์คล้ายกับสารกลุ่ม lignan ชนิดอื่น เพียงแต่มีข้อมากกว่าและละลายได้ดีในอัลกอฮอล์

กา冈 (Sesamum indicum pulp) เป็นวัสดุเหลือใช้จากอุดสาหกรรมการผลิตน้ำมันงา ซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่ม sesaminol glucoside ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายรวมทั้งสมบัติด้านอนุมูลอิสระ การสกัดสารกลุ่ม sesaminol glucoside จากกา冈ก่อนส่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์เป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือใช้ ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาการสกัดสารกลุ่มดังกล่าวโดยการใช้โพลิเมอริกเรซิน ในที่นี้เลือกใช้ Diaion HP20 ซึ่งเป็นโพลิเมอริกเรซินที่นิยมใช้ในการสกัดสารกลยโคไซด์ซึ่งเป็นสารที่มีข้าว จากการวิจัยพบว่าการใช้ Diaion HP20 ในการสกัดด้วยด้วยทำละลายทั้ง 3 ระบบ คือ 85:15 MeOH-H<sub>2</sub>O, 85:15 EtOH-H<sub>2</sub>O และ 85:15 propanol-H<sub>2</sub>O ให้ปริมาณ sesaminol glucoside ใกล้เคียงกับเดิมของ Moazzami แต่ประหยัดเวลากว่า

## ผลไม้เพื่อสุขภาพที่เคลือบเกลือแร่และวิตามินสำหรับผู้สูงอายุ

Fruit coated mineral supply for healthy aging

สเตฟอน ดูนาส<sup>a</sup>, ลักษณา ดูนาส<sup>b</sup>

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

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

### บทคัดย่อ

พื้นผิวของผลไม้ได้ผ่านการดัดแปลงด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพด้วยเทคนิค Layer-by-Layer โดยการเคลือบผลไม้ด้วยวิธีดังกล่าวจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางธรรมชาติของพื้นผิวผลไม้ จากความไม่ชอบน้ำมาเป็นความชอบน้ำ โดยผลไม้ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย ฝรั่ง แอบเปิล และมะม่วง โดยพื้นผิวของผลไม้จะถูกดัดแปลงโดยการสับส่วนการจุ่มผลไม้ลงในสารละลายพอลิเมอร์ ชีวภาพที่มีประจุบวกและประจุลบโดยที่สารละลายพอลิเมอร์ที่นำมาใช้ในการเคลือบผลไม้ได้แก่ พอลิไดอัลิลไดเมธิลแอมโมเนียมคลอไรต์ที่มีประจุบวก และพอลิสไตรีนชัลโฟเนตที่มีประจุลบ ความชอบน้ำของพื้นผิวประเมินโดยวัดมุมสัมผัสที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิว (surface contact angle) ค่ามุมสัมผัสที่เกิดขึ้นพบว่ามีค่าลดลงตามลำดับจาก 90 องศาของผลไม้ที่ไม่ผ่านการเคลือบ ลดลงเป็น 45 องศา และ 30 องศา หลังจากเคลือบผิวผลไม้ด้วยพิล์มนาง 2 และ 4 ชั้น ยิ่งไปกว่านั้นการเพิ่มขึ้นของจำนวนชั้นพิล์มที่ใช้ในการเคลือบ จะส่งผลให้พื้นผิวของผลไม้มีความชอบน้ำมากยิ่งขึ้นเนื่องจาก มีค่ามุมสัมผัสที่ต่ำมากเกินกว่าที่จะตรวจวัดได้

### บทนำ

ประเทศไทยได้รับสมญานามว่า “ครัวของโลก” อันเนื่องมาจากปริมาณการส่งออกอาหารและผลไม้เป็นอันดับต้นๆ ของโลก โดยมีการส่งออกผลไม้หลากหลายชนิด เช่น มะม่วง ฝรั่ง มังคุด กล้วย ส้ม ฯลฯ ไปยังແภูปรับประเทศในทวีปยุโรป ซึ่งใช้ระยะเวลาในการขนส่งสินค้าที่ยาวนานเป็นเหตุให้ผลไม้เกิดการเน่าเสียก่อนถึงมือผู้บริโภค ได้มีการแก้ปัญหาดังกล่าวด้วยการขนส่งทางอากาศซึ่งมีคันทุนในการขนส่งสูงเมื่อเทียบกับการขนส่งทางน้ำ ดังนั้นการแก้ปัญหาอีกวิธีหนึ่งคือการยืดอายุใน การเก็บรักษาผลไม้เพื่อการขนส่งทางน้ำที่ต้องใช้ระยะเวลานานกว่าทางอากาศ เป็นเหตุให้ งานวิจัยทางด้านอาหารได้รับความสนใจสูง

การใช้พอลิเมอร์ทางชีวภาพจึงถือเป็นทางเลือกที่ดึงดูดแก่อุตสาหกรรมส่งออกผลไม้ โดยพอลิเมอร์ทางชีวภาพอันได้แก่ ไคโตซาน เจลาติน อัลจิเนต ได้นำมาใช้เพื่อยืดอายุของผลไม้เนื่องจากสามารถบดีการด้านแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา ควบคุมการแพร่ผ่านเข้าออกของออกซิเจนและ ควบคุมได้ออกไซด์บิเตโนนพิวชันของผลไม้ได้ การเคลือบผิวผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพนั้นยังมี

สมบัติการด้านแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา ควบคุมการแพร่ฝ่านเข้าออกของออกซิเจนและ  
การบอนไดออกไซด์บริเวณผิวของผลไม้ได้ การเคลือบผิวผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ทางชีวภาพนั้นยังมี  
ปัญหาอันเนื่องมาจากลักษณะความไม่ชอบน้ำของผิวผลไม้ทำให้การเคลือบด้วยพอลิเมอร์ทาง  
ชีวภาพมีความไม่สม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกันในขั้นตอนการเคลือบผิว งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการใช้  
เทคนิคการเคลือบผิวผลไม้ด้วยสารพอลิอิเล็กโทรไลท์เป็นพิล์มบางหอยชั้นเพื่อทำหน้าที่เป็นยึด  
ระหว่างผิวผลไม้และพอลิเมอร์ชีวภาพ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ในมีระยะเวลาภายนอก

### วิธีการทดลอง วัสดุและสารเคมี

พอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (น้ำหนักโมเลกุล 200,000-350,000) และพอลิสไตรีนชัลโฟเนต (น้ำหนักโมเลกุล 70,000) สั่งซื้อจากบริษัทอัลตริช ประเทศไทย ไคโอดิชาณ สั่งซื้อ<sup>1</sup>  
จากบริษัทซีเฟรชไคโอดิชาณ (แล็บ) จำกัด ประเทศไทย ส่วนผลไม้สดที่ใช้สำหรับเคลือบพิล์มได้แก่  
ฟรุ๊ง มะม่วง แอบเปิลเขียว แอบเปิลแดง และชมพู่ ซื้อจากท้องปชุปเปอร์มาร์เก็ต ประเทศไทย

### การเคลือบผิวผลไม้ด้วยพิล์มบางหอยชั้นของพอลิอิเล็กโทรไลต์โดยเทคนิค Layer-by-Layer

สารละลายพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (พอลิอิเล็กโทรไลท์ประจุบวก) ความ  
เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และสารละลายพอลิสไตรีนชัลโฟเนต (พอลิอิเล็กโทรไลท์ประจุลบ) ความ  
เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เพื่อใช้ในการเคลือบผิวผลไม้ ได้แก่ ฟรุ๊ง มะม่วง แอบเปิลเขียว แอบเปิลแดง  
และชมพู่ โดยเป็นการเคลือบผิวผลไม้สับชั้นระหว่างพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ กับ<sup>2</sup>  
พอลิสไตรีนชัลโฟเนต ด้วยเทคนิค Layer-by-Layer เพื่อสร้างเป็นพิล์มบางหอยชั้นลงบนผิวของ  
ผลไม้เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาโดยที่ไม่ทำให้คุณลักษณะและคุณภาพของผลไม้  
เปลี่ยนแปลงไป

โดยในขั้นแรก ทำการล้างผลไม้ด้วยน้ำเปล่าให้สะอาดและผึ้งให้แห้ง จากนั้นทำการจุ่มผลไม้  
ลงในสารละลายพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 5 นาที  
แล้วนำผลไม้ที่ได้ดังกล่าวล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งเพื่อกำจัดพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์  
ส่วนที่ไม่ได้ติดอยู่บนผิวผลไม้ออกไป ทั้งนี้บริเวณผิวผลไม้จะถูกเคลือบด้วยพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอม  
โมเนียมคลอไรด์เป็นชั้นแรก

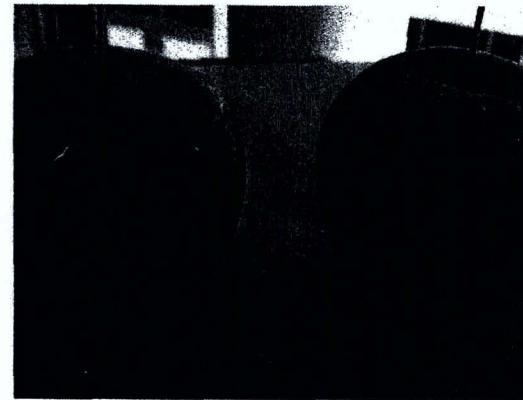
จากนั้นนำผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์มาจุ่มใน  
สารละลายพอลิสไตรีนชัลโฟเนตเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำผลไม้ที่ได้ดังกล่าว  
ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งเพื่อกำจัดพอลิสไตรีนชัลโฟเนต ส่วนที่ไม่ได้ติดอยู่บนผิวผลไม้ออกไป ซึ่งผิว  
ของผลไม้ดังกล่าวจะถูกเคลือบด้วยพอลิสไตรีนชัลโฟเนตเป็นชั้นที่สอง เนื่องจากพอลิไดอัลลิลไดเมทิล  
แอมโมเนียมคลอไรด์สามารถจับกับพอลิสไตรีนชัลโฟเนตด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุที่ตรงกันข้าม

ขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้นจะถูกทำซ้ำเพื่อเคลือบผิวผลไม้ด้วยพิล์มบางหอยชั้นระหว่างพอลิ  
ไดอัลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์และพอลิสไตรีนชัลโฟเนต จำนวน 2 ชั้นและ 4 ชั้น

การทดสอบแรงตึงผิวของผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยฟิล์มบางหلامชั้นเปรียบเทียบกับผิวผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ (Surface contact angle measurement)

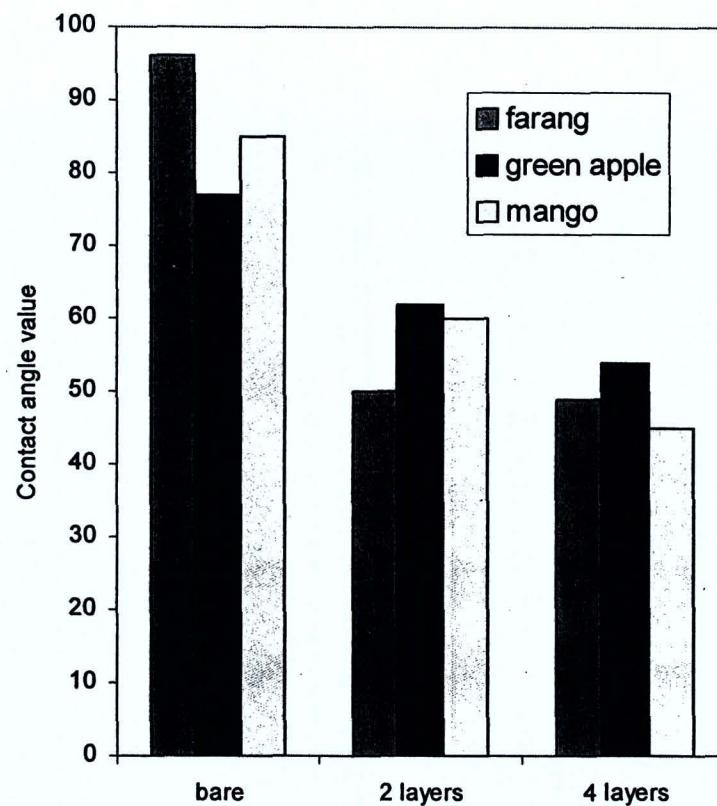
ขั้นตอนแรกทำการหยดน้ำปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยฟิล์มบางหلامชั้นแล้วทำการถ่ายภาพและวัดมุมของหยดน้ำที่อยู่บนพื้นผิวผลไม้ที่เกิดขึ้น ณ. เวลาต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ เพื่อศึกษาคุณสมบัติความเป็น hydrophobic และ hydrophilic ที่เปลี่ยนแปลงไปบนผิวผลไม้ทั้งก่อนและหลังเคลือบ

#### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่1: ภาพถ่ายผลแอปเปิลที่ผ่านการเคลือบ (ซ้าย) และไม่ผ่านการเคลือบ (ขวา) ที่ผ่านการพ่นน้ำ

จากรูปที่1 แสดงผลของการเคลือบผิวแอปเปิลด้วยพอลิอิเล็กทรอไลท์เป็นฟิล์มบางหلامชั้น เทียบกับผิวแอปเปิลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ ซึ่งผิวแอปเปิลที่เคลือบด้วยพอลิอิเล็กทรอไลท์เป็นฟิล์มบางหلامชั้นนั้นมีลักษณะที่ขอบน้ำแตกต่างจากผิวของแอปเปิลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบที่แสดงลักษณะความไม่ชอบน้ำอย่างชัดเจน ดังจะเห็นได้จากการเทียบของลักษณะหยดน้ำบนผิวของแอปเปิลที่เกิดขึ้น บนผิวแอปเปิลที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบจะแสดงลักษณะหยดน้ำที่เกาะบริเวณพื้นผิวอย่างชัดเจน แต่บนผิวแอปเปิลที่เคลือบด้วยพอลิอิเล็กทรอไลท์เป็นฟิล์มบางหلامชั้นแสดงลักษณะผิวที่เรียบของน้ำที่ทำการฉีดลงไปซึ่งเป็นลักษณะของพื้นผิวที่ชอบน้ำ



รูปที่ 2: ผลของการเคลือบด้วยพอลิอิเล็กทรอไอล์เป็นฟิล์มบางหลายชั้นบนพื้นผิวของผลไม้ (ฝรั่ง, แอปเปิลเขียว และมะม่วง) ต่อค่ามุ่งสัมผัส

จากรูปที่ 2. แสดงผลกระทบคุณสมบัติทางธรรมชาติของการเคลือบผิวผลไม้ โดยสามารถที่จะสรุปได้ว่า ฝรั่ง แอปเปิล และมะม่วงมีคุณสมบัติการไม่ชอบน้ำ โดยค่าการวัดมุ่งสัมผัสของหยดน้ำบนพื้นผิวมีค่าระหว่าง 80-90 องศา ภายใต้การเคลือบผิวฟิล์มบางหลายชั้นทำให้พื้นผิวผลไม้มีคุณสมบัติการชอบน้ำต่ำลงในช่วงระหว่าง 45-55 องศา

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผิวผลไม้ที่ผ่านการเคลือบด้วยฟิล์มบางหลายชั้นสามารถเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของผลไม้โดยเพิ่มคุณสมบัติความชอบน้ำให้กับพื้นผิวของผลไม้เพื่อสามารถนำไปใช้สำหรับการเคลือบพื้นผิวของผลไม้ด้วยพอลิเมอร์ชีวภาพต่อไป

## สารสำคัญและการประเมินคุณภาพอาหารเสริมจากกระชายดำ

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

สันติ ทิพยานอยด์\*, วนิช ชาคริ, ปรีชา ภูวไพรศิริศาล, พัฒนา สวัสดิ์, ไพบูลย์ รัชตะสาคร  
หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### บทคัดย่อ

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

#### วิธีการทดลอง

1. แยกสารบริสุทธิ์ในสิ่งสกัดเชกเซน (สาร 1-3) และไดคอลอโรมีเทน (สาร 4-10) ได้สารฟลาโวนอยด์ประเภทฟลาโวนที่มีปริมาณมากพอ 10 ชนิด ที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิริลโคลีนเอสเตอเรส

2. การสังเคราะห์ในโตรฟลาโวน (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโวน (สาร 3-4) และเอไมด์ฟลาโวน (สาร 5-6)

##### 2.1 การสังเคราะห์ในโตรฟลาโวน

สังเคราะห์โดยผ่าน 3 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการเตรียม nitro-benzyl chloride (b) โดยนำ nitrobenzoic acid ในด้วนทำละลายแบบซีน นำมาเดิม  $\text{SOCl}_2$  รีฟลักซ์เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

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

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

ขั้นตอนที่ 3 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอน 2 มาทำปฏิกิริยา cyclization โดยการเติม glacial acetic acid และ  $H_2SO_4$  ให้ความร้อนและรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ 2-(3-nitro-phenyl)-chromen-4-one (1) และ 2-(4-nitro-phenyl)-chromen-4-one (2)

## 2.2 การสังเคราะห์อะมิโนฟลาโวน

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

ขั้นตอนที่ 2 นำ nitroflavone เติม Pd/C(10%) จากนั้นเติม  $NH_4HCO_2$  และ MeOH จะได้ 2-(4-amino-phenyl)-chromen-4-one (4)

## 2.3 การสังเคราะห์เอามีด์ฟลาโวน

นำ aminoflavone มาทำปฏิกิริยา acylation โดยการเติม  $Ac_2O$  และ triethylamine จากนั้นเติม  $CH_2Cl_2$  จะได้ N-[3-(4-oxo-4H-chromen-2-yl)-phenyl]-acetamide (5) และ N-[4-(4-oxo-4H-chromen-2-yl)-phenyl]-acetamide (6)

## 3. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

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

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

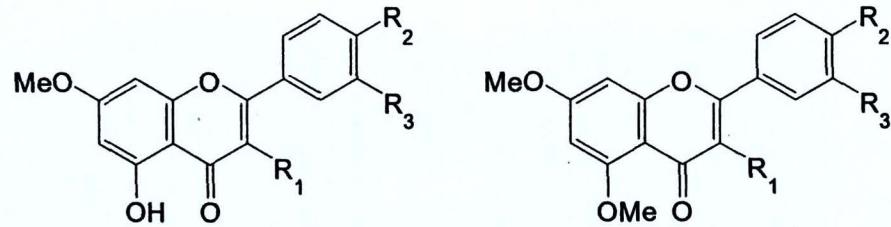
## 4. การเตรียมกระชายต้ม โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

วิธีที่ 1 สะัดด้วยน้ำ แล้วนำไปทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry)

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

## ผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิริลโคลีนเอสเตอเรส ด้วยวิธี microplate ของสารที่แยกได้จากกระชายต้ม (1-10) พบร้าสาร 7 (84.6 %) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์บิวทิริลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด ตามด้วยสาร 6 (46.2 %), 10 (22.8 %), 8 (17.9 %) และ 9 (16.5 %) ตามลำดับ

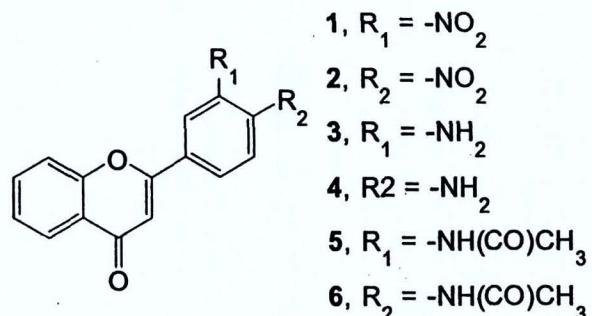


- |   |  |
|---|--|
| 1, $R_1 = \text{OMe}$ ; $R_2 = R_3 = \text{H}$  | 5, $R_1 = \text{OMe}$ ; $R_2 = R_3 = \text{H}$ |
| 2, $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$                 | 6, $R_1 = R_3 = \text{H}$ ; $R_2 = \text{OMe}$ |
| 3, $R_1 = R_2 = \text{OMe}$ ; $R_3 = \text{H}$  | 7, $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$                |
| 4, $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OMe}$               | 8, $R_1 = R_2 = \text{OMe}$ ; $R_3 = \text{H}$ |
| 10, $R_1 = R_3 = \text{H}$ ; $R_2 = \text{OMe}$ | 9, $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OMe}$              |

รูปที่ 1 โครงสร้างของฟลาโน่ที่แยกได้ (1-10)

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

2. การสังเคราะห์ในโครงฟลาโน่ (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโน่ (สาร 3-4) และเอีเม็ต์ฟลาโน่ (สาร 5-6) พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและบิวทิริลโคลีนเอสเตอเรส



รูปที่ 2 โครงสร้างของอนุพันธ์ฟลาโน่สังเคราะห์ (สาร 1-6)

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

ให้ % การยับยั้งเออนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด (72.58%) ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเออนไซม์บิวทิริลโคลีน  
เอสเตอเรส พบว่าสาร 5 จะให้ % การยับยั้งเออนไซม์บิวทิริลโคลีนเอสเตอเรสสูงสุด (69.45 %) ดังตาราง  
ที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเออนไซม์โคลีนเอสเทอเรสและบิวทิริลโคลีนเอสเตอเรสของสารใน  
โครงการ (สาร 1-2) อะมิโนฟลาโวน (สาร 3-4) และเอ่ไมค์ฟลาโวน (สาร 5-6) ที่สังเคราะห์ได้

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

4. การแปรรูปกระจายตัวผ่าน โดยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (freeze-dry) พบว่า วิชี ก (สกัด  
ด้วยน้ำ) จะดีกว่าวิชี ข (สกัดด้วย 50% น้ำ-เมทานอล) เนื่องจากวิชี ข จะดูดความชื้นเมื่อวางทิ้งไว้ แต่เมื่อ  
ทำการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเทคนิค GC ของการสกัดด้วยน้ำ (วิชี ก) พบว่าไม่มีปริมาณสาร 6 และ  
7 ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นส่วนประกอบ ขณะนี้กำลังทำการสกัดด้วยน้ำที่มีปรอร์เซ็นต์ของ  
เมทานอลต่ำๆ คาดว่าจะมีสาร 6 และ 7 ออกมากบ้าง ในขณะเดียวกันคาดว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำให้  
แห้งแบบแช่แข็งด้วยวิชีนี้จะไม่ดูดความชื้น

#### เอกสารอ้างอิง

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

ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดเปลือกทับทิม (*Punica granatum* Linn.)

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

สุทธิศักดิ์ สุนิศิลป์\* สุเมธ ดันตรีเชียร์ ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก  
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

### บทคัดย่อ

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

### วิธีการทดลอง

#### 1. การสกัดสารจากเปลือกผลทับทิม

นำเปลือกผลทับทิมทั้งสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และ พันธุ์แสงตะวัน (อบแห้งที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$ ) มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วน 1:4 จากนั้นนำไปกรองด้วย rotary evaporator การสกัดด้วยน้ำกลั่นทำ 2 วิชี คือ สกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 1:15 เท่าโดยการเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แบบที่ 1) และ สกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 1:3 เท่า โดยการตีบีบเป็นเวลา 5 นาที (แบบที่ 2) นำสารสกัดด้วยน้ำมากรองหยาบและปั่นให้ยิ่งแล้วนำส่วนใสกรองด้วย membrane filter ขนาด  $0.45 \mu\text{m}$  ตรวจสอบร้อยละของสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิชี

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม

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

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

## ผลการทดลอง

### 1 ปริมาณสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม

ผลการสกัดสารจากเปลือกผลทับทิม ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากประเทศไทยและประเทศจีน และ พันธุ์แสงตะวัน โดยใช้อุตสาหกรรม 95 เปอร์เซนต์ และ น้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดเปลือกผลทับทิม ทั้ง 3 พันธุ์ที่ สกัดด้วยอุตสาหกรรม 95 เปอร์เซนต์ มีปริมาณสารสกัด  $28.30 \pm 1.04$ ,  $26.65 \pm 1.21$  และ  $21.17 \pm 0.75$  เปอร์เซนต์ ตามลำดับ เมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด แล้วทำแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ปริมาณสารสกัด  $22.07 \pm 1.55$ ,  $9.89 \pm 0.94$  และ  $13.30 \pm 1.22$  เปอร์เซนต์ตามลำดับ และเมื่อใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยการตีบี้น แล้วกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน ตรวจสอบปริมาณของสารสกัดตามวิธี A.O.A.C (1990) พบว่ามีปริมาณเท่ากับ  $12.03 \pm 0.56$ ,  $7.17 \pm 0.62$  และ  $9.71 \pm 0.65$  เปอร์เซนต์ตามลำดับ

### 2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์ต่างๆ

การใช้สารสกัดเปลือกผลทับทิมพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์จากประเทศไทยและประเทศจีน และ พันธุ์แสงตะวันที่สกัดด้วยอุตสาหกรรม 95 เปอร์เซนต์และน้ำกลั่นเพื่อใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 10 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus* ATCC 1729 และ *S. aureus* ATCC 6538P พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมทั้ง 3 พันธุ์ที่สกัดด้วยอุตสาหกรรม 95 เปอร์เซนต์และสกัดด้วยน้ำทั้ง 2 วิธี สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 6538P ได้ต่ำกว่า ดังแสดงในตารางที่ 1 และยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบได้ทั้ง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922, *S. Enteritidis* DMST 17368, *S. Anatum* DMST 17362, *S. Derby* DMST 16814, *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Choleraesuis* ATCC 10708, *P. fluorescens* TISTR 385 และ *P. aeruginosa* ATCC 15442 โดยยับยั้ง *P. aeruginosa* ATCC 15442 ได้ต่ำกว่า *P. fluorescens* TISTR 385 สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมด้วยอุตสาหกรรม 95 เปอร์เซนต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำทั้ง 2 วิธี และสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์แสงตะวันมีฤทธิ์ยับยั้งได้ต่ำกว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จากประเทศไทยและประเทศจีน

**ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดเปลือกหัวพืช ด้วยวิธี paper-disc diffusion**

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

หมายถึง ฝ่าป่ากวางใส  
ตัวเลขในตาราง คือ ค่าเฉลี่ยของขนาดวงใส (มม.) ± SD

## สรุปผล

สารสกัดจากเปลือกหัวพืชสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด โดยพันธุ์แสงตะวันที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และน้ำ มีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้สูงกว่า พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสารสกัดเปลือกหัวพืชด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์มีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

## เอกสารอ้างอิง

Al-Zoreky NS. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels.

International Journal of Food Microbiology 134(3):244-248.

Iqbal S, Haleem S, Akhtar M, Zia-ul-Haq M, Akbar J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. Food Research International 41(2):194-200.

## การประยุกต์ QR code สำหรับระบบการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองคุณภาพเพื่อการส่งออก

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

เดือนiae โภสกุล<sup>๑</sup> และปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤกษ์<sup>๒</sup>

<sup>๑</sup> ภาควิชาพฤกษาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ ๑๐๓๓๐

<sup>๒</sup> ห้องปฏิบัติการทราบเจนิคในพืชและใบโอดี้นเซอร์ ภาควิชาพฤกษาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ ๑๐๓๓๐

#### บทคัดย่อ

ประเทศไทยส่งออกมะม่วงปีละกว่า 1500 ตัน เป็นมูลค่า 547.73 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, ๒๕๔๙) การพัฒนาศักยภาพให้มากไปกว่านี้ต้องอาศัยการพัฒนามะม่วงให้ได้คุณภาพและมีการรับรองที่ดี จึงได้พัฒนาระบบ QR code สำหรับการเพิ่มมูลค่าในการรับรอง และประกันคุณภาพและความปลอดภัยในการผลิตมะม่วงเกรดส่งออกต่างประเทศ จากการสร้างฐานข้อมูลการผลิต การใช้สารเคมีโดยระบบการผลิตและข้อมูลการควบคุมคุณภาพตามหลัก Eurep GAP และปรับให้อยู่ในรูปฐานข้อมูล php พัฒนาการเชื่อมโยงข้อมูลสู่ผู้บริโภค ทำได้โดยการใช้รหัส QR ผ่าน website www.qrthai.mango.com/qr ที่สร้างขึ้นด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3 การดำเนินการในรูปแบบสาขิดแสดงให้เห็นว่า สามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่เข้าตรวจสอบข้อมูลผ่าน keywa reader ในการเรียกดูฐานข้อมูลการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยได้โดยตรง เป็นช่องทางที่ช่วยเสริมการรับรองคุณภาพและช่วยให้เกิดภาพลักษณ์ที่ดีแก่สินค้าส่งออกของประเทศไทย

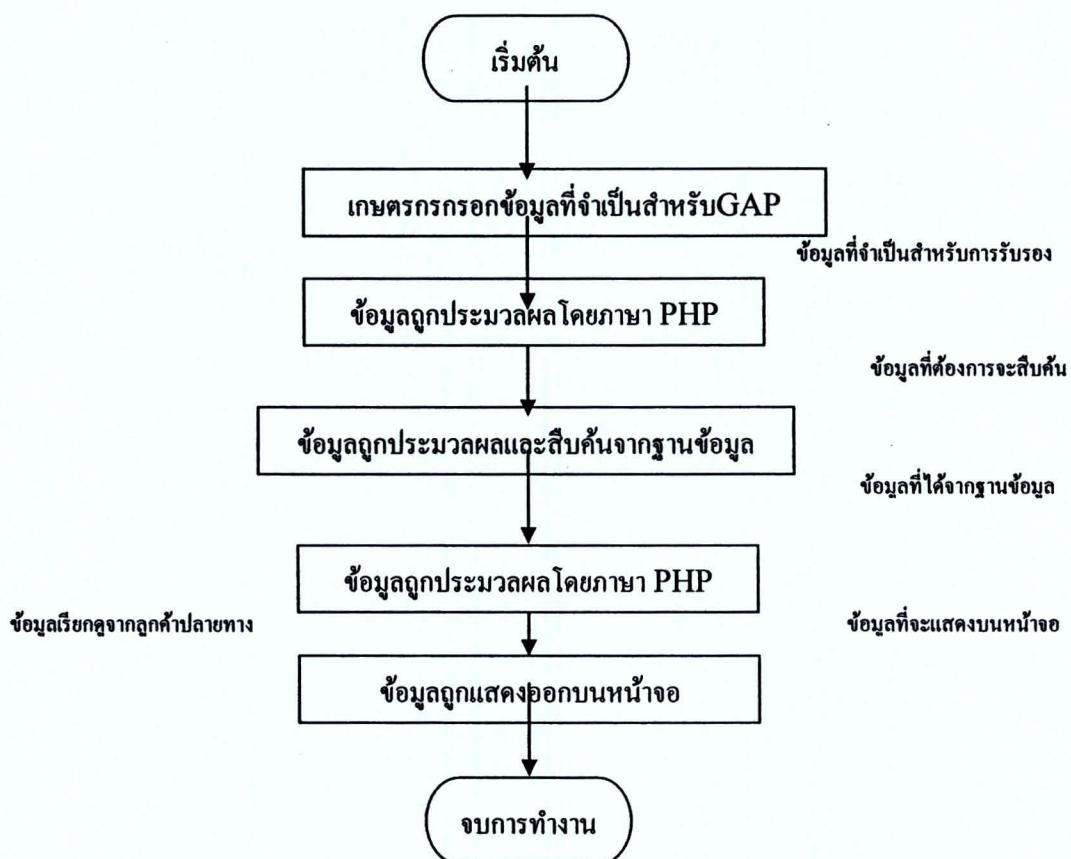
#### วิธีการทดลอง

- สร้างฐานข้อมูลการผลิตและการควบคุมคุณภาพด้วยหลัก Eurep GAP จากกลุ่มเกษตรกรผู้ส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก ด้วยโปรแกรม php My Admin จากนั้นเชื่อมโยงข้อมูลในรูปโครงข่ายที่ตรวจสอบได้จากอินเตอร์เน็ตด้วยโปรแกรม Adobe Dream Weaver CS3
- แปลงข้อมูลทั้งหมดให้อยู่ในรูปเชื่อมโยงกับรหัส QR ผ่านโปรแกรม QR code generator
- ตรวจสอบโดยการสาขิดการทำงานบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ โดยการเชื่อมโยงโทรศัพท์กับรหัสผ่านโปรแกรม keywa reader และการเชื่อมโยงไปสู่การรับรองคุณภาพ

## ผลการทดลอง

สร้างฐานข้อมูลการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อการส่งออกที่ส่งตามระบบ Eurep GAP ประกอบไปด้วย ข้อมูลการปลูก การใช้สารเคมีระหว่างการผลิตในแต่ละล็อต ข้อมูลการเก็บเกี่ยวและปรับปรุงพันธุ์ ฯลฯ

ฐานข้อมูลดังกล่าวจัดเก็บในรูป .xsl การปรับให้อยู่ในรูป php file และทำให้อยู่ในรูป interactive โดยใช้โปรแกรม Php My Admin โดยการเชื่อมโยงมีโครงสร้างดังแสดงในภาพ (ภาพที่ 1.)



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

การเรียกดูข้อมูลทำโดยผ่านการใช้โปรแกรม keywa reader โดยสามารถใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่ที่เชื่อมโยงกับอินเตอร์เน็ตที่สามารถถ่ายภาพได้ ทำให้สามารถตรวจสอบข้อมูลการผลิตและการรับรองคุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ผลิตเพื่อการส่งออกได้

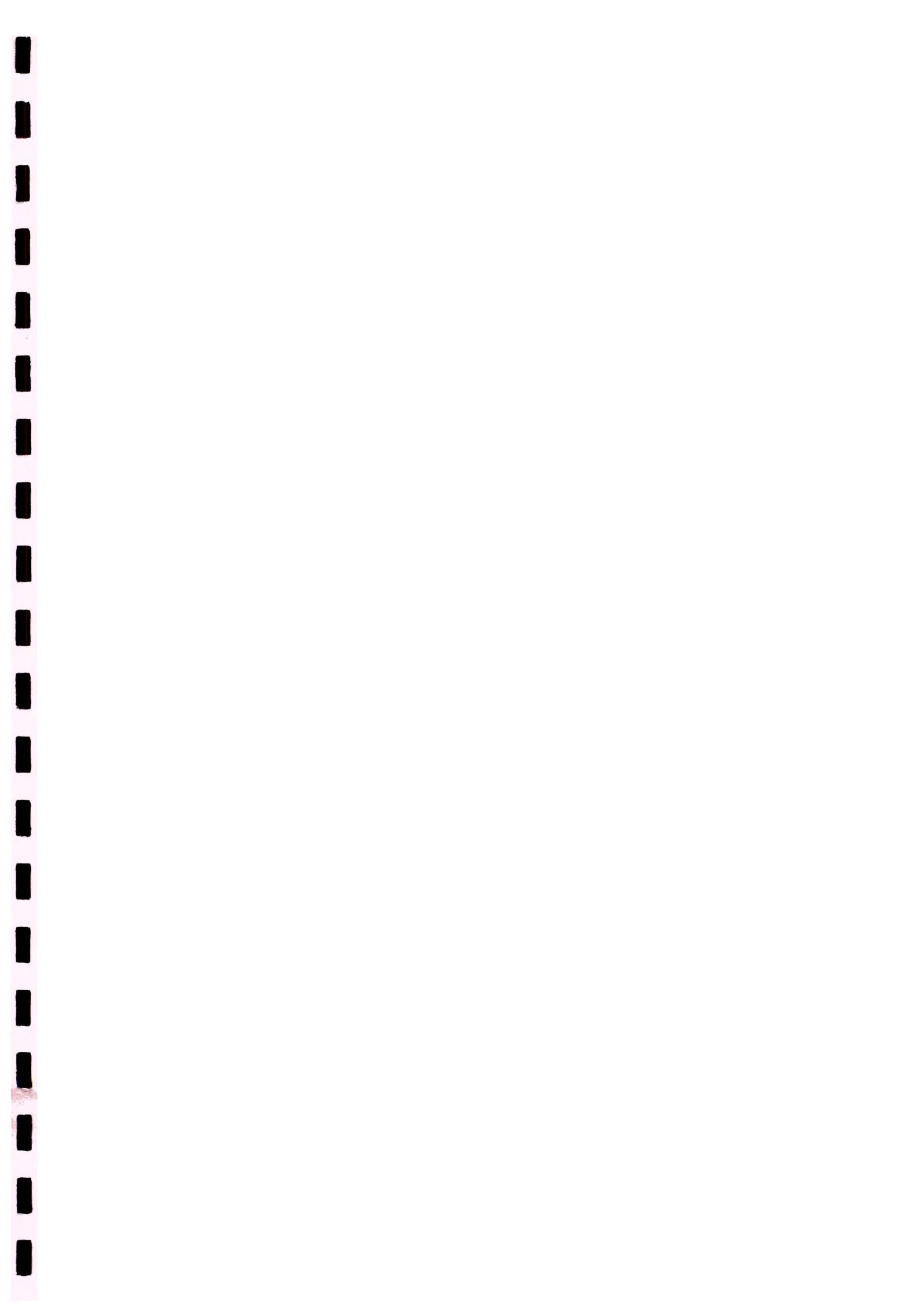
ด้วยระบบช่วยให้ผู้ส่งออกและเกษตรกร ผู้ผลิตสามารถรับรองคุณภาพและความปลอดภัยในด้านสินค้าขยะเดียวกันยังช่วยให้ผู้บริโภคปลายทางสะดวกในการค้นหาข้อมูล ประกอบการตัดสินใจหรือข้อมูลรับรองที่ทำให้เกิดความพึงพอใจ ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการพัฒนาข้อมูลที่เชื่อมโยงกับระบบการส่งออกให้กันสมัย ส่งผลดีต่อการรักษามาตรฐานด้านคุณภาพและภาพลักษณ์ของประเทศไทย

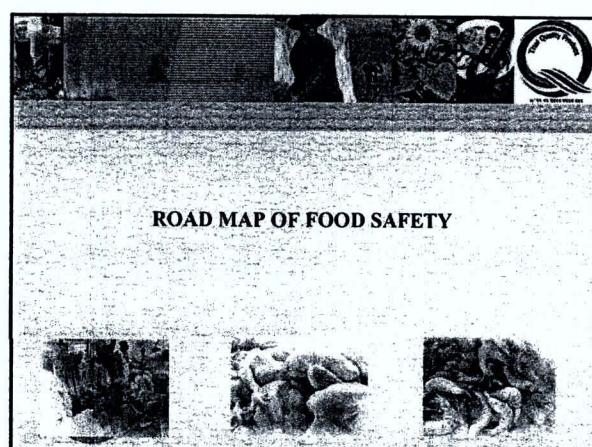
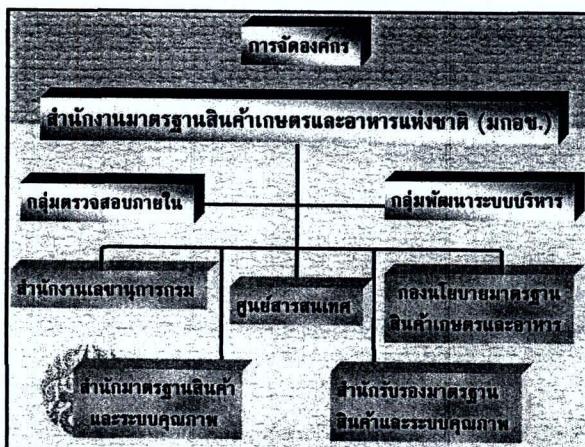
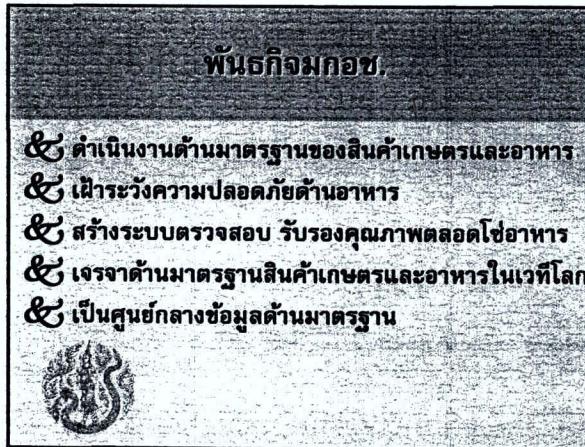
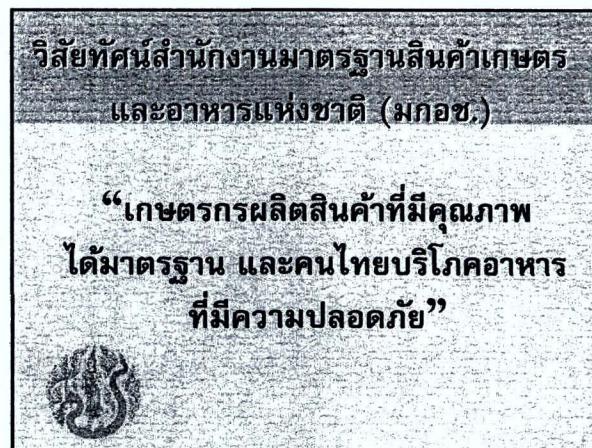
#### เอกสารอ้างอิง

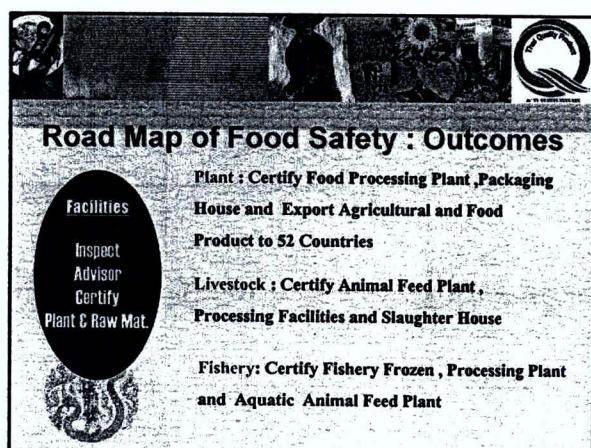
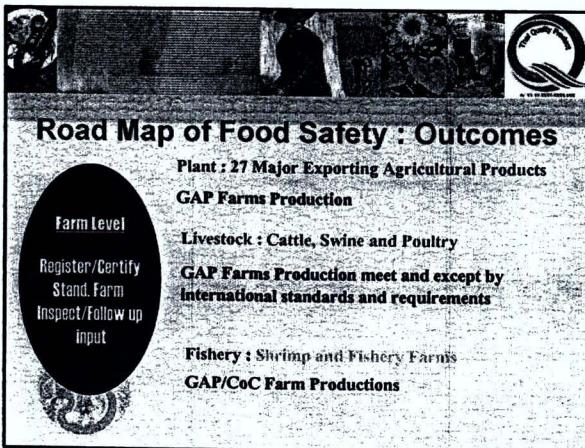
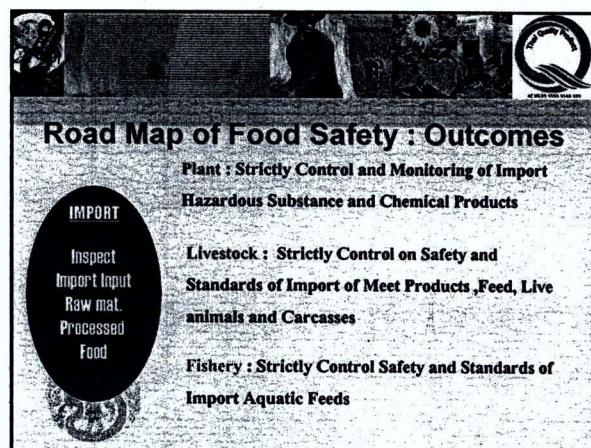
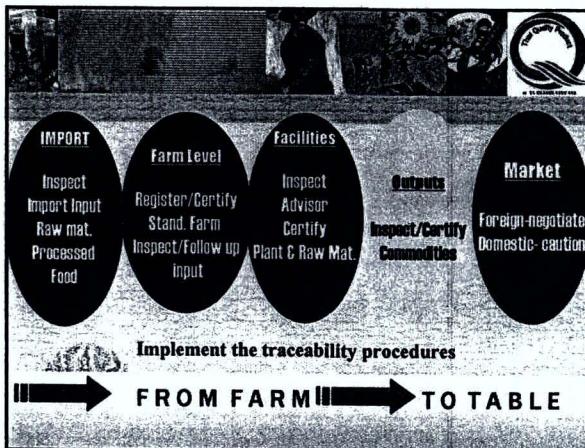
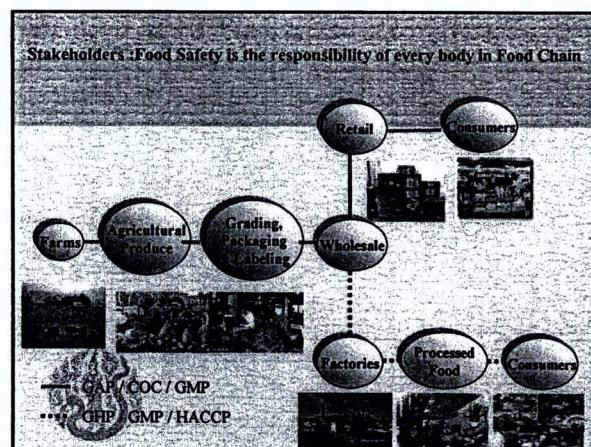
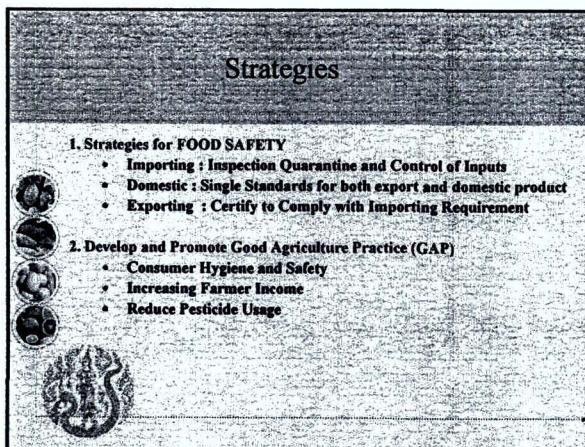
สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. “มะม่วง” ไม้ผลของคนไทย ไปไกลถึงต่างแดน อ้างใน <http://www.biotec.or.th/biotechnology-th/newsdetail.asp?id=1923> (30 พฤศจิกายน 2552)

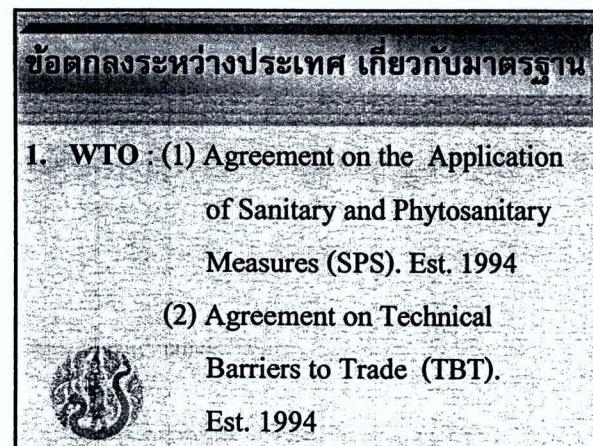
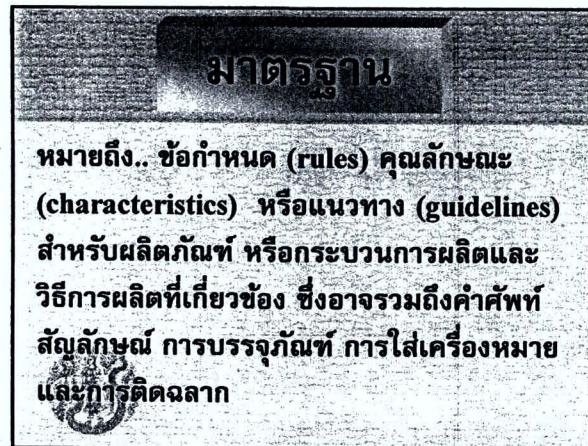
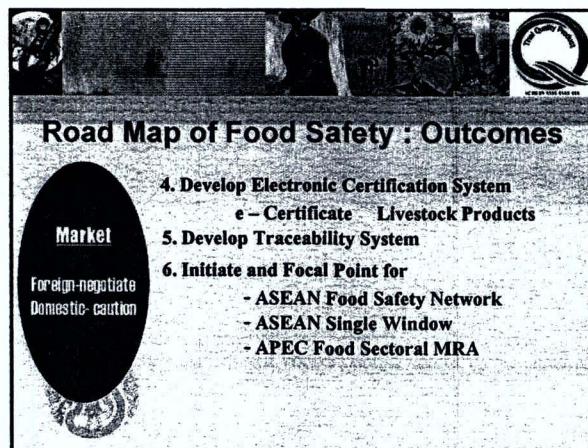
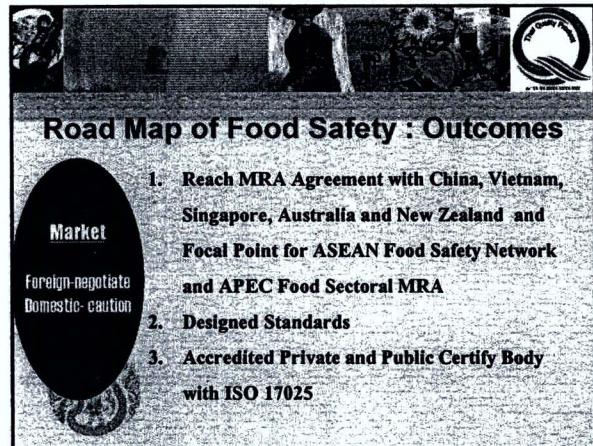
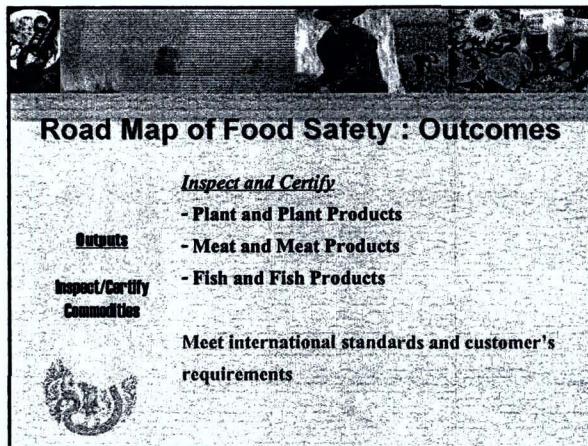
Anonymous. 2002. QR code for food safety assurance. Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services Ministry of Agriculture Fishery and Forestry, Japan, internal document No. 2154. (in Japanese)

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





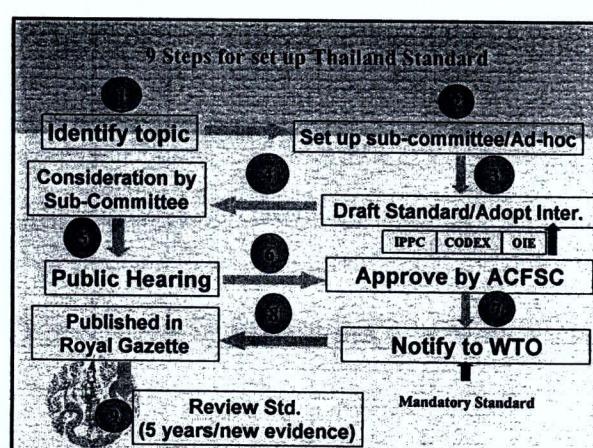
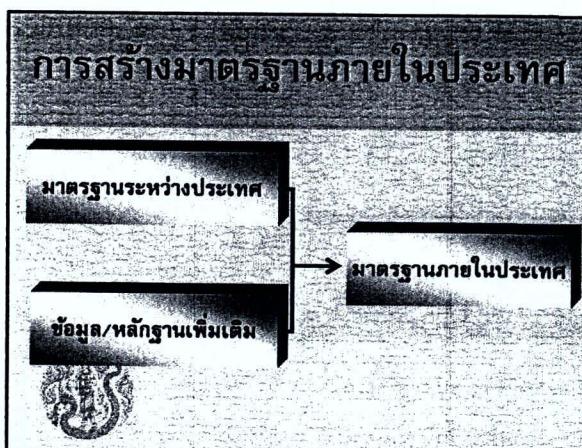
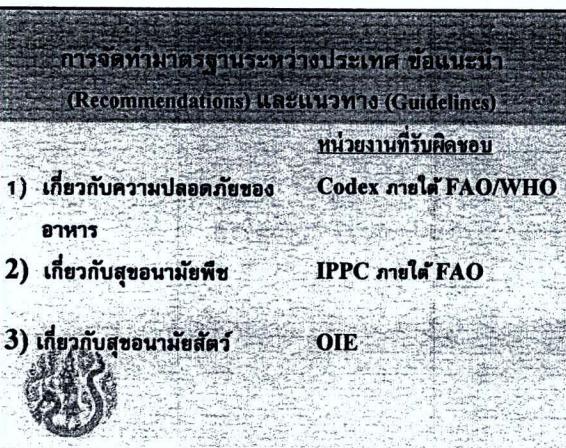


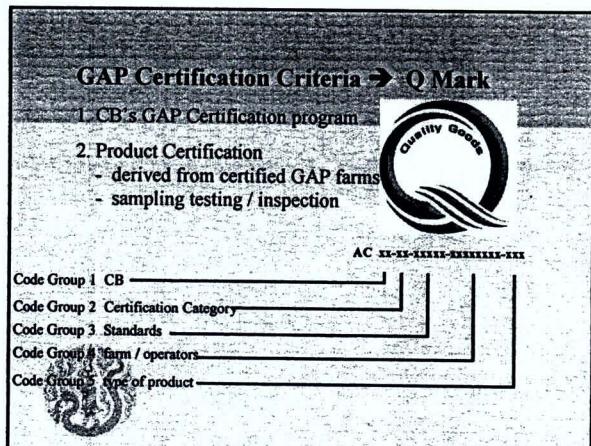
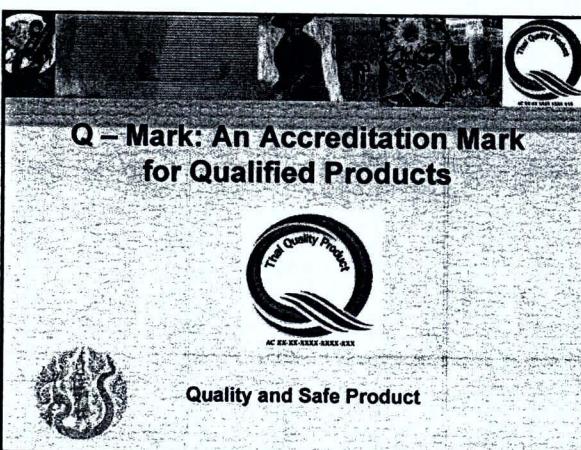
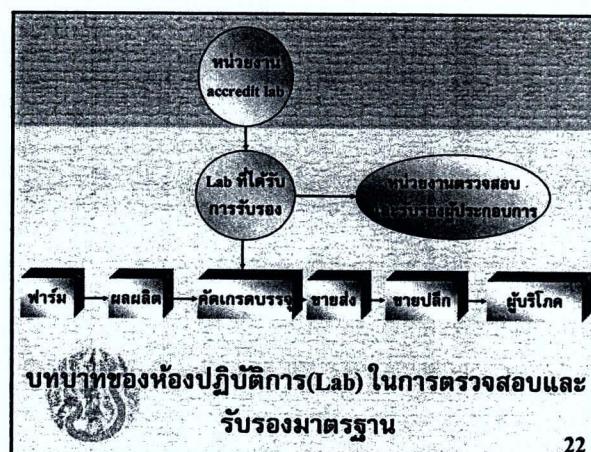
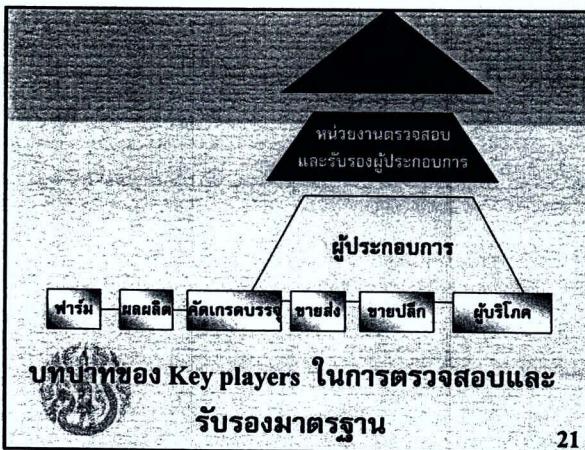
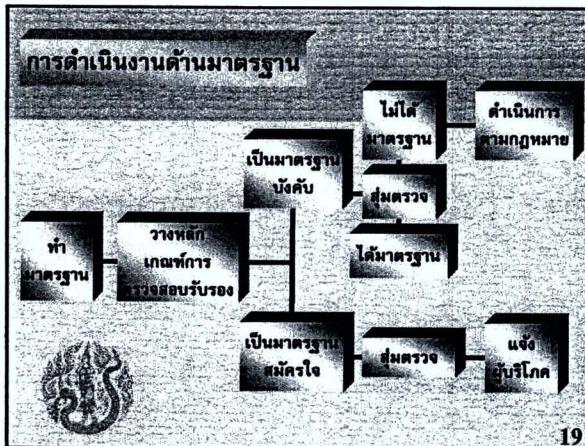


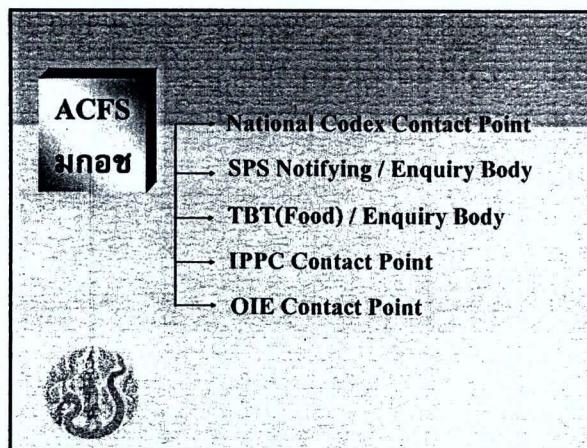
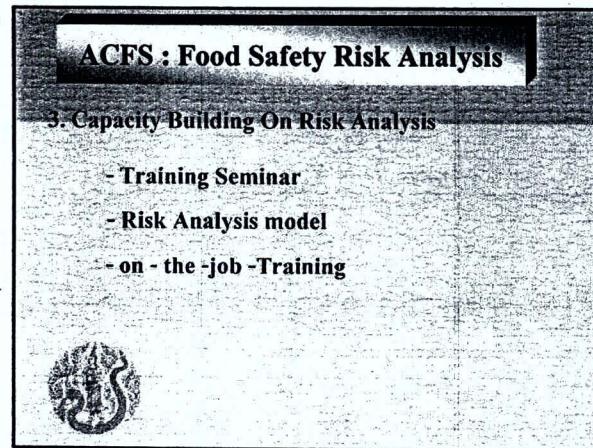
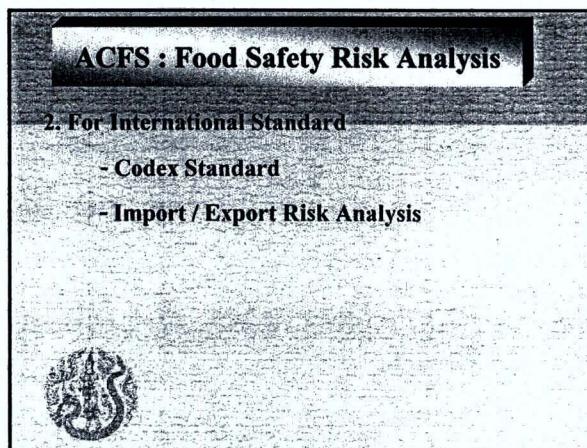
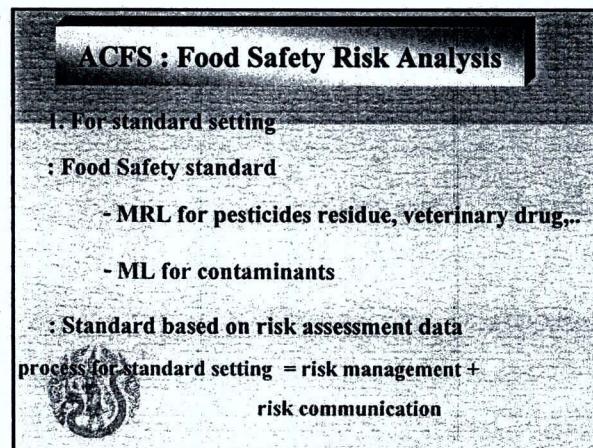
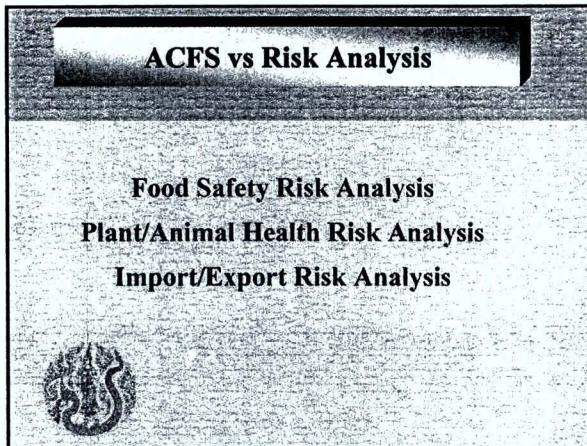
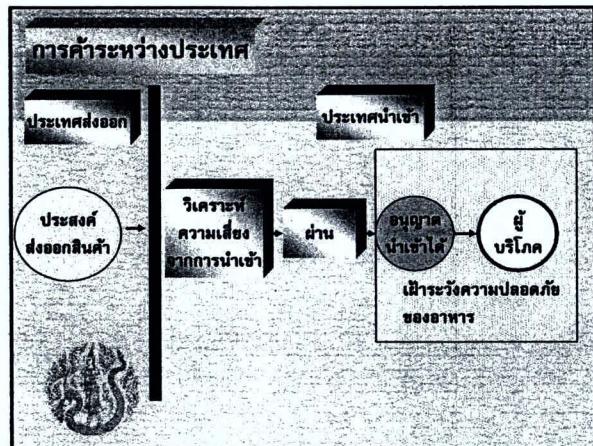
- 2. FAO ร่วมกับ WHO : Codex Alimentarius**  
 Commission Est. 1961/62 , revised  
 หลักครั้ง  
**3. FAO : International Plant Protection**  
 Convention (IPPC). Est. 1952 ,  
 revised in 1997

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

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







**ACFS : RASFF**

Rapid Alert System for Food and Feed

ปัญหาเดินค้าไทยที่ส่งออกไปยังยุโรปปี 2551

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

**ACFS : RASFF**

Rapid Alert System for Food and Feed

ปัญหาเดินค้าไทยที่ส่งออกไปยังยุโรปปี 2552

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

**ACFS : RASFF**

ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ค. 2552

สินค้า	ประเภท	สาเหตุ
ในดอง	หมู	<i>Salmonella spp.</i>
ในบัวง	สวีเดน	<i>Salmonella spp.</i>
สะเดาสด	สวีเดน	E.Coli และ <i>Salmonella spp.</i>
หมักพะ	สวีเดน	<i>Salmonella spp.</i>

**ACFS : RASFF**

ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ค. 2552

สินค้า	ประเภท	สาเหตุ
พิษเขียว	พิเนແಡນຕ์	Formetanate (6.8mg/kg)
ใบกระเพา	อิตาลี	Omethoate Dimethoate (8.3mg/kg)
ผ่านปลา	อิตาลี	Histamine (243-275 mg/kg)
ไก่กราย	เคนเซอร์ແດນຕ์	Carbon monoxide treatment

35

**ACFS : RASFF**

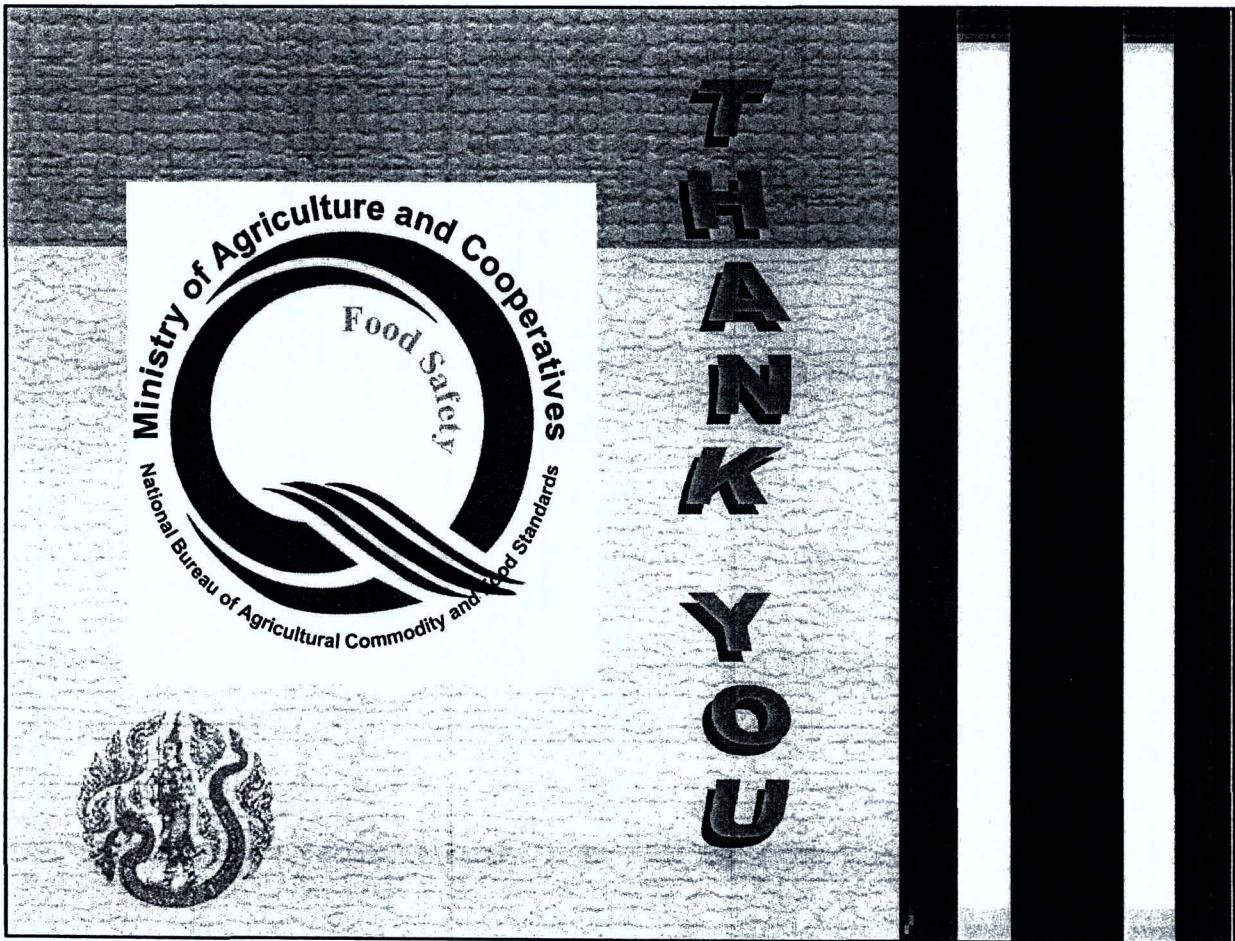
ระหว่างวันที่ 1-30 พ.ค. 2552

สินค้า	ประเภท	สาเหตุ
ปลากรายไก่หมัก คาน	เคนเซอร์ແດນຕ์	Carbon monoxide treatment
หมักพะ	สาธารณรัฐไดร์ฟ เกีย	ESBO (2,281 mg/kg)

35

**CONCLUSION**

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





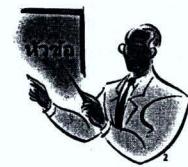
## สินค้าอาหารไทยสู่ตลาดโลก

โดย ห้างสุจิตรา ถนนทรัพย์  
ผู้อำนวยการกลุ่มสินค้าเกษตรและประมง  
สำนักบริการส่งออก 1  
กรมส่งเสริมการส่งออก กระทรวงพาณิชย์



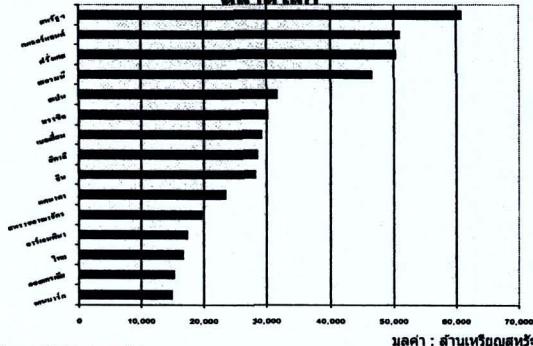
1

- ▣ การส่งออกสินค้าอาหารของไทยในปัจจุบัน
- ▣ กลยุทธ์การส่งออกปี 2553
- ▣ แนวโน้มนวัตกรรมในสินค้าอาหารในตลาดโลก
- ▣ การดำเนินงานของกรมส่งเสริมการส่งออก  
เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่

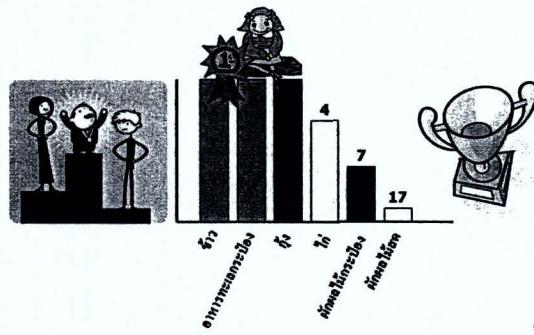


2

ประเภทส่งออกสำคัญของสินค้าอาหารใน  
ตลาดโลก



ความสามารถในการแข่งขันของสินค้าอาหารไทย  
ในตลาดโลก



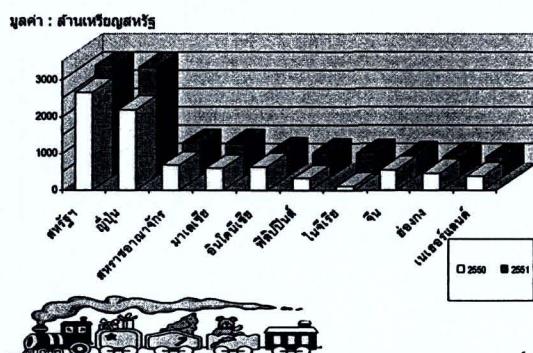
สถานการณ์ส่งออกสินค้าอาหารและเกษตรสำคัญของไทย

	(ล้านบาท/เดือนต่อเดือน)			อัตราขยายตัว (%)	สัดส่วน (%)
	ปี 2551	ปี 2552	ปี 2551		
	(ล.ร.-ล.ร.)	(ล.ร.-ล.ร.)	(ล.ร.-ล.ร.)		
รวมทั้งหมด	177,841	124,114	15.8	-19.6	100.0
1) ข้าว	29,547	20,302	+0.1	-20.3	16.4
2) ยาง天然	6,204	4,179	78.9	-25.5	3.4
3) อาหารแปรรูป	6,792	3,151	20.4	-48.6	2.5
4) เม็ดกล้วยน้ำ풀	1,458	1,141	3.6	-12.5	0.9
5) น้ำปลา	1,450	1,507	14.7	17.8	1.2
6) เกษตรกรรม	13,465	10,414	24.4	-4.2	8.4
- อาหารแปรรูปอื่นๆ	6,535	5,091	16.5	-6.8	4.1
7) กากอ้อยและน้ำตาล	2,380	2,127	-5.0	8.5	1.7
- กากอ้อยและน้ำตาลปั้น	2,282	1,871	15.1	-4.3	1.5
8) ไข่	1,560	1,175	62.5	-7.5	0.9
9) อาหารอื่นๆ	3,088	2,015	37.6	-14.1	1.2

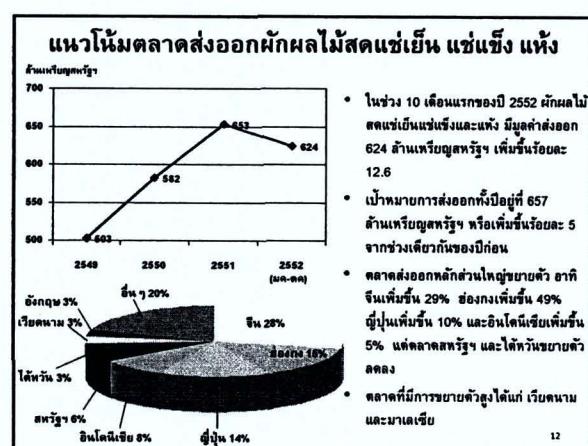
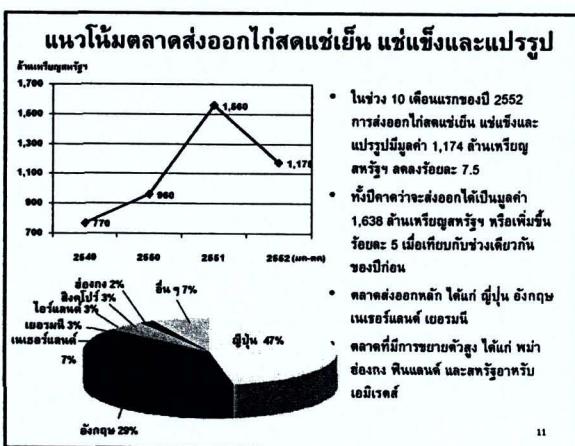
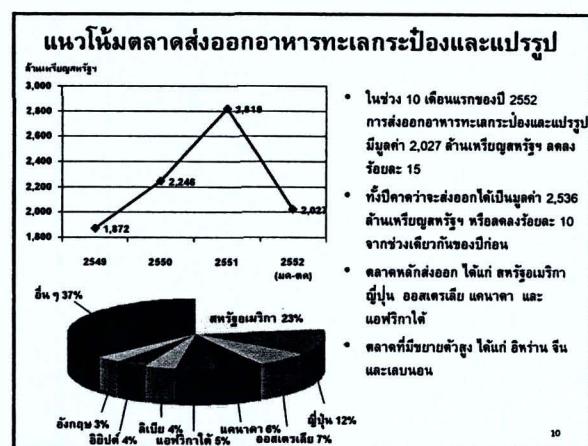
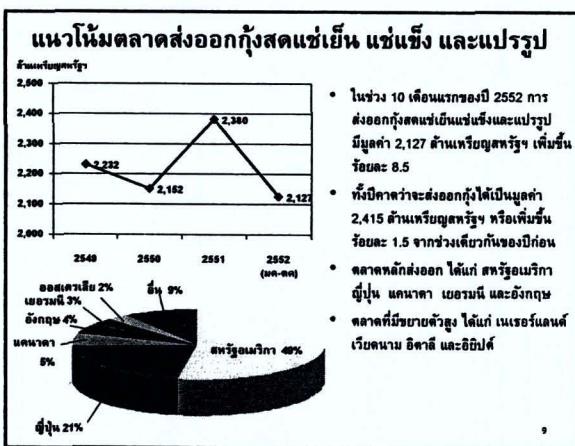
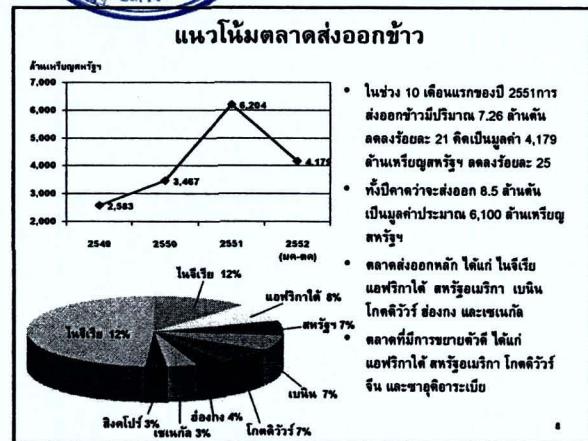
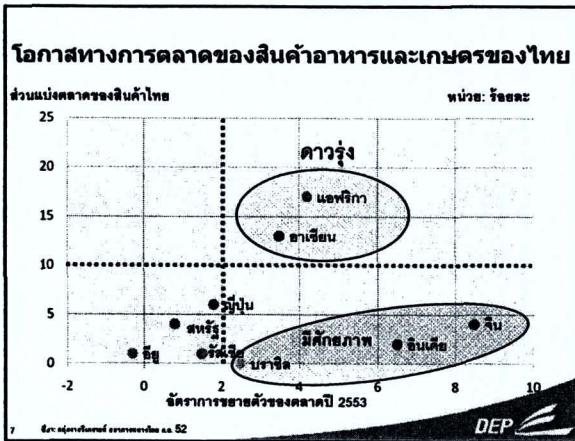
ข้อมูลจากกรมการพัฒนาฯ โดยรวมทุกปีไม่รวมกรณีขาดหาย

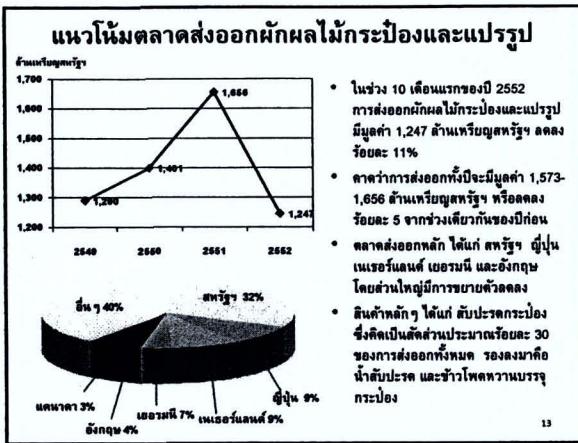
DEP

ตลาดส่งออกสินค้าอาหารของไทย 10 อันดับแรก



6





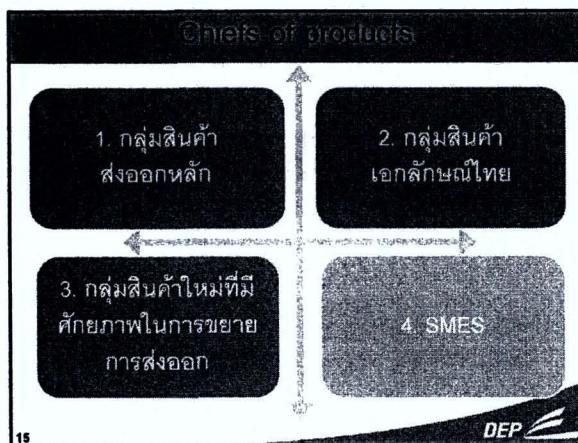
- ในช่วง 10 เดือนแรกของปี 2552 การส่งออกทั้งหมดไม่ก้าวไปไหนแม้แต่ปี น้อยกว่า 1,247 ล้านเมตรที่เทียบเท่าร้อยละ 11%
- คาดการณ์ส่งออกทั้งปีจะมีมูลค่า 1,573-1,656 ล้านเมตรที่เทียบเท่าร้อยละ 5 จากจำนวนที่ออกของปีก่อน
- ตลาดส่งออกหลัก ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เวียดนามและอินเดีย โภชนาณ์ใหญ่ในการขยายตัวลดลง
- ลิสต์ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะการส่งออก ซึ่งคือเป็นสิ่งที่ล้ำกว่ามาตรฐาน ของการส่งออกทั่วไป ของงานที่มี น้ำหนักเบา และข้าวโพดหวานบรรจุ กะรังปอง

## กลยุทธ์ส่งเสริมการส่งออก ปี 2553

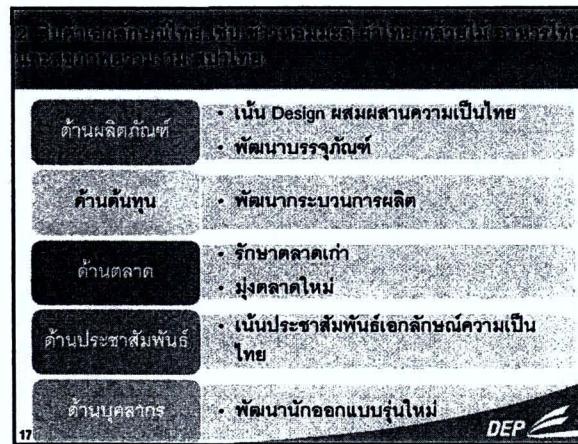
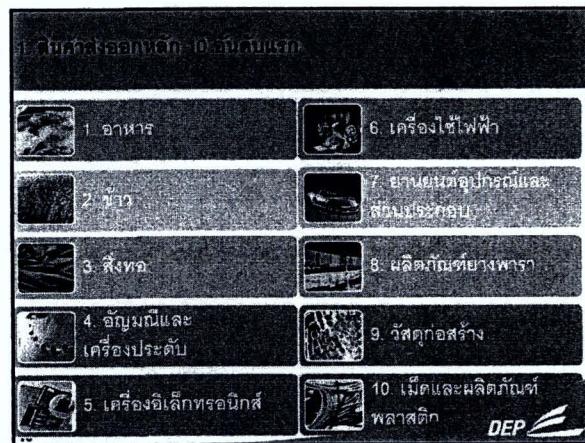
Chiefs of Products



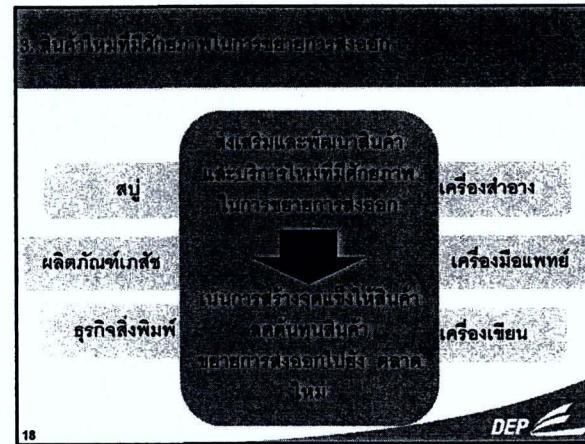
14



15

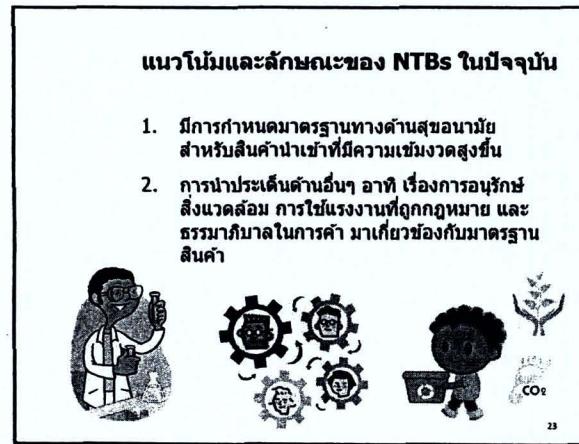
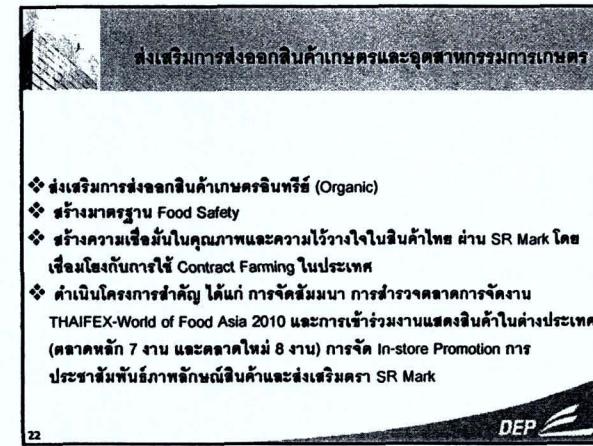
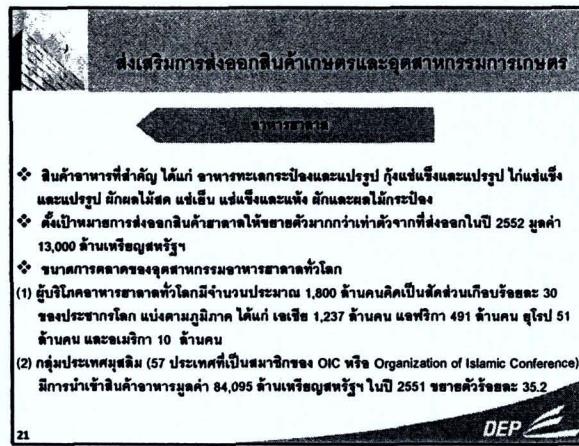
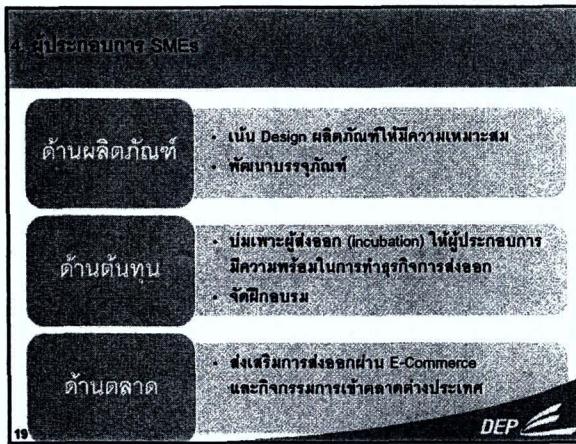


16



17





### เหตุผลเบื้องหลังการใช้มาตรการกัดกันทางการค้า

- เพื่อปกป้องอุตสาหกรรมผลิตภายในประเทศ
- เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ และสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคเกี่ยวกับภาพและมาตรฐานของสินค้าไป เช่น
- สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยจากการจัดเก็บภาษีนำเข้า
- เพื่อเป็นช่องทางการค้าและการค้าระหว่างประเทศ และนำไปในการตอบโต้ประเทศศรค์

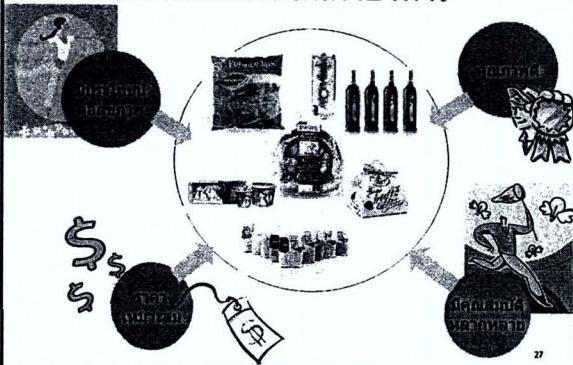


### แนวโน้มความต้องการสินค้าอาหาร

- ด้านสุขภาพ : คุณค่าทางโภชนาการ ความสดสะอาด
- ด้านความสะดวกเร็ว : อาหารพร้อมรับประทาน บรรจุภัณฑ์ที่สะดวกต่อการใช้งาน
- ด้านธรรมชาติของธุรกิจ : เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรอินทรีย์ สิทธิมนุษยชน การใช้แรงงานถูกกฎหมาย ฯลฯ
- ด้านความเรื่องรูปในการบริโภค : สวยงามพิเศษในสุดหรูอาหาร ตรงกับไลฟ์สไตล์ในปัจจุบัน

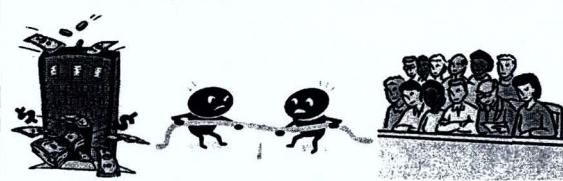


### การพัฒนาวัตกรรมสินค้าอาหาร

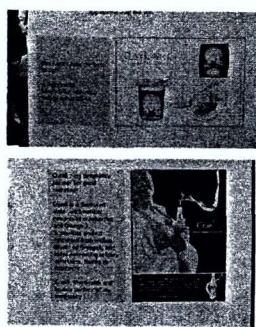


### ประโยชน์ที่ได้จากการพัฒนาวัตกรรมสินค้า

- สร้างมูลค่าเพิ่ม
- สร้างชีวิตร่วมในการแข่งขัน
- สามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้ในหลายด้าน



### ตัวอย่างวัตกรรมสินค้าในตลาดต่างประเทศ



#### ความเรื่องของระหว่างอาหารและความงาม:

- ไบเกอร์ Day Light ผสมกลิ่นบอนรี่ ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ เสริมสร้างความทุ่มเทแก่คิวพรารอน ป้องกันผลกระทบจากภัยนอก รวมถึงแสงแดด
- เครื่องสำอาง CranB สำหรับเด็กน้ำนม ผสมสารตักดักจากสารบ่อรี่และไอบิลก้า 3 เพื่อเพิ่มและความทุ่มเทและช่วยป้องกันการติดเชื้อในระบบปัสสาวะ

29

### ตัวอย่างวัตกรรมสินค้าในตลาดต่างประเทศ



### แนวทางการดำเนินงาน ของกรมส่งเสริมการส่งออก เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่

- โครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์และรูปแบบบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยนำเสนอรูปแบบบรรจุภัณฑ์ที่น่าสนใจ น่าซื้อ น่าใช้ น่าเชื่อมั่น ให้กับผู้บริโภค
- การจัดประกวดออกแบบบรรจุภัณฑ์อาหาร เป็นประจำทุกปี โดยมีแนวคิดที่สอดคล้องกับความต้องการในตลาดต่างประเทศ
- การจัดแสดงนิทรรศการนานาชาติ (Thaifex) ชั้นนำของโลก รวมทั้งนวัตกรรมอาหารใหม่ ในงานแสดงสินค้าอาหารระดับนานาชาติ (Thaifex)



### แนวทางการดำเนินงาน ของกรมส่งเสริมการส่งออก เพื่อสนับสนุนนวัตกรรมใหม่ (ต่อ)

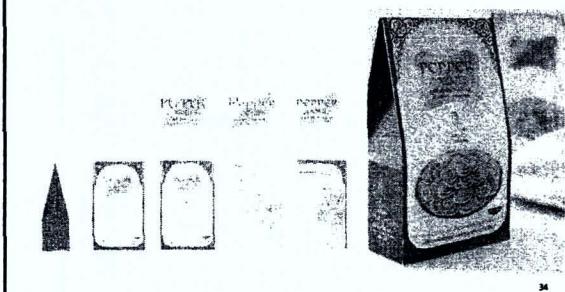
- การจัดให้ศูนย์ฯ จัดอบรมให้แก่ผู้ประกอบการเป็นรายวิชาชีพ (Design Clinic)
- การจัดทำข้อมูลแนวโน้มการออกแบบ (Design Trend) ในตลาดต่างประเทศ เพื่อเผยแพร่แก่ผู้ส่งออก



### โครงการพัฒนาบรรจุภัณฑ์อาหาร FOOD PACKAGING DESIGN DEVELOPMENT



### ผลิตภัณฑ์อาหารที่เข้าร่วมพัฒนาในโครงการฯ FOOD PACKAGING DESIGN DEVELOPMENT

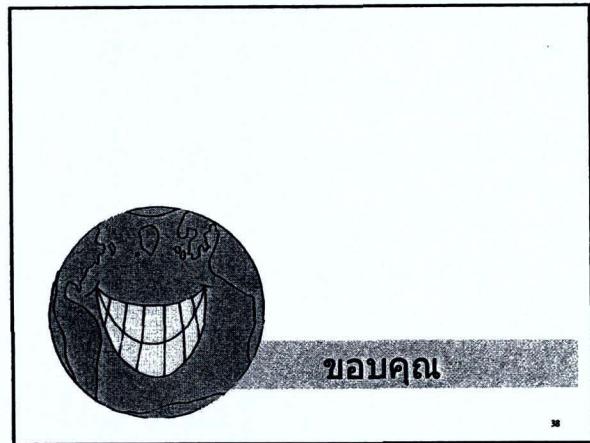


### โครงการพัฒนา บรรจุภัณฑ์อาหาร





โครงการพัฒนา  
บรรจุภัณฑ์อาหาร

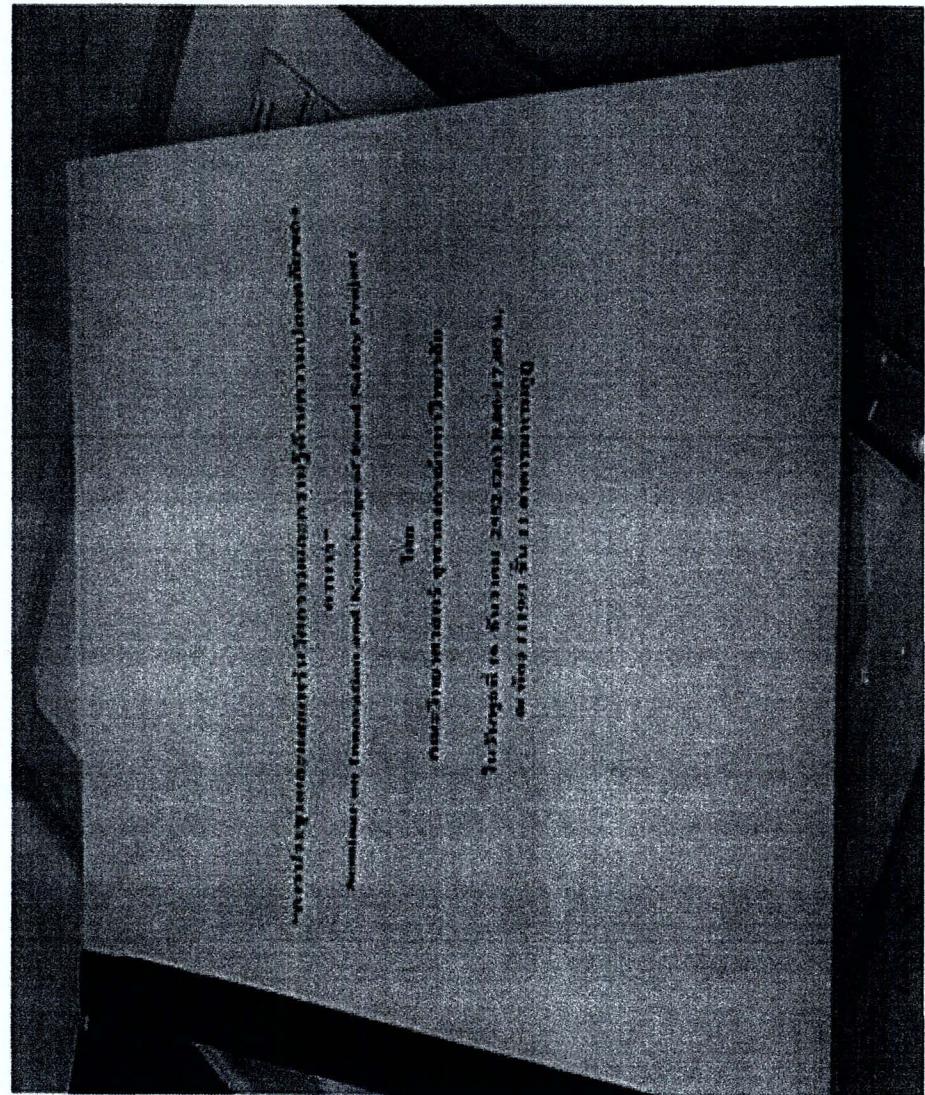


ขอบคุณ

## รูปภาพประกอบ

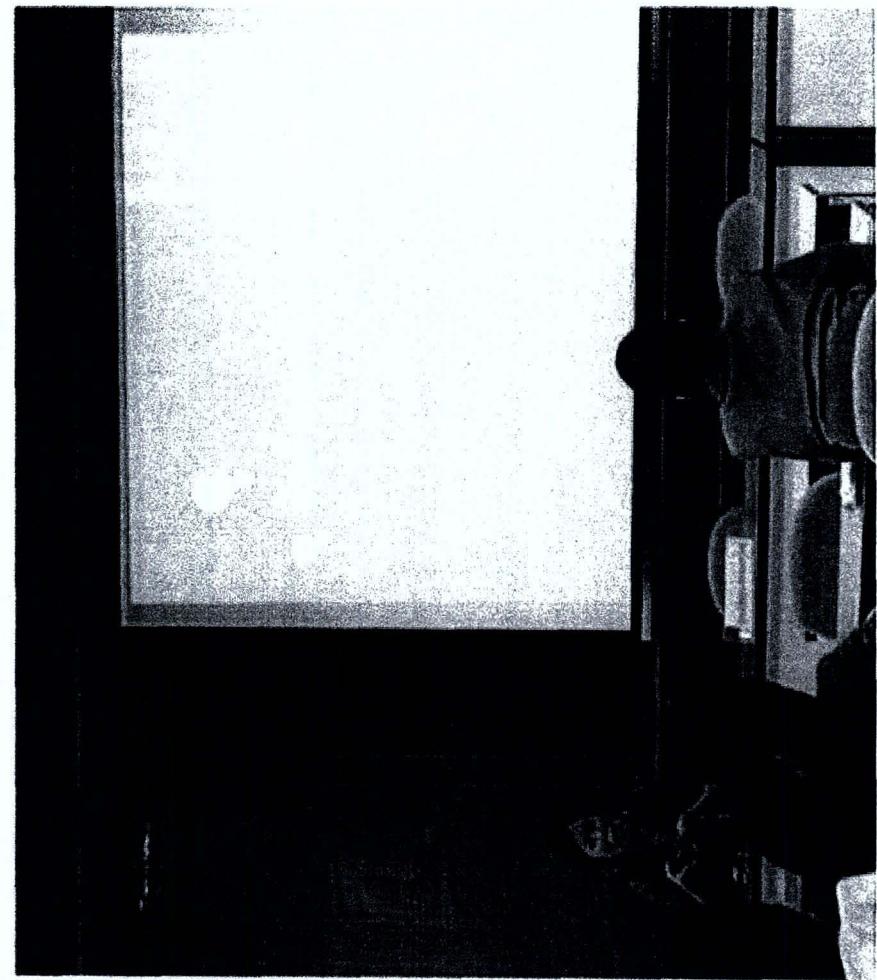
નિર્માણ કાર્યક્રમની પ્રાચીનતા અને વિશેષતાઓ

નિર્માણ 16 ફેબ્રુઆરી 2552



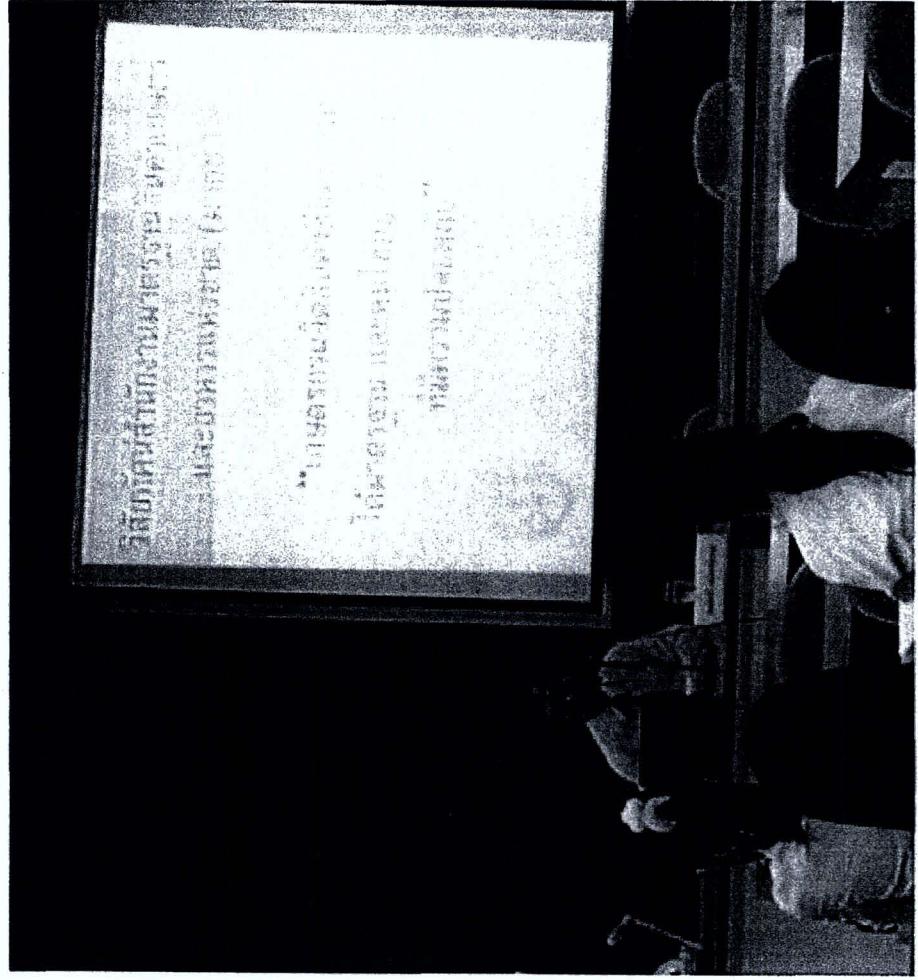


**បារមាណពិណេយន លើទៅ ដីអ៉ាខាហរវិកម្បូជោគតែគោ**  
**គិម នៅវិទ្យាការខាងកាត់រាជការពិស័ុម តាំងការបឹការតែខែក (គុណសុវត្ថរាល នាមអារ៉ាមី)**

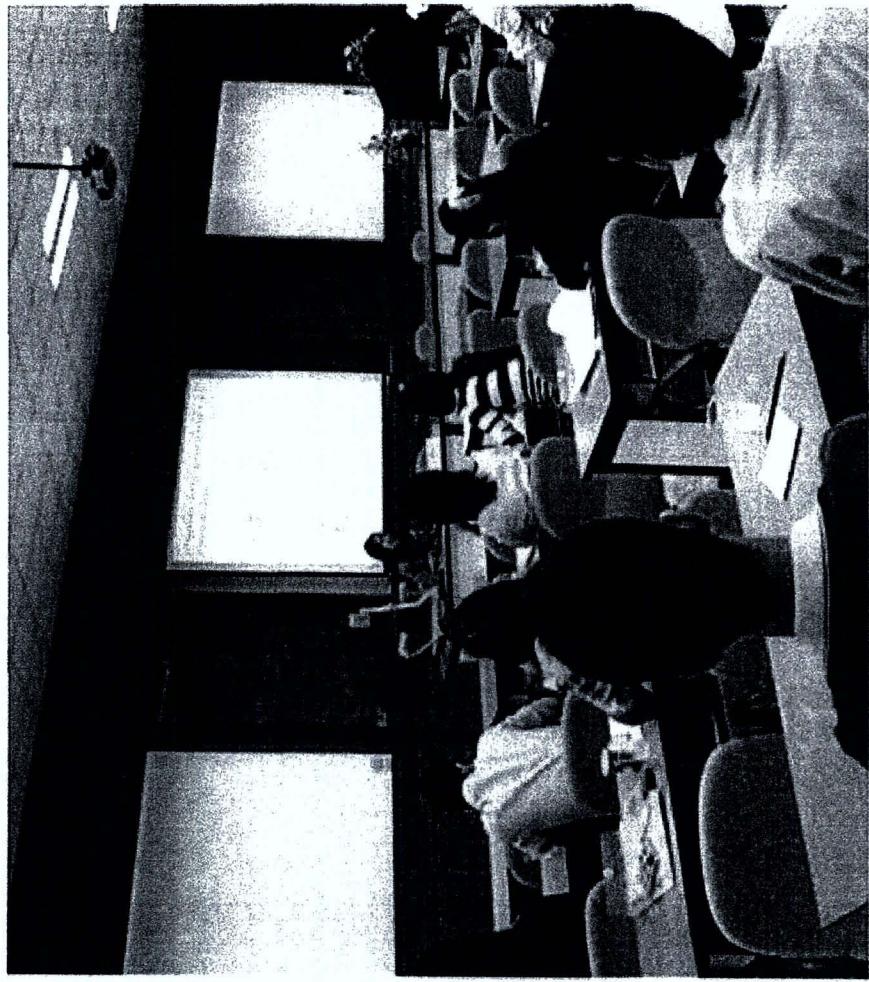


នរណាពិសេន នឹង គុណការអាមេរិកខ្លួនដែលបានបង្កើតឡើង និង  
ត្រូវបានគ្រប់គ្រងដោយការពិនិត្យបានបង្កើតឡើង ជាដំណឹងទាំងអស់

តើម្ចាស់រាជរដ្ឋបាល និង និរន័យរាជរដ្ឋបាល (និងរាជរដ្ឋបាល)

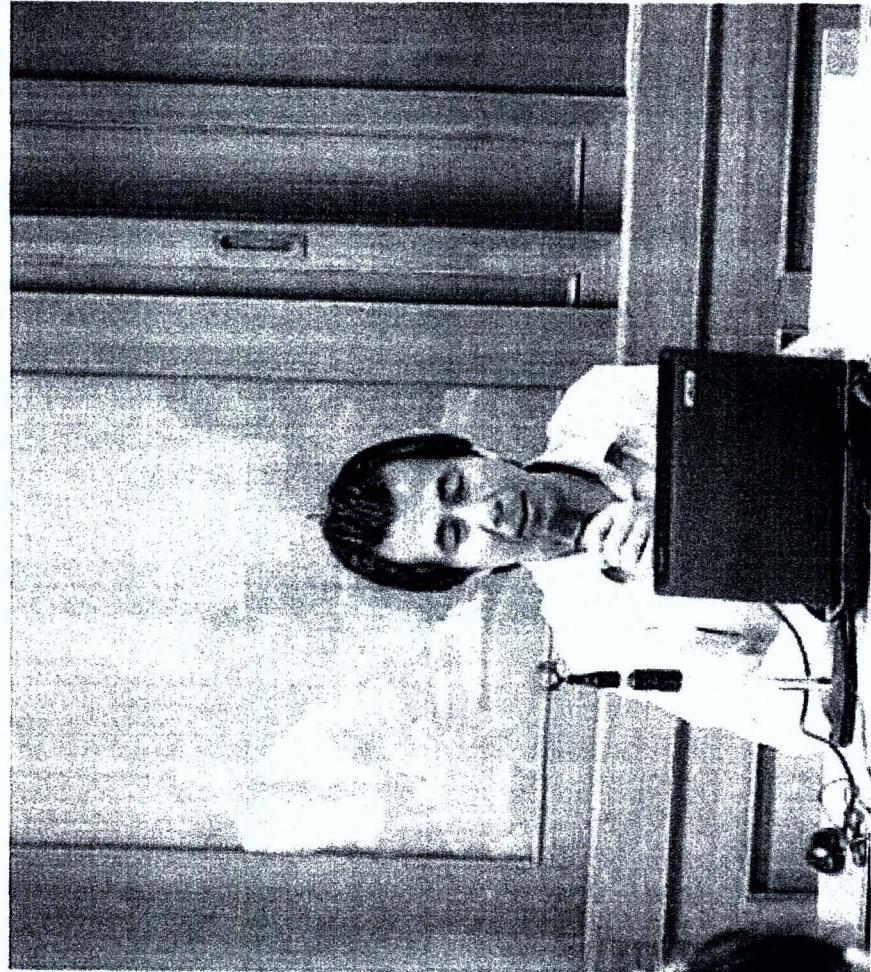


នីតិវិធីនៃការបង្កើតរបស់ក្រុមហ៊ុនជាបន្ទាន់ និងការបង្កើតរបស់ក្រុមហ៊ុនជាបន្ទាន់  
និងការបង្កើតរបស់ក្រុមហ៊ុនជាបន្ទាន់

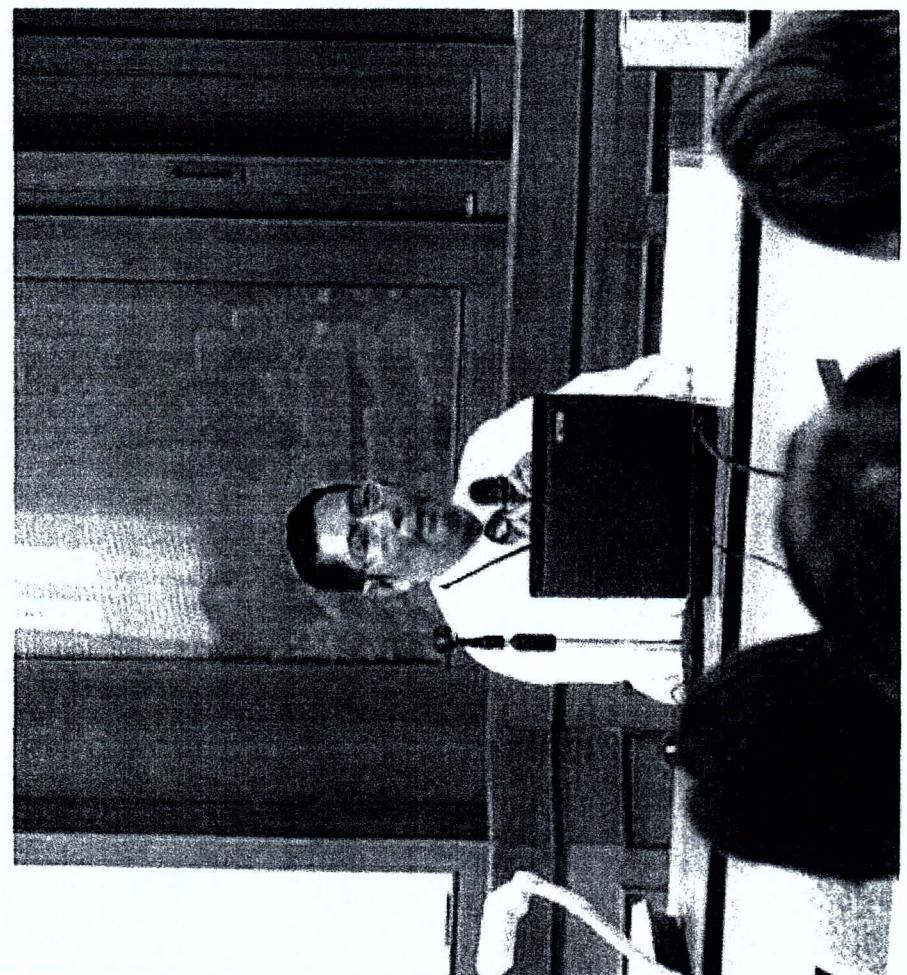
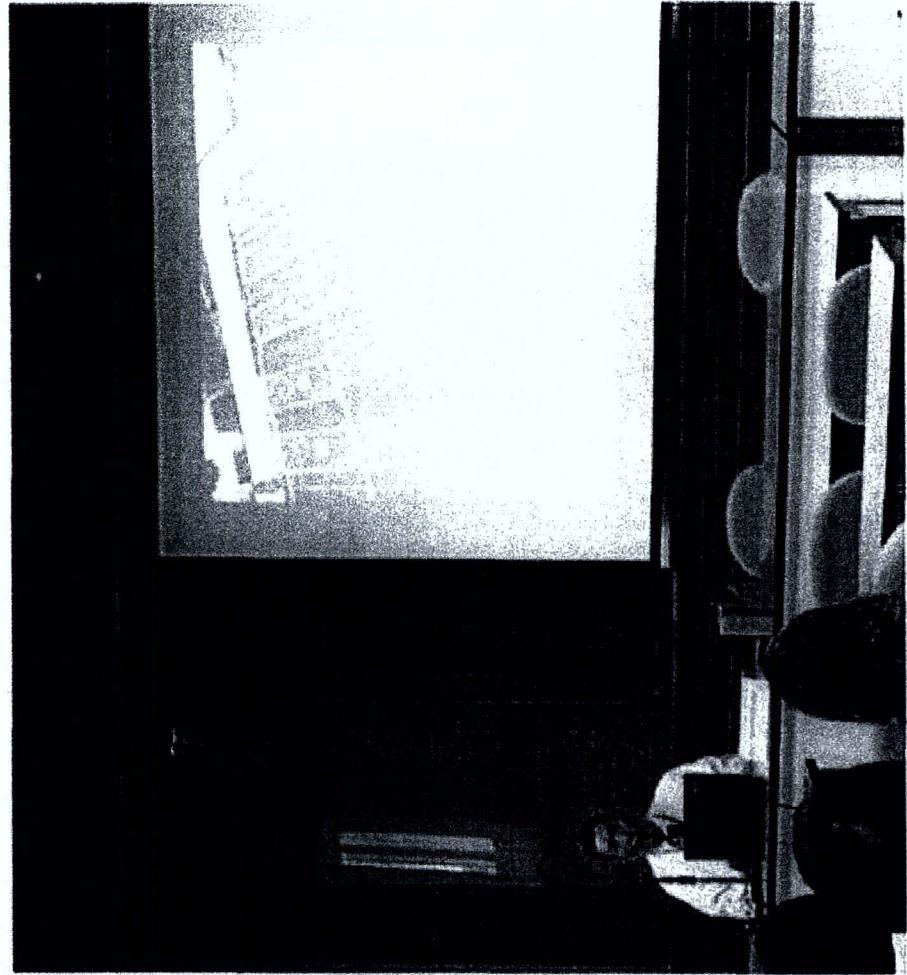


## ผู้ร่วมวิจัยคนอื่นอาจมาตรวจ

เรื่อง การพัฒนาเครื่องตรวจทางเคมีและทางปริมาณทางชีวภาพโดยใช้โอดแมกโนเซียมไนเตรตและออกไซด์ฟาร์บิลิสเมต์



ព្រៃនរាជនាម និងសាស្ត្ររបស់ព្រៃន និងសាស្ត្ររបស់ព្រៃន និងសាស្ត្ររបស់ព្រៃន

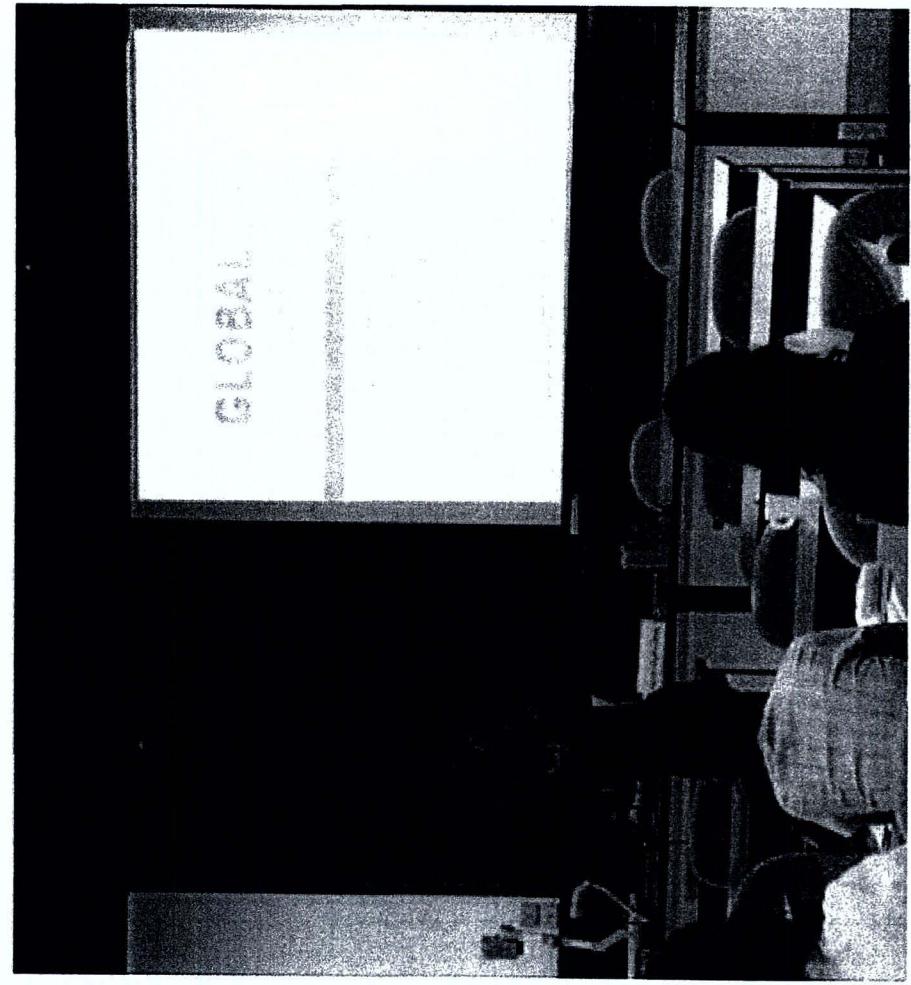


藏文大藏经

เรื่อง การผลิตอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคชั้นรองด้วยการเปลี่ยนอาหารแก้ไข



อาการ : โนมดออกเริ่มต้นในหน้าผากและบริเวณรอบตา



## ผู้ร่วมวิจัยทราบการวิจัย

เรื่อง ผลิตภัณฑ์สุขภาพ ไม่ต้องกินที่เมะเนพาก่อน เช่น ไข่ไก่ใน โลติกซ์(Prebiotics) และแอนติออกซิเดนต์(Antioxidants)



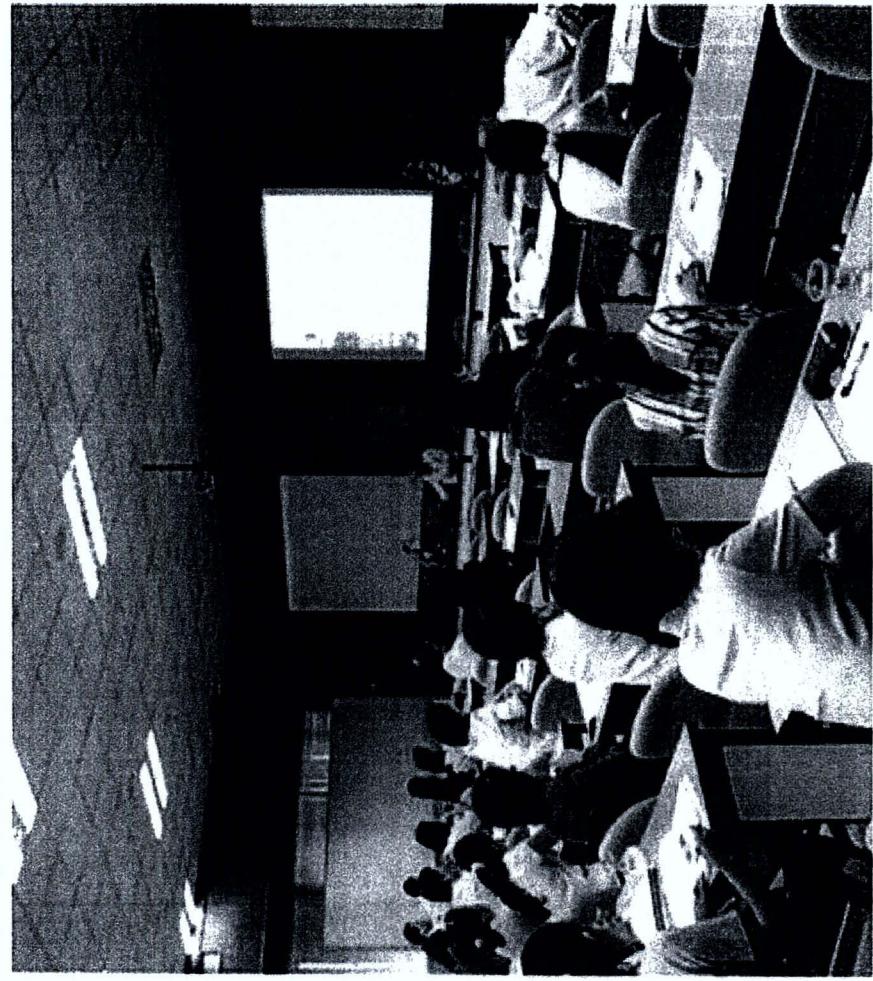
ជ្រើនវិលីមុខរាយការណាមការវិទ្យ  
នឹងបានការងារពីការតួនាទីអ៊ីយែន និងការរំភេទស្តីស្តីរាយ



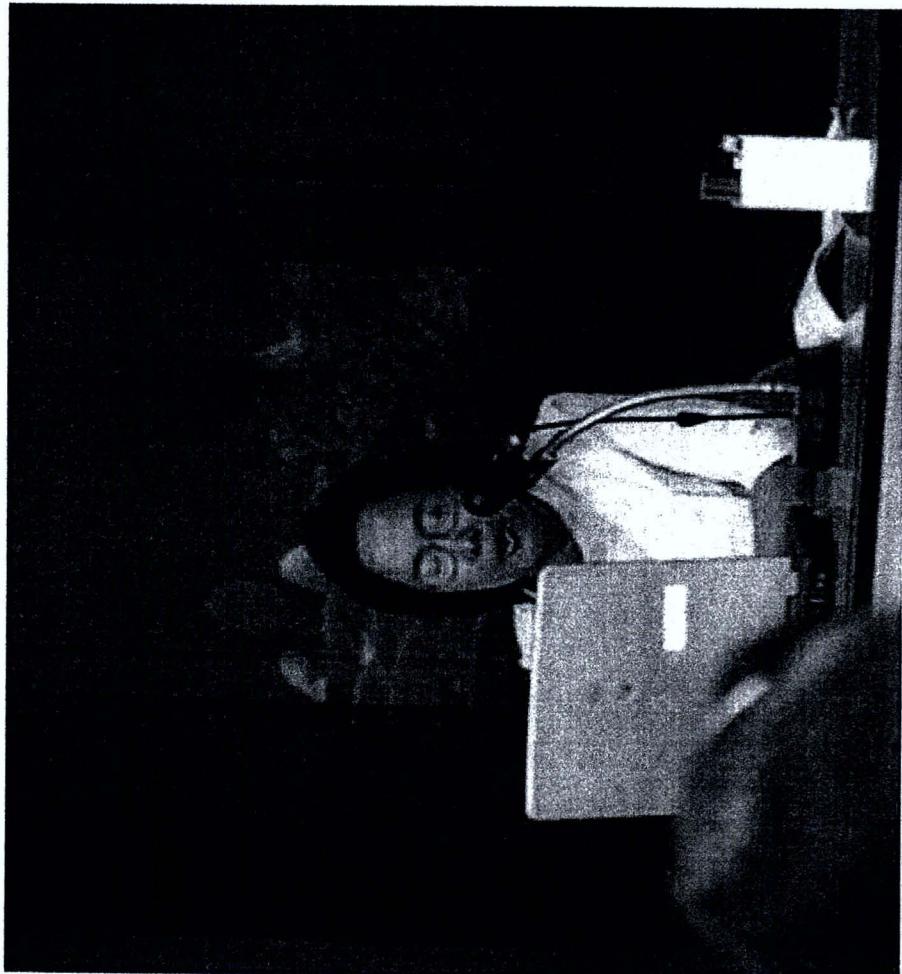
၃၂။ မာခွန်ပေါ်စီမံခိုင်း  
၃၃။ မာခွန်ပေါ်စီမံခိုင်း



ເຮືອນ ການພົບລົງທະບຽນຂອງມອນໄກຕາງປະເທດ  
ໃຫຍ່ ດັວຍວິທີແລ້ວມີຄວາມກົງລົງທະບຽນ

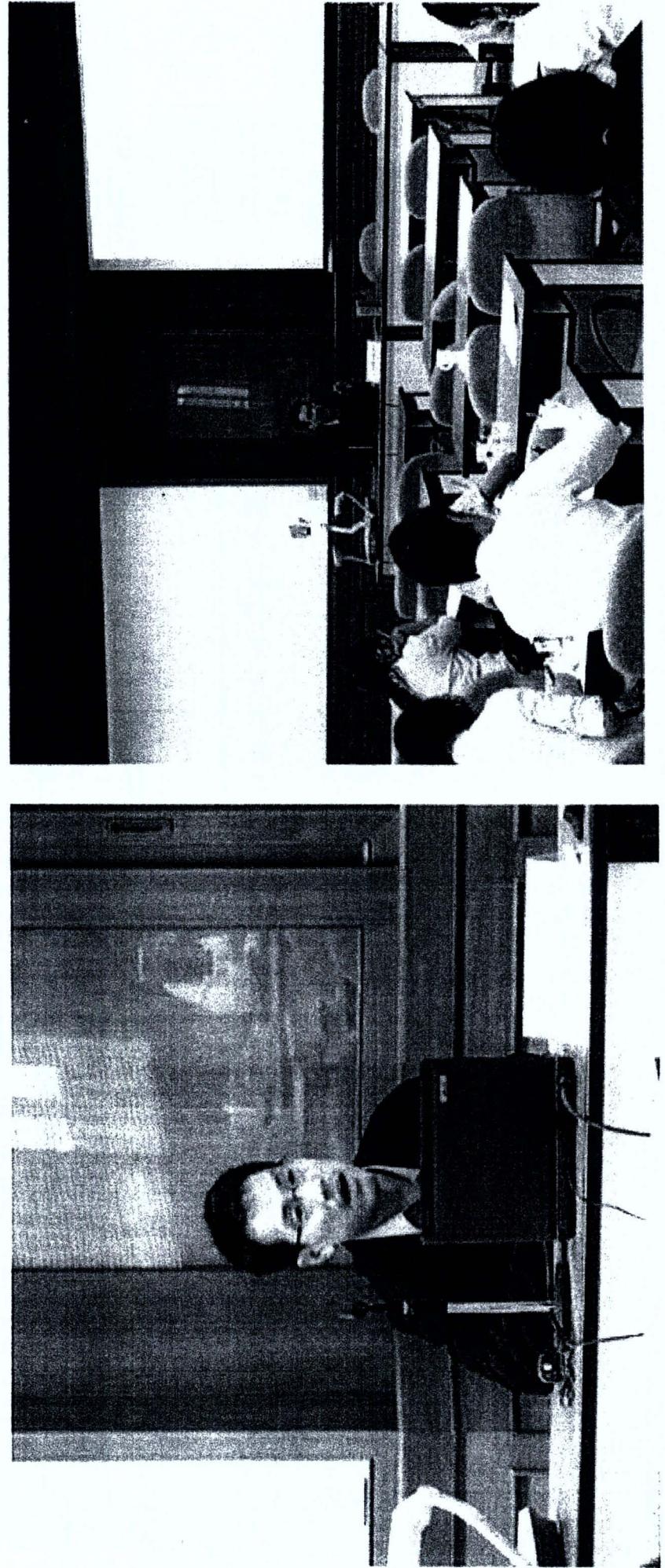


ผู้ร่วมวิจัยที่มางานนี้มากกว่า 50 คน  
เรื่องการผลิตยาลดแรงตึงผิวชีวภาพจากวัสดุที่ห่อให้ในถุงยาห้ามอาหาร

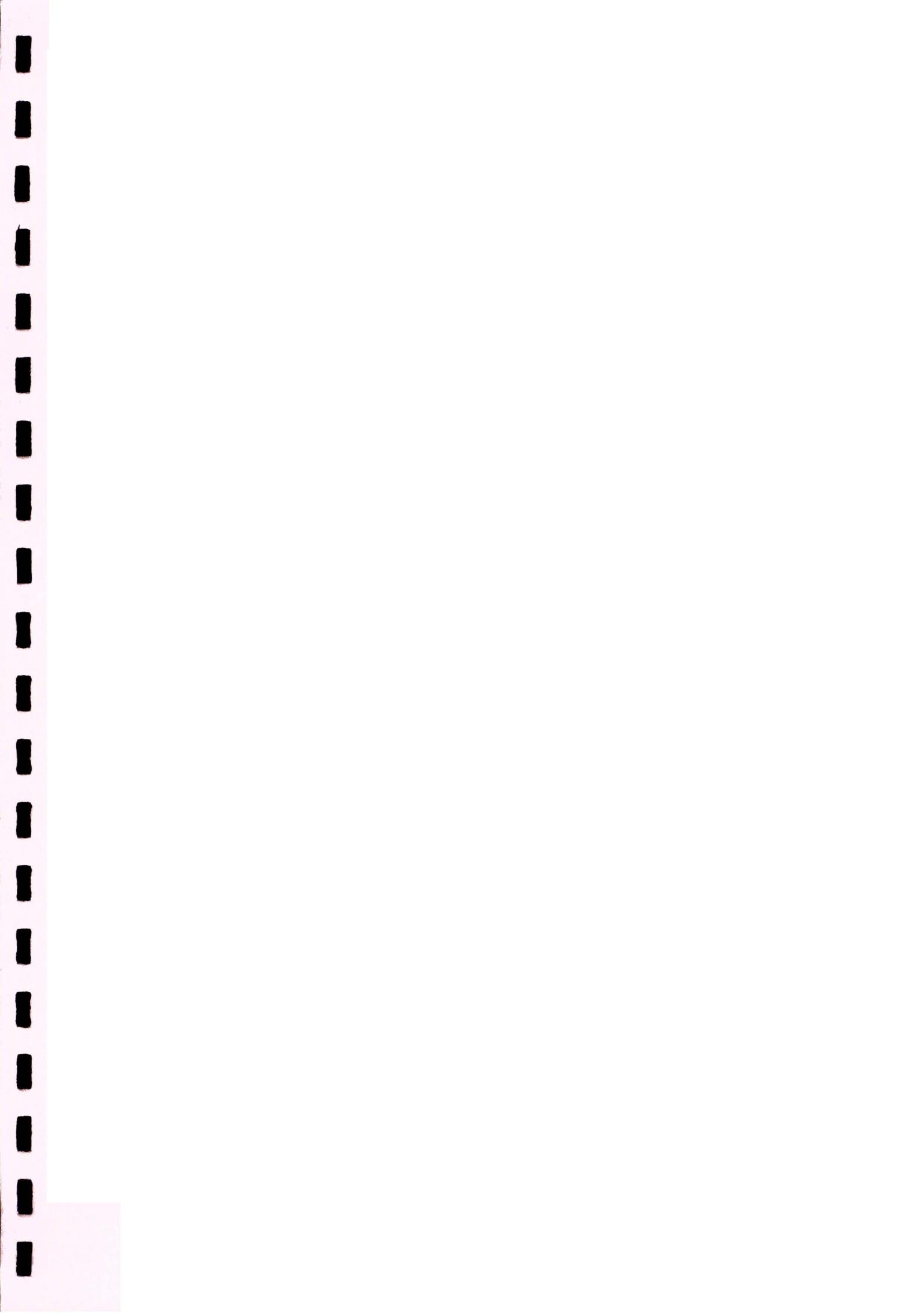


ព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជា  
ជាតិ សាសនា ភេទយោបល់

ព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជា  
នឹងបង្កើតការងារអនុវត្តន៍ការងារអនុវត្តន៍







การประชุมเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร

ณ ห้อง 1119/1 ชั้น 11 อาคารมหาวิทยาลัย

วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	8.00-12.00 น	13.00-17.00
1	รศ.ดร.ศิริรัตน์ กึกผล		
2	รศ.ดร.อรวรรษ ชัยลภากุล	✓	✓
3	รศ.ดร.มงคล สุขวัฒนาสินิพิทักษ์	✗	✗
4	รศ.ดร.สันติ ทิพยานก์	✓	✓
5	รศ.ดร.ธรรมนูญ หนูจักร	✓	✓
6	ผศ.ดร.วนิธรรม ชาเวศิริ		
7	ผศ.พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์	✓	✓
8	ผศ.สุชาดา ภูอนุวัฒนกุล		
9	ผศ.ดร.ณัฐชนัญ ลีพิพัฒน์ไพบูลย์		
10	ผศ.ม.ส.ศิริพัฒน์ ใจยันต์	ผู้มาเข้าร่วม (๖๖๗๘)	ผู้มาเข้าร่วม (๖๖๗๙)
11	ผศ.ดร.ปริชา ภูวไพรศิริศาดา	✓	✓
12	ผศ.ดร.ไพบูลย์ รัชตะสาร	✓	✓
13	อ.ดร.พัฒนรา สวัสดิ์	✓	✓
14	อ.ดร.ลักษณ์ คุณาส	✓	✓
15	อ.ดร.อนวัช อาชวานนค์	✓	✓
16	รศ.ดร.สุเทพ ชนียวน	✓	✓
17	รศ.จิราภรณ์ ชนียวน	✓	✓
18	รศ.ดร.ปราณี ย่านเบรื่อง	✓	✓
19	ผศ.ดร.พาสวดี ประทีปะเสน		
20	ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์	✓	✓
21	ผศ.ดร.ปิยะศักดิ์ ชัยุ่มพฤกษ์	✓	✓
22	ผศ.เตือนใจ โภสกุล	✓	✓
23	นางสาวหาฤทัย แสงจันทร์สวัชช์	✓	
24	ผศ.ดร.ธีรเดช วงศ์ชัยชนะศุภะ	✓	✓
25	ผศ.ดร. พลัง บ่อสุข	✓	✓
26	ผศ.ดร. มนต์สุข ใจดีรัตน์	✓	✓
27			
28			
29			

การประชุมเผยแพร่วัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร  
ณ ห้อง 1119/1 ชั้น 11 อาคารมหาวิทยาลัย  
วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	8.00-12.00 น	13.00-17.00
	นายธนากร พันธ์	นายธนากร	
	นายรัชดากร บัวสินธิ์	นายรัชดากร	
	น.ส. ยศสุวิทย์ เอกอัจฉราษฎร์	นางสาวยศสุวิทย์	
	นายชัยธีระ พศธารินทร์	นายชัยธีระ	
	น.ส. ณูรี หมื่นเรือง	นางณูรี	
	น.ส. ณัชยา กรรมการ	นางณัชยา	
	น.ส. ทิพย์วรรณ วงศ์วิริยะ	นางสาวทิพย์วรรณ	
	น.ส. สุกัญญา วรรษิณรงค์	นางสุกัญญา	
	น.ส. กานดา ปวีตากาภารัต	นางกานดา	
	น.ส. ปัชนาดา มุขณะ	นางปัชนาดา	
	น.ส. วนิจ อนุศาสน์	นางวนิจ	
	น.ส. วนิดา นิตเวด	นางวนิดา	
	น.ส. มนัสชา รุ่ง	นางมนัสชา	
	น.ส. มนีดา อันแคร	นางมนีดา	
	น.ส. พุทธิพญ ศรีเสนาลักษณ์	นางพุทธิพญ	
	น.ส. นฤมล ศรีธรรมเดช	นางนฤมล	
	น.ส. พัฒนา อรุณสวัสดิ์	นางพัฒนา	
	น.ส. นฤมล ไกรทอง	นางนฤมล	

การประชุมเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร

ณ ห้อง 1119/1 ชั้น 11 อาคารมหาแมก

วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	8.00-12.00 น	13.00-17.00 น.
1	คุณกิติวัฒน์ วิมลสมบัติ		
2	คุณกนิษฐา เมฆประสาทพงษ์	กนิษฐา เมฆประสาทพงษ์	กนิษฐา เมฆประสาทพงษ์
3	คุณกรอบตา ณ ถลาง		
4	คุณกั่งกาญจน์ ทองคำนัน		
5	คุณกาญจน์ ศักดิ์ศรีพิพัฒน์	กาญจน์ ศักดิ์ศรีพิพัฒน์	กาญจน์ ศักดิ์ศรีพิพัฒน์
6	คุณเกียรติศักดิ์ กัธารพิชิต		
7	คณ โภสินทร์ เพิ่มพูนสถาพร	โภสินทร์ เพิ่มพูนสถาพร	โภสินทร์ เพิ่มพูนสถาพร
8	คุณคมกริบ แพงไวย		
9	คุณครารัตน์ ขาวแย็จ  dara อัลฟ์ ปุ่มเก่ง	Sus. Charlotte Keweenaw	Dick. Charlotte Keweenaw
10	คุณจันทิมา เออยานนท์		
11	คุณจุฑาทิพย์ ครบสอน		
12	คุณจรินันทร์ อียมศรีหารรักษ์	DS	DS
13	คุณจิตติมา เบญจรงค์ศิริโจน์	จิตติมา เบญจรงค์ศิริโจน์	จิตติมา เบญจรงค์ศิริโจน์
14	คุณจาเรวี พูลปิยะวิจิตร	พีระญาดา เมฆประสาท (เบเกอร์)	พีระญาดา เมฆประสาท (เบเกอร์)
15	คุณเขียนนันท์ สุขสมิทธิ์		
16	คุณชนิกานต์ ธรรมพิทักษ์	ชนิกานต์ ธรรมพิทักษ์	ชนิกานต์ ธรรมพิทักษ์
17	คุณธารศญา สักกามาดย์		
18	คุณนันทิวา วรรณาวงศ์		
19	คุณนิติพงศ์ จิรวราตนันท์		
20	คุณนารีรัตน์ แซ่ดี้	RT S. RT S.	RT S. RT S.
21	คุณปักกานา พิพัฒน์นาคุณ	ปักกานา พิพัฒน์นาคุณ	ปักกานา พิพัฒน์นาคุณ
22	คุณปิยพงษ์ พิสุทธิ์พงษ์	ปิยพงษ์ พิสุทธิ์พงษ์	ปิยพงษ์ พิสุทธิ์พงษ์
23	คุณเปรมใจ ศุภลักษณ์พนัญชัย	เปรมใจ ศุภลักษณ์พนัญชัย	เปรมใจ ศุภลักษณ์พนัญชัย
24	คุณพรศิลป์ ปลื้มเกียรติชัย <small>วงศ์</small>	พรศิลป์ ปลื้มเกียรติชัย	พรศิลป์ ปลื้มเกียรติชัย
25	คุณพรธิษา ภาคติโถ	พรธิษา ภาคติโถ	พรธิษา ภาคติโถ
26	คุณพิภัตรา วรવัฒน์บัญชา		
27	คุณมีวรรณ รักว่าทัน		
28	คุณมาลี วิจิตรบรรยำคุณ		
29	คุณเยาวลักษณ์ ชัยชาญ	เยาวลักษณ์ ชัยชาญ	เยาวลักษณ์ ชัยชาญ
30	คุณลัดดา ธนาลัย	C.	C.

การประชุมเผยแพร่นักกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยทางอาหาร

ณ ห้อง 1119/1 ชั้น 11 อาคารห้ามคุก

วันพุธที่ 16 ธันวาคม 2552

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	8.00-12.00 น	13.00-17.00 น.
31	คุณรัศมีพร จิระเดชาประปา ศิริเจชปานิพ		
32	คุณวัฒย์ คลื่นชาญ		
33	คุณวชิร์ คงรัตน์		
34	คุณวรรัตน์ ฉายสว่างวงศ์		
35	คุณวรรณี สีลม		
36	ดร.วนิดา สาทิสสะรัต		
37	คุณวิภาวดี ศุภะจินดา		
38	คุณภารณ์ แก้วเที่ยง		
39	นายสัตวแพทย์วีรพล เนหรัตน์		
40	คุณศศิกานต์ กัลยะรัตน์		
41	คุณศศิกา ภูมิวิชิต		
42	คุณสมจิตร บัวพุ่มพุกษ์		
43	คุณสิทธิศักดิ์ ศรีสอาครรักษ์		
44	คุณสิริลักษณ์ วงศ์		
45	คุณสุทธิวัณ ทองแจ้ง		
46	คุณสามารถ ธนาไพรรักษ์		
47	คุณอรพิน บุญโชคชัย		
48	คุณเอกลักษณ์ แนนเนียต		
49	นางสาว นิตยาอรุณรัตน์		
50	นางสาวอรอนงค์ ธรรมรงค์		
51	นนทุมสิน พราหมณ์รัตน์		
52	กรุงเทพ ศรีวิทย์		
53	ศิริกร อรุณารักษ์		
54	เบตตี้ ใจกลาง		
55	ศุภรัตน์ ใจมุกดา		
56	ณัฐิตาภา สำลีวงศ์	Pant K.	Pant K.
57	Stephan T. Quibos		
58			
59			

