



การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่จากสารสกัดหมากเฒ่า (*Antidesma velutinosa* Blume)

เศรษฐินี แสงอ่อน^{1,2}, สุภาวดี ดาวดี², ดวงกมล ศักดิ์เลิศสกุล²

บทคัดย่อ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่จากสารสกัดหมากเฒ่า (*Antidesma velutinosa* Blume)

เศรษฐินี แสงอ่อน^{1,2}, สุภาวดี ดาวดี², ดวงกมล ศักดิ์เลิศสกุล^{2*}

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน, มีนาคม 2558; 11(ฉบับพิเศษ) : 261-266

บทนำ: หมากเฒ่า (*Antidesma velutinosa* Blume) ผลไม้ขนาดเล็ก มีสีแดงและม่วงดำ เป็นหนึ่งในพืชที่มีการใช้ประโยชน์ในทางสุขภาพ โดยพบว่า หมากเฒ่ามีสารแอนโทไซยานิน สารฟลาโวนอยด์ รวมถึงสารพอลิฟีนอลที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำสารสกัดหมากเฒ่าที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม มาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ และศึกษาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้. **วิธีการดำเนินการวิจัย** ทดสอบหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดหมากเฒ่า โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล ร้อยละ 95, เอทานอล ร้อยละ 50 และน้ำ ตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในหมากเฒ่าที่สกัดได้ คือ ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารพอลิฟีนอล และปริมาณฟลาโวนอยด์ นำสารสกัดหมากเฒ่าที่สกัดที่ให้ปริมาณสารสำคัญสูงสุด มาพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ โดยใช้เจลาตินเป็นสารก่อเจล ทำการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์. **ผลการศึกษาวิจัย:** สารสกัดหมากเฒ่าที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 มีผลผลิตร้อยละ (% yield) สูงกว่าตัวทำละลายอีก 2 ชนิด และมีปริมาณแอนโทไซยานิน สารพอลิฟีนอล และฟลาโวนอยด์ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หมากเฒ่ากัมมีเยลลี่ที่มีปริมาณเจลาติน ร้อยละ 10 มีปริมาณความชื้นน้อยกว่า เจลาติน ร้อยละ 15 เมื่อทำการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่ามีค่าความแข็ง (Firmness) และแรงที่ใช้ในการบดเคี้ยว (Chewiness) น้อยกว่าเช่นกัน รวมถึงไม่พบเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนักที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ. **สรุปผลการวิจัย:** จากผลการศึกษา พบว่าสารสกัดหมากเฒ่าที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 มีปริมาณสารสำคัญในปริมาณสูงที่สุด จึงเหมาะสมต่อการนำสารสกัดดังกล่าวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่จากสารสกัดหมากเฒ่า รวมถึงอาจนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอื่นๆ ได้อีกด้วย

คำสำคัญ: หมากเฒ่า, แอนโทไซยานิน, พอลิฟีนอล, กัมมีเยลลี่

¹บริษัท ห้างปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาขอนแก่น

²คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

Abstract

Development of gummy jelly from Makmao (*Antidesma velutinosa* Blume) crude extract.

Settini Saeng-on^{1,2}, Supawadee Daodee², Duangkamon Sakloetsakun^{2*}

IJPS, March 2015; 11(Supplement) : 261-266

Introduction: Makmao (*Antidesma velutinosa* Blume) is a small fruit with red or purple color. It is one of the plants commonly used for health benefits. Makmao contains Anthocyanins, Flavonoids and Polyphenols that are responsible for antioxidant activity. The purpose of this study was to prepare a gummy jelly product of Makmao extraction obtaining from a suitable solvent. The products were then tested on their characteristics. **Materials and Methods:** Three different solvents, namely 95% ethanol, 50% ethanol and water were used for Makmao extraction. The extract which provided the highest amount of anthocyanin, polyphenol and flavonoid was carried out to develop gummy jelly product. In the preparation, gelatin was used as gelling agent. The obtained products were determined physical appearance, chemical



and microbiological activities. Results: Makmao extraction using 95% Ethanol as a solvent had the highest % yield compared to other solvents. Moreover, it revealed the significant amount of anthocyanin, polyphenol and flavonoid contents ($p < 0.05$). Makmao gummy jelly having 10% gelatin had a lower water activity than that of 15% gelatin. Results from texture analyzer showed that firmness and chewiness of 10% gelatin gummy jelly product were low in comparison to the product prepared by 15% gelatin. Furthermore, microorganisms and heavy metals were not observed in the products. Conclusion: Ethanolic extraction of Makmao containing high amount of active compounds is able to prepare gummy jelly product and it might be used to develop further health products.

Keywords: Makmao, anthocyanin, polyphenol, Gummy Jelly

¹Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, KhonKaen University, KhonKaen, Thailand 40002

* Corresponding author: Tel +6681 6003272, Email : sduangk@kku.ac.th

บทนำ

หมากเมา (*Antidesma velutinosa* Blume) ไม้ผลชนิดหนึ่งในวงศ์ Euphorbiaceae ผลมีขนาดเล็ก เมื่อสุกมีสีแดงหรือม่วงดำ รสชาติเปรี้ยวอมหวาน มีการศึกษาพบว่า หมากเมาเป็นสารสำคัญคือ แอนโทไซยานิน สารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารพอลิฟีนอลอีกหลายชนิดซึ่งแสดงคุณสมบัติที่ดี โดยเฉพาะคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Nuengchamnong N, Ingkaninan K, 2010) เช่น การพบสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ 335 ไมโครกรัมต่อร้อยกรัมสารสกัดปริมาณสารพอลิฟีนอล 973 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อร้อยกรัมสารสกัด และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ 118 ไมโครโมลสมมูลของ Trolox ต่อกรัมสารสกัด ($\mu\text{molTE/g}$) โดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Judprasong K. et al, 2013) จากคุณสมบัติดังกล่าว หมากเมาเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไวน์หรือน้ำผลไม้คุณภาพดี แต่หมากเมาเป็นผลไม้ที่มีช่วงระยะเวลาสั้นในการเก็บเกี่ยวผลผลิต การนำหมากเามาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่นๆ ที่เก็บรักษานาน มีรสชาติดี พกพาสะดวก จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เพื่อสร้างมูลค่าและทำให้เกิดความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด ผลิตภัณฑ์ที่มีเยลลี่ หรือเยลลี่แห้ง ถือเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่น่าสนใจ ในการแปรรูปหมากเมา เพราะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมในการรับประทานอย่างแพร่หลาย ผลิตได้ง่าย รับประทานง่าย เก็บรักษานาน โดยสารก่อเจือปนนิยมใช้ในการผลิตกัมมีเยลลี่ คือ เจลาติน ผสมกับสารให้ความหวาน เช่น น้ำตาลทราย สารแต่งกลิ่นและสี กรดซิตริก วัตถุกันเสีย ให้ความร้อน จนมีความข้นเหนียวที่อุณหภูมิเหมาะสม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะแห้งไม่ติดมือ มีเนื้อสัมผัสนุ่มหยุ่น อาจคลุกด้วยน้ำตาลหรือแป้ง ผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ที่ได้จะมีคุณลักษณะตามที่

ต้องการหรือไม่ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของส่วนผสมที่ใช้ และการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้เหมาะสมขณะทำการผลิต เช่น อุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในแต่ละขั้นตอน ค่า pH ของสารละลาย เป็นต้น (Schrieber R., Gareis H., 2007) มีการศึกษาพบว่าเมื่อใช้เจลาตินปริมาณร้อยละ 10.05 สารละลายกรดซิตริก (เข้มข้นร้อยละ 50) ร้อยละ 2.74 ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่มะขาม มีคะแนนความชอบโดยรวมจากการทดสอบด้านประสาทสัมผัสสูงสุด (Deepanya W, 2008)

การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่จากสารสกัดหมากเามาที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดหมากเมา ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิต วิเคราะห์คุณภาพโดยศึกษาลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ รวมถึงปริมาณโลหะหนักที่มีในผลิตภัณฑ์

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การสกัดหมากเมา

นำผลหมากเมาจากเขตอำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร สายพันธุ์ *Antidesma velutinosa* Blume ที่ได้จากโครงการการศึกษาฤทธิ์ต่อภาวะความจำบกพร่อง ภาวะซึมเศร้าของผลมะปรางและหมากเมา และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการศึกษาต่อเนื่อง โดยนำหมากเามาบดให้ละเอียด จากนั้นสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล ร้อยละ 95 (95% Ethanol) เอทานอล ร้อยละ 50 (50% Ethanol) และน้ำ (Water) อัตราส่วนหมากเามาต่อ ตัวทำละลาย 1:5 กวนให้เข้ากัน (Maisuthisakul P et al, 2007) ทั้งไว้



เป็นเวลา 5 วัน ในที่มีด ที่อุณหภูมิห้อง ในการสกัดด้วยน้ำ ทำการตรวจสอบสารสกัดทุกวัน และตากตะกอนหมักมาที่ลอยอยู่บนผิวน้ำทิ้ง กรองเอาเฉพาะส่วนสารละลาย มาทำการระเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น จากนั้นทำแห้งโดยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried) คำนวณผลผลิตร้อยละ (% yield) ของสารสกัดที่ได้ และนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ เพื่อหาตัวทำละลายที่สามารถสกัดปริมาณสารสำคัญในปริมาณสูงที่สุด

2. วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน (Total Anthocyanins)

วิเคราะห์ ปริมาณ แอนโทไซยานิน (Total Anthocyanins) ด้วยวิธี pH differential (AOAC, 2005) โดยเจือจางสารสกัดหมักมาด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ 0.025 โมลาร์ (pH 1.0) และเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมแอสซิเตทบัฟเฟอร์ 0.4 โมลาร์ (pH 4.5) หา dilution factor ที่เหมาะสมซึ่งสารละลายเจือจางที่ได้มีการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร อยู่ในช่วงการดูดกลืนแสง 0.2 และ 1.4 AU. ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเจือจางที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ภายในระยะเวลา 20-50 นาทีของการเตรียม โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินจากสูตร

Monomeric anthocyanin (mg/liter) =

$$(A \times MW \times DF \times 1000) / (\square \times 1)$$

โดยที่ $A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5}$

MW = 449.2 g/mol (น้ำ ห นั ก โ ม เล กู ล ข อ ง Cyanidin-3-glucoside)

$\square$ = 26,900 L/mol/cm (โมลาร์แอฟฟิวดิวิตี)

L = 1 cm (ความกว้างของ cuvette)

DF = Dilution factor ของสารละลายตัวอย่าง

3. วิเคราะห์ ปริมาณสารพอลิฟีนอล (Total Polyphenol)

วิเคราะห์ ปริมาณสารพอลิฟีนอล (Total Polyphenol) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Slinkard K, singleton VL, 1977) โดยชั่งสารสกัดหมักมา 0.01 กรัม ละลายใน 95% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน กรองและนำสารละลายที่กรองได้ 20 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันกับ 100 ไมโครลิตรของ Folin-Ciocalteu reagent ใน 96 well plate ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 7.5 ปริมาณ 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน พักไว้ที่อุณหภูมิห้องและในที่มืดเป็นเวลา

2 ชั่วโมง นำไปวัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณปริมาณสารพอลิฟีนอลที่ได้ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานสารแกลลิก (Gallic Standard Curve)

4. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoids)

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoids) ด้วยวิธี Aluminium chloride Colorimetric assay (Marinova D *et al*, 2005) โดยผสมสารสกัดหมักมาเข้ากับ 95% Ethanol และเติมอะลูมิเนียมคลอไรด์ โพแทสเซียมอะซิเตด น้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานสารเคอร์ซีติน (Quercetin Standard Curve)

5. การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่และการวิเคราะห์คุณภาพ

นำสารสกัดหมักมาที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม มาพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ โดยนำน้ำตาลที่ละลายในน้ำสะอาด อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มาผสมกับสารสกัดหมักมา และสารละลายเจลาติน เติมน้ำกรดซิตริก วัดอุณหภูมิ สารแต่งกลิ่นและสี รับประทานผสมทั้งหมดให้เข้ากัน วัดค่า pH ก่อนเทลงแม่พิมพ์ เมื่อเทลงในแม่พิมพ์ ตั้งผลิตภัณฑ์ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปแช่เย็น ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ 2 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 1 จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ที่ได้มาวัดคุณภาพ ดังนี้

5.1 วัดสีผลิตภัณฑ์ โดยเทียบกับสมุดคู่มือเทียบสี

RHS Colour Chart

5.2 วัดปริมาณความชื้นอิสระ (A_w) ด้วยเครื่อง

Water activity meter โดยตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในตลับพลาสติก นำเข้าเครื่องวิเคราะห์ รอจนเครื่องอ่านค่า A_w คงที่ บันทึกค่าที่ได้ ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

5.3 วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile

Analysis: TPA) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer โดยใช้หัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร กดตัวอย่างขนาด 1.5x2x2 เซนติเมตร ลีกลงไปร้อยละ 25 ของความหนาทั้งหมด ความเร็วในการกด 1.7 มิลลิเมตรต่อวินาที บันทึกค่าความแข็ง (Firmness) ค่าแรงที่ใช้ในการบดเคี้ยว (Chewiness) ค่าความแข็งแรงของการยึดเกาะกันภายในอาหาร (Cohesiveness) ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ค่าที่ใช้ในการดึงหัวทดสอบออกจากอาหาร (adhesiveness) โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง



5.4 วัดปริมาณจุลินทรีย์และโลหะหนัก โดยวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ยีสต์และรา (Yeast and Mold) ด้วยวิธี Bacteriological Analytical Manual (BAM) วัดปริมาณเชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) โดยวิธีประยุกต์ของ ISO 6579:2002(E) และวัดปริมาณโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตร ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และโลหะหนัก ทำการส่งวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เอกชน บ.ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาขอนแก่น

6. การวิเคราะห์ข้อมูลผลการศึกษา

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี t-test for Independent Samples และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยวิธี Scheffe's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 1 (%)	สูตรที่ 2 (%)
สารสกัด	3.5	3.5
น้ำตาลทราย	25.0	25.0
ไซรัป	25.0	25.0
เจลาติน 160 บลูม	15.0	10.0
กรดซิตริก	1.0	1.0
(ความเข้มข้น 50%)		
โพแทสเซียมซอร์เบต	0.1	0.1
น้ำสะอาด	30.4	35.4
กลีโคลูโบเออร์รี่	6 หยด	6 หยด
สี Erythrosine	10 หยด	10 หยด

ผลการศึกษาวิจัย

จากการศึกษาตัวทำลายที่เหมาะสม ซึ่งใช้ในการสกัดหยาบ พบว่าการสกัดด้วย 95% Ethanol, 50% Ethanol และน้ำ มี % yield ของสารสกัด เท่ากับ ร้อยละ 3.65, ร้อยละ 0.95 และร้อยละ 0.30 ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิฟีนอล ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัด พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วย 95% Ethanol มีปริมาณสารสำคัญทั้ง 3 กลุ่มในปริมาณสูงที่สุด และผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$) เมื่อเทียบกับสารสกัดที่ได้จาก 50% Ethanol และน้ำ โดยมีปริมาณแอนโทไซยานิน 10.99 มิลลิกรัม

ต่อลิตร (มิลลิกรัมสมมูลของ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์) ปริมาณสารพอลิฟีนอล 12.17 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 3.54 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 2

เมื่อนำสารสกัดหยาบมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ จากนั้นทำการวัดสี พบว่าสีที่เทียบได้ คือ PURPLE GROUP N77A ทั้ง 2 สูตร ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณความเข้มข้นสีในสูตรที่ 1 (เจลาติน ร้อยละ 15) เท่ากับ 0.85 สูงกว่า สูตรที่ 2 (เจลาติน ร้อยละ 10) ซึ่งเท่ากับ 0.82 โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.001$) ทำการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส ผลิตภัณฑ์ พบว่าสูตรที่ 1 มีค่าความแข็ง (Firmness) และค่าแรงที่ใช้ในการบดเคี้ยว (Chewiness) สูงกว่าสูตรที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$) มีแรงในการดึงหวัททดสอบออกจากอาหาร (Adhesiveness) สูงกว่าสูตรที่ 2 ($p > 0.05$) ขณะที่สูตรที่ 2 มีค่าความแข็งแรงของการยึดเกาะกันภายในอาหาร (Cohesiveness) และค่าความยืดหยุ่น (Springiness) สูงกว่า โดยผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 3

จากผลการศึกษาดังกล่าว ผู้ศึกษาวิจัยจึงเลือกผลิตภัณฑ์สูตรที่ 2 ไปทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่จากสารสกัดหยาบ และนำไปทำการวัดปริมาณจุลินทรีย์ รวมถึงปริมาณโลหะหนักที่มีในผลิตภัณฑ์โดยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา มีค่า < 10 โคโลนีต่อกรัมผลิตภัณฑ์ (cfu/g) ไม่พบเชื้อซาลโมเนลลา ไม่พบสารหนู และพบตะกั่ว ทองแดงในปริมาณต่ำ ไม่เกินมาตรฐานประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 213 เรื่อง แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด ในภาชนะบรรจุปิดสนิท ซึ่งกำหนดปริมาณโลหะหนักได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ โดยผลการศึกษา แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนักในผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่

รายการวิเคราะห์	กัมมีเยลลี่
Total Plate Count (cfu/g)	< 10
<i>Salmonella</i> spp. (per 1 g)	ไม่พบ
Yeast and Molds (cfu/g)	< 10
Arsenic (mg/kg)	ไม่พบ*
Lead (mg/kg)	< 0.05
Copper (mg/kg)	0.36

*Limited of Detection (LOD) = 0.025



ตารางที่ 2 ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดหมากเฒ่า ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

ตัวทำละลาย	Total Anthocyanins (mg/ml)*	Total Polyphenol (mg/g)*	Total Flavonoids (mg/g)*
95% Ethanol	10.99±0.05 ^{b,c}	12.17±0.09 ^{b,c}	0.06±3.54 ^{b,c}
50% Ethanol	8.02±0.36 ^{a,c}	5.15±0.14 ^{a,c}	0.03±2.95 ^{a,c}
Water	3.40±0.05 ^{a,b}	1.36±0.03 ^{a,b}	0.05±1.82 ^{a,b}

*แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean±SD) โดยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ (a-c) แสดงความแตกต่างของผลทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ทั้ง 2 สูตร

สูตรที่	Firmness* (g)	Cohesiveness*	Adhesiveness* (g/sec)	Springiness*	Chewiness* (g)
1	418.93±1.91 ^b	0.97±0.02	23.76±8.14	0.99±0.00 ^b	404.18±8.16 ^b
2	139.23±3.10 ^a	0.99±0.00	10.79±10.02	1.00±0.00 ^a	137.71±3.00 ^a

*แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean±SD) โดยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ (a-b) แสดงความแตกต่างของผลทดสอบด้วย Independent t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

อภิปรายผล

ในการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการสกัดหมากเฒ่า ให้ได้ปริมาณสารสำคัญสูงสุด โดยใช้ ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล ร้อยละ 95, เอทานอล ร้อยละ 50 และน้ำ พบว่า เอทานอลร้อยละ 95 สามารถสกัดให้ปริมาณสารสำคัญสูงสุด โดยมีปริมาณแอนโทไซยานิน 10.99 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิกรัมสมมูลของ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์) ปริมาณสารพอลิฟีนอล 12.17 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 3.54 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่มีโครงสร้างและความมีขั้วใกล้เคียงกับแอนโทไซยานิน สารพอลิฟีนอล และฟลาโวนอยด์ ซึ่งโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) และวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic rings) เอทานอล ร้อยละ 95 จึงสามารถสกัดสารสำคัญเหล่านี้ได้ดีที่สุด ขณะที่น้ำสกัดสารสำคัญได้น้อยกว่า เนื่องจากโครงสร้างวงแหวนเบนซีนในสารสำคัญ มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ในการสกัดส่วนใหญ่ เมทานอล (Methanol) เป็นสารละลายที่มักถูกนำมาใช้ในการสกัดมากกว่า เพราะมีจุดเดือดต่ำ สามารถสกัดแอนโทไซยานิน สาร และฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่าเอทานอลและน้ำถึงร้อยละ 20 และร้อยละ 73 ตามลำดับ และทำให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นสูง อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยเมทานอลยังเป็นที่กังวลเกี่ยวกับความเป็นพิษซึ่งอาจมีการปนเปื้อนในสารสกัด เอทานอลจึงเป็นทางเลือกที่ถูกนำมาใช้สกัดแอนโทไซยานินในอุตสาหกรรมอาหาร (Ovando AC *et al*, 2009)

ในการวัดปริมาณความชื้นอิสระ (A_w) ผลิตภัณฑ์ กัมมีเยลลี่ที่มีสารสกัดหมากเฒ่าซึ่งสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เป็นส่วนประกอบ พบว่าผลิตภัณฑ์สูตรที่ 1 (เจลาติน ร้อยละ 15) มีปริมาณความชื้นอิสระ เท่ากับ 0.85 สูงกว่า สูตรที่ 2 (เจลาติน ร้อยละ 10) ซึ่งเท่ากับ 0.82 โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) ปริมาณเจลาติน จึงมีผลต่อปริมาณความชื้นอิสระของผลิตภัณฑ์ เมื่อเพิ่มปริมาณเจลาติน ขณะที่ปริมาณส่วนประกอบอื่นๆ มีปริมาณคงที่ มีผลทำให้ปริมาณความชื้นอิสระสูงขึ้น จากการศึกษาของวิลาลีนี มีปัญญา (2551) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณเจลาตินและอัตราส่วนของซูโครส/กลูโคส/ไซรัป จะมีผลทำให้ปริมาณความชื้นอิสระเพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ พบว่าผลิตภัณฑ์สูตรที่ 1 มีค่าความแข็ง และค่าแรงที่ต้องใช้ในการบดเคี้ยวสูงกว่าสูตรที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ค่าแรงยึดเกาะกันภายใน และความยืดหยุ่นแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ($p>0.05$) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Meesang *et al* (2003) ซึ่งพบว่าเมื่อปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ค่าความแข็ง ค่าแรงยึดเกาะกันภายในอาหาร ค่าแรงที่ใช้ในการบดเคี้ยวเพิ่มขึ้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเจลาตินในผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ จึงมีผลทำให้ กัมมีเยลลี่มีความแข็งแรงมากขึ้น และต้องใช้แรงในการบดเคี้ยวมากขึ้นด้วย



สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษา จะเห็นได้ว่าสารสกัดหมากเฒ่าที่สกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 มีปริมาณแอนโทไซยานิน สารพอลิฟีนอล และสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูงที่สุด และสารสำคัญดังกล่าวได้มีศึกษามากมาย พบว่าคุณสมบัติที่ดี โดยเฉพาะการต้านอนุมูลอิสระ จึงนำสารสกัดหมากเฒ่าดังกล่าวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ ที่มีปริมาณเจลาติน ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เหมาะสม ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงโลหะหนักที่เป็นอันตราย เพื่อให้เป็นการแปรรูปหมากเฒ่า ที่สามารถนำผลิตภัณฑ์ออกสู่ท้องตลาดได้ในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้โครงการการศึกษาฤทธิ์ต่อภาวะความจำบกพร่อง ภาวะซึมเศร้าของผลมะปรางและหมากเฒ่า และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines. *J. AOAC Int* 2005; 88(5): 1269-1278.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *JFDA* 2002; 10: 178-182.
- Deepanya W. Development of gummy jelly Tamarind product. Project report of Phetchabun Rajabhat University 2008.
- Judprasong K, Charoenkiatkul S, Thiyajai P, Sukprasansap M. Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. *Food Chem.* 2013; 140: 507-512.
- Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruit and vegetables. *J. Chem. Technol. Metall.* 2005; 40: 255-260.
- Maisuthisakul P, Sutthajit M, Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem.* 2005; 100(2007): 409-418.

- Meesang S, Wuttijumnong P, Pongsawatmanit R, Chenputhi S. Effect of gelatin sucrose/ glucose syrup ratio and citric acid on physical properties and sensory quality of gummy jelly product. *Kasetsart University Conference No.41st*; 2003 Feb 3-7; Bangkok, Thailand. Kasetsart University; 2003.
- Nuengchamnon N, Ingkaninan K. On-line HPLC-MS-DPPH assay for the analysis of phenolic antioxidant compounds in fruit wine: *Antidesma thwaitesianum* Muell. *Food Chem.* 2010; 118(2010): 147-152.
- Ovando AC, Pacheco-Hernández MDL, Hernández P, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins. *Food Chem.* 2009; 113: 859-871.
- Schrieber R, Gareis H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice.* Weinheim: Wiley-VCH; 2007.
- Slingard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *AJEV* 1977; 28: 49-55.