



รายงานการวิจัย

การศึกษาชนิดและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในผลแก้วมังกรต่อ

คุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก

Study on prebiotic oligosaccharides in Dragon fruit

(*Hylocereus undatus*)

โดย

นายสันศักดิ์ วิเชียร โชติ และ

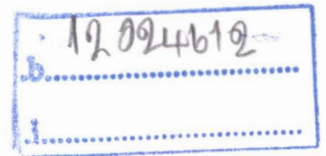
นางมารีสา จาคูพรพิพัฒน์

RCH
OK
495
C11
ค589ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 86925
วัน,เดือน,ปี..... 19 ส.ค. 2552

ที่ปรึกษา

Robert A. Rastall



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ 2551

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อของผล แก้วมังกรพันธุ์ขาวและพันธุ์แดง ปริมาณและน้ำหนักโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้และ คุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้หลังผ่านการทำให้บริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก ซึ่งได้แก่ ความสามารถในการต้านทานการย่อยในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์ การต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสและความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโปรไบโอติก 2 ชนิด คือ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 และ *Bifidobacterium bifidum* 702715 ผลการวิจัยพบว่าปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในแก้วมังกรทั้ง 2 พันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติโดยมีค่าเป็น 86.22 ± 0.93 และ 89.55 ± 0.76 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันในด้านรูปร่าง ขนาด น้ำหนักของผลและปริมาณน้ำตาล กลูโคสและฟรุกโตส วิธีการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์ที่เหมาะสมที่สุดคือ การใช้เอทานอลเข้มข้น 80% ในอัตราส่วนของเอทานอลต่อเนื้อแก้วมังกรที่ผ่านการแยกเมล็ดเท่ากับ 2 ต่อ 1 โดยปริมาตร โดยการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง สารสกัดจากแก้วมังกรพันธุ์ขาวมีปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ $27.4 \pm 1.5\%$ สูงกว่าการสกัดด้วย 20% เอทานอล น้ำร้อน (80 ± 5 องศาเซลเซียส) และน้ำอุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) มีค่าเท่ากับ $20.6 \pm 1.3\%$, $16.4 \pm 0.6\%$ และ $15.1 \pm 0.5\%$ ตามลำดับ วิธีการสกัดมีผลต่อ ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าเนื้อแก้วมังกรทั้ง 2 พันธุ์ประกอบด้วยน้ำตาล 2 กลุ่มคือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโอลิโกแซคคาไรด์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิดคือ กลูโคสและฟรุกโตส โดยที่ปริมาณน้ำตาลทั้ง 2 ชนิดแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ตามสายพันธุ์ พันธุ์ขาวมีความเข้มข้น 353.18 ± 0.74 และ 237.57 ± 0.84 กรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับขณะที่พันธุ์แดงมีความเข้มข้น 401.41 ± 1.27 และ 157.87 ± 0.32 กรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และผลการวิเคราะห์ด้วย HPSEC พบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากทั้ง 2 สายพันธุ์ประกอบด้วย 2 ขนาดโมเลกุลซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล ในช่วง 787-911 และ 273-275 ดาลตัน ผลการทดสอบโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกพบว่า โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติด้านการย่อยในสภาวะกรด กระเพาะอาหารจำลองของมนุษย์ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสูงสุดที่พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 เท่ากับ 4.07, 2.43, 1.66, 0.85 และ 0.02% ตามลำดับ และมีความสามารถในการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ อะพาอะมัยเลส โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสูงสุดที่พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 เท่ากับ 10.22, 11.02, 20.66, 29.68 และ 34.88% ตามลำดับ ผลการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก 2 สายพันธุ์พบว่า โอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์สามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ (1)

delbrueckii BCC 13296 โดยทำให้ปริมาณของเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จาก 9.02×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 6.17×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใน 48 ชั่วโมง ขณะความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* 702715 มีค่าต่ำกว่าโดยสามารถเพิ่มจำนวนเชื้อเริ่มต้นจาก 1.70×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 2.51×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง



Abstract

This study was focused on the optimal extraction methods of 2 species of Dragon fruit (white and red), molecular weight distribution of their oligosaccharides and some prebiotic properties of oligosaccharides obtained. Partially purified oligosaccharide was investigated on simulated gastric juice persistency, enzymatic resistance and growth stimulation on 2 probiotic strains, *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 and *Bifidobacterium bifidum* 702715. No significant difference on the content of oligosaccharides in white and red species which contained 86.22 ± 0.93 and 89.55 ± 0.76 g/kg, respectively. However, some properties of each species were different such as figure, dimension and weight of fruit and glucose and fructose contents in meat. The most effective extraction method was 80% ethanol with the ratio of ethanol and Dragon' meat (after seed removal) was 2:1 (v/v) and extraction required 2 repeating times. The oligosaccharide yields obtained by extraction methods using 80% ethanol, 20% ethanol, hot water ($80 \pm 5^\circ\text{C}$) and room temperature water ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) were $27.4 \pm 1.5\%$, $20.6 \pm 1.3\%$, $16.4 \pm 0.6\%$ and $15.1 \pm 0.5\%$, respectively. Extraction methods had significant ($P < 0.05$) effects on the oligosaccharide contents obtained. HPLC analysis revealed that both species contained 2 types of sugar, mono- and disaccharides, and oligosaccharides. Only glucose and fructose were found in the type of monosaccharides however the concentrations of glucose and fructose were significant difference ($P < 0.05$) in each species. The concentrations of glucose and fructose in white species were 353.18 ± 0.74 and 237.57 ± 0.84 g/kg, respectively whereas the red species had values of 401.41 ± 1.27 and 157.87 ± 0.32 g/kg, respectively. HPSEC data confirmed that the oligosaccharides of both species consisted of 2 fractions which having molecular weight of 787-911 and 273-275 Daltons. The partially purified oligosaccharide was tested on prebiotic properties and the results shown it had persistent property on simulated gastric juice. The highest percentages of hydrolysis at pH of 1, 2, 3, 4 and 5 were 4.04, 2.43, 1.66, 0.85 and 0.02%, respectively. The partially purified oligosaccharide also shown persistent property on enzymatic hydrolysis by the action of human salivary α -amylase which given the highest percentages of hydrolysis at pH of 4, 5, 6, 7 and 8 of 10.22, 11.02, 20.66, 29.68 and 34.88%, respectively. In addition, the results of growth stimulation on 2

probiotic strains indicated that the partially purified oligosaccharide could stimulate the growth of *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 which increased cell number from 9.02×10^7 to 6.17×10^9 cell/ml within 48 h. However, stimulation on growth of *Bifidobacterium bifidum* 702715 had lower level which increased cell number from 1.70×10^8 to 2.51×10^9 cell/ml after incubation for 72 h.



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	(1)
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	(3)
สารบัญ	(5)
สารบัญตาราง	(7)
สารบัญรูป	(8)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 แก้วมังกร	3
2.2 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ	4
2.3 เทคโนโลยีการผลิตฟรีไบโอติกทางการค้า	12
2.4 การย่อยคาร์โบไฮเดรตในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์	16
2.5 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	17
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี	18
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	21
บทที่ 4 ผลและการวิจารณ์ผลการวิจัย	27
4.1 การแยกและสกัดโอลิโกแซคคาไรด์	27
4.2 ความสามารถต่อการต้านทานการย่อยในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหาร	33
4.3 ความสามารถต่อการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์อะมัยเลส	42
4.4 ความสามารถต่อการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก	51
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม	56
ภาคผนวก	61
1. กราฟมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยวิธีฟินอล-ซัลฟิวริก	61
2. กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส-กรดซาลิไซลิก	62
3. กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลของสารเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC	63
4. โครมาโตแกรมของสารสกัดแก้วมังกรวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ (5)

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5. กราฟปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เมื่อย่อยด้วย สภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์ที่พีเอช 2	65
6. กราฟปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เมื่อย่อย ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7	66



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 คุณลักษณะบางประการของแก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยเนื้อสีแดง	28
4.2 ผลของวิธีสกัดต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลของสารสกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว	30
4.3 การเจริญของเชื้อ <i>Lactobacillus delbrueckii</i> BCC 13296 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว	51
4.4 การเจริญของเชื้อ <i>Bifidobacterium bifidum</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว	52



สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาววิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	28
4.2 ชนิดและปริมาณน้ำตาลพบในแก้วมังกรเนื้อสีแดงวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	29
4.3 น้ำหนักโมเลกุลของโพลิโกแซคคาไรด์พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาวสกัดด้วยน้ำวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC	32
4.4 น้ำหนักโมเลกุลของโพลิโกแซคคาไรด์ที่พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาวที่สกัดด้วย 80% เอทานอลวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC	32
4.5 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 1	33
4.6 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 2	34
4.7 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 3	34
4.8 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 4	35
4.9 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 5	35
4.10 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 1	36
4.11 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 2	37
4.12 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 3	37
4.13 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 4	38
4.14 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 5	38
4.15 การย่อยอินนูลินด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 1	39
4.16 การย่อยอินนูลินด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 2	40
4.17 การย่อยอินนูลินด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 3	40
4.18 การย่อยอินนูลินด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 4	41
4.19 การย่อยอินนูลินด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 5	41
4.20 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 4	42
4.21 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 5	43
4.22 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 6	43
4.23 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7	44
4.24 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 8	44
4.25 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 4	45
4.26 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 5	46

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.27 การข่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 6	46
4.28 การข่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 7	47
4.29 การข่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 8	47
4.30 การข่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 4	48
4.31 การข่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 5	49
4.32 การข่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 6	49
4.33 การข่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 7	50
4.34 การข่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะพาอะมัยเลสที่พีเอช 8	50



บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจอาหารเพื่อสุขภาพกันมากขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งอันส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์ อาหารสุขภาพ (functional foods) มีประโยชน์หลายประการ เช่น ลดคอเลสเตอรอล เสริมวิตามินและแร่ธาตุ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อกลุ่มที่มีประโยชน์ อันส่งผลให้สามารถป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ได้ เช่น โรคมะเร็งลำไส้ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น ดังนั้นปัจจุบันนักวิจัยจึงมีความสนใจที่จะพัฒนาสารเสริมสุขภาพชนิดใหม่ๆ เพื่อวัตถุประสงค์ที่มีความจำเพาะแตกต่างกันออกไป ทั้งเพื่อเป็นอาหารเสริมของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้แก่ สัตว์เลี้ยง เช่น สุนัขและแมว นอกจากนี้ยังนำไปใช้ในการเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์อีกด้วย สารเสริมสุขภาพที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งคือ 프리ไบโอติก (prebiotic) ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ที่เรียกว่าโปรไบโอติก (probiotic) อันส่งผลทำให้มนุษย์หรือสัตว์ที่บริโภคสารเหล่านี้มีสุขภาพดีปราศจากโรคในระบบทางเดินอาหารหรือป้องกันมะเร็ง โดยในทางการค้ามีการเสริมสารโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้ลงไปในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ อาหารประเภทแป้ง อาหารสำหรับเด็กทารก อาหารสำหรับผู้สูงอายุ และเสริมลงในอาหารที่รับประทานในชีวิตประจำวันต่างๆ โอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้ส่วนหนึ่งสกัดได้จากแหล่งธรรมชาติ เช่น พืชหัวบางชนิด หรือสังเคราะห์ขึ้นโดยการใช้เอนไซม์ สำหรับงานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเนื้อส่วนที่บริโภคได้ของผลแก้วมังกรเนื่องจากสังเกตพบว่าการบริโภคผลแก้วมังกรไม่ทำให้เกิดความอ้วนและน้ำสกัดของแก้วมีลักษณะขุ่นหนืด ซึ่งน่าจะมีสารที่มีมวลโมเลกุลสูงและเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ สารที่มีคุณสมบัติด้านการย่อยเป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของฟรีไบโอติก งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด วิเคราะห์ชนิดน้ำตาลและมวลโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในเนื้อของผลแก้วมังกรก่อนจะนำไปทดสอบคุณสมบัติบางประการต่อความสามารถการเป็นสารฟรีไบโอติก ได้แก่ ความสามารถในการต้านการย่อยด้วยสภาวะกรดจำลองของกระเพาะอาหารและความสามารถในการต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่พบในระบบทางเดินอาหารมนุษย์ เช่น เอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พบในน้ำลาย และทดสอบความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกบางสายพันธุ์ ผลการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ ต่อการเป็นสารฟรีไบโอติกในขั้นต่อไป เช่น ความสามารถในการผลิตกรดไขมันสายโซ่สั้น (Short-chain fatty acid,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCFA) และความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ใหญ่มนุษย์จำลอง (gut model) ต่อไปในอนาคต

การทดลองนี้เพื่อศึกษาว่าในเนื้อส่วนที่บริโภคได้ของผลแก้วมังกรมีองค์ประกอบเป็นน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณเท่าใดและเป็นชนิดใด และโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกหรือไม่ โดยจะศึกษาในผลแก้วมังกรที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 2 สายพันธุ์ (พันธุ์ขาวและพันธุ์แดง) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสายพันธุ์ ความแตกต่างของวิธีการสกัดน้ำตาลออกจากเนื้อผลแก้วมังกรมี 4 วิธี คือ สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง สกัดด้วยน้ำร้อน สกัดด้วย 20% เอทานอลและสกัดด้วย 80% เอทานอล นำสารสกัดที่ได้ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dry) วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ และนำมาศึกษาชนิดและมวลโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ โอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้นำไปศึกษาคุณสมบัติบางประการต่อความสามารถในการเป็นสารพรีไบโอติก เช่น การต้านการย่อยในสภาวะกรดจำลองกระเพาะอาหารมนุษย์และการย่อยด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสจากน้ำลายมนุษย์ (human salivary α -amylase) และทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของเชื้อโปรไบโอติก 2 ชนิดโดยใช้สารสกัดผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับโปรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์

งานวิจัยเกี่ยวกับพรีไบโอติกในต่างประเทศมีขึ้นเมื่อประมาณ 10 ปีที่ผ่านมา และได้รับความสนใจเป็นพิเศษเนื่องจากเป็นเรื่องเกี่ยวกับสุขภาพ โดยที่ผ่านมามีงานวิจัยส่วนใหญ่ประมาณ 90% เป็นการศึกษาเพื่อใช้สำหรับมนุษย์ สำหรับประเทศไทยยังมีการศึกษาพรีไบโอติกน้อย อย่างไรก็ตามขณะนี้ม้งานวิจัยที่เสร็จสิ้นแล้วและกำลังดำเนินอยู่โดยสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งทำวิจัยเกี่ยวกับพรีไบโอติกในหลายประเด็น เช่น การศึกษาแหล่งของพรีไบโอติกจากพืชไทยบางชนิดตลอดระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา ซึ่งพบว่ามีพืชไทยประมาณ 10 ชนิดที่มีศักยภาพเป็นแหล่งพรีไบโอติก เช่น กระจับปี่เขียว มะม่วง มะขวิด เนื้อตาล จาวตาล เปลือกขนุน และเมล็ดขนุน เป็นต้น (บัญชา อุไรกุลและคณะ, 2550) และขณะนี้กำลังวิจัยการออกแบบและพัฒนาเครื่องสกัดไหลสวนทางแบบต่อเนื่อง การพัฒนาระบบลำไส้ใหญ่จำลองและการศึกษาพรีไบโอติกในระดับโรงงานต้นแบบ อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาในผลแก้วมังกร ซึ่งคาดว่าเนื้อของผลแก้วมังกรจะมีโอลิโกแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ จากสังเกตพบว่าการบริโภคผลแก้วมังกรไม่ทำให้เกิดความอ้วน ร่างกายไม่สามารถย่อยได้อันเป็นคุณสมบัติอย่างหนึ่งของสารพรีไบโอติก หากเนื้อของผลแก้วมังกรมีโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกจะสามารถเพิ่มมูลค่าของแก้วมังกรอีกทั้งช่วยเพิ่มรายได้แก่เกษตรกรได้อีกทางหนึ่งด้วยและเป็นการสนับสนุนแนวคิดเศรษฐกิจพอเพียงและขจัดความยากจนให้กับเกษตรกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แก้วมังกร

แก้วมังกรมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus undatus* (Haw) เป็นต้นไม้ประเภทเลื้อยอยู่ในวงศ์ Cactaceae หรือกระบองเพชร มีแหล่งกำเนิดในทวีปอเมริกาและเอเชีย ปลูกมากในประเทศเวียดนามและต่อมาได้มีการนำเข้ามาปลูกในประเทศไทย (สุรพงษ์, 2541) แบ่งเป็นพวกย่อยคือ Hylocereanae ซึ่งมีด้วยกัน 9 สกุล โดยสกุลที่น่าสนใจคือ *Selenicereus*, *Mediocactus*, *Hylocereanae* ทั้ง 3 สกุลมีลำต้นเป็นแฉก เป็นหยักๆ คล้ายครีบบั๊กหรือหางจระเข้ ตาข้างมีหนาม 1-5 อัน แฉกเกิดจากใบที่เปลี่ยนรูปอวบอืดด้วยน้ำ ลำต้นจริงอยู่กึ่งกลางของแฉก ผลแก้วมังกรเกิดบริเวณปลายยอดมีจำนวน 1 ผลต่อ 1 กิ่ง แต่อาจพบ 2 ผลต่อ 1 กิ่งบ้าง ขนาดผลและรสชาติแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดยมักมีผลรีหรือกลม มีน้ำหนักประมาณ 200-500 กรัม เปลือกสีชมพูอมส้ม ผลแก่มีสีแดงบานเย็น กลีบเลี้ยงสีเขียว มีเปลือกหนา 2-3 มิลลิเมตร ภายในผลเมื่อผ่าออกจะมีเนื้อสีขาว ภายในเนื้อมีเมล็ดสีดำเล็กๆ คล้ายเมล็ดงาหรือเมล็ดแมงลัก กระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อ เนื้อผลจามีรสหวานอมเปรี้ยว โดยทั่วไปรับประทานผลสด ทำน้ำคั้นหรือแปรรูปในน้ำเชื่อม ฟรุตสลัด แยม เยลลี่ ข้าวเกรียบ หรือทำแผ่นกรอบ (พรรณิย์, 2544) เนื้อแก้วมังกรมีคุณค่าทางอาหารเนื่องจากประกอบด้วยแร่ธาตุ วิตามินต่างๆ โยอาหาร (3%) น้ำตาล (12%) และคาร์โบไฮเดรต (11%) ดังนั้นแก้วมังกรจึงน่าจะมีศักยภาพเป็นอาหารเสริมสุขภาพได้

สายพันธุ์ของแก้วมังกร

1. สายพันธุ์เวียดนาม มีลำต้นเป็นท่อนๆ หรือข้อยาวสีเขียว มักมี 3 แฉก มีหนามแข็งและแหลม ผลมีเปลือกสีแดง เนื้อภายในมีสีขาว ผลมีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์ไทย เนื้อมีรสหวาน อมเปรี้ยว พันธุ์ที่นิยมปลูกคือ พันธุ์นัมเบอร์ 100 ผลมีน้ำหนัก 200-900 กรัม (สุรพงษ์, 2541)
 2. สายพันธุ์ไต้หวัน ลำต้นมี 3 แฉก ลำต้นอ้วนสีเขียว ผลมีเปลือกสีแดง เนื้อภายในมีสีแดง มีลักษณะสวยงาม ขนาดผลใกล้เคียงแก้วมังกรพันธุ์เวียดนาม มักเรียกว่าแก้วมังกรแดง (สมบัติ, 2544)
 3. สายพันธุ์ไทย ลำต้นเป็นท่อนสามเหลี่ยม ผลมีเนื้อและเปลือกเหมือนพันธุ์เวียดนามแต่มีขนาดเล็กกว่า แต่รสชาติดี หอมหวาน กลีบผลจะยาวกว่าแก้วมังกรพันธุ์เวียดนาม
- นอกจากนี้แก้วมังกรยังมีสายพันธุ์อื่นๆ ได้แก่ สายพันธุ์ผิวทองหรือต้นปีทาฮาเหลือง มีผลผิวสีเหลือง เนื้อภายในสีขาวคล้ายแตงกวา เมล็ดมีสีดำนํม มีรสหวานอมเปรี้ยว ยังมีการปลูกน้อยในประเทศไทย

(สุรพงษ์, 2541) สายพันธุ์อิสราเอล มีผลผิวสีแดงอมชมพู เนื้อมีสีขาว แดง หรือม่วงสว่าง สายพันธุ์คูโบ ผลมีผิวเรียบ เนื้อสีขาวอมเหลือง รสหวานหอม (ปรมปรี, 2542)

2.2 ผลกระทบเสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ

2.2.1 นิยาม

Functional foods มีต้นกำเนิดในประเทศญี่ปุ่น ประมาณปลายคริสต์ศตวรรษที่ 19 เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารอาหารหรือสารที่ไม่ใช่สารอาหาร ซึ่งช่วยให้ระบบในร่างกายทำงานดีขึ้น และช่วยป้องกันโรคบางชนิด เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่สำหรับประเทศไทย ในบทความทางวิชาการคำว่า Functional foods อาจมีการใช้คำอื่นที่มีความหมายในทำนองเดียวกัน เช่น อาหารฟังก์ชัน อาหารเชิงพันธุภาพ อาหารสร้างสุขภาพ อาหารเสริมสุขภาพ อาหารสร้างเสริมสุขภาพ ฟังก์ชันนาลฟู๊ด ฯลฯ ในรายงานฉบับนี้จะขอใช้คำว่า Functional foods เพราะเป็นคำที่พบได้มาก ในรายงานการวิจัยภาษาอังกฤษที่เกี่ยวกับอาหารเพื่อสุขภาพในปัจจุบัน (Niva, 2007)

ประโยชน์ของอาหารที่มีต่อสุขภาพในการช่วยป้องกันหรือรักษาโรคบางอย่างได้เป็นที่ยอมรับมาตั้งแต่อดีตและในปัจจุบันก็มีข้อมูลสนับสนุนว่านอกจากสารอาหารแล้วในอาหารยังมีสารอื่นๆ อีกหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น โกลโคพินหรือสารให้สีแดงในมะเขือเทศ มีข้อมูลว่าเป็นแอนติออกซิเจนที่ช่วยป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมาก อาหารจีนหรืออาหารไทยก็มีใช้เครื่องเทศหรือสมุนไพรหลากหลายชนิดที่เชื่อว่ามีคุณสมบัติช่วยการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหารและระบบไหลเวียนโลหิต

การแปรรูป Functional foods เริ่มขึ้นในประเทศญี่ปุ่น ประมาณ ค.ศ 1986-1984 .โดยมีการวิจัยหน้าที่และประโยชน์ของสารต่างๆ ที่มีต่อสุขภาพด้วยวิธีการทางวิทยาศาสตร์หรือทางการแพทย์ ต่อมาได้เปลี่ยนการเรียกชื่อผลิตภัณฑ์อาหารกลุ่มนี้ว่า Food for Specified Health Use (FOSHU) (ซึ่งได้รับความนิยมอย่างมากในประเทศญี่ปุ่น ปัจจุบันตลาดของอาหารประเภทนี้มีมูลค่าสูงถึง 4 แสนล้านเยน แนวคิดในการผลิตอาหาร FOSHU ซึ่งมีศักยภาพในการป้องกันและรักษาสุขภาพได้แพร่หลายไปในหลายประเทศทั่วโลกทำให้มีผลิตภัณฑ์ Functional foods มากมายหลายชนิดในท้องตลาด เช่น เครื่องดื่ม ขนมหวาน ขนมขบเคี้ยว ลูกกวาด หมากฝรั่ง ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช และผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปต่างๆ แม้แต่บริษัทที่ผลิตยาหรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่างก็หันมาให้ความสนใจผลิต Functional foods มากขึ้นเพราะเห็นแนวโน้มการขยายตลาดของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ทั้งในปัจจุบันและอนาคต (Siro และคณะ, 2008; Sloan, 2004)

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทำให้เกิดความรู้เกี่ยวกับสารต่างๆ จากธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและสามารถผลิตสารเหล่านี้ในปริมาณมากเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นส่วนผสมของการแปรรูปอาหารในระดับอุตสาหกรรมได้ และมีความก้าวหน้าในด้านการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ช่วยปรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ให้มีลักษณะปรากฏและรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้เทียบเท่าหรือดีกว่าอาหารปกติ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ Functional foods ได้รับความนิยมอย่างสูงมากเพราะมีความอร่อย น่ารับประทานและที่สำคัญคือมีส่วนประกอบพิเศษที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพนอกเหนือไปจากประโยชน์ของสารอาหารต่างๆ ในอาหารนั้น แม้ว่าผลิตภัณฑ์ของอาหารกลุ่มนี้จะเริ่มในประเทศญี่ปุ่นแต่ปัจจุบันมีการผลิตในหลายประเทศและแต่ละประเทศจะมีการให้คำนิยามหรือคำจำกัดความ Functional foods แตกต่างกันไป ออกไป เช่น Sloan 200)4 (ได้ให้คำจำกัดความไว้ดังนี้ “A functional foods is a food or beverage that imparts a physiological benefit that enhances overall health ,helps prevent or treat a disease/condition ,or improves physical or mental performance via an added functional ingredient , processing modification ,or biotechnology.”

Pariza)1999 (มีความเห็นว่าจุดตั้งต้นของผลิตภัณฑ์อาหารกลุ่มนี้เริ่มมาจากอุตสาหกรรมมุ่งผลิตอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพนอกเหนือจากประโยชน์ของสารอาหารและให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภคถึงประโยชน์เพื่อผลดีทางการตลาด จึงให้คำจำกัดความไว้ดังนี้ “Functional food is a manufactured food for which scientifically valid health claims can be made.” แต่อย่างไรก็ตามความหมายของ Functional foods เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปคือ กลุ่มของผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปที่มีสารที่มีผลต่อการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายที่ทำให้สุขภาพดีและปราศจากโรคภัยไข้เจ็บบางชนิด จะมีลักษณะเป็นอาหารไม่เป็นผง เม็ด หรือแคปซูลคล้ายยา สามารถบริโภคได้เหมือนอาหารทั่วไป (Diplock และคณะ, 1999) ในประเทศสหรัฐอเมริกาจะมีคำเรียกกลุ่มอาหารที่คล้ายกับ FOSHU ของประเทศญี่ปุ่นแต่เรียกผลิตภัณฑ์ว่า Nutraceuticals คำนี้บัญญัติโดย Dr. Steve Defelice ในปี ค.ศ 1989 .คำว่า Nutraceuticals หมายถึง “a food or parts of foods that provide medical-health benefits including the prevention and/or treatment of disease.” จะเห็นได้ว่า nutraceuticals จะรวมอาหารหลากหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพหรือมีผลต่อการป้องกันและรักษาโรคไว้ภายใต้คำนี้ เช่น อาหารทางการแพทย์)medical foods(ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร)dietary supplements (และอาหารเพื่อสุขภาพ (functional foods) คำว่า nutraceuticals นิยมใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาและในทวีปยุโรปมากกว่าคำว่า functional foods

สำหรับประเทศไทย ยังไม่มีการจัดกลุ่มอาหารแปรรูปเป็นกลุ่ม functional foods แม้จะเริ่มมีบริษัทที่ผลิตอาหาร โดยใช้หลักการเดียวกับการผลิตในประเทศญี่ปุ่น นอกจากนั้นกฎหมายยังห้ามการอวดอ้างผลดีต่อสุขภาพหรือรักษาโรคบนฉลากด้วยและถ้ามีการเน้นประโยชน์ต่อสุขภาพหรือคุณค่าทางโภชนาการเป็นจุดขายผลิตภัณฑ์จะต้องมีระบุข้อมูลทางโภชนาการ)Nutrition Facts (บนฉลากผลิตภัณฑ์ ในอนาคตอุตสาหกรรมอาจหันมาผลิตอาหารที่มีการเสริมด้วย bioactive

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ingredients มากขึ้นเพราะมีแนวโน้มที่ผู้บริโภคสนใจบริโภคอาหารเพื่อส่งเสริมสุขภาพมากขึ้น เช่นเดียวกับแนวโน้มที่เกิดขึ้นในประเทศต่างๆ ทั่วโลก

2.2.1 วิธีการผลิต functional foods

หลักทั่วไปของการผลิต functional foods มี 5 วิธีการใหญ่ ๆ ดังนี้ (Spence, 2006)

22.1..1 To elimination วิธีการแยกหรือสกัดสารเป็นอันตรายต่อร่างกายออกไปจากอาหาร เพราะสารนั้นอาจทำให้เกิดการแพ้หรือเจ็บป่วย เช่น บริษัท Shiseido Co. ,Ltd ผลิตข้าวไร้สารแพ้ที่ชื่อว่า Fine Rice ซึ่งเป็นข้าวสารที่มีการลดปริมาณ โปรตีนโกลบูลิน (rice globulin (ถึง 99% โดยใช้ เอนไซม์ actinase เนื่องจากมีผู้บริโภคกลุ่มหนึ่งแพ้โปรตีนชนิดนี้ทำให้เกิด โรคภูมิแพ้ atopic dermatitis หรือบริษัท Morinaga Milk Industry Co. ,Ltd. ผลิตนมที่มีปริมาณฟอสฟอรัสเพียง 5/1 ของที่มีในนมปกติ เพื่อผู้บริโภคที่เป็นโรคไตวายเรื้อรังซึ่งได้รับคำแนะนำจากแพทย์ให้ลดการ บริโภคฟอสฟอรัส

22.1..2 To increase ด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณหรือความเข้มข้นของสารที่มีประโยชน์ใน อาหารตามธรรมชาติ เช่น บริษัท Fuji Oil Co. ,Ltd ผลิต Gammodoki หรือ Protein Gammo ซึ่งเป็น เต้าหู้ทอด เป็นผลิตภัณฑ์ที่รับประทานง่ายและจะได้รับ โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง ซึ่งมีประโยชน์ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ หรือบริษัท Hayashibara Biochemical Laboratories Inc. ได้ จดลิขสิทธิ์การผลิต water soluble rutin ซึ่ง rutin เป็นสาร flavonol glycoside ในพืชตระกูลถั่วและ ธัญพืชซึ่งทำให้มีคุณสมบัติการละลายน้ำที่ดีขึ้น สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อ สุขภาพมีประโยชน์ในการเสริมสร้างเส้นเลือดฝอยที่มีความเสียหายเนื่องจากความดันโลหิตสูงหรือ ถูกทำลายโดยรังสียูวี

22.1..3 To add โดยการเติมหรือเสริมสารที่มีประโยชน์ลงไปในการอาหารที่เดิมไม่มีสารนั้น หรือมีน้อย เช่น บริษัท Otsuka Pharmaceutical Co. ,Ltd ผลิตน้ำอัดลมชื่อ FibeMini ซึ่งมีการเสริม ด้วยใยอาหารสังเคราะห์ polydextrose ที่ละลายน้ำได้ดีทำให้ผู้บริโภคได้รับใยอาหารช่วยในการ ขับถ่ายอุจจาระ หรือบริษัท Asahi Chemical Industry Co. ,Ltd ผลิตเครื่องดื่มที่ชื่อ Heme Iron Drink Fe เป็นเครื่องดื่มที่มีการเสริมธาตุเหล็กในสภาพของฮีโมซึ่งสามารถดูดซึมได้ดีเป็นเครื่องดื่มสำหรับ ผู้บริโภคที่มีโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก

22.1..4 To replace สารอาหารบางอย่างในอาหารหากบริโภคมากจะทำให้เกิดอันตราย จึง ต้องใช้สารบางอย่างที่มีประโยชน์มากกว่าเข้าไปทดแทน เช่น บริษัท Ensuiiko Sugar Refining Co. , Ltd ผลิตน้ำตาล Nyuka-Origo สำหรับใส่กาแฟที่มี lactosucrose แทน sucrose ทำให้มีประโยชน์มาก ขึ้น เพราะเป็นพรีไบโอติกช่วยการเจริญของ Bifidobacteria ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์อาศัย อยู่ในลำไส้ หรือบริษัท Lotte Co. ,Ltd ผลิตหมากฝรั่งชื่อ Goodent ซึ่งใช้ palatinose และ maltitol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลทรายเพราะสารทั้ง 2 ชนิดนี้จุลินทรีย์ในปากไม่สามารถใช้ได้ จึงช่วยป้องกันฟันผุ

22.1.. 5To increase bioavailability or stability เพิ่มความสามารถในการดูดซึมและใช้ประโยชน์ในร่างกายหรือทำให้สารที่มีประโยชน์ในอาหารมีความเสถียรไม่สูญเสียในระหว่างการแปรรูป เช่น การแปรรูปมะเขือเทศเป็นซอสทำให้ Lycopene ในมะเขือเทศมี bioavailability ดีกว่าเมื่ออยู่ในมะเขือเทศสด

เทคโนโลยีในการผลิต functional foods ส่วนใหญ่จะเหมือนกับการแปรรูปอาหารตามปกติ ส่วนที่มีความสำคัญต่อการผลิต คือสารผสมอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพซึ่งอาจเป็นสารอาหารหรือไม่ใช่สารอาหาร ในการแปรรูปจะเลือกใช้วิธีการที่จะป้องกันไม่ให้เสียคุณประโยชน์ของสารเหล่านั้นไป อาจแบ่งการแปรรูปออกเป็น 2 ประเภท คือ

- 1.การใช้ความร้อน เช่น การลวก การปรุงอาหาร การพาสเจอร์ไรด์ การสเตอริไลซ์ เป็นต้น
- 2.การไม่ใช้ความร้อน เช่น การกรอง การแปรรูปด้วยกระบวนการขั้นต่ำ (minimal processing) การใช้บรรจุภัณฑ์ การฉายรังสี การใช้ความดันสูง การทำแห้งแบบแช่แข็ง

2.2.2 functional ingredients

MHW ได้แบ่งกลุ่มของ functional ingredients ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพในประเทศญี่ปุ่นเป็น 12กลุ่มดังต่อไปนี้

2.2.2.1 Dietary fibers โยอาหารที่ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพมีทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้ เช่น bata-glucan ,pectin ,algal polysaccharides, gums ,fructooligosaccharides , indigestible dextrin ,polydextrose และโยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เช่น cellulose ,psyllium husk ,wheat bran, chitosan โยอาหารไม่ให้พลังงานแต่มีประโยชน์ต่อสุขภาพคือ โยอาหารที่ละลายน้ำช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันโรคหัวใจและโรคอ้วน ส่วนโยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจะช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ กระตุ้นให้เกิดการขับถ่าย ป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เสริมโยอาหาร ได้แก่ เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์อาหารเข้าจากธัญพืช

2.2.2.2 Oligosaccharides เป็นน้ำตาลที่มีโมโนแซ็กคาไรด์ประมาณ 10-3 โมเลกุลในโครงสร้าง อาจมาจากพืช สังเคราะห์ขึ้นและหรือย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น Lactulose , fructooligosaccharide ,soybean oligosaccharides, isomaltooligosaccharides , galactooligosaccharides ,xylooligosaccharides ซึ่งสารเหล่านี้จัดเป็นสารพรีไบโอติก ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เสริมด้วยพรีไบโอติก เช่น เครื่องดื่ม ขนมอบเคี้ยว โยเกิร์ต ลูกกวาด หมากฝรั่ง และน้ำตาลสำหรับใส่ชาและกาแฟ พรีไบโอติกมีประโยชน์ช่วยกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกในลำไส้ใหญ่โดยเฉพาะเชื้อ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus*

2.2.2.3 Sugar alcohols ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ xylitol ,lactitol ,maltitol , sorbitol, erythritol และ mannitol เป็นต้น นอกจากมีความหวานซึ่งสามารถเลือกใช้แทนน้ำตาลซูโครสแล้วยังมีพลังงานต่ำและมีคุณสมบัติ non-cariogenicity คือไม่ทำให้ฟันผุเหมือนกับการใช้น้ำตาลทราย จึงนิยมใช้ในขนมหวาน ขนมขบเคี้ยว ลูกกวาด หรือหมากฝรั่ง

2.2.2.4 Peptides and proteins เปปไทด์เป็น โปรตีนสายสั้นที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เช่น casein phosphopeptide)CPP,(casein calcium peptide)CCP(มักใส่ในอาหารที่มีแคลเซียมเพื่อช่วยการดูดซึมแคลเซียม หรือ lactoferrin ช่วยดูดซึมแร่ธาตุเหล็ก หรือ glutamine peptides ที่ช่วยลดความเมื่อยล้าในกล้ามเนื้อหรือ casein dodecapeptide ช่วยลดความดันโลหิต โปรตีนที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เช่น โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง)soy protein concentrate or isolate (โปรตีนจากนม)casein or whey (นิยมใช้ทดแทนส่วนของเนื้อสัตว์ในอาหาร เช่น การทำไส้กรอก เนื้อบดแผ่นหรือเบอร์เกอร์

2.2.2.5 Glycosides ตัวอย่างเช่น flavonoids, saponins, carotenoids, porphyrins, diterpenoids และ triterpenoids สารเหล่านี้ช่วยในการเผาผลาญพลังงาน ควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความดันโลหิต หรือเป็นแอนติออกซิแดนซ์ ส่วนใหญ่สกัดมาจากพืชนำมาเสริมในอาหารต่างๆ เพราะทำหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนซ์จับอนุมูลอิสระ

2.2.2.6 Alcohols ตัวอย่าง เช่น green tea หรือ oolong tea polyphenols ซึ่งเป็นแอนติออกซิแดนซ์ที่มีประสิทธิภาพ ช่วยป้องกันเส้นเลือดอุดตันและช่วยป้องกันมะเร็ง

2.2.2.7 Vitamins วิตามินที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ antioxidant vitamins คือวิตามินซี วิตามินอี และ โปรวิตามินเอหรือเบต้า-แคโรทีน

2.2.2.8 Choline ตัวอย่างได้แก่ phospholipids หรือ lecithin ช่วยการทำงานของสมองช่วยความจำ ช่วยการเผาผลาญไขมัน ป้องกันเส้นเลือดอุดตัน

2.2.2.9 Lactic acid bacteria แบคทีเรียที่สร้างกรดแล็กติกที่นิยมใช้ ได้แก่ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. จัดเป็น โปรไบโอติกหรือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแห้งหรืออัดเม็ด

2.2.2.10 Minerals เกลือแร่ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ได้แก่ เครื่องดื่ม นมและผลิตภัณฑ์นม ขนมขบเคี้ยว ลูกกวาด ขนมอบ

2.2.2.11 Polyunsaturated fatty acids กรดไขมันที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ คือ omega-3 polyunsaturated fatty acids เช่น น้ำมันปลา ซึ่งมี EPA และ DHA เพราะช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด และช่วยการทำงานของสมอง นอกจากนั้นยังมีกรดไขมันอื่นๆ เช่น oleic

acid, gamma linolenic acid, lecithin ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ของหวาน ลูกอม นมผงสำหรับทารก

2.2.2.12 Other: Phytochemicals ,Antioxidants

Phytochemicals สารจากพืช ซึ่งเป็น secondary metabolites ในพืชที่เมื่อบริโภคแล้วจะไปทำหน้าที่บางอย่างในร่างกาย เช่น phytoestrogens ในถั่วเหลืองช่วยป้องกันการสลายแคลเซียมจากกระดูกในผู้หญิงหลังหมดประจำเดือนหรือสาร polyphenols ในใบชาที่ช่วยป้องกันมะเร็ง

Antioxidants สารที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ เช่น vitamin C, E, beta-carotene , coenzyme Q₁₀ ,phytochemicals ซึ่งช่วยป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมากในร่างกาย

ในประเทศสหรัฐอเมริกา bioactive components ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันและมีการรณรงค์ให้บริโภค)Edens (1999 ,ได้แก่

-epigallocatechin gallate)EGCG (สารฟลาโวนอยด์ที่มีมากในใบชาซึ่งสามารถป้องกันมะเร็งและโรคหัวใจ

-genistein และ daidzein ซึ่งเป็น isoflavones ในถั่วเหลืองพบว่าช่วยป้องกันมะเร็งและโรคหัวใจ

-isothiocyanates)ITC (สารนี้มีมากในพืชตระกูลกะหล่ำปลีมีการศึกษาพบว่าช่วยป้องกันมะเร็งในทางเดินอาหารและระบบหายใจในสัตว์ทดลอง

-lycopene เป็นแคโรทีนอยด์ที่มีมากในมะเขือเทศและแตงโม สารนี้อาจช่วยป้องกันมะเร็งและโรคหัวใจ

2.2.3 แนวโน้มการผลิตอาหาร functional foods

จากแนวคิดการผลิต FOSHU ในประเทศญี่ปุ่นที่ผลิตอาหารที่อร่อยพร้อมกับมีสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยป้องกันและรักษาโรคบางชนิดได้ ทำให้มีแนวโน้มที่ประเทศต่างๆ จะผลิตอาหารที่มีสารที่มีประโยชน์ต่อระบบต่างๆ ในร่างกาย โดยมีการแบ่งหน้าที่ต่างๆ ต่อร่างกายเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตัวอย่างสาร functional foods ที่จะได้รับความนิยมในอนาคตและตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการผลิตออกสู่ตลาดแล้ว ได้แก่

2.2.3.1 Digestive aids สารที่จะช่วยการทำงานของระบบทางเดินอาหาร เช่น ลดกรด ป้องกันมะเร็ง ช่วยในการย่อยอาหาร ตัวอย่างได้แก่ 프리ไบโอติก โปรไบโอติก โยเกิร์ต ในทวีปยุโรปมีการใช้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เช่น *Lactobacillus johnsonii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารและอาจเป็นสาเหตุของมะเร็งกระเพาะอาหาร

2.2.3.2 Joint pain/bone strength สารที่ช่วยการทำงานของข้อต่างๆ ช่วยป้องกันข้ออักเสบหรือการบาดเจ็บของข้อจากการออกกำลังกายและสารที่ช่วยให้กระดูกมีความแข็งแรง มีความหนาแน่นดีป้องกันโรคกระดูกพรุน (osteoporosis) (เมื่อเข้าสู่วัยกลางคน เช่น antioxidant vitamins, minerals, amino acids, phytoestrogen ตัวอย่างเช่น บริษัท Nabiso ผลิตภัณฑ์ NutraJoint ช่วยป้องกันข้อเสื่อมโดยมีส่วนประกอบสำคัญ คือ glucosamine, chondroitin sulfate และ gingerols ช่วยป้องกันการอักเสบของข้อ หรือขนมขบเคี้ยว Viactive Soft Calcium Chews มีส่วนประกอบที่ช่วยในการสร้างกระดูก

2.2.3.3 Blood lipids & Heart สารที่ช่วยควบคุมระดับไขมันในเลือดและป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น ช่วยลด LDL หรือป้องกันการเกิด oxidized LDL ที่จะทำให้เกิด plaque เกาะที่ผนังเส้นเลือด ทำให้เส้นเลือดแดงแข็งและเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ เช่น vitamins, omega-3 fatty acids, phytochemicals, soy protein isolate, soluble dietary fiber, chitosan, prebiotics, coenzyme Q₁₀ ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ชื่อ NovaCol ของบริษัท Novartis มีส่วนประกอบที่ช่วยลดระดับไขมันในเลือด เช่น oat beta-glucan, soy isoflavones, vitamin E&C หรือ HeartBar ของบริษัท Cooke Pharma มีกรดอะมิโน L-arginine ที่ช่วยป้องกันการเกิดลิ่มเลือดอุดตันเส้นเลือดเลี้ยงหัวใจ

2.2.3.4 Hormonals menopausal symptoms สารที่ช่วยป้องกันอาการต่างๆ ในผู้หญิงหลังการหมดประจำเดือน soy phytoestrogens, calcium, folate ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเพื่อผู้หญิงโดยเฉพาะได้แก่ Kellogg's special K-Plus, Luna the Cliff Bar, True Rhapsody Bars, Viactiv Soft Calcium Chews, Nature Made Cal Burst, Menopausitive ซึ่งเป็นธัญพืชอาหารเช้า ขนมขบเคี้ยวหรือเครื่องดื่มที่มีสารอาหารที่มีการขาดในผู้หญิง เช่น แคลเซียม เหล็ก วิตามินอี วิตามินบีหก วิตามินบีสิบสอง โฟเลต

2.2.3.5 Weight loss products สารที่ป้องกันไม่ให้อ้วน เช่น fat replacers, dietary fibers, intense sweeteners ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารพลังงานต่ำ ไขมันต่ำ ไม่มีน้ำตาล ตัวอย่างเช่น RC Diet Cola ใช้สารให้ความหวาน Sunett)Ace-K (ร่วมกับ Splenda)sucralose (ซึ่งไม่ให้พลังงานเป็นต้น

2.2.3.6 Allergies สารที่ช่วยป้องกันโรคภูมิแพ้ ได้แก่ antioxidant vitamins, phytochemicals ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มีทั้งเป็นเป็นหมากฝรั่ง ลูกกวาด ชา เช่น ในประเทศญี่ปุ่นมีลูกกวาดชื่อ Kafun Chuiho ของบริษัท Kabaya ช่วยป้องกันอาการแพ้เกสรดอกไม้

2.2.3.7 Mood & Emotion สารที่มีผลต่ออารมณ์ จิตใจและการทำงานของสมอง ได้แก่ caffeine, amino acids, omega-3 fatty acids, sugars, ginseng, ginko, kava kava, St. John's wort, melatonin ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น Brain Gum, High Gear Gum, Buzz Gum เป็นหมากฝรั่งที่มี soy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

phosphatidylserine)*Leci-PS*(หรือสมุนไพรมัน guarana ผลิตภัณฑ์ Attention Bar, AquaCuisine ของบริษัท Campbell เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโอเมก้า 3-เป็นส่วนผสม

2.2.3.8 Cancer สารที่ช่วยป้องกันโรค เช่น มะเร็งที่เต้านมหรือต่อมลูกหมาก ตัวอย่างสารที่นิยมใช้ ได้แก่ antioxidants vitamins, herbal extract, fruit and vegetable extracts, vitamins, minerals ฯลฯ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มี lycopene, lutein หรือมีบรอกโคลีและถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ

2.2.3.9 Gender or age specific สารที่เหมาะสมเฉพาะกับเพศหรือวัยที่แตกต่างกัน เช่น soy phosphoestrogens ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผู้หญิงเป็นประจำเดือน folic acid ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับมารดาที่กำลังตั้งครรภ์ bovine colostrum สำหรับใส่ในนมผงของทารก antioxidant vitamins ใช้ใส่ในอาหารสำหรับผู้สูงอายุ

2.2.3.10 Immunity สารสำหรับกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรค เช่น vitamin C polyunsaturated fatty acids, amino acids, nucleotides, zinc, herbal extracts (Echinacea) ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อช่วยป้องกันหวัด ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ชุปชื่อ Kitchen Prescriptive ของบริษัท Hain's Pure Foods เป็นชุปไก่ที่มีสมุนไพรมัน echinacea หรือโยเกิร์ตยี่ห้อ Actimel บริษัท Danone มีแบคทีเรีย *Lactobacillus casei imunitass* ซึ่งช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานเชื้อโรคในระบบทางเดินอาหาร หรือบริษัท Stolle Milk Biologics Inc. ผลิตเครื่องดื่มที่เสริมด้วยโปรตีนที่สกัดจากนม มีชื่อทางการค้าว่า LactoMun ซึ่งเป็น immunoglobulin) IgG (ช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทาน) Pszczola, 2000(

2.2.3.11 Performance สารที่ให้พลังงาน ทำให้ไม่เพลีย ทำให้กระปรี้กระเปร่า เป็นต้น ใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภท sport or energy products สำหรับนักกีฬา คนที่ไม่ต้องการง่วงนอนขณะทำงาน หรือสำหรับคลายความเครียด สารเหล่านี้ได้แก่ amino acids, protein hydrolysates, complex carbohydrates, electrolytes, ginseng, caffeine ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น Gatorade ของบริษัท Quaker Oats, Surge ของบริษัท Coca-Cola, Propel&Torq ของบริษัท Quaker Oats, Prodiat F200 ของบริษัท Ingredia เป็นเครื่องดื่มประเภท energy products ตัวอย่างประเภทขนมขบเคี้ยว เช่น BalanceBar ของบริษัท Kraft, MarsBar ของบริษัท M&M/Mars หรือ หมากฝรั่ง Stay Alert ของบริษัท Wrigley

2.2.3.12 Appearance สารที่มีผลต่อความสวยงามของผิวหนังหรือผิวหน้า เช่น antioxidant vitamins, phytochemicals, herbal extracts, primrose oil, alovela

2.2.3.13 Dental health ผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน แต่ใช้สารให้รสชาติชนิดอื่นที่ไม่ทำให้ฟันผุ ตัวอย่างเช่น ในประเทศญี่ปุ่นหมากฝรั่งยี่ห้อ XyliFresh ได้รับความนิยมมากเพราะใช้ไซลิทอลซึ่งจุลินทรีย์ในปากไม่สามารถใช้และผลิตรครดที่จะทำให้ฟันผุได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือในประเทศสหรัฐอเมริกาหมากฝรั่งยี่ห้อ BreathAsure Dental Gum มีผลการศึกษาทางการแพทย์สนับสนุนว่าเคี้ยวหมากฝรั่งนี้สองชิ้นภายหลังการรับประทานอาหารจะช่วยลดการเกิดคราบหินปูน (Sloan, 2004)

2.2.4 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร Functional foods

เนื่องจากการติดตามผลเสียที่เกิดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ Functional foods ทำได้ยาก เพราะแต่ละปีจะมีผลิตภัณฑ์ใหม่เข้าสู่ตลาดญี่ปุ่นมากถึง 4,000-3,500 ชนิด โดยทั่วไปบริษัทส่วนใหญ่ จะใช้สารที่มีข้อมูลด้านความปลอดภัยมาเป็นสารผสมผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเป็นสารชนิดใหม่ ผลิตภัณฑ์จะเป็น Novel food ซึ่งบริษัทจะต้องมีเอกสารข้อมูลเป็นหลักฐานที่น่าเชื่อถือได้ถึงความปลอดภัยในการบริโภคแม้บริโภคในปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามแม้ผ่านการรับรองให้นำผลิตภัณฑ์ออกสู่ตลาดได้ การที่คนญี่ปุ่นนิยมบริโภคผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหลากหลายชนิดต่อวัน ก็อาจก่อปัญหาความไม่สมดุลของสารบางชนิดในร่างกายได้ (ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์, 2542) ดังนั้นในการเลือกบริโภคอาหารเหล่านี้จะต้องชั่งน้ำหนักระหว่างผลดีและความเสี่ยง (benefit/risk ratio) ที่อาจเกิดอันตรายจากการบริโภคสารบางชนิดมากเกินไป (overdosage toxicity) จึงกำหนดให้มีการระบุปริมาณที่เหมาะสมที่ควรได้รับต่อวันไว้บนฉลากผลิตภัณฑ์ด้วย เช่น กระเทียมช่วยป้องกันโรคหัวใจหรือมะเร็งได้แต่ขณะเดียวกันการบริโภคที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดเลือดออกในกระเพาะอาหารได้ (Milner, 1998) จึงควรมีการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมที่ควรบริโภคที่จะเกิดประโยชน์และไม่เกิดโทษต่อร่างกาย และหาวิธีการวิเคราะห์ active ingredients ในอาหารตลอดจน biomarkers ในร่างกายภายหลังการบริโภค Functional ingredients ที่มีความถูกต้องและเป็นมาตรฐานที่ยอมรับกันทั่วโลก (Milner, 1999)

2.3 เทคโนโลยีการผลิตพรีไบโอติกทางการค้า

คาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์มีกระดูกสันหลัง รวมถึงมนุษย์สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ (Voragen, 1998) คือ กลุ่มที่ 1 non-starch polysaccharides (NSP) กลุ่มที่ 2 resistant starch (RS) และกลุ่มที่ 3 non-digestible oligosaccharides (NDO) ในปัจจุบันพบว่ามีเพียงคาร์โบไฮเดรตเท่านั้นที่เป็นสารพรีไบโอติก โดยเฉพาะกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ (Gibson และ Roberfroid, 1995; Roberfroid และคณะ, 1998) มีสารพวกโอลิโกแซคคาไรด์อยู่หลายชนิดที่ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ในลำไส้และเมื่ออยู่ในลำไส้ใหญ่แล้วสามารถเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ได้ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของสารพรีไบโอติก (Gibson และ Roberfroid, 1995)

โดยทั่วไปแล้วโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ถึง 10 หน่วยต่อกันด้วยพันธะ *O*-glycosidic แม้ว่าบางครั้งอาจนิยามว่าประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20 หน่วย (Eggleston และ Cote, 2003) โอลิโกแซคคาไรด์ในทางการค้าสามารถผลิตได้โดยการย่อย สารโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) หรือ เกิดจากการเชื่อมต่อกันของน้ำตาลโมเลกุลต่ำโดยอาศัย การทำงานของเอนไซม์ คุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้นี้สามารถทดสอบได้ใน ห้องปฏิบัติการ *in vitro* (เช่น การเลี้ยงเชื้อแบบกะ (batch) และการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง 3 ขั้นตอน (Three-stage continuous) และในมนุษย์หรือสัตว์ (*in vivo*) เช่น สัตว์ทดลอง (animal models) และ ทดลองในมนุษย์ (human clinical trials) สารฟรีไบโอติกกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีการผลิตทาง การค้าในปัจจุบันได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides), กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharides), แลกโตซูโครส (lactosucrose), ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomalto-oligosaccharides), เจนติโอโอลิโกแซคคาไรด์ (gentio-oligosaccharides) และ ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharides) (Rastall, 2000) การผลิตสารฟรีไบโอติกชนิดโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้หลายวิธี คือ

2.3.1. การสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติ

การสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการผลิตสารฟรีไบโอติก ปัจจุบันมีการ ผลิตอินนูลิน (inulin) ในทางการค้าโดยการสกัดจากหัวชิกอรี (chicory root) (De Leenheer, 1994) นอกจากนี้ยังมีการสกัด raffinose และ starchyose จากถั่วเหลือง (Koga และคณะ, 1993) แต่ได้ ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำ

อินนูลินเป็น $\beta 2 \leftrightarrow 1$ linked fructan ที่พบในพืชทั่วไป แหล่งวัตถุดิบทางการค้าในยุโรปคือ หัวชิกอรี โดยโรงงานที่ใหญ่ที่สุดในประเทศเบลเยียมคือบริษัท Orafiti กระบวนการสกัดจากหัว ชิกอรีใช้วิธีเดียวกับกระบวนการสกัดจาก sugar beet (De Leenheer, 1994) หัวชิกอรีถูกสกัดด้วยน้ำ ร้อนและกากขายเป็นอาหารสัตว์ Protein peptides colloids และ phosphates ถูกกำจัดโดยการ liming และ carbonation ในช่วงพีเอชเป็นค่า การตรวจวัดอินนูลินทำได้โดยอาศัย anion และ cation exchange chromatography และทำการกำจัดสีโดยใช้ activated carbon ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ผ่าน การฆ่าเชื้อ ทำให้เข้มข้นและทำให้แห้ง

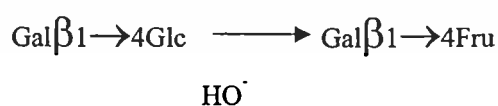
Soybean oligosaccharides (SOS) ได้จากการสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติ โดย SOS จะถูกแยก ออกจาก soybean whey และทำให้เข้มข้นเป็น 75 เปอร์เซ็นต์)โดยน้ำหนักต่อปริมาตร(มีโอลิโกแซคคาไรด์ 35 เปอร์เซ็นต์ (Crittenden และ Playne, 1996) ในทางการค้า SOS ได้จากการสกัดจาก soybean whey โดยใช้ reverse osmosis (RO) และ nanofiltration (NF) membrane ได้โอลิโกแซคคาไรด์ความเข้มข้น 10 และ 22 เปอร์เซ็นต์)โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ตามลำดับ (Matsubara และ คณะ, 1996)

Kim และคณะ (2003) รายงานสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด SOS จาก defatted soybean meal (DSM) คือ สัดส่วนของน้ำต่อ DSM ในการสกัด เท่ากับ 5:1 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยมีการกวนขณะสกัด และไม่จำเป็นต้องบด DSM ก่อน ส่วนสารละลายที่ใช้ในการสกัดคือ 10 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลในน้ำ มีการใช้ ultrafiltration ในการทำให้ SOS บริสุทธิ์ โดยพบว่าโปรตีนมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ถูกกำจัดจากสารสกัดที่ volume concentration ratio (VCR) เท่ากับ 3-5 ในสารสกัดที่ VCR เท่ากับ 5 มี fructose, sucrose, raffinose และ stachyose เท่ากับ 38.6, 51.4, 54.2 และ 52.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ VCR เท่ากับ 5 โปรตีนถูกกำจัดออกมากที่สุด ในประเทศญี่ปุ่น soybean oligosaccharides ผลิตโดยบริษัท Calpis Food Industry Co.

2.3.2. การใช้วิธีทางเคมี

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางเคมี (Garegg, 1990) แต่ขบวนการสังเคราะห์ค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการ protection และ deprotection นอกจากนี้กระบวนการผลิตมีความซับซ้อนมากกว่าและผลิตภัณฑ์ที่ได้มักจะมีกลิ่นและสีที่ไม่ต้องการและจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการกำจัดออก และพบว่าขั้นตอนในการสังเคราะห์จะเพิ่มขึ้นตามขนาดของโอลิโกแซคคาไรด์ โดยในการสังเคราะห์ไดแซคคาไรด์ (disaccharide) จำเป็นต้องใช้ 5-7 ขั้นตอน และในการสังเคราะห์ไตรแซคคาไรด์ (trisaccharide) อาจจะต้องใช้ขั้นตอนในการสังเคราะห์มากกว่า 10 ขั้นตอน นอกจากนี้ยังพบว่าให้ผลผลิตที่ต่ำและการผลิตในระดับอุตสาหกรรมทำได้ยากและยากที่จะให้ได้ผลิตภัณฑ์ตรงตามที่ต้องการ (Bucke 1996; Wong และคณะ, 1995)

Lactulose เป็นพรีไบโอติกชนิดเดียวที่มีการผลิตโดยใช้วิธีทางเคมีมากกว่าใช้กระบวนการทางเอนไซม์ (Timmermans, 1994) เป็นปฏิกิริยา base-catalyzed isomerization ของ glucosyl moiety ที่มีอยู่ใน lactose เพื่อให้เกิด fructose โดยปฏิกิริยาชื่อว่า the Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein ดังแสดงข้างล่าง



ปฏิกิริยาอาจใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือบอเรตเป็นด่างในการเร่งปฏิกิริยา (Battermann, 1997) ในประเทศญี่ปุ่นบริษัท Morinaga Industry เป็นบริษัทที่ใหญ่ที่สุดที่ผลิต lactulose ในขณะที่บริษัท Solvay เป็นบริษัทผลิตที่สำคัญในยุโรป

2.3.3. การใช้วิธีทางเอนไซม์

การผลิตสาร โอลิโกแซคคาไรด์มักจะใช้กระบวนการผลิตโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ ทั้งในกระบวนการย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide hydrolysis) หรือการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide synthesis) การย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์จากแหล่งวัตถุดิบธรรมชาติมีศักยภาพสูงในการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก โดยอาศัยการควบคุมการย่อยสลายบางส่วนเพื่อให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการ ในปัจจุบันมีพรีไบโอติก 2 ชนิดเท่านั้นที่ผลิตทางการค้าด้วยวิธีดังกล่าว คือ fructo-oligosaccharides จากการย่อย inulin (De Leenheer, 1994) และ xylo-oligosaccharides จากการย่อย xylan (Crittenden และ Playne, 1996)

การใช้เอนไซม์ในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อนมีประโยชน์มากกว่าวิธีทางเคมี เนื่องจากมีความหลากหลายของปฏิกิริยาทำให้สามารถทำปฏิกิริยาโดยไม่จำเป็นต้องป้องกัน hydroxyl group และทำได้ในสถานะที่ไม่รุนแรง ซึ่งโดยปกติแล้วทำปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้องและพีเอชเป็นกลาง อีกทั้งไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สารเคมีหรือสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นอันตราย (Rastall และ Bucke, 1992) เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ hydrolases (glycosidases E.C. 3.2) และ transferases (glycosyltransferases E.C. 2.4) เอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากพืชและจุลินทรีย์

อินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตสต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเบต้า 2,1 ที่มีทั้งโอลิโกแซคคาไรด์และพอลิแซคคาไรด์ โดยส่วนใหญ่แล้วมักจะเป็นสายของฟรุคโตสและมีโครงสร้างเป็น GF_n โดย G คือ หน่วยน้ำตาลกลูโคส F คือ หน่วยน้ำตาลฟรุคโตสและ $n =$ จำนวนของหน่วยน้ำตาลฟรุคโตสที่เชื่อมกัน (De Leenheer และ Hoebregs, 1994) อินนูลินจากหัวชิกอริในธรรมชาติประกอบด้วยฟรุคโตสต่อกันตั้งแต่ 2 หน่วยจนถึงมากกว่า 60 หน่วย ซึ่งค่าระดับการเกิดพอลิเมอร์ (DP) มีค่าอยู่ในช่วง 10 ถึง 12 Raftiline HP เป็นอินนูลินทางการค้าจากบริษัท Orafiti (Tienen, Belgium) มีค่า DP เฉลี่ยประมาณ 25 ส่วน โอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) ที่ได้จากอินนูลินมีสาย GF_n และ F_n และมีจำนวนของหน่วยฟรุคโตสอยู่ในช่วง 2 ถึง 9 ในขณะที่โอลิโกฟรุคโตสที่ผลิตจากซูโครสมีเพียงสาย GF_n ที่มีหน่วยฟรุคโตสระหว่าง 2 ถึง 4 (Bornet, 1994; De Leenheer และ Hoebregs, 1994)

ฟรุคแตน (Fructans) เป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตสต่อกันเป็นสายโซ่ยาวและพบมากในธรรมชาติทั้งในพืชต่างๆไปและในแบคทีเรียและราบางชนิด พืชที่พบอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสในปริมาณสูงได้แก่ พืชตระกูล Liliales เช่น ลีค (leek) หอม กระเทียมและหน่อไม้ฝรั่งหรือพวก compositae เช่น Jerusalem artichoke ดอกกรักเร่ (dahlia) yacon และ หัวชิกอริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โอลิโกฟรุกโตสสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือผลิตโดยใช้เอนไซม์ย่อยอินนูลินจากหัวชิกอริ (endo-inulinase) ตามด้วยการทำให้แห้งด้วยการ spray-drying วิธีนี้ผลิตโดยบริษัท Orafiti ในขณะที่บริษัท BMI (ประเทศฝรั่งเศส) สังเคราะห์โอลิโกฟรุกโตสจากซูโครสโดยใช้ fructosyltransferase (Bornet, 1994) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกฟรุกโตสสายสั้นมีสูตรโครงสร้างเป็น $\text{Glu } \alpha\text{-1-2}[\beta \text{ Fru } 1\text{-2}]_n$ เมื่อ $n = 2\text{-}9$ โอลิโกแซคคาไรด์ชนิดนี้เป็นสารพรีไบโอติกที่สำคัญเพราะมีการผลิตในปริมาณมากและมีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี (Crittenden และ Playne, 1996) พบว่าอย่างน้อย 88 เปอร์เซ็นต์ของอินนูลินและโอลิโกฟรุกโตสสามารถต้านการย่อยด้วยเอนไซม์ในน้ำลายและในลำไส้เล็กระบบทางเดินอาหารมนุษย์ทำให้สามารถไปถึงลำไส้ใหญ่ได้ (Cummings and Macfarlane, 2002; Ellegard และคณะ, 1997)

FOS ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์ ทำให้สามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่และเกิดการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอยู่ในลำไส้ใหญ่ การศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของ FOS มีทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ (เช่น การเลี้ยงเชื้อแบบกะและแบบต่อเนื่อง) และการทดลองโดยให้มนุษย์บริโภคหรือให้สัตว์กิน (Wang และ Gibson, 1993; Djouzi และ Andrieux, 1997; Bouhnik และคณะ, 1999)

2.4 การย่อยคาร์โบไฮเดรตในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์

ส่วนต่างๆ ของระบบทางเดินอาหารมนุษย์ ทางเดินอาหารมนุษย์มีส่วนต่างๆ ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตและหน้าที่ของส่วนนั้น ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังต่อไปนี้

ปาก (mouth) ปากของคนประกอบด้วย ริมฝีปาก ช่องแก้ม ช่องปาก ต่อมน้ำลาย ลิ้น และ ฟัน

คอหอย (pharynx) เป็นท่อที่อยู่ระหว่างด้านหลังของช่องปากและหลอดลม อาหารและลมหายใจพบกันตรงนี้ ช่องคอหอยแบ่งออกเป็น 3 ตอน คือ nasopharynx oropharynx และ laryngopharynx

หลอดอาหาร (oesophagus) ของคนยาวประมาณ 9-10 นิ้วเศษ ส่วนแรกเป็นกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนสุดท้ายเป็นกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนตรงกลางมีทั้งสองอย่าง มีหน้าที่รับอาหารจากคอหอยให้ผ่านลงไปสู่กระเพาะอาหาร โดยการบีบรัดตัวของผนังกล้ามเนื้อ

กระเพาะอาหาร (stomach) เป็นส่วนของทางเดินอาหารที่ใหญ่ที่สุดมีลักษณะเป็นถุงขนาด 5×10 นิ้ว กระเพาะแบ่งเป็น 3 ส่วนตามลักษณะของเยื่อที่อยู่ข้างในคือ cardius fundus และ pylorus ในกระเพาะอาหารมีกรดเกลือเข้มข้นประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ น้ำเมือก (mucin) สำหรับหล่อลื่นและน้ำย่อยอาหาร เช่น pepsin และ rennin ซึ่งย่อยอาหารพวกโปรตีน

ลำไส้เล็ก (small intestine) ยาวประมาณ 20 ฟุต กว้าง 1 นิ้ว แบ่งออกได้เป็น 3 ตอน คือ duodenum (ยาวประมาณ 10-12 นิ้ว) jejunum (ยาวประมาณ 8-9 ฟุต) และ ileum (ยาวประมาณ 12-13 ฟุต)

ลำไส้ใหญ่ (large intestine) ยาวประมาณ 5 ฟุต กว้าง 2.5 นิ้ว แบ่งออกเป็น 4 ส่วนคือ caecum (ช่วงต่อระหว่างลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่) colon (ช่วงที่ยาวที่สุดของลำไส้ใหญ่ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ ลำไส้ตั้งตรงด้านซ้ายหรือที่เรียกว่า proximal ลำไส้ตรงแนวราบหรือที่เรียกว่า transverse และลำไส้ตั้งตรงด้านขวาหรือที่เรียกว่า distal rectum และ anal canal

ระยะเวลาที่อาหารเคลื่อนที่อยู่ในส่วนต่างๆ ของระบบทางเดินอาหาร หลังจากกลืนอาหาร อาหารจะเคลื่อนไปยังกระเพาะอาหารและใช้เวลา 2-3 ชั่วโมงอยู่ในกระเพาะอาหาร อาหารเคลื่อนที่จนถึงลำไส้เล็กส่วน ileum ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง และเคลื่อนที่มาถึงลำไส้เล็กส่วน caecum โดยใช้เวลา 5.5 ชั่วโมง ก่อนจะเคลื่อนไปยัง colon ส่วนต่างๆ กล่าวคือเคลื่อนมาถึงบริเวณ hepatic flexure ใช้เวลา 6.5 ชั่วโมง ถึงบริเวณ splenic flexure ใช้เวลา 9.5 ชั่วโมง และเคลื่อนมาถึง sigmoid colon ใช้เวลา 12 ชั่วโมง อาหารจะเคลื่อนที่อย่างช้าๆ อยู่ใน colon ส่วนต่างๆ นี้อีกประมาณ 10-20 ชั่วโมง จึงจะเกิดแรงบีบ (propulsive movement) เพื่อให้กากอาหารเคลื่อนที่จาก transverse colon ไปยัง distal (descending) colon และ sigmoid colon ดังนั้นหลังจากมนุษย์กินอาหาร อาหารจะเคลื่อนที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารซึ่งใช้เวลาประมาณ 50-60 ชั่วโมง

2.5 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด โอลิโกแซคคาไรด์จากผลแก้วมังกร
2. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเนื้อของผลแก้วมังกรส่วนที่บริโภคได้
3. เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อการย่อยด้วยกรดในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารมนุษย์
4. เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในสภาวะจำลองของลำไส้เล็กมนุษย์
5. เพื่อศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม โพรไบโอติกบางสายพันธุ์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุ

3.1.1.1 แก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวนำเข้าจากประเทศเวียดนามซึ่งเป็นของบริษัท Hoang Hau Dragon Fruit และแก้วมังกรพันธุ์ไทยเนื้อสีแดงซื้อจากตลาดสด จังหวัดชุมพร

3.1.1.2 ถุงผ้าขาวบางขนาด 23×14 ซม.

3.1.1.3 ถุงพลาสติกขนาด 23×16 ซม.

3.1.1.4 หลอดหยดเนื้อเยื่อพลาสติกขนาดความจุ 13 มล.

3.1.1.5 หลอดหยดเนื้อเยื่อพลาสติกขนาดความจุ 50 มล.

3.1.1.6 แผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน

3.1.1.7 วัสดุสำหรับดูดจ่ายสารละลายปริมาตรน้อย (tip) ขนาดต่างๆ

3.1.1.8 ซองสร้างแก๊สในสภาวะไร้อากาศ (anaerobic gas pack) ยี่ห้อ Oxoid ประเทศอังกฤษ

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Spectronic Educator

3.1.2.2 เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 และคอลัมน์ Zorbax Carbohydrate ขนาด 4.6×150 มม. 5 ไมครอน

3.1.2.3 เครื่อง GPC ยี่ห้อ Waters รุ่น 600E และคอลัมน์ Ultrahydrogel 120 (คัดแยกสารที่มีมวลโมเลกุลในช่วง 100-5,000) และ Ultrahydrogel linear (คัดแยกสารที่มีมวลโมเลกุลในช่วง 1,000-20,000,000)

3.1.2.4 อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Haake รุ่น W46

3.1.2.5 เครื่องระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ Buchi รุ่น Rotavapor R-215

3.1.2.6 ชุดกรองพร้อมปั๊มสุญญากาศ ยี่ห้อ Millipore รุ่น WP 6222050

3.1.2.7 อุปกรณ์วัดความหวาน ยี่ห้อ N.O.W รุ่น Tokyo

3.1.2.8 อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลายปริมาตรน้อย (micropipette) ขนาดต่างๆ ยี่ห้อ TreffLab

3.1.2.9 อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลายขนาด 50 มล. ยี่ห้อ Biohit รุ่น Proline

3.1.2.10 นาฬิกาจับเวลา ยี่ห้อ Citizen รุ่น QT9017-A

3.1.2.11 เครื่องตีผสมอาหาร ยี่ห้อ Seward รุ่น 400 Circulator

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 เอนไซม์อะฟาอะมัยเลสจากน้ำลายมนุษย์ ของบริษัท Sigma-Aldrich Co., Ltd.

3.1.3.2 อินนูลิน เกรดวิเคราะห์ของบริษัท Sigma-Aldrich Co., Ltd.

3.1.3.3 ชุดสารโพลิโกแซคคาไรด์มาตรฐาน ของบริษัท Sigma-Aldrich Co., Ltd.

3.1.3.4 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยเป็นของบริษัท Sigma-Aldrich Co., Ltd. ถ้าไม่ระบุเป็นอย่างอื่น

3.1.3.4.1 สารเคมีใช้สำหรับการหากิจกรรมเอนไซม์

ก. สำหรับการหากิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase จากน้ำลายของมนุษย์ บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ

โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (20 มิลลิโมลาร์) ที่มีส่วนผสมของโซเดียมคลอไรด์ (6.7 มิลลิโมลาร์, Merck) เตรียมจากโซเดียมไดไฮโดรเจนอโทรฟอสเฟต (NaH_2PO_4 , BDH) และโซเดียมคลอไรด์ (Merck) ในน้ำกลั่น ปรับพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 4, 5, 6, 7 และ 8 ด้วย 1M โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck) หรือกรดไฮโดรคลอริก (Merck) เข้มข้น 1 โมลาร์

ข. สารละลายตัวอย่างสกัดจากแก้วมังกร 1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (สารละลายในข้อ ก.)

ค. สารละลายโพแทสเซียมโซเดียมทาเตรต

เตรียมจากการละลายโพแทสเซียมโซเดียมทาเตรต ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$) 12.0 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแก่สารละลายโดยใช้เครื่องกวนสารละลายขณะให้ความร้อน (Hot plate stirrer) แต่ต้องไม่ทำให้สารละลายเดือด

ง. สารละลาย 3, 5-Dinitrosalicylic acid (DNS, Fluka) เข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแก่สารละลายโดยใช้เครื่องกวนสารละลายขณะให้ความร้อน (Hot plate stirrer) แต่ต้องไม่ทำให้สารละลายเดือด

จ. สารละลายให้สี (Color reagent) สำหรับหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เตรียมโดยเติมสารละลายในข้อ ค. ลงในสารละลายในข้อ ง. อย่างช้าๆ ขณะกวน เจือจางสารละลายเป็น 40 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องปกติเก็บได้นาน 6 เดือน

ฉ. สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0.2%

เตรียมได้จากกลูโคส (Fisher Scientific) เข้มข้น 0.2% โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเกรดวิเคราะห์

ช. สารละลายเอนไซม์อะฟาอะมัยเลส (human salivary α -amylase)

เตรียมและใช้ทดลองทันที สารละลายเอนไซม์บริสุทธิ์ที่แยกได้จากน้ำลายของมนุษย์ นำมาเตรียมเป็นสารละลายด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เย็นที่ระดับพีเอชต่างๆ คือ 4, 5, 6, 7 และ 8

3.1.3.4.2 สารเคมีใช้สำหรับการทดลองความคงตัวในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์

3.1.3.4.2.1 ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) โซเดียมคลอไรด์ 8;; โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl, BDH) 0.2;; ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟตไดไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, BDH) 8.25;; โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (NaH_2PO_4 , BDH) 4.35;; แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Ajax Finechem) 0.1 ;; แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Carlo Erba) 0.18, ปรับสารละลายบัฟเฟอร์เป็นพีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลาร์ (Korakli และคณะ, 2002)

3.1.3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.5.1 MRS broth ของบริษัท Merck Co., Ltd. ประเทศเยอรมนีประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) เปปโตน, 10; ผง Lab-Lemco, 8.0; ยีสต์สกัด, 4.0; กลูโคส, 20.0; ซอบิทอลโมโนโอเลอเทอ, 1 มิลลิกรัม; ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต, 2.0; โซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต, 5.0; ไตรแอมโมเนียมซิเตรต, 2.0; แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต, 0.2; แมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต 0.05, ปรับพีเอชเป็น 6.2 ± 0.2 ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อในข้อ. 3.1.3.6.2

3.1.3.5.2 Rogosa SL Agar ของบริษัท Difco ประเทศสหรัฐอเมริกาประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) ทริปโตน 10.0, ยีสต์สกัด 50.0, กลูโคส 10.0, อะราบิโนส 5.0, แซคคาโรส 5.0, โซเดียมอะซิเตต 15.0, แอมโมเนียมซิเตรต 2.0, โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต 6.0, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.57, แมงกานีสซัลเฟต 0.12, เฟอร์รัสซัลเฟต 0.03, โพลีซอเบส 80 1.0, ผงวุ้น 15 ปรับพีเอชเป็น 5.4 ± 0.2 ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อในข้อ. 3.1.3.6.2

3.1.3.5.3 Reinforced Clostridium Medium ของบริษัท Oxoid Co., Ltd. ประเทศอังกฤษ ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) ยีสต์สกัด 3.0, ผง Lab-Lemco 10.0, เปปโต 10, กลูโคส 5.0, แป้งชนิดละลายได้ (soluble starch, 1.0) โซเดียมคลอไรด์ 5.0, โซเดียมอะซิเตต 3.0, ซิสเตรินไฮโดรคลอไรด์ 0.5, ผงวุ้น 0.5 ปรับพีเอชเป็น 6.8 ± 0.2 ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อในข้อ. 3.1.3.6.1

3.1.3.6 จุลินทรีย์

3.1.3.6.1 *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 702715 จากศูนย์รักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ประเทศอังกฤษในรูปแบบผงเชื้อแห้ง (lyophilized)

3.1.3.6.2 *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 จากศูนย์รักษาสาขาสวนผึ้งจุลินทรีย์ประเทศไทยในรูปแบบเชื้อแห้ง

3.1.3.7 สารสกัดจากแก้วมังกร

นำผลแก้วมังกรขังน้ำหนัก ล้างทำความสะอาดและผ่าด้วยมีดแบ่งเป็น 4 ส่วน ปอกส่วนเปลือกออก นำเปลือกและเนื้อมาขังน้ำหนักอีกครั้งเพื่อคำนวณปริมาณเปอร์เซ็นต์เนื้อ นำส่วนเนื้อมาบรรจุในถุงผ้า 2 ชั้นและถุงพลาสติก 1 ชั้น ครั้งละประมาณ 100 มิลลิลิตร เข้าเครื่องตีผสมอาหาร ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที นำมาบีบคั้นให้ได้ส่วนที่เป็นของเหลวเมื่อกลีขาวขุ่น กรณีแก้วมังกรขาวและสีแดงชมพูกรณีแก้วมังกรแดง ส่วนเมล็ดแก้วมังกรซึ่งมีสีดำจะติดอยู่ด้านในของถุงผ้าสามารถแยกออกได้ ตัวอย่างน้ำสกัดแก้วมังกรที่ได้จะมีความหนืดสูงซึ่งจะนำไปตกตะกอนแยกโพลิโกแซคคาไรด์ในขั้นต่อไป

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 วิธีวิจัย

3.2.1.1 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) ด้วยวิธีฟินอล-ซัลฟิวริก เตรียมสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นเหมาะสม ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมฟินอลเข้มข้น 5% ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว โดยปล่อยกรดลงไปทีผิวหน้าของของเหลวโดยตรง ตั้งหลอดทดลองของสารผสมนี้ไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเขย่าแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก รูปที่ 1) เพื่อหาความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในรูปแบบของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง (Dubois และคณะ, 1956)

3.2.1.2 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยวิธีดีเอ็นเอส

ดูดสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (1 มิลลิลิตร) ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายดีเอ็นเอสปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาทีและวางหลอดทดลองบนน้ำแข็งนานประมาณ 2 นาที เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก รูปที่ 2) เพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปแบบของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง

3.2.1.3 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลด้วยเครื่อง HPSEC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างโพลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการสกัดและทำให้บริสุทธิ์โดยด้วยวิธีต่างๆ นำมาผ่านการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและนำไปทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dry) นำมาเตรียมเป็นสารละลายความเข้มข้น 1% กรองด้วยกระดาษกรองที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของรูเป็น 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำมาฉีดเข้าคอลัมน์ด้วยปริมาตร 20 ไมโครลิตร คอลัมน์นี้ใช้เป็นชนิดคัดแยกสารตามน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งต่อกับเครื่อง HPLC ใช้ตัวตรวจวัด (detector) เป็นชนิดวัดการหักเหของแสง (refractive index) คอลัมน์ที่ใช้คือ Ultrahydrogel 120 (คัดแยกสารที่มีมวลโมเลกุลในช่วง 100-5,000) และ Ultrahydrogel linear (คัดแยกสารที่มีมวลโมเลกุลในช่วง 1,000-20,000,000) อย่างละ 1 คอลัมน์มาต่อกัน อัตราการไหลของตัวอย่างเป็น 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ 0.1 โมลาร์โซเดียมไนเตรตเป็นตัวพา อุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 30 องศาเซลเซียส น้ำหนักโมเลกุลของสารหาได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก รูปที่ 3) โดยใช้พอลูกลูแลน มอลโตเฮปตะโอสและกลูโคส ที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลเป็นสารมาตรฐาน

3.2.1.4 การหาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็ง ถูกนำมาเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1% กรองด้วยแผ่นกรองขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำมาฉีดในปริมาตร 10 ไมโครลิตรเข้าคอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ชื่อ Zorbax Carbohydrate ขนาด 4.6×150 มม. 5 ไมครอน ที่มีตัวตรวจวัดเป็นชนิดวัดการหักเหของแสง อัตราการไหลของตัวอย่างเป็น 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้น้ำและอะซิโตนไนไตรท์ในอัตราส่วน 25:75 เป็นตัวพา อุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 35 องศาเซลเซียส ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลหาได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส โดยชนิดของน้ำตาลหาได้จากค่า retention time และความเข้มข้นของน้ำตาลหาได้จากพื้นที่ใต้พีคของโครมาโตแกรม (ภาคผนวก รูปที่ 4)

3.2.1.5 การแยกและการทำบริสุทธิ์โพลิโกแซคคาไรด์

ตัวอย่างน้ำแก้วมังกรชนิดหลังผ่านการแยกเมล็ดแล้ว นำมาตกตะกอนด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ กรณีการตกตะกอนด้วย 80% เอทานอลโดยใช้อัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำแก้วมังกรเท่ากับ 2:1 โดยปริมาตร ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงในที่เย็น (4 องศาเซลเซียส) นำมาปั่นเหวี่ยงแยกที่ 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตะกอนที่ได้นำมาตกตะกอนซ้ำด้วยเอทานอล 80% อีกครั้ง ตะกอนที่ได้นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นสุญญากาศชนิดหมุน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 100 มิลลิบาร์ อัตราการหมุน 100 รอบต่อนาที แล้วจึงนำตะกอนเข้มข้นไปทำแห้งแบบแช่แข็ง

3.2.1.6 การหากิจกรรมเอนไซม์อะฟาอะมัยเลส

ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ตามวิธีมาตรฐานของบริษัท Sigma-Aldrich Co., Ltd สำหรับ การทดสอบเอนไซม์ α - amylase (E C.3.2.1.1) โดยเตรียมสารละลายเอนไซม์เข้มข้น 2 ยูนิตต่อ มิลลิลิตรด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (20 มิลลิโมลาร์) ในโซเดียมคลอไรด์ (6.7 มิลลิโมลาร์) ที่ ระดับพีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 สารละลายตัวอย่างโอลิโกแซคคาไรด์ เตรียมที่ความเข้มข้น 1% ใน สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ นำสารละลายเอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายให้สี (สาร จ. ในข้อ 3.1.3.4.1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยุดปฏิกิริยาโดยการต้มใน น้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปแช่ในน้ำแข็งและเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมและวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ชูดควบคุมใช้ตัวอย่างผสมเอนไซม์และหยุดปฏิกิริยาทันทีโดยการ ต้ม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยหาได้เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก รูปที่ 2) เปอร์เซ็นต์การย่อยคำนวณจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น (Doyle และคณะ, 1999)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การย่อย (\%)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด}}$$

3.2.1.7 การทดสอบความคงตัวในสภาวะกรดกระเพาะอาหารจำลอง

เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ 1% โดยละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง นำตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย จ. ในข้อ 3.1.3.4.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปต้ม ในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปแช่ในน้ำแข็งและเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมและวัดค่า การดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยหาได้เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เปอร์เซ็นต์การย่อยคำนวณจากสมการต่อไปนี้ (Korakli และคณะ, 2000)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การย่อย (\%)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด}}$$

3.2.1.8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ค่าความแตกต่างทางสถิติคำนวณโดยใช้ paired t-tests โดยพิจารณาการกระจายข้อมูลแบบ two-tailed distribution ระดับความแตกต่างใช้ที่ระดับ 99% และ 95% ถ้า $P < 0.01$ และ $P < 0.05$ ตามลำดับ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 13

3.2.2 ขั้นตอนการวิจัย

3.2.2.1 การเปรียบเทียบวิธีสกัดและการทำบริสุทธิ์

3.2.2.1.1 การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง

นำแก้วมังกร 2 สายพันธุ์คือ พันธุ์ที่มีเนื้อสีขาวและพันธุ์ที่มีเนื้อสีแดง มาปอกเปลือก แยกส่วนเนื้อนำมาทำให้ละเอียดและวัดปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำใส่บีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นอุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร กวนผสมและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองด้วยถุงผ้าและเข้าเครื่องตีผสมอาหาร นำสารสกัดมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและทำแห้งด้วยวิธี freeze dry ตัวอย่างผงแห้งนำมาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข้อ 3.2.1.2) และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (ข้อ 3.2.1.1)

3.2.2.1.2 การสกัดด้วยน้ำร้อน

นำแก้วมังกร 2 สายพันธุ์คือ พันธุ์เวียดนามที่มีเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยที่มีเนื้อสีแดง มาปอกเปลือก แยกส่วนเนื้อนำมาทำให้ละเอียดและวัดปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำใส่บีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตรและเติมน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 ± 5 องศาเซลเซียส ปริมาตร 200 มิลลิลิตร กวนผสมและทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองด้วยถุงผ้าและเข้าเครื่องตีผสมอาหาร นำสารสกัดมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและทำแห้งด้วยวิธี freeze dry ตัวอย่างผงแห้งนำมาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

3.2.2.1.3 การสกัดด้วย 20%เอทานอล

นำแก้วมังกร 2 สายพันธุ์คือ พันธุ์เวียดนามที่มีเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยที่มีเนื้อสีแดง มาปอกเปลือก แยกส่วนเนื้อนำมาทำให้ละเอียดและวัดปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำใส่บีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตรและเติมเอทานอลเข้มข้น 20% ปริมาตร 400 มิลลิลิตร กวนผสมและทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองด้วยถุงผ้าและเข้าเครื่องตีผสมอาหาร นำสารสกัดมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและทำแห้งด้วยวิธี freeze dry ตัวอย่างผงแห้งนำมาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

3.2.2.1.4 การสกัดด้วย 80%เอทานอล

นำแก้วมังกร 2 สายพันธุ์คือ พันธุ์เวียดนามที่มีเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยที่มีเนื้อสีแดง มาปอกเปลือก แยกส่วนเนื้อนำมาทำให้ละเอียดและวัดปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำใส่บีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตรและเติมเอทานอลเข้มข้น 80% ปริมาตร 400 มิลลิลิตร กวนผสมและทิ้งไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองด้วยถุงผ้าและเข้าเครื่องตีผสมอาหาร นำมาปั่นเหวี่ยงแยกที่ 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารสกัดมาทำเข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและทำแห้งด้วยวิธี freeze dry ตัวอย่างผงแห้งนำมาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

3.2.2.2 การทดสอบความคงตัวในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารของมนุษย์

ตัวอย่าง โอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวซึ่งผ่านการทำบริสุทธิ์ บางส่วนโดยวิธีการตกตะกอนด้วย 80%เอทานอลด้วยปริมาตรเอทานอล 2 เท่าของปริมาตรน้ำแก้วมังกร หลังผ่านการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง นำมาทดสอบความคงตัวในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์) กรดเกลือไฮโดรคลอริก (ที่ระดับพีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 เปรียบเทียบกับตัวอย่างแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์และเปรียบเทียบกับตัวอย่างอินนูลินซึ่งเป็นฟรีไบโอติกทางการค้า เตรียมสารละลายตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1% โดยใช้ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 ใส่ในหลอดพลาสติกขนาดความจุ 13 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรที่แต่ละระดับพีเอช 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างครั้งละ 1 มิลลิลิตร ที่เวลาต่างกันดังนี้ 0, 30 นาที, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง มาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.2.2.3 การทดสอบการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase

ตัวอย่าง โอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวซึ่งผ่านการทำให้บริสุทธิ์ บางส่วนโดยวิธีการตกตะกอนด้วย 80%เอทานอล หลังผ่านการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง นำมาทดสอบการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase ซึ่งพบในระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ในบริเวณปาก ซึ่งมีความจำเพาะต่อคาร์โบไฮเดรต เตรียมสารละลายตัวอย่าง 3 ชนิด คือ โอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกรที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ สารสกัดจากแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และอินนูลินซึ่งเป็นฟรีไบโอติกทางการค้าใช้เป็นชุดเปรียบเทียบ เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดพลาสติกความจุ 13 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอนไซม์ α -amylase เข้มข้น 2 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ นาน 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างครั้งละ 1 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 30 นาที, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง มาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.2.2.4 การทดสอบความสามารถต่อการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก

เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์คือ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 และ *Bifidobacterium bifidum* 702715 อยู่ในรูปผงแห้ง เตรียมเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ MRS broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ Reinforce Clostridial Medium บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศโดยใช้ gas pack เพื่อกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ให้พร้อมสำหรับการทดลอง

นำแบคทีเรีย *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 เลี้ยงใน MRS broth เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับให้มีจำนวนเชื้อประมาณ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อทำการทดสอบกับสารสกัดจากแก้วมังกร จากนั้นเติม inoculum ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ผสมสารสกัดจากแก้วมังกรหรืออินนูลิน 1 มิลลิลิตร (เข้มข้น 1%) กับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีโดยใช้ haemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า หาค่าเฉลี่ยจาก 15 field และนำมาคำนวณความเข้มข้นของเชื้อในหน่วย เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อเปรียบเทียบการส่งเสริมการเจริญของตัวอย่างที่ทดสอบทั้ง 3 ชนิด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

นำแบคทีเรีย *Bifidobacterium bifidum* 702715 เลี้ยงใน Reinforce Clostridial medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับให้มีจำนวนเชื้อประมาณ 10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร เพื่อทำการทดสอบ กับสารสกัดจากแก้วมังกร จากนั้นเติม inoculum ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Reinforce Clostridial medium ที่มีสารสกัดจากแก้วมังกรหรืออินนูลิน 1 มิลลิลิตร (เข้มข้น 1%) กับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร 4 มิลลิลิตร การเลี้ยงจะใช้ vial ปลอดเชื้อขนาด 10 มิลลิลิตร เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมตัวอย่างที่ทดสอบที่ปลอดเชื้อและพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและปิดฝา vial ที่มี seal ยางปิด ทึด inoculum ปริมาตร 1 มิลลิลิตรผ่าน seal ยางด้วยเข็มฉีดยาที่ปลอดเชื้อ นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศ จากนั้นนำมานับจำนวนเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ haemocytometer เช่นเดียวกับข้างต้น ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

บทที่ 4

ผลและการวิจารณ์ผลการวิจัย

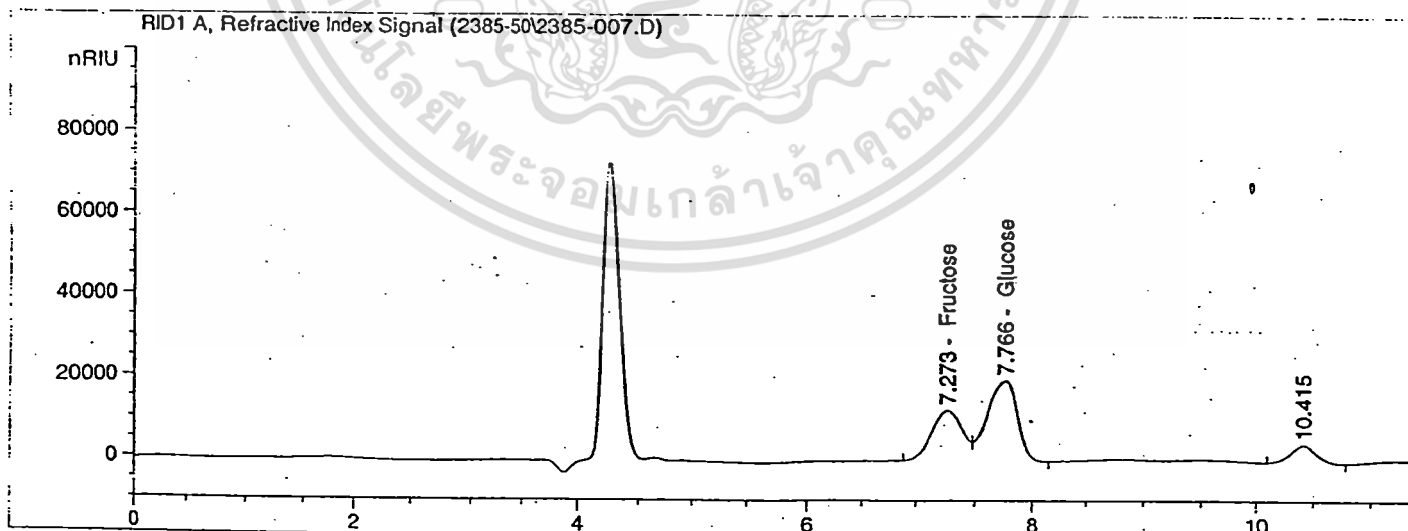
4.1 การสกัดและการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์

ผลแก้วมังกรมีหลายสายพันธุ์แต่ที่ใช้ในการวิจัยนี้มี 2 สายพันธุ์ คือ แก้วมังกรพันธุ์เวียดนาม เนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยเนื้อสีแดง คุณลักษณะบางประการของแก้วมังกรแต่ละสายพันธุ์ดังแสดงในตารางที่ 1 พันธุ์เนื้อขาวซึ่งมีรูปร่างทรงรี ขนาดผลใหญ่กว่าพันธุ์เนื้อแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยมีความยาว 134.0 ± 5.0 และ 127.0 ± 5.5 ซม. ตามลำดับ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 94.0 ± 9.0 และ 66.0 ± 4.0 ซม. ตามลำดับ ทำให้แก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวมีปริมาณเนื้อต่อผลสูงกว่าแก้วมังกรพันธุ์ไทยเนื้อสีแดงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) โดยพบว่ามีน้ำหนักเนื้อ 305.0 ± 75.0 และ 215.0 ± 35.0 กรัม ตามลำดับ สำหรับคุณลักษณะความหวานของเนื้อแก้วมังกรแดงพบว่ามีความสูงกว่าแก้วมังกรขาวอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาความหวานในเชิงคุณภาพซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีอยู่ในเนื้อแก้วมังกรพบว่า สารประกอบคาร์โบไฮเดรตซึ่งได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส ส่วนที่เหลือเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าองค์ประกอบของน้ำตาลแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกันตามสายพันธุ์ กล่าวคือ แก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อขาวมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำกว่าพันธุ์ไทยเนื้อแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ในทางกลับกันแก้วมังกรเนื้อสีขาวมีปริมาณน้ำตาลฟรุกโตสสูงกว่าเนื้อสีแดงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ สำหรับปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์พบว่าพันธุ์ไทยเนื้อสีแดง (89.55 ± 0.76 กรัมต่อ กิโลกรัม) มีปริมาณสูงกว่าพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาว (86.22 ± 0.93) เพียงเล็กน้อย ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ จากคุณสมบัติที่กล่าวมาพบที่มีความสอดคล้องกับความนิยมของผู้บริโภคโดยทั่วไปที่นิยมบริโภคแก้วมังกรเนื้อสีขาวเนื่องจากปริมาณเนื้อสูงกว่าและราคาถูกกว่า อย่างไรก็ตามผู้บริโภคบางกลุ่มกลับนิยมแก้วมังกรเนื้อสีแดงเนื่องจากรสชาติที่หวานกว่าและเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่า

ตารางที่ 4.1 คุณลักษณะบางประการของแก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยเนื้อสีแดง

คุณลักษณะ	พันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาว	พันธุ์ไทยเนื้อสีแดง
ขนาดของผล (ซม.) [*]		
ความยาว	134.0±5.0a	127.0±5.5b
เส้นผ่าศูนย์กลาง	94.0±9.0a	66.0±4.0b
น้ำหนักของผล (กรัม) [*]		
น้ำหนักเนื้อ	305.0±75.0a	215.0±35.0b
น้ำหนักเปลือก	100.0±30.0a	75.0±25.0b
ความหวาน (องศาบริกซ์) [*]	12.5±0.55a	14.75±0.75b
ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อกิโลกรัม) ^{**}		
กลูโคส	353.18±0.74a	401.41±1.27b
ฟรุกโตส	237.57±0.84a	157.87±0.32b
โพลิไกลเซอไรด์	86.22±0.93a	89.55±0.76a

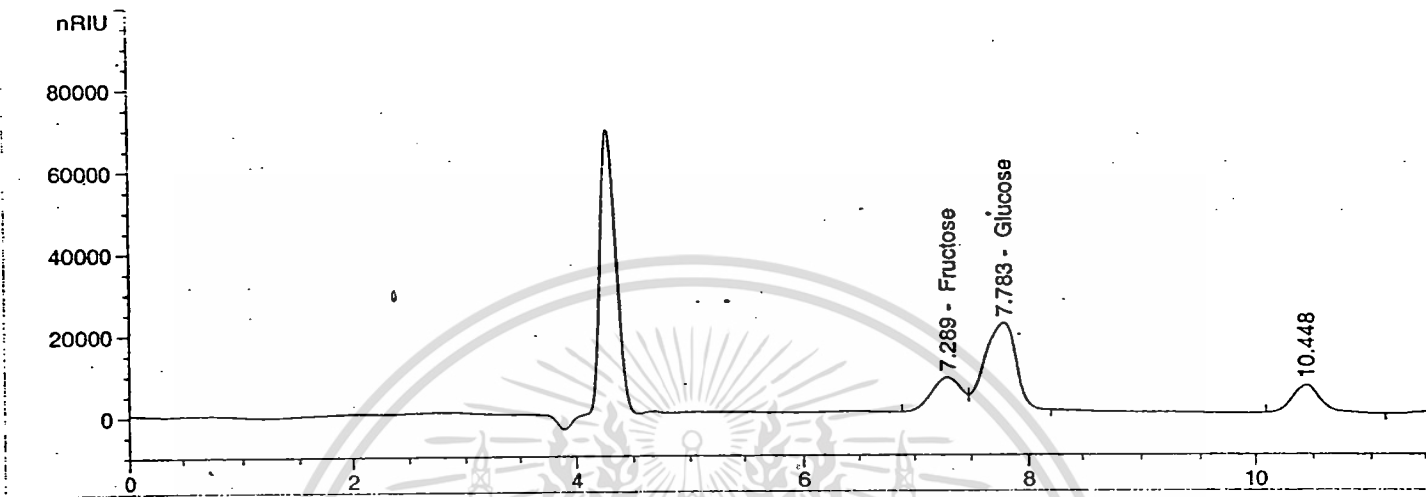
^{*} ค่าเฉลี่ยของ 15 ผล; ^{**} ค่าเฉลี่ยของ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



รูปที่ 4.1 ชนิดและปริมาณน้ำตาลที่พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาววิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

RID1 A, Refractive Index Signal (2385-50\2385-015.D)



รูปที่ 4.2 ชนิดและปริมาณน้ำตาลพบในแก้วมังกรเนื้อสีแดงวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เนื่องจากผลการทดลองในขั้นต้นพบว่าแก้วมังกรทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งเป็นสารที่สนใจมีปริมาณไม่แตกต่างกัน (ดังตารางที่ 1) ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงต้นทุนราคาของแก้วมังกรแต่ละพันธุ์พบว่า แก้วมังกรเนื้อสีขาวมีปริมาณในการปลูกมากกว่าอีกทั้งราคาต่อกิโลกรัมถูกกว่า ดังนั้นเมื่อพิจารณาด้านเศรษฐศาสตร์และการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เห็นควรใช้แก้วมังกรพันธุ์เวียดนามเนื้อสีขาวทดลองในขั้นถัดไป ก่อนการสกัดต้องแยกเมล็ดสีดำซึ่งมีขนาดเล็กประมาณ 1×1 มม. ออกก่อน เพื่อให้ง่ายต่อการสกัดและลดสิ่งปนเปื้อน ของเหลวที่ได้จะมีลักษณะขาวขุ่นหนืด (กรณีพันธุ์เนื้อสีขาว) หรือ แดงอมชมพูขุ่นหนืด (กรณีพันธุ์เนื้อสีแดง) ของเหลวหนืดที่ได้จึงนำไปใช้ในขั้นตอนการสกัด เมื่อนำแก้วมังกรเนื้อสีขาวทดสอบหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์โดยใช้ 4 วิธี คือ สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) น้ำร้อน (80 ± 5 องศาเซลเซียส) สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 20% และ 80% พบว่า การสกัดโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง ($15.1 \pm 0.5\%$) และน้ำร้อน ($16.4 \pm 0.6\%$) ได้ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ขณะที่การสกัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 20% และ 80% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเป็น $20.6 \pm 1.3\%$ และ $27.4 \pm 1.5\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนองค์ประกอบน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยวซึ่งได้แก่ กลูโคสและฟรุกโตสเป็นน้ำตาลที่ต้องการกำจัดทิ้ง ดังนั้นวิธีสกัดที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดคือ วิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณสัดส่วนของโอลิโกแซคคาไรด์และลดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งในผลการทดลองนี้ได้แก่วิธีการสกัดด้วยเอทานอล 80% ทั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

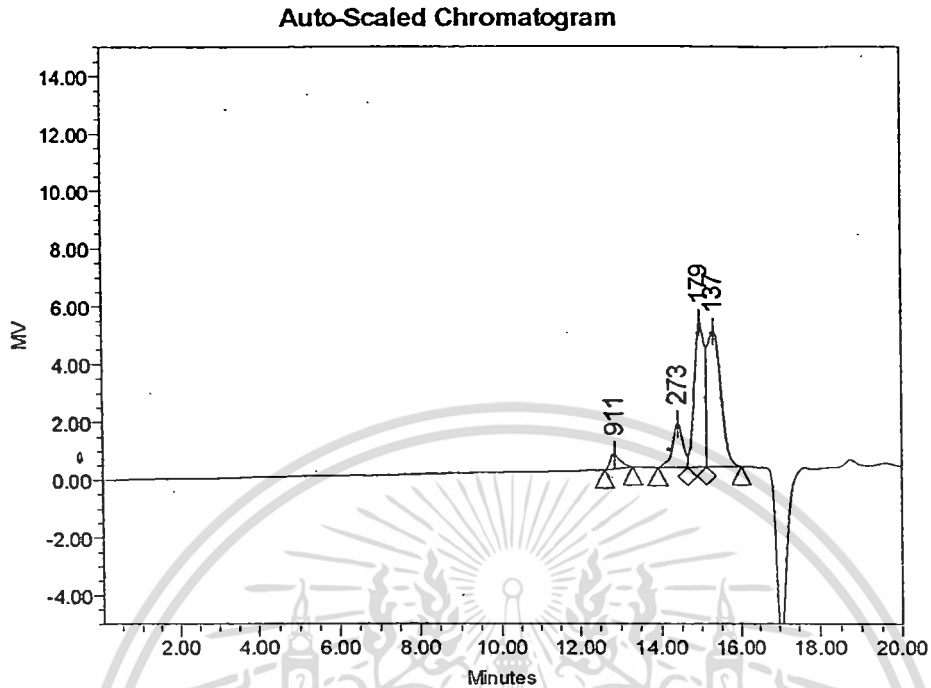
สอดคล้องกับวิธีสกัดโพลิโกแซคคาไรด์โดยทั่วไปที่นิยมใช้ตัวทำลายที่มีขี้้ว เช่น เอทานอล ซึ่งจะไปแย่งจับกับโมเลกุลของน้ำ ทำให้สารโพลิแซคคาไรด์และโพลิโกแซคคาไรด์ตกตะกอนและสามารถแยกออกจากน้ำตาลโมเลกุลอื่นๆ ที่ไม่ตกตะกอนในเอทานอลที่ความเข้มข้นสูง รายงานผลการวิจัยของสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ กล่าวถึงวิธีสกัดโพลิโกแซคคาไรด์จากพืชบางชนิด เช่น เปลือกลูกตาลอบแห้ง เปลือกขนุนอบแห้งและสด พบว่าการใช้เอทานอลดีกว่าการใช้น้ำซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยนี้ และความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่สกัด เช่น เปลือกขนุนใช้ 10% เอทานอล เมล็ดขนุนใช้ 80% เอทานอล เป็นต้น ซึ่งพืชทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์สูงที่สุดจากพืชกว่า 100 ชนิดที่ศึกษา (บัญญัติ อุไรกุลและคณะ, 2550) การสกัดโดยอาศัยหลักการเกิด partitioning ระหว่างตัวทำลายและสารที่สนใจสกัดโดยเลือกชนิดและความเข้มข้นของตัวทำลายที่เหมาะสมยังคงเป็นวิธีที่นิยมจนปัจจุบัน (Gurib-Fakim, 2006) ขณะที่การสกัดโพลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเขียว 19 สายพันธุ์โดยใช้เอทานอลเข้มข้น 50% โดยใช้ปริมาณเอทานอลต่อเนื้อถั่วเขียวเท่ากับ 10:1 ที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ส่วนการสกัดด้วยน้ำได้ปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์ต่ำกว่ามาก ปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเขียวมีค่าอยู่ในช่วง 6.49 ± 0.16 ถึง $8.68 \pm 0.16\%$ โดยน้ำหนักแห้ง (Xiaoli และคณะ, 2008) ปริมาณฟรุคโตโพลิโกแซคคาไรด์ในพืชชนิดต่างๆ เช่น หัวหอม กระเทียม ข้าวไรน์และกล้วย มีค่าเท่ากับ 25, 2.2, 0.7 และ 1.3% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Kono, 1993) ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าที่พบในแก้วมังกร (8.6-8.9% โดยน้ำหนักแห้ง) ในการวิจัยนี้ยกเว้นในหัวหอม หัวชิกอรี หัวอาทิโชค (Jerusalem artichoke) ซึ่งมีปริมาณ 7.5, 24 และ 22 % โดยน้ำหนักเปียก (Vemazza และคณะ, 2006) โดยพืช 2 ชนิดหลังใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรม Stintzing และคณะ (2002) รายงานการสกัดสารเมือกจากแก้วมังกรโดยใช้น้ำ ตามด้วยการตกตะกอนโดยใช้เอทานอลเข้มข้น 96% ในอัตราส่วนเอทานอลต่อสารเมือกเท่ากับ 2 ต่อ 1 นาน 20 นาที ตะกอนที่ได้เป็นสารพวกเพคติน

ตารางที่ 4.2 ผลของวิธีสกัดต่อชนิดและปริมาณน้ำตาลของสารสกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว

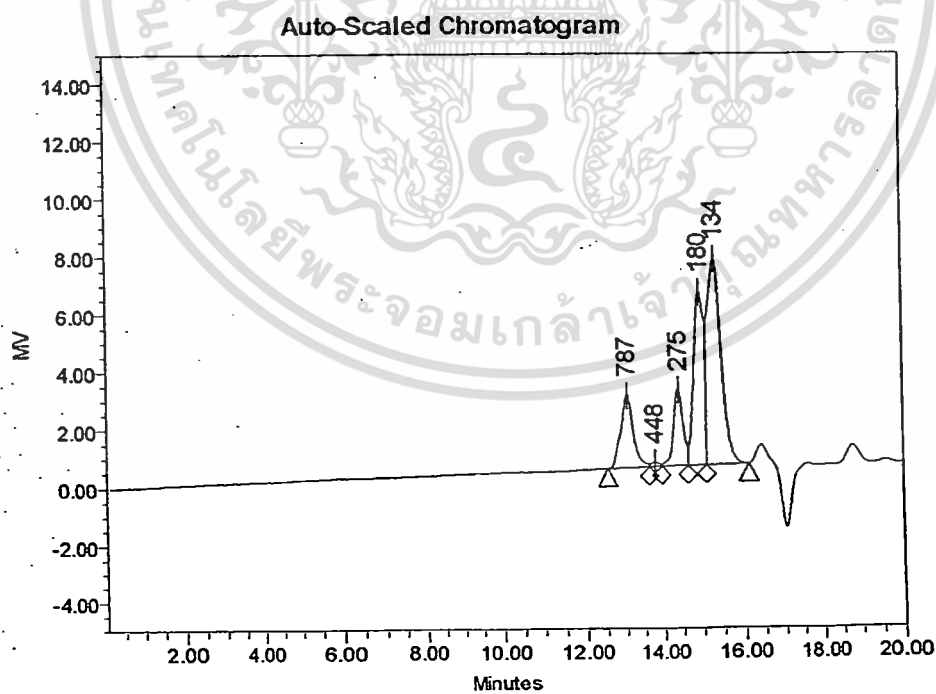
ชนิดของน้ำตาล	สกัดด้วยน้ำ		สกัดด้วยเอทานอล	
	น้ำอุณหภูมิห้อง	น้ำร้อน	เข้มข้น 20%	เข้มข้น 80%
โมโนและไดแซคคาไรด์ (%)	84.9±1.8	83.6±2.1	79.4±2.8	72.6±1.6
โพลิโกแซคคาไรด์ (%)	15.1±0.5	16.4±0.6	20.6±1.3	27.4±1.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบน้ำหนักโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีในแก้วมังกรทั้ง 2 สายพันธุ์พบว่า มี 2 ขนาด คือ ขนาด 787-911 คาลตัน และ ขนาด 273-275 คาลตัน ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์ประกอบด้วย โอลิโกแซคคาไรด์ที่มี 2 ขนาดโมเลกุลและมีขนาดในแต่ละช่วงที่ใกล้เคียงกันเมื่อสกัดด้วยน้ำ แต่วิธีการสกัดมีผลต่อขนาดโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์เล็กน้อย กล่าวคือ การสกัดด้วย 80% เอทานอลพบโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 448 คาลตันอยู่ด้วย แต่มีในปริมาณน้อยมาก (0.57%) จากรูปที่ 3 พบว่าการสกัดแก้วมังกรพันธุ์ขาวด้วยน้ำอุณหภูมิห้องสามารถสกัดโอลิโกแซคคาไรด์ได้ 15.11% ขณะที่การสกัดด้วย 80% เอทานอลสามารถเพิ่มปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ได้เป็น 27.40% (รูปที่ 4) ดังนั้นวิธีสกัดจึงมีผลน้อยมากต่อชนิดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดแต่มีผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ต่อปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้ ดังนั้นวิธีสกัดที่เหมาะสมที่สุดคือ การสกัดด้วย 80% เอทานอล ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ 81.3% เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง Xiaoli และคณะ (2008) รายงานว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเขียวเป็นชนิดกาแลกโอลิโกแซคคาไรด์ ประกอบด้วยน้ำตาล raffinose, ciceritol, stachyose และ verbascose ซึ่งเป็นน้ำตาล 3 และ 4 หน่วย ขณะที่โอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในแก้วมังกรเป็นชนิดฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ประกอบด้วยน้ำตาล 4-5 หน่วย แต่ยังไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่ชัดซึ่งน่าจะเป็น stachyose ซึ่งเป็นน้ำตาล 4 หน่วย (กลูโคส 3 หน่วย ฟรุกโตส 1 หน่วย) หรือ verbascose ซึ่งเป็นน้ำตาล 5 หน่วย (กลูโคส 4 หน่วย ฟรุกโตส 1 หน่วย) (Kono, 1993; Eggleston และ Cote, 2003) วิธีทำให้ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความบริสุทธิ์สูงคือ การใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีเพื่อแยกน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ออกไป เช่น การกรองโดยแบบเจล (gel filtration) โดยวัสดุกรองคือเรซินชนิดแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchange resin) การทำบริสุทธิ์วิธีนี้สามารถได้ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความบริสุทธิ์สูง 95% (Kono, 1993) การสกัดฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าจากหัวชิโครีทำได้โดยนำหัวชิโครีล้างน้ำ หั่นเป็นชิ้น สกัดด้วยน้ำร้อนคล้ำยการสกัดน้ำตาลจากอ้อย ย่อยด้วยเอนไซม์ ทำให้บริสุทธิ์ ทำให้เข้มข้นและทำแห้งแบบพอง (spray drying) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ประกอบด้วยน้ำตาล 2-60 หน่วย (Tungland, 2003) กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตโดยการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์มีมวลโมเลกุลสูงกว่า (30,000 คาลตัน) ที่พบในแก้วมังกร ซึ่งการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์สามารถควบคุมขนาดน้ำหนักโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ต้องการได้โดยการควบคุมสภาวะและระยะเวลาของปฏิกิริยา (Wichienchot และคณะ, 2006a)



รูปที่ 4.3 น้ำหนักโมเลกุลของโพลิโกแซคคาไรด์พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาวสกัดด้วยน้ำวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC

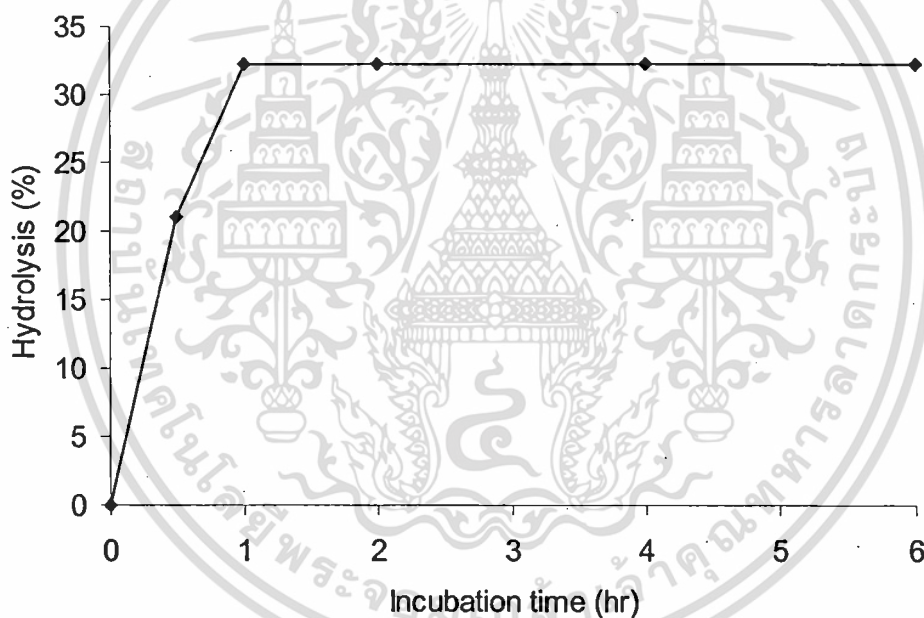


รูปที่ 4.4 น้ำหนักโมเลกุลของโพลิโกแซคคาไรด์ที่พบในแก้วมังกรเนื้อสีขาวที่สกัดด้วย 80% เอทานอลวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC

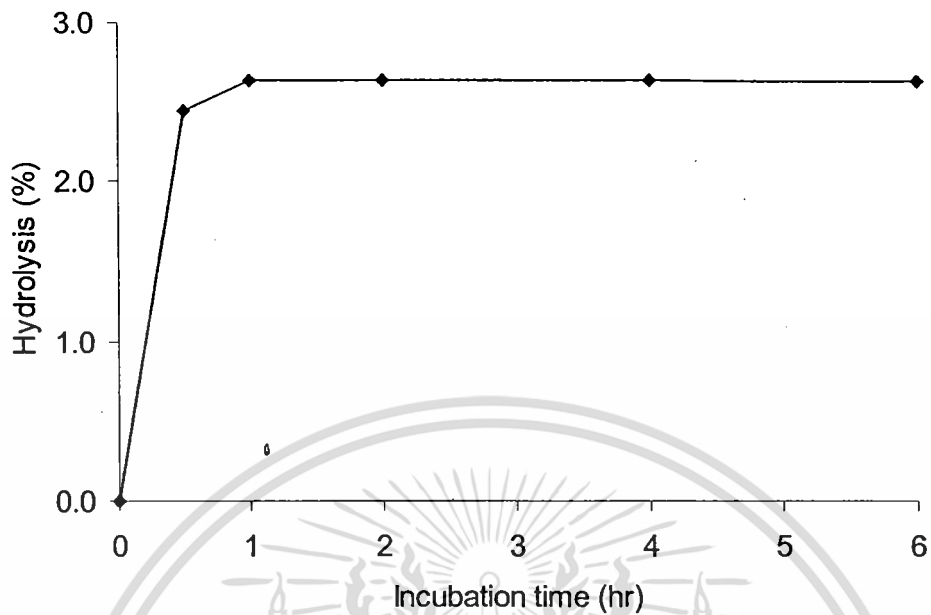
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ความสามารถต่อการต้านทานการย่อยในสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหาร

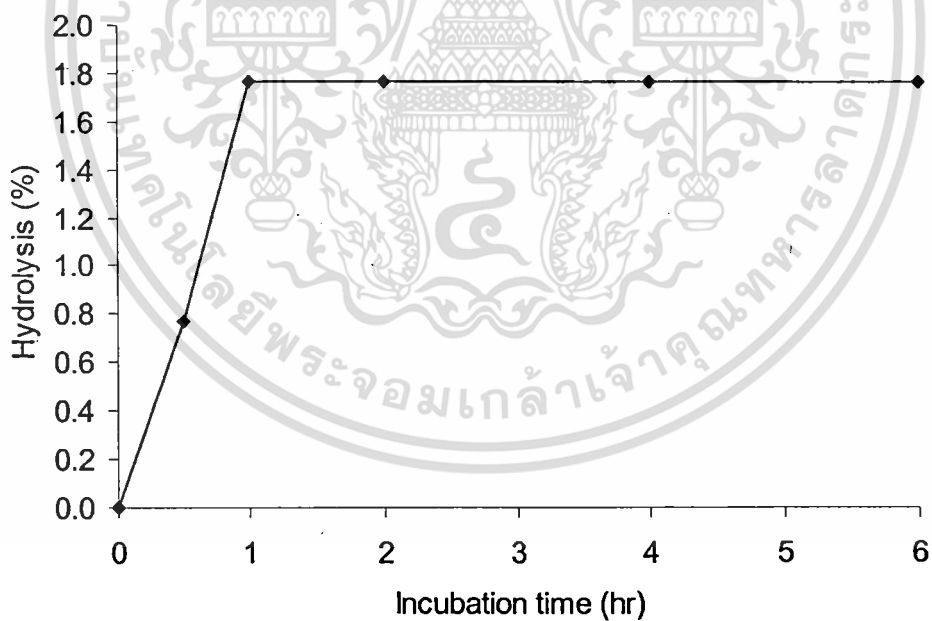
โพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดโดยใช้ 80% เอทานอลจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว ซึ่งมีความบริสุทธิ์ไม่สูงมากนักเนื่องจากยังมีน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยวเหลืออยู่ในปริมาณค่อนข้างมาก แสดงว่าหลังการสกัดด้วยเอทานอลอาจจำเป็นต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์เพิ่มเติมหากต้องการโพลิโกแซคคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่านี้ โพลิโกแซคคาไรด์ที่ได้เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการต้านการย่อยด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลอง ซึ่งเป็นคุณสมบัติโดยทั่วไปอย่างหนึ่งของสารพรีไบโอติก พบว่า สารสกัดหยาบที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ถูกย่อยได้ง่ายโดยระดับการย่อยสูงขึ้นตามระดับความเป็นกรดที่สูงขึ้น (พีเอชต่ำลง) ดังแสดงในรูปที่ 5-9 ซึ่งมีระดับการย่อยสูงสุดเป็น 32.15, 2.63, 1.77, 0.83 และ 0.70% ที่พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ



รูปที่ 4.5 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 1

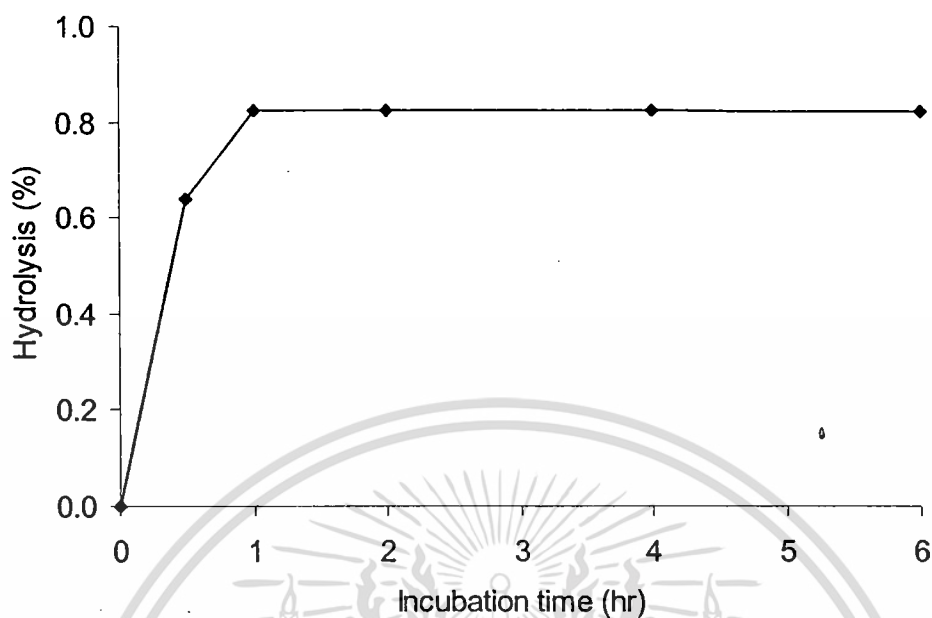


รูปที่ 4.6 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 2

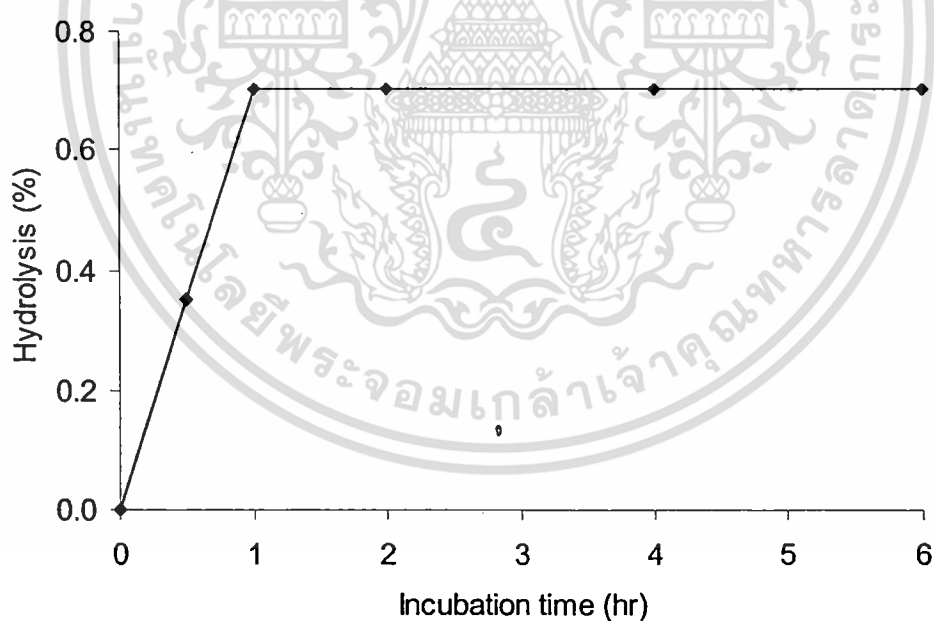


รูปที่ 4.7 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



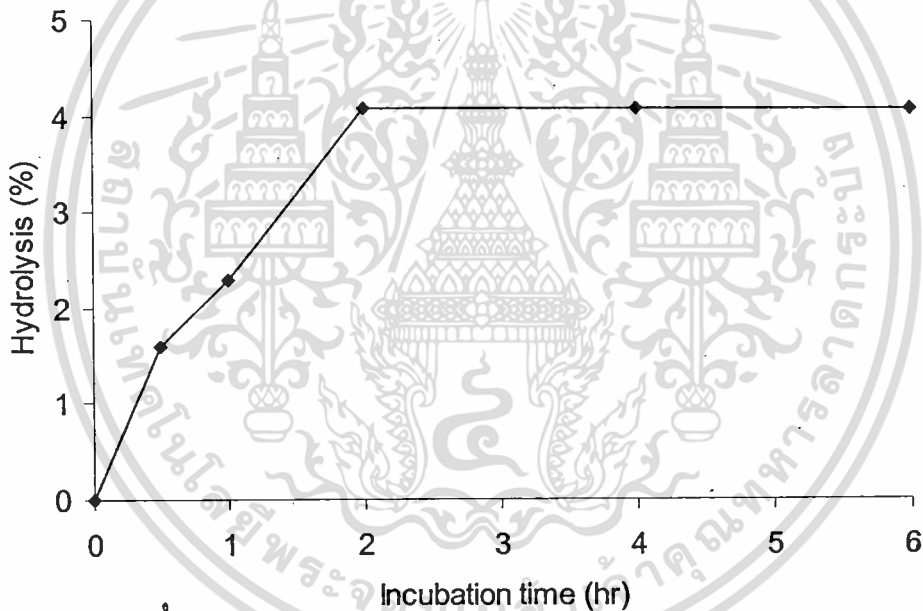
รูปที่ 4.8 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 4



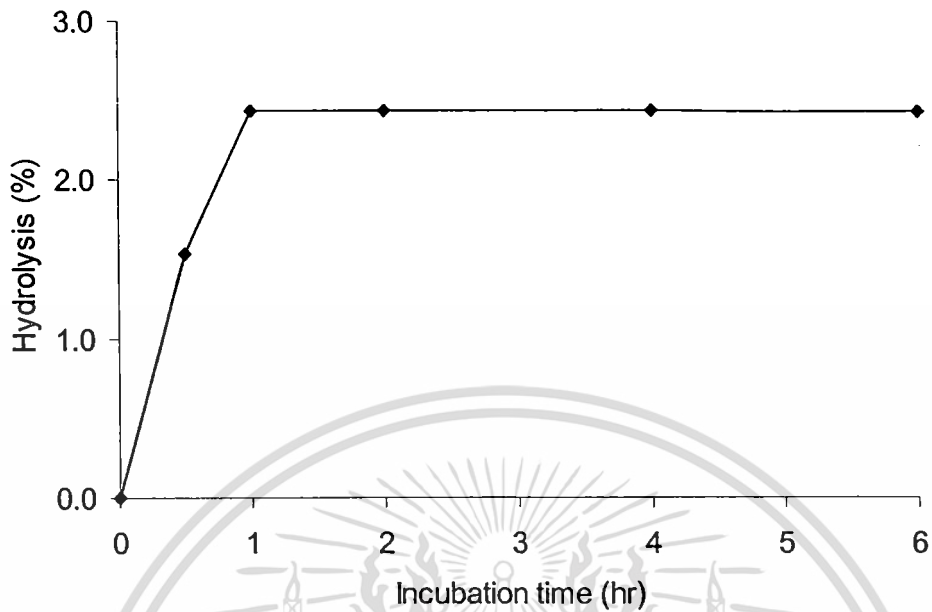
รูปที่ 4.9 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

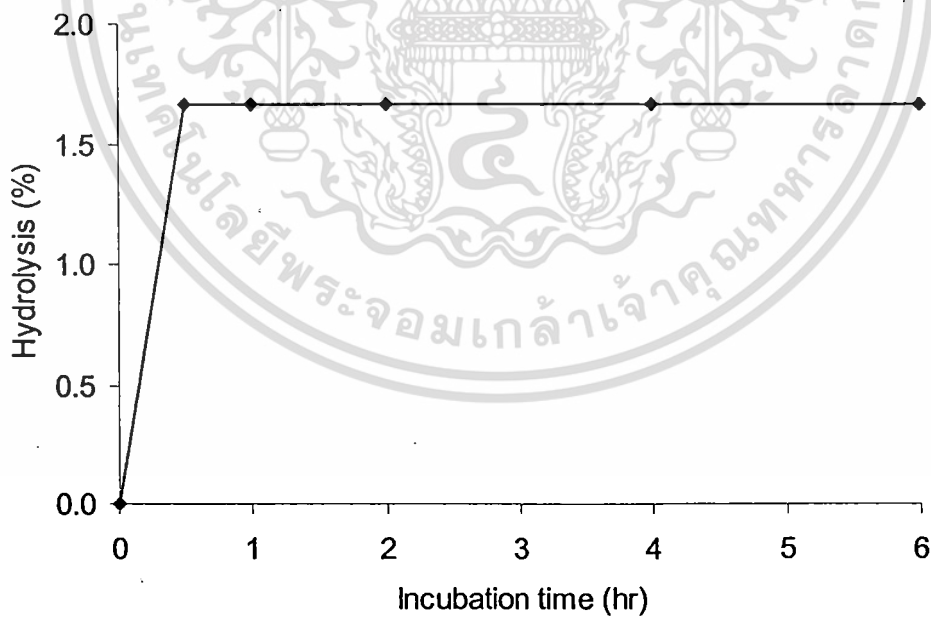
ผลการย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน (partially purified) ด้วยกรด กระเพาะจำลองที่ระดับพีเอชต่างๆ พบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จะสามารถ ด้านทานต่อการย่อยได้ดีกว่าสารสกัดที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์เนื่องจาก สารสกัดที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มีองค์ประกอบที่เป็นน้ำตาล โมเลกุลสูงหรือโอลิโกแซคคาไรด์ในสัดส่วนที่สูงกว่าน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยว โดยที่น้ำตาลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงสามารถต้านทานต่อการย่อยในสภาวะกรด กระเพาะอาหารจำลองได้ดีกว่า ความสามารถต่อการต้านทานการย่อยขึ้นอยู่กับพีเอชด้วยกล่าวคือ ที่พีเอชต่ำ (ความเป็นกรดสูง) การย่อยจะเกิดขึ้นได้มากกว่าที่พีเอชสูง (ความเป็นกรดต่ำ) ดังรูปที่ 10-14 ซึ่งมีค่าอัตราการย่อยสูงสุดที่พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 เป็น 4.07, 2.43, 1.66, 0.85 และ 0.02% ตามลำดับ



รูปที่ 4.10 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 1

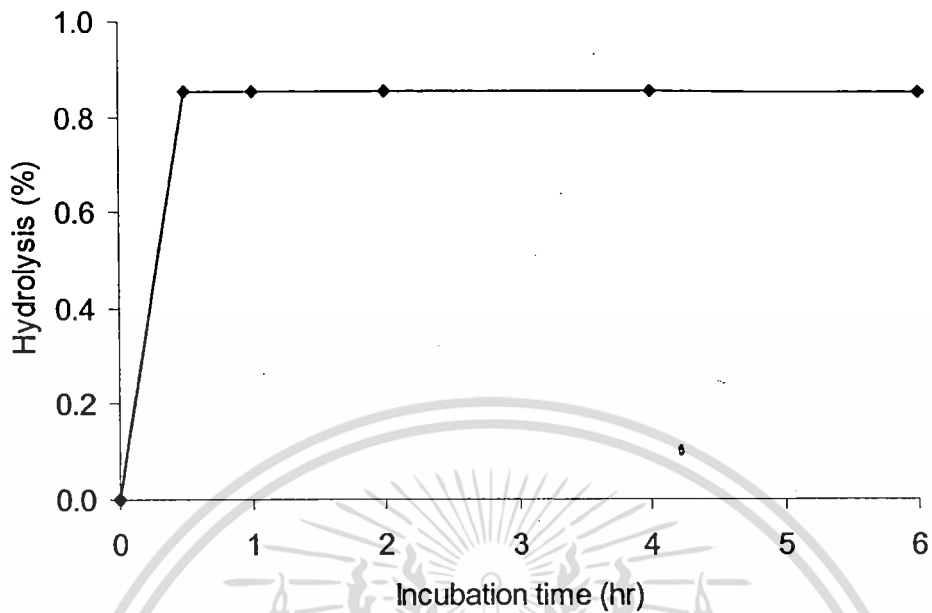


รูปที่ 4.11 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 2

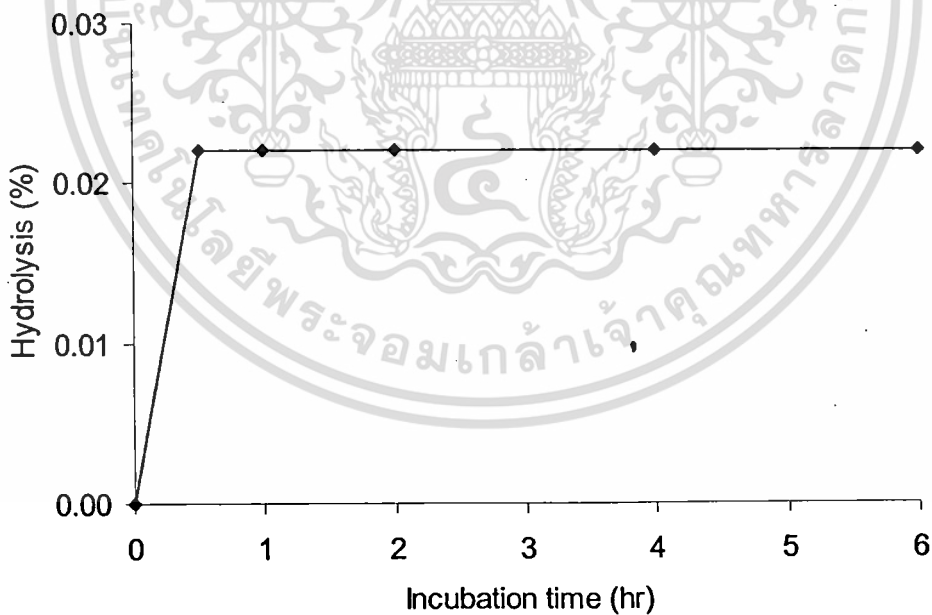


รูปที่ 4.12 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



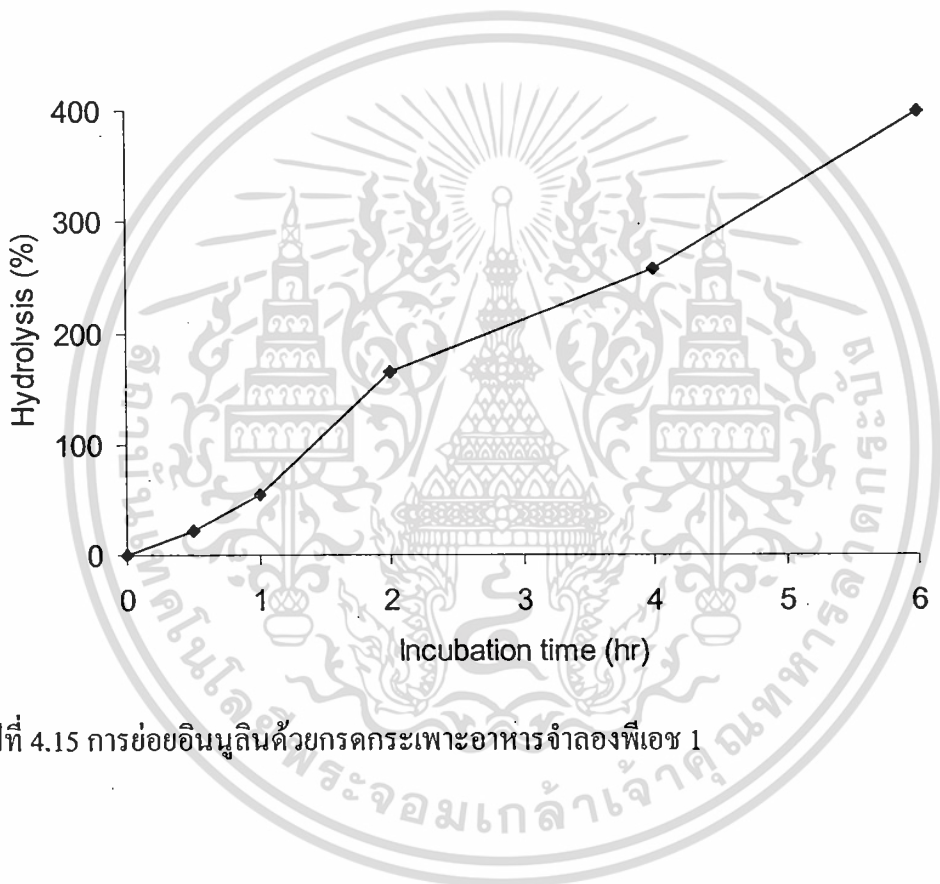
รูปที่ 4.13 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 4



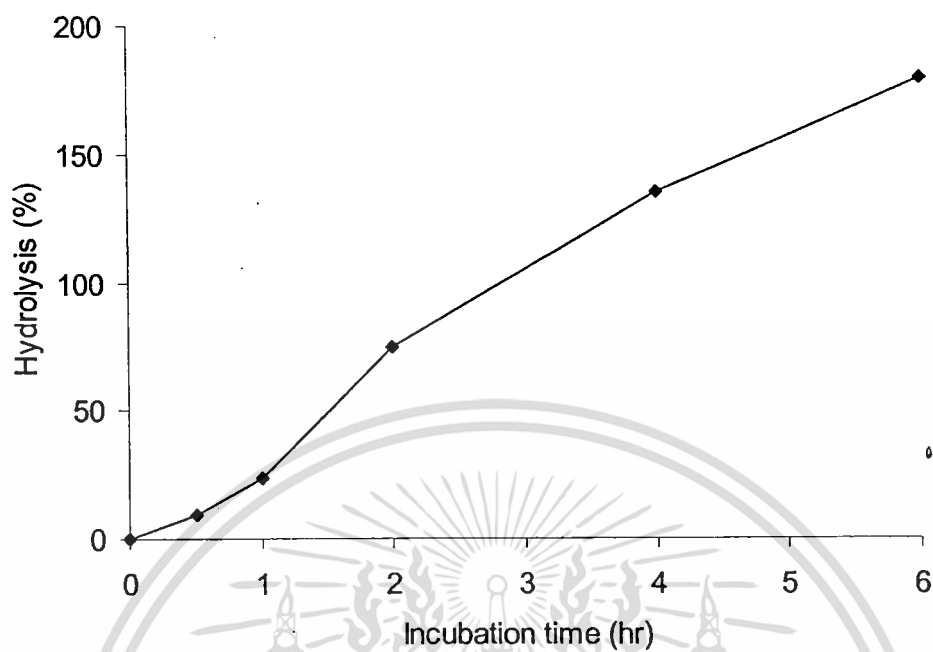
รูปที่ 4.14 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยกรดอะซิติกอาหารจำลองพีเอช 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

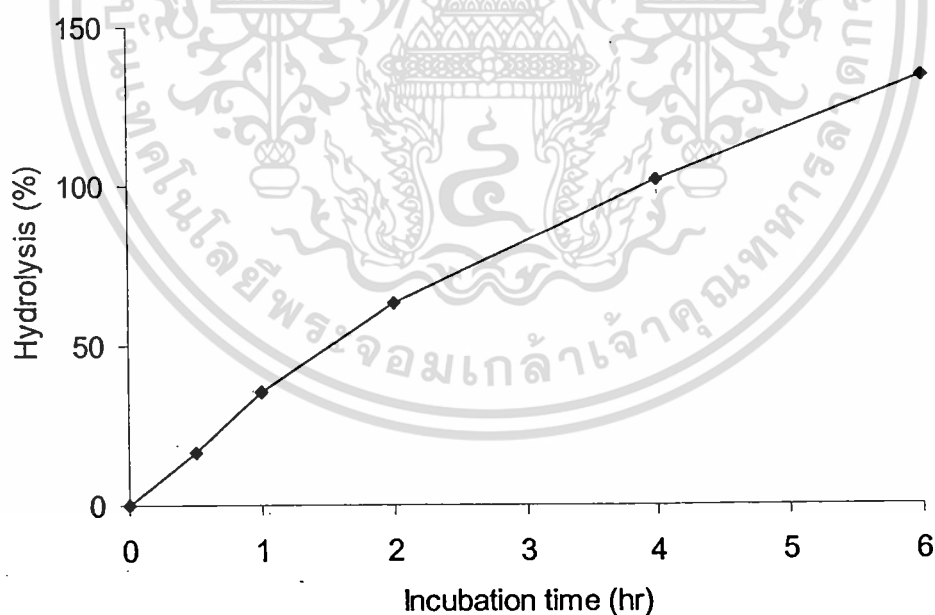
ผลการทดสอบการย่อยอินนูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกทางการค้าที่นิยมเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดในท้องตลาดโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์นม พบว่าอินนูลินสามารถถูกย่อยในสภาวะกรด กระเพาะอาหารจำได้ได้ในปริมาณสูงมากอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้ในการทดลองนี้ ดังรูป 15-19 การย่อยอินนูลินที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหารโดยสมมุติว่าใช้เวลาอยู่ในกระเพาะอาหารนาน 1 ชั่วโมง ดังนั้นการย่อยอินนูลินที่พีเอช 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเป็น 55.00, 23.22, 35.75 และ 5.96% ตามลำดับ นั่นคือ โอกาสที่อินนูลินสามารถไปถึงลำไส้เล็กมีค่าเป็น 76.78% ซึ่งต่ำกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ในการทดลองนี้ซึ่งมีค่า 97.57%



รูปที่ 4.15 การย่อยอินนูลินด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 1

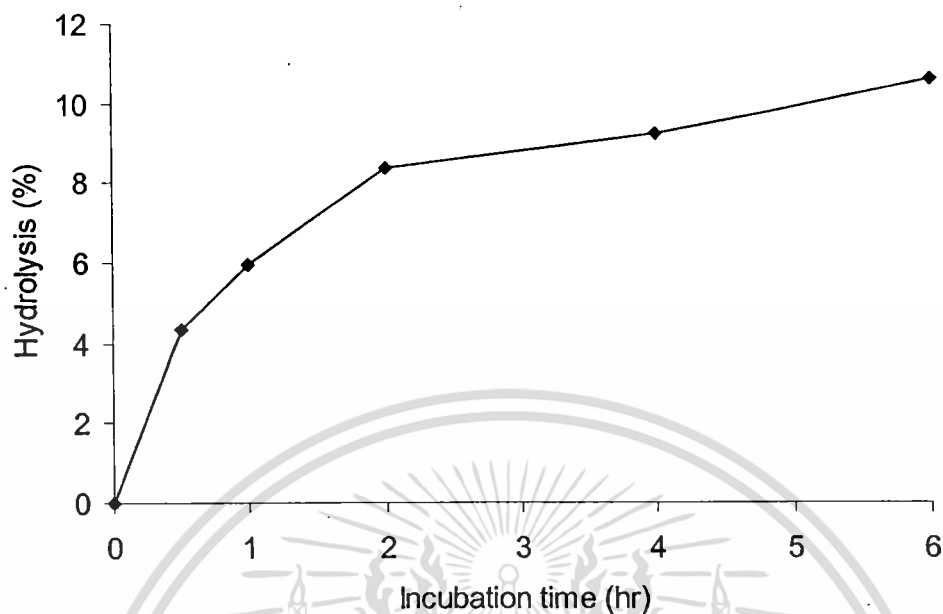


รูปที่ 4.16 การย่อยอินนูลินด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 2

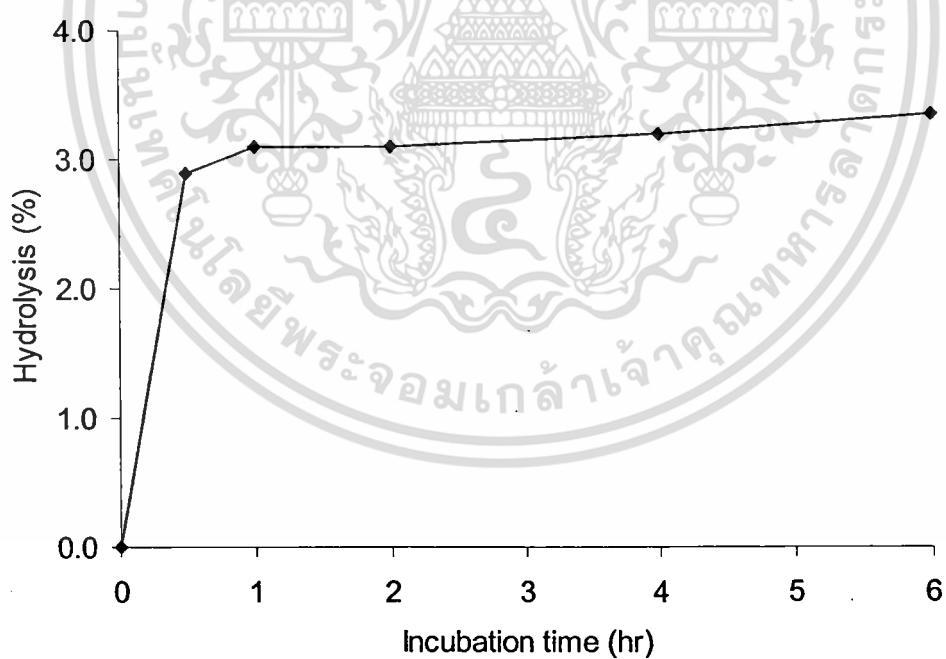


รูปที่ 4.17 การย่อยอินนูลินด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 การย่อยอินนูลินด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 4



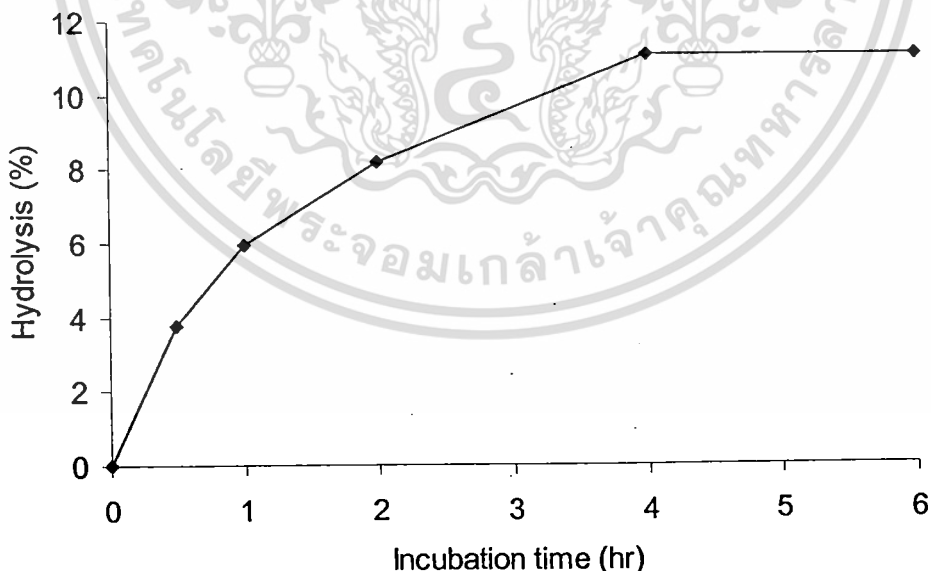
รูปที่ 4.19 การย่อยอินนูลินด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองพีเอช 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

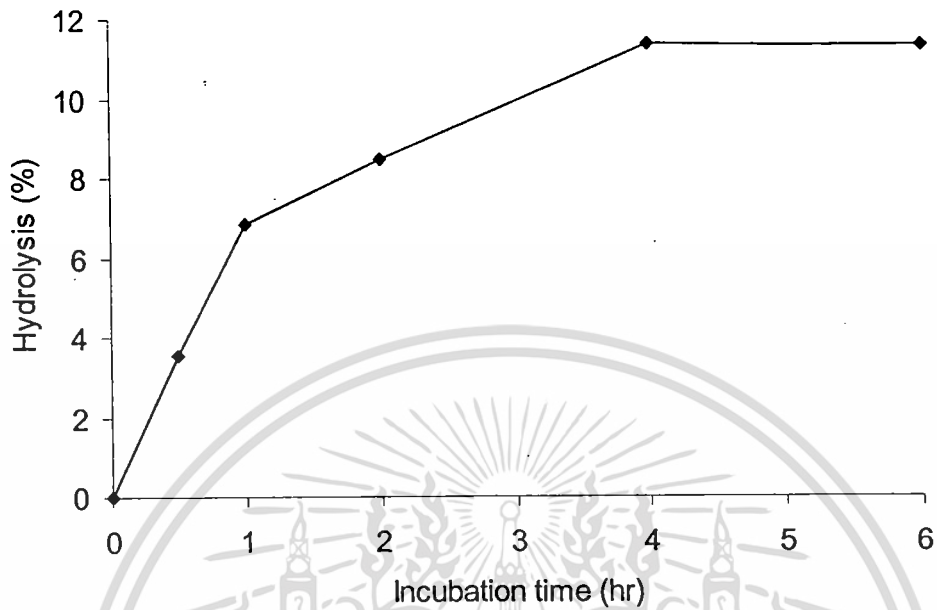
จากผลทดสอบการย่อยในสภาวะกรดกระเพาะอาหารจำลองของมนุษย์ข้างต้น พบว่าโพลิโกแซคคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงกว่าหรือมีปริมาณ โพลิโกแซคคาไรด์ที่มีสัดส่วนสูงกว่าเมื่อเทียบกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสามารถต้านทานต่อการย่อยได้ดีกว่า โพลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แม้เพียงบางส่วนก็สามารถต้านทานการย่อยได้ไม่น้อยกว่า 95% ที่สภาวะในกระเพาะอาหารมนุษย์ทั่วไป ที่มีค่าพีเอชประมาณ 2 และอาหารอยู่ในกระเพาะนานประมาณ 2 ชั่วโมง Nakada และคณะ (2003) รายงานว่า โคจิโพลิโกแซคคาไรด์ (kojioligosaccharide) ผลิตโดยวิธีสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์สามารถต้านทานการย่อยด้วยกรดกระเพาะอาหารจำลองได้ 100%

4.3 ความสามารถต่อต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์อะมัยเลส

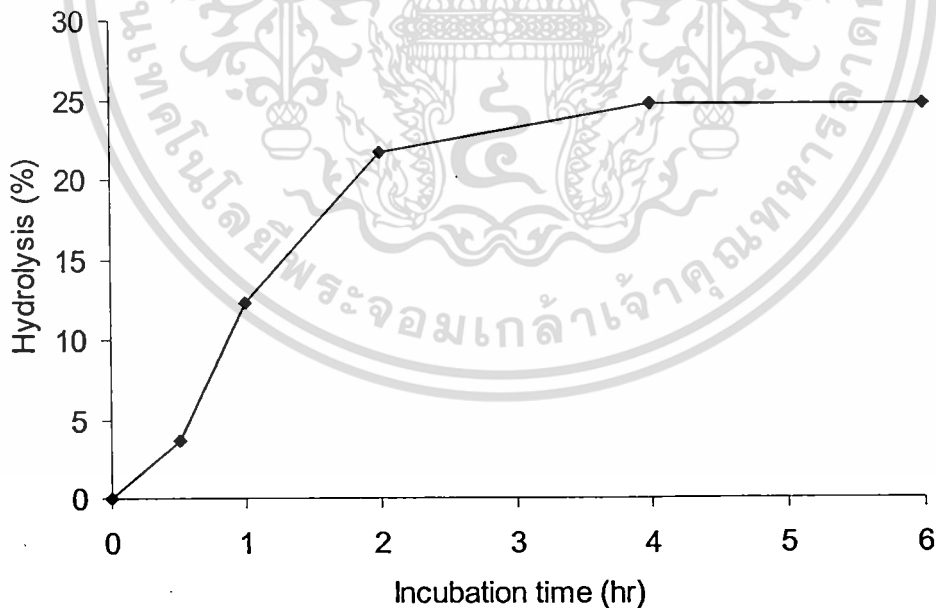
การทดสอบคุณสมบัติการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร โดยทดสอบการย่อยด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสซึ่งพบในน้ำลาย พบว่าสารสกัดที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มีความสามารถต้านทานการย่อยได้ต่ำกว่าโพลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยมีอัตราการย่อยสูงสุดที่พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 มีค่า 11.10, 11.32, 24.70, 67.04 และ 61.16% ตามลำดับ ดังรูปที่ 20-24 อัตราการย่อยเพิ่มขึ้นตามพีเอชที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ชนิด ซึ่งทำงานได้ดีที่พีเอชมีค่าระหว่าง 7 และ 8 อัตราการย่อยที่พีเอชดังกล่าวซึ่งมีค่าสูงสุดพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก



รูปที่ 4.20 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 4

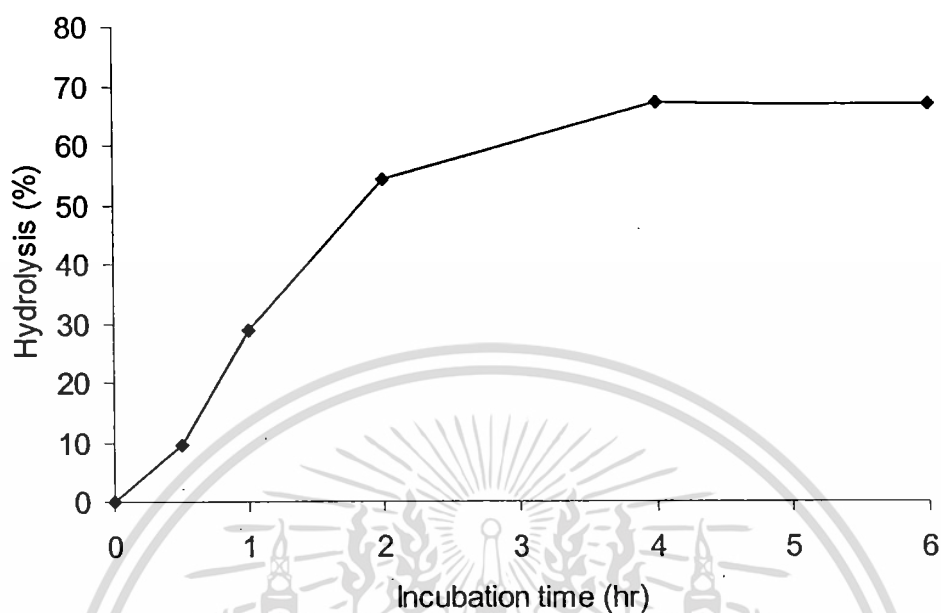


รูปที่ 4.21 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 5

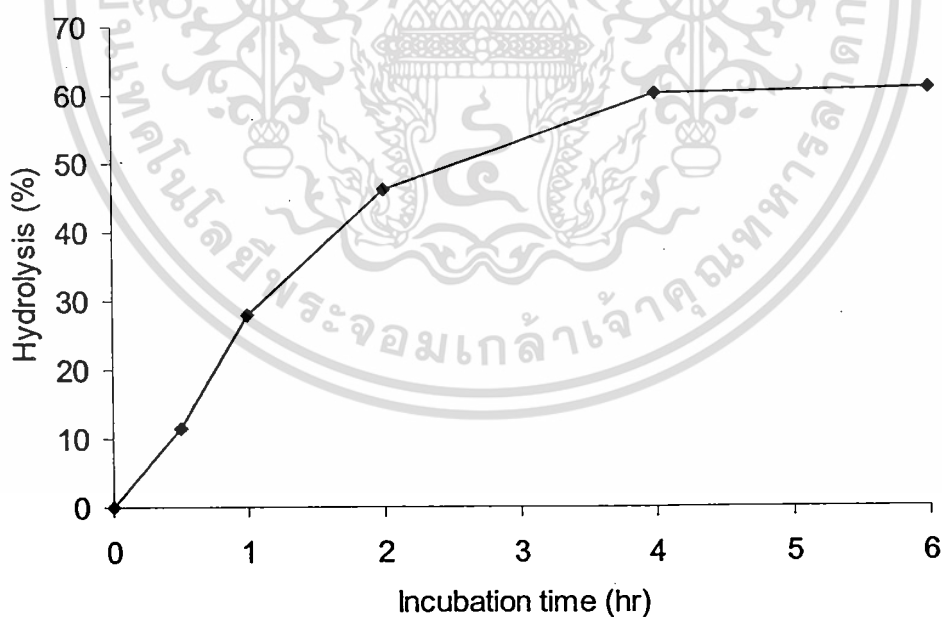


รูปที่ 4.22 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



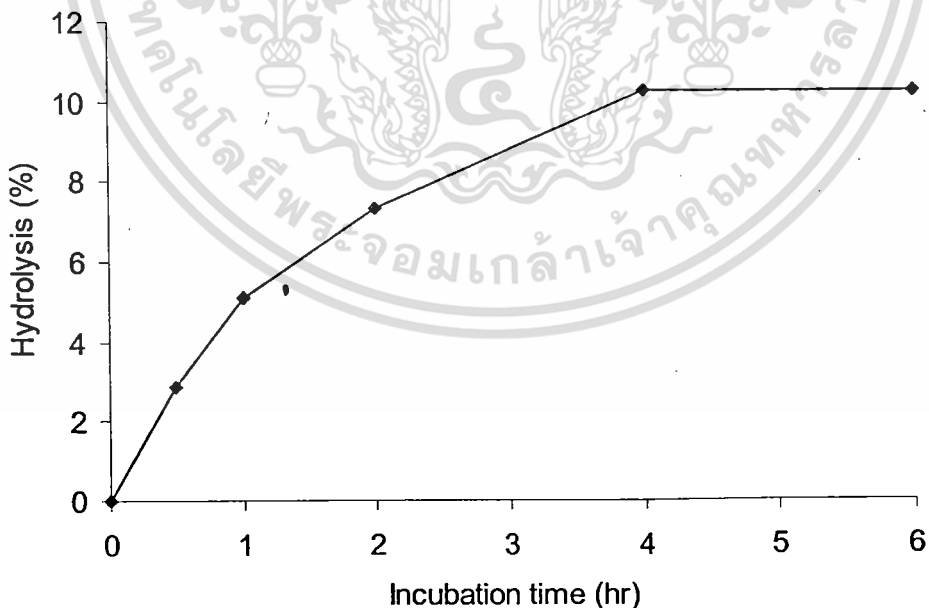
รูปที่ 4.23 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7



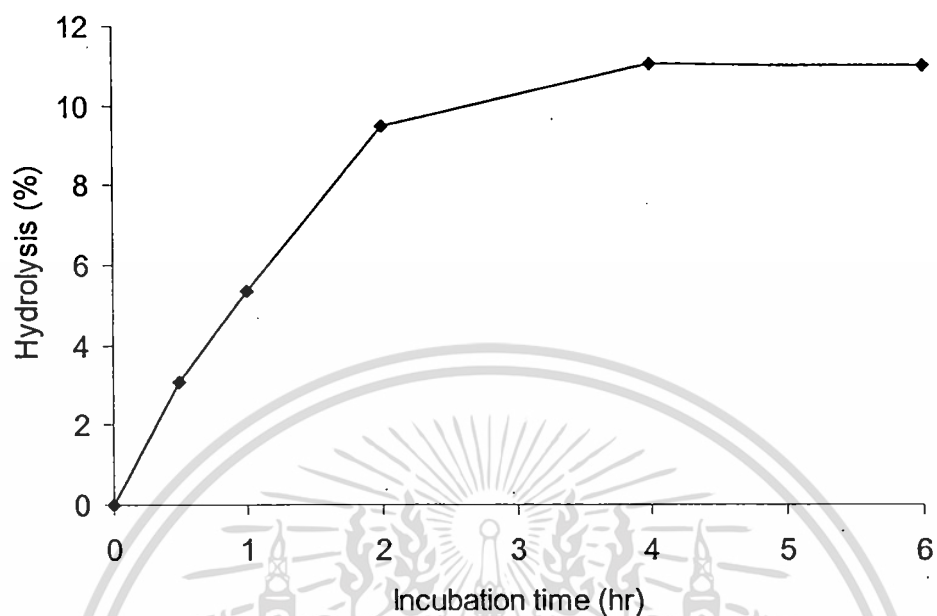
รูปที่ 4.24 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

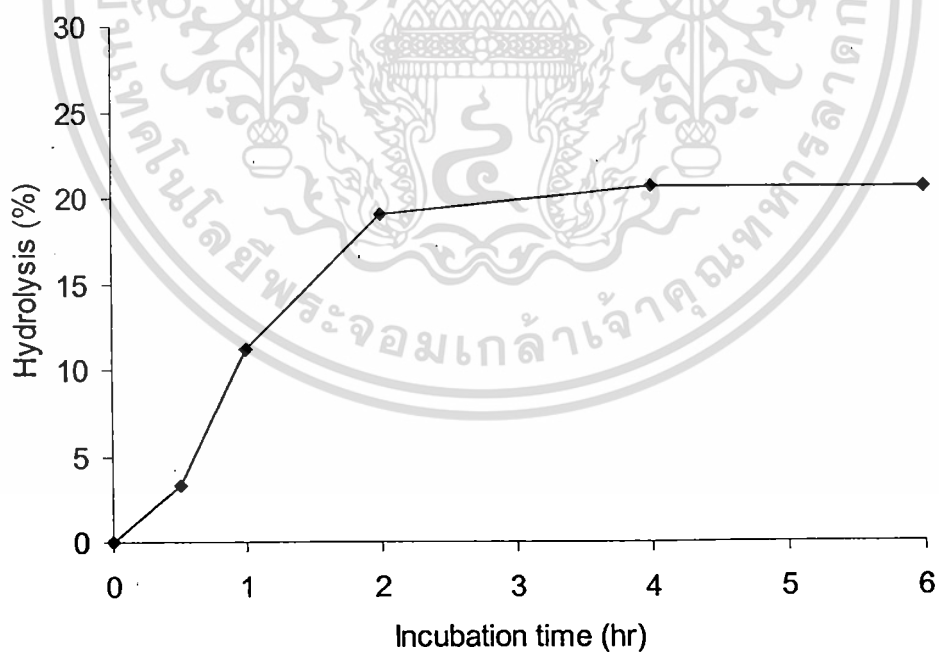
ผลการย่อยโพลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสให้ผลในลักษณะเดียวกันกับผลการย่อยสารสกัดที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ กล่าวคืออัตราการย่อยเพิ่มขึ้นตามค่าพีเอชอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่พีเอช 4 และ 5 โดยมีอัตราการย่อยสูงสุดที่พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 เป็น 10.22, 11.02, 20.66, 29.68, 34.88% ตามลำดับ ดังรูปที่ 25-29 ดังนั้นโพลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์สามารถต้านการย่อยด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสได้เพิ่มขึ้น 92.2% เมื่อเทียบกับโพลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ แต่อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงหากรับประทานโพลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการทดลองนี้จะถูกย่อยในปากสูงสุดไม่เกิน 10% เนื่องระยะเวลาที่เกิดการย่อยในปากใช้เวลาประมาณ 30 นาที อย่างไรก็ตามในลำไส้เล็กโพลิโกแซคคาไรด์อาจถูกย่อยได้มากกว่า 30% เนื่องจากมีเอนไซม์กลุ่มที่สามารถย่อยโพลิโกแซคคาไรด์ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น เอนไซม์มอลเทส ซูเครส เป็นต้น Nakada และคณะ (2003) รายงานว่า โคจิโพลิโกแซคคาไรด์สามารถต้านต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสจากน้ำลายมนุษย์และเอนไซม์จากตับอ่อนหมู (porcine pancreas) ได้ 100% แต่โคจิโพลิโกแซคคาไรด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (ประกอบด้วยน้ำตาล 2 หน่วย) มีเปอร์เซ็นต์การย่อยอยู่ในช่วง 56.8-87.5 เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์จากลำไส้เล็กหนู (rat intestinal acetone powder)



รูปที่ 4.25 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 4

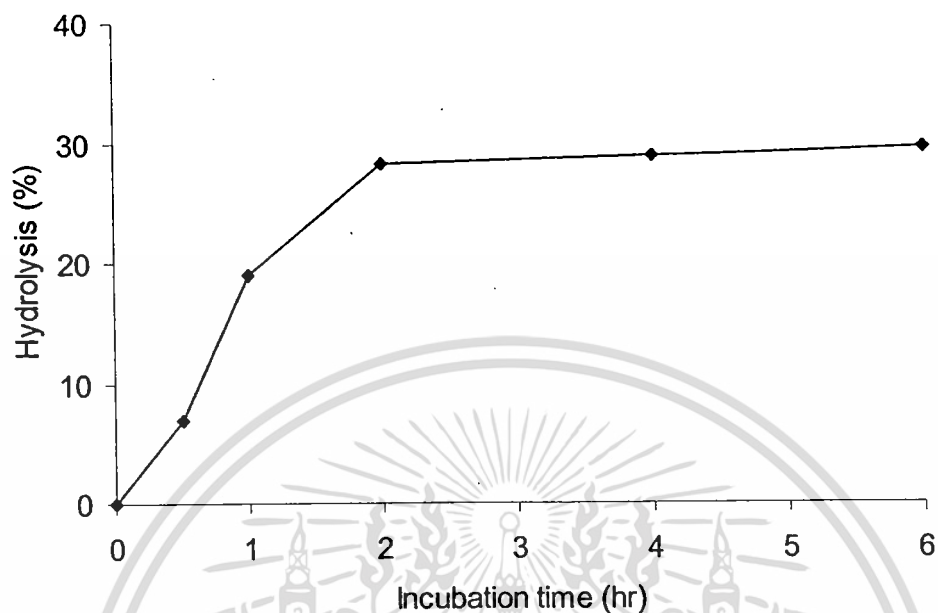


รูปที่ 4.26 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 5

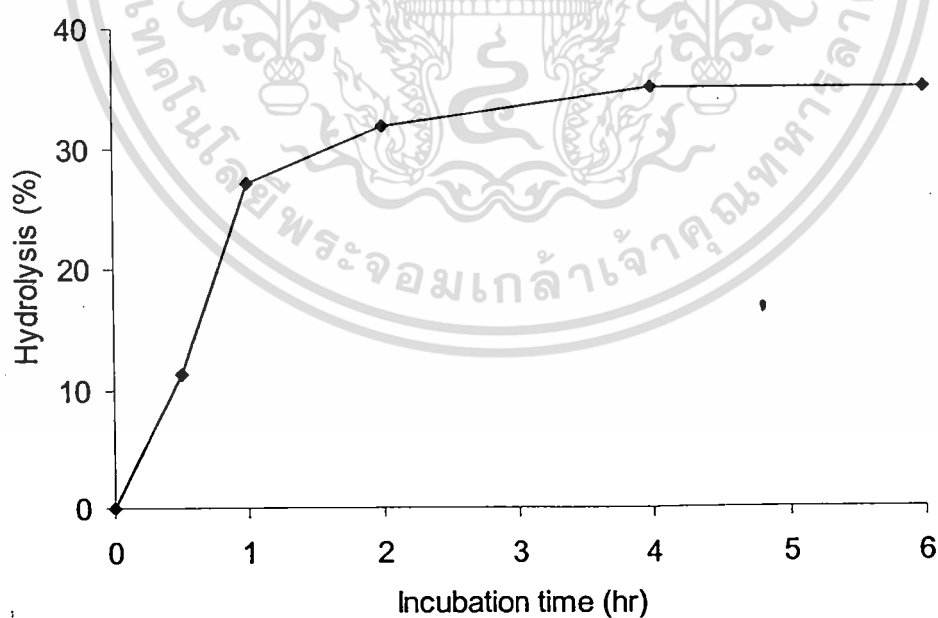


รูปที่ 4.27 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



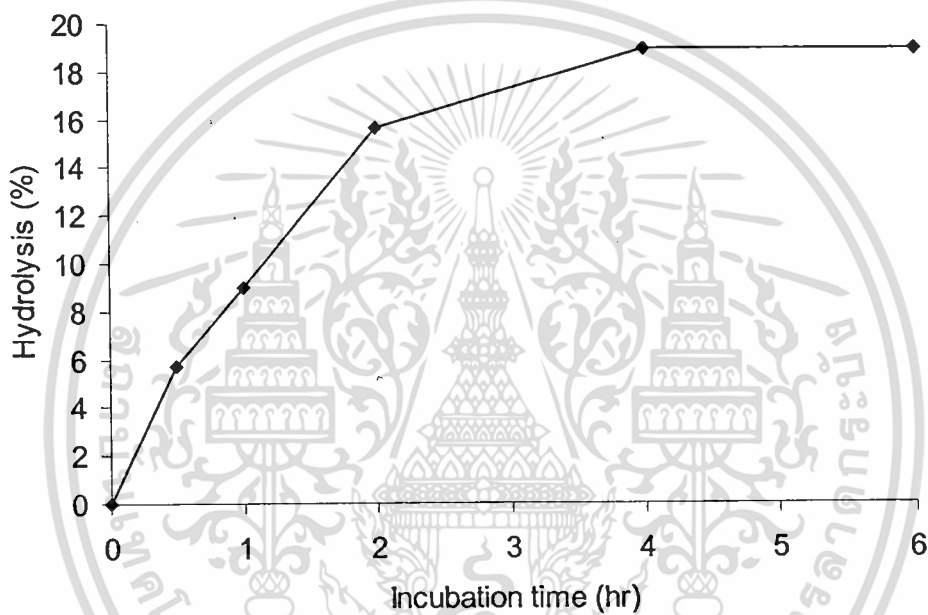
รูปที่ 4.28 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7



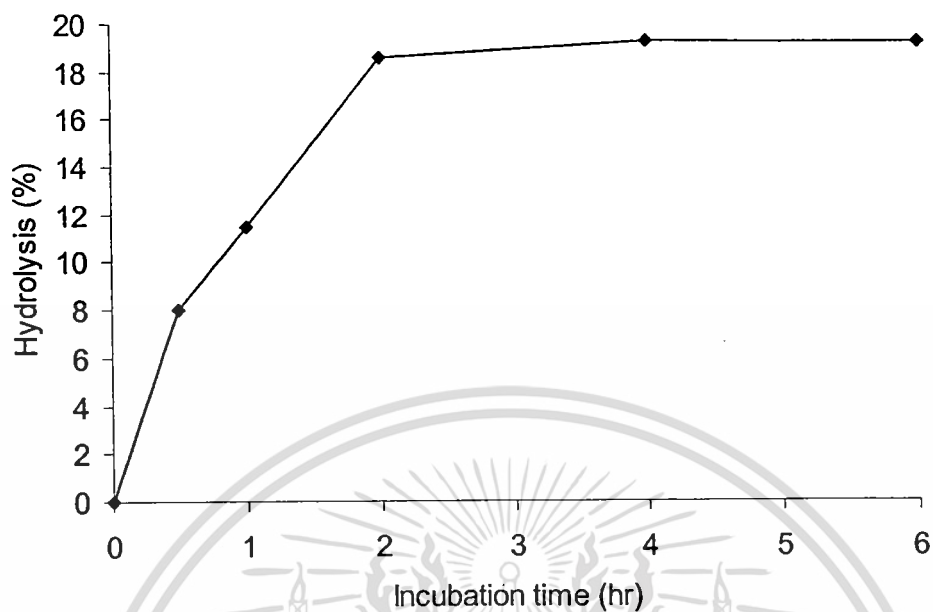
รูปที่ 4.29 การย่อยสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

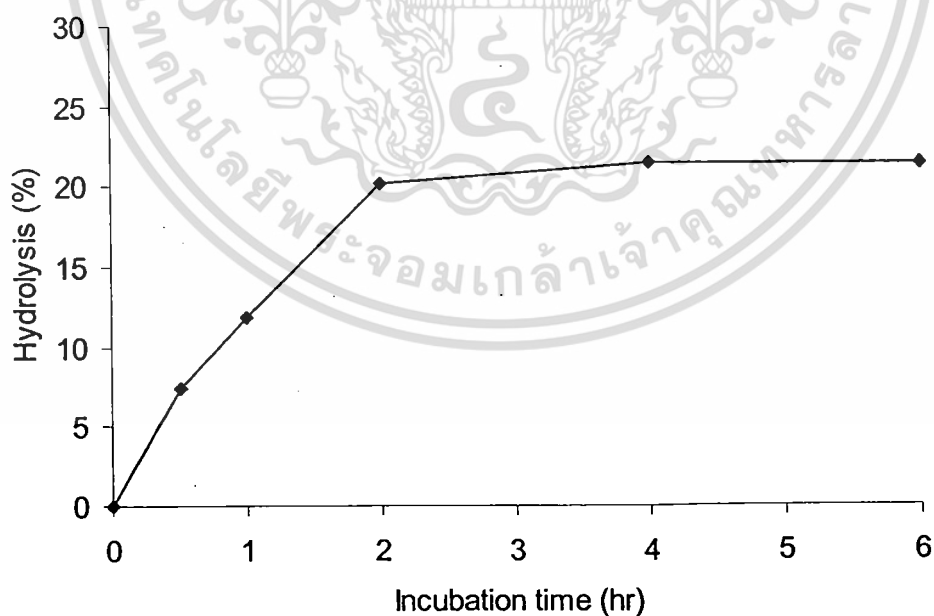
ผลการย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสพบว่า อัตราการย่อยเพิ่มขึ้นตามค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และมีค่าอัตราการย่อยสูงสุดที่พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 เท่ากับ 18.92, 19.25, 21.45, 38.71, 46.24% ตามลำดับ (ดังรูปที่ 30-34) เมื่อเปรียบเทียบกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์พบว่า โอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการทดลองนี้มีความสามารถด้านการย่อยด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสสูงกว่าอินนูลิน 32.57%



รูปที่ 4.30 การย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 4

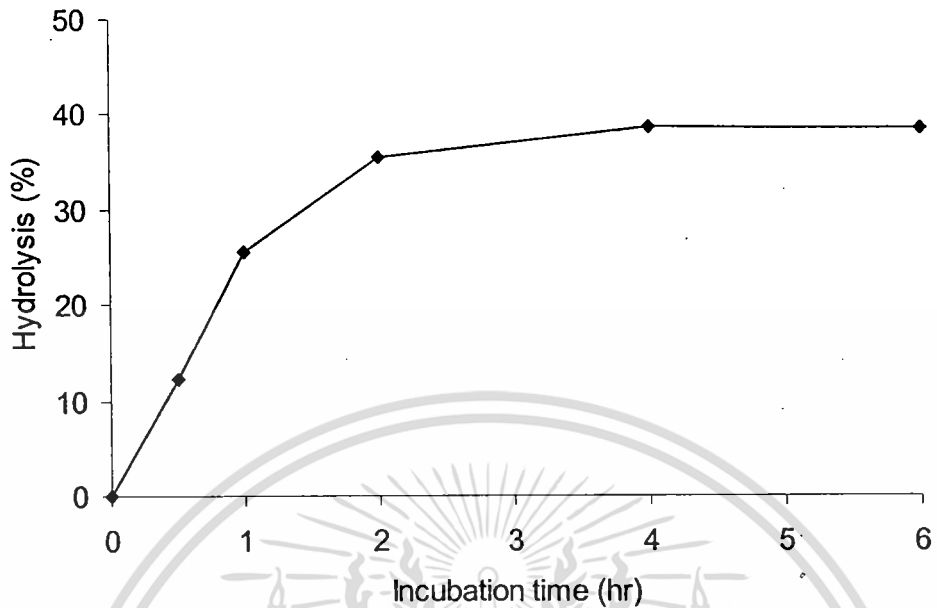


รูปที่ 4.31 การย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 5

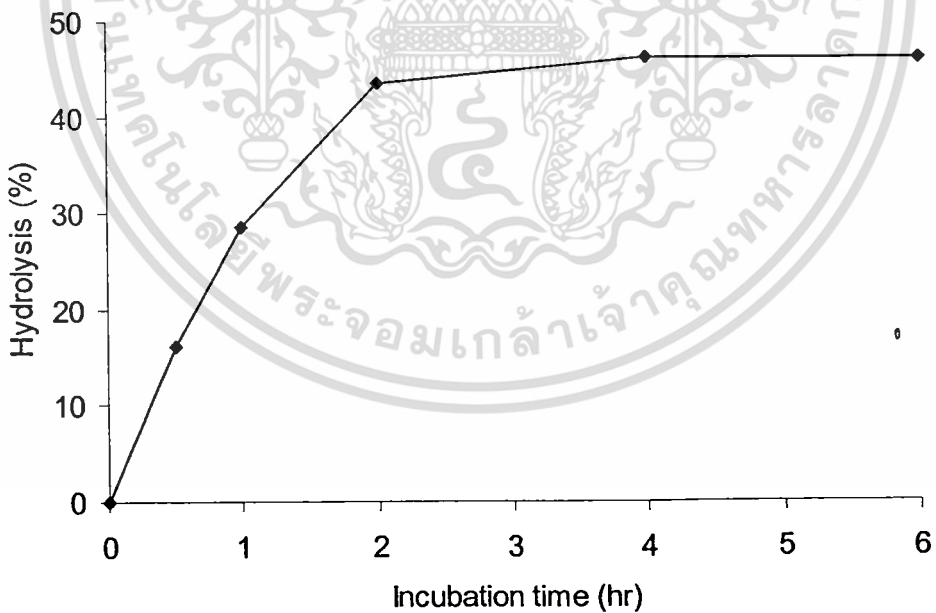


รูปที่ 4.32 การย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.33 การย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7



รูปที่ 4.34 การย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ความสามารถต่อการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก

จากการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 พบว่าสารสกัดทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์และอินนูลินสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อสายพันธุ์นี้ได้แต่มีประสิทธิภาพที่ต่างกัน คือสารสกัดไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์เชื้อสามารถเจริญเพิ่มขึ้นจาก 9.72×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 2.55×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใน 48 ชั่วโมง ขณะที่สารสกัดที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 9.02×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 6.17×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับอินนูลินพบปริมาณการเจริญของเชื้อเฉลี่ย 8.24×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3) ซึ่งสารตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ที่ทดสอบสามารถเพิ่มการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 ในระดับที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยที่โอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ส่งเสริมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากเมล็ดขุ่นที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่มนี้เมื่อทดสอบในลำไส้ใหญ่จำลองมนุษย์ (บัญชา อุไรกุลและคณะ, 2551)

ตารางที่ 4.3 การเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)		
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.
สารสกัดที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์	9.72×10^7	6.31×10^8	2.55×10^9 a
สารสกัดที่ผ่านการทำบริสุทธิ์	9.02×10^7	6.42×10^8	6.17×10^9 b
อินนูลิน	7.14×10^7	5.47×10^8	8.24×10^8 c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับผลการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* 702715 พบว่า สารสกัดทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์และอินนูลินสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อสายพันธุ์นี้ แต่ตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดส่งเสริมการเจริญของเชื้อนี้แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4) โดยสารสกัดที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์สามารถส่งเสริมการเจริญจากจำนวนเริ่มต้น 1.42×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 2.04×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง ขณะที่โอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์สามารถส่งเสริมการเจริญจากจำนวนเริ่มต้น 1.70×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 2.51×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และอินนูลินสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* 702715 ได้ดีที่สุด จากเริ่มต้น 9.23×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเพิ่มเป็น 2.76×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากเมล็ดขนุนที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่มนี้ได้ น้อยมากเมื่อทดสอบในลำไส้ใหญ่จำลองมนุษย์ (บัญชา อุไรกุลและคณะ, 2551) เช่นเดียวกับกลูโคโอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์โดยเชื้อ *Gluconobacter oxydans* NCIMB4943 ที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่ม Lactobacilli แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่ม Bifidobacterium (Wichienchot และคณะ, 2006b) ฟรีไบโอติกทางการค้ามีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกกลุ่มไบฟิโดแบคทีเรียได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เจนติโอโอลิโกแซคคาไรด์ ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ แลกโตซูโครส แลกทูโลส ราฟฟิโนส ซอยบินโอลิโกแซคคาไรด์ และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Sako และคณะ, 1999)

ตารางที่ 4.4 การเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากแก้วมังกรเนื้อสีขาว

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
สารสกัดที่ไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์	1.42×10^8	1.88×10^9	2.79×10^9	2.04×10^9 ^a
สารสกัดที่ผ่านการทำบริสุทธิ์	1.70×10^8	1.66×10^9	2.22×10^9	2.51×10^9 ^a
อินนูลิน	9.23×10^7	1.34×10^8	1.42×10^9	2.76×10^9 ^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยสามารถสรุปในสาระประเด็นที่สำคัญดังนี้

1. แก้วมังกรพันธุ์เวียคนามเนื้อสีขาวและพันธุ์ไทยเนื้อสีแดงมีลักษณะกายภาพ เช่น สีเปลือก รูปร่างของผล ขนาดและน้ำหนักของผล สีเนื้อ แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาในเชิงคุณสมบัติทางเคมีของเนื้อแก้วมังกร โดยเฉพาะองค์ประกอบของน้ำตาล พบว่าสายพันธุ์มีผลน้อยต่อปริมาณและชนิดของน้ำตาล กล่าวคือ ทั้ง 2 พันธุ์ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และโพลิโกแซคคาไรด์ถึงแม้ว่าแก้วมังกรเนื้อสีแดงจะมีความหวานและปริมาณโพลิโกแซคคาไรด์สูงกว่าเล็กน้อย
2. การสกัดโพลิโกแซคคาไรด์ที่เหมาะสมจากเนื้อแก้วมังกรสามารถทำได้โดยการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้น 80% ในอัตราส่วนเอทานอลต่อเนื้อแก้วมังกรที่ผ่านขั้นตอนการแยกเมล็ดออกแล้วเท่ากับ 2 ต่อ 1 โดยปริมาตร แม้ว่าการสกัดด้วยวิธีนี้จะป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการสกัดโพลิโกแซคคาไรด์แต่วิธีนี้ยังพบว่ามีต้นทุนของเอทานอลที่ค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องใช้ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังทำให้ได้เอทานอลที่ใช้แล้วจำนวนมาก ดังนั้นสามารถลดต้นทุนดังกล่าวได้โดยการนำเอทานอลมาทำให้เข้มข้นอีกครั้งก่อนนำกลับไปใช้ในการสกัดในครั้งถัดไป อีกประการหนึ่งคือในขั้นตอนการแยกเมล็ดแก้วมังกรออกซึ่งเป็นขั้นตอนที่ใช้เวลาค่อนข้างนานและค่อนข้างยุ่งยาก หากต้องการสกัดในระดับกึ่งอุตสาหกรรมหรืออุตสาหกรรมอาจไม่จำเป็นจะต้องแยกเมล็ดออกก่อนแต่ในขั้นตอนการสกัดจะต้องไม่ทำให้เมล็ดแก้วมังกรแตก เนื่องจากเมล็ดแก้วมังกรเมื่อแตกจะทำให้มีเศษเมล็ดซึ่งมีสีดำปนกับสารสกัดและยากต่อการแยกในขั้นสุดท้าย
3. โพลิโกแซคคาไรด์ที่พบในแก้วมังกรทั้ง 2 สายพันธุ์มีขนาดโมเลกุลใกล้เคียงกันและมีปริมาณไม่แตกต่างกัน ซึ่งประกอบด้วย 2 ขนาดโมเลกุลที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 787-911 และ 273-275 คาลตัน นั่นคือประกอบด้วยน้ำตาล 4-5 หน่วย และ 2 หน่วย อย่างไรก็ตามน้ำตาลทั้ง 2 กลุ่มที่พบยังไม่ทราบว่าเป็นน้ำตาลชนิดใด ทราบแต่เพียงว่าน้ำตาล 2 หน่วยที่พบไม่ใช่ น้ำตาลซูโครส การหาชนิดของน้ำตาลแต่ละกลุ่มสามารถทำได้โดยการแยกน้ำตาลแต่ละกลุ่มออกจากกันด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี หลังจากนั้นจึงนำวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลหลังผ่านการย่อยทางเคมีหรือเอนไซม์ หาชนิดพันธะโดยการทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

methylations วิเคราะห์ด้วย GC/MS และยืนยันโครงสร้างทางเคมีด้วย NMR ซึ่งอาจศึกษาในงานวิจัยขั้นถัดไป

4. การทำให้สารสกัดบริสุทธิ์ในงานวิจัยนี้ยังมีข้อบกพร่องอยู่ เนื่องจากผลการวิเคราะห์ด้วย HPSEC ยังพบว่าสารสกัดยังมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวปะปนอยู่กับโพลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณค่อนข้างสูงคือ ประมาณ 60% ทั้งนี้เนื่องจากยังไม่มีขั้นตอนการแยกน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวออกจากโพลิโกแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพสูง แม้ในทางการค้ามีวิธีทำบริสุทธิ์ที่มีประสิทธิภาพสูงโดยใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟี แต่ในทางปฏิบัติทำได้ยากเนื่องจากการทำบริสุทธิ์วิธีนี้มีต้นทุนสูงมาก อีกทั้งตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอน โครมาโตกราฟีมีความเจือจางมากซึ่งต้องเพิ่มขั้นตอนการทำให้เข้มข้นและต้องใช้เวลาอันยาวนาน อย่างไรก็ตามแนวทางหนึ่งที่สามารถทำได้คือโพลิโกแซคคาไรด์ที่บริสุทธิ์มากขึ้นและมีความเป็นไปได้ในระดับอุตสาหกรรมที่ใช้น้ำตาลน้อยกว่า คือการกรองในระดับนาโน ทั้งนี้เพราะน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมีขนาดเล็ก การลดปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวควรกระทำก่อนการตกตะกอนด้วยเอทานอล
5. โพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีคุณสมบัติบางประการต่อการเป็นสารพรีไบโอติก เช่น คุณสมบัติการต้านการย่อยด้วยสภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์ ซึ่งโดยทั่วไปน้ำตาลมีคุณสมบัตินี้เนื่องจากกรดในกระเพาะอาหารไม่มีความจำเพาะต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรต โดยปกติทั่วไปกรดในกระเพาะอาหารมีค่าพีเอชประมาณ 2-4 ซึ่งที่ระดับความเป็นกรดในช่วงนี้น้ำตาลสามารถต้านทานการย่อยได้ ผลการทดลองนี้พบว่าการย่อยด้วยกรดกระเพาะอาหารเกิดขึ้นได้ไม่เกิน 4% แสดงว่าโพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีพันธะที่แข็งแรง แม้ว่าการย่อยเกิดขึ้นได้ตีมากที่พีเอช 1 แต่ในความเป็นจริงน้อยมากที่กรดในกระเพาะอาหารจะมีค่าความเป็นกรดระดับนี้
6. การทดสอบการต้านทานการย่อยโพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้ด้วยเอนไซม์อะฟาอะมัยเลส พบว่าโพลิโกแซคคาไรด์สามารถต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ทดสอบแม้ว่าจะมีคุณสมบัติในด้านนี้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากโพลิโกแซคคาไรด์สามารถถูกย่อยได้สูงสุดประมาณ 35% ภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดนี้เกิดขึ้นในปากภายในระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที ซึ่งควรใช้อัตราการย่อยสูงสุดไม่เกิน 10% การวิจัยนี้ยังไม่ได้ทดสอบคุณสมบัติการต้านการย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารที่สมบูรณ์เนื่องจากในระบบทางเดินอาหารนอกจากเอนไซม์อะฟาอะมัยเลสแล้วยังมีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโพลิโกแซคคาไรด์อีกหลายชนิด โดยเฉพาะเอนไซม์ที่หลั่งจากตับอ่อน (pancreatic enzyme) ซึ่งปกติจะสามารถย่อยโพลิโกแซคคาไรด์ได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นการรับประทานโพลิโกแซคคาไรด์ที่มีในแก้วมังกรควรด้านการย่อยโดยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารและไปถึงลำไส้ใหญ่เพื่อให้เกิดการหมักได้ไม่น้อยกว่า 60%

7. โพลิโกแซคคาไรด์ในแก้วมังกรแสดงคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 ได้ดีแต่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* 702715 ได้ต่ำกว่า ขณะที่การทดลองนี้พบว่าอินนูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกทางการค้าที่ได้รับความนิยมใช้อย่างแพร่หลายสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ โพลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากแก้วมังกรซึ่งมีเนื้อสีขาวและมีความหวานเล็กน้อยจึงเหมาะต่อการนำไปผสมหรือเติมลงในผลิตภัณฑ์นมหรือโยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของโปรไบโอติกกลุ่มแลคโตบาซิลลัส การผสมพรีไบโอติกร่วมกับโปรไบโอติกซึ่งเรียกว่าซินไบโอติก (synbiotic) จะได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากกว่าการใช้พรีไบโอติกหรือโปรไบโอติกเพียงอย่างเดียว

บรรณานุกรม

- บัญชา อุไรกุล, ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, ทิพรรัตน์ หงษ์ทริคีรี, สุพิชญา จันทะชุม, ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์, วันทนา เจริญมงคล, สุภิญญา ติวตระกูล และ อรุณพร อิฐรัตน์. 2550. รายงานการวิจัยเรื่อง “การศึกษาแหล่งของพรีไบโอติกจากพืชไทยบางชนิด”. สถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- บัญชา อุไรกุล, ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, ทิพรรัตน์ หงษ์ทริคีรี, ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์, เบญจมาส เชียรศิลป์, งาม แยมแสงสังข์, ผกามาส เจษฎ์พัฒนานนท์, กุลชนารัฐ ประเสริฐสิทธิ์, วิวัฒน์ แซ่หลี่, เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์ และ สันศักดิ์ วิเชียรโชติ. 2551. รายงานการวิจัยเรื่อง “การออกแบบและพัฒนาเครื่องสกัดไหลสวนทางแบบต่อเนื่อง การพัฒนาระบบลำไส้ใหญ่จำลอง และการศึกษาพรีไบโอติกในระดับโรงงานต้นแบบ”. สถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- เปรมปรี ฅ สงขลา. 2542. แก้วมังกรเวียดนาม. เมืองไม้ผล. น. 12-97.
- พรรณิย์ วิชชาชู. 2544. แก้วมังกรพันธุ์ไทย. กรมวิชาการเกษตร. น. 31-38.
- ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์. 2542. Functional foods: The Japanese approach. เอกสารประกอบคำบรรยายประชุมวิชาการ เรื่อง “กินอย่างไรในศตวรรษที่ 21” ณ โรงแรมเซ็นทรัลพลาซ่า ลาดพร้าว วันที่ 17- 18มิถุนายน.25-34.
- สมบัติ ทัพไทย. 2544. จับตาแก้วมังกรแดงไม้ผลอนาคตที่น่าสนใจ. เมืองไม้ผล. น. 39-46.
- สุรพงษ์ โกสิยะจินดา. 2541. แก้วมังกร. กสิกร 71(5). น. 414-419.
- Battermann, W. 1997. Lactulose powder-main technological properties and its relevance in functional food. Internal Report Solvay Deutschland GmbH (Report no. AWTLAC 12.041.97).
- Bornet, F.R. 1994. Undigestible sugars in food products. Am. J. Clin. Nutr. 59: 763S-769S.
- Bouhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Flourie, B., Bornet, F. and Rambaud, J-C. 1999. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases faecal bifidobacteria in healthy humans. J. Nutr. 129: 113-116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bucke, C. 1996. Oligosaccharides synthesis using glycosidases. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 67: 217-220.
- Cummings, J.H. and Macfarlane, G.T. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Brit. J. Nutr.* 87(Suppl. 2): S145-151.
- Crittenden, R. G. and Playne, M. J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci & Technol.* 7: 353-361.
- De Leenheer, L. and Hoebregs, H. 1994. Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. *Starch.* 46(5): 193-196.
- Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B. and Roberfroid, M. B. 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *British Journal of Nutrition.* 81(suppl. 1): S1-S27.
- Djouzi, Z. and Andrieux, C. 1997. Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora. *Brit. J. Nutr.* 78: 313-324.
- Doyle, E. M., Noone, A. M., Kelly, C. T. and Fogarty, W. M. 1999. Comparison of the action pattern of two high maltose-forming α -amylases on linear maltooligosaccharides. *Enzyme Microb. & Technol.* 25: 330-335.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Edens, N.K. 1999. Representative components of functional food science. *Nutrition Today.* 34(4): 152-154.
- Eggleston, G. and Cote, G.L. 2003. Oligosaccharides in food and agriculture. In *Oligosaccharides in Food and Agriculture*. Eggleston, G. and Cote, G.L. (eds). pp 1-14. ACS Press, Washington DC.
- Ellegard, L., Andersson, H. and Bosaeus, I. 1997. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *Europe. J. Clin. Nutr.* 51: 1-5.

- Garegg, P.J. 1990. Phase-transfer for selective substitutions in carbohydrates and inositols. Abstracts of Papers of the American Chemical Society. 199: 10-15.
- Gibson, G. R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27: 1–93.
- Kim, S., Kim, W. and Hwang, I.K. 2003. Optimization for the extraction and purification of oligosaccharides from defatted soybean meal. *Internal. J. Food Sci. & Technol.* 38: 337-342.
- Koga, Y., Shibuta, T. and O'Brien, R. 1993. Soybean oligosaccharides. In *Oligosaccharides: Production, Properties and Applications*. Nakakuki, T. (ed). pp 175-203. *Japanese Technol. Rev.* 3(2): 175-203.
- Kono, T. 1993. In *Oligosaccharides: Production, Properties, and Applications: Fructooligosaccharides*. Japanese Technology Reviews, Section E: Biotechnology vol. 3. No.2. Nakakuki, T. (ed). p. 55-78. Gordon and Breach Science Publishers, UK.
- Korakli, M., Ganzle, M.G. and Vogel, R.F. 2002. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J. Appl. Microb.* 92: 958-965.
- Matsubara, Y., Iwasaki, K., Nakajima, M., Nabetani, H. and Nakao, S. 1996. Recovery of oligosaccharides from steamed soybean wastewater in tofu processing by reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(3): 421-428.
- Milner, JA. 1998. Do “functional foods” offer opportunities to optimize nutrition and health? *Food Technology.* 52(11): 24-26.
- Milner, JA. 1999. Biomarkers for evaluating benefits of functional foods. *Nutrition Today.* 34(4): 146-148.
- Nakada, T., Nishimoto, T., Chaen, H. and Fukuda, S. 2003. Kojioligosaccharides: application of kojibiose, phosphorylase on the formation of various kojioligosaccharides. In *Oligosaccharides in Food and Agriculture*. Eggleston, G. and Cote, G.L. (eds). pp 104-117. ACS Press, Washington DC.

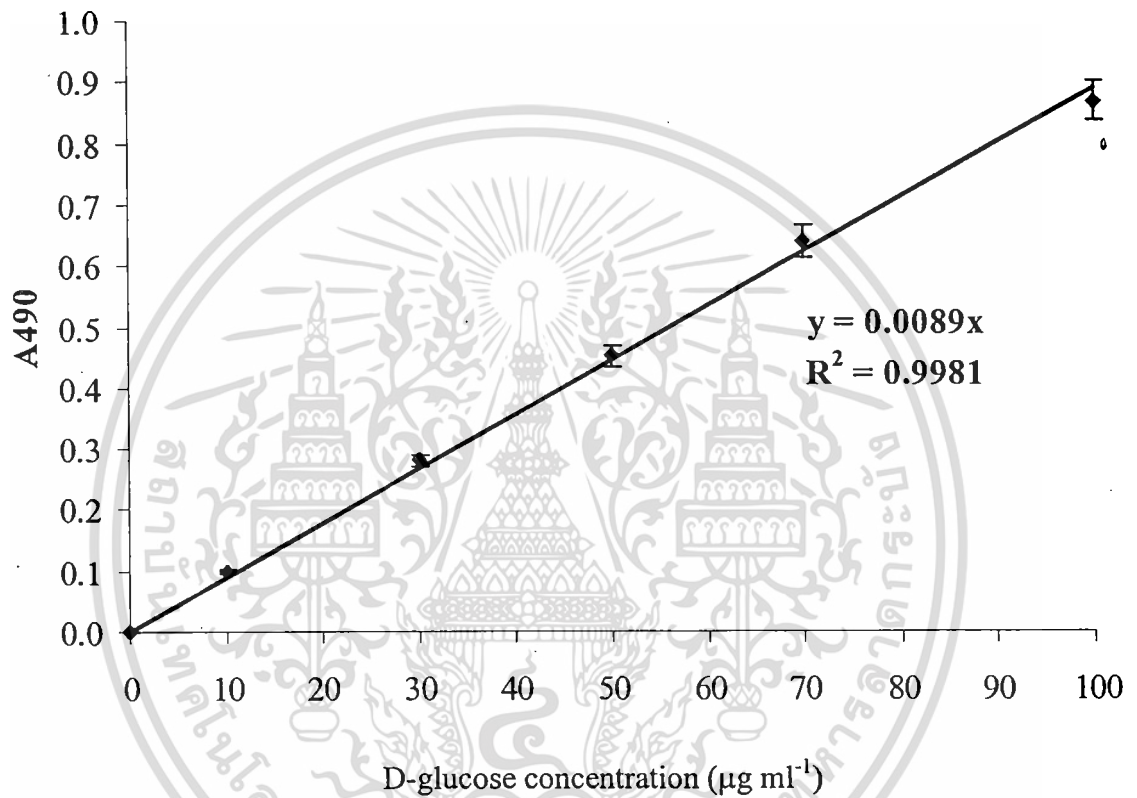
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Niva, M. 2007. All foods affect health: understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented. *Appetite*. 48: 384-393.
- Pariza ,MW. 1999. Functional foods: technology ,functionality ,and health benefits. *Nutrition Today*. 34(4): 150-151.
- Pszczola ,DE. 2000. Genes and diet: The specialized role ingredients may play. *Food Technology*. 54(10): 82-89.
- Rastall, R.A. 2000. Emerging prebiotics. In *LFRA Ingredients Handbook: Prebiotics and Probiotics*. Gibson, G.R. and Angus, F. (eds). pp. 69-83. Leatherhead Publishing, Surrey.
- Rastall, R. A. and Bucke, C. 1992. Enzymatic synthesis of oligosaccharides. *Biotechnol. Gen. Eng. Rev.* 10: 253-281.
- Roberfroid, M.B., Loo, J.A.E. and Gibson, G.R. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.* 128: 11-19.
- Sako, T., Matsumoto, K., & Tanaka, R. 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *International Dairy Journal*. 9:69–80.
- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B. and Lugasi, A. 2008. Functional food: product development, marketing and consumer acceptance. *Appetite* 51: 456–467.
- Sloan, A. E. 2004. The top ten functional food trends. *Food Technology*. 58: 28-51.
- Spence, J. T. 2006. Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: S4–S6.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. and Carle, R. 2002. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. *Food Chemistry*. 77:101–106.
- Timmermans, E. 1994. Lactose: its manufacture and physicochemical properties. In *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*. van Bekkum, H., Roper, H. and Voragen, A.G.J. (eds). pp. 93-113. VCH-Weinheim, London.
- Tungland, B.C. 2003. Fructooligosaccharides and other fructans: structures and occurrence, production, regulatory aspects, food applications, and nutritional health significance. In *Oligosaccharides in Food and Agriculture*. Eggleston, G. and Cote, G.L. (eds). pp 135-152. ACS Press, Washington DC.

- Vernazza, C.L., Rabiou, B.A. and Gibson, G.R. 2006. In *Prebiotics: Development and Application: human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics*. Gibson, G.R. and Rastall, R.A. (eds). John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, England. 1-28.
- Voragen, A.G.J. 1998. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends Food Sci. & Technol.* 9: 328-335.
- Wang, X. and Gibson, G. R. 1993. Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 373-380.
- Wichienchot S, Prasertsan P, Hongpattarakere T, Gibson GR and Rastall RA. 2006a. *In vitro* fermentation of mixed linkage gluco-oligosaccharides produced by *Gluconobacter oxydans* NCIMB 4943 by the human colonic microflora. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 7, 7-12.
- Wichienchot S, Prasertsan P, Hongpattarakere T, Gibson GR and Rastall RA. 2006b. *In vitro* three-stage continuous fermentation of gluco-oligosaccharides produced by *Gluconobacter oxydans* NCIMB 4943 by the human colonic microflora. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 7, 13-18.
- Wong, C.H., Halcomb, R.L., Ichikawa, Y. and Kajimoto, T. 1995. Enzymes in organic synthesis: application to the problem of carbohydrate recognition. *Angew. Chem. Int. Ed.* 34: part 1: 412-432; part 2: 521-546.
- Xiaoli, X., Liyi, Y., Shuang, H., Wei, L., Yi, S., Hao, M., Jusong, Z., Xiaoxiong, Z. 2008. Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*. 111: 215-219.

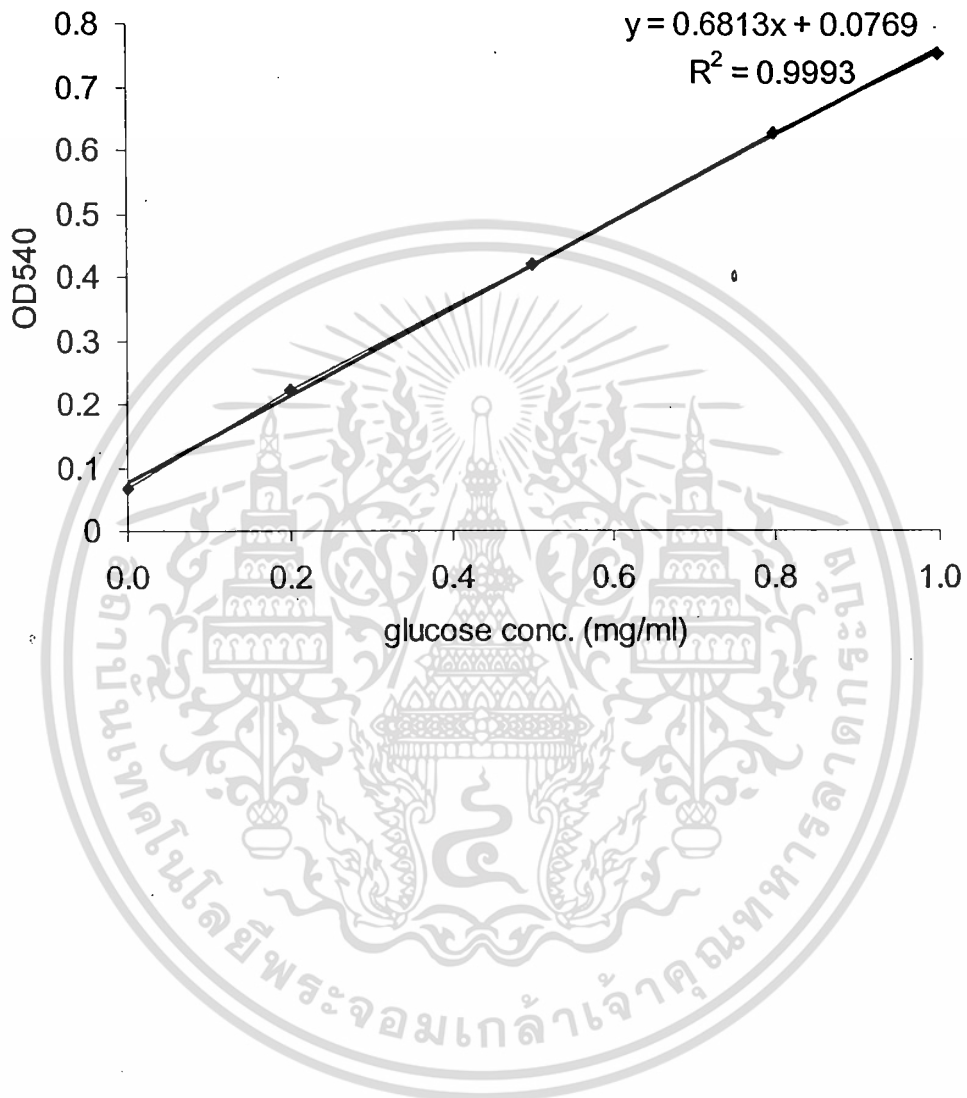
ภาคผนวก

1. กราฟมาตรฐานคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก



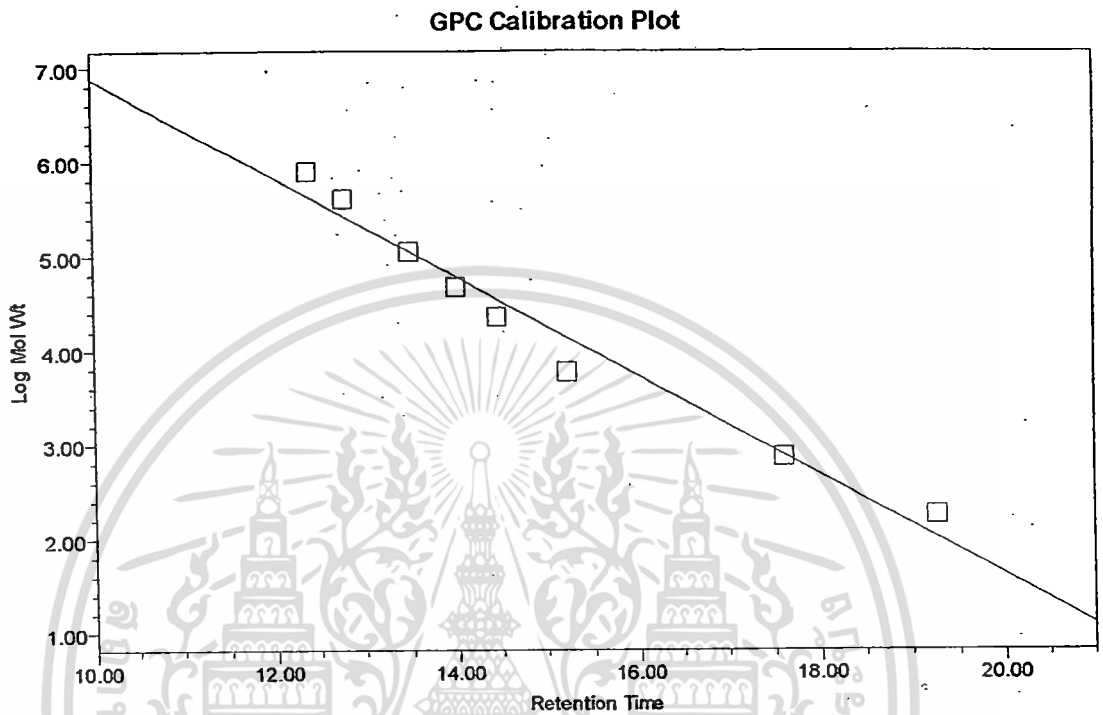
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส-กรดซาลิไซลิก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลของสารเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPSEC



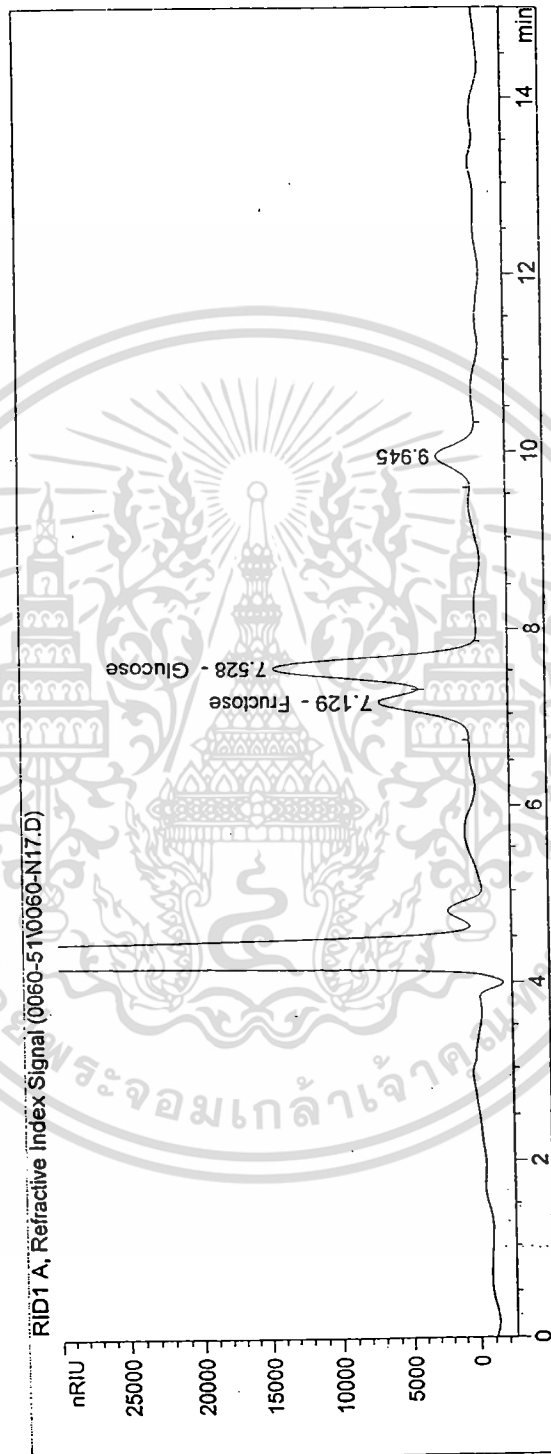
GPC Calibration Table

	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Log Mol Wt
1	788000	12.378	5.896526
2	404000	12.781	5.606381
3	112000	13.488	5.049218
4	47300	13.996	4.674861
5	22800	14.460	4.357935
6	5900	15.228	3.770852
7	738	17.603	2.868056
8	180	19.263	2.255273

$$\text{Equation Log Mol Wt} = 1.21\text{e}+001 - 5.26\text{e}-001 T^{\wedge}1$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

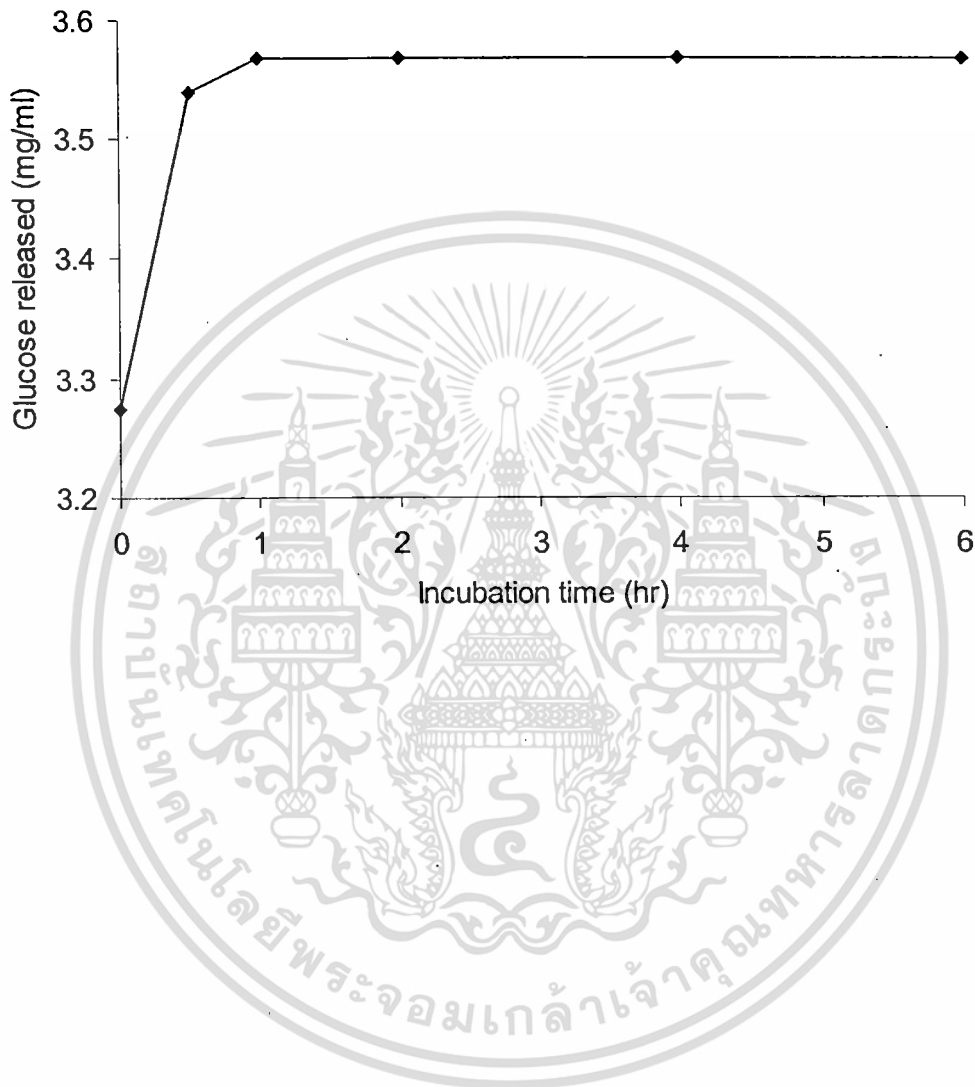
4. โครมาโตแกรมของสารสกัดแก้วมังกรวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

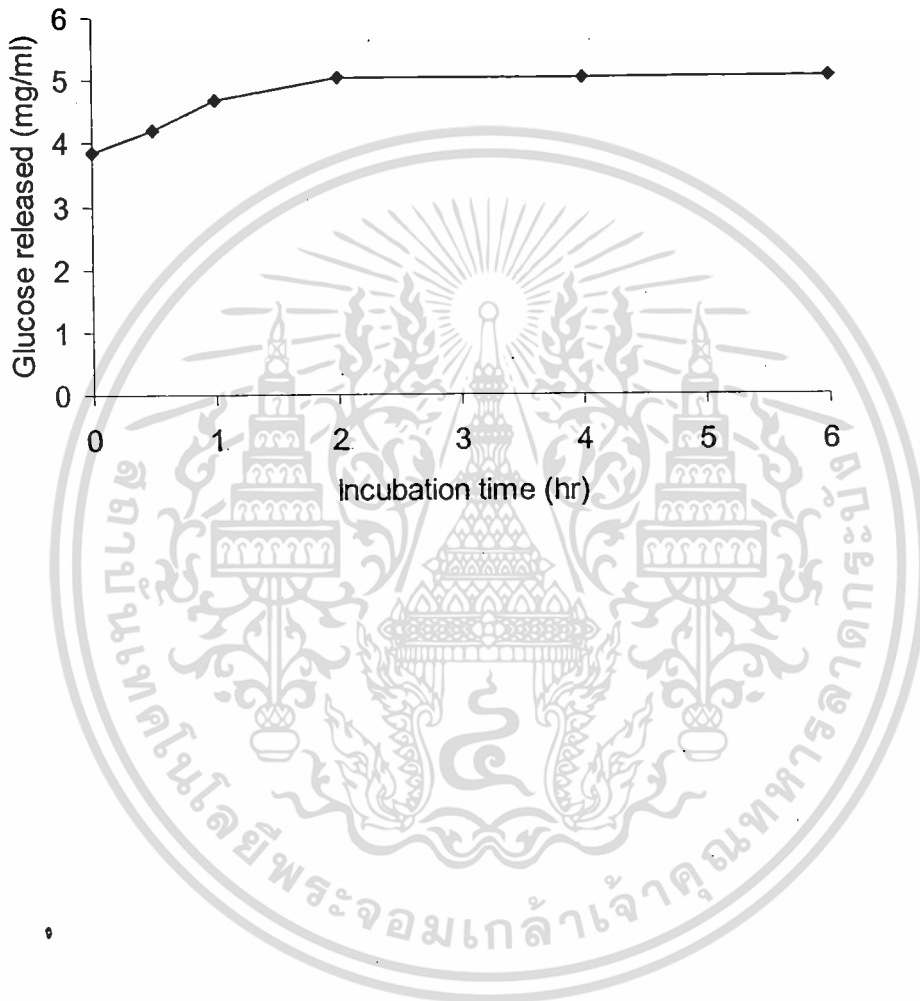
5. กราฟปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เมื่อย่อยด้วยสภาวะกรด

จำลองในกระเพาะอาหารมนุษย์ที่พีเอช 2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดแก้วมังกรที่ผ่านการทำบริสุทธิ์เมื่อย่อยด้วย เอนไซม์อะฟาอะมัยเลสที่พีเอช 7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้