

การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้

STUDY OF PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF
FRUITS AND VEGETABLES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF
FRUITS AND VEGETABLES



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE

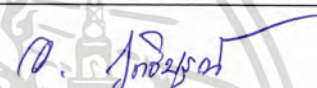
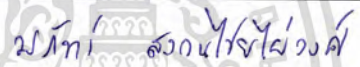

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2014

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้ Study of Phytochemical Properties of Fruits and Vegetables
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนวรรณ ญาณโสทธิ รหัสนักศึกษา 54050343 นางสาวไอลดา จงใจเทศ รหัสนักศึกษา 54050473
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.อารี ฤทธิบุรณ์ ประธานกรรมการ	
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	
รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนวรรณ ญาณโสทธิ รหัสนักศึกษา 54050343 นางสาวไอลดา จงใจเทศ รหัสนักศึกษา 54050473
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสสมบัติ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ซึ่งสกัดด้วยเอทานอล มาศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีต่างๆ เช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ สมบัติการต้านเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านเบาหวาน การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารสกัดหยาบที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงมากคือสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด (*Garcinia mangostana*) และผลมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 440.73 และ 453.50 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ตามลำดับ และมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 2.99 และ 3.51 มิลลิโมลของเหล็กเพอรัสต่อกรัมของสารสกัด ทำการทดสอบโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างสูงคือ สารสกัดหยาบจากเม็ดบัว (*Nelumbo nucifera*) เมล็ดมะเขว่น (*Zanthoxylum limonella*) ต้นแปม (*Acanthopanax trifoliatum*) ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas*) ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง (*Chrysophyllum cainito*) เนื้อในผลน้อยหน่า (*Annona squamosa*) เมล็ดข้าวดำ (*Oryza sativa*) ต้นบัวบก (*Centella asiatica*) ใบแปะก๊วย (*Ginkgo biloba*) ใบย่านาง (*Tiliacora triandra*) เนื้อในผลกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) และเนื้อในผลผลกล้วยไข่ (*Musa acuminata*) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1,340.86 ถึง 7,690.25 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.19 ถึง 0.19 มิลลิโมลของเหล็กเพอรัสต่อกรัมของสารสกัด ในบรรดาสารสกัดจากพืชทั้งหมดที่ทำกรทดสอบสารสกัดหยาบจากวุ้นในใบว่านหางจระเข้ (*Aloe vera*) มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีที่สุด (ร้อยละ 31.55) สำหรับการศึกษากิจกรรมการต้านเบาหวาน สารสกัดหยาบจากใบย่านางมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ดีที่สุด (ร้อยละ 78.28) ขณะที่สารสกัดหยาบจากผลหม่อน (*Morus alba*) มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงที่สุด (ร้อยละ 59.63) และในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (416.07 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด เมล็ดมะเขว่น และต้นแปม ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูง (397.36, 190.52 และ 149.86 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) ขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุดมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด (351.60 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะเขว่น และต้นแปม ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูง

แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(135.36 และ 113.25 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ในสารสกัดจากพืชทั้งหมด สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณมากที่สุดได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด (188.62 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือ หัวหอมแดงไทย (*Allium oschaninii*) ผลมะพลูด (*Elaeagnus latifolia*) เนื้อในผลสับปะรด (*Ananas comosus*) เม็ดบัว หัวมันต่อเผือก (*Ipomoea batatas*) เมล็ดข้าวดำ หัวแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) เนื้อในผลกล้วยไข่ เนื้อในผลสละ (*Salacca zalacca*) หัวมันเทศ (*Ipomoea batatas* (Linn.) Lamk.) และเนื้อในผลกล้วยน้ำว้าซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ค่อนข้างมาก (168.69, 155.51, 155.23, 147.49, 137.13, 136.91, 130.13, 129.22, 127.76, 125.91 และ 124.85 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกสารสกัดหยาบจากเม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ เนื้อในผลกล้วยไข่ เนื้อในผลกล้วยน้ำว้า และเนื้อในผลสับปะรดที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดี และมีสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ค่อนข้างมาก มาศึกษาผลต่อการเจริญและการหมักโยเกิร์ตโดยกล้ำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366) การเติมสารสกัดหยาบจากเม็ดบัวลงในโยเกิร์ตมีผลทำให้แบคทีเรียโพรไบโอติกเพิ่มจำนวนได้มากที่สุด (จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.24 log CFU ต่อกรัม) หลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่การเติมสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวดำ เนื้อในผลกล้วยไข่ และเนื้อในผลสับปะรดมีผลทำให้แบคทีเรียกรดแลคติกเจริญได้ค่อนข้างดี (จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.12 ถึง 2.19 log CFU ต่อกรัม) ส่วนในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากเนื้อในผลกล้วยน้ำว้ามีจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดน้อยที่สุด (จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.02 log CFU ต่อกรัม) หลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

คำสำคัญ : กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส กิจกรรมการต้านเบาหวาน พฤษเคมี โพรไบโอติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study of Phytochemical Properties of Fruits and Vegetables
Students	Miss Kanokwan Yansodthee Student ID 54050343 Miss Ilada Jongjaited Student ID 54050473
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Academic Year	2014
Advisor	Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

Abstract

In this study, crude ethanolic extracts of 34 fruits and vegetables were tested for their phytochemical properties, such as, antioxidant activities, anti-acetylcholinesterase activities, anti-diabetic activities, total phenolics and flavonoids. The plant extracts with highest antioxidant activity were the extracts of mangosteen (*Garcinia mangostana*) fruit peels and Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica*) fruit extracts with the EC₅₀ of 440.73 and 453.50 µg extract/mg DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), respectively, by DPPH radical scavenging activity method and reducing capacity of 2.99 and 3.51 mmol Fe(II) /g extract respectively by ferric reducing antioxidant power (FRAP) method, while the plant extracts with relatively high antioxidant activity were the extracts of lotus seeds (*Nelumbo nucifera*), kamchat ton seeds (*Zanthoxylum limonella*), lopea tree whole plants (*Acanthopanax trifoliatum*), karunda fruits (*Carissa carandas*), star apple fruits (*Chrysophyllum cainito*), sugar apple fruit pulps (*Annona squamosa*), black rice grains (*Oryza sativa*), asiatic pennywort whole plants (*Centella asiatica*), maidenhair tree leaves (*Ginkgo biloba*), bamboo grass leaves (*Tiliacora triandra*), cultivated banana fruit pulps (*Musa sapientum*) and pisang mas fruit pulps (*Musa acuminata*) with the EC₅₀ of 1,340.86 - 7,690.25 µg extract/mg DPPH and reducing capacity of 1.19-0.19 mmol Fe(II)/g extract. Among all plant extracts tested, star cactus (*Aloe vera*) gel extract had the strongest acetylcholinesterase inhibitory activity (31.55 % inhibition). For the study of anti-diabetic activities, the bamboo grass leaf extract had strongest α-amylase inhibitory activity (78.28 % inhibition), while the white mulberry (*Morus alba*) fruit extract had strongest α-glucosidase inhibitory activity (59.63 % inhibition) among all extracts tested. The crude extracts of Indian gooseberry fruit had highest total phenolic contents (416.07 mg GAE/g extract), followed by the extracts of mangosteen fruit peels, kamchat ton seeds and lopea tree whole plants with relatively high phenolics (397.36, 190.52 and 149.86 mg GAE/g extract respectively). The mangosteen fruit

peels extract had highest total flavonoids (351.60 mg CE/g extract), followed by the extracts of kamchat ton seeds and lopea tree whole plants with quite high total flavonoids (135.36 and 113.25 mg CE/g extract respectively). In addition, indigestible polysaccharide contents of all plant extracts were also analyzed. The extracts with highest indigestible polysaccharide contents were the extracts of mangosteen fruit peels (188.62 mg/g extract) followed by the extract of shallot bulbs (*Allium oschaninii*), elaeagnus latifolia fruits (*Elaeagnus latifolia*), pineapple fruit pulps (*Ananas comosus*), lotus seed, purple sweet potato bulbs (*Ipomoea batatas*), black rice grains, jerusalem artichoke bulbs (*Helianthus tuberosus* Linn.), pisang mas fruit pulps, salak plum fruit pulps (*Salacca zalacca*), sweet potato bulbs (*Ipomoea batatas* (Linn.) Lamk.) and cultivated banana fruit pulps with relatively high indigestible polysaccharide contents (168.69, 155.51, 155.23, 147.49, 137.13, 136.91, 130.13, 129.22, 127.76, 125.91 and 124.85 mg/g extract respectively). Thus, the extract of lotus seed, black rice grains, pisang mas fruit pulps, cultivated banana fruit pulps and pineapple fruit pulps with relatively high amounts of indigestible polysaccharide and strong antioxidant activities were selected for study their effect on growth and fermentation of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 and *Streptococcus thermophilus* BCC 5366). The addition of lotus seed extract in yogurt resulted in highest proliferation of probiotic bacteria with 2.24 logCFU/g increase of total lactic acid bacterial (LAB) counts, while the addition of black rice grain, pisang mas fruit pulp and pineapple fruit pulp extracts caused good growth of total LAB in yogurt (2.12-2.19 logCFU /g increase). However, yogurt with cultivated banana fruit pulps extract added had less increase of total LAB counts with 2.02 log unit increase at 24 hour fermentation.

Keywords : Antioxidant activity, Anti-acetylcholinesterase activity, Anti-diabetic activity, Phytochemical, Prebiotic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงการพิเศษในหัวข้อเรื่อง “การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้” ของนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีให้แก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ รศ.อารี ฤทธิบุรณ์ และกรรมการสอบโครงการพิเศษ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ รวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจ และให้คำปรึกษาในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจ และมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงการพิเศษนี้

นางสาวกนกรรณ

ญาณโสทธิ

นางสาวไอลดา

จงใจเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูป	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 อนุมูลอิสระ	6
2.1.1 การเกิดอนุมูลอิสระ	6
2.1.1.1 ไมโทคอนเดรียทำงานผิดปกติ	6
2.1.1.2 กระบวนการเมแทบอลิซึม	7
2.1.1.3 กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท	7
2.1.1.4 เมแทบอลิซึมของสารสื่อประสาท	7
2.1.1.5 สารพิษต่อเซลล์ประสาท	7
2.1.2 ปัจจัยภายในร่างกาย	8
2.1.2.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation)	8
2.1.2.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอ็นไซม์เป็นตัวเร่ง	9
2.1.2.3 กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว	10
2.1.2.4 โลหะทรานสิชัน (transition metal)	10
2.1.3 ปัจจัยภายนอกร่างกาย	10
2.1.3.1 ยารักษาโรค	10
2.1.3.2 รังสี	10
2.1.3.3 ควันบุหรี	10
2.1.3.4 ไอโซน	10
2.1.4 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ	11
2.1.4.1 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์	12
2.1.4.2 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดส์	12
2.1.4.3 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดส์	12
2.1.5 ภาวะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป (Oxidative stress)	12
2.1.5.1 โรคที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไปที่เกี่ยวข้อง	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบุคลากรในงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.1.5.1.1 โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด (Vascular diseases)	13
2.1.5.1.2 โรคมะเร็ง (Cancer)	13
2.1.5.1.3 โรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory bowel disease)	14
2.1.5.1.4 โรคกระดูกพรุน (Osteoporosis)	14
2.1.5.1.5 การเกิดริ้วรอยก่อนวัย (Aging)	15
2.1.5.1.6 โรคสมองเสื่อม (Neurodegenerative diseases)	15
2.1.5.1.7 โรคเบาหวาน (Diabetes)	17
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ	18
2.2.1 วิธีวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน	19
2.2.1.1 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)	19
2.2.1.2 วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)	20
2.2.1.3 วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)	21
2.2.1.4 วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay (ABTS assay)	21
2.3 สารพฤกษเคมี	22
2.3.1 วิตามินซี (Vitamin C)	23
2.3.2 วิตามินอี (Vitamin E)	23
2.3.3 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)	23
2.3.4 กลูโคซิโนเลท (Glucosinolates)	24
2.3.5 โพลีฟีนอล (polyphenols)	24
2.3.5.1 กรดฟีนอลิก (phenolic acid)	25
2.3.5.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)	25
2.3.5.3 ลิกแนน (lignans)	27
2.3.5.4 แทนนิน (tannins)	28
2.4 ผักและผลไม้	28
2.4.1 ผัก (Vegetables)	28
2.4.2 ผลไม้ (Fruits)	29
2.4.3 เส้นใยอาหาร (Fiber)	30
2.4.3.1 ประโยชน์ต่อสุขภาพของเส้นใยอาหาร	32
2.4.3.1.1 ผลต่อระบบทางเดินอาหาร	32
2.4.3.1.2 ผลต่อการลดระดับคอเลสเตอรอล	32
2.4.3.1.3 ลดการตอบสนองต่อระดับน้ำตาลในเลือด	32
2.4.4 พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย (Non-digestible polysaccharide)	33
2.4.4.1 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ	35
2.4.4.3 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่พบในธรรมชาติ	38
2.4.4.4 การนำโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมาประยุกต์ใช้	38
2.5 พรีไบโอติก (Prebiotic)	39
2.5.1 ชนิดและแหล่งที่มาของพรีไบโอติก	40
2.5.2 ความสามารถในการหมักและการคัดเลือกของพรีไบโอติก	40
2.5.3 ความสามารถในการย่อยของพรีไบโอติก	41
2.5.4 การประยุกต์ใช้พรีไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร	41
2.5.5 ผลกระทบของพรีไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก	42
2.5.5.1 น้ำนมแม่และปัจจัยของบีฟีดส์	42
2.5.5.2 ผลกระทบของพรีไบโอติกต่อจำนวนการมีชีวิตรอดของโพรไบโอติก	42
2.5.6 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติก	43
2.5.6.1 โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน	43
2.5.6.2 การลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง	43
2.5.6.3 การดูดซึมแร่ธาตุ	43
2.5.6.4 การควบคุมไขมัน	44
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	44
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	46
3.1 อุปกรณ์	46
3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง	46
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	47
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	47
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	47
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	48
3.2 วิธีการทดลอง	48
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้	48
3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยเอทานอล	48
ความเข้มข้นร้อยละ 80	
3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้	49
3.2.2.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักและผลไม้	49
ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay	
3.2.2.2 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักและผลไม้	50
ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด จากผักและผลไม้	50
3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัด จากผักและผลไม้	51
3.2.5 การศึกษาสมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้	52
3.2.5.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ของสารสกัดจากผักและผลไม้	52
3.2.5.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัด จากผักและผลไม้	52
3.2.6 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารฟรีไปโอติกของสารสกัดหยาบ จากผักและผลไม้	54
3.2.6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย ด้วยกรดและเอนไซม์	54
3.2.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	55
3.2.6.3 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อผลการเจริญ ของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกโดยการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก	55
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	58
4.1 สมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้	58
4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	58
4.1.1.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical	58
4.1.1.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay	58
4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบ จากผักและผลไม้	59
4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบ จากผักและผลไม้	60
4.1.4 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส	61
4.1.5 สมบัติการต้านเบาหวาน	68
4.1.5.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส	68
4.1.5.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	69
4.2 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารฟรีไปโอติกของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้	72
4.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย ด้วยกรดและเอนไซม์	72
4.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดโดยการผลิตโยเกิร์ต	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อถูกนำออกไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ต ที่เติมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกกระหว่างการหมัก	79
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	82
เอกสารอ้างอิง	84
ภาคผนวก	93
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	94
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมี และเอนไซม์ชนิดต่างๆ	95
ภาคผนวก ค การคำนวณ	126
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	143
ภาคผนวก จ การคัดเลือกชนิดของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิต โยเกิร์ตโพรไบโอติก	152
ภาคผนวก ฉ การคัดเลือกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญ ของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก	155
ภาคผนวก ช การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญ ของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก	157

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง	8
2.2 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผัก (ต่อปริมาณ 100 กรัม)	29
2.3 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผลไม้สด (ต่อปริมาณ 100 กรัม)	30
2.4 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยที่มีหน้าที่ bifidogenic ซึ่งที่มีจำหน่ายทางการค้า	34
2.5 กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศที่มีลักษณะเด่นในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์	36
2.6 แสดงประเภทและแหล่งที่พบพรีไบโอติก	41
3.1 ผักและผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด	46
4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส และกิจกรรมการต้านเบาหวานในสารสกัดจากผักและผลไม้	73
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ ที่ทนต่อการย่อยในสารสกัดจากผักและผลไม้	75
4.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติก ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส	78
4.4 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส	80
4.5 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 การชักนำให้เกิด oxidative stress และชักนำให้เกิด OSRD;ROS : reactive oxygen species ; AOX:antioxidants	11
2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง oxidative stress และการตายของเซลล์ หรือความผิดปกติที่เกิดขึ้น	13
2.3 แสดงประเภทต่างๆของสารต้านอนุมูลอิสระ	19
2.4 ปฏิกริยาของ FRAP assay	20
2.5 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)	20
2.6 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt	21
2.7 ประเภทของฟลักซ์เคมีที่แตกต่างกันที่พบในอาหารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ	22
2.8 โครงสร้างของสารจำพวกแคโรทีนอยด์	24
2.9 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก	25
2.10 โครงสร้างของสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์	27
2.11 โครงสร้างของสารจำพวกลิแกแนน	27
2.12 โครงสร้างสารจำพวกแทนนิน	28
2.13 สารประกอบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ผักและผลไม้เป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารที่สำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ ซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินโดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซีและวิตามินเอ และยังมีแร่ธาตุ โดยเฉพาะสารอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) โดยทั่วไปผักและผลไม้ให้พลังงานต่ำและมักเป็นแหล่งที่ดีของเส้นใยอาหาร (fiber) และโพแทสเซียม นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งทำหน้าที่ในฐานะของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) และสารต้านการอักเสบ (Slavin และ Lloyd, 2012) สารพฤกษเคมีเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ไม่ใช่สารอาหารซึ่งมีอยู่ในพืชเป็นสารประกอบที่พบได้ในผลไม้ ผัก ธัญพืช และพืชอาหารชนิดอื่นๆ คาดว่าสารพฤกษเคมีมีมากกว่า 5,000 ชนิดที่แยกได้จากผัก ผลไม้ และธัญพืชแต่ละชนิด (Liu, 2004) สารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในอาหารซึ่งมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (phytochemical antioxidant) ชนิดหลักๆที่มีการรายงานไว้ ได้แก่ 1) สารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งได้แก่ สารฟลาโวนอยด์ (เช่น isoflavones, flavones, flavonols, anthocyanins, flavanols และ flavanones) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) สตีเบน (stilbenes) และลิกแนน (lignans) 2) สารในกลุ่มกลูโคซิโนเลต (glucosinolates) และ 3) สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) (Blasa และคณะ, 2010) ผลของสารต้านอนุมูลอิสระในทางที่มีประโยชน์ในการป้องกันโรคได้เป็นที่ทราบโดยทั่วกันโดยในปัจจุบันมีความตระหนักเพิ่มขึ้นว่าสารอาหารอาจมีบทบาทสำคัญในการช่วยต่อต้านภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidative stress) และความเสียหายที่ถูกชักนำให้เกิดขึ้นโดยอนุมูลอิสระ (free radicals) ดังนั้นสารอาหารบางชนิดและส่วนประกอบของอาหารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญสำหรับการป้องกันการบาดเจ็บจากภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันของร่างกาย มีการคาดการณ์ว่าถ้าลดการรับประทานอาหารที่อุดมไปด้วยสารอาหารและต้านอนุมูลอิสระอาจเพิ่มโอกาสการเกิดภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งอาจทำให้เซลล์เกิดการเสียหาย ดังนั้นการรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลจากธรรมชาตินั้นอาจให้ผลในทางป้องกันโรคที่เกิดจากการชักนำโดยอนุมูลอิสระ (free radical induced diseases) (Rajendran และคณะ, 2014) มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักและผลไม้ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันในร่างกาย (oxidative stress related diseases) ได้แก่ โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวานและอื่นๆ (Slavin และ Lloyd, 2012; Rajendran และคณะ, 2014)

สภาวะความเครียดที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน (oxidative stress) คือการขาดความสมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลออกซิเจนกับอนุมูลไนโตรเจนที่รีแอกทีฟ (reactive oxygen/nitrogen species หรือ ROS/RNS) กับความสามารถของสิ่งมีชีวิตในการต่อสู้กับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการใช้ระบบการต้านออกซิเดชัน สภาวะความเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นนั้นจะทำให้ระบบภายในมีความสามารถลดลงในการต่อสู้กับสิ่งที่เกิดจากการออกซิเดชันซึ่งเข้าโจมตีสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย การสร้างอนุมูลอิสระที่มากเกินไปก่อให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มที่สัมผัสกับอนุมูลอิสระจะสูญเสียสภาพความสามารถในการขนส่งอาหารและการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์และดีเอ็นเอที่เสียหายจะมีศักยภาพในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง ความเสียหายที่ถูกชักนำโดยอนุมูลอิสระในสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน ได้เคยมีการยืนยันแล้วว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค (pathogenesis) และทางพยาธิสรีระวิทยา (pathophysiology) ของหลายโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาต่อสุขภาพ เช่นโรคทางระบบประสาท (neurodegenerative diseases) โรคพาร์กินสัน (parkinson) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรค amyotrophic lateral sclerosis โรคถุงลมโป่งพอง (emphysema disease) โรคหลอดเลือดหัวใจและการอักเสบ โรคต้อกระจก (cataracts) โรคมะเร็ง (cancer) รวมทั้งโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) (Blasa และคณะ, 2010; Pisoschi และ Pop, 2015) ด้วยเหตุนี้การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังดังกล่าว

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) เป็นหนึ่งในโรคสมองเสื่อม (dementia) ที่พบบ่อยที่สุดในผู้สูงอายุโดยคุณลักษณะของโรคนี้จะมีเปลี่ยนแปลงระบบประสาทไปเรื่อยๆโดยความสามารถในการจดจำจะค่อยๆลดลงและส่งผลกระทบต่อการทำงานของสมอง การสูญเสียเซลล์ประสาทและบริเวณปลายประสาท (synapse) ตลอดจนการสะสมของแผ่นเบต้า-อะไมลอยด์ (β -amyloid) ภายนอกเซลล์และ intraneuronal neurofibrillary tangles เป็นสิ่งที่พบในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Mecocci และ Polidori, 2012) พบว่าสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ขาดสารอะซิติลโคลีน (acetylcholine) ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสื่อประสาทที่สำคัญของระบบประสาทส่วนกลางที่ทำหน้าที่ช่วยเพิ่มความจำและส่งเสริมการเรียนรู้ โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคเกี่ยวกับระบบประสาทที่มีผลต่อส่วนที่สำคัญของสมอง รวมทั้งเยื่อหุ้มสมองและระบบลิมบิก (limbic system) และมีคุณลักษณะโดยจะไปลดการจดจำทำให้สูญเสียความทรงจำหรือลดการทำงานของสมอง (Heinrich และ Teoh, 2004) มีรายงานว่าในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ขาดสารอะซิติลโคลีน (White และคณะ, 1977) ซึ่งสารอะซิติลโคลีนเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณในการขนถ่ายในบริเวณปลายประสาท (synapse) และหลังจากส่งสัญญาณในบริเวณปลายประสาทแล้วจะถูกไฮโดรไลซ์ (Hydrolyzed) เป็นโคลีนและอะซิเตทในปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ (Mata และคณะ, 2007) ดังนั้นการใช้สารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจึงเป็นกลยุทธ์หนึ่งในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ Tabet (2006) กล่าวว่าสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสช่วยป้องกันเซลล์จากความเสียหายของอนุมูลอิสระ (free radical toxicity) และการบาดเจ็บที่เกิดจากการชักนำโดยเบต้า-อะไมลอยด์ (β -amyloid-induced injury) และช่วยเพิ่มการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสบางชนิด เช่น Physostigmine และ tacrine เคยถูกนำมาใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ โดยสามารถขัดขวางการดำเนินของโรคอัลไซเมอร์ได้ แต่อย่างไรก็ตามสารทั้งสองชนิดนี้มีข้อเสีย คือ Physostigmine มีกิจกรรมที่ไม่ดีต่อช่องปาก การซึมผ่านสมองและการวัดพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic) ในขณะที่ tacrine มีผลในการเป็นพิษต่อตับ (hepatotoxic) (Sugimoto, 2008) ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะค้นหาพืชที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและมีกิจกรรมต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ด้วย งานวิจัยจำนวนมากที่มีจุดประสงค์ในการลดผลกระทบจากสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน โดยใช้ตัวจับอนุมูลอิสระ (free radical scavengers) ซึ่งได้มาจากพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระที่ glutathione และสารที่มีหมู่ -RH อื่นๆ วิตามิน โพลีฟีนอลและอื่นๆ (Butterfield และคณะ, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่ผักและผลไม้ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงจะมีสมบัติยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสด้วย

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคที่เกี่ยวกับการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ที่ส่งผลกระทบต่อเป็นจำนวนมากต่อประชากรโลก ซึ่งโรคเบาหวานเป็นกลุ่มที่มีความผิดปกติต่อระบบเผาผลาญโดยมีลักษณะของสภาวะน้ำตาลในเลือดผิดปกติ เป็นผลมาจากการหลั่งอินซูลินที่มีความบกพร่อง จะทำให้รู้สึกกระหายน้ำมากขึ้น ปัสสาวะบ่อย และมีปริมาณของ ketonemia และ ketonuria เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นอาการที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคเบาหวาน สภาวะน้ำตาลในเลือด (hypoglycemia) เป็นอาการหลักของโรคเบาหวานที่สร้างโดยอนุมูลออกซิเจนที่รีแอคทีฟ (reactive oxygen species หรือ ROS) ที่เป็นสาเหตุของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และเกิดความเสียหายแก่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งอนุมูลออกซิเจนที่รีแอคทีฟมีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เช่น โรคต้อกระจก (cataract disease) โรคระบบประสาท (neuropathy) โรคไต (nephropathy) โรคหัวใจวาย (heart attack) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) และโรคหลอดเลือดหัวใจ (vascular disease) (Patel และคณะ, 2012) มีคนจำนวน 285 ล้านคนได้ถูกวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน ซึ่งจำนวนของผู้ป่วยโรคเบาหวานถูกคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้น 2 เท่าในปี ค.ศ. 2030 ซึ่งจำนวนผู้ป่วยที่เพิ่มมากขึ้นทั่วโลกเป็นสาเหตุสำคัญของความพิการและการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการรักษาพยาบาล (Arulselvan และคณะ, 2014) มียาหลายชนิดที่จำหน่ายและใช้รักษาโรคเบาหวานได้ เช่น biguanides, sulfonylureas, meglitinides, thiazolidinediones สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase inhibitors) ยาในกลุ่ม incretinmimetics สารยับยั้ง dipeptidyl peptidase-IV และอินซูลิน (insulin) ซึ่งยาเหล่านี้ใช้ในการควบคุมและรักษาโรคเบาหวานแต่ยาเหล่านี้ส่วนมากมีผลข้างเคียงที่รุนแรง เช่น ยาในกลุ่ม sulfonylureas มีผลต่อผู้ที่ มีสภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycaemia) ถึงแม้ว่าจะไม่รุนแรงมากนักแต่สามารถทำให้เกิดอาการปวดศีรษะอย่างรุนแรง และทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (Arulselvan และคณะ, 2014) ดังนั้นการใช้พืชในการรักษาโรคเบาหวานจึงเป็นทางเลือกที่ปลอดภัย นอกจากนี้หนึ่งในวิธีการรักษาโรคเบาหวานในช่วงแรกคือการลด post-prandial hyperglycemia วิธีนี้ทำได้โดยการชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ไปไฮโดรไลซ์คาร์โบไฮเดรต เช่น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase) ในระบบทางเดินอาหาร โดยตัวยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตและยังช่วยยืดเวลาในการย่อยคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสาเหตุให้มีการลดลงของอัตราการดูดซึมกลูโคส ดังนั้นจึงทำให้การเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดช้าลง (Loizzo และคณะ, 2013) ซึ่งได้มีรายงานว่าพืชหลายชนิดมีกิจกรรมการต้านเบาหวานในหนูทดลอง (Arulselvan และคณะ, 2014) ส่วนกิจกรรมของการต้านเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสในผักและผลไม้ยังมีผู้รายงานไว้น้อย ซึ่งส่วนใหญ่ผักและผลไม้จะมีสารประกอบที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น แทนนิน (tannins) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) วิตามินซีและวิตามินอี สารต้านอนุมูลอิสระนี้ช่วยป้องกันเซลล์จากกระบวนการออกซิเดชันโดยการยับยั้ง peroxidative chain reaction ดังนั้นจึงมีบทบาทในการต้านเบาหวาน ฉะนั้นจึงน่าสนใจที่จะศึกษากิจกรรมต้านเบาหวานในผักและผลไม้

ผักและผลไม้บางชนิดไม่เพียงแต่จะมีสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติแล้วยังมีสารประกอบที่มีคุณค่าทางอาหารสูงชนิดอื่นๆ รวมทั้งสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย อย่างเช่น เส้นใยอาหาร (dietary fiber) ซึ่งนอกเหนือจากสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (non-starch polysaccharides) ที่ทนต่อการย่อยแล้ว ยังมีสารประกอบอื่นๆ อีกที่ทนต่อการย่อยในลำไส้เล็ก เช่น สารประกอบคาร์บอนไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight carbohydrates) ซึ่งทนต่อการย่อยในลำไส้เล็ก และสารประกอบคาร์บอนไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight carbohydrates) ซึ่งทนต่อการย่อยในลำไส้เล็ก อย่างไรก็ตาม มีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

polysaccharides) แล้วเส้นใยอาหารยังรวมถึงสารคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย (non-digestible carbohydrates) เช่น รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) รีซิสแตนท์มอลโตเด็คทรีน (resistant maltodextrins) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides) และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharides) ซึ่งสารเหล่านี้จัดเป็นสารพรีไบโอติกโดยมีลักษณะทางกายภาพที่สำคัญคือมีความสามารถในการทนต่อการย่อยในลำไส้เล็กแต่จะไปเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ มีรายงานว่าเส้นใยอาหารนอกจากจะมีประโยชน์ในด้านการช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลแล้วยังช่วยควบคุมโรคเบาหวานและช่วยปรับปรุงระบบการย่อยอาหาร นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ กิจกรรมของเส้นใยอาหารนี้เป็นที่รู้จักดีว่าเป็นกิจกรรมพรีไบโอติก (prebiotic activity) (Mudgil และ Barak, 2013) โดย Slavin (2013) ได้กล่าวว่าสารพรีไบโอติกมีประโยชน์ในการช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีประโยชน์ในลำไส้แล้วยังช่วยปรับปรุงการทำงานของผนังลำไส้ และช่วยปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน (host) ช่วยลดจำนวนประชากรเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรค (เช่น clostridia) และยังช่วยส่งเสริมการผลิตกรดไขมันสายสั้นๆ (short chain fatty acid) อีกด้วย Muir และคณะ (2007) ได้รายงานว่าพืชที่พบได้ในธรรมชาติหลายชนิด เช่น กระเทียม แก่นตะวัน หอมแดง หัวกระเทียมต้น และหอมหัวใหญ่ มีสารพรีไบโอติก เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์หรืออินนูลินเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นจึงน่าสนใจค้นหาผักและผลไม้ที่มีสารพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์อะไมเลสปริมาณสูงประกอบกับมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและสมบัติที่มีประโยชน์อื่นๆ ดังกล่าว เพื่อนำมาศึกษาผลต่อการเจริญและการหมักของแบคทีเรียของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตที่ผลิตจากนํ้านมโค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ การต้านเบาหวาน และการต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสในผักและผลไม้

1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในผักและผลไม้

1.2.3 เพื่อศึกษาสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 สกัดสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

1.3.2 ศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการต้านเบาหวาน กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1.3.3 ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกด้วยการหาสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบคุณสมบัติทางด้านพิษเคมี เช่น กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ การต้านเบาหวาน การต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในผักและผลไม้

1.4.2 ทราบสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่วงนอกของอะตอม มักจะไม่เสถียรและมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบคือ superoxide, hydroxyl, peroxy (RO_2^\cdot), alkoxyl (RO^\cdot) และอนุมูล hydroperoxyl (HO_2^\cdot) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ไนตริกออกไซด์ และไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) เป็นอนุมูลที่ประกอบด้วยไนโตรเจน 2 ตัว อนุมูลอิสระที่ประกอบด้วยออกซิเจนและไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนเป็นกลุ่มอื่น ๆ ที่มีปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) กรดไฮโปโบรมัส (HOBr) และ เพอร์ร็อกซีไนเตรท (ONOO^\cdot) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญจะผลิตขึ้นในสัตว์และมนุษย์ ภายใต้สภาวะสรีระวิทยา (physiologic) และพยาธิวิทยา (pathologic) ดังนั้นกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญและกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญเป็นกลุ่มที่รุนแรงและไม่รุนแรง (Fang และคณะ, 2002) อนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวตัวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียรไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน การเกิดอนุมูลอิสระมีหลายกลไกที่แตกต่างกัน (โอภา และคณะ, 2550) ดังนี้

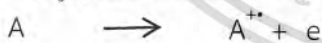
ก. การแตกของพันธะโคเวเลนต์แบบโฮโมไลซิส



ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



2.1.1 การเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($\text{O}_2^{\cdot -}$) และอนุมูลไฮดรอกซี (OH^\cdot) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่าอนุมูลชนิดอื่นๆ อนุมูลอิสระเกิดได้จากหลายสาเหตุ ดังนี้

2.1.1.1 ไมโทคอนเดรียทำงานผิดปกติ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเผาผลาญจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่ไมโทคอนเดรียโดยเฉพาะดีเอ็นเอชนิด mtDNA อนุมูลอิสระจะทำให้ mtDNA เสียหายทำให้มีรหัสที่ผิดปกติส่งผลให้โปรตีนที่สร้างขึ้นจากการถอดรหัสนั้นผิดปกติมีการทำงานบกพร่องไปด้วย หากโปรตีนที่ผิดปกตินั้นมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์จะทำให้กระบวนการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และห้ามมิให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียบกพร่องทำงานได้ลดลง มีการรั่วไหลของอิเล็กตรอนมากกว่าปกติ มีผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระ O_2^- เพิ่มขึ้นมากเกินกว่าที่สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่มีอยู่ในเซลล์ จะจัดการขจัดได้ นอกจากนี้มีอนุมูลอิสระที่ไม่ถูกกำจัดจำนวนมากแล้วยังมีผลทำให้สารต้านอนุมูล ธรรมชาติในเซลล์ เช่น กลูตาไทโอน (GSH) วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี มีปริมาณลดลงหรือ หหมดไปเกิดสภาวะออกซิเดชันในเซลล์ไม่สมดุลโดยมีอนุมูลอิสระมากเกินไปเซลล์จึงตกอยู่ในสภาวะ เครียดถูกบีบคั้นจากการออกซิไดซ์ (oxidative stress) นอกจากนั้นอนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูล O_2^- ยังทำให้ไมโทคอนเดรียเสียหายรุนแรงมากขึ้น โดยอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนไปออกซิไดซ์ กลุ่ม [4Fe-4S] ในเอนไซม์ ทำให้เกิดเหล็กในรูปอิสระ (Fe^{2+}) Fe^{2+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังทำให้เกิด อนุมูลไฮดรอกซีจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + OH^-$) นอกจากปฏิกิริยาเฟนตันแล้วยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีโดยปฏิกิริยาฮาเบอร์ไวส์ (Haberweiss) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\cdot} + OH^-$) (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.2 กระบวนการเมแทบอลิซึม

กระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเอนไซม์ ได้แก่ กระบวนการเมแทบอลิซึมอะโรกซ์ใน ดิกโดยเอนไซม์ไซโคลออกซิจีเนสให้เป็นโพรสตาแกลนดินส์และลูโคไทรอิน กระบวนการเมแทบอลิซึม แชนทีนและไฮโปแซนทีนโดยเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสเป็นยูริก และการทำงานของเอนไซม์เอ็นเอตีพี เอซออกซิเดส การเกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนจากกระบวนการเหล่านี้ว่ามีปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับการรั่วไหลจากไมโทคอนเดรีย และไม่เกิดอันตรายแก่เซลล์หากระบบกำจัดอนุมูลทำงาน เป็นปกติ ได้แก่ เอนไซม์เอสโอตี เอนไซม์คะตะเลส และเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.3 กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท

กรดอะมิโนบางชนิดมีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท เช่น กรด กลูตามิกและกรดแอสปาร์ติก รวมทั้งกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้เมื่อมีกรดอะมิโนเหล่านี้ในปริมาณที่ มากผิดปกติจะสามารถทำให้เกิดปรากฏการณ์ต่อเนื่องนำไปสู่ความเสียหายแก่เซลล์โดยเฉพาะเซลล์ ประสาท และสามารถทำให้เซลล์ประสาทรุนแรงที่สุดในที่สุด (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.4 เมแทบอลิซึมของสารสื่อประสาท

เมแทบอลิซึมและสารสื่อประสาทในสมอง เช่น โดพามีน ทำให้เกิดอนุมูลและสารที่ เป็นพิษ โดพามีนออกมาจากถุงเล็กๆ ในเซลล์ประสาทที่สร้างโดพามีน เซลล์ประสาททำหน้าที่ทั้งหลั งโดพามีนออกมาจากถุงและเก็บโดพามีนกลับสู่ถุง เพื่อควบคุมให้มีปริมาณโดพามีนที่เหมาะสมใน ไซโทพลาสซึมและบริเวณปลายประสาท ในภาวะที่เป็นสาเหตุโรค เช่น ในภาวะเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ ขาดเลือด หรือภาวะที่มีระดับออกซิเจนต่ำ จะพบว่าโดพามีนจะมีระดับเพิ่มขึ้นระดับโดพามีนที่สูงขึ้น ทั้งภายในและภายนอกเซลล์สามารถทำให้สมองถูกทำลายได้ พิษของโดพามีนเกิดจากการที่โดพามีน ถูกออกซิไดซ์แล้วให้ผลผลิตได้แก่ อนุมูลอิสระ สารประกอบควิโนนที่เป็นพิษและสารเมลานิน (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.5 สารพิษต่อเซลล์ประสาท

MPTP เป็นสารพิษที่ทำลายเซลล์ประสาท เป็นสารพิษโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจ ของเซลล์และทำให้เกิดภาวะออกซิไดซ์ ฤทธิ์ยับยั้งการหายใจทำให้ไมโทคอนเดรียผลิต ATP ได้ลดลง ซึ่งเห็นยวนำให้ระดับของแคลเซียมในไซโทพลาสซึมของเซลล์เพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อ เซลล์ (โอภา และคณะ, 2550) ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่างกายได้ ภาวะบีบคั้นจากการถูกออกซิไดซ์เกิดขึ้นได้โดยตรงโดย MPP^+ หรือเกิดโดยเป็นผลต่อ เนื่องมาจากการยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรียทำให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมาก ซึ่งนำไปสู่การ เกิดออกซิเดชันที่ชีวโมเลกุลที่สำคัญและทำให้เซลล์ตายในที่สุด (โสภา และคณะ, 2550)

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS,RS)	
Superoxide, Superoxide anion O_2^-	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, $\cdot OH$	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2 \cdot$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2 \cdot$	Singlet oxygen ($O_2^1 g$)
Alkoxy, $RO \cdot$	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_3^{\cdot -}$	Peroxynitrite, ONOO $^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{\cdot -}$	Peroxynitrous, ONOOH
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2 \cdot$ NO_2^-	Nitrosyl cation, NO^+ Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3 Peroxynitrite, ONOO $^-$
	Peroxynitrous acid, ONOOH Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+ Alkyl peroxynitrites, ROONO
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine, $Cl \cdot$	Hypochlorous acids, HOCl Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Other	
Thiyl radical ($RS \cdot$)	

ที่มา : โสภา และคณะ (2550)

2.1.2 ปัจจัยภายในร่างกาย

2.1.2.1 ปฏิกริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) คือ

ก.) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีแสง หรืออนุมูลเป็นตัวเร่งปฏิกริยา ดังสมการที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ข.) **ระยะเพิ่มจำนวน (propagation)** เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการที่ 1 และ 2



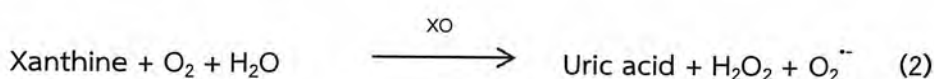
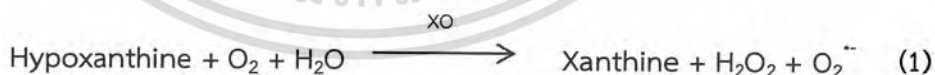
ค.) **ระยะสิ้นสุด (Termination)** เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร ดังสมการที่ 1 และ 2



2.1.2.2 **ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง** การทำงานของเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ได้แก่

ก.) **เอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Xanthine oxidase : XO)**

ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) เป็นแซนทีน (xanthine) และแซนทีนเป็นกรดยูริก (uric acid) พร้อมกับเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($\text{O}_2^{\cdot -}$) ดังสมการที่ 1 และ 2



ข.) **เอนไซม์ไลโปออกซีจีเนส (Lipoxygenase: LOX)**

ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ภายในโมเลกุลของเอนไซม์นี้มีเหล็ก (Fe^{2+}) เป็นส่วนประกอบอยู่ซึ่งจะทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันและเติมออกซิเจนให้กับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วจะสลายตัวเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไป (เจนจิรา และประสงค์, 2554) อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

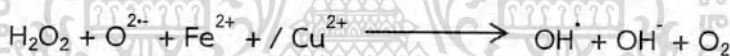
2.1.2.3 กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว ในขั้นตอนการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนกินเข้ามาภายในร่างกาย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึงโมเลกุลของออกซิเจน (O_2) มาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-}$) โดยการทำงานของเอนไซม์ NADPH oxidase ที่อยู่บนเยื่อชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังสมการที่ 1



นอกจากนี้ยังพบว่าภายในเม็ดสี (granule) ของเม็ดเลือดขาวยังมีเอนไซม์ไมโอเพอโรออกซิเดส (myeloperoxidase) ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, $HOCl^{\cdot}$) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้ ดังสมการที่ 2



2.1.2.4 โลหะทรานสิชัน (Transition metal) ธาตุโลหะทรานสิชัน 2 ชนิดคือเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายสามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลจากซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ในปฏิกิริยาของ Fenton (Fenton's reaction) (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังสมการ



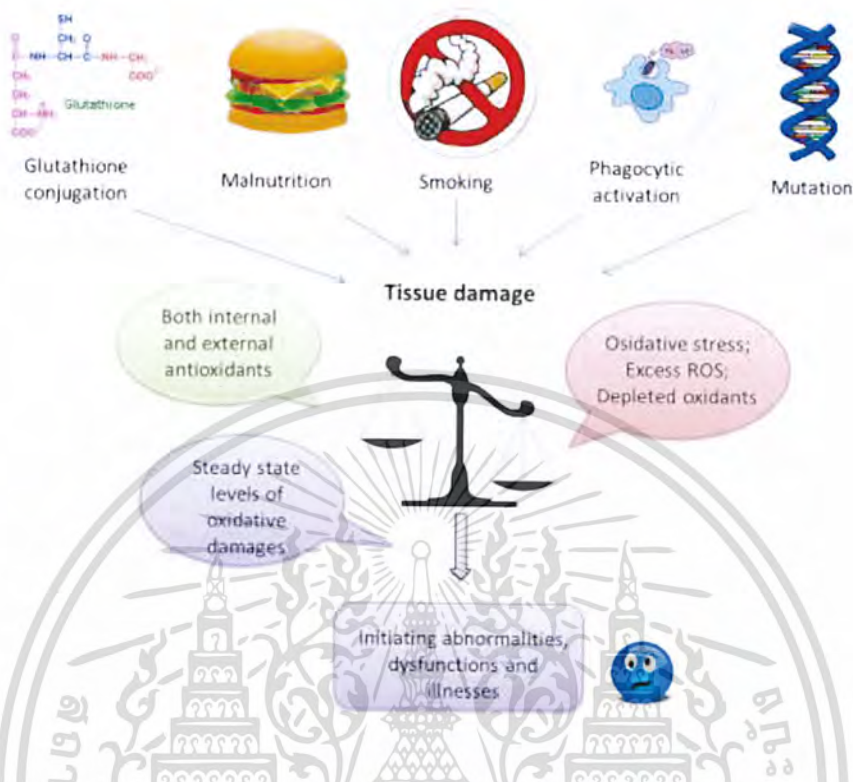
2.1.3 ปัจจัยภายนอกร่างกาย

2.1.3.1 ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอมัยซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (anthracyclines) และเมโทเทร็กซ์เตต (methotrexate) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (pro-oxidation) (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.2 รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (x-ray) รังสีแกมมา (γ -ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.3 คาร์บอนมอนอกไซด์ ในคาร์บอนมอนอกไซด์มีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO) ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และเพอร์ออกไซด์ไนไตรท์ ($ONOO^{\cdot}$) รวมทั้งสารมลพิษได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซิเลส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ภายในเซลล์ดังกล่าว (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.4 โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนเอกสารให้เป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ซึ่งประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 การชักนำให้เกิด oxidative stress และชักนำให้เกิด OSRD; ROS: reactive oxygen species; AOX: antioxidants

ที่มา : Saeidnia และ Abdollahi (2013)

2.1.4 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมักมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมองและภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตคือหัวใจและสมอง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไว้คู่ ดังนั้นจึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคคือ สารชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายโดยจะไวต่อการถูกออกซิไดซ์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรนโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์ สารสื่อประสาทและดีเอ็นเอ (โอภา และคณะ, 2550)

ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอเป็นสารชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้เพราะสารชีวโมเลกุลเหล่านี้มีอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกได้ง่ายทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล หรือดึงอิเล็กตรอนของอะตอมไฮโดรเจนออกจากสารชีวโมเลกุลนั้นๆ กล่าวคือสารชีวโมเลกุลคือ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ ถูกออกซิไดซ์โดยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลอิสระ อุบัติการณ์เหล่านี้ทำให้คุณสมบัติและการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไปเกิดความบกพร่องหรือถูกทำลายอันเป็นเหตุของการเกิดโรค (โสภา และคณะ, 2550)

2.1.4.1 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดซ์

ในสิ่งมีชีวิตการที่ลิพิดถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูล เรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและพอสโพลีพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในเซลล์เมมเบรนหรือลิพิดในเลือดและในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยาเนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรนอันมีลิพิด 2 ชั้นประกบกันทำให้เกิดสารประกอบเป็นผลผลิตที่หลากหลาย (โสภา และคณะ, 2550)

2.1.4.2 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดซ์

อนุมูลอิสระมีบทบาทในปฏิกิริยาที่ทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ เช่น nicking การจับคู่เบสในดีเอ็นเอผิดไป การจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ผิดไป การหายไปของดีเอ็นเอบางส่วน การมีนิวคลีโอไทด์หรือดีเอ็นเอบางส่วนสอดแทรกและการเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายซึ่งทำความเสียหายต่อดีเอ็นเอ ได้แก่ การเติมหมู่เมทิล การกำจัดหมู่พิวรีนและการกำจัดหมู่เอมิโน อนุมูลอิสระต่างชนิดกันจะมีผลต่อดีเอ็นเอในรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะไม่ทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอ ในขณะที่อนุมูล OH^- สามารถทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอทั้งสี่ชนิดเกิดเป็นสารหลากหลายชนิด ส่วนอนุมูล O_2^- ทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับกัวนีนเท่านั้น (โสภา และคณะ, 2550)

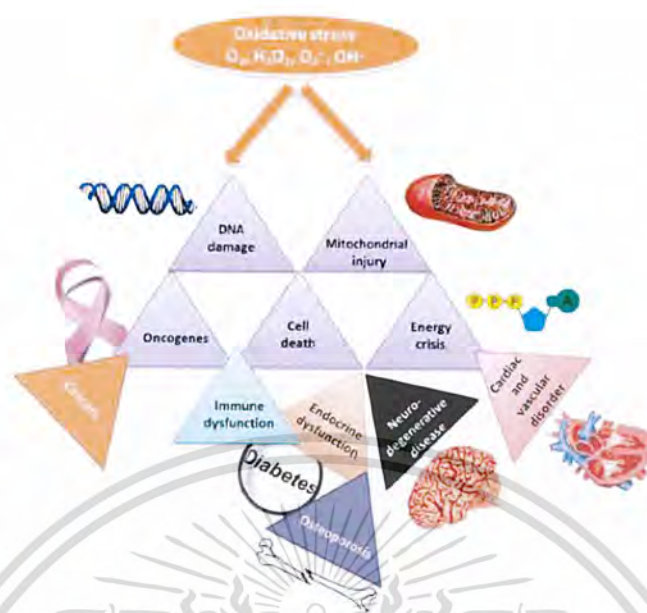
2.1.4.3 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดซ์

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนจะเพิ่มการเผาผลาญโปรตีนซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลใหญ่ได้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลงผลที่ตามมาจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เพราะจะมีผลกระทบต่อการทำงานที่ของร่างกาย โปรตีนเมื่อถูกออกซิไดซ์โครงสร้างของโปรตีนจะเปลี่ยนไปได้หลายรูปแบบ การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โปรตีนเสียหายซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์รีเซพเตอร์และสารสื่อต่างๆ ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง (โสภา และคณะ, 2550)

2.1.5 สภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากกระบวนการออกซิไดซ์มากเกินไป (Oxidative stress)

สภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากกระบวนการออกซิไดซ์มากเกินไป คือ ภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระโดยสารต้านออกซิเดชัน ภาวะดังกล่าวเป็นผลจากการเกิดอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลผลิตของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นหรือความบกพร่องของกระบวนการป้องกันอันตรายจากการเกิดออกซิเดชันเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ด้านการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวลดลงหรือการทำงานที่ผิดปกติ หรือมีระดับสารออกซิเดชันที่ลดลงซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจพบร่วมกันได้ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระอันมีความไวต่อชีวโมเลกุลซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน น้ำตาล และกรดนิวคลีอิก ทำให้เซลล์ถูกทำลายและเกิดผลผลิตของอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อเซลล์ ได้แก่ อนุมูลอิสระออกซิเจนและอนุมูลอิสระไนโตรเจนดังรูปที่ 2.2 (โกสินทร์ และคณะ, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง oxidative stress และการตายของเซลล์ หรือความผิดปกติที่เกิดขึ้น

ที่มา : Saeidnia และ Abdollahi (2013)

2.1.5.1 โรคที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไปที่เกี่ยวข้อง

ในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป (oxidative stress) รวมถึงผลในระดับเซลล์ซึ่งสามารถยับยั้งได้โดยสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1.5.1.1 โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด (Vascular diseases)

oxidative stress มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากมีบางปัจจัยที่เสี่ยงสำหรับการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดรวมถึงโรคความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวาน และโรคจากการสูบบุหรี่เช่นเดียวกัน โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดเป็นโรคที่สาเหตุของโรคเกิดจากการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ reactive oxygen species ในผนังหลอดเลือด จากการเกิดปฏิกิริยาซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) กับไนตริกออกไซด์ (NO) อาจส่งผลให้เกิด peroxynitrite (ONOO-) จึงทำให้การผลิตไนตริกออกไซด์ลดลงในระดับที่เชื่อกันว่าเป็นกลไกหลักของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้การเกิด oxidative stress ในหลอดเลือดมีรายงานว่าทำให้เกิดเส้นเลือดอุดตันที่เกิดได้จากกลไกต่างๆ เช่น การเกิดปฏิกิริยา redox sensitive transcription factors (ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของการอักเสบของยีน) และเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน และการเกิดความเสียหายกับไมโทคอนเดรียหรือนิวเคลียสในดีเอ็นเอ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.2 โรคมะเร็ง (Cancer)

โดยทั่วไปการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของ reactive oxygen species สามารถเพิ่มได้จากอัตราของการกลายพันธุ์หรือความไวต่อเชื้อกลายพันธุ์ ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของดีเอ็นเอในช่วงการเริ่มก่อตัวของโรคมะเร็ง ในการแพร่กระจายของเนื้องอกจะเพิ่มขึ้นเนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของ reactive oxygen species โดยตัวลิแกนด์อิสระของตัวรับ tyrosine kinase ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง โดย reactive oxygen species สามารถที่จะช่วยเสริมการทำงานของ hypoxia-inducible factor 1 ปัจจัยในการถอดรหัสของการเจริญของเซลล์เยื่อบุผิวของเส้นเลือดที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเส้นเลือดใหม่ ถึงแม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถให้ประโยชน์บางอย่างสำหรับการป้องกันมะเร็งโดยการรักษาด้วยสารเคมี การรักษาโรคมะเร็งในบางตำแหน่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งที่ยังไม่ชัดเจน ในอีกด้านหนึ่งก็มียาที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในการป้องกันมะเร็งซึ่งทำหน้าที่ผ่านกลไก epigenetic อย่างเช่น ปฏิกริยา DNA demethylation การเปลี่ยนแปลงโปรตีนฮิสโตน และตัวควบคุมกระบวนการ RNA interference เช่น สารcurcumin, genistein และ resveratrol ในอีกด้านหนึ่งมีสารต้านมะเร็ง เช่น piperlongumine ซึ่งเข้ากับบริเวณเร่งของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีเพียงแค่นั้นเซลล์มะเร็ง ด้วยเหตุนี้จึงต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมากหรือหลีกเลี่ยงการใช้ยาที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการรักษาด้วยเคมีบำบัดและการรักษาด้วยสารเคมี ในงานวิจัยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเพิ่มความอยู่รอดของเซลล์ที่มีการลอกจากสารเคลือบเซลล์ แต่สารอนุมูลอิสระนี้อาจจะทำได้ 2 หน้าที่ทั้งป้องกันการเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอหรือการรักษาเซลล์เนื้องอกโดยการส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ด้วยการช่วยเผาผลาญอาหาร (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.3 โรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory bowel disease)

Crohn's disease และUlcerative colitis เป็นที่รู้จักกันว่าเป็นโรคในกลุ่มของโรคลำไส้อักเสบโดยไม่ทราบถึงสาเหตุของการเกิดโรค ซึ่งดูเหมือนว่าความผิดปกติของลำไส้อาจเกิดมาจากภูมิคุ้มกันผิดปกติและระดับของ reactive oxygen species สูง ในขณะที่ที่สามารถตรวจสอบได้ ระดับของโมเลกุลที่เกิดการออกซิเดชันที่สูงจะเกิดในผู้ป่วยโรคลำไส้อักเสบเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีสุขภาพดี (ทั้งในระบบทางเดินอาหาร และระบบเลือด แม้แต่ในระบบทางเดินหายใจ) ยิ่งไปกว่านั้นในงานวิจัยพบว่าการลดลงของระดับสารต้านอนุมูลอิสระและระดับของตัวช่วยส่งเสริม reactive oxygen species (ROS) จะเป็นลักษณะที่พบในผู้ป่วยโรคลำไส้อักเสบหรือมีสาเหตุอื่น ๆ ที่อาจมีการแทรกแซงในช่วงเริ่มต้นและความคืบหน้าเกี่ยวกับโรคลำไส้อักเสบ อย่างเช่น ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร nuclear factor (NF)-KB, nitricoxide, cyclooxygenase-2 (Cox-2) และ leukotriene B4 ดังนั้นยาที่ใช้สำหรับการรักษาลำไส้อักเสบที่ใช้อยู่ในปัจจุบันปกติจะเป็นสารต้าน TNF- α ยาปฏิชีวนะ สารยับยั้ง NF-KB สารยับยั้ง iNOS สารยับยั้งจำเพาะ Cox-2 และสารต้านอนุมูลอิสระ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.4 โรคกระดูกพรุน (Osteoporosis)

โรคกระดูกพรุนเป็นโรคที่ค่อนข้างพบได้บ่อยในผู้สูงอายุที่มีความหนาแน่นของกระดูกต่ำและมีอาการกระดูกหัก ในงานวิจัยพบว่ามีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคกระดูกพรุนมีทั้งการอักเสบ ฮอรโมน ปัจจัยต่อการเจริญเติบโต paracrine และสารสกัด autocrine, homocysteine, oxidative stress และความเปราะบางของกระดูก ซึ่งพบว่า reactive oxygen species สามารถลดและเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของ fibronectin ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายและสูญเสียหน้าที่ในปมของกระดูก นอกจากนี้ reactive oxygen species อาจช่วยเพิ่มการแสดงออกของไซโตไคน์ที่มีผลต่อโรคกระดูกพรุน ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการป้องกันโรคกระดูกพรุนเนื่องจากสามารถระงับผลกระทบของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

และคิดว่าพอลิเมอร์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถที่จะเปลี่ยน การผลิต interleukins (IL-1 β และ IL-6) และ TNF- α โดยปรับเปลี่ยนให้ผลิตเป็น prostaglandin อย่างไรก็ตามการผลิตรวมตามผลของการตรวจสอบในทางคลินิกแสดงให้เห็นว่ากรดไขมัน n-3 ที่พบในการสร้างกระดูกในผู้ป่วยโรคกระดูกพรุนเพศหญิงไม่มีประโยชน์ที่สำคัญ ในขณะที่พบว่าการขาดกรดไขมัน n มีประโยชน์อย่างมีนัยสำคัญกับตัวบ่งชี้การสลายของกระดูกที่แสดงให้เห็นและมีการตั้งข้อสังเกตว่า IL-1 β และ tumor necrosis factor- α (TNF- α) สามารถกระตุ้นการสลายของกระดูก (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.5 การเกิดริ้วรอยก่อนวัย (Aging)

ริ้วรอยของมนุษย์เป็นเรื่องที่เกิดขึ้นอย่างเป็นธรรมชาติที่มีปัจจัยการเกิดจำนวนมากที่แตกต่างกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและสังคมที่เปลี่ยนไป สาเหตุหลักของการเกิดริ้วรอยนั้นเรายังไม่สามารถทราบได้ แต่มีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดริ้วรอยทั้งวิถีการดำเนินชีวิต อาหาร การบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ ความเครียด ฯลฯ โดยมุ่งเน้นไปที่ระดับของโมเลกุล ซึ่งปัจจัยเกี่ยวกับการดำเนินชีวิตที่มีความเกี่ยวข้องกับแนวคิดของ oxidative stress สำหรับในรายงานนี้ธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบสำคัญในการรักษาความชราโดยที่ยังมีสุขภาพที่ดีและได้ผลดีที่สุด “ทฤษฎีของ oxidative stress” ระบุว่าสิ่งที่สำคัญของการเกิดริ้วรอยก่อนวัยนั้นเป็นผลมาจากการสะสมของอาการที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เปลี่ยนแปลงไม่ได้และเป็นจุดที่มีผลต่อการทำงานของสรีระวิทยาเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ของการเกิดโรคและช่วงชีวิตที่ลดลง อย่างไรก็ตามสาเหตุที่แน่นอนและผลของความสัมพันธ์ระหว่างความเสียหายจาก reactive oxygen species และการเกิดริ้วรอยก่อนวัยยังไม่มีสาเหตุที่ทำให้เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.6 โรคสมองเสื่อม (Neurodegenerative diseases)

โรคสมองเสื่อม (Alzheimer's disease) เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางจิตในผู้สูงอายุซึ่งมีผู้ป่วยนับล้านทั่วโลก เนื่องจากสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ (amyloid β -peptide) ซึ่งเป็นสายเพปไทด์ที่มีหมู่อะมิโน 40-42 หมู่ที่สะสมอยู่ในสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมและในงานวิจัยในปัจจุบันเชื่อว่าสายเพปไทด์นี้เป็นจุดสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคนี้นั้น นอกเหนือจากนั้นสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมยังอยู่ภายใต้สภาวะ oxidative stress ที่รุนแรงซึ่งอาจเกิดได้จากปฏิกิริยา lipid peroxidation การต่อต้านของสารอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน (protein oxidation) ไนโตรไทโรซีน (nitrotyrosine) การผลิตผลิตภัณฑ์สุดท้ายในปฏิกิริยาของ glycation ขั้นสูง และปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ (DNA/RNA oxidation) การทดลองในห้องปฏิบัติการได้ตั้งข้อสังเกตว่าสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ มีความเชื่อมโยงกับรูปแบบของอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดสภาวะ oxidative stress ทำให้เกิดโรคประสาทเสื่อมในสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อม ซึ่งสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์นี้อาจเกิดได้จากกลไกที่เกี่ยวข้องกับการที่กรดอะมิโนเมไทโอนีน (methionine) มีการตกค้างที่ตำแหน่ง 35 สาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน ปฏิกิริยา lipid peroxidation การต่อต้านของสารอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอและการตายของเซลล์ประสาท (neuronal cell death) ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ได้โดย

เอกสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกวิตามินอี (vitamin E) ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมลาโทนิน (melatonin) อีพิกัลโลคาเทชิน กาเลต (epigallocatechin gallate) เอ็น-อะซีทิลซิสเทอีน (N-acetylcysteine) กรดแอลฟา-ไลโปอิก (α -lipoic acid) สารฟลาโวนชนิดอื่นๆ เอสโตรเจน (estrogen) และสารเอสโตรเจนที่ได้จากพืช (phytoestrogen) และสารจำพวกสารโพลีฟีนอล (polyphenol) ตัวอย่างเช่น เคอคูมิน (curcumin) สารสกัดจากแปะก๊วย ฯลฯ ในจำพวกอื่นๆ ที่สามารถสามารถป้องกันสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ที่เกิดจาก oxidative stress และอาการทางประสาท (neurotoxicity) หรือการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเกิดขึ้นโดยมีสาเหตุมาจากการผลิตผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา lipid peroxidation โดยสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ (Butterfield และคณะ, 2002)

ในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีความไวมากต่อความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่อย่างไรก็ตามเซลล์ที่ใช้อากาศทุกเซลล์ก็สามารถได้รับผลกระทบด้วยเช่นกันถึงแม้ว่าสมองจะไม่ได้มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่ออื่นๆ (เช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 10 ในตับ) จะใช้ร้อยละ 20 ของการใช้ออกซิเจนทั้งหมด สำหรับในส่วนของเนื้อเยื่อจะใช้ค่อนข้างน้อย (ร้อยละ 2) นอกจากนี้สมองของมนุษย์ยังมีระดับของธาตุเหล็กที่สูงได้ในบางภูมิภาค และระดับของแอสคอร์เบส (ascorbate) ที่สูงได้ในทั่วไป ข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าเซลล์ประสาทมีความอ่อนไหวมากต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

โดยปกติแล้วจะมีความสมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระและสารต่อต้านอนุมูลอิสระแม้จะมีปฏิกิริยาในบางสายพันธุ์ที่แสดงให้เห็นถึงบทบาททางชีวภาพที่แตกต่างกันและด้วยเหตุนี้จึงไม่ควรจะคัดออกในทันที อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระจำนวนมากมีความสามารถที่จะสร้างความเสียหายให้กับเนื้อเยื่อและเพียงพอที่จะนำไปสู่การเกิดโรคเรื้อรัง กรณีนี้ปกติจะเกิดขึ้นได้ในช่วงปลายของชีวิตมนุษย์เพราะระบบที่มีเกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมอาจล้มเหลวไปแล้ว สำหรับในผู้สูงอายุอาจมาจากสาเหตุเดียวกัน ส่วนที่เพิ่มขึ้นมาจากผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบสในกรดนิวคลีอิก การเกิดความเสียหายของโปรตีน และการรวมตัวของเซลล์ประสาทตายของเซลล์ประสาท จากหลักฐานการทดลองแสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ผิดปกติอาจเริ่มต้นทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทผ่านวิถีที่แตกต่างกัน รวมทั้งที่แสดงออกมากเกินของยีนปกติ ปฏิกิริยา glycoxidation การกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาการตัดสายเอ็มอาร์เอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนโดย reactive oxygen species (ROS) การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ quinones-semiquinones ปฏิกิริยา chlorination และกระบวนการเปลี่ยนแปลงผลิตภัณฑ์สุดท้ายในขั้นตอนสุดท้าย (คล้ายกับสาร prostaglandins) ในวิถี cyclooxygenase (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

โรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวาน (Diabetic neuropathy) เป็นโรคที่มีการรายงานอย่างมากเนื่องจากเป็นโรคที่เกิดความเสียหายจากการบาดเจ็บที่เส้นประสาท โดยโรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวานนี้ดูเหมือนว่าจะมีความเกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และเกี่ยวข้องกับความไม่สมดุลของการเผาผลาญอาหาร เช่นเดียวกับการเกิด oxidative stress ซึ่งวิถีที่มีความเกี่ยวข้องมากที่สุด (เช่น polyol, poly-ADP-ribose polymerase, protein kinase c) ซึ่งเริ่มโดยการเกิด oxidative stress จนถึงขณะนี้ยังไม่มียาที่ประสบความสำเร็จในการรักษาความเสียหายที่เกิดขึ้นนี้ได้อย่างตรงจุดและสมบูรณ์ นักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาเฉพาะทางด้านระหว่างระบบเส้นประสาทและ oxidative stress อย่างเช่น การยับยั้ง protein kinase c, aldose reductase

แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และปฏิกิริยา glycation ขั้นสูง ซึ่งสารทอรีน (taurine), acetyl-L-carnitine, alpha lipoic acid, ruboxistaurin, fidarestat, epalrestat, ranirestat, benfotiamine, aspirin, aminoguanidine, benfotiamine, nicotinamide และ trandolapril ได้มีการนำมาใช้มีการนำมาพัฒนาในยาแผนปัจจุบันในการรักษาโรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวานซึ่งถือเป็นความท้าทายอย่างหนึ่งและมีความต้องการอย่างมากในการทดลองเปรียบเทียบระยะยาว ซึ่งในทุกวันนี้ประโยชน์ของการรักษาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระในโรคอัลไซเมอร์มีการรายงานบ่อยครั้งว่ามีสาเหตุของโรคจากการเกิด oxidative stress โปรแกรมการตายของเซลล์ (apoptosis) ก็พิจารณาว่าเป็นสาเหตุของการเกิดริ้วรอยก่อนวัย และโรคอื่นที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท เช่น โรคพาร์กินสัน โรคปลอกประสาทอักเสบ และโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางพันธุกรรมอาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการเสื่อมของระบบประสาท oxidative stress และการเกิดอนุมูลอิสระโดยสารเร่งปฏิกิริยาโดยสาร redox active (คอปเปอร์ และเหล็ก) นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ซึ่งโลหะเหล่านี้มีการทำปฏิกิริยาโดยตรงกับเบต้าเปปไทด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของเบต้าอะไมลอยด์ ซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุเบื้องต้นของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ การมีภาวะโลหะในสมองมากเกินไปทำให้เกิด oxidative stress และโรคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของอนุมูลอิสระ ระบบประสาทรวมทั้งกลุ่มของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีความไวต่อปฏิกิริยา peroxidation และการเปลี่ยนแปลงด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พันธะคู่ของกรดไขมันซึ่งมีความสำคัญที่จะเป็นที่เริ่มต้นทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระและเป็นที่เริ่มต้นของการเกิดความเสียหายอย่างเป็นระบบต่อไป (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.7 โรคเบาหวาน (Diabetes)

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นกลุ่มของโรคที่มีความผิดปกติของระบบเผาผลาญเนื่องมาจากระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นผลมาจากข้อบกพร่องในการหลั่งอินซูลิน การทำปฏิกิริยาของอินซูลินหรือทั้งสอง ความสมดุลของระดับน้ำตาลกลูโคสในระหว่างปี 2010 จนถึงปี 2030 คาดว่าน่าจะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานอีกร้อยละ 69 ในประเทศที่กำลังพัฒนาเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 20 ในประเทศที่พัฒนาแล้วแต่ในสองประเภทหลักของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นประเภทที่พบมากที่สุด (ร้อยละ 90-95 ของผู้ป่วย) ในการศึกษาล่าสุดแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระที่สร้างจากไมโทคอนเดรียมีการชักนำให้ระดับของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นโดยปฏิกิริยาขนส่งอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย (mitochondria electron transport chain) ซึ่งดูเหมือนว่าจะเป็นสาเหตุที่เชื่อมโยงกันระหว่างระดับของน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้นและวิถีที่เกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับการบริโภคอาหารที่สามารถแก้ปัญหาในการบริหารจัดการทั้งระดับน้ำตาลในเลือดสูงและปฏิกิริยารีดอกซ์ในเซลล์ หนึ่งในวิธีการสำหรับการรักษาโรคเบาหวานในช่วงเริ่มต้นคือการลดระดับน้ำตาลในเลือด post-prandial การรักษาด้วยวิธีนี้จะไปช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรต อย่างเช่น แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) และ แอลฟา-กลูโคซิเดส (α -glucosidase) ในระบบทางเดินอาหาร การยับยั้งของเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตและช่วยยืดเวลาในการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยรวม ทำให้เกิดการลดลงของอัตราการดูดซึมกลูโคสและลดปริมาณของน้ำตาลในเลือด post-prandial ที่มีปริมาณสูง แต่ปัญหาหลักของการใช้สารที่มีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคซิเดสในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น อะคาร์โบส (acarbose) พบว่ามีผลข้างเคียงที่เกิดจากการยับยั้งที่มากเกินไปของเอนไซม์

แอลฟา-อะไมเลสจากตับอ่อนในการหมักโดยแบคทีเรีย abnormal ของคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยในลำไส้ใหญ่ ดังนั้นในปีที่ผ่านมาจึงมีความสนใจอย่างมากในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและตัวยับยั้งเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตจากผลไม้ ผัก และเครื่องเทศที่ผู้คนส่วนใหญ่บริโภค (Loizzo และคณะ, 2013)

ภาวะที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงของโรคเบาหวานก่อให้เกิด oxidative stress ที่มีความเกี่ยวข้องกับปัญหาของโรคเบาหวาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหลอดเลือดที่มีการเร่งให้เกิดหลอดเลือดแข็งตัวและความเสียหายของเส้นเลือดฝอยบนจอประสาทตา ไตและเส้นประสาท ซึ่งในช่วงที่ระดับของน้ำตาลในเลือดสูงนั้นจะมีการเกิดวิถีโพลีออล และการเกิดปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ aldose reductase ในวิถีโพลีออลจะเปลี่ยนกลูโคสส่วนเกินไปเป็นซอร์บิทอลโดยใช้ NADPH ทั้งหมด ซึ่งกิจกรรมของการเกิด GSH reductase ก็จะขึ้นอยู่กับ NADPH ด้วยเช่นกัน ดังนั้นการสูญเสีย NADPH โดยการเกิด aldose reductase อาจส่งผลให้เกิดการลดลงของ GSH ที่มีส่วนในการเกิด oxidative stress โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์ sorbitol dehydrogenase จะเปลี่ยนซอร์บิทอลไปเป็นฟรุคโตสและจะผลิต NADH ที่มีส่วนก่อให้เกิด reactive oxygen species โดยผ่านเอนไซม์ NADH oxidase แต่ในทางตรงกันข้ามปฏิกิริยา glycation ที่ไม่ใช้เอนไซม์ของโปรตีนและไขมันอาจทำให้เกิดความผิดปกติบางอย่างในสารเคลือบเซลล์และเกิดการเปลี่ยนแปลงในไลโปโปรตีน ซึ่งโรคอ้วนนั้นจะมีผลต่อการเกิด oxidative stress และทำให้อาการแย่ลง และนั่นคือเหตุผลส่วนใหญ่ของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารป้องกันโรคอ้วน (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

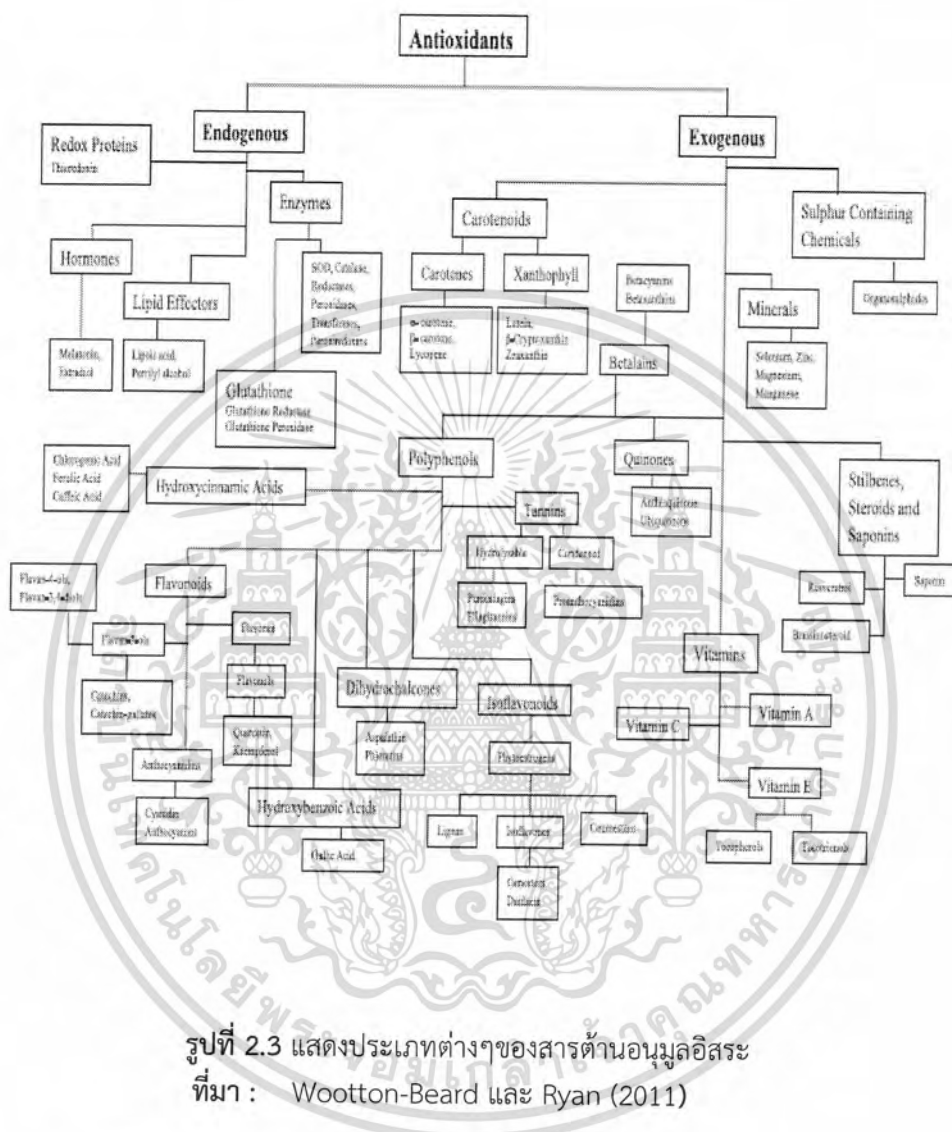
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไปหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ (โอภา และคณะ, 2550) น้ำผักและผลไม้เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยโพลีฟีนอล แคโรทีนอยด์ วิตามิน และแร่ธาตุ อาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะมีสารที่สามารถยับยั้งกลุ่มออกซิเจนหรือกลุ่มไนโตรเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen/nitrogen species, ROS/RNS) จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่หรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีอยู่ตามธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดจะทำการออกซิไดซ์ตัวเองดังนั้นจึงทำให้การยับยั้งมีจำกัด การถ่ายทอดและขอบเขตของปฏิกิริยาลูกโซ่อนุมูลจะส่งผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระที่มีปฏิกิริยาที่ลดลง สารต้านอนุมูลอิสระจะมีประสิทธิภาพในการต่อต้านที่แตกต่างกันไป สารบางชนิดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ในขณะที่สารอื่นๆส่งผลต่อการรวมกลุ่มของโลหะหนัก ตัวอย่างเช่น แคโรทีนอยด์จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันจาก singlet oxygen การกระทำของสารต้านอนุมูลอิสระโดยตรงใน ส่วนประกอบของอาหารในปัจจุบันไม่น่าจะมีการดูดซึมต่ำ แต่เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญไม่เพียงแต่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระแต่รวมถึงรักษาสมดุลรีดอกซ์ด้วยความหลากหลายขององค์ประกอบการตอบสนองของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant response element, AER) และบทบาทของการส่งสัญญาณต่างๆรวมถึงผลกระทบบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันในไขมัน โปรตีนและดีเอ็นเอ ซึ่งให้เห็นว่าโมเลกุลบางชนิดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น โพลีฟีนอล นอกจากนี้อาจส่งผลต่อ pro-oxidant ในเนื้อเยื่อบางอย่าง สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในอาหารมากที่สุดโดยทั่วไป เช่น โมเลกุล anti-oxidant ในการรักษาระดับของกลุ่มออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) ในระดับที่เหมาะสมเพื่อสุขภาพที่ดี (Wootton-Beard และ Ryan, 2011) ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระที่รวบรวมไว้ทั้งหมด ซึ่งจะแบ่งออกเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนโดจีนัสแอนติออกซิแดนซ์ (endogenous) และเอ็กโซจีนัสแอนติออกซิแดนซ์ (exogenous) ดังรูปที่ 2.3

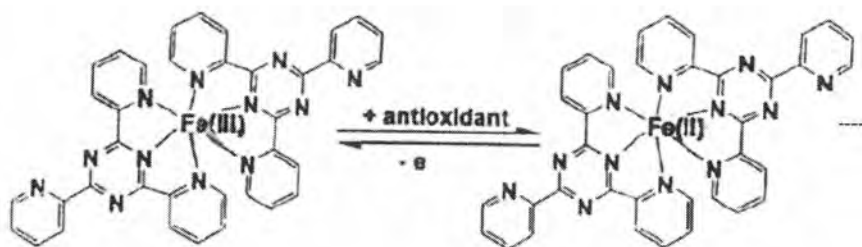


2.2.1. วิธีวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

2.2.1.1 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

เป็นวิธีวิเคราะห์หาค่า TAC โดยตรงมีหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันในร่างกายทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า TAC เป็นความสามารถรวมในการรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} -TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยเลือดซึ่งประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+} -TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดุกกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ดังรูปที่ 2.4 (โสภา และคณะ, 2550)

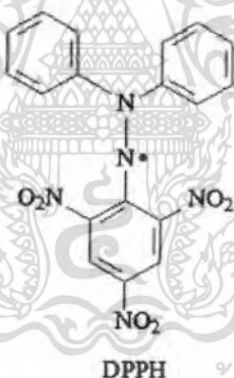
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาของ FRAP assay
ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

2.2.1.2 วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

อนุมูล DPPH[•] เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล ดังรูปที่ 2.5 การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องมือ EPR หรือใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (โอภา และคณะ, 2550)



รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)
ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลเรียกว่า Antiradical Efficiency (AE) โดยคำนวณจากสมการ $AE = 1/EC_{50}T_{EC50}$

EC_{50} = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถลดปริมาณ DPPH[•] เริ่มต้นลดลงได้ร้อยละ 50

T_{EC50} = เวลาที่ใช้ในการลดปริมาณอนุมูลให้ได้ EC_{50}

ข้อดีของวิธีนี้คือใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารธรรมชาติ ข้อเสียของวิธีนี้คืออนุมูล DPPH[•] มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยา

เอกสารเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกายเพื่อการศึกษานั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

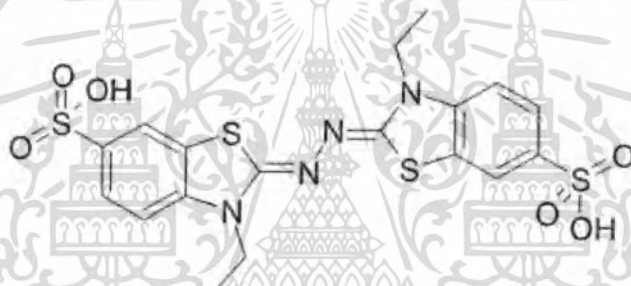
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3 วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

จัดเป็นการวิเคราะห์โดยทางอ้อม วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) ใช้หาดัชนี TAC โดยการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบหรือเลือดในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกซีไม่ให้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยกลไก HAT การวิเคราะห์จะวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยอนุมูลเปอร์ออกซีจะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ไปเป็นสารที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นเมื่อเติมเลือดหรือสารต้านอนุมูลลงไปจัดอนุมูลเปอร์ออกซี จะทำให้มีแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามปริมาณและความแรงของสารทดสอบที่เติมลงไป (โอภา และคณะ, 2550)

2.2.1.4 วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay (ABTS assay)

วิธี ABTS assay เป็นการวิเคราะห์หาสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ซึ่งใช้สาร reagent คือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt เป็น stable radical ใน aqueous solution ดังรูปที่ 2.6 สารละลายนี้มีสีเขียว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร



รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

การทำให้เกิด ABTS cation radical ทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. ใช้ enzyme reaction คือการใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS cation radical เช่น peroxidase และ myoglobin เป็นต้น
2. ใช้ chemical reaction คือการใช้สารเคมี เช่น manganese dioxide, potassium persulfate, 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane)(ABAP) เป็นต้น



antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ ABTS^+ ดังนี้



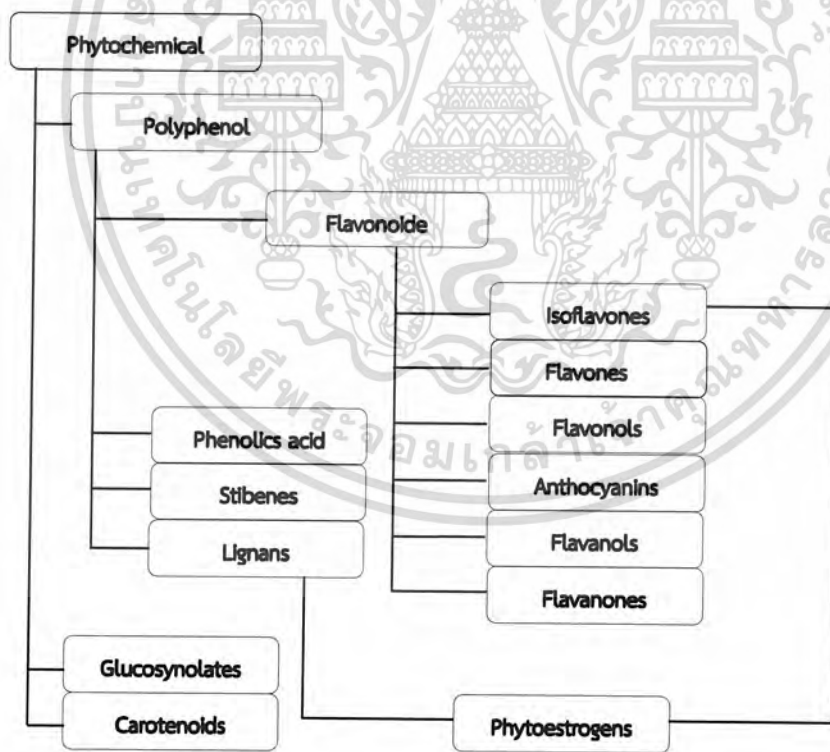
มีผลทำให้ความเข้มข้นของสารละลายสีเขียวลดลงด้วย โดยจะทำการรายงานผลการทดลองเป็นค่าร้อยละ 50 effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS^+ เหลืออยู่ร้อยละ 50 หรือรายงานผลเป็นร้อยละ 50 inhibition concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS^+

ลดลงถึงร้อยละ 50 (รัชฎาพร และคณะ, 2554) เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สารพฤกษเคมี

การศึกษาในสัตว์แสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารพฤกษเคมีในอาหารมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ ในสารประกอบพวกฟีนอลิกและโพลีฟีนอลิกเช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์ และคาเทชินในพืชที่กินได้ ชาวที่มีสารประกอบฟีนอลิกเกี่ยวกับการกำจัดสารอนุมูลอิสระและมีบทบาทในการป้องกันและรักษาโรค ประการแรกสารโพลีฟีนอลจะเพิ่มความต้านทานของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป (oxidative stress) ในหลอดทดลอง ประการที่สองสารโพลีฟีนอลสามารถกำจัด superoxide และอนุมูล hydroxyl และยับยั้งการเปลี่ยนแปลงออกซิเดทีฟของไลโปโปรตีนให้มีความหนาแน่นต่ำ ประการที่สามเป็นอาหารที่ช่วยส่งเสริมลดความเข้มข้นของซีรัมของคอเลสเตอรอลทั้งหมดและ malondialdehyde (ตัวบ่งชี้ของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation) และเพิ่มความเข้มข้นของซีรัมให้มีไลโปโปรตีนให้มีความหนาแน่นสูงในมนุษย์ เช่น โพลีฟีนอลมีประโยชน์สำหรับการรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ประการที่สี่สารประกอบโพลีฟีนอลช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง (Fang และคณะ, 2002)

สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารพฤกษเคมีในอาหารชั้นปฐมภูมิ โดยจะพิจารณาจากส่วนโครงสร้างทางเคมีและความสำคัญในเซลล์ระดับสรีระวิทยาและชีวเคมี โดยจะแบ่งออกตามรูปภาพที่ ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ประเภทของพฤกษเคมีที่แตกต่างกันที่พบในอาหารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา : Blasa และคณะ (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 วิตามินซี (Vitamin C)

ตามโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี จะเรียกว่ากรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีโครงสร้างคล้ายน้ำตาลเฮกโซส (hexose) ซึ่งมีหมู่ ene-diol ที่เกี่ยวข้องกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 หมู่ ene-diol ทำให้กรดแอสคอร์บิกเป็นตัวรีดิวซ์ที่รุนแรง โดยจะออกซิไดซ์เป็น dehydroascorbic acid ได้ง่าย วิตามินซีเป็นวิตามินที่จำเป็นแก่ร่างกายและหาได้ง่ายจากผักและผลไม้ กรดแอสคอร์บิกมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic) หลายกระบวนการ เช่น ฮอร์โมนคอติโคสเตียรอยด์ (corticosteroid hormones) กรดน้ำดี (biliary acid) คาร์นิทีน (carnitine) โพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) ฮิสตามีน (histamine) คอลลาเจน (collagen) เหล็ก (iron) ไทโรซีน (thyroxine) และสารสื่อประสาทบางชนิด วิตามินซียังช่วยปรับปรุงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและสนับสนุนการกำจัดซีโนไบโอติก (xenobiotic) และอนุมูล (Blasa และคณะ, 2010)

2.3.2 วิตามินอี (Vitamin E)

จากกิจกรรมของวิตามินอีซึ่งมีโครงสร้างเฉพาะที่เหมือนกัน ทำให้วิตามินอีถูกจัดกลุ่มว่าเป็นโทโคฟีรอล (tocopherols) วิตามินอีมีโครงสร้างที่เหมือนกัน (6-hydroxychromane structure) ถูกจัดแบ่งเป็นทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ 1. $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -tocopherols ซึ่งมีสายโซ่อิ่มตัวที่คาร์บอนตัวที่ 2 เป็น isoprenic สายยาวและเปลี่ยนกลุ่มของเมทิลได้ในตำแหน่งวงแหวน chromanol 2. $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -tocotrienols ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกันกับโทโคฟีรอล ยกเว้นสายโซ่อิ่มตัวที่มี 3 พันธะ ส่วนใหญ่โทโคฟีรอลจะมาจาก ถั่วงอก ผักใบเขียว ผลไม้ที่มี โอเลอิก เมล็ดและน้ำมัน ตามลำดับ โทโคฟีรอลช่วยการย่อยในลำไส้เล็ก อิมัลซิไฟล์ด้วยกรดน้ำดีขนส่งเลือดที่มีความหนาแน่นต่ำๆโดยลิโปโปรตีนเก็บรักษาในตับและกำจัดออกจากน้ำดีและปัสสาวะ วิตามินอีที่มีประสิทธิภาพจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ในไขมันซึ่งทำหน้าที่ร่วมกับซีลีเนียมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของกรดไขมัน (Blasa และคณะ, 2010)

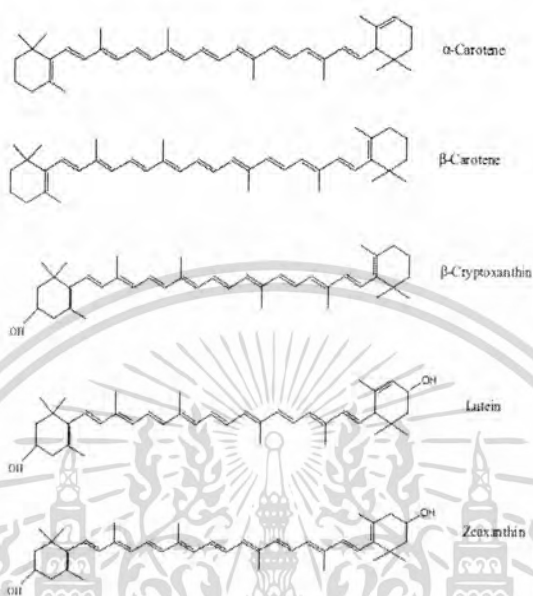
2.3.3 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นรงควัตถุตามธรรมชาติที่ละลายได้ในไขมัน แคโรทีนอยด์มากกว่า 600 ชนิด แยกมาจากพืช จุลินทรีย์ และสัตว์ และอีกประมาณ 20 ชนิด ที่แยกได้จากเซรั่มจากเลือดของมนุษย์หลังจากการบริโภคผักและผลไม้ แคโรทีนที่เกิดขึ้นมีหลายรูปแบบ เช่น α -carotene และ β -carotene นอกจากนั้นยังมี γ -carotene, δ -carotene และ ϵ -carotene ดังรูปที่ 2.8 เบต้าแคโรทีนประกอบด้วยกลุ่มรีตินอล 2 กลุ่ม และถูกทำลายลงในเยื่อของลำไส้เล็กโดยเอนไซม์ β -carotene dioxygenase เพื่อให้ร่างกายและจอประสาทตานำไปใช้ได้ทั้ง retinoic acid และ retinals ซึ่งมีการใช้งานในรูปแบบของวิตามินเอ แคโรทีนอยด์ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันไขมันจากปฏิกิริยาเพอโรซิเดชัน (peroxidation) คือจะไปจับกับอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับ singlet oxygen ในผลไม้ตระกูลส้มและผักจำพวก แครอท มันฝรั่งหวาน พักทองเทศ พักทอง มะละกอ มะม่วง และแคนตาลูป เป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ (Blasa และคณะ, 2010)

ไลโคปีน (lycopene) เป็นส่วนประกอบของแคโรทีนอยด์ที่มีพันธะคู่ที่เหมือนกัน 11 พันธะต่อกันเป็นเส้นตรง เป็นสารตั้งต้นของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเกิดจากโครงสร้างแบบไซคลิก (cyclization) และปฏิกิริยาการเติมหมู่ OH (hydroxylation) เข้าไปภายหลังของตำแหน่งคาร์บอนที่เฉพาะเจาะจง มะเขือเทศ แดงโอม่ง ส้มโอสีชมพู ผลแอปเปิล และฝรั่งสีชมพู เป็นแหล่งที่พบไลโคปีนมากที่สุด (Blasa และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เป็นสารแคโรทีนอยด์ที่มีรงควัตถุเป็นสีเหลือง เช่น ซีอะแซนทิน (zeaxanthin) และ ลูทีน (lutein) มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์แสงและพบมากในใบของพืช มีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการพัฒนาอายุของจอประสาทตาเสื่อมและโรคต้อกระจก (Blasa และ คณะ, 2010)



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของสารจำพวกแคโรทีนอยด์

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid> (9 พ.ย. 2557)

2.3.4 กลูโคซิโนเลท (Glucosinolates)

จัดเป็นไทโอกลูโคไซด์ (thioglucosides) ซึ่งเป็นสารกลุ่มเด่นที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในพืชที่จัดอยู่ใน Brassicales order กลูโคซิโนเลท (glucosinolates) กลูโคซิโนเลทประกอบด้วยหมู่ β -D-glucopyranose ที่เชื่อมต่อกับอะตอมของซัลเฟอร์และเชื่อมต่อกับอะลิฟาติก (aliphatic) หรือไม่ก็เชื่อมกับอะโรมาติก (aromatic) หรือ สายโซ่อินโดล (indole chain) กลูโคซิโนเลทมาเป็นทริปโทเฟน (tryptophan) ขณะที่สาร non-indolic glucosinolate ได้มาจากกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ (Blasa และ คณะ, 2010)

2.3.5 โพลีฟีนอล (polyphenols)

โพลีฟีนอลเป็นสารทุติยภูมิที่ได้จากพืช ทำให้เกิดคุณภาพทางประสาทสัมผัส สี และช่วยต่อต้านเชื้อโรค โดยโครงสร้างทางเคมีของฟีนอล (phenol) จะมีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic) อย่างน้อย 1 วง หรือมากกว่านั้นกับหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) อย่างน้อย 1 หมู่หรือมากกว่า 1 หมู่ กิจกรรมของสารต้านอนุมูลสามารถยับยั้ง ROS หรือจับกับ pro-oxidant ที่เป็นไอออนของโลหะ โดยเฉพาะกลุ่มของ OH (Blasa และคณะ, 2010)

เดิมสารที่เป็นโพลีฟีนอล (polyphenol) จะเคลื่อนย้ายหมู่ไฮโดรเจน (hydrogen) 1 หมู่ไปยัง peroxy radical ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ของนักศึกษาเท่านั้น กรุณาอย่าให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟีนอกซีเรดิคัล (fenoxy radical; $ArO\cdot$) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้ค่อนข้างจะเสถียรและตอบสนองช้ากับสารตั้งต้นชนิดอื่นๆ จึงรบกวนสายโซ่ของออกซิเดทีฟรีแอคชัน (oxidative reaction) ที่ความเข้มข้นสูง สารโพลีฟีนอล (polyphenol) อาจทำหน้าที่เป็น pro-oxidant เนื่องจากปริมาณของฟีนอกซีเรดิคัล (fenoxy radical) ที่เกิดขึ้นสามารถกระตุ้นออกซิเดทีฟรีแอคชันได้ (Blasa และคณะ, 2010)

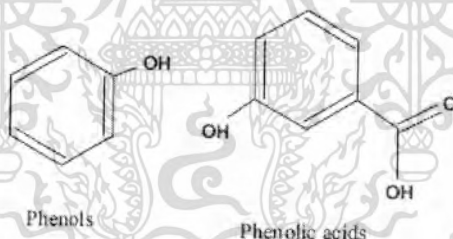
สารประกอบที่เป็นโพลีฟีนอลมีดังนี้

2.3.5.1 กรดฟีนอลิก (phenolic acid)

กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ประกอบด้วยสองกลุ่มหลักๆ คือ กรดเบนโซอิก (benzoic acid) และ กรดซินนามิก (cinnamic acid) โดยธรรมชาติกรดฟีนอลิกที่มีอยู่ในผักและผลไม้มีทั้งแบบอิสระหรือแบบคอนจูเกตมักเป็นพวกเอสเทอร์หรือเอไมด์ (Blasa และคณะ, 2010)

ัญพืชที่อุดมไปด้วยสารประเภทกรดฟีนอลิก (phenolic acid) เช่น *p*-coumaric, syringic และ vanillic acid จะพบมากที่สุดในรำข้าว ในขณะที่ข้าวโอ๊ตจะเป็น dihydrocaffeic synaptic และ *p*-hydroxybenzoic acid (Blasa และคณะ, 2010)

สารประกอบฟีนอลิกจะประกอบด้วยการเชื่อมกันระหว่างวงแหวนเบนโซนิค (benzonic) 2 วง โดยอีเทนหรือตัวเชื่อมอีเทน ดังรูปที่ 2.9 โดยจะพบอย่างแพร่หลายในพืชชั้นสูงทำหน้าที่เป็น phytoalexins และควบคุมการเจริญเติบโต เรสเวอราทอล (resveratrol; 3,4,5-trihydroxystilbene) อยู่ในกลุ่มของ chemical family พบในองุ่นและไวน์และสามารถป้องกันโรคหัวใจได้ส่วนใหญ่จะบริโภคในรูปแบบของไวน์แดง (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound>
(9 พ.ย. 2557)

2.3.5.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

โครงสร้างทั่วไปของฟลาโวนอยด์จะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) 2 วง คือวง A และ B ที่เชื่อมต่อกัน มีการเติมออกซิเจนให้กับเฮเทอโรไซคลิกของวงแหวน C โครงสร้างของวงแหวน C จะเป็นเช่นเดียวกับกับสถานะของออกซิเดชัน (oxidation) และหมู่ของฟังก์ชันของสารประกอบฟลาโวนอยด์แบ่งออกเป็น ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนน (flavanones) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) และไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) ดังรูปที่ 2.10 ในผักกาดและผลไม้ฟลาโวนอยด์จะพบได้บ่อยในรูปแบบไกลโคไซด์

เอกสาร... ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(glycoside) ปฏิกริยาไกลโคซิเลชัน (glycosylation) ทำให้โมเลกุลในปฏิกริยาลดน้อยลงแต่ละลายน้ำได้ กลูโคสเป็นน้ำตาลที่มักจะเกี่ยวข้องกับการเกิดไกลโคไซด์ (glycoside) แต่ยังสามารถพบได้ในกาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโลส (xylose) และอะราบินอส (arabinose) และนอกจากนี้ยังมีพวกไดแซคคาไรด์ (disaccharide) เช่น ructose (Blasa และคณะ, 2010)

แหล่งของฟลาโวนอยด์ขนาดใหญ่ในอาหารตะวันตกรวมทั้งผลไม้ เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม แอปเปิ้ล เชอร์รี่ องุ่น แบล็คเคอร์แรนท์ บิลเบอร์รี่ และแอปเปิ้ล ในจำนวนผักรวมทั้งหอมหัวใหญ่ บล๊อคโคลี่ มะเขือเทศ ผักขม ผักกาดเขียว ถั่วเหลือง และสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม ในความเป็นจริงสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอมจะมีความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์สูงกว่าผักทั่วไป สมุนไพรที่มีกลิ่นหอมยังมีสารต้านอนุมูลอิสระพิเศษที่เป็นต้นกำเนิดของสารฟีนอลิก (phenolic) สำหรับกรณีของโรสแมรี่จะเป็นฟีนอลิกพวก diterpene, carnosol และ rosmanol ซึ่งรวมถึงกรด carnosic และกรด rosmarinic จะมีสารต้านอนุมูลอิสระของฟีนอลมากในสมุนไพรชนิดนี้ ซึ่งในพริกไทย (piper nigrum) จะประกอบด้วยเอไมด์ 5 หมู่ของกรดฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Blasa และคณะ, 2010)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบมากในพืชผัก ผลไม้ ดอกไม้ ไวน์ พืชที่มีฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ได้แก่ ใบชา เปลือกมังคุด ดอกอัญชัน แอปเปิ้ล กระเจี๊ยบแดง ไบเบอร์รี่ ใบหม่อน องุ่น เชอร์รี่ ใบและดอกสะเดาบ้านหอมใหญ่ และพืชตระกูลถั่ว ฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น $C_6-C_3-C_6$ สารฟลาโวนอยด์มีความสำคัญต่อร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด (วิณา, 2556)

ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 6 ประเภทตามการเชื่อมต่อของวงโครเมน คือ

ก.) กลุ่มฟลาโวน (flavones) เป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์กลุ่มหนึ่งที่พบในพืชเป็นจำนวนมากมีการกระจายตัวทั่วไปในวงศ์พืชใบเลี้ยงคู่ ซึ่งส่วนใหญ่มีที่ส่วนใบ ส่วนเหนือดินและผลจะพบในผักชีฝรั่ง หอมใหญ่ ชา ส้ม คาโมมาย แอปเปิ้ล และแครอท เป็นต้น

ข.) กลุ่มฟลาโวนอล (flavonols) โครงสร้างจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) แทนที่ตำแหน่ง C-3 ดังนั้นอาจเรียกอีกชื่อว่า 3-hydroxyflavone พบในผักผลไม้หลายชนิด เช่น ชาเขียว แอปเปิ้ล องุ่น หอมแดง ชาเรียด มะเขือเทศ เป็นต้น

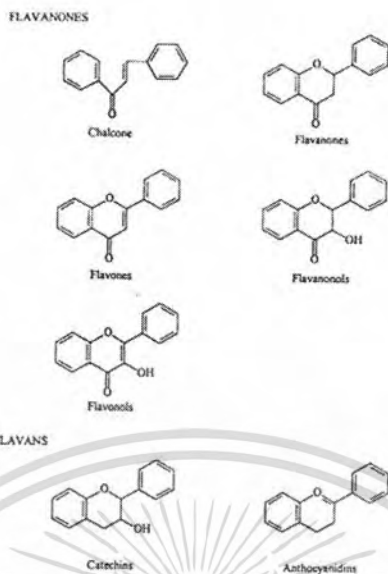
ค.) กลุ่มฟลาโวนอน (flavanones) ส่วนใหญ่จะไม่มีสี หรืออาจมีสีเหลืองอ่อนๆ การกระจายตัวในพืชพบได้น้อยกว่า ฟลาโวนและฟลาโวนอลพบในเกรปฟรุ้ต ส้ม และองุ่น

ง.) กลุ่มฟลาโวนอนอล (flavanonols) เป็นกลุ่มที่พบในธรรมชาติได้น้อยแต่โครงสร้างมีความหลากหลาย ฟลาโวนอนอลเมื่อถูกด่างที่อุณหภูมิสูงจะสลายตัวให้ซาลิโคลแต่จะคงตัวได้ดีในกรดพบในเมล็ดของ milk thistle, Larix sibirica และ Chinese yew เป็นต้น

จ.) กลุ่มฟลาแวน (flavans) ฟลาแวนอล (flavanols) โปรไซยานิดิน (procyanidins) และ ลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) ซึ่งสารกลุ่มฟลาแวนอลนั้นจะหมายถึงสารกลุ่มคาเทชิน (catechins) สารกลุ่มเหล่านี้จะพบได้ในชาเขียวและชาดำ

ฉ.) กลุ่มแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นสารที่ทำให้เกิดสีสันของดอกไม้และผลไม้บางชนิด พบได้ในกลีบดอกไม้และส่วนอื่นๆ เช่น กลีบเลี้ยง ใบ เปลือกผล โดยสีจะออกทางโทนส้มแดง น้ำเงิน และม่วง (วิณา, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

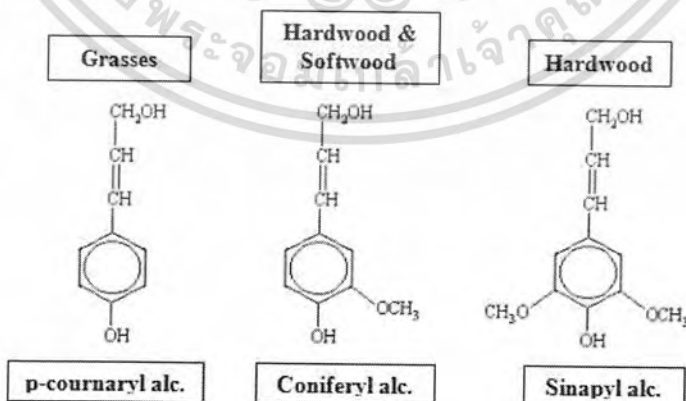


รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา : <http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning50/FT320/064.htm> (9 พ.ย. 2557)

2.3.5.3 ลิกแนน (lignans)

ลิกแนนเป็นไดเมอร์ (dimer) ของไดนามิกส์แอลกอฮอล์ (dynamic alcohol) ซึ่งมี cyclizes ในรูปแบบที่แตกต่างกันไปก่อให้เกิดความหลากหลายของโมเลกุลดังรูปที่ 2.11 ลิกแนนจะอยู่ในเนื้อเยื่อไม้ เมล็ดธัญพืชและพืชผัก เช่น แครอท บล็อกโคลี่ และเบอร์รี่ รวมไปถึงพวกไอโซฟลาโวน ลิกแนนจัดอยู่ในประเภทของไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens) คือสารธรรมชาติที่ได้จากพืชซึ่งมีผลต่อการป้องกันระบบหัวใจและหลอดเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของสารจำพวกลิกแนน

เอกสารนี้ [ที่มา : http://www.buranapagroup.com/knowledge_chemical.php](http://www.buranapagroup.com/knowledge_chemical.php) (9 พ.ย. 2557)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.5.4 แทนนิน (tannins)

แทนนินเป็นโพลีเมอร์ของกรดฟีนอลิก (phenolic acid) หรือฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ดังรูปที่ 2.12 มีอยู่ในธรรมชาติ มีทั้งชนิดที่เป็นไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolyzable tannins) และนอนไฮโดรไลซ์แทนนิน (non-hydrolyzable tannins) หรือคอนเดนส์ (condensed) tannin หน่วยพื้นฐานของไฮโดรไลซ์แทนนินเป็นกรดแกลลิกและกรดแอลลาติก (ellagic acid) ที่ถูกเอสเทอร์ิฟิ์กับโมเลกุลแกนส่วนใหญ่มักเป็นน้ำตาลกลูโคสหรือสารโพลีฟีนอล เช่นคาเทชิน (catechin) คอนเดนส์แทนนิน เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) ส่วนใหญ่จะเป็นโพลีเมอร์ของฟลาโวนอยด์ แทนนินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพแต่แทบจะไม่ถูกดูดซึมโดยลำไส้ และได้รับการพิจารณาว่าเป็นสาร antinutritional factor เนื่องจากสามารถทำให้สารนี้ความซับซ้อนและทำให้โปรตีนตกตะกอนและยับยั้งเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหาร (Blasa และคณะ, 2010)



ก่อนหน้านี้มีการศึกษาทางระบาดวิทยา (epidemiological) ที่มีบทบาทในเชิงบวกโดยโฮเกรน ผลไม้และผักจะขัดขวางภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเกิดออกซิไดซ์ (oxidative stress) และป้องกันโรค ผลกระทบนี้จะเกี่ยวข้องกับการมีอยู่ของเส้นใย กรดไขมันไม่อิ่มตัว oligoelement (แร่ธาตุ) และวิตามิน พอลิแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้เป็นเส้นใยที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเกี่ยวข้องกับการสร้างเมทริกซ์ที่มีลักษณะเป็นวุ้นที่ช่วยเพิ่มมวลออกจากระนำไปสู่การลดความเข้มข้นของกรดน้ำดีที่เป็นอันตรายและสารประกอบอื่นๆที่ก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งขึ้นในร่างกาย (Blasa และคณะ, 2010)

2.4 ผัก ผลไม้

2.4.1 ผัก (Vegetables)

ทุกคนรู้ว่าสิ่งที่เรียกว่า “ผัก” และก็ยังมีการจัดหมวดหมู่หรือคำอธิบายที่แน่นอนเกี่ยวกับส่วนที่แตกต่างกันของพืชที่ใช้สำหรับนำมาปรุงอาหาร ผักนั้นไม่มีโครงสร้างทางชีวภาพทั่วไปที่จะสามารถตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับกรณีตัวอย่างที่เป็นธัญพืช อย่างไรก็ตามแม้จะมีความเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลากหลายของโครงสร้างพฤกษศาสตร์ผักทุกชนิดก็มีคุณสมบัติทางโภชนาการเดียวกันโดยทั่วไปอย่างน้อยก็ในแง่ของคุณภาพ (Lintas, 1992)

ผักมีค่าพลังงานที่ต่ำซึ่งมักอยู่ระหว่าง 10 ถึง 50 กิโลแคลอรี (40-200 กิโลจูล) ต่อ 100 กรัม ถ้าต้องการที่จะได้รับประมาณ 1000 กิโลแคลอรีก็มีความจำเป็นที่จะต้องรับประทานประมาณ 2-3 กิโลกรัมสำหรับประโยชน์ทางโภชนาการของผักนั้น ผักจะมีปริมาณของธาตุอาหารสูงทั้งยังมีปริมาณแคลอรีและไขมันต่ำแทบทุกรายงานในระดับชาติหรือระดับนานาชาติได้มีการรายงานเกี่ยวกับการลดน้ำหนักและสุขภาพมีการเรียกร้องให้บริโภคผักและผลไม้เพิ่มขึ้นแทนที่จะรับประทานอาหารที่ให้พลังงานสูง ผักทุกชนิดจะมีปริมาณน้ำที่สูงซึ่งมีค่าอยู่ตั้งแต่ช่วงร้อยละ 79 พบในมันฝรั่ง ถึง ร้อยละ 96 พบในแตงกวา (ตารางที่ 2.2) ซึ่งผักต่างชนิดกันจะมีความแตกต่างกันที่องค์ประกอบทางเคมี ซึ่งในความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมีของผักนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิด เนื้อของพืชการเจริญเติบโต และวิธีการปรุงอาหาร ผักโดยทั่วไปมักจะอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรตแต่มีปริมาณของโปรตีน (1-5%) และไขมัน (0.1-1%) ต่ำ (Lintas, 1992)

ตารางที่ 2.2 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผัก (ต่อปริมาณ 100 กรัม)

สารอาหาร	แร่ธาตุ	วิตามิน	พลังงาน
น้ำ (กรัม)	79-96	แคลเซียม (มิลลิกรัม)	10-170
โปรตีน (กรัม)	0.5-5.0	ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	12-125
ไขมัน (กรัม)	0.1-1.0	เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.2-8.0
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	0.5-18.0	โซเดียม (มิลลิกรัม)	2-150
เส้นใยอาหาร (กรัม)	0.8-8.0	โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	200-600

ที่มา : Lintas, 1992

2.4.2 ผลไม้ (Fruits)

ในผลไม้มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่ให้ค่าพลังงานในระดับปานกลาง และในผลไม้ยังมีวิตามินที่มีฤทธิ์ป้องกัน แร่ธาตุและเส้นใยอาหาร แต่มีปริมาณของโปรตีนจำนวนน้อยมาก (ตารางที่ 2.3) ในผลไม้จะมีปริมาณไขมันที่ต่ำยกเว้นในอะโวคาโดและมะกอกซึ่งทั้งสองจะมีปริมาณไขมันถึงร้อยละ 15 (Lintas, 1992)

ผลไม้ชนิดต่างๆก็จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ต่างกัน (ระหว่างร้อยละ 1.5 ถึง 26) ในผลไม้สุกจะไม่มีพวกสตาร์ช โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสเป็นหลักซึ่งมักจะอยู่ในสัดส่วนที่เท่ากัน ในแอปเปิ้ลและลูกแพร์พบว่ามีย่าน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณมาก ในขณะที่แอปเปิ้ลและลูกแพร์ยังมีน้ำตาลซูโครส ทั้งผักและผลไม้ยังจะประกอบด้วยเส้นใยอาหารรวมทั้งกรดอินทรีย์ต่างๆในผลไม้สุกจะผลิตรสเปรี้ยว ซึ่งในระหว่างการสุกความเข้มข้นของกรดจะลดลงและปริมาณน้ำตาลจะ

ไม่ต่ำกว่าครึ่งหนึ่ง ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้นวิตามินซีนั้นจะพบอยู่ในผลไม้สด แต่สตอเบอร์รี่และผลไม้จำพวกซิตรัสโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกีวี่ นั้นเป็นแหล่งของวิตามิน ตัวอย่างเช่น ในกีวี่หรือส้มขนาดกลางประกอบด้วยวิตามินที่ต้องการในชีวิตประจำวันสำหรับผู้ใหญ่ทั่วไป สำหรับในแอปเปิ้ลและลูกพีชมีปริมาณของวิตามินซีในระดับปานกลางซึ่งสามารถให้วิตามินในปริมาณที่สมควรเมื่อรับประทานในปริมาณที่เพียงพอ (Lintas, 1992)

ตารางที่ 2.3 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผลไม้สด (ต่อปริมาณ 100 กรัม)

สารอาหาร	แร่ธาตุ	วิตามิน	พลังงาน
น้ำ (กรัม)	80-95 แคลเซียม (มิลลิกรัม)	6-50 เบต้า-คาโรทีน (มิลลิกรัม)	0.2-2.0 (Kcal) 6-66
โปรตีน (กรัม)	0.5-1.5 เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.3-1.0 ซี (มิลลิกรัม)	10-90 (Kj) 25-276
ไขมัน (กรัม)	0.1-1.0 โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	110-450 บี6 (มิลลิกรัม)	0.03-0.35
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	1.5-26.0		
เส้นใยอาหาร (กรัม)	0.2-6.4		

ที่มา : Lintas, 1992

ในผลไม้ที่มีปริมาณของธาตุเหล็กและแคลเซียมอยู่ ซึ่งปริมาณของแคลเซียมที่พบนั้นมีปริมาณน้อยในผลไม้จำพวกซิตรัส เช่น มะนาว ซึ่งในผลไม้ทั้งลูกนั้นจะมีปริมาณเป็น 2 เท่าของปริมาณที่มีอยู่ในปริมาณที่เท่ากันในน้ำผลไม้ ส่วนในสตอเบอร์รี่และมะเดื่อแห้งนั้นยังพบแคลเซียมอีกด้วย ส่วนแร่ธาตุพวกโซเดียม แมกนีเซียมและโพแทสเซียมนั้นยังมีความจำเป็นสำหรับเถ้า (ash) ที่มีคุณสมบัติเป็นต่างในผลไม้เมื่อเกิดระบบการเผาผลาญในร่างกาย นอกจากนี้แร่ธาตุต่างๆยังมีอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกันในผลไม้ชนิดต่างๆ (Lintas, 1992)

2.4.3 เส้นใยอาหาร (Fiber)

คำนิยามเกี่ยวกับเส้นใยอาหารที่เป็นที่ยอมรับคือปัจจัยด้านลักษณะทางกายภาพ ซึ่งลักษณะทางกายภาพของเส้นใยอาหารที่สำคัญหลักๆคือสามารถทนต่อการย่อยในลำไส้เล็กได้ คำนิยามของเส้นใยอาหารที่ผ่านๆมานั้นยังรวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยชนิดอื่นๆด้วย ตัวอย่างเช่น รีซิส แตนท์สตาร์ช มอลโตเด็กทรีนที่ทนต่อการย่อย ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ คุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับเซลลูโลสที่ถูกตัดแปด และพอลิเมอร์ที่มาจากมารวมตัวกันของคาร์โบไฮเดรต ตัวอย่างเช่น โพลีเดกซ์โทส (polydextrose) คำนิยามที่ถูกนำเสนอล่าสุดโดย Codex Alimentarius จะรวมถึงคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ที่มีระดับของการพอลิเมอร์ไรเซชันไม่น้อยกว่า 3 (Mudgil และ Barak, 2013)

ชนิดของเส้นใยอาหารถูกจำแนกได้จากแหล่งที่มาของความสามารถในการละลายน้ำ ประสิทธิภาพในการหมักและผลทางกายภาพ ปกติแล้วเส้นใยอาหารรวมทั้งพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่

เอกสารโอลิโกแซคคาไรด์ ลิกนิน และสารจากพืชที่เกี่ยวข้อง สารต่างๆเหล่านี้โดยทั่วไปจะสามารถรับ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้จากธัญพืช ผักที่มีฝัก ผักและผลไม้ สตาร์ทซ์ที่ทนต่อการย่อยจะจัดเป็นเส้นใยอาหารพวกที่สามารถทนต่อการย่อยส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กของมนุษย์และผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ได้มี การศึกษาเกี่ยวกับเส้นใยอาหารอย่างแพร่หลายมากขึ้นในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาเพราะว่ามีผลทาง กายภาพที่เป็นประโยชน์ ตัวอย่างเช่น ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ช่วยปรับปรุงการ ทำงานของลำไส้ใหญ่ และช่วยลดระดับน้ำตาลและระดับของอินซูลินในเลือด เส้นใยอาหารยังสามารถ แบ่งกลุ่มออกได้ตามความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ เส้นใย อาหารที่ไม่ละลายน้ำ กับเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ ในส่วนของประโยชน์ที่ได้จากคุณสมบัติทาง กายภาพ ตัวอย่างเช่น ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ควบคุมโรคเบาหวานและช่วยปรับปรุงระบบการ ย่อยอาหาร เส้นใยอาหารนั้นยังช่วยปรับปรุงการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ กิจกรรมของเส้นใยอาหารนั้นเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของพรีไบโอติก สารพวกพรีไบโอติกนั้นเป็น สารประกอบในอาหารที่มีความสามารถทนต่อการย่อยซึ่งช่วยส่งผลประโยชน์ต่ออวัยวะของเจ้าบ้าน (host) โดยจะไปกระตุ้นการเจริญและเพิ่มกิจกรรมของแบคทีเรียชนิดดี อย่างเช่น *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ และยังช่วยปรับปรุงสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) ซึ่งสารที่เป็นพวก พรีไบโอติกโดยส่วนใหญ่ ได้แก่ เกอร์กัน กัม ทากาแซนกัน ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอ ลิโกแซคคาไรด์โดยจะทำหน้าที่เป็นอาหารสำหรับแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ และช่วยส่งเสริมการเจริญ และช่วยเพิ่มกิจกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ (Mudgil และ Barak, 2013)

เส้นใยอาหารโดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ (พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่ สตาร์ทซ์) โดยเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชทั้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน ซึ่งจะมี ความคล้ายกับพอลิแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆของพืชและสาหร่าย ตัวอย่างเช่น กัม และมิวสิเลค และโอลิโกแซค คาไรด์ ตัวอย่างเช่น อินนูลิน ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายกับคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยซึ่งสามารถผ่าน ส่วนของลำไส้เล็กไปได้แต่จะถูกย่อยโดยการหมักที่ลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงรีซิสแตนท์สตาร์ทซ์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เซลลูโลสที่ถูกดัดแปลง และพอลิเมอร์ที่เกิดการ จากรวมตัวกันของคาร์โบไฮเดรตตัวอย่างเช่น โพลีเดกซ์โตรส (Mudgil และ Barak, 2013)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีระดับของการพอลิเมอร์เชชันประมาณ 3-10 ตาม ธรรมชาติที่พบในอาหารของพืช ซึ่งจะพบมากในผลไม้ ผักและธัญพืช ซึ่งเป็นการรวมกันของน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่โดยกระบวนการทางเคมีหรือการใช้เอนไซม์ และจาก สารพอลิแซค คาไรด์โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยถูกจัดให้เป็นเส้นใยอาหารเพราะว่า มีหน้าที่ของลักษณะทางกายภาพเช่นเดียวกับพอลิแซคคาไรด์ขนาดใหญ่ เนื่องจากมีคุณสมบัติของ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยและมีคุณสมบัติของการเป็นพรีไบโอติกด้วย ทั้งฟรุคโตโอลิโกแซค คาไรด์และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์นั้นเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีการบริโภค โดยจะเป็นสารอาหารที่ นำมาใช้เป็นอาหารของแบคทีเรียชนิดดีตัวอย่างเช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* โดยใน การศึกษามีการแสดงให้เห็นว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน สามารถช่วยในการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ ขณะที่จะทำกรกระตุ้นเพื่อให้เกิดการลด จำนวนลงของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย ประโยชน์เสริมในด้านอื่นๆของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กา แลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลินจะไปช่วยเพิ่มผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของกรดไขมันสายสั้นๆที่เป็น ประโยชน์เช่น บิวทีเรต (butyrate) ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียม และช่วยทำให้กำจัด สารพิษได้ดีขึ้น แหล่งที่พบฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินตามธรรมชาติ ได้แก่ อาติร์โชค เบอร์ดี

เอกสาร (burdock) ชิคอรี รากต้นแดนติโลออน กระเทียมต้น หัวหอม และหน่อไม้ฝรั่ง นอกจากนี้ฟรุคโต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลิโกลแซคคาไรด์ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากซูโครสด้วยการใช้เอนไซม์ กาแลคโตโพลิโกลแซคคาไรด์ก็สามารถสังเคราะห์ได้จากแลคโตสโดยการใส่เอนไซม์ที่สามารถพบกาแลคโตโพลิโกลแซคคาไรด์ตามธรรมชาติได้จากถั่วเหลือง (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.3.1 ประโยชน์ต่อสุขภาพของเส้นใยอาหาร

2.4.3.1.1 ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

จุลินทรีย์บางส่วนในลำไส้หรือการหมักคาร์โบไฮเดรตที่สมบูรณ์ซึ่งต้านการย่อยและเกิดการดูดซึมในลำไส้เล็ก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักตัวอย่างเช่น กรดไขมันสายสั้นๆซึ่งมีบทบาททางกายภาพที่สำคัญ คาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยจะสามารถผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่แล้วทำให้อุจจาระมีความอ่อนนุ่มขึ้น เพิ่มปริมาณของอุจจาระและช่วยให้ขับถ่ายได้ดีขึ้น ถ้ารับประทานเส้นใยอาหารเข้าไปมากก็จะไปช่วยเพิ่มปริมาณของอุจจาระให้เพิ่มขึ้น และจะทำให้ช่วยเพิ่มเวลาการขับถ่ายให้มากขึ้นซึ่งมีส่วนอย่างมากที่จะป้องกันความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่ เช่น อาการท้องผูก ลำไส้อักเสบ และมะเร็งลำไส้ใหญ่ คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกดูดซึมส่วนใหญ่จะให้ฤทธิ์เหมือนเป็นยาระบายแล้วก็ทั้งช่วยเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียหรือผลการออสโมติก (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.3.1.2 ผลต่อการลดระดับคอเลสเตอรอล

จากการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องกันของความสัมพันธ์ที่ผกผันกันระหว่างเส้นใยอาหารและอันตรายของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โดยจะพิจารณาจากปริมาณที่พอเหมาะของระดับการรับประทานเส้นใยอาหารจะไปช่วยลดความเสี่ยงของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้ เมื่อเร็วๆนี้มีหลายตัวเชื่อมโยงเกี่ยวกับการรับประทานเส้นใยอาหารว่าเป็นสิ่งที่ส่งผลต่อผลของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ กลไกการตั้งสมมติฐานต่อระดับที่ลดลงของคอเลสเตอรอลทั้งหมดและคอเลสเตอรอลชนิดไขมันที่มีความหนาแน่นต่ำรวมทั้งการรักษาระดับการดูดซึมคอเลสเตอรอลและกรดน้ำดี รวมทั้งการดูดซึมและการแก้ไขระบบเมแทบอลิซึมของตับและการสลายไขมันในเส้นเลือด เส้นใยอาหารที่มีความหนืดสูง (ตัวอย่างเช่น ข้าวโอ๊ต เบต้ากลูแคน เพคติน และเกอร์กัม) มีอิทธิพลต่อระดับไขมันในเลือดแต่เส้นใยอาหารที่ไม่หนืด ตัวอย่างเช่น เส้นใยอาหารจากข้าวสาลีและเซลลูโลสทั่วไปจะไม่สามารถทำได้ ในบางที่พบว่าคุณสมบัติของการลดระดับคอเลสเตอรอลของเส้นใยอาหารที่มีความหนืดบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ตสามารถที่จะลดความเสี่ยงของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้ (Mudgil และ Barak, 2013)

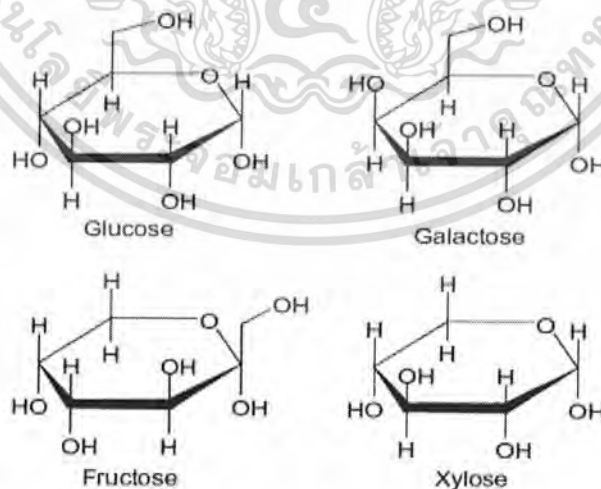
2.4.3.1.3 ลดการตอบสนองต่อระดับน้ำตาลในเลือด

ในบางรายงานการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ผกผันกันระหว่างเส้นใยอาหารที่รับประทานกับความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานประเภทที่ 2 เส้นใยอาหารบางชนิดจะไปช่วยลดการตอบสนองต่อระดับน้ำตาลในเลือด เส้นใยอาหารที่มีความหนืดแสดงให้เห็นผลทั้งที่มาจากอาหารทั่วไปมีผลที่เหมือนกับในอาหารเสริมที่แยกได้ มีความขัดแย้งเกิดขึ้นจากข้อมูลที่คาดหวังแสดงให้เห็นว่าการรับประทานเส้นใยอาหารที่ไม่หนืด เช่น ธัญพืชเต็มเมล็ดเป็นผลดีต่อความเสี่ยงของการต้านอินซูลินและโรคเบาหวาน (จะมีความเสี่ยงน้อยถ้ารับประทานมาก) เส้นใยอาหารที่บริโภคนั้นมีความสัมพันธ์ตรงกันข้ามกับดัชนีมวลกาย อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเกี่ยวกับการแทรกแซงความอยากอาหาร พลังงาน และอาหารทั้งหมดที่รับประทานนั้นไม่มีความสอดคล้องกัน มีข้อบ่งชี้บางอย่างว่าเส้นใยอาหารที่มีความหนืด ตัวอย่างเช่น เพคติน และเกอร์กัมทำให้เกิดการย่อยที่กระเพาะอาหารได้ช้า และเกิดการย่อยสลายกับรีซิสแทนท์สตาร์ชได้ช้าทำให้อิ่มไว มีข้อมูลว่าประโยชน์ที่ได้จากธัญพืชเต็มเมล็ด ผลไม้และผักช่วยให้เกิดสมดุลของส่วนประกอบที่แยกจากสารอาหารเหล่านี้ (ใช้ทั้งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำ

อาหารเสริมและที่เพิ่มลงในอาหาร) ความเป็นไปได้อื่นๆที่ยังไม่มีคือการรวมตัวกันของเส้นใยอาหาร สารอาหาร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทำหน้าร่วมกันซึ่งการรวมกันนี้ส่งผลดีต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามก็ ตามการจำแนกชนิดของเส้นใยอาหาร ตัวอย่างเช่น สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย และโพลีเดกซ์โทสมีส่วนช่วยในการป้องกันและช่วยบรรเทาความผิดปกติของลำไส้และลด ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคลำไส้เนื้อหัวใจขาดเลือด และโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.4 พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย (Non-digestible polysaccharide)

คาร์โบไฮเดรตนั้นสามารถนำมาแบ่งประเภทได้ตามขนาดของโมเลกุล หรือดีกรีของการพอลิเมอร์ (จำนวนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว) กลายเป็นโมโนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ หรือพอลิแซคคาไรด์ ตามระบบการตั้งชื่อ IUB-IUPAC โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ถูกจัดให้เป็นแซคคาไรด์ (saccharides) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3-10 โมเลกุล ซึ่งในหน่วยงานอื่นได้ให้คำจำกัดความว่าสารใดก็ตามที่จัดเป็นแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตั้งแต่ 3-19 โมเลกุล อย่างไรก็ตามไม่มีเหตุผลทางชีวภาพ กายภาพ หรือทางเคมี สำหรับการตั้งชื่อจำกัดเหล่านี้ ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลต่ำในขณะเดียวกันถ้าพิจารณาโดยอาศัยสมบัติพื้นฐานทางชีวภาพกายภาพคาร์โบไฮเดรตยังสามารถแบ่งประเภทได้เป็น คาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย แนวคิดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเริ่มมาจากการสังเกตว่ามีคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 หรือ 2 ของโมโนแซคคาไรด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบในหน่วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารบางชนิดมี configuration ให้พันธะออกซิติก (osidic bond) ในโมเลกุลโอลิโกแซคคาไรด์นี้ไม่สามารถถูกย่อยโดยกิจกรรมไฮโดรไลติกของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยในอาหารของมนุษย์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยกลุ่มหลักที่มีอยู่ในปัจจุบันหรือที่กำลังพัฒนาให้เป็นส่วนประกอบในอาหารรวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็น ฟรุคโตส (fructose) กาแลคโตส (galactose) กลูโคส (glucose) และไซโลส (xylose) ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 สารประกอบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่มาจากงานวิจัยของ **ทีมา : นางสาว Mussatto และ Mancilha (2007)** เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยเป็นที่รู้จักกันดีในการนำมาช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสายพันธุ์ของ *Bifidobacteria* และได้รับการยอมรับให้เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยที่มีหน้าที่ bifidogenic ซึ่งมีการผลิตขึ้นจำหน่ายทั้งหมด 13 ชนิดแสดงในตารางที่ 2.4 ความแตกต่างทางเคมีของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเหล่านี้ตัวอย่างเช่น ความยาวของสายโซ่ในโมเลกุล องค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จำนวนสายกิ่งและความบริสุทธิ์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่สร้างจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่แตกต่างกัน 1 2 หรือ 3 ชนิด ถึงแม้ว่าโอลิโกแซคคาไรด์จะประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอย่างน้อย 3 โมเลกุล แลกทูโลส (lactulose) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่คุณสมบัติคล้ายคลึงกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยและด้วยเหตุนี้จึงจัดว่าเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งด้วย ในทำนองเดียวกัน ซิโลไบโอส (xylobiose) เป็นน้ำตาลที่มาจากกระบวนการ polymerization ระดับ 2 ซึ่งถือว่าเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide) เนื่องจากพบว่ามีคุณสมบัติทางเทคโนโลยีและยังส่งผลต่อสุขภาพคล้ายกับที่ได้จากไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากกระบวนการ polymerization ในระดับที่สูงกว่า (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ตารางที่ 2.4 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยที่มีหน้าที่ bifidogenic ซึ่งที่มีจำหน่ายทางการค้า

สารประกอบ	โครงสร้างโมเลกุล ^a
Cyclodextrins	(Gu) _n
Fructooligosaccharides	(Fr) _n -Gu
Galactooligosaccharides	(Ga) _n -Gu
Gentiooligosaccharides	(Gu) _n
Glycosylsucrose	(Gu) _n -Fr
Isomaltooligosaccharides	(Gu) _n
Isomaltulose (หรือ palatinose)	(Gu-Fr)
Lactosucrose	Ga-Gu-Fr
Lactulose	Ga-Fr
Maltooligosaccharides	(Gu) _n
Raffinose	Ga-Gu-Fr
Soybean oligosaccharides	(Ga) _n -Gu-Fr
Xylooligosaccharides	(Xy) _n

^a Ga,กาแลคโตส;Gu,กลูโคส;Fr,ฟรุคโตส;Xy,ไซโลส

ที่มา : Mussatto และ Mancilha (2007)

2.4.4.1 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติละลายน้ำได้และโดยปกติจะมีความหวานเป็น 0.3-0.6 เท่าของน้ำตาลทราย ซึ่งในความเป็นจริงแล้วความหวานนี้จะขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี ระดับของการเกิด polymerization ของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่และระดับของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ภายในโครงสร้าง มีรายงานว่าความหวานจะลดลงตามความยาวของสายโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น ความหวานเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ต่ำนี้มีประโยชน์อย่างมากกับอาหารหลายชนิดที่ต้องการจำกัดการใช้น้ำตาลซูโครส (sucrose) เนื่องจากมีความหวานมาก

การที่โอลิโกแซคคาไรด์มีความหวานที่ค่อนข้างต่ำทำให้โอลิโกแซคคาไรด์มีประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อต้องการลดความหวานลงเพื่อเพิ่มกลิ่นรสของอาหารชนิดอื่นๆ ในกรณีของอาหารที่มีความหวานมากเราอาจจะใช้โอลิโกแซคคาไรด์ในฐานะของ bulking agent ร่วมกับสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ตัวอย่างเช่น แอสปาร์แทม (aspartame) หรือซูคราโลส (sucralose) เพื่อช่วยบดบังกลิ่นรสที่ไม่ดีของสารให้ความหวานบางชนิด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่แล้วจะพบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าจะให้ความหนืดที่มากกว่าซึ่งจะทำให้ปรับปรุงลักษณะของอาหารและรสสัมผัสในปาก (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ความคงตัวจะมีความแตกต่างกันตามกลุ่มของโมเลกุลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งขึ้นอยู่กับสาร sugar residues ที่มีอยู่ รูปร่างที่เป็นวงแหวน การจัดเรียงตัวแบบ 3 มิติของ anomeric carbon และชนิดของพันธะในโมเลกุล โดยทั่วไปแล้วพันธะเบต้าจะมีความแข็งแรงมากกว่าพันธะแอลฟาและน้ำตาลเฮกโซส (hexose) จะมีพันธะที่เชื่อมกันแข็งแรงกว่าน้ำตาลเพนโทส (pentose) แต่อย่างไรก็ตามน้ำตาลทั้งหมดที่ค่า pH น้อยกว่า 4.0 และในสภาพที่มีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นหรือในสภาพของการเก็บไว้เป็นเวลานานที่อุณหภูมิห้อง โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในอาหารสามารถถูกไฮโดรไลซ์ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ โอลิโกแซคคาไรด์ยังสามารถนำไปใช้ในการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งอาหารแช่แข็ง และควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยา Millard ในอาหารที่ผ่านการแปรรูปโดยการให้ความร้อนและยังทำให้มีความสามารถในการกักเก็บความชื้นซึ่งช่วยป้องกันการแห้งมากเกินไปและยังช่วยให้ปริมาณน้ำอิสระอยู่ในระดับต่ำซึ่งช่วยให้สะดวกขึ้นในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ค่าของพลังงานที่ได้ (caloric value) ของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีค่าประมาณ 1.5-2.0 กิโลแคลอรีต่อกรัม คือมีค่าประมาณร้อยละ 40-50 ของพลังงานที่ได้จากคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยได้ ตัวอย่างเช่น ซูโครส (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.4.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ

โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่สำคัญซึ่งถือเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเนื่องจากมีคุณสมบัติทางกายภาพหลายอย่างที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมากหนึ่งในนั้นก็คือจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในช่องปากจะไม่ใช้โอลิโกแซคคาไรด์นี้ซึ่งแตกต่างจากสตาร์ช (starch) และน้ำตาลทั่วไป ดังนั้นจึงไม่เกิดการผลิตกรดและโพลีกลูแคน (polyglucan) (สารที่ทำให้เกิดฟันผุ) เกิดขึ้น ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยจึงสามารถนำมาใช้เป็นสารที่นำมาใช้ทดแทนน้ำตาลเพื่อลดการทำให้เกิดอาการฟันผุในผลิตภัณฑ์พวกขนมหวานชนิดต่างๆ หมากฝรั่ง โยเกิร์ต และเครื่องดื่ม (Mussatto และ Mancilha, 2007)

โอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิดจะไม่ถูกย่อยได้ในร่างกายมนุษย์เพราะไม่มีเอนไซม์ที่สามารถนำมาใช้ย่อยพันธะเบต้าที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวบางชนิด สารประกอบเหล่านี้รวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น ฟรุคโตส กาแลคโตส กลูโคส และไซโลส คุณสมบัตินี้ทำให้โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในอาหารหวานที่ให้พลังงานต่ำสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Mussatto และ Mancilha, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โอลิโกแซคคาไรด์ส่วนใหญ่จะถูกไฮโดรไลซ์ในส่วนบนของระบบทางเดินอาหาร น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ย่อยได้จะถูกขนส่งไปตามกระแสเลือดไปยังตับ และต่อมาก็เข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดผ่านไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย คาร์โบไฮเดรตเหล่านั้นมีความจำเป็นต่อสุขภาพเนื่องจากทำหน้าที่เป็นซับสเตรท (substrate) และเป็นตัวควบคุมของวิถีเมแทบอลิซึมที่สำคัญ แต่อย่างไรก็ตามโอลิโกแซคคาไรด์บางชนิดก็มีคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพที่จำเพาะและต้านทานต่อกระบวนการย่อยทำให้สามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ส่วน caeco ได้ ใน caeco-colon โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยส่วนใหญ่ (แต่ไม่ใช่ทั้งหมด) จะถูกย่อยเป็นโอลิโกเมอร์และโมโนเมอร์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่อไปโดยจะถูกย่อยด้วยแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศจำนวนเล็กน้อยหรือจำนวนมาก ตัวอย่างของกระบวนการเมแทบอลิซึมขึ้นซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นการหมัก ไม่เพียงแต่จะทำหน้าที่ให้พลังงานแก่แบคทีเรียสำหรับการเจริญและยังเกิดการผลิตภัณฑ์ (แก๊สไฮโดรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สมีเทน) ซึ่งไม่มีประโยชน์กับเจ้าบ้าน (host) และยังเกิดการผลิตภัณฑ์อินทรีย์โมเลกุลเล็กๆ (กรดไขมันสายสั้นๆ) ตัวอย่างเช่น แอซิเตต (acetate) โพรพิโอเนต (propionate) บิวทีเรต (butyrate) และแลคเตต (L-lactate) ถึงแม้ว่าจะไม่ให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้แก่ร่างกาย โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเป็นซับสเตรทที่ให้พลังงานทางอ้อม และยังเป็นตัวควบคุมในกระบวนการเมแทบอลิซึมอีกด้วย โดยปริมาณและชนิดของกรดไขมันสายสั้นๆที่ผลิตได้ในลำไส้จะขึ้นอยู่กับชนิดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่ถูกใช้เป็นซับสเตรท รวมทั้งสายพันธุ์ต่างๆของแบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ในระบบทางเดินอาหารนั้นเต็มไปด้วยแบคทีเรียจำนวนมากซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยจำนวนของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในลำไส้กลุ่มจุลินทรีย์ที่เด่นๆแสดงดัง (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศที่มีลักษณะเด่นในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์

กลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเซลล์ในหน่วย $\log (g \text{ dry wt}^{-1})$
Bacteroides	9.2 – 13.5
Eubacteria	5.0 – 13.3
Bifidobacteria	4.9 – 13.4
Clostridia	3.3 – 13.1
Lactobacilli	3.6 – 12.5
Ruminococci	4.6 – 12.8
Peptostreptococci	3.8 – 12.6
Peptococci	5.1 – 12.9
Streptococci (สายพันธุ์ไม่ต้องการอากาศ)	7.0 – 12.3
Methanobrevibacter	7.0 – 10.3
Desulfovibrios	5.2 – 10.9

ที่มา : Mussatto และ Mancilha (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยประมาณ 10^{13} เซลล์ และความหลากหลายที่มีมากกว่า 400-500 สายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันตามรายงาน จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีความเป็นพิษต่อเจ้าบ้าน (host) อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในลำไส้บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ก่อโรค และอาจเกี่ยวข้องกับการเริ่มต้นของความผิดปกติแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยทำให้สารนี้ถูกย่อยด้วยแบคทีเรียจำนวนที่จำกัดเท่านั้น ดังนั้นสารนี้จึงช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรีย ในบรรดากลุ่มของแบคทีเรียที่มีอยู่ในทางเดินอาหารเช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* เป็นแบคทีเรียที่มีการนำโอลิโกแซคคาไรด์มาใช้มากที่สุด ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสองสกุลนี้จึงถูกพิจารณาว่าเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเดียวที่ส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) (Mussatto และ Mancilha, 2007)

อัตราของการหมักโอลิโกแซคคาไรด์จะขึ้นอยู่กับระดับของพอลิเมอร์ไรเซชัน ประเภทน้ำตาลและประเภทของพันธะไกลโคซิดิกและระดับของสายกิ่ง ซึ่งการทำงานร่วมกันระหว่างแบคทีเรียในช่วงการเกิดกระบวนการหมักความสัมพันธ์ระหว่างซับซ้อนของแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์จากการหมักสถานะธรรมชาติของการหมักและความสามารถในการผลิตแซคคาไรด์ การหมักพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้ใหญ่ caeco จากเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่อาจทำให้เกิดสาเหตุที่มีผลต่อสุขภาพต่อไปนี้

1. การเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ เพราะโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้เป็นสับสเตรทสำหรับการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ ส่วนใหญ่คือแบคทีเรียจำพวก *Bifidobacteria* ซึ่งจะไปยังยังการเจริญเติบโตของ putrefactive และเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้ใหญ่ caeco

2. การลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่และในอุจจาระ เป็นผลมาจากการผลิตกรดไขมันชนิดสายสั้นๆ ระดับของค่าพีเอชที่ต่ำจะไปยังยังการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบางสายพันธุ์ ขณะที่ก็จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bifidobacteria* และจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์กรดแลคติกชนิดอื่นๆ

3. การผลิตสารอาหาร เช่น วิตามินบีรวม (บี1 บี2 บี6 และ บี12) ไนอะซินและกรดโฟลิก

4. การเพิ่มปริมาณของน้ำหนักรูจจาระแห้งซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากการหมักพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยได้ในปริมาณมาก

5. ช่วยบรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากขนาดของอุจจาระและอาจเป็นผลจากการหดตัวคลายตัวของลำไส้ ความสามารถในการทนต่อการย่อยของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยแสดงให้เห็นว่ามีผลคล้ายกับการบริโภคอาหารจำพวกเส้นใยอาหาร และสามารถป้องกันอาการท้องผูกได้ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ กรดไขมันชนิดสายสั้นๆจะถูกดูดซึมและถูกนำมาใช้โดยเซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ และจะเกิดการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเช่นเดียวกับการช่วยดูดซึมเกลือและน้ำ การเพิ่มขึ้นของความชื้นในก้อนอุจจาระโดยการผ่านแรงดันออสโมติก และจะไปช่วยการปรับปรุงการหดตัวคลายตัวของลำไส้

6. การบรรเทาโรคอุจจาระร่วง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีส่วนเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในลำไส้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับผลของการยับยั้งที่เกิดขึ้นได้ของเชื้อ *Bifidobacteria* ทั้งประเภทแกรมบวกและแกรมลบ

7. ช่วยป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และระบบทางเดินปัสสาวะเนื่องจากความสามารถในการยับยั้งการยึดเกาะของแบคทีเรียในการพื้นผิวของเยื่อบุผิว (ในขั้นตอนแรกของการกระบวนการติดเชื้อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การเพิ่มการดูดซึมของแร่ธาตุชนิดอื่น เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม และแมกนีเซียม เนื่องจากการรวมตัวหรือความสามารถในการกักเก็บของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย แร่ธาตุที่รวมตัวหรือกักเก็บและผลก็คือโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยจะไม่ดูดซึมทั้งในลำไส้เล็กไปจนถึงลำไส้ใหญ่ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้จะปล่อยออกมาจากเมทริกซ์ของคาร์โบไฮเดรตและถูกดูดซึม การที่มีการดูดซึมแคลเซียมเพิ่มขึ้นนั้นจะไปช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน ซึ่งแร่ธาตุชนิดนี้จะไปช่วยส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นของกระดูกและมวลกระดูก

9. ประโยชน์ของการช่วยเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและไขมันซึ่งจะทำให้ระดับของคลอเลสเทอรอล ไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิพิดในเลือดลดลง จึงทำให้ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานและโรคอ้วน

10. ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง หลักๆคือโรคมะเร็งลำไส้ผลของสารช่วยต้านมะเร็งนี้ดูเหมือนจะเกี่ยวข้องกับกำกับการเพิ่มขึ้นของการสร้างภูมิคุ้มกันในเซลล์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์และเป็นส่วนประกอบของพื้นผิวภายนอกของเชื้อ *Bifidobacteria*

2.4.4.3 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่พบในธรรมชาติ

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีหลากหลายชนิดที่พบได้ในธรรมชาติซึ่งจะพบได้ใน นม น้ำผึ้ง ผลไม้และผัก ตัวอย่างเช่น หัวหอม กระเทียม กล้วย เยรูซาเลมอาร์ติโชค (Jerusalem artichoke) ชิคอรี (chicory) กระเทียมต้น (leeks) ข้าวไรน์ ข้าวบาเลย์ ยาคอน (yacon) และซาลซิไฟด์ (salsify) โดยส่วนมากของแหล่งที่กล่าวนี้มีความเข้มข้นของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยอยู่ในช่วงร้อยละ 0.3-6.0 ของน้ำหนักสด สำหรับชิคอรีและซาลซิไฟด์มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 5-10 ขณะที่อาร์ติโชคและยาคอนมีความเข้มข้นมากถึงร้อยละ 20 ส่วนในตัวอย่างอื่นๆที่พบตามธรรมชาติจะมีโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยอย่างเช่น กาแลคโตซิลูโคส (galactosylsucroses) ราฟฟิโนส (raffinose) และ สตาซิโอส (stachyose) ในถั่วเหลือง เมล็ดถั่วชนิดต่างๆ และในเมล็ดของพืชตระกูลถั่ว ไฮโลโอลิโกแซคคาไรด์พบในนมแม่ และโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสที่พบได้ในนม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำนมถั่วเหลือง (colostrums) หรือน้ำนมของแม่วัวหลังคลอดใหม่ๆ ทั้งในรูปอิสระหรือในรูปของ glycoconjugates

โดยเฉพาะใน นมแม่ น้ำผึ้ง หัวปืท กระเทียม ชิคอรี หัวหอม อาร์ติโชค ข้าวสาลี (wheat) น้ำผึ้ง กล้วย ข้าวบาเลย์ มะเขือเทศ และข้าวไรน์เป็นแหล่งของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความพิเศษมาก ส่วนไอโซมอลทูลอส (isomaltulose) ที่พบตามธรรมชาติสามารถพบได้ใน น้ำผึ้ง น้ำเชื่อมอ้อย และในผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากกากน้ำตาลในระดับที่ปลอดภัยสำหรับการผลิตอาหาร ไฮโลโอลิโกแซคคาไรด์พบได้ในธรรมชาติใน นมแม่ ผลไม้ ผัก นม และน้ำผึ้ง กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide) โดยจะพบได้ในธรรมชาติในน้ำนมของมนุษย์ และในน้ำนมของวัวปริมาณเล็กน้อย ไฮโคเด็คทรีน (cyclodextrin) พบได้ในธรรมชาติในกลุ่มแคนทีละลายน้ำได้ในเมล็ดของถั่วที่เป็นฝัก (legumes) ถั่วเลนทิล (lentils) ถั่วพีส์ (peas) ถั่วเหลือง ถั่วลูกไก่ มอลโล่ (mallow) คอมโพสิท (composite) และมัสตาร์ด (mustard) พบว่ามีปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์พวกราฟฟิโนสจำนวนมาก (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.4.4.4 การนำโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมาประยุกต์ใช้

โอลิโกแซคคาไรด์จำนวนหนึ่งได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการใช้เป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อสุขภาพในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา และยังมีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและมีการนำมาใช้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนใหญ่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม (น้ำผลไม้ กาแฟ โกโก้ ชา โซดา การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์) ผลิตภัณฑ์นม (นมหมัก นมผงที่ละลายในน้ำเย็นได้ นมผง และไอศกรีม) โยเกิร์ตที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติก (หลักการคือเพื่อให้จุลินทรีย์ที่มีชีวิตนำโอลิโกแซคคาไรด์ไปใช้แล้วส่งผลประโยชน์ต่อโฮสต์ (host) โดยไปช่วยปรับปรุงให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้) และผลิตภัณฑ์ซินไบโอติก (synbiotic product) (ซึ่งเป็นการผสมรวมกันของโพรไบโอติกและโพรไบโอติกซึ่งช่วยทำให้เกิดประโยชน์ต่อโฮสต์ (host) โดยจะช่วยปรับปรุงการอยู่รอดและมีการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต) ในระบบทางเดินอาหารโดยจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือทำให้เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยแบคทีเรียชนิดหนึ่งหรือแบคทีเรียที่ทำให้สุขภาพดีจำนวนจำกัด และยังสามารถส่งผลให้โฮสต์ (host) มีสุขภาพที่ดีอีกด้วย (Mussatto และ Mancilha, 2007)

แนวโน้มอื่น ๆ ที่จะนำโอลิโกแซคคาไรด์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารทั้งของหวาน ตัวอย่างเช่น เจลลี่ พุดดิ้ง และไอศกรีมเชอร์เบท อุตสาหกรรมการทำลูกกวาด อย่างเช่น ลูกอม ลูกก๊าก บิตกิต ธัญพืชอาหารเช้า ซ็อกโกแลต และของหวาน สำหรับขนมปัง และเพสตรี (pastries) อย่างเช่น ในผลิตภัณฑ์ทาขนมปัง ตัวอย่างเช่น แยม และมาร์มาเลต (marmalades) และผลิตภัณฑ์เนื้อ ตัวอย่างเช่น ปลากระป๋อง และเต้าหู้ แต่อย่างไรก็ตามความจำเพาะของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนผสมของโอลิโกแซคคาไรด์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้ (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.5 โพรไบโอติก (Prebiotic)

โพรไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์ และได้ถูกเรียกว่า คาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ต้านทานการย่อย บางครั้งจะถูกเรียกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย ซึ่งจะละลายได้ในเอทานอลร้อยละ 80 โพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ว่องไวต่อการเปลี่ยนไปยังลำไส้ใหญ่และถูกคัดเลือกโดยการหมักซึ่งเป็นประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (host) ทั้งเป็นสื่อกลางระหว่างกระตุ้นการคัดเลือกของการเจริญเติบโต และกิจกรรมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือจำกัดจำนวนของแบคทีเรีย คำจำกัดความของโพรไบโอติกคาบเกี่ยวกับกับความสำคัญของคำจำกัดความของเส้นใยอาหาร ด้วยข้อยกเว้นของการคัดเลือกสำหรับจีนัส (genus) ที่หลากหลายหรือขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียต้นกำเนิด ปัจจุบันมีเพียงแคโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยที่อยู่ในช่วงของไดแซคคาไรด์ (disaccharide) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) และน้ำตาลโพลีออลที่ได้รับการอ้างว่ามีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

โพรไบโอติกที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กไปสู่ทางเดินอาหารส่วนล่างและแบคทีเรียโพรไบโอติกนำไปใช้ประโยชน์ แต่ไม่ถูกใช้โดยแบคทีเรียชนิดอื่นในลำไส้ แลคทูโลส (lactulose) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharides) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) อินนูลิน (inulin) และไฮโดรไลสเสต (hydrolysate) ของอินนูลิน และมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (malto-oligosaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) เป็นโพรไบโอติกที่มีอยู่ในอาหารของมนุษย์ตามปกติ องค์ประกอบด้านปลายของเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตที่จำเป็นคือ กรดไขมันสายสั้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริกซึ่งจะถูกใช้โดยเจ้าบ้าน (host) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสามารถพบได้ในแหล่งต่างๆ อย่างเช่น ชิคอร์รี่ (chicory) หัวหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง อาร์ทิชอก (artichok) กระเทียมต้น กัลบาย มะเขือเทศ และพืชชนิดอื่นๆอีก

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการรับประทานโพรไบโอติกและพรีไบโอติกสามารถช่วยในการรักษาอาการของโรคต่างๆ ได้ เช่น โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และโรคภูมิแพ้ นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกและพรีไบโอติกสามารถช่วยในการรักษาอาการของโรคทางเดินอาหารได้ เช่น โรคกรดไหลย้อน โรคท้องผูก และโรคท้องเสีย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากมาย โดยทั่วไปโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารที่มีการรวมตัวกันของน้ำตาลหลายชนิดที่มีดีกรีของพอลิเมอร์ไรเซชันต่างกัน พรีไบโอติกโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้ 3 วิธีด้วยกัน คือ 1) การแยกออกจากพืช 2) การผลิตโดยอาศัยจุลินทรีย์หรือการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ 3) การย่อยสลายพอลิแซคคาไรด์โดยเอนไซม์ โดยส่วนมากพรีไบโอติกที่เป็นพวกโอลิโกแซคคาไรด์มีการผลิตขึ้นและสามารถหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.1 ชนิดและแหล่งที่มาของพรีไบโอติก

สารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (non-digestible carbohydrate) สามารถถูกพิจารณาว่าเป็นสารจำพวกพรีไบโอติกได้หากผ่านเกณฑ์ดังต่อไปนี้

- A) ด้านทานต่อกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
- B) มีความไวต่อการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้
- C) มีความสามารถในการส่งเสริมการรอดชีวิตหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินเป็นพรีไบโอติกที่รู้จักกันมากที่สุด กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อยและได้มาจากแลคโตสที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและประกอบด้วยโมเลกุลของกาแลคโตสต่อกัน (inulin type fructans) อินนูลินและอินนูลินประเภทฟรุคแทน (inulin type fructans) เป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ (soluble dietary fibres) ที่รู้จักกันดีนอกจากนี้พอลิแซคคาไรด์หลายชนิดที่ไม่ใช่สตาร์ชที่มีเส้นใยอาหารเป็นส่วนประกอบ เช่น เซลลูโลส (cellulose) เดกซ์ตริน (dextrins) เพคติน (pectin) เบต้า-กลูแคน (beta-glucans) ไซ (waxes) และลิกนิน (lignin) สามารถปรับเวลาการขนถ่ายผ่านทางเดินอาหารได้ ดังนั้นจึงให้ประโยชน์เช่นเดียวกับอินนูลินประเภทฟรุคแทน สารพรีไบโอติกที่มีตามธรรมชาติสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ชิคอร์รี (chicory) มะเขือเทศ และข้าวสาลี และเป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติในของนมแม่ (breast milk) ประเภทของพรีไบโอติกที่หลากหลายและแหล่งที่พบสารพรีไบโอติกจะแสดงในตารางที่ 2.6

2.5.2 ความสามารถในการหมักและการคัดเลือกของพรีไบโอติก

คาร์โบไฮเดรตที่มาถึงลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (cecum) เป็นสารตั้งต้นสำหรับการหมักโดยแบคทีเรียมีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนหลักการนี้ จากการศึกษาโดยการให้มนุษย์ที่ได้รับอาหารจำพวกนี้จะไม่พบอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอุจจาระ และมีข้อมูลจากการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro) และการทดสอบภายในร่างกายเกี่ยวกับกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาในหลอดทดลองได้ชี้ให้เห็นว่ามีกรดไขมันสายสั้นหลายชนิดช่วยส่งเสริมการมีชีวิตรอดและส่งเสริมกิจกรรมของแบคทีเรีย

พรีไบโอติกเป็นสารตั้งต้นที่เลือกใช้โดยแบคทีเรียพรีไบโอติกจำนวนหนึ่ง พรีไบโอติกจะถูกกระตุ้นโดยพรีไบโอติกให้เจริญเติบโต และผลิตกรดไขมันสายสั้น เพราะฉะนั้นพรีไบโอติกจึงสามารถปรับเปลี่ยนจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ของโฮสต์ (host) ไปสู่การมีสุขภาพที่ดี เพื่อยืนยันการคัดเลือกของพรีไบโอติกที่สำคัญและตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในอุจจาระที่มีการเสริมพรีไบโอติกทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในร่างกาย (in vivo) (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 แสดงประเภทและแหล่งที่พบพรีไบโอติก

ประเภทของพรีไบโอติก	แหล่งที่มาของพรีไบโอติก
Fructooligosaccharides	Asparagus, sugar beet, garlic, chicory, onion, Jerusalem, artichoke, wheat, honey, banana, barley, tomato and rye
Isomaltulose	Honey, sugarcane juice
Xylooligosaccharides	Bamboo shoots, fruits, vegetable, milk, honey and wheat bran
Galactooligosaccharide	Human's milk and cow's milk
Cyclodextrins	Water-soluble glucan
Raffinose oligosaccharides	Seeds of legumes, lentils, peas, beans, chickpeas, mallow composite and mustard
Soybean oligosaccharide	Soybean
Lactulose	Lactose (Milk)
Lactosucrose	Lactose
Isomaltulose	Sucrose
Palatinose	Sucrose
Maltooligosaccharide	Starch
Isomaltooligosaccharides	Starch
Arabinooligosaccharide	Wheat bran
Enzyme-resistant dextrin	Potato starch

ที่มา : Al-Sheraji และคณะ (2013)

2.5.3 ความสามารถในการย่อยของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกไปถึงลำไส้ใหญ่ส่วนต้นโดยที่ไม่ถูกย่อย เนื่องจากจากลักษณะทางเคมีของพรีไบโอติกมีบางส่วนของสารพรีไบโอติกนี้ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในตับอ่อนและเอนไซม์ในลำไส้เล็กในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และดังนั้นจึงไปถึงลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาที่มีรายงานว่าเมื่ออินนูลินหรือโอลิโกแซคคาไรด์ที่ถูกนำเข้าไปยัง ileostomy subjects การคืนสภาพของลำไส้ใหญ่ให้กลับมาเป็นปกติจะอยู่ระหว่างร้อยละ 86 และ 89 ของวัสดุที่นำเข้าไป (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.4 การประยุกต์ใช้พรีไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร

การใช้ประโยชน์ของพรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารมีข้อได้เปรียบหลายอย่างเนื่องจากจะช่วยปรับปรุงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและให้องค์ประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการซึ่งมีความสมดุลมากขึ้น เมื่อใช้พรีไบโอติกเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และอาหารเข้าประเภทธัญพืชจะให้ผลดีเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยอาหารพื้นฐาน พรีไบโอติกจะช่วยให้ขนมขบเคี้ยวและธัญพืชมีความสดใหม่มากกว่าและมีอายุยาวนาน และยังทำให้ขนมปังและเค้กมีความชุ่มชื้นและสดใหม่เป็นเวลานาน ความสามารถในการละลายได้ในของเหลวทำให้นำพรีไบโอติกมาใช้ได้ในเครื่องดื่มไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาขนมปัง (table spreads) สารโปรไบโอติกมักถูกใช้ในสถานะของเส้นใยอาหารในรูปของยาเม็ดและใช้เป็นส่วนผสมในอาหารทางเลือกใหม่ (functional food) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์นมและขนมปัง โดยส่วนผสมอาหารที่เป็นโปรไบโอติกช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้

เนื่องจากโปรไบโอติกมีสมบัติในการทำให้เกิดเจล โปรไบโอติกจึงช่วยปรับปรุงอาหารที่มีไขมันต่ำโดยไม่ มีผลกระทบต่อรสชาติและเนื้อสัมผัส สิ่งนี้สำคัญในผลิตภัณฑ์ อาทิ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาขนมปัง (table spreads) ผลิตภัณฑ์ที่คล้ายเนย (butter-like product) ผลิตภัณฑ์นมที่ใช้ทาขนมปัง (dairy spreads) ครีมชีส (cream cheeses) และเนยแข็งแปรรูป (processed cheeses) ซึ่งการเติมสารโปรไบโอติกยังใช้สำหรับทดแทนไขมันและรักษาสภาพอิมัลชันและยังให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่แผ่ได้ การเติมโปรไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์เนื้อที่ลดไขมัน ใช้ในการทำครีมที่มีความรู้สึกฉ่ำในปากและมีความรู้สึกเหมือนเดิม เพราะน้ำยังคงเกาะอยู่เพื่อรักษาสภาพเดิมไว้ จะเพิ่มโปรไบโอติกลงในส่วนผสมที่ให้พลังงานต่ำและเพิ่มเส้นใยในผลิตภัณฑ์ช็อคโกแลตที่ไม่เติมน้ำตาล ในตลาดขายผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์อาหารที่แสดงให้เห็นถึงการพัฒนาที่มั่นคง โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทโยเกิร์ตที่ผสมผลไม้ การเพิ่มโปรไบโอติกลงในสูตรระหว่างการเตรียมผลไม้จะพัฒนาความรู้สึกเมื่อเข้าไปอยู่ในปาก เพื่อลด syneresis และเสนอ synergistic ผลการทดสอบในการรวมกันกับแอสปาแทม (aspartame) และอะซีซัลแฟม (acesulfame) ปริมาณแคลอรีไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.5 ผลกระทบของโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก

2.5.5.1 น้านมแม่และปัจจัยของบิฟิดัส

อุจจาระของทารกที่กินนมแม่มีปริมาณ *bifidobacteria* ร้อยละ 99 ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ในขณะที่เด็กทารกกินนมผงของทารกตามสูตรที่มีผู้ผลิตขึ้นจำหน่ายจะมีจุลินทรีย์ในลำไส้แปรผันเป็นอย่างมาก ในน้ำนมแม่มีโอลิโกแซคคาไรด์และส่วนประกอบอื่นๆช่วยส่งเสริมการมีชีวิตรอดและกิจกรรมของ *bifidobacteria* และได้เรียกสิ่งนี้ว่าเป็น “ปัจจัยบิฟิดัส” หรือโปรไบโอติกตามธรรมชาติ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.5.2 ผลกระทบของโปรไบโอติกต่อจำนวนการมีชีวิตรอดของโพรไบโอติก

มีการยืนยันว่าโอลิโกแซคคาไรด์ส่วนใหญ่ช่วยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียจำพวก *bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ การบริโภคกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัมต่อวัน เพียงพอที่จะทำให้เกิด bifidogenic effect ได้ ซึ่งในชีวิตประจำวันพบว่าการบริโภคโปรไบโอติก 2.5 กรัมต่อวันเพียงพอที่จะเพิ่มระดับของ *bifidobacteria* ในอุจจาระได้ ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยชนิดอื่น ๆ มีความจำเป็นต่อ bifidogenic effect ซึ่งเหมือนกันกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์สำหรับไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 2 กรัมต่อวัน ถือว่าเพียงพอที่จะทำให้เกิด bifidogenic effect มีรายงานว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่จำเป็นต้องบริโภคเพื่อให้เกิดการกระตุ้น bifidogenic effect อยู่ระหว่าง 2 และ 10 กรัมต่อวันในผู้ใหญ่ แต่อย่างน้อยต้องบริโภคฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 4 กรัมต่อวันเพื่อเพิ่มระดับ bifidogenic ในลำไส้ของมนุษย์และการเพิ่มอินนูลินซึ่งเป็นโปรไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์อาหารสามารถปรับปรุงการมีชีวิตรอดและการทำงานของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.6 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติก

2.5.6.1 โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน

โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน (acute gastroenteritis) มักจะเกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ สาเหตุโดยทั่วไปเกิดจาก *Shigellae*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* และ *Clostridium perfringens* เชื้อโรคเหล่านี้อาจตั้งถิ่นฐานและเจริญเติบโตในระบบทางเดินอาหาร และบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารหรืออาจจะหลั่งสารพิษออกมาปนเปื้อนในอาหารก่อนบริโภค สารพิษดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเยื่อเมือกในลำไส้ (intestinal mucosa) ทำให้เกิดการคลื่นไส้ อาเจียนและท้องเสีย ดังนั้นการมีอยู่ของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ซึ่งมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในลำไส้ใหญ่ร่วมกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ระบบภูมิคุ้มกันอาจให้การป้องกันที่มีการปรับปรุง ความคิดในการรวมคุณสมบัติของพรีไบโอติกด้วย anti-adhesive activities ในปัจจุบันยังอยู่ภายใต้การวิจัยจะเพิ่มฟังก์ชัน (functionality) ที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงแนวทางการเกิดโรคทางเดินอาหาร เชื้อโรคในลำไส้ส่วนใหญ่จะใช้โมโนโอลิโกแซคคาไรด์ (monooligosaccharide) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) สายสั้นๆเป็นตัวรับ (receptors) และความรู้เกี่ยวกับบริเวณเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการส่งเสริมพรีไบโอติก Binding ของเชื้อโรคต่อตัวรับเหล่านี้เป็นขั้นตอนแรกของการกระบวนการ โคลนิเซชัน (colonization) ซึ่งในปัจจุบันการเตรียมยาหลายชนิดจะขึ้นอยู่กับโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ในการทดลองระดับคลินิก ซึ่งสารที่เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาล multivalent ทำหน้าที่เป็น blocking factors ทำให้ตัวจับของเชื้อหลุดออกทำให้มีศักยภาพมากพอที่จะพัฒนาพรีไบโอติกซึ่งจะรวมไปถึงลำดับของตัวรับที่เป็นโมโนแซคคาไรด์หรือโอลิโกแซคคาไรด์ โมเลกุลเหล่านี้ควรจะมีกิจกรรม anti-adhesive มากพอที่จะยับยั้งการเกาะจับระดับต่ำของเชื้อโรค (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.2 การลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง

ได้เคยมีรายงานการค้นพบว่ากิจกรรมของ Genotoxic enzyme ลดลงเมื่อได้รับประทานสารพรีไบโอติกเข้าไป จากการศึกษาในช่วงต้นซึ่งได้ค้นพบประทานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าส่งผลให้เกิดการลดลงของ ไนโตรรีดักเทส (nitroreductase) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเกิดมะเร็ง และยังลดระดับของอินโดลและกรดไอโซวาเลอริก (isovaleric acid) เมื่อนำรูปแบบของระบบทางเดินอาหารของมนุษย์มาใช้ในการตรวจสอบผลของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ต่อ genotoxic enzyme พบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้ได้ β -glucosidase, β -glucuronidase และarylsulphatase (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.3 การดูดซึมแร่ธาตุ

การดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นสิ่งสำคัญสำหรับโครงสร้างของกระดูกและการดูดซึมที่เพิ่มขึ้นสามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรค เช่น โรคกระดูกพรุน มีรายงานว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงในอาหารของหนู สามารถเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมได้ ซึ่งกลไกนี้ยังไม่มีความชัดเจน แต่ในกรณีนี้มีจุลินทรีย์เจ้าถิ่นในลำไส้ใหญ่ที่เป็นสิ่งจำเป็นที่มีผลต่อกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แม้ว่าผู้เขียนจะยอมรับมีจุลินทรีย์ที่เป็นสื่อกลางและจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่สื่อกลางสำหรับกลไกที่มีอยู่นอกจากนี้พรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังมีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุและการศึกษามนุษย์ต้องได้รับโอลิโกแซคคาไรด์ 15 กรัมต่อวัน หรืออินนูลิน 40 กรัมต่อวัน พบว่าช่วยเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดูดซึมแมกนีเซียมพบว่าจะมีการดูดซึมแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นจากการบริโภคฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.4 การควบคุมไขมัน

นอกจากนี้สารพรีไบโอติกอาจมีผลต่อการควบคุมไขมัน ถึงแม้ว่ากลไกนี้ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีแต่การศึกษาได้แสดงให้เห็นถึงผลบวกและได้มีการพัฒนา mechanistic hypotheses โดยได้มีการศึกษาในหนูที่เป็นโรคเบาหวานพบว่าเมื่อใช้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์แทนคาร์โบไฮเดรตอย่างง่ายในอาหาร พบว่าคลอเลสเทอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมเพิ่มขึ้นในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และไตรกลีเซอไรด์ในตับเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่มีสุขภาพดี ในการศึกษาอื่น ๆ มีการตรวจสอบฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าช่วยลดไขมันในเลือดสิ่งเหล่านี้คาดว่าเพราะการยับยั้งเอนไซม์ลิพोजินิก (lipogenic enzyme) ในตับซึ่งอาจเป็นผลของกิจกรรมของ propionate ที่ถูกสร้างจากการหมักสารพรีไบโอติกโดยแบคทีเรียในลำไส้ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kubola และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพในการช่วยส่งเสริมประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ที่ทำการศึกษาเลือกมาจากป่าในประเทศไทยจำนวน 19 ชนิดที่แตกต่างกันซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากป่าตามธรรมชาติในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมาทำการทดลองต่างๆ อย่างเช่น ปริมาณสารพฤกษเคมี กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณน้ำตาล ผลปรากฏว่า ในเนื้อของผลจันทน์ (*Diospyros decandra* Lour.) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (215 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 187 มิลลิกรัมของรูทีนต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนเปลือกและเนื้อของสมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นๆ ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 99) และมีความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริกเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัส (63 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำตาลทั้งหมด (ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และกาแลคโตส) มีค่าตั้งแต่ 33 ถึง 430 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (มีค่าตั้งแต่ 7.5 ถึง 244 มิลลิกรัมต่อกรัม) และน้ำตาลฟรุคโตส (มีค่าตั้งแต่ 5.3 ถึง 193 มิลลิกรัมต่อกรัม) ผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดคือส่วนของเปลือกและเนื้อของมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn) (2.2 มิลลิกรัมต่อกรัม) สรุปได้ว่าผลไม้จากป่าในประเทศไทยที่นำมาใช้ในการศึกษานี้แสดงบทบาทของการเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี

Abirami และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส การยับยั้งเอนไซม์โคลินเอสเทอเรส และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในผลสดที่ได้จากผลไม้พื้นเมืองได้แก่ *Citrus hystrix* และ *C. maxima* (สีแดง และ สีขาว) ซึ่งทำการทดลองโดยใช้รูปแบบการทดลองด้วยสารเคมีในหลอดทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 836.90 ถึง 909.52 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อลิตร 333.33 ถึง 523.21 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อลิตรและ 224.88 ถึง 262.22 มิลลิกรัมของรูทีนต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลสดทำการตรวจหาโดยใช้หลายวิธีการโดยใช้วิธีการทดลองในหลอดทดลองอย่างเช่น วิธีการหาความสามารถในการรีดิวซ์ การหาความสามารถในการจับอนุมูล DPPH ความสามารถในการจับอนุมูล ABTS

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการจับอนุภาคไฮดรอกซี กิจกรรมการยับยั้งปฏิกิริยาเพอริกซิเดชัน และวิธีการยั้งยั้ง การทำลายเม็ดเลือด นอกจากนี้ยังพบว่ามีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเท่ากับร้อยละ 75.55 ถึง 79.75 และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 70.68 ถึง 72.83 ซึ่งทำการทดลองโดยการย่อยสสารซ์ในหลอดทดลอง (starch digestion bioassay) ยิ่งกว่า นั้นในตัวอย่างน้ำผลไม้สดจาก *Citrus hystrix* และ *C. maxima* ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เอนไซม์ไทโรซิเนส (ร้อยละ 76.95 ถึง 80.79) การยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (ร้อยละ 75.71 ถึง 79.74) และการยับยั้งเอนไซม์เบต้า-กลูโคโรนิเดส (ร้อยละ 68.15 ถึง 69.38) ซึ่งผลการ ทดลองดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่าน้ำผลไม้สดจาก *Citrus hystrix* และ *C. maxima* (สีแดง และสีขาว) สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ อาหารทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพและนำมาใช้เป็น ยาได้

Al-Sheraji และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับประชากรของเชื้อ *Bifidobacterium longum* BB 536, *Salmonella choleraesuis* JCM 6977, *Escherichia coli* ATCC 35922 และ *B. pseudocatenulatum* G4 โดยตรวจที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของการย่อยเส้นใยจาก *Mangifera pajang* (MPF) และพอลิแซคคาไรด์โดยทดสอบด้วยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของมนุษย์และ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของมนุษย์ MPF และพอลิแซคคาไรด์พบว่าเกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อ bifidobacteria แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. choleraesuis* JCM 6977 หรือ *E. coli* ATCC 35922 ยิ่งกว่านั้นผลเหล่านี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับอินนูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกทางการค้า พบว่าพอลิ แซคคาไรด์จากเส้นใย *M. pajang* แสดงผลการไม่ถูกย่อยสูงสุดโดยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของ มนุษย์และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของมนุษย์ เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่าง MPF และ inulin พบว่า MPF แสดงผลการไม่ถูกย่อยได้สูงกว่า inulin MPF และพอลิแซคคาไรด์แสดงให้เห็นถึงการหมักที่มี ประสิทธิภาพและคุณสมบัติของการไม่ถูกย่อย ดังนั้น จึงอาจถูกคาดหวังให้เป็นพรีไบโอติกที่อาจจะ นำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด จากตลาดแถวปากเกร็ด รังสิต และตลิ่งชันในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ได้แก่

ตารางที่ 3.1 ผักและผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ	ส่วนที่นำมาใช้
<i>Acanthopanax trifoliatum</i> Merr.	ต้นแปม	Lopea tree	ทั้งต้น
<i>Allium sativum</i> Linn.	กระเทียมไทย	Common garlic	หัว
<i>Allium oschaninii</i>	หอมแดงไทย	Shallot	หัว
<i>Aloe vera</i>	ว่านหางจระเข้	Star cactus	วุ้นในใบ
<i>Ananas comosus</i> L. Merr.	สับปะรดศรีราชา	Pineapple	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Annona squamosa</i> Linn.	น้อยหน่า	Sugar apple	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Carissa carandas</i> Linn.	มะม่วงหาวมะนาวโห่	Karunda	ผล
<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban.	ต้นบัวบก	Asiatic pennywort	ทั้งต้น
<i>Chrysophyllum cainito</i> Linn.	แอปเปิ้ลพื้นเมือง	Star apple	ผล
<i>Dregea volubilis</i> Stapf.	ย่านหมู	-	ดอก
<i>Elaeagnus latifolia</i> Linn.	มะหลอหด	<i>Elaeagnus latifolia</i>	ผล
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst	เห็ดหลินจือ	Supernatural mushroom	ดอกเห็ด
<i>Garcinia mangostana</i> Linn.	มังคุด	Mangosteen	เปลือกผล
<i>Ginkgo biloba</i>	แปะก๊วย	Maidenhair tree	ใบ
<i>Gymnema inodorum</i> (Lour.) Decne.	ผักเชียงดา	Perrioca of the woods	ทั้งต้น
<i>Helianthus tuberosus</i> Linn.	แกนตะวัน	Jerusalem artichoke	หัว
<i>Ipomoea batatas</i>	มันต่อเผือก	Purple sweet potato	หัว
<i>Ipomoea batatas</i> (Linn.) Lamk.	มันเทศ	Sweet potato	หัว
<i>Malus domestica</i> Borkh.	แอปเปิ้ลแดง	Red apple	เนื้อและเปลือก
<i>Morinda citrifolia</i> Linn.	ยอ	Great morinda	ผล
<i>Morus alba</i> Linn.	หม่อน	White mulberry	ผล
<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.	ฟักข้าว	Spring bitter cucumber	ผล
<i>Musa acuminata</i>	กล้วยเล็บมือนาง	Lep Mue	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Musa acuminata</i> Colla.	กล้วยไข่	Pisang Mas	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Musa sapientum</i> Linn.	กล้วยน้ำว้า	Cultivated banana	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	เมล็ดบัว	Lotus seed	เมล็ด
<i>Oryza sativa</i>	ข้าวดำ	Black rice	เมล็ด
<i>Passiflora laurifolia</i> Linn.	เสาวรส	Jamica honey-suckle	เนื้อและเมล็ด
<i>Phyllanthus emblica</i> Linn.	มะขามป้อม	Indian gooseberry	ผล
<i>Salacca zalacca</i>	สละ	Salak plum	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
<i>Tiliacora triandra</i> (Colebr.) Diels	ย่านาง	Bamboo grass	ใบ
<i>Zanthoxylum limonella</i> Linn.	มะแขว่น	Kamchat ton	เมล็ด
<i>Zea mays</i> Linn. var. saccharata	ข้าวโพดหวาน	Sweet corn	เมล็ด
<i>Zingiber zerumbet</i> (Linn) Smith.	จิกุก	Shampoo ginger	หน่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 และ *L. bulgaricus* TISTR 451 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Thailand Institute of Scientific and Technological Research) ส่วนเชื้อ *L. casei* spp. *casei* BCC 4308 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ได้มาจาก BIOTEC Culture Collection (BCC) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology) จากหลอดเมล็ดลูกปิดที่เก็บไว้ที่ตู้อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ De Man Rogosa Sharpe Broth (MRS, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA)

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 3.6) สาร 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ สาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) น้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูง (Ultra pure water) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 20 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) สารละลายโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ความเข้มข้นร้อยละ 5 สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ความเข้มข้นร้อยละ 10 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ สารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin hydrate, 22110, Aldrich, Germany) สารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol, 95240, Fluka, Switzerland) เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*, C2888, Sigma, USA) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 8.0) สารละลาย 5,5'-Dithiobis [2-nitrobenzoic acid] (DTNB, D8130, Sigma, USA) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ สารละลายอะซิติลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (Acetylthiocholine iodide (ATCI), 01480, Fluka, United Kingdom) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ สารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ (Galanthamine, G1660, Sigma, France) สาร Dimethyl sulfoxide (DMSO, CaelovErba, Italy) สารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (Starch soluble, 14418, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (พีเอช 6.9) สารโซเดียมโพแทสเซียม

ทำเทรต สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ rat-intestinal acetone powder ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(I1630, Sigma-Aldrich, USA) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 6.9) สาร *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ สารละลายน้ำเกลือ (saline) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 สารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (พีเอช 1.0) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 7.0) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Aldrich, India) สารกลูโคสมาตรฐาน (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) สารอินนูลิน (Inulin, from chicory, I2255, Sigma, USA) สารละลายพีนอล (PANREAC QUIMICA, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QR \ddot{e} C, Newzealand)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หลอดทดลอง ปิเปตต์แบบปริมาตร (volume pipette) จุกยาง แท่งแก้วคนสาร ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) กรวยแก้วกรองสาร หลูปิเปตต์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (TE214S, Sartorius, Germany) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert, UN 110, Germany) ตู้เย็น (Samsung) หม้อนึ่งความดัน (autoclave, TOMY, ES-315, Japan) ตู้บ่มเชื้อ (incubator, Memmert, INP 600, Germany) ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow, BIOHAZARD CLASS II, CLEAN, V6, USA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hermle, Z 383 K, Germany) เครื่องเขย่า (shaker, Gallenkamp, United Kingdom) เครื่องผสมสาร (vortex mixer, G560E, VORTEX GENIE 2, USA) เครื่องเขย่าสารด้วยความถี่สูง (Ultrasonic cleaner, Crest, 2800HT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 500-5,000 ไมโครลิตร (eppendorf, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 100-1,000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 2-20 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA) เครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, WNB 14, Germany) เครื่อง microplate reader (N12648 Thermo LabSystem IEMS Reader MF Type 1401, Finland) และเครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

ในการสกัดผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ได้แก่ แก่นตะวัน กระเทียมไทย กลัวยี่ไข่ กลัวยี่เล็บมือ นาง กลัวยี่น้ำว่า ข้าวโพดหวาน ข้าวดำ จุ๊ก น้อยหน้า บัวบก ใบย่านาง ใบแปะก๊วย เปลือกมังคุด ผักเชียงดา ผักแปม ฟักข้าว มะขามป้อม มะแขว่น เม็ดบัว มันเทศ มันต่อเผือก มะม่วงหาวมะพร้าว มะพลูด ยอดว่านหางจระเข้ สับประรดศรีราชา สลัดเสาวรสด เห็ดหลินจือ หม่อนหอมแดง

เอกลำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไทย แอปเปิ้ลแดง แอปเปิ้ลพื้นเมือง และฮันหมู เริ่มจากการนำผักและผลไม้เหล่านี้มาล้างให้สะอาด แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยนำผักและผลไม้สดไปอบจนแห้ง เมื่อได้ตัวอย่างผักและผลไม้ที่แห้งแล้วนำไปปั่นให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น ในการเตรียมสารสกัดหยาบทำได้โดยการชั่งตัวอย่างผงผักและผลไม้แห้งปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ลงไป ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง (เป็นการกรองครั้งที่ 1) กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (เป็นการกรองครั้งที่ 2) จากนั้นนำสารละลายของสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) จนได้สารสกัดเข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู นำไประเหยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ระเหยออกจนหมดจะได้สารสกัดแห้ง เมื่อวิเคราะห์จะเตรียม stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารสกัดแห้งด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

3.2.2.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักและผลไม้ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยทำการเจือจางสารสกัดผักและผลไม้ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นำสารสกัดผักและผลไม้แต่ละชนิดของแต่ละความเข้มข้น หรือชุดควบคุมเชิงบวกแอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol, 95240, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2.925 ไมโครลิตรในหลอดทดลองแต่ละหลอดและใช้เมทานอลเป็นแบลนค์ (Blank) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) พร้อมกับบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 นาที จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร พร้อมบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 30 นาที

การทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาทีและที่เวลา 30 นาที มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (%DPPH_{REM}) จากปฏิกิริยาในแต่ละหลอดทดลอง (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ข้างต้น สามารถคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH จากสมการต่อไปนี้

ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(NaCO₃) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) ที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากผักและผลไม้ ส่วนแบลนค์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ตัวอย่าง ซึ่งทำโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกตามวิธีการของ Kathirvel และ Sujatha (2012) มีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 250 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (NaNO₂) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl₃) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg catechin equivalents (CE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน (Catechin hydrate, 22110, Aldrich, Germany) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นแต่ใช้สารละลายคาเทชินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ส่วนแบลนค์ (Blank) ใช้เอทานอลร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารละลายคาเทชินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg catechin equivalents (CE)/g extract)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำใบ

ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาเทชิน กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายคาเทชิน และหาสมการเส้นตรงจากกราฟ

3.2.5 การศึกษาสมบัติทางพิษของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

3.2.5.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*, C2888, Sigma, USA) ของสารสกัดจากผักและผลไม้ได้ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Sancheti และคณะ (2010) ซึ่งวิธีการมีการดัดแปลงเล็กน้อยทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆลงไปดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) สารสกัดผักและผลไม้ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร และ 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB, D8130, Sigma, USA) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และเติมสารละลายอะซิติลไทโอโคลีนไอโอดด์ (Acetylthiocholine iodide (ATCI), 01480, Fluka, United Kingdom) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) และนำสารกาแลนตามีนบริสุทธี (Galanthamine, G1660, Sigma, France) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับสารสกัดจากผักและผลไม้มาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสารสกัด สำหรับชุดควบคุม (control) นั้นทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างสารสกัด ส่วนแบลนค์ (Blank) จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้สมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส} = \frac{A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}}{A_{\text{ควบคุม}}} \times 100$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

3.2.5.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากผักและผลไม้

ทำการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากผักและผลไม้โดยการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ซึ่งทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส Intestinal acetone powder (Rat, Sigma, USA) ซึ่งทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ เอกสาร Kim และคณะ (2009) สำหรับการในงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.) Alpha-amylase inhibition assay

วิธีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) ซึ่งวิธีการมีการดัดแปลงเล็กน้อยทำได้โดยการนำสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (Starch soluble, 14418, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India) ละลายในน้ำกลั่น และนำมาให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเปิดมาปริมาตร 240 ไมโครลิตร นำมาผสมกับตัวอย่างสารสกัดผักและผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร ใน Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (พีเอช 6.9) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร แล้วนำสารทำปฏิกิริยาไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วยการเติมสารสี (เตรียมโดยผสมสารโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรตปริมาณ 12 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และสาร 3,5-dinitrosalicylic acid ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 0.88 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตร โดยผสมกันในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร), Loizzo และคณะ (2008)) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร นำสารผสมไปต้มเป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารทำปฏิกิริยามาเจือจางโดยการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมซึ่งใช้ตัวทำละลาย (เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 120 ไมโครลิตรแทนสารสกัดตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase inhibitory activity) ดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส} = \frac{A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}}{A_{\text{ควบคุม}}} \times 100$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

2.) Alpha-glucosidase inhibition assay

วิธีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสซึ่งการเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase ทำตามวิธีการของ Sancheti และคณะ (2013) ทำได้โดยชั่ง rat-intestinal acetone powder (I1630, Sigma-Aldrich, USA) ปริมาณ 0.5 กรัม เติมนลงในสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายไปทำการ sonication 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ $10,000 \times g$ เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสที่ได้มาใช้เป็นสารละลายเอนไซม์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์นี้ โดยในขั้นตอนการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำตามวิธีการของ Kim และคณะ (2009) โดยนำตัวอย่างสารสกัดผักและผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) หรือสารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมกับสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase ปริมาตร 100

ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสาร *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 6.9) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารทำปฏิกิริยาไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความความคลื่น 405 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate reader (N12648 Thermo Labsystem IEMS Reader MF Type 1401, Finland) โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมซึ่งใช้ตัวทำละลาย (เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรแทนสารสกัดตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (rat α -glucosidase inhibitory activity) ดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส} = \frac{A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}}{A_{\text{ควบคุม}}} \times 100$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

3.2.6 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารฟรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

3.2.6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้จำนวน 34 ชนิด โดยทำตามวิธีการของ Wichienchot และคณะ (2011) ซึ่งทำได้โดยการปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (Korakli และคณะ, 2002) ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 4 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับพีเอชของสารละลายผสมให้มีพีเอชเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล จากนั้นทำการย่อยด้วยเอนไซม์โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase from porcine pancreas, Sigma, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (mM) ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric method) ตามวิธีการในข้อ 3.2.6.2 โดยทำตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้นจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรนี้ ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) การศึกษาเท่านั้น (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ด้านการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดข้าวโม่ที่ 0 วิเคราะห์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS method) ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Miller (1959) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Sigma-Aldrich, India) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันที (แช่ในน้ำเย็น) เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) และวิเคราะห์หาปริมาณสาร ประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารมาตรฐานอินนูลิน (Inulin, from chicory, I2255, Sigma, USA) ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

3.2.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) ตามวิธีการทดลองของ Dubois และคณะ (1956) ปิเปตสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ที่ย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (PANREAC QUIMICA, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรตามลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRc, Newzealand) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อีก 20 นาทีในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract)

3.2.6.3 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อผลการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกโดยการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ก) การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 3 ชนิดคือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ทำได้โดยเชื้อจากหลอด Stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณ 1 ลูกบาศก์ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว MRS ดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนและเทส่วนใสทิ้งไปเหลือแต่เฉพาะตะกอนเซลล์ที่กั้นหลอด แล้วจึงล้างเซลล์โดยการเติมสารละลายยูเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ

เอกลสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและการนำเชื้อไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน Mcfarland เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร)

ข) การผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสม

สำหรับการผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมซึ่งทำตามวิธีการของ Han และคณะ (2014) โดยเติมสารแขวนลอยของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ในอัตราส่วน 1:1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วทำการเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมลงในน้ำมันพร้อมมันเนยที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมที่มีความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร

ค) ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง 5 อันดับแรก ซึ่งได้คัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.2.4.2 ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในโยเกิร์ต โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Agil และคณะ (2013) ในการศึกษานี้ได้เปรียบเทียบผลการเติมสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ในโยเกิร์ตทั้งหมด 7 ชุด ได้แก่ โยเกิร์ตชุดที่ 1 เป็นชุดควบคุม ซึ่งทำมาจากนมอย่างเดียว โยเกิร์ตชุดที่ 2 ทำจากน้ำมันผสมอินนูลินปริมาตรร้อยละ 4 เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และโยเกิร์ตชุดที่ 3-7 ทำจากน้ำมันผสมกับสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง 5 อันดับแรกได้แก่ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรด ตามลำดับ ปริมาตรร้อยละ 4 ในการผลิตโยเกิร์ตขั้นแรกได้นำน้ำมันพร้อมมันเนยตราเมจิที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 3.56 และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12.32 นำไปทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมด้วยหางนมผงปริมาตรร้อยละ 5 เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 18 จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเพื่อผสมหางนมผงกับนมให้เข้ากัน แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมส่วนผสมชนิดอื่นๆทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสม แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่เตรียมไว้ลงปร้อยละ 2 คนให้เข้ากัน นำไปบรรจุในภาชนะปิดฝา แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วสุ่มตัวอย่างโยเกิร์ตที่เวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมงของการหมักเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าพีเอช วัดปริมาณกรดทั้งหมดโดยคำนวณในรูปของกรดแลคติกตามวิธีของ AOAC (2005) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ วิเคราะห์ค่าพีเอชในชุดโยเกิร์ตโดยใช้ส่วนของ Glass electrode ของเครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) จุ่มลงในเนื้อของโยเกิร์ต แล้วอ่านค่าของ pH ที่ได้ วัดปริมาณกรดทั้งหมดในชุดโยเกิร์ตโดยชั่งโยเกิร์ต 4 กรัม จากนั้นเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเจือจางปริมาตร 8 มิลลิลิตร จากนั้นหยด

เอกลสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 3 หยด และไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งถึงจุดยุติเปลี่ยนเป็นสีชมพู จุดปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรดแลคติก

สูตรคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\% คำนวณในรูปของกรดแลคติก)} = \frac{0.009 \times M \times V_x}{0.1 \times W} \times 100$$

กำหนดให้ Mx คือ ความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์

Vx คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

หมายเหตุ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.0090 กรัมของกรดแลคติก

และวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีชีวิตด้วยเครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA) บนอาหารแข็ง MRS และนำข้อมูลของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองในแต่ละซ้ำ (3 ซ้ำ) มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ง) การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ ของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22.0 (IBM, USA) (ภาคผนวก ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.1.1.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

radical

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักและผลไม้ทั้ง 34 ชนิด ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH โดยสารละลาย DPPH เป็นสารละลายสีม่วงที่มีอนุมูลและมีความเสถียรในสารละลายเมทานอล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำให้ความเข้มของสารละลาย DPPH จะลดลงและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล (α -tocopherol) ซึ่งจะแสดงค่าในรูปของค่า effective concentration (EC_{50}) ซึ่งเป็นค่าของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระของสารละลาย DPPH โดยเริ่มต้นที่ร้อยละ 50 นั้นหมายถึงถ้าค่า EC_{50} ยิ่งต่ำแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นยิ่งสูง จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงที่สุดคือ เปลือกมังคุด ซึ่งมีค่าของ EC_{50} เท่ากับ 440.73 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 4.1) หรือมีค่า antiradical efficiency (AE) เท่ากับ 2.27×10^{-3} ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (505.35) ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงได้แก่ มะขามป้อม เม็ดบัว และมะแขว่น ซึ่งมีค่า EC_{50} 453.73, 1,340.86 และ 1,511.89 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ปานกลาง ได้แก่ ผักแปม มะม่วงหาวมะนาวโห่ แอปเปิ้ลพื้นเมือง น้อยหน่า ข้าวดำ ใบบัวบก ใบแปะก๊วย ใบย่านาง กล้วยน้ำว่า กล้วยไข่ เห็ดหลินจือ หม่อน ผักเชียงดา และเสาวรส ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 1,982.00 ถึง 8,644.88 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ จี๊กก ฮั้วหนุมยอ ว่านหางจระเข้ แอปเปิ้ลแดง มะพลูด มันต่อเผือก สลະ หอมแดง กล้วยเล็บมือ นาง สับปะรดกระเทียมไทย และฟักข้าว ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 11,579.44 ถึง 76,993.93 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ต่ำมาก ได้แก่ มันเทศ แก่นตะวัน และข้าวโพดหวาน ซึ่งมีค่า EC_{50} 103,368.80, 112,047.80 และ 144,948.80 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ตามลำดับ

4.1.1.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ซึ่งจะมีสีน้ำเงิน โดยสีน้ำเงินนั้นเกิดจากอะตอมของเหล็กในสารเฟอริก จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็นสารเฟอรัส ถ้าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังมีสีเข้มขึ้นหมายถึงมีความสามารถในการรีดิวซ์สูง นั้นแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมากขึ้นเช่นกัน จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุดคือสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม (3.51 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูงได้แก่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด และมะแขว่น ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ 2.99 และ 1.19 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ปานกลางได้แก่สารสกัดหยาบจากผักแปม และเม็ดบัว ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.93 และ 0.80 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดที่มีที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างน้อยได้แก่สารสกัดหยาบจากข้าวดำ แอปเปิ้ลพื้นเมือง มะม่วงหาวมะนาวโห่ ใบบัวบก กล้วยไข่ ใบแปะก๊วย น้อยหน่า ใบย่านาง ผักเชียงดา และหม่อน ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในช่วง 0.44 ถึง 0.21 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดที่มีที่มีความสามารถในการรีดิวซ์น้อยมากได้แก่สารสกัดหยาบจากกล้วยน้ำว้า เห็ดหลินจือ เสาวรส ยั่วนหมู มันต่อ ผือก จ๊กก ว่านหางจระเข้ มะหลอด ยอ แอปเปิ้ลแดง หอมแดง มันเทศ ฟักข้าว สับปะรดศรีราชา แก่นตะวัน กล้วยเล็บมือนาง สละ ข้าวโพดหวาน และเทียนไทย ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในช่วง 0.19 ถึง 0.003 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล (α -tocopherol) มีกิจกรรมการรีดิวซ์เท่ากับ 0.59 มิลลิโมลของเหล็กเพอร์สต่อกรัมของสารสกัด แต่พบว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เป็นรองสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม เปลือกมังคุด และมะแขว่น

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP method มีความสอดคล้องใกล้เคียงกับกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH method โดยสารสกัดที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความสอดคล้องกัน ได้แก่ เปลือกมังคุด มะขามป้อม และมะแขว่น ซึ่งมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงเหมือนกันของทั้งสองวิธี

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

จากการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิดนั้น พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ มะขามป้อม (416.07 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจาก เปลือกมังคุด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 397.36 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมา ได้แก่ มะแขว่น ผักแปม ใบแปะก๊วย เม็ดบัว ข้าวดำ ผักเชียงดา และใบย่านางโดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 190.52, 149.86, 123.60, 122.75 113.12 105.16 และ 101.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ส่วนสารสกัดผักและผลไม้ชนิดอื่นพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรองลงมาซึ่งมีปริมาณค่อนข้างน้อย ได้แก่ น้อยหน่า มะม่วงหาวมะนาวโห่ กล้วยไข่ แอปเปิ้ลพื้นเมือง เห็ดหลินจือ หม่อน ยั่วนหมู เสาวรส จ๊กก ใบบัวบก กล้วยน้ำว้า ว่านหางจระเข้ ยอ มะหลอด มันต่อผือก หอมแดงไทย ฟักข้าว แอปเปิ้ลแดง มันเทศ สับปะรดศรีราชา ข้าวโพดหวาน สละ แก่นตะวัน กระเทียมไทย และกล้วยเล็บมือนาง (98.74 ถึง 61.16 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)

จากตารางที่ 4.1 และ 4.2 จะเห็นว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม เปลือกมังคุด และมะแขว่น มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด รองลงมาคือเปลือกมังคุด และมะแขว่น ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด รองลงมาคือเปลือกมังคุด และมะแขว่น ตามลำดับ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

จากการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (351.60 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูงรองลงมาคือมะเขว่น ผักแปม และเม็ดบัว ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 135.36, 113.25 และ 89.37 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ปานกลางได้แก่ มะขามป้อม มะม่วงหาวมะนาวโห่ และข้าวดำ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 48.88, 43.75 และ 38.34 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างน้อยได้แก่ กล้วยไข่ น้อยหน้า ใบแปะก๊วย ผักเชียงดา และใบย่านาง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 33.23, 30.58, 24.57, 23.98 และ 22.63 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่น้อยมากได้แก่ เห็ดหลินจือ ใบบัวบก เสาวรส หม่อน ฮั้วหนู แอปเปิ้ลพื้นเมือง กล้วยน้ำว่า มันต่อเผือก ยอ มันเทศ แอปเปิ้ลแดง ว่านหางจระเข้ จ๊กก แก่นตะวัน ฟักข้าว มะลอลด สลอสับประรดศรีราชา หอมแดงไทย กระเทียมไทย กล้วยเล็บมือนาง และข้าวโพดหวาน ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 19.38 ถึง 1.17 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เมื่อพิจารณาจากรวมการต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี DPPH method และวิธี FRAP method และพบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH method สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงสุด แต่ถ้าทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP method พบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาลำดับที่ 3-5 ได้แก่สารสกัดหยาบจากเม็ดบัว เมล็ดมะเขว่น และต้นแปม ซึ่งมีลำดับของค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระผันแปรต่างกันระหว่าง 2 วิธีวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามมีสารสกัดจากพืชบางชนิดที่ให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกันบ้างคือค่าที่วิเคราะห์ได้โดยวิธี DPPH และวิธี FRAP อยู่ที่ลำดับความมากน้อยลำดับเดียวกัน (ลำดับที่ 1 มากที่สุดและลำดับที่ 34 น้อยที่สุด) ดังนี้ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง (ลำดับที่ 6) ใบแปะก๊วย (ลำดับที่ 11) เนื้อและเมล็ดเสาวรส (ลำดับที่ 18) รุนในใบว่านหางจระเข้ (ลำดับที่ 22) และผลสับประรดศรีราชา (ลำดับที่ 29)

เมื่อพิจารณาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์จะเห็นได้ว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และมีค่าสูงสุด 4 อันดับแรกคือ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกมังคุด เมล็ดมะเขว่นและต้นแปม มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ตามด้วยเปลือกมังคุด เมล็ดมะเขว่นและต้นแปม ส่วนสารสกัดชนิดอื่นพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือ สารสกัดหยาบจากผลสับประรดศรีราชา (ลำดับที่ 29) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH method ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีค่าสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารสกัดตัวอื่นที่สัมพันธ์กับสารประกอบฟลาโวนอยด์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาได้แก่ มะม่วงหาวมะนาวโห่ (ลำดับที่ 6) ใบย่านาง (ลำดับที่ 12) ลูกหม่อน (ลำดับที่ 16) เนื้อ และเปลือกแอปเปิ้ลแดง (ลำดับที่ 23) และเมล็ดข้าวโพดหวาน (ลำดับที่ 34)

4.1.4 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ซึ่งจะวัดอัตราการเกิดเป็นสาร thiocholine ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่มีสาร Acetylthiocholine เป็นสารตั้งต้น เมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจะถูกไฮโดรไลซ์เกิดเป็นสาร thiocholine จากนั้นสาร thiocholine จะทำปฏิกิริยากับสาร 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) แล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ 5-thio-2-nitro-benzoic acid ที่มีสีเหลือง โดยจะเทียบกับสารละลายมาตรฐานกาแลนทามีนเป็นชุดควบคุมเชิงบวก จากการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้สูงสุด (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) คือ ว่านหางจระเข้ ซึ่งมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมิถรร้อยละ 31.55 (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสรองลงมา (มากกว่าร้อยละ 10) คือ มะขามป้อม เปลือกมังคุด ข้าวดำ กระเทียมไทย เม็ดบัว เสาวรส จิงก และยอ ซึ่งมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมิถรร้อยละ 17.36, 13.79, 13.27, 12.86, 11.81, 10.99, 10.50 และ 10.45 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสค่อนข้างต่ำ (ต่ำกว่าร้อยละ 10) ได้แก่ มันเทศ น้อยหน่า สับปะรดศรีราชา แอปเปิ้ลพื้นเมือง พริกขี้หนู ก้อยลิ้นมังกร น้ำมันดอกทานตะวัน ผักเชียงดา มะเขว่น หอมแดง มะม่วงหาวมะนาวโห่ มะพลูด เห็ดหลินจือ ใบแปะก๊วย ผักแปม สลัด แอปเปิ้ลแดง แก่นตะวัน กล้วยน้ำว่า ข้าวโพดหวาน ฮ้วนหมู ใบย่านาง กล้วยไข่ หม่อน และใบบัวบก สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือกาแลนทามีนพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับร้อยละ 82.40 ซึ่งสารละลายมาตรฐานกาแลนทามีนที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้มากกว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้ง 34 ชนิด

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากผลมะขามป้อมมีกิจกรรมต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสไม่สูงมากนัก (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 17.36) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ร้อยละ 73.3 (Mathew และ Subramanian, 2014) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ดีทั้งวิธี DPPH method และ FRAP method และยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Maisuthisakul และคณะ (2008) ที่พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 69.1 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 44.3 มิลลิกรัมรุตินต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และจากรายงานของ Kubola และคณะ (2011) พบว่ามีสมบัติในการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับร้อยละ 98.10 และมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 50.38 มิลลิโมลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด จากการที่สารสกัดมะขามป้อมมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงอาจมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด Luo และคณะ (2011) ได้ทำการแยกสารประกอบฟีนอลิกจากผลมะขามป้อมพบว่าประกอบไปด้วยสาร gallic acid, มาตรการคุ้มครองผู้บริโภค

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ellagic acid, mucic acid 1,4-lactone 3-O-gallate, isocorilagin, chebulanin, chebulagic acid และ mallotusin ที่แยกได้จากการทำให้บริสุทธิ์จากมะขามป้อม

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ตีความทั้งวิธี DPPH method และ FRAP method นอกจากนี้ยังพบว่ามีการประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pothitirat และคณะ (2009) ได้ทำการสกัดเปลือกผลมังคุดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ยังไม่แก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 42.57 กรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด และสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่แก่แล้วมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 4.08 กรัมควอซิทินต่อ 100 กรัมของสารสกัด และมีสารต้านอนุมูล DPPH ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 10.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การที่สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูง มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ตีความอาจเนื่องมาจากในเปลือกผลของมังคุดอาจจะประกอบด้วยสารสำคัญ Zademowski และคณะ (2009) ได้ทำการแยกหาสารประกอบฟีนอลิกในเนื้อและเปลือกผลของมังคุดด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่าสาร protocatechuic acid เป็นสารประกอบหลักของกรดฟีนอลิกในเนื้อและเปลือก ยังพบว่ามีการ *p*-hydroxybenzoic acid ในยวง พบสาร *m*-hydroxybenzoic acid เฉพาะในส่วนเนื้อ และพบสาร 3,4-dihydroxy mandelic เฉพาะในเปลือกผลมังคุด

สารสกัดจากวุ้นในใบว่านหางจระเข้มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสไม่มากนัก แต่สูงกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นที่ทดสอบ (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 31.55) Bawankar และคณะ (2013) ได้รายงานว่าการสกัดจากวุ้นในส่วนของเจลที่สกัดด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 (น้ำหนักโดยปริมาตร) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่หลายระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 67.8 ถึง 92.6 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งทำโดยวิธี FRAP เท่ากับ 403 ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิกรัม ซึ่งการมีกิจกรรมต่างๆเหล่านี้จะเป็นผลมาจากที่วุ้นหางจระเข้ประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ดังเช่น ในการทดลองของ Bawankar และคณะ (2013) ได้จำแนกชนิดของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบทั้งหมด 12 ชนิดด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่าเป็นสาร hexadecanoic acid (ร้อยละ 22.22) สาร 9-octadecenoic acid (ร้อยละ 16.2) สาร tricosane (ร้อยละ 5.59) สาร 1-octadecanol (ร้อยละ 5.20) สาร sitosterol (ร้อยละ 2.8%) สาร stigmasterol (ร้อยละ 2.1%) สาร docosane (ร้อยละ 3.27) สาร octadecenoic acid (ร้อยละ 4.99) สาร 1-(phenyl thioxomethyl)piperidine (ร้อยละ 3.09) สาร 1-dodecanol (ร้อยละ 3.05) สาร 6-hydroxy hexane-3-1 (ร้อยละ 2.61) และสาร debocane, 4-methyl (ร้อยละ 2.37)

จากการทดลองสารสกัดจากเมล็ดบัวมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสไม่สูงมากนัก (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 11.81) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารสกัดจากเอ็มบริโอของเมล็ดบัว (*Nelumbo nucifera*) ที่สกัดด้วยเมทานอลร้อยละ 80 ที่ปริมาณ 3 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของสารสกัดเอ็มบริโอเมล็ดบัว มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในส่วนฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ร้อยละ 37.05 และ 35.83 ตามลำดับ และยังพบว่าสารสกัดจากเอ็มบริโอเมล็ดบัวช่วยบรรเทาภาวะการสูญเสียความทรงจำที่ถูกชักนำให้เกิดขึ้นในหนูโดยสาร scopolamine ช่วยยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในส่วนฮิปโปแคมปัส (Kim และคณะ, 2013)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเมล็ดบัวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตีความด้วยวิธี DPPH และ FRAP

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2014a) Mehta และคณะ (2012) กล่าวว่า บัวหลวง (*N. nucifera*) เป็นพืชน้ำที่มีสรรพคุณทางยาอย่างมาก เมื่อเรื้อรังนี้พบว่าเมื่อนำเอาเกรสจากบัวหลวงไปให้หนูทดลองกินพบว่าจะช่วยในเรื่องการเรียนรู้และการจดจำให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น ซึ่งไปยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสและยังได้แยกสารประกอบชนิดใหม่ 1 ชนิด และสารประกอบที่ทราบแล้วอีก 4 ชนิดที่แยกได้จาก n-butanol fraction ของบัวหลวงเป็นครั้งแรกคือสาร nuciferoside ซึ่งเป็น beta-cyclogeraniol diglycoside ชนิดหนึ่งและสารประกอบที่ทราบแล้วอีก 4 ชนิดได้แก่สาร cycloartenol, *p*-hydroxybenzoic acid, vanilloside, และ 5'-*O*-methyladenosine ซึ่งสารประกอบ beta-cyclogeraniol diglycoside, nuciferoside, cycloartenol, *p*-hydroxybenzoic acid และ vanilloside แสดงให้เห็นถึงการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส นอกจากนี้สารประกอบเหล่านี้ยังผลในการยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (cholinesterase) ซึ่งมีศักยภาพที่จะนำมาใช้สำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ส่วน cycloartenol, *p*-hydroxybenzoic acid และ nuciferoside ยังแสดงให้เห็นถึงการยับยั้งเอนไซม์ butyrylcholinesterase นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเมล็ดบัวยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดรวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zheng และคณะ (2012) ได้ศึกษาสมบัติทางพิษของสารสกัดเมล็ดบัวจากประเทศจีนที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 30 (น้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าสายพันธุ์ Jianjibaihuailian มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 477.61 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 509.34 มิลลิกรัมรุตินต่อกรัมของสารสกัด และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 11.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น Kredy และคณะ (2010) ได้ศึกษาหาสารปริมาณประกอบฟลาโวนอยด์จากเปลือกของเมล็ดบัวสด (fresh seed epicarp) ด้วยวิธี HPLC-ESI-MS พบว่ามีสาร glycosylate flavonols 6 ชนิด และมีสาร aglycone flavonols เพียงชนิดเดียว และได้วิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม flavonol aglycones ได้แก่สาร ไมริซิทิน (myricetin) ควอซิทิน (quercetin) kaempferol และ isorhamnetin โดยใช้วิธี HPLC ผลปรากฏว่าพบสารควอซิทิน (10.2 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง) ซึ่งสูงกว่าสาร aglycones ชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ Yen และคณะ (2005) ได้รายงานว่าการ scavenging effect จากเมล็ดบัวที่สกัดด้วยน้ำเดือดสูงกว่าสารสกัดเมล็ดบัวที่สกัดด้วย n-hexane หรือ ethyl acetate และได้จำแนกชนิดของสารสำคัญที่เป็นสารประกอบในเมล็ดบัวที่ทำการสกัดด้วยวิธี HPLC พบว่าเป็นกรดฟีนอลิก (phenolic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) *p*-hydroxybenzoic acid และสารประกอบฟีนอลิกปริมาณมากซึ่งคาดว่าอาจเกี่ยวข้องกับการมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดบัว

สารสกัดจากเมล็ดข้าวดำพันธุ์หอมนิลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sadabpod และคณะ (2010) ซึ่งทำการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระโดยทำการสกัดข้าวดำพันธุ์หอมนิลด้วยเมทานอลร้อยละ 80 ซึ่งพบว่าข้าวดำพันธุ์หอมนิลเมล็ดดิบมีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูล DPPH เท่ากับร้อยละ 95.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด และมีความสามารถในการรีดิวซ์ 5214.44 มิลลิกรัมเปอร์ซัลเฟตต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 272.07 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด ซึ่งการที่ข้าวดำมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าในเมล็ดข้าวดำพันธุ์หอมนิลมี

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครเชียงใหม่

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบหลายชนิด ซึ่ง Bordiga และคณะ (2014) ทำการวิเคราะห์แยกสารประกอบที่พบในข้าวดำด้วยวิธี HPLC-DAD-ESI-MS/MS ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ (anthocyanins, flavonols และ flavan-3-ols) และสารที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (hydroxycinnamic acid) และสารประกอบฟีนอลิก ข้าวดำมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งสาร cyanidin-3-glucoside เป็นสารแอนโทไซยานินชนิดหลักที่พบในข้าวดำตามด้วยสาร peonidin-3-glucoside และ cyanidin-3-rutinoside นอกจากนี้ Shao และคณะ (2014) ยังพบว่าเมล็ดข้าวดำเมื่อแก่เต็มที่แล้วจะมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) เท่ากับ 207.31 ไมโครโมลโทรลอคซ์ (trolox) ต่อ 100 กรัมของเมล็ดข้าว และยังพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 56.48 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของเมล็ดข้าว และเมื่อทำการแยกสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าวดำที่แก่เต็มที่แล้วด้วยวิธี HPLC-MS/MS พบสาร protocatechuic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid และ isoferulic acid ซึ่งมีปริมาณสารเท่ากับ 4.48, 5.38, 0.63, 2.00, 17.92 และ 1.33 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดข้าว ตามลำดับ

สารสกัดจากเมล็ดมะแขว่นมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ซึ่งได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่าสารสกัดจากลำต้นมะแขว่นที่สกัดด้วยเมทานอลมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 54.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 117.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสูงกว่าน้ำมันที่กลั่นจากผลแห้งมะแขว่น (IC_{50} 5764.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Tangjitjaroenkun และคณะ, 2012b) Tangjitjaroenkun และคณะ (2012a) ได้ทำการแยกสารประกอบจากส่วนลำต้นของมะแขว่นโดยวิธี spectroscopic และ MS analyses พบว่าเป็นสาร quinolone alkaloid ชนิดใหม่คือ 4-methoxy-3-(3-methyl-2-oxobut-3-enyl)quinolin-2(1H)-one รวมทั้ง limonellone และสารประกอบอีก 5 ชนิดที่เคยแยกได้แล้วก่อนหน้านี้จากลำต้นของมะแขว่นคือ ubiquitous lupeol, alkaloid rutaecarpine และ coumarins (xanthoxyletin, osthol และ scopoletin) (Somanabandhu และคณะ, 1992) นอกจากนี้พืชสกุล *Zanthoxylum* ได้ชี้ให้เห็นว่ามีการสร้างสารทุติยภูมิที่หลากหลาย เช่น สาร alkaloids, aromatic และ aliphatic amides, sterols และ phenylpropanoid-ligans และ coumarins (Mester 1983; Simanek 1985) ซึ่ง *Zanthoxylum limonella* Alston. มีชื่อท้องถิ่นเรียกว่า มะแขว่น ลักษณะเป็นพุ่มไม้สีเขียวกระจายอยู่ตามภาคเหนือของประเทศไทย โดยในส่วนของราก เปลือกของลำต้น ลำต้นและผล ใช้สำหรับรักษาอาการปวดท้องและอาการปวดฟันได้ ผลและเมล็ดของมะแขว่นจะใช้เป็นเครื่องเทศและน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นมีผลต่อการกระตุ้นกล้ามเนื้อโดยจะมีกลไกที่ไม่เฉพาะเจาะจงรวมทั้งมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร (Ittipanichpong และคณะ, 2002) ดังนั้นการที่สารสกัดจากผลมะแขว่นอาจมีสารประกอบเหล่านี้จึงทำให้มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูง

ในการทดลองสารสกัดจากต้นแปมมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างมากโดยทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักแปมมีปริมาณจัดอยู่ในลำดับที่ 4 รองจากผลมะขามป้อม เปลือกมังคุด และเมล็ดมะแขว่น โดยสมบัติทางพฤกษเคมีของพืชชนิดนี้ได้มีผู้รายงานไว้ดังการรายงานของ Sithisarn และ Jarikasem (2009) พบว่าในใบของผักแปมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 12.86 กรัมกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) ในสารสกัด 100 กรัม (หรือเท่ากับ 2,808.82 มิลลิกรัมกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) ต่อ 100 กรัมของพืชแห้ง) ซึ่งมีปริมาณสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 9.61 กรัมของรูทีน (rutin) ในสารสกัด 100 กรัม (หรือเท่ากับ 2,098.74 มิลลิกรัมรูทีน ต่อ 100 กรัมของพืชแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 100.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Phuong และคณะ (2006) ได้ทำการแยกสารที่เป็นสารประกอบไดเทอร์เพนอยด์ (diterpenoids) โดยวิธี capillary electrophoresis ซึ่งประสบความสำเร็จในการแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 3 กลุ่มจากการสกัดสารจากส่วนของใบ ลำต้น และรากจากพืชสกุล *Acanthopanax* พบว่ามีปริมาณของกรด acanthoic กรด contientalic และกรด kaurenolic โดยพบในปริมาณมากในพืชสกุลนี้ 2 ชนิด คือ *Acanthopanax koreanum* และ *Acanthopanax trifoliatum* (ผักแปม) นอกจากนี้ Kiem และคณะ (2003) ยังได้ทำการแยกสาร 24-nor-lupane glycoside ชนิดใหม่ได้จากใบของผักแปมจาก spectroscopic data ซึ่งสารนี้มีโครงสร้างทางเคมี ดังนี้ 24-nor-11 α -hydroxy-3-oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid 28-o- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl ester และพบว่ารายงานของ Sithisarn และ Jarikasem (2009) ได้ทำการจำแนกชนิดของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากใบผักแปม โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC DAD และวิธี HPLC-MS และได้ทำการแยกพิค 6 พิค (peak) หลักๆที่พบด้วยเทคนิค column chromatography แล้วจำแนกด้วย mass spectra และ UV absorption spectra พบว่าเป็นสาร chlorogenic acid, 3,5-di-o-caffeoylquinic acid, rutin, isoquercetin, 4,5-di-o-caffeoylquinic acid และ quercitrin

สารสกัดจากผลหม่อนสีแดงมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตาม Lin และ Lay (2013) ได้รายงานว่สารสกัดจากผลหม่อนทั้ง 3 สีคือ ผลสีเขียว ผลสีแดง และผลสีดำที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่าผลหม่อนสีแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 133.8 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1469.2 ไมโครกรัม ควอซีทินต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังได้ทำการแยกสารประกอบที่มีอยู่ในผลของหม่อนโดยวิธี HPLC chromatograms พบว่าผลหม่อนสีเขียวมีสารรูทีน (rutin) (2,230.2 ไมโครกรัมต่อกรัม) และมีสารควอซีทิน (quercetin) (12.3 ไมโครกรัมต่อกรัม) ส่วนผลหม่อนสีแดงพบว่ามีสารสโคโปเลติน (scopoletin) (220.5 ไมโครกรัมต่อกรัม) สารรูทีน (2,411.0 ไมโครกรัมต่อกรัม) และสารควอซีทิน (22.5 ไมโครกรัมต่อกรัม) และผลหม่อนสีดำมีสารสโคโปเลติน (53.1 ไมโครกรัมต่อกรัม) สารรูทีน (3183.6 ไมโครกรัมต่อกรัม) และสารควอซีทิน (101.9 ไมโครกรัมต่อกรัม) นอกจากนี้ Asano และคณะ (2001) ได้ทำการแยกสารประกอบจากผลหม่อนด้วยวิธี column chromatography โดยการแลกเปลี่ยนไอออน ซึ่งพบสารชนิดใหม่คือ 4-O- α -D-galactopyranosyl-calystegine B2 และ 3 β ,6 β -dihydro xynortropane

สารสกัดจากผลแอปเปิ้ลพื้นเมืองมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่าสารสกัดจากผลสุกของแอปเปิ้ลพื้นเมือง (*Chrysophyllum cainito*) ที่สกัดด้วยเมทานอลร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยมีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูล DPPH (ร้อยละ 95.32) และมีความสามารถในการรีดิวซ์ (44.92 มิลลิโมลเพอร์ซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (28.54 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (12.92 มิลลิกรัมรูทีนต่อกรัมของสารสกัด) ซึ่งในการทดลองนี้ยังทำการแยกหาสารประกอบด้วยวิธี HPLC-DAD system พบว่าผลสุกของแอปเปิ้ล

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พื้นเมืองประกอบด้วยกรดฟีนอลิกได้แก่ กรดไฮโดรเบนโซอิก (hydrobenzoic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) และ protocatechuic acid เท่ากับ 2.35 และ 5.68 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ และกรดไฮโดรซินนามิก (hydrocinamic acid) เช่น chorogenic acid และ ferulic acid เท่ากับ 40.68 และ 14.58 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้แก่สาร rutin, myricetin, luteotin, quercetin, apigenin และ kaempferol ซึ่งมีปริมาณสารเท่ากับ 50.36, 68.41, 11.37, 20.07, 0.91 และ 0.83 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (Kubola และคณะ, 2011) ซึ่ง *Chrysophyllum cainito* หรือที่รู้จักกันทั่วไปคือ สตาร์แอปเปิ้ล (star apple) เป็นต้นไม้พื้นเมืองของอเมริกากลางและพบได้ทางภาคเหนือของไทย สูงประมาณ 8-30 เมตร ผลของแอปเปิ้ลพื้นเมืองมีลักษณะเหมือนลูกแพร์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 เซนติเมตร เนื้อจะมีสีแดงออกม่วงและสีเขียวซีด เนื้อละเอียดมีรสหวานและมีกลิ่นหอม Morton และคณะ (1987) กล่าวว่าผลของแอปเปิ้ลพื้นเมืองให้พลังงาน 67.2 แคลอรีซึ่งมาจากโปรตีนปริมาณ 0.72-2.33 กรัม คาร์โบไฮเดรตปริมาณ 14.7 กรัม และใยอาหารปริมาณ 0.55-3.33 กรัม นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามิน รวมถึงแคโรทีน (carotene) ปริมาณ 0.004-0.039 มิลลิกรัม ไทอามีน (thiamine) ปริมาณ 0.018-0.08 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ปริมาณ 0.013-0.04 มิลลิกรัม ไนอะซิน (niacin) ปริมาณ 0.935-1.340 มิลลิกรัม และวิตามินซี (ascorbic acid) ปริมาณ 3.0-15.2 มิลลิกรัม ดังนั้นการที่แอปเปิ้ลพื้นเมืองมีสารต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด อาจเนื่องมาจากสารต่างๆเหล่านี้ที่มีอยู่ในผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง

สารสกัดจากต้นเชียงดามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งได้มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าสารสกัดจากใบของผักเชียงดา (*Gymnema inodorum*) ที่สกัดด้วยเอทานอลมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ร้อยละ 53.3 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 159.00 ไมโครกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัด (Kaewnarin และคณะ, 2014) ซึ่งผักเชียงดานั้นอยู่ในวงศ์ของ Asclepiadaceae พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาโรคบางอย่างทั้งโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) โรคไขข้อ (rheumatic arthritis) และโรคเกาต์ (gout) Shimizu และคณะ (2001) ได้พบว่า crude saponin mixture ที่สกัดจากใบเชียงดาสามารถยับยั้งการดูดซึมกลูโคสในทางเดินอาหารในเลือดของหนูและยังได้รักษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากสารประกอบ 4 ชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดจากใบของผักเชียงดา (GiA-1, GiA-2, GiA-5 และ GiA-7) โดยวิธี HPLC ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นอนุพันธ์ของกรดมีโครสร้าง (3 β ,4 α ,16 β)-16,23,28-trihydroxyolean-12-en-3-yl- β -D-glucopyranosiduroic acid เป็นที่ทราบกันว่ากรดจิมนิมิก (gymnemic acid) จากสารสกัดผักเชียงดาช่วยลดการดูดซึมกลูโคสจากทางเดินอาหาร และภายหลังยังช่วยลดการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด

สารสกัดจากหน่อจิงกูมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งยังไม่พบรายงานการวิจัยในส่วนของหน่อจิงกู แต่พบว่ามีรายงานการวิจัยในส่วนของรากจิงกู ซึ่งจิงกู (*Zingiber zerumbet* Linn.) อยู่ในวงศ์ของ Zingiberaceae มีลักษณะคล้ายต้นข่า สูงประมาณ 1 ถึง 2 เมตร แตกแขนงเป็นกอ ดอกตูมสามารถนำมาลวกจิ้มน้ำพริก แกงผักรวม มีสรรพคุณขับลมในกระเพาะ ซึ่งสามารถพบได้ตามภาคเหนือของ

เอกสารนี้มิใช่วรรณกรรมลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์บุรีรัมย์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศไทยและตามสภาพแวดล้อมที่เย็นชื้น (เพ็ญญา, 2547) Jang และคณะ (2004) ได้รายงานว่าการแยกสารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบอะโรมาติกจากสารสกัดของรากจิกุกจากใน ส่วน CHCl_3 -soluble fraction โดยการใช้ column chromatography พบสารประกอบอะโรมาติก 2 ชนิดได้แก่สาร *p*-hydroxybenzaldehyde และ vanillin และอนุพันธ์ของ kaempferol ได้อีก 8 ชนิดคือ kaempferol-3,4',7-*O*-trimethylether, kaempferol-3-*O*-methylether, kaempferol-3,4'-*O*-dimethylether, 4"-*O*-acetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(4-*O*-acetyl- α -L-rhamnopyranoside)], 2",4"-*O*-diacetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(2,4-*O*-diacetyl- α -L-rhamnopyranoside)], และ 3",4"-*O*-diacetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(3,4-*O*-diacetyl- α -L-rhamnopyranoside)] โดยโครงสร้างต่างๆเหล่านี้วิเคราะห์จาก spectroscopic data นอกจากนี้ Bhuiyan และคณะ (2009) ได้วิเคราะห์ชนิดของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในน้ำมันจากรากและใบของจิกุกโดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่าในน้ำมันจากรากและใบของจิกุกมีสารประกอบทั้งหมด 29 ชนิดโดยสารประกอบหลักที่พบในปริมาณมากได้แก่สาร zerumbone (ร้อยละ 36.98) α -caryophyllene (ร้อยละ 16.35) และ camphene (ร้อยละ 9.24) ส่วนน้ำมันจากรากจิกุกประกอบด้วยสารสำคัญทั้งหมด 30 ชนิดซึ่งมีสารประกอบหลักๆที่พบคือสาร zerumbone (ร้อยละ 46.83) α -caryophyllene (ร้อยละ 19.00) และ 1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo [9.1.0]dodeca-3,7-diene (ร้อยละ 4.28)

สารสกัดจากผลมะพลอดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Seal (2011) ที่พบว่าสารสกัดจากผลมะพลอด (*Elaeagnus latifolia*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ เมทานอลร้อยละ 20 (ปริมาตรโดยปริมาตร) และอะซิโตน พบว่าผลมะพลอดที่สกัดด้วยอะซิโตนมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (10.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของผลแห้ง) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (9.67 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของผลแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 0.25 มิลลิกรัมของผลแห้ง) ส่วนผลมะพลอดที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (7.13 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของผลแห้ง) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (1.76 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของผลแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 0.58 มิลลิกรัมของผลแห้ง) ซึ่งมะพลอดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Elaeagnaceae ในไทยพบมากทางภาคเหนือเป็นไม้เถาเนื้อแข็งเมื่อสุกจะมีสีแดงหรือส้มแดงมีสองชนิดคือ ชนิดเปรี้ยวจะมีผลใหญ่เมื่อสุกจะเป็นสีเหลืองส้มมีรสเปรี้ยว และชนิดหวานจะมีผลเล็กกว่ามีสีอ่อนกว่ารสหวานอมฝาด เมล็ดสีน้ำตาลเป็นพู่ มีสรรพคุณเป็นยาฝาดสมาน ยาระบาย แก้กึ่งผูก เกลาใช้แก้ไข้พิษ เปลือกต้นช่วยขับเสมหะ ดอกใช้แก้ริดสีดวงจมูก แก้ปวดศีรษะ และใช้ร่วมกับสมุนไพรอื่นใช้ทำยาแก้ปวด แก้หนาว (นิดา และทวีทอง, 2550 และ เศรษฐมนต์, 2555) อย่างไรก็ตามได้มีรายงานการศึกษาสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบในผลมะพลอดพบว่ามีปริมาณเถ้า (ash) 86.16 กรัมต่อกิโลกรัม ไขมัน (crude fat) 15.10 กรัมต่อกิโลกรัม โปรตีน (protein) 148.20 กรัมต่อกิโลกรัม คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) 743.40 กรัมต่อกิโลกรัม และใยอาหาร (crude fiber) 7.00 และ nutritive value 3702.73 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (Seal, 2012)

สารสกัดจากดอกฮ้วนหมูมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อยมาก ซึ่งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระในดอกของฮ้วนหมู อย่างไรก็ตาม Sahu และคณะ (2002) ได้ศึกษาสารประกอบในสารสกัดจากดอกฮ้วนหมู ซึ่งพบว่าสารสกัดจากดอกฮ้วนหมูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก อย่างไรก็ตามการนำฮ้วนหมูมาใช้ในตำรายาไทยนั้นยังไม่แพร่หลายนัก เนื่องจากฮ้วนหมูเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย ซึ่งสันนิษฐานว่าฮ้วนหมูมีถิ่นกำเนิดในอินเดีย และฮ้วนหมูเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย ซึ่งสันนิษฐานว่าฮ้วนหมูมีถิ่นกำเนิดในอินเดีย และฮ้วนหมูเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย

สกัดจากดอกฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) ที่สกัดด้วยเมทานอลและสกัดต่อด้วย water-saturated n-BuOH ซึ่งแยกสาร polyoxypregnane glycosides ชนิดใหม่ได้ 3 ชนิด คือ volubilosid A, B และ C ซึ่งมีโครงสร้างดังนี้ D-3-O-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-O-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranoside, drevogenin D-3-O-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-O-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-digitoxopyranoside และ drevo genin P-3-O-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-O-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranoside ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีรายงานการพบสารหลายชนิดในสารสกัดของผลฮ้วนหมูที่สกัดด้วยน้ำเช่น สารอัลคาลอยด์ (alkaloids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) สเตอรอยด์ (steroids) คูมาริน (cumarin) แทนนิน (tannin) ฟลาโวนอยด์ (เช่น rutin, quercetin, luteolin, apigenin orientin และ vitexin) โปรตีน คาร์โบไฮเดรต โกลโคไซด์ (glycosides) ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) แอนโทไซยานิน (anthocyanidins) (เช่น delphinidin และ peonidin) กรดอะมิโนและสารประกอบฟีนอลิก (เช่น caffeic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid และ vanillic acid) ไขมันและสารชนิดอื่นๆ ฮ้วนหมูยังเป็นพืชที่ใช้เป็นยารักษาโรคและใช้เป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีของยาที่มีศักยภาพ (Bharathamma และ Sudarsanam, 2015) ฮ้วนหมูอยู่ในวงศ์ของ Asclepiadaceae จัดเป็นไม้เถาเลื้อยชนิดหนึ่งที่ขึ้นพันไม้อื่นเป็นพันธุ์ไม้ป่าแต่นำมาปลูกกันแพร่หลายในบางท้องที่เช่น ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือใบบ่อและยอดสดๆ ใช้เป็นผักเครื่องเคียงจิ้มกับน้ำพริก ส้มตำมะม่วงหรือแกงกับผักชนิดอื่นๆ เถามีรสเผื่อนจึงมีสรรพคุณใช้แก้พิษไข้ ส่วนรากมีสรรพคุณกระหุงพิษ ขับพิษร้อน พิษไข้ พิษฝี พิษไข้หัว พิษไข้กัฬ ระงับความร้อน ขับปัสสาวะ (เพ็ญญา, 2547)

4.1.5 สมบัติการต้านเบาหวาน

4.1.5.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด โดยใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ได้จาก porcine pancreatic ซึ่งมีสตาร์ชเป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (maltose) ซึ่งจะทราบการมีอยู่ของน้ำตาลโมเลกุลคู่ (maltose) โดยการทำปฏิกิริยากับสารสีเปลี่ยนสาร 3,5-dinitrosalicylic acid เป็น 3-amino-5-nitrosalicylic acid (จากสารสีส้มเหลืองเปลี่ยนเป็นสีแดง) โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือ สารอะคาร์โบส ซึ่งมีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเท่ากับร้อยละ 96.02 พบว่าสารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดได้แก่ ใบย่านาง ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้เท่ากับ 78.28 ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ค่อนข้างน้อย (มากกว่าร้อยละ 10) ได้แก่ กระเทียม สละ มะขามป้อม ข้าวโพดหวาน แอปเปิ้ลพื้นเมือง แก่นตะวัน สับปะรด มะม่วงหาวมะนาวโห่ พักข้าว ผักแปม ยอดเห็ดหลินจือ แอปเปิ้ลแดง เปลือกมังคุด หม่อน วานหางจรเข้ เสาวรส แปะก๊วย หอมแดง ใบบัวบก ผักเชียงดา และเม็ดบัว ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 37.12, 32.53, 31.31, 30.73, 30.10, 28.84, 26.61, 24.51, 23.31, 23.25, 21.33, 20.38, 19.04, 19.01, 18.44, 18.24, 18.24, 16.43, 15.43, 14.30, 13.94 และ 10.22 ตามลำดับ

เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่พบในตับอ่อนของมนุษย์และสัตว์อื่น ๆ มีหน้าที่ในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันที

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ค่อนข้างต่ำ (มากกว่าร้อยละ 5) ได้แก่ หน่อจ๊กก ข้าวดำ มะหลอด ฮั่นหมู และมันเทศ ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 9.41, 7.84, 7.52, 5.68 และ 5.32 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้น้อยมาก (น้อยกว่าร้อยละ 5) ได้แก่ กล้วยไข่ มันต่อเผือก กล้วยน้ำว่า น้อยหน้า กล้วยเล็บมือนาง และมะแขว่น ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 3.74, 2.82, 2.67, 2.30, 1.76 และ 1.39 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

4.1.5.2 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด โดยใช้เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ได้จาก rat-intestinal acetone powder ซึ่งมีสาร 4-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (PNPG) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ได้จาก rat-intestinal acetone powder แล้วถูกไฮโดรไลซ์เกิดเป็นสาร *p*-nitrophenol ที่มีสีเหลือง โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือสารอะคาร์โบส ซึ่งมีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 96.56 พบว่าสารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดได้แก่ หม่อน ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับ 59.63 ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ค่อนข้างน้อย ได้แก่ เสาวรส แปะก๊วย มันเทศ แอปเปิ้ลแดง แอปเปิ้ลพื้นเมือง หอมแดง มะหลอด น้อยหน้า มะม่วงหาวมะนาวโห่ สับปะรด สละ มันต่อเผือก กล้วยน้ำว่า ยอ มะขามป้อม ข้าวโพดหวาน กล้วยเล็บมือนาง และใบย่านาง (ร้อยละ 15.09 ถึง 10.30) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้น้อยมาก (น้อยกว่าร้อยละ 10) ได้แก่ พักข้าว กระจับปี่ ผักแปม ฮั่นหมู วานหางจรเข้ หน่อจ๊กก เห็ดหลินจือ แก่นตะวัน มะแขว่น กล้วยไข่ เปลือกมังคุด ข้าวดำ เม็ดบัว ผักเชียงดา และใบบัวบก ซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 9.78, 9.38, 8.07, 7.98, 7.85, 7.27, 6.97, 6.45, 5.69, 5.55, 5.43, 4.57, 4.01, 3.72 และ 2.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

จากการทดลองสารสกัดของใบย่านางมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงที่สุด (ร้อยละ 78.28) อย่างไรก็ตามสมบัติการต้านเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในสารสกัดหยาบจากใบย่านางยังไม่เคยมีการศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ แต่มีการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบที่สำคัญในย่านาง Dechatiwongse และคณะ (1987) รายงานว่าใบย่านางพบสารจำพวกอัลคาลอยด์โดยเฉพาะสาร bisbenzylisoquinoline alkaloids จำนวน 3 ชนิดได้ถูกจำแนกชนิด พบว่าเป็น Tiliacorinine, Tiliacoiine และ Nor-Tiliacorinine นอกจากนี้ Boonsong และคณะ (2009) ยังได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล พบว่าสารสกัดจากใบย่านางที่สกัดด้วยอะซิโตนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัดแยกต่อด้วยน้ำกลั่นผสมกับเอทิลอะซิเตต (อัตราส่วน 1:3) จากนั้นจึงนำชั้นของเอทิลอะซิเตตไปวิเคราะห์ด้วย liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometer (LC-ESI-MS) พบสารประกอบหลักหลัก ได้แก่ *p*-hydroxybenzoic acid (white), minecoside, flavone glycoside cinnamic acids derivative, monoepoxybetacarotene, santonin (yellow), protopseudohypericin, 3-O-methyluteolin glucoside malonylated, 3-demeth-

เอกสาร $oxy-9\alpha$ -hydroxylygballinol-O-glucoside, และ flavanone glycoside Mukherjee และคณะ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2006) ได้กล่าวไว้ว่าฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มหนึ่งที่พบได้ตามธรรมชาติซึ่งมีประโยชน์อย่างมาก เนื่องจากมีศักยภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งสารจำพวกฟลาโวนอยด์นั้นสามารถจัดจำแนกได้เป็นหมวดหมู่ต่างๆ เช่น flavonols, flavones, catechins, flavanones และอื่นๆ ซึ่งในสารฟลาโวนอยด์บางชนิดมีสมบัติในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic properties) เพราะสารเหล่านี้ช่วยปรับปรุงออกซิเดทีฟเมแทบอลิซึมและกลูโคสเมแทบอลิซึมที่เปลี่ยนไป (altered glucose and oxidative metabolism) ในสภาวะหรือขั้นตอนของการเป็นเบาหวาน (diabetic state) โดยตัวอย่างสารฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติในการต้านเบาหวาน ได้แก่ ควอซีทิน (quercetin) นารินจีนิน (naringenin) ไครซิน (chrysin) สารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากพืชตระกูลส้ม เช่น เนสเพอริดีน (nesperidin) และนารินจีนิน (naringin) สารฟลาโวนอยด์จากถั่วเหลือง (soy isoflavones) จินิสทีน (genistein) เดดซีน (daidzein) โพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ เคมเพอริทริน (flavonoid glycoside kaempferitrin) สารฟลาโวนอยด์จากชาเขียว เช่น อีพิกาโลคาเทชิน แกลเลต (epigallocatechin gallate) และโมเลกุลฟลาโวนอยด์อื่นๆ อย่างเช่น อีพิคาเทชิน (epicatechin) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่สารสกัดจากใบย่านางซึ่งมีสารฟลาโวนอยด์เป็นส่วนประกอบจะมีสมบัติต้านเบาหวานเนื่องจากมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น สารสกัดจากพืชที่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงอาจช่วยต้านเบาหวานได้เนื่องจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะ α -(1,4)-กลูโคซิดิกของสตาร์ชไปเป็นน้ำตาลมอลโตสและน้ำตาลกลูโคส ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจะทำให้การดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดช้าลง และทำให้ภาวะที่มีน้ำตาลในเลือดสูงของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ดีขึ้น (Kim และคณะ, 2014b)

ในกรณีของ Vessal และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสารควอซีทินโดยให้สารควอซีทินทางช่องท้อง (intraperitoneal administration) ในหนูปกติกับหนูที่ชักนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วยสารสเตรปโตไซซิน (streptozocin-induced diabetic rats) ในระดับที่เท่าๆกัน ผลปรากฏว่ามีการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือดในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน ขณะที่ระดับกลูโคสในเลือดของหนูปกติยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง อีกทั้งสารควอซีทินยังมีส่วนช่วยลดระดับของน้ำตาลในเลือดในหนูที่เป็นโรคเบาหวานในขั้นตอนการทดสอบความสามารถในการทนต่อกลูโคส (glucose tolerance test) ส่วนการศึกษาผลของสารฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูลส้ม ได้แก่ สารเนสเพอริดีน และนารินจีนินต่อระดับน้ำตาลในเลือด กิจกรรมของเอนไซม์ที่ควบคุมระดับกลูโคสจากตับอ่อน (hepatic glucose-regulating enzymes activity) ความเข้มข้นของไกลโคเจนจากตับอ่อน (hepatic glycogen concentration) และระดับของอินซูลินในเลือด (plasma insulin levels) ได้ทำโดยใช้หนูทดลองเพศผู้เป็นแบบการทดลองของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type II diabetes) พบว่าการเติมสารฟลาโวนอยด์จากพืชตระกูลส้ม (0.2 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร) ลงในอาหารมีผลทำให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์กลูโคไคเนสจากตับอ่อน (hepatic glucokinase activity) และความเข้มข้นของไกลโคเจนในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งการค้นพบนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสารเนสเพอริดีน และนารินจีนินมีบทบาทสำคัญในการป้องกันภาวะที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemic) (Jung และคณะ, 2004) และสารอีกชนิดหนึ่งคือฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์เคมเพอริทริน (kaempferol-3,7-O-(α)-L-dirhamnoside) พบว่าทำให้เกิดการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือดอย่างฉับพลันในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และช่วย

กระตุ้นการดูดซึมกลูโคส (glucose uptake) ซึ่งมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับอินซูลินในกล้ามเนื้อของหนูทดลอง

แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนูปกติในหลอดทดลอง ซึ่งชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมของการลดระดับน้ำตาลในเลือดด้วยสารชนิดนี้ได้ถูกพิจารณาแล้วว่าเกี่ยวข้องกับกิจกรรมการเปลี่ยนแปลงภายใน (altered intrinsic activity) ของตัวลำเลียงกลูโคส (Jorge และคณะ, 2004)

จากผลการทดลองมีสารสกัดจากหัวกระเทียมไทยมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร้อยละ 37.12 ซึ่งพืชชนิดนี้ได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่ามีส่วนช่วยยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ จากรายงานการวิจัยของ Shori และ Baba (2014) ซึ่งได้พบว่าการเติมสารสกัดจากกระเทียมที่สกัดด้วยน้ำลงในน้ำนมวัวที่ใช้ในการหมักโยเกิร์ตมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในสารสกัดจากโยเกิร์ตที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 34.3 (ที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา) เป็นร้อยละ 48.1 หลังจากเก็บรักษาครบ 7 วัน และยังมีรายงานว่า การให้หนูกินสารสกัดจากกระเทียม (ร้อยละ 0.1 ถึง 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) ที่ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 มีผลช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสในซีรัมของเลือด (serum glucose) และยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) ระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ระดับยูเรีย (urea) ระดับกรดยูริก (uric acid) ระดับครีเอตินีน (creatinine) ระดับเอนไซม์แอสพาเตอะมิโนทรานส์เฟอเรส (aspartate amino transferase) และระดับเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานส์เฟอเรส (alanine amino transferase) ขณะที่ผลช่วยเพิ่มระดับอินซูลินในซีรัมของเลือดหนูที่เป็นโรคเบาหวานโดยการชักนำด้วยสารสเตربتโตไซโทซิน (streptozotocin-induced diabetic rats) แต่ไม่พบลักษณะนี้ในหนูชุดควบคุมซึ่งไม่ได้กินสารสกัดจากกระเทียม (Eidi และคณะ, 2006) ซึ่ง Suleria และคณะ (2015) ได้กล่าวถึงสารประกอบสำคัญในกระเทียมที่มีผลช่วยส่งเสริมสุขภาพพบว่ามีสารประกอบหลักดังนี้คือ สารประกอบที่ประกอบด้วยซัลเฟอร์คือสาร allicin และ S-allylcysteine (SAC) และสารประกอบออร์แกนิกซัลเฟอร์คือสาร thiosulfonates ajoenes และ allicin (diallyl thiosulphate) ซึ่งการที่สารสกัดจากกระเทียมมีคุณสมบัติในการต้านโรคเบาหวานอาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในกระเทียม ดังผลรายงานการวิจัยของ Saravanan และคณะ (2009) ซึ่งได้พบว่าสาร S-allylcysteine (SAC) ซึ่งเป็นสารประกอบชนิดหนึ่งในกระเทียมมีแนวโน้มทำให้ระดับกลูโคสในเลือด ระดับอินซูลินในพลาสมาและอัตราการเจริญในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วยสารสเตربتโตไซโทซิน (streptozotocin-induced diabetic rats) เข้าใกล้ระดับปกติโดยที่การให้หนูกินสารละลาย S-allylcysteine ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวให้ผลที่ดีกว่าที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว S-allylcysteine

จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากผลหมอนมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงที่สุด (ร้อยละ 59.63) การมีสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงช่วยต้านเบาหวานได้ดีเนื่องจากเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่พบในลูเมนภายในลำไส้และใน brush border membrane ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยจะย่อยสตาร์ชและโอลิโกแซคคาไรด์ไปเป็นโมโนแซคคาไรด์ก่อนที่จะถูกดูดซึม ซึ่งการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำให้การย่อยสตาร์ชและโอลิโกแซคคาไรด์ช้าลงจึงสามารถช่วยควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดหลังรับประทานอาหาร (postprandial blood glucose levels) ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Yang และคณะ, 2012) โดยยังไม่เคยมีการรายงานเกี่ยวกับสมบัติการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ในผลหมอน มีเฉพาะการรายงานในใบหมอนและส่วนอื่นของต้นหมอนมีรายงานว่าสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงซึ่งแยกได้จากใบหมอนนั้นช่วยส่งเสริมการเกิดขึ้นใหม่ของเบต้า-เซลล์ใน

แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตับอ่อน (pancreatic β -cell regeneration) และช่วยส่งเสริมการหลั่งอินซูลิน (insulin secretion) และยังช่วยลดการเก็บสะสมของไขมันในตับในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วยสารสเตรปโตโซโทซิน (streptozotocin-induced diabetic rats) (Zhang และคณะ, 2014a) และยังมีรายงานอีกว่า สารสกัดจากใบหม่อนที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ความเข้มข้น 50 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ให้ กระต่ายที่เป็นโรคเบาหวาน (จากการชักนำด้วยสารอัลโลแซน (alloxan)) กินมีผลช่วยลดระดับของ น้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ (Laddha และคณะ, 2012) การที่สารสกัดจากหม่อนมีสมบัติในการ ต้านโรคเบาหวานอาจเป็นผลมาจากสารประกอบที่สำคัญในหม่อน Liu และคณะ (2015) ได้มีรายงานว่า สาร 1-deoxynojirimycin เป็นสารประกอบ hypoglycemic constituent ที่พบได้ในต้นหม่อน (*Morus alba*) Liu และคณะ (2015) ได้พบว่าสารสำคัญชนิดนี้มีมากในเปลือกของลำต้นหม่อนซึ่งมี กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงที่สุด (มวลของสารสำคัญชนิดนี้ต่อสารสกัดเท่ากับ ร้อยละ 0.389) ส่วนในผลหม่อนก็ตรวจพบสาร 1-deoxynojirimycin บ้าง (มวลของสารสำคัญชนิด นี้ต่อสารสกัดเท่ากับร้อยละ 0.051)

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารฟรีโอบีโอติกของสารสกัดหยาบจากฝักและผลไม้

4.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและ เอนไซม์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและ เอนไซม์เป็นการหาปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากฝักและ ผลไม้ที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ดังนั้นถ้าหลังจากการย่อยแล้วยังคงมีสารประกอบพอลิแซคคา ไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณสูง แสดงว่าสารสกัดหยาบจากชนิดนั้นมีความสามารถในการทนต่อการย่อย ด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีคุณสมบัติการเป็นฟรีโอบีโอติกที่ดี จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดหยาบ จากฝักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ในปริมาณสูง 5 อันดับแรก ได้แก่ เปลือกมังคุด หอมแดงไทย มะพลูด สับปะรดศรีราชา และเม็ดบัว ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 188.62, 168.69, 155.51, 155.23 และ 147.49 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสาร สกัดหยาบจากฝักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรด และเอนไซม์ในปริมาณค่อนข้างสูงรองลงมา ได้แก่ มันต่อเผือก ข้าวดำ แก่นตะวัน กล้วยไข่ สลละ มัน เทต กล้วยน้ำว่า กล้วยเล็บมือนาง แอปเปิ้ลแดง และมะพลูด โดยมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคา ไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 137.13, 136.91, 130.13, 129.22, 127.76, 125.91, 124.85, 120.34, 109.04 และ 100.09 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ในการทดลองนี้คือสารอินซูลิน ที่ได้จากชิโครีมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เท่ากับ 396.57 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.2) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกสารสกัดหยาบจากฝักและ ผลไม้ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และยังมี ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง 5 ชนิด ได้แก่ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว่า และ สับปะรดมาใช้ในการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากฝักและผลไม้ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพร- โบีโอติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมการต้านเบาหวานในสารสกัดจากผักและผลไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Anti-oxidant activity ^a		Anti-acetylcholinesterase ^a		Diabetes inhibition ^a		
		DPPH assay		FRAP assay	1mg/ml	0.1 mg/ml	α -amylase	α -glucosidase
		EC ₅₀ (μ g extract / mg DPPH) \pm SD	AE (10 ⁻³) \pm SD	(mmol Fe (II) / g extract) \pm SD	activity (%) \pm SD		inhibition (%) \pm SD	inhibition (%) \pm SD
<i>Acanthopanax trifoliatum</i> Merr.	ผักแปม	1,982 \pm 3.31	0.50 \pm 0.01	0.93 \pm 0.03	6.78 \pm 0.75	2.89 \pm 0.38	23.25 \pm 1.30	8.07 \pm 1.60
<i>Alium sativum</i> Linn.	กระเทียมไทย	74,386.33 \pm 3.48	0.01 \pm 0.00	0.003 \pm 0.00	12.86 \pm 1.15	4.55 \pm 1.81	37.12 \pm 0.90	9.38 \pm 1.10
<i>Allium oschaninii</i>	หอมแดงไทย	55,355.19 \pm 0.85	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	8.61 \pm 1.83	2.93 \pm 0.89	15.43 \pm 1.20	12.83 \pm 5.90
<i>Aloe vera</i>	ว่านหางจระเข้	23,733.02 \pm 3.85	0.04 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00	31.55 \pm 1.44	14.04 \pm 2.84	18.24 \pm 1.90	7.85 \pm 2.40
<i>Ananas comosus</i> L. Merr.	สับปะรดศรีราชา	62,907.35 \pm 1.86	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	9.30 \pm 1.54	2.54 \pm 0.19	26.61 \pm 1.10	12.16 \pm 2.50
<i>Annona squamosa</i> Linn.	น้อยหน่า	3,385.10 \pm 2.72	0.29 \pm 0.01	0.28 \pm 0.01	9.67 \pm 1.12	3.03 \pm 0.24	2.30 \pm 1.80	12.43 \pm 2.20
<i>Carissa carandas</i> Linn.	มะม่วงหาวมะนาวโห่	3,075.84 \pm 1.54	0.33 \pm 0.01	0.38 \pm 0.00	8.58 \pm 1.50	1.79 \pm 0.61	24.51 \pm 1.50	12.26 \pm 4.00
<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban	ใบบัวบก	4,393.94 \pm 2.43	0.23 \pm 0.00	0.38 \pm 0.02	3.24 \pm 0.78	1.67 \pm 0.13	14.30 \pm 2.10	2.12 \pm 2.00
<i>Chrysophyllum cainito</i> Linn.	แอปเปิ้ลพื้นเมือง	3,258.62 \pm 5.44	0.31 \pm 0.00	0.40 \pm 0.00	9.24 \pm 1.75	2.12 \pm 0.88	30.10 \pm 1.40	13.19 \pm 1.90
<i>Dregea volubilis</i> Stapf.	ข้าวหมู	11,604.20 \pm 0.91	0.09 \pm 0.00	0.14 \pm 0.02	5.29 \pm 1.94	2.63 \pm 1.35	5.68 \pm 1.60	7.98 \pm 2.40
<i>Elaeagnus latifolia</i> Linn.	มะหลอด	27,465.56 \pm 1.11	0.04 \pm 0.00	0.07 \pm 0.01	8.51 \pm 0.87	7.30 \pm 1.42	7.52 \pm 1.50	12.59 \pm 3.40
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Kars	เห็ดหลินจือ	7,863.65 \pm 2.86	0.13 \pm 0.00	0.17 \pm 0.00	8.51 \pm 1.46	3.78 \pm 0.85	20.38 \pm 1.60	6.97 \pm 3.20
<i>Garcinia mangostana</i> Linn.	มังคุด	440.73 \pm 1.31	2.27 \pm 0.01	2.99 \pm 0.08	13.79 \pm 1.71	2.93 \pm 0.49	19.01 \pm 1.20	5.43 \pm 5.70
<i>Ginkgo biloba</i>	แปะก๊วย	6,229.66 \pm 1.35	0.16 \pm 0.00	0.37 \pm 0.02	8.08 \pm 1.07	2.48 \pm 0.89	16.43 \pm 1.20	14.47 \pm 3.30
<i>Gumnema inodorum</i> (Lour.) Decne	ผักเชียงดา	8,366.34 \pm 4.55	0.12 \pm 0.00	0.23 \pm 0.01	9.02 \pm 1.57	4.96 \pm 1.42	13.94 \pm 1.30	3.72 \pm 2.40
<i>Helianthus tuberosus</i> Linn.	แก่่นตะวัน	112,047.80 \pm 4.55	0.04 \pm 0.05	0.01 \pm 0.01	5.51 \pm 1.09	2.63 \pm 0.81	28.84 \pm 1.50	6.45 \pm 2.40
<i>Ipomoea batatas</i>	มันต่อเฟือก	34,250.15 \pm 2.90	0.03 \pm 0.00	0.10 \pm 0.01	9.16 \pm 1.76	3.48 \pm 1.40	2.82 \pm 1.20	12.01 \pm 3.20
<i>Ipomoea batatas</i> (Linn.) Lamk.	มันเทศ	103,368.80 \pm 3.31	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	9.75 \pm 1.82	3.51 \pm 1.32	5.32 \pm 1.00	14.41 \pm 1.80
<i>Malus domestica</i> Borkh.	แอปเปิ้ลแดง	26,825.12 \pm 1.68	0.04 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	5.87 \pm 0.49	1.45 \pm 0.41	19.04 \pm 0.90	13.50 \pm 3.30
<i>Morinda citrifolia</i> Linn.	ยอ	23,035.48 \pm 4.87	0.04 \pm 0.00	0.06 \pm 0.01	10.45 \pm 0.11	4.42 \pm 0.79	21.33 \pm 1.40	11.35 \pm 2.40
<i>Morus alba</i> Linn.	หม่อน	8,020.26 \pm 5.65	0.12 \pm 0.01	0.21 \pm 0.02	4.24 \pm 0.65	2.06 \pm 0.19	18.44 \pm 0.90	59.63 \pm 0.80

^a คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิetylโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมการต้านเบาหวานในสารสกัดจากผักและผลไม้ (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Anti-oxidant activity ^a		Anti-acetylcholinesterase ^a		Diabetes inhibition ^a		
				activity (%) ± SD				
		DPPH assay	FRAP assay	1mg/ml	0.1 mg/ml	α-amylase	α-glucosidase	
EC ₅₀ (µg extract / mg DPPH) ± SD	AE (10 ⁻³) ± SD	(mmol Fe (II) / g extract) ± SD			inhibition (%) ± SD	inhibition (%) ± SD		
<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) spreng	ฟักข้าว	76,993.93 ± 1.95	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	9.17 ± 0.88	3.05 ± 0.34	23.31 ± 1.20	9.78 ± 5.20
<i>Musa acuminata</i>	กล้วยเล็บมือนาง	58,732.48 ± 5.18	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	9.17 ± 1.50	2.09 ± 0.35	1.76 ± 1.20	10.61 ± 4.10
<i>Musa acuminata</i> Colla.	กล้วยไข่	7,690.25 ± 2.59	0.13 ± 0.00	0.38 ± 0.01	4.26 ± 1.14	1.51 ± 0.51	3.74 ± 1.30	5.55 ± 0.30
<i>Musa sapientum</i> Linn.	กล้วยน้ำว้า	6,978.51 ± 4.34	0.14 ± 0.00	0.19 ± 0.02	5.36 ± 0.71	1.63 ± 0.63	2.67 ± 2.00	11.50 ± 2.40
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	เม็ดบัว	1,340.86 ± 4.56	0.74 ± 0.00	0.80 ± 0.23	11.81 ± 0.95	5.60 ± 1.08	10.22 ± 1.70	4.01 ± 1.10
<i>Oryza sativa</i>	ข้าวดำ	4,294.95 ± 4.38	0.23 ± 0.00	0.44 ± 0.02	13.27 ± 1.64	5.51 ± 0.87	7.84 ± 1.60	4.57 ± 3.20
<i>Passiflora laurifolia</i> Linn.	เสาวรส	8,644.88 ± 5.81	0.12 ± 0.00	0.15 ± 0.01	10.99 ± 0.45	4.15 ± 0.87	18.24 ± 1.40	15.09 ± 3.30
<i>Phyllanthus emblica</i> Linn.	มะขามป้อม	453.50 ± 2.15	2.20 ± 0.01	3.51 ± 0.03	17.36 ± 2.34	5.57 ± 1.10	31.31 ± 1.00	11.04 ± 2.50
<i>Salacca zalacca</i>	สละ	53,427.08 ± 4.27	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	6.66 ± 0.83	2.27 ± 0.53	32.53 ± 1.50	12.07 ± 2.20
<i>Tiliacora triandra</i> (Colebr.) Diel	ใบย่านาง	6,346.05 ± 1.17	0.16 ± 0.00	0.27 ± 0.02	4.60 ± 0.85	2.18 ± 0.61	78.28 ± 0.30	10.30 ± 1.80
<i>Zanthoxylum limonella</i> Linn.	มะแขว่น	1,511.89 ± 2.31	0.66 ± 0.00	1.19 ± 0.02	8.96 ± 1.33	6.33 ± 0.56	1.39 ± 1.20	5.69 ± 4.20
<i>Zea mays</i> Linn. var. saccharata	ข้าวโพดหวาน	144,948.80 ± 6.31	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	5.34 ± 1.05	2.00 ± 0.57	30.73 ± 0.90	10.90 ± 1.00
<i>Zingiber zerumbet</i> (Linn) Smith.	จิงกู	11,579.44 ± 5.41	0.09 ± 0.00	0.07 ± 0.02	10.50 ± 1.16	7.42 ± 0.56	9.41 ± 1.80	7.27 ± 4.70
Galanthamine	กาแลนทามีน	-	-	-	82.40 ± 0.83	77.34 ± 1.73	-	-
α-Tocopherol	วิตามินอี	505.35 ± 4.25	1.98 ± 0.02	0.59 ± 0.04	-	-	-	-
Acarbose	อะคาร์โบส	-	-	-	-	-	96.02 ± 0.4	96.56 ± 1.10

^a คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ : Galanthamine เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิetylโคลีนเอสเทอเรส α-Tocopherol เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และ Acarbose เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรม Diabetes inhibition

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยในสารสกัดจากผักและผลไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Total Phenolic content ^a (mg GAE / g extract) ± SD	Total Flavonoid content ^a (mg CE / g extract) ± SD	Nondigestible polysaccharide ^a (mg / g extract) ± SD
<i>Acanthopanax trifoliatum</i> Merr.	ผักแปม	149.86 ± 0.64	113.25 ± 2.40	3.27 ± 1.50
<i>Alium sativum</i> Linn.	กระเทียมไทย	61.86 ± 2.73	1.51 ± 1.47	95.05 ± 4.40
<i>Allium oschaninii</i>	หอมแดงไทย	66.62 ± 1.30	1.60 ± 1.47	168.69 ± 3.10
<i>Aloe vera</i>	ว่านหางจระเข้	72.49 ± 2.66	5.01 ± 1.39	70.75 ± 4.70
<i>Ananas comosus</i> L. Merr.	สับปะรดศรีราชา	63.40 ± 1.86	1.68 ± 1.34	155.23 ± 1.00
<i>Annona squamosa</i> Linn.	น้อยหน่า	98.74 ± 0.73	30.58 ± 0.66	87.32 ± 5.70
<i>Carissa carandas</i> Linn.	มะม่วงหาวมะนาวโห่	98.46 ± 0.49	43.75 ± 1.43	57.39 ± 1.80
<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban	ใบบัวบก	82.11 ± 3.22	18.01 ± 1.62	35.81 ± 2.20
<i>Chrysophyllum cainito</i> Linn.	แอปเปิ้ลพื้นเมือง	92.73 ± 3.78	9.21 ± 0.97	25.91 ± 4.70
<i>Dregea volubilis</i> Stapf.	ฮ้วนหมู	87.70 ± 1.34	13.65 ± 0.93	7.80 ± 3.80
<i>Elaeagnus latifolia</i> Linn	มะหลอด	70.24 ± 2.68	2.62 ± 1.33	155.51 ± 4.80
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Kars	เห็ดหลินจือ	90.92 ± 2.18	19.38 ± 1.67	80.66 ± 6.10
<i>Garcinia mangostana</i> Linn.	มังคุด	397.36 ± 2.77	351.60 ± 3.71	188.62 ± 3.60
<i>Ginkgo biloba</i>	แปะก๊วย	123.60 ± 2.34	24.57 ± 3.23	71.81 ± 2.70
<i>Gumnema inodorum</i> (Lour.) Decne	ผักเชียงดา	105.16 ± 2.92	23.98 ± 2.33	13.47 ± 4.20
<i>Helianthus tuberosus</i> Linn.	แก่นตะวัน	62.00 ± 1.92	3.90 ± 1.32	130.13 ± 1.00
<i>Ipomoea batatas</i>	มันต่อเผือก	69.69 ± 1.17	8.43 ± 1.12	137.13 ± 3.00

^a คือค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยในสารสกัดจากผักและผลไม้ (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Total Phenolic content ^a (mg GAE / g extract) ± SD	Total Flavonoid content ^a (mg CE / g extract) ± SD	Nondigestible polysaccharide ^a (mg / g extract) ± SD
<i>Ipomoea batatas</i> (Linn.) Lamk.	มันเทศ	63.82 ± 2.10	5.95 ± 1.69	125.91 ± 1.40
<i>Malus domestica</i> Borkh.	แอปเปิ้ลแดง	66.20 ± 2.30	5.36 ± 1.16	109.04 ± 1.30
<i>Morinda citrifolia</i> Linn.	ยอ	72.48 ± 3.27	8.09 ± 1.13	17.77 ± 1.60
<i>Morus alba</i> Linn.	หมอน	87.84 ± 2.26	16.56 ± 0.57	100.09 ± 2.20
<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) spreng	ฟักข้าว	66.48 ± 2.33	3.82 ± 1.58	6.81 ± 3.00
<i>Musa acuminata</i>	กล้วยเล็บมือนาง	61.16 ± 1.92	1.51 ± 1.21	120.34 ± 2.80
<i>Musa acuminata</i> Colla.	กล้วยไข่	98.46 ± 0.49	33.23 ± 0.27	129.22 ± 3.10
<i>Musa sapientum</i> Linn.	กล้วยน้ำว้า	73.73 ± 2.97	8.77 ± 1.13	124.85 ± 1.90
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	เม็ดบัว	122.75 ± 3.84	89.37 ± 2.46	147.49 ± 4.90
<i>Oryza sativa</i>	ข้าวดำ	113.12 ± 2.25	38.34 ± 2.64	136.91 ± 4.30
<i>Passiflora laurifolia</i> Linn.	เสาวรส	85.33 ± 1.14	16.98 ± 1.55	55.31 ± 4.90
<i>Phyllanthus emblica</i> Linn.	มะขามป้อม	416.07 ± 6.11	48.88 ± 3.06	31.90 ± 1.90
<i>Salacca zalacca</i>	สละ	62.57 ± 1.63	2.54 ± 0.84	127.76 ± 4.60
<i>Tiliacora triandra</i> (Colebr.) Diel	ใบย่านาง	101.25 ± 1.81	22.63 ± 1.53	18.18 ± 1.60
<i>Zanthoxylum limonella</i> Linn.	มะเขว่น	190.52 ± 3.94	135.36 ± 1.63	2.28 ± 0.60
<i>Zea mays</i> Linn. ver. saccharata	ข้าวโพดหวาน	62.99 ± 0.66	1.17 ± 1.23	74.54 ± 3.30
<i>Zingiber zerumbet</i> (Linn) Smith.	จิงกู	82.25 ± 3.27	4.41 ± 1.82	69.41 ± 2.20
Inulin	อินนูลิน	-	-	396.57 ± 1.30

^a คือค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ : Inulin เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับ Nondigestible polysaccharide

4.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดโดยการผลิตโยเกิร์ต

จากผลการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ เม็ดบัว ข้าวคั่ว กล้วยไข่ กล้วยน้ำว่า และสับปะรดต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.3) พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักมีจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติกทุกชุดมีจำนวนใกล้เคียงกัน (6.46 ถึง 6.54 log CFU ต่อกรัม) และหลังจากบ่มถึง 12 ชั่วโมงพบว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดมีจำนวนเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.29 ถึง 1.77 log CFU ต่อกรัม โดยจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากสับปะรดเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ เพิ่มขึ้นถึง 1.77 log CFU ต่อกรัมจากจำนวนเริ่มต้นซึ่งเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว่าเพิ่มขึ้น (1.76 และ 1.71 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัว กล้วยไข่ กล้วยน้ำว่า และสับปะรดมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อบ่มจนครบ 24 ชั่วโมงผลปรากฏว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัวมีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดอื่นคือเพิ่มขึ้น 2.24 log CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้นคือมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต 6.0×10^8 CFU ต่อกรัม รองลงมาคือชุดโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก ข้าวคั่ว กล้วยไข่ และสับปะรดมีจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเพิ่มขึ้น 2.19, 2.14 และ 2.12 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ จากจำนวนเริ่มต้นซึ่งมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนโยเกิร์ตชุดที่เติมสารสกัดหยาบจากกล้วยน้ำว่า และสารมาตรฐานอินนูลินก็มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันคือ 2.02 และ 1.99 log CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้น ส่วนโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดใดๆมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดคือ 1.89 log CFU ต่อกรัม หรือมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 2.6×10^8 CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้น 3.3×10^8 CFU ต่อกรัม

โยเกิร์ตโพรไบโอติกที่เติมสารสกัดหยาบจากเม็ดบัวมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ตอาจมีความสัมพันธ์กับสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่พบในปริมาณสูงโดยอาจเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งสารพรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์ซึ่งเรียกได้ว่าเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ต้านการย่อย (resistance short-chain carbohydrate) หรือบางครั้งเรียกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย (non-digestible oligosaccharide) ซึ่งในปัจจุบันมีเพียงโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย เช่น ไดแซคคาไรด์ (disaccharide) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistance starch) และน้ำตาลโพลีออล (sugar polyols) ที่ได้รับอ้างว่ามีคุณสมบัติของการเป็นพรีไบโอติก (Al-Sheraji และคณะ, 2013) ในเม็ดบัวมีรีซิสแตนท์สตาร์ชเป็นส่วนประกอบซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ารีซิสแตนท์สตาร์ชชนิดที่ 3 (Resistance starch type 3 : RS3) (Zhang และคณะ, 2014b) รีซิสแตนท์สตาร์ชเป็นส่วนของสตาร์ชซึ่งทนต่อการย่อยโดยจะไม่ถูกไฮโดรไลส์กลายเป็นน้ำตาลดี-กลูโคสในลำไส้เล็กภายในเวลา 120 นาทีหลังจากรับประทานเข้าไปแต่จะถูกหมักในลำไส้ใหญ่ (Fuentes-Zaragoza และคณะ, 2010) Zhang และคณะ (2014b) ได้รายงานว่ารหัสรีซิสแตนท์สตาร์ชชนิดที่ 3 จากเม็ดบัวมี

เอกสารฉบับนี้ได้รับการคัดลอกและเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกจำพวก bifidobacteria ได้ดีกว่ากลูโคส และ high amylose maize starch

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (log CFU ต่อกรัม) ± SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	6.54±0.02 ^a	8.00±0.01 ^b	8.78±0.03 ^a
ข้าวดำ	6.51±0.08 ^a	7.92±0.05 ^{bc}	8.70±0.07 ^{ab}
กล้วยไข่	6.52±0.04 ^a	8.28±0.12 ^a	8.66±0.10 ^{ab}
กล้วยน้ำว้า	6.49±0.02 ^a	8.20±0.11 ^a	8.51±0.02 ^{cd}
สับปะรด	6.46±0.02 ^a	8.23±0.09 ^a	8.58±0.03 ^{bc}
อินนูลิน	6.53±0.03 ^a	7.82±0.02 ^c	8.52±0.15 ^{cd}
ชุดควบคุม	6.52±0.06 ^a	7.82±0.04 ^c	8.41±0.03 ^d

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในกลุ่มเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการทดลองนี้สารสกัดหยาบที่มีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ตรงจากสารสกัดจากเม็ดบัวลงมาคือ สารสกัดจากข้าวดำ กล้วยไข่ สับปะรด และกล้วยน้ำว้า ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่พบในปริมาณสูงรองลงมา Sumczynski และคณะ (2015) ได้วิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber : IDF) กับเส้นใยที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตามธรรมชาติ (Neutral-detergent fiber) ในข้าวดำ พบว่ามีปริมาณค่อนข้างสูง (ร้อยละ 2.97 และ 7.15 ตามลำดับ) ส่วนในกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้านั้นก็ประกอบด้วยสตาร์ชจำพวกกรีซิดแทนท์สตาร์ชในปริมาณสูงเช่นกัน (ร้อยละ 70.5 และ 75.6 ตามลำดับ) (Vatanasuchart และคณะ, 2012) นอกจากนี้การที่สารสกัดจากกล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต คาดว่าอาจเป็นเพราะในกล้วยทั้ง 2 สายพันธุ์ มีสารพรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบ van Loo และคณะ (1995) ได้รายงานว่กล้วยมีสารอินนูลิน (inulin) และโอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) เป็นส่วนประกอบในปริมาณ 0.3 ถึง 0.7 และ 0.3 ถึง 0.7 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสเป็นสายพอลิเมอร์สายตรงที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ของฟรุคโตสที่เชื่อมแต่ละหน่วยด้วยพันธะเบต้า (2→1) ซึ่งพันธะนี้มีความสามารถในการทนต่อเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และทนต่อค่าพีเอชที่สูงหรือต่ำมากที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ดังนั้นสารอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสจึงสามารถหลบหลีกการถูกไฮโดรไลซิสในส่วนของลำไส้และผ่านไปยังส่วนลำไส้ใหญ่ โดยสารนี้จะไปเป็นขับสเตรทให้กับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (bifidobacteria และ lactobacilli) ซึ่งจะคัดเลือกสารเหล่านี้ไปใช้ในการเจริญและการหมัก เป็นผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของคนและสัตว์ ซึ่งประโยชน์หลายประการของอินนูลินและโอลิโกแซคคาไรด์ก็คือ 1)การต่อต้านการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร 2)ช่วยปรับปรุงการเคลื่อนที่ของอาหารในลำไส้ 3)มีการผลิตกรดไขมันสายสั้นซึ่งช่วยป้องกันโรคมะเร็ง 4)ช่วยควบคุมความอ้วนจากอาหารโดยการหลังสารเปปไทด์ในทางเดินอาหาร 5)ช่วยเพิ่มการดูด

ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซีมแร่ธาตุอย่างเช่น แคลเซียม เหล็ก และแมกนีเซียม 6) ช่วยลดการสร้างไขมันและคอเลสเตอรอลในบางครั้ง และ 7) ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ประโยชน์อีกประการหนึ่งซึ่งมีการใช้สารอินนูลินกันอย่างกว้างขวางเมื่อเร็วๆ นี้ก็คือใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotic) ซึ่งจะประกอบด้วยทั้งแบคทีเรียโพรไบโอติกและสารพรีไบโอติกซึ่งจะให้ประโยชน์ร่วมกัน ซินไบโอติกพบได้ในอาหารหลายชนิดอย่างเช่น โยเกิร์ต นม ครีม เนยแข็ง และอาหารเสริม ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะใช้สารสกัดจากกล้วยซึ่งมีสารอินนูลินเป็นองค์ประกอบเติมลงในโยเกิร์ต (Holownia และคณะ, 2010) และในสับปะรดพบว่ามีส่วนประกอบของเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำในปริมาณสูง (75.2 กรัมต่อ 100 กรัมวัตถุแห้ง) (Martínez และคณะ, 2012) ซึ่งสารจำพวกเส้นใยอาหารนี้จะมีลักษณะทางกายภาพที่สำคัญคือมีความสามารถในการไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก (Mudgil และ Barak, 2013) นอกจากนี้ Costa และคณะ (2013) ยังได้รายงานว่่าน้ำสับปะรดที่ผ่านการ sonication นั้นเหมาะสมที่จะเป็นขั้วสเตรทต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* เนื่องจากทำให้เชื้อแบคทีเรียมีการเจริญเพิ่มขึ้นได้ดีในเวลาสั้น (12 ชั่วโมง) และยังสามารถคงเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้เป็นเวลาอย่างน้อย 21 วันในการเก็บรักษาด้วยความเย็น ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่ส่วนประกอบดังกล่าวที่มีในสารสกัดจากข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรดมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต

4.2.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกระหว่างการหมัก

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากผักและผลไม้ทั้ง 5 ชนิด คือ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรด โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวกคือ โยเกิร์ตที่เติมอินนูลิน และชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่เติมสารสกัดใดๆ พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชที่ใกล้เคียงกันคืออยู่ระหว่าง 6.19 ถึง 5.86 หลังจากการหมักพบว่าค่าพีเอชของโยเกิร์ตทุกชุดลดลงอย่างรวดเร็วตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่มีค่าพีเอชลดต่ำลงมากที่สุดทั้งในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.79 และ 3.84 ตามลำดับ รองลงมาคือโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก สับปะรด กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ ซึ่งมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.98, 5.02, 5.24, และ 5.27 ตามลำดับที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดทุกชนิดมีค่าพีเอชต่ำกว่าค่าพีเอชของโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินและโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารใดๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก และเมื่อหมักถึงชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชที่ลดต่ำลงอีก โดยโยเกิร์ตที่มีค่าพีเอชลดต่ำมากที่สุดคือโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก กล้วยไข่ รองลงมาเป็นสับปะรด กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.91, 4.04, 4.42, และ 4.54 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าพีเอชต่ำกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ต พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 0.31 ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดอื่นๆ และโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินกับโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารใดๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดรองลงมา ได้แก่ ข้าวดำ กล้วยไข่ เม็ดบัว และกล้วยน้ำว้า ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดใกล้เคียงกันอยู่ระหว่างร้อยละ 0.17 ถึง 0.20 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดเพิ่มขึ้น โดย

เอกสารทั้ง 5 ชนิด ไม่ว่างกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีปริมาณกรดทั้งหมดมากที่สุดทั้งในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.70 และ 1.29 ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการลดลงของค่าพีเอช และโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงรองลงมาที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.47, 0.39, 0.34 และ 0.31 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้นอยู่ระหว่างร้อยละ 0.11 ถึง 0.39 โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรด กล้วยไข่และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินและโยเกิร์ตชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารใดๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ชั่วโมง 12 ของการหมัก และเมื่อหมักจนถึงชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดที่สูงรองลงมาจากโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรด ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้า เม็ดบัว ข้าวดำ และกล้วยไข่ มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.57, 0.55, 0.51 และ 0.49 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากผักและผลไม้ พบว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีค่าพีเอชค่อนข้างต่ำสุดซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดอื่นโดยเฉพาะในชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก แต่พบว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่มีค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดไม่สอดคล้องกันเพราะเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณกรดทั้งหมดลดลง โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัวมีการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 24 แต่พบว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดที่มีค่าพีเอชต่ำและปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่แสดงว่ามีกรหมักที่ดี ไม่สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในชั่วโมงที่ 24

ตารางที่ 4.4 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) \pm SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
เม็ดบัว	6.26 \pm 0.02 ^b	5.24 \pm 0.04 ^b	4.42 \pm 0.01 ^c
ข้าวดำ	6.28 \pm 0.01 ^b	5.27 \pm 0.03 ^b	4.54 \pm 0.02 ^b
กล้วยไข่	6.19 \pm 0.02 ^c	4.79 \pm 0.06 ^d	3.84 \pm 0.03 ^f
กล้วยน้ำว้า	6.25 \pm 0.03 ^b	5.02 \pm 0.02 ^c	4.04 \pm 0.04 ^d
สับปะรด	5.86 \pm 0.03 ^d	4.98 \pm 0.01 ^c	3.91 \pm 0.04 ^e
อินนูลิน	6.45 \pm 0.02 ^a	5.64 \pm 0.01 ^a	4.51 \pm 0.02 ^b
ตัวควบคุม	6.44 \pm 0.03 ^a	5.67 \pm 0.03 ^a	4.84 \pm 0.01 ^a

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในกลุ่มเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, ค่าเฉลี่ยในรูปของกรดแลคติก) \pm SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
เม็ดบัว	0.18 \pm 0.02 ^b	0.34 \pm 0.05 ^d	0.55 \pm 0.01 ^c
ข้าวดำ	0.20 \pm 0.01 ^b	0.31 \pm 0.02 ^d	0.51 \pm 0.00 ^d
กล้วยไข่	0.20 \pm 0.01 ^b	0.47 \pm 0.01 ^b	0.49 \pm 0.01 ^e
กล้วยน้ำว้า	0.18 \pm 0.00 ^b	0.39 \pm 0.01 ^c	0.57 \pm 0.01 ^b
สับปะรด	0.31 \pm 0.03 ^a	0.70 \pm 0.02 ^a	1.29 \pm 0.01 ^a
อินทูลิน	0.17 \pm 0.01 ^b	0.29 \pm 0.04 ^d	0.55 \pm 0.00 ^c
ตัวควบคุม	0.17 \pm 0.02 ^b	0.33 \pm 0.00 ^d	0.41 \pm 0.00 ^f

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดี ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด ผลมะขามป้อม เม็ดบัว เมล็ดมะแขว่น และต้นแปม ซึ่งที่ค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 440.73 ถึง 1,982.00 ไมโครกรัมของสารสกัด ต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่เป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น ต้นแปม เม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ต้นข่าบก ผลกล้วยไข่และใบแปะก๊วย ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 3.51 ถึง 0.37 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์สต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น ต้นแปม ใบแปะก๊วย และเม็ดบัว โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 416.04, 397.36, 190.52, 149.86, 123.60 และ 122.75 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น และต้นแปม โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 351.60, 135.36 และ 113.25 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากวุ้นในใบว่านหางจระเข้ (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 31.55) และสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสรองลงมา ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด เมล็ดข้าวดำและหัวกระเทียมไทย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วงร้อยละ 17.36 ถึง 12.86) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสมบัติการต้านเบาหวานโดยมีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากใบย่านาง (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 78.28) และสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลหม่อน (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 59.63)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงสุดคือ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด (188.62 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากหัวหอมแดงไทย ผลมะพลูด ผลสับปะรด เม็ดบัว หัวมันต่อเผือก เมล็ดข้าวดำ หัวแก่นตะวัน ผลกล้วยไข่ ผลสละ หัวมันเทศ ผลกล้วยน้ำว้า ผลกล้วยเล็บมือนาง ผลหม่อนและผลแอปเปิ้ลแดง (อยู่ในช่วง 168.69 ถึง 109.04 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติก พบว่าสารสกัดหยาบจากเม็ดบัวมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลสับปะรดและผลกล้วยน้ำว้า ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมเชิงบวก (อินซูลิน) มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ มีกิจกรรมในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสและมีสมบัติการต้านเบาหวาน เช่น ผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด ต้นแปม เมล็ดมะเขว่น ใบแปะก๊วย เม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ต้นบัวบก ผลกล้วยไข่ วัชโนใบว่านหางจระเข้ หัวกระเทียมไทย ใบย่านางและผลหม่อนไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มน้ำผักและผลไม้เพื่อสุขภาพ เช่น น้ำผสมสารสกัดจากผักและผลไม้เพื่อสุขภาพ เพื่อป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากภาวะปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป (oxidative stress) เช่น โรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน และโรคภัยแรงอื่นๆ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลสับปะรด และผลกล้วยน้ำว้า นั้นมาใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงคุณภาพของโยเกิร์ตโพรไบโอติก และควรทำการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตโพรไบโอติกที่ผลิตขึ้นด้วยเมื่อผสมด้วยสารอาหารที่เหมาะสม แล้วอาจทำการปรุงแต่งสี กลิ่นและรสของโยเกิร์ต หรืออาจดัดแปลงผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในรูปแบบต่างๆ เช่น โยเกิร์ตพร้อมดื่ม (drinking yogurt) โยเกิร์ตแช่แข็ง (frozen yogurt) กรีกโยเกิร์ต (greek yogurt) คีเฟอร์ (kefir) หรือโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง (soy milk yogurt) สำหรับผู้ที่แพ้แลคโตสในนม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- โกสินทร์ วีระขจร, กุลธิดา กล้ารอด, ประณิธิ หงส์ประภาส, และพัชรี บุญศิริ. (2557). ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลและสารต้านออกซิเดชันกับโรคมะเร็ง. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 29(2), 207-209.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. (2554). อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา Oxidants and antioxidants: Sources and mechanism. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์*, 1(1), 59-70.
- นิดดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์. (2550). มะลอลอดในผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหารและการกิน. กรุงเทพมหานคร. แสงแดด, หน้า 184
- แพทย์หญิงเพ็ญภา ทรรศัยเจริญ, (ผู้รวบรวม). (2547). ผักพื้นบ้านภาคเหนือ. ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : บริษัทสามเจริญพาณิชย์ จำกัด
- รัชฎาพร อุ่นศิริไธย์, จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และจิตรา สิงห์ทอง. (2554). ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครื่องหมายน้อย และรางจืด. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 2554.
- วิณา จิรัจฉิยากุล. (2556). สารฟลาโวนอยด์และสมุนไพรรักษาโรค (Flavonoids and Medicinal Plants). ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 1-90.
- เศรษฐมนต์ กาญจนกุล. (2555). มะลอลอดในผลไม้ในเมืองไทย. กรุงเทพมหานคร. เศรษฐศิลป์, หน้า 57
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ *Radical Scavenging Agent*. กรุงเทพมหานคร: นิวไทยมิตรการพิมพ์, หน้า 1-183.
- Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014). In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3, 16-25.
- Agil, R., Gaget, A., Gliwa, J., Avis, T. J., Willmore, W. G., & Hosseinian, F. (2013). Lentils Enhance probiotic growth in yogurt and provide added benefit of antioxidant protection. *LWT – Food Science and Technology*, 50, 45-49.
- Al-Sheraji, S., Ismail, A., Manap, M., Mustafa, S., Yusof, R., & Hassan, F. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Food*, 5, 1542-1553.
- Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2012). Fermentation and non-digestibility of *Mangifera pajang* fibrous pulp and its polysaccharides. *Journal of Functional Foods*, 4, 933-940.
- AOAC, (2005). Official Methods of Analysis.: AOAC official Method. Association of Official Chemists, Washington, DC, USA.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Arulselvan, P., Ghofar, H. A. A., Karthivashan, G., Halim, M. F. A., Ghafar, M. S. A., & Fakurazi, S. (2014). Antidiabetic therapeutics from natural source: A systematic review. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4, 607-617.
- Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., & Kameda, Y. (2001). Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4208-4213.
- Bawankar, R., Deepti, V. C., Singh, P., Subashkumar, R., Vivekanandhan, G., & Babu, S. (2013). Evaluation of bioactive potential of an *Aloe vera* sterol extract. *Phytotherapy research*, 27, 864-868.
- Bharathamma, G., & Sudarsanam, G. (2015). Phytochemical investigation of aqueous fruit extracts of *Dregea volubilis* (Linn.) Benth. *Indian Journal of Plant Sciences*, 4(1), 11-15.
- Bhuiyan, Md. N. I., Chowdhury, J. U., & Begum, J. (2009). Chemical investigation of the leaf and rhizome essential oils of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. from Bangladesh. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4, 9-12.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D., & Ninfali, P. (2010). Fruit and vegetable antioxidants in health. In R. R. Watson, & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Food in Promoting Health: Fruits and vegetables* (pp. 37-58). New York, USA: Elsevier Inc.
- Boonsong, P., Laohakunjit, N., & Kerdchoechuen, O. (2009). Identification of polyphenolic compounds and colorants from *Tiliacora triandra* (Diels) leaves. *The Journal of Agricultural Science*, 40(3), 13-16.
- Bordiga, M., Gomez-Alonso, S., Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Hermosin-Gutierrez, I., & Arlorio, M. (2014). Phenolics characterization and antioxidant activity of six different pigmented *Oryza sativa* L. cultivars grown in Piedmont (Italy). *Food Research International*, 65, 282-290.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28(1), 25-30.
- Butterfield, D. A., Castegna, A., Pocernich, C. B., Drake, J., Scapagnini, G., & Calabrese, V. (2002). Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 3, 444-461.
- Costa, M. G. M., Fonteles, T. V., Tibério de Jesus, A. L., & Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139, 261-266.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dechatiwongse, T., Chavalittumrong, P., & Nutakul, W. (1987). Isolation of in vitro antimalarial principles from *Tiliacora triandra* Diels. *Bulletin of the Department of Medical Sciences*, 29, 33-38.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeili, E. (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13, 624–629.
- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 873-879.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E. & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43, 931-942.
- Han, X., Zhang, L., Yu, P., Yi, H., & Zhang, Y. (2014). Potential of LAB starter culture isolated from Chinese traditional fermented foods for yoghurt production. *International Dairy Journal*, 34, 247-251.
- Heinrich, M., & Teoh, H. L. (2004). Galanthamine from snowdrop-the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 147-162.
- Holownia, P., Jaworska-Luczak, B., Wisniewska, I., Bilinski, P., & Wojtyła A. (2010). The benefits & potential health hazards posed by the prebiotic inulin-A review. *Polish Journal of Food and Nutrition sciences*, 60, 201-211
- Ittipanichpong, C., Ruangrunsi, N., & Pattanaautsahakit, C. (2002). Chemical compositions and pharmacological effect of essential oil from the fruit of *Zanthoxylum limonella*. *Journal of The Medical Association of Thailand*, 85, 344–353.
- Jang, D. S., Han, A. R., Park, G., Jhon, G. J., & Seo, E. K. (2004). Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Archives of Pharmacal Research*, 27(4), 386-389.
- Jorge, A. P., Horst, H., de Sousa, E., Pizzolatti, M. G., & Silva, F. R. (2004). Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on 14C-glucose uptake in rat soleus muscle. *Chemico-Biological Interactions*, 149, 89-96.
- Jung, U. J., Lee, M. K., Jeong, K. S., & Choi, M. S. (2004). The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *Journal of Nutrition*, 134, 2499-2503.
- Kaewnarin, K., Niamsup, H., Shank, L., & Rakariyatham, N. (2014). Antioxidant and antiglycation activities of some edible and medicinal plants. *Chiang Mai Journal of Science*, 41(1), 105-116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 788-795.
- Kiem, P. V., Minh, C. V., Cal, X. F., Lee, J. J., & Kim, Y. H. (2003). A new 24-nor-lupane-glycoside of *Acanthopanax trifoliatum*. *Archives of Pharmacal Research*, 26(9), 706-708.
- Kim, E. S., Weon, B. J., Yun, B.-R., Lee, J., Eom, M. R., Oh, K.-H., & Ma, C. J. (2014a). Cognitive enhancing and neuroprotective effect of the embryo of the *Nelumbo nucifera* seed. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-9.
- Kim, K. T., Rioux, L. E., & Turgeon, S. L. (2014b). Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucas vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. *Phytochemistry*, 98, 27-33.
- Kim, G. N., Shin, J. G., & Jang, H. D. (2009). Antioxidant and antidiabetic activity of *Dangyuja* (*Citrus grandis* Osbeck) extract treated with *Aspergillus saitoi*. *Food Chemistry*, 117, 35-41.
- Korakli, M., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 958-965.
- Kredy, H. M., Huang, D., Xie, B., He, H., Yang, E., Tian, B., & Xiao, D. (2010). Flavonols of lotus (*Nelumbo nucifera*, Gaertn.) seed epicarp and their antioxidant potential. *European Food Research and Technology*, 231, 387-394.
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126, 972-981.
- Laddha, G. P., Bavaskar, S. R., Vikram, M., & Baile, S. B. (2012). Anti-diabetic effect of *Morus alba* on rabbit as animal model. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(4), 334-336.
- Lado, C., Then, M., Varga, I., Szoke, E., & Szentmihalyi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59c, 354-358.
- Lin, C. Y., & Lay, H. L. (2013). Characteristics of fruit growth, component analysis and antioxidant activity of mulberry (*Morus* spp.). *Scientia Horticulturae*, 162, 285-292.
- Lintas C. (1992). Nutritional aspects of fruit and vegetable consumption. In F. Lauret (Ed.), *Options Mediterraneennes* (pp. 79-87). Montpellier, France: CIHEAM.
- Liu, C., Xiang, W., Yu, Y., Shi, Z. Q., Huang, X. Z., & Xu, L. (2015). Comparative analysis of 1-deoxynojirimycin contribution degree to α -glucosidase inhibitory activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- and physiological distribution in *Morus alba*. *Industrial Crops and Products*, 70, 309-315.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134, 3479-3485.
- Loizzo, M. R., Pugliese, A., Bonesi, M., Luca, D. D., O'Brien, N., Menichini, F., & Tundis, R. (2013). Influence of drying and cooking process on the phytochemical content, antioxidant and hypoglycaemic properties of two bell *Capsicum annum* L. cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 392-401.
- Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, G. A., Cindio, B. D., Houghton, P. J., & Menichini, F. (2008). In vitro inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 109-116.
- Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Ren, J., Shen, G., & Rao, G. (2011). Antioxidant and antiproliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica* L. fruit. *Food Chemistry*, 126, 277-282.
- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 229-240.
- Mata, A. T., Proenca, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., & Araújo, M. E. M. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, 103, 778-786.
- Mathew, M., & Subramanian, S. (2014). In vitro screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. *The Public Library of Science*, 9(1), 1-7.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135, 1520-1526.
- Mecocci, P., & Polidori, M. C. (2012). Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822, 631-638.
- Mehta, M., Adem, A., & Sabbagh, M. (2012). New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, 1-8.
- Mester, I. (1983). Chemistry and chemical Taxonomy of the Rutales. In P. G. Waterman, & M. F. Grundon (Eds.), *Annual Preceedings of the Phytochemical Society of Europe* (pp.31-96). London: Academic Press Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Morton, J. F. (1987). *Chrysophyllum cainito* L. Sapotaceae. In J. F. Morton (Ed.), *Fruit of Warm Climates* (pp. 408-410). Miami, USA: Creative Resource Systems Inc.
- Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 1-6.
- Muir, J. G., Shephero, S. J., Rosella, O., Rose, R., Barrett, J. S., & Gibson, P. R. (2007). Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6619-6627.
- Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K., & Houghton, P. J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 1-28.
- Mussatto, S. I., & Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-597.
- Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. (2012). Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 411-420.
- Phuong, N. T., Lee, K. A., Jeong, S. J., Fu, C. X., Choi, J. K., Kim, Y. H., & Kang, J. S. (2006). Capillary electrophoretic method for the determination of diterpenoid isomers in *Acanthopanax* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, 56-61.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., & Gritsanapan, W. (2009). Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. *Fitoterapia*, 80, 442-447.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436, 332-347.
- Sadabpod, K., Kangsadalampai, K., & Tongyonk, L. (2010). Antioxidant activity and antimutagenicity of Hom Nil rice and black glutinous rice. *The Journal of Health Research*, 24(2), 49-54.
- Saeidnia, S., & Abdollahi, M. (2013). Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 273, 442-455.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sahu, N. P., Panda, N., Mandal, N. B., Banerjee, S., Koike, K., & Nikaido, T. (2002). Polyoxypregnane glycosides from the flowers of *Dregea volubilis*. *Phytochemistry*, 61, 383-388.
- Saravanan, G., Ponmurugan, P., Kumar, G. P. S., & Rajarajan, T. (2009). Antidiabetic properties of S-allyl cysteine, a garlic component on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Applied Biomedicine*, 7, 151-159.
- Sancheti, S., Sancheti, S., & Seo, S. Y. (2013). Antidiabetic and antiacetylcholinesterase effects of ethyl acetate fraction of *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne fruits in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65, 55-60.
- Sancheti, S., Sancheti, S., Um, B. H., & Seo, S. Y. (2010). 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose: A cholineesterase inhibitor from *Terminalia chebula*. *South African Journal of Botany*, 76, 285-288.
- Seal, T. (2012). Evaluation of nutritional potential of wild edible plants, traditionally used by the tribal people of Meghalaya State in India. *American Journal of Plants Nutrition and Fertilization Technology*, 2(1), 19-26.
- Seal, T. (2011). Antioxidant activity of Some wild edible fruits of Meghalaya State in India. *Advances in Biological Research*, 5(3), 155-160.
- Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., & Beta, T. (2014). Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. *Food Chemistry*, 143, 90-96.
- Shimizu, K., Ozeki, M., Iino, A., Nakajyo, S., Urakawa, N., & Atsuchi, M. (2001). Structure-Activity relationships of triterpenoid derivatives extracted from *Gymnema inodorum* leaves on glucose absorption. *Japanese Journal of Pharmacology*, 86, 223-229.
- Shori, A. B., & Baba, A. S. (2014). Comparative antioxidant activity, proteolysis and in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition of *Allium sativum*-yogurts made from cow and camel milk. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18, 456-463.
- Simanek, V. (1985). The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. In A. Brossi (Ed.), *The Alkaloids: Chemistry and Biology* (pp.186-240). London: Academic Press Inc.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocateu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sithisarn, P., & Jarikasem, S. (2009). Antioxidant activity of *Acanthopanax trifoliatum*. *Medical Principles and Practice*, 18, 393-398.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5, 1417-1435.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Slavin, J. L., & Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutrition*, 3, 506-516.
- Somanabandhu, A.O., Ruangrunsi, N., Lange, G.L., & Organ, M.G. (1992). Constituents of the stem bark of *Zanthoxylum limonella*. *Journal of The Science Society of Thailand*, 18, 181-185.
- Sugimoto, H. (2008). The new approach in development of anti-Alzheimer's disease drugs via the cholinergic hypothesis. *Chemico-Biological Interactions*, 175, 204-208.
- Suleria, H. A. R., Butt, M. S., Khalid, N., Sultan, S., Raza, A., Aleem, M., & Abbas, M. (2015). Garlic (*Allium sativum*): diet based therapy of 21st century-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(4), 271-278.
- Sumczynski, D., Bubelová, Z., & Fišera, M. (2015). Determination of chemical, insoluble dietary fibre, neutral-detergent fibre and in vitro digestibility in rice types commercialized in Czech markets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 8-13.
- Tabet, N. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: anti-inflammatories in acetylcholine clothing!. *Age and Ageing*, 35, 336-338.
- Tangjitjaroenkun, J., Chantarasriwong, O., & Chavasiri, W. (2012a). Chemical constituents of the stems of *Zanthoxylum limonella* Alston. *Phytochemistry Letters*, 5, 443-445.
- Tangjitjaroenkun, J., Supabphol, R., & Chavasiri, W. (2012b). Antioxidant effect of *Zanthoxylum limonella* Alston. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(8), 1407-1414.
- van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., & Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 525-552.
- Vatanasuchart, N., Niyomwit, B., & Wongkrajang, K. (2012). Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 6(02), 259-271.
- Vessal, M., Hemmati, M., & Vasei, M. (2003). Hypoglycemic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology and Pharmacology*, 135C, 357-364.
- White, P., Hiley, C. R., Goodhardt, M. J., Carrasco, L. H., Keet, J. P., Williams, I. E., & Bowen, D. M. (1977). Neocortical cholinergic neurons in elderly people. *The Lancet*, 1, 688-671.

Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P.,

Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- prebiotics from selected plants from southern Thailand. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 33(5), 517-523.
- Wootton-Beard, P., & Ryan, L. (2011). Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International*, 44, 3135-3148.
- Yang, Z., Wang, Y., Wang, Y., & Zhang, Y. (2012). Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba*. *Food Chemistry*, 131, 617-625.
- Yen, G. C., Duh, P.-D., & Su, H. J. (2005). Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes. *Food Chemistry*, 89, 379-385.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S., & Naczek, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, 112(3), 685-689.
- Zhang, Y., Ren, C., Lu, G., Cui, W., Mu, Z., Gao, H., & Wang, Y. (2014a). Purification, characterization and anti-diabetic activity of a polysaccharide from mulberry leaf. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 70, 687-695.
- Zhang, Y., Zeng, H., Wang, Y., Zeng, S., & Zeng, B. (2014b). Structural characteristics and crystalline properties of lotus seed resistant starch and its prebiotic effects. *Food Chemistry*, 155, 311-318.
- Zheng, L. J., Wu, Y. B., Wu, J. G., Tan, C. J., Yi, J., Chen, T. Q., & Wu, J. Z. (2012). Antioxidant activity of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) receptacles of eleven cultivars grown in China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(10), 1902-1911.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS Broth (MRS)

ประกอบด้วย	Proteose Peptone No.3	10.0	กรัม
	Beef Extract	10.0	กรัม
	Yeast Extract	5.0	กรัม
	Dextrose	20.0	กรัม
	Polysorbate 80	1.0	กรัม
	Ammonium Citrate	2.0	กรัม
	Sodium Acetate	5.0	กรัม
	Magnesium Sulfate	0.1	กรัม
	Manganese Sulfate	0.05	กรัม
	Dipotassium Phosphate	2.0	กรัม
	Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

หมายเหตุ : อาหาร MRS Agar เตรียมโดยใช้ส่วนผสมเช่นเดียวกับ MRS Broth โดยมี การเติมวุ้น (Agar) ปริมาตร 15 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี และเอนไซม์ชนิดต่างๆ

1. การเตรียมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเอทานอล ปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้



รูปที่ 1 (ข) การเตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

2. การเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

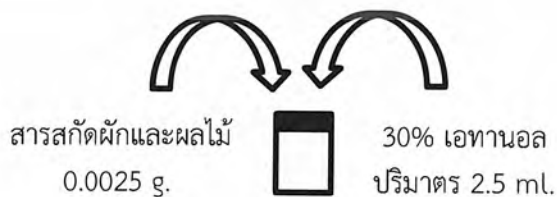
Stock solution ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่ใช้ในการทดลองจะใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม แล้วเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารสกัดให้ได้ 0.0010 กรัม นั้นเป็นไปได้ยาก และได้ปริมาณน้อยมากจึงทำได้ ดังนี้

จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม

ดังนั้น ชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ถ้า ชั่งสารสกัด 0.0025 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร $\frac{1 \times 0.0025}{0.0010}$

เท่ากับ 2.5 มิลลิลิตร



รูปที่ 2 (ข) การเตรียมสารสกัดผักและผลไม้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

3.1 การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

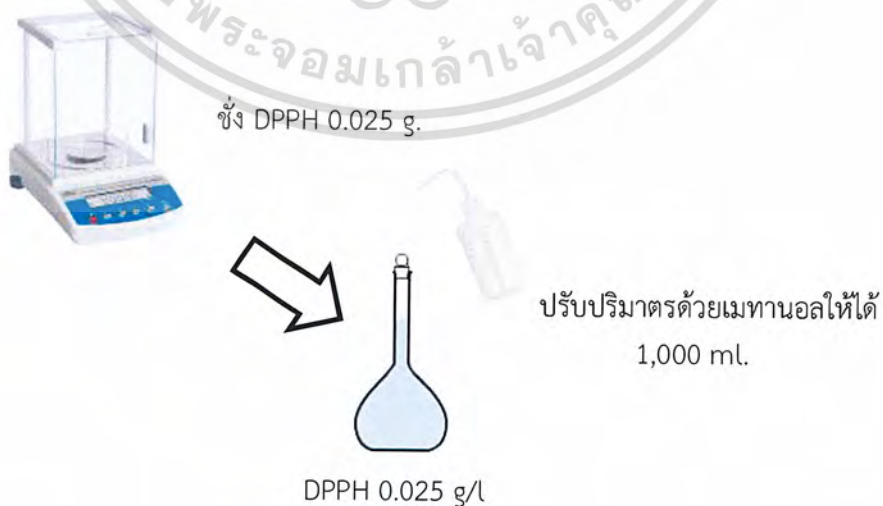
ชั่งสาร DPPH ปริมาณ 0.025 กรัม ละลายในเมทานอลเล็กน้อยแล้วทำการปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร



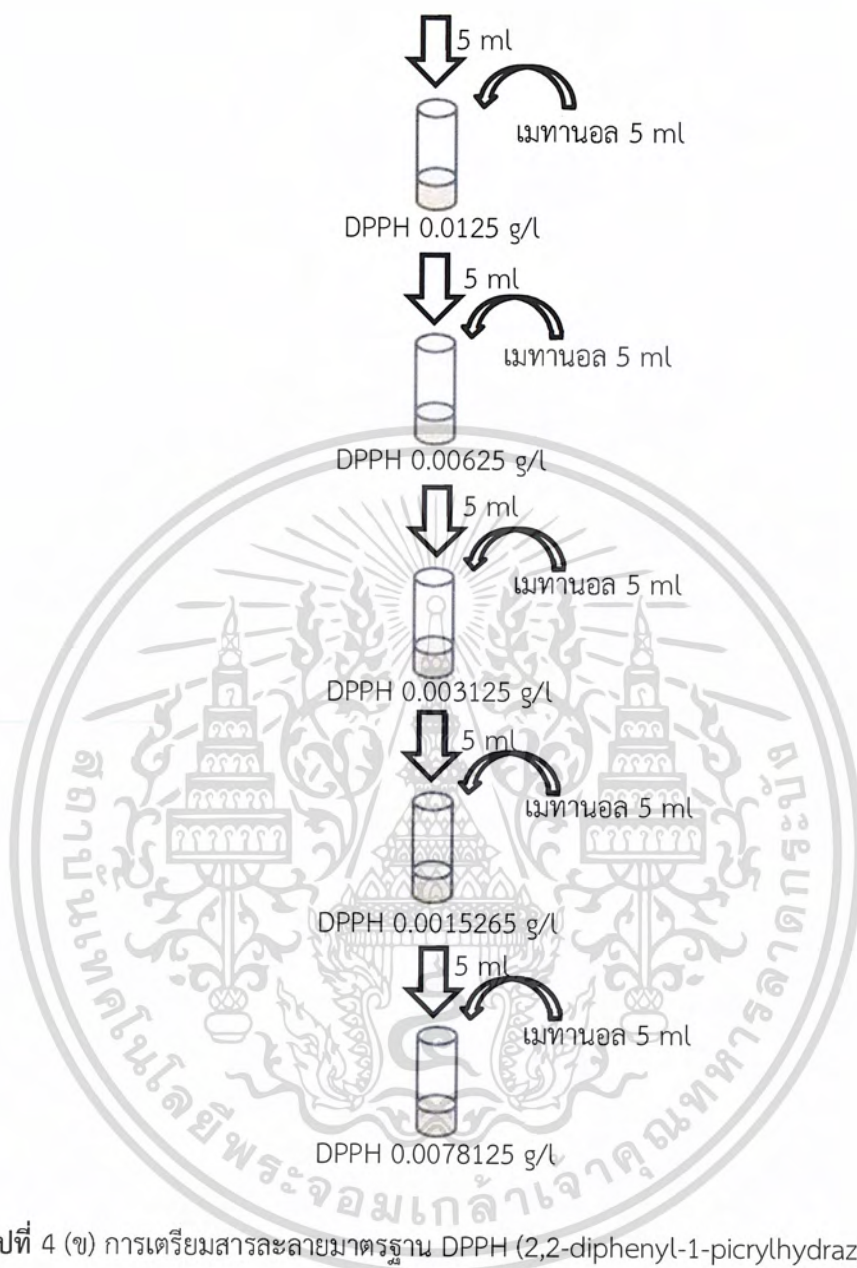
รูปที่ 3 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

3.2 สารละลายมาตรฐาน DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

สำหรับการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร โดยทำการชั่งสารละลายมาตรฐาน DPPH ปริมาณ 0.025 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 1,000 มิลลิลิตร ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

4. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

4.1 การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

เตรียมได้โดยชั่งสารโซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรต ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) ปริมาณ 3.1 กรัม ลงในกรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$) ปริมาตร 16 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ชั่ง $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ 3.1 g.



$C_2H_4O_2$ 16 ml.



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
1,000 ml.

รูปที่ 5 (ข) การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

4.2 การเตรียมสารละลาย 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยหาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกในขวด จากสูตร

$$C = 10dx / Mw$$

C คือ ความเข้มข้นหน่วยเป็นนอร์มอล (N)

d คือ ความหนาแน่น

x คือ ปริมาณเนื้อกรด

Mw คือ มวลโมเลกุล

จะได้ $C = (10 \times 1.19 \times 37) / 36.5 = 12.06$ นอร์มอล

เนื่องจาก 1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก

จะได้ กรดไฮโดรคลอริกมีความเข้มข้น 12.06 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ต้องการเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.04 โมลาร์ จากกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 12.06 โมลาร์ จะได้

$$V_1 = (0.04 \times 1,000) / 12.06 = 3.32 \text{ มิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 3.32 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

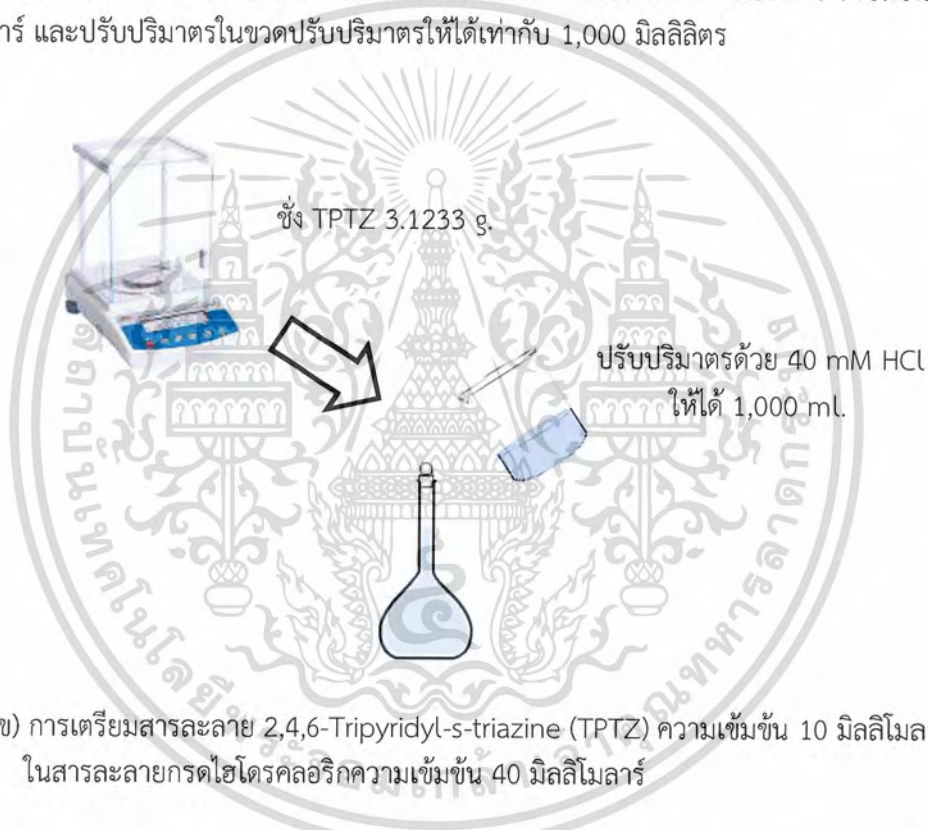
เตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสาร TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

ใน สารละลาย 1,000 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร TPTZ	เท่ากับ 312.33 กรัม
ถ้าเตรียมสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร TPTZ	เท่ากับ 10×312.33
	<hr style="width: 100%; border: 0.5px solid black;"/>
	1,000

เท่ากับ 3.1233 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นชั่งสาร TPTZ เท่ากับ 3.1233 กรัม ละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 6 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

4.3 การเตรียมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ จากมวลโมเลกุลของสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล

ใน สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,000 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 270.30 กรัม

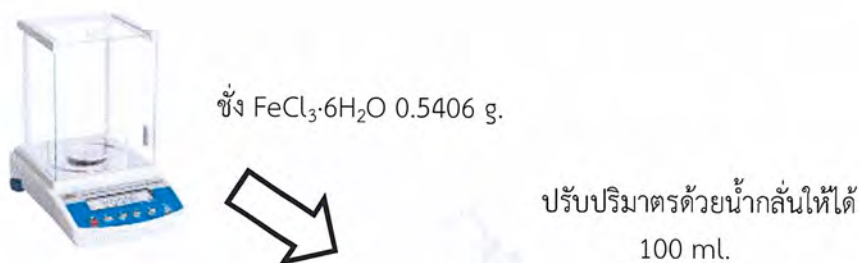
ถ้าเตรียมสารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 มิลลิโมลาร์ จะมีสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 20×270.30

เท่ากับ 5.4060 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 5.4060 กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 0.5406 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

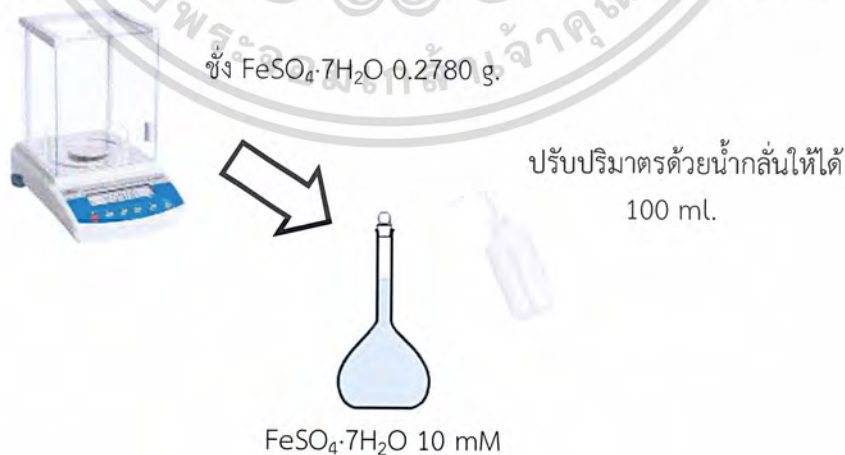


รูปที่ 7 (ข) การเตรียมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

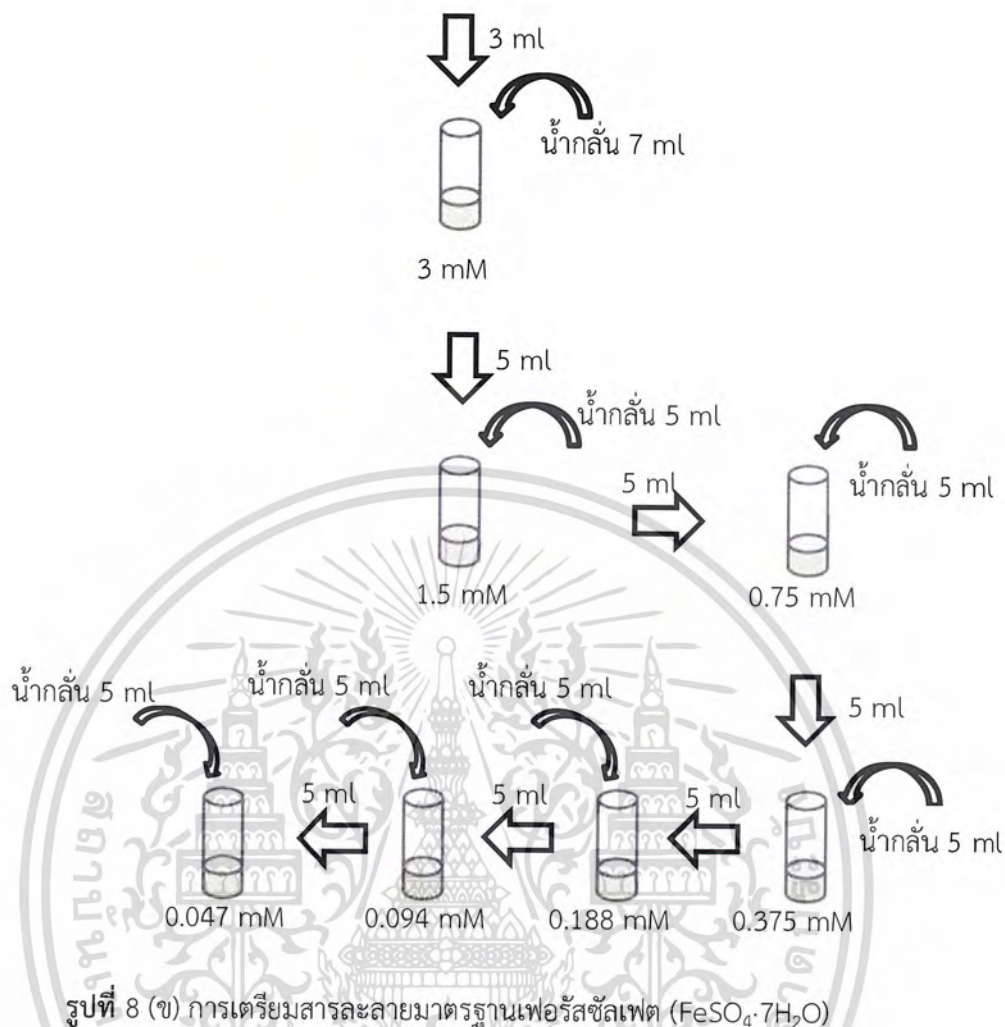
4.4 สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 10, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.188, 0.094 และ 0.047 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ดังนี้

จากมวลโมเลกุลของเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เท่ากับ 278.01 กรัมต่อโมล เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อลิตร เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10×10^{-3} โมล ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 2.7801 กรัมต่อลิตร ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 2.7801 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 0.2780 กรัม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



5. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากผักและผลไม้

5.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

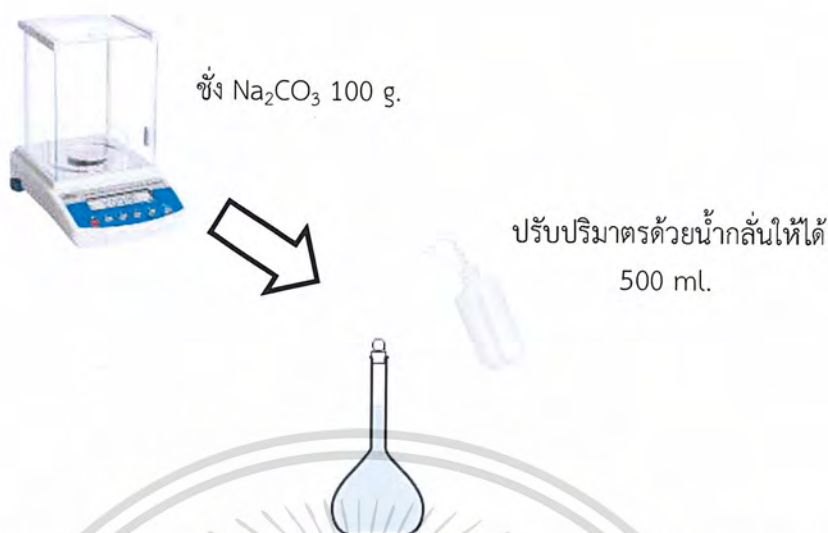
ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักต่อปริมาตร (20% (w/v) Na_2CO_3) คิดได้ดังนี้

จาก สารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สาร Na_2CO_3 20 กรัม

ถ้าเตรียม สารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้สาร Na_2CO_3 100 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 500 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 100 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

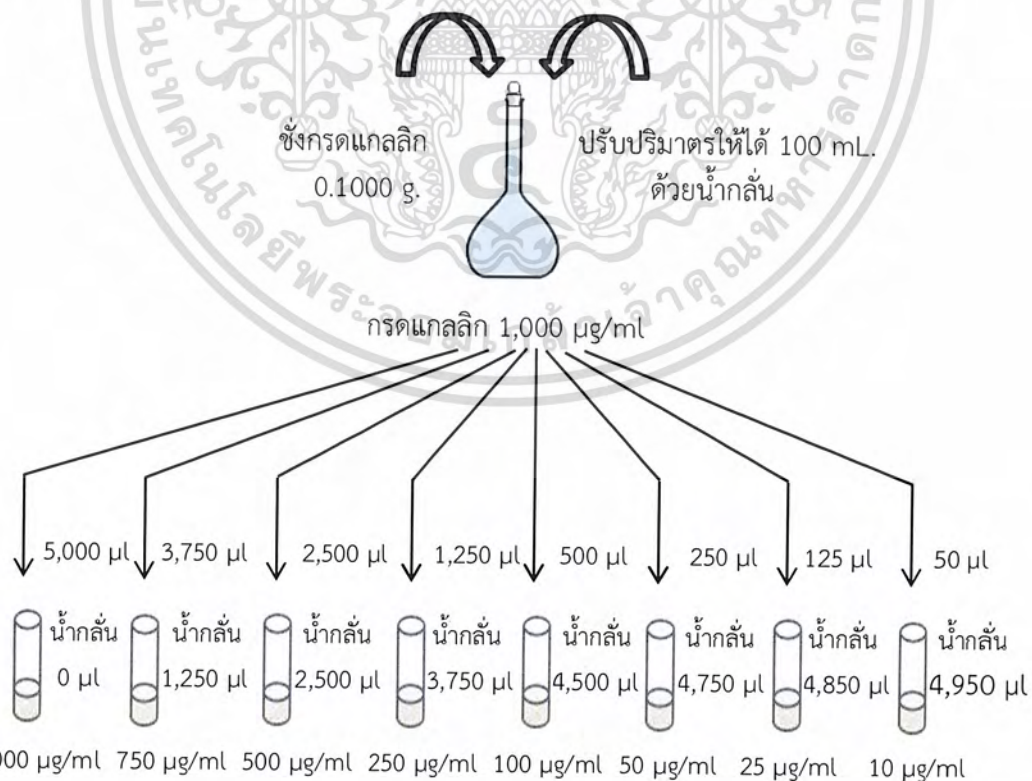
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

5.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

รูปที่ 10 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

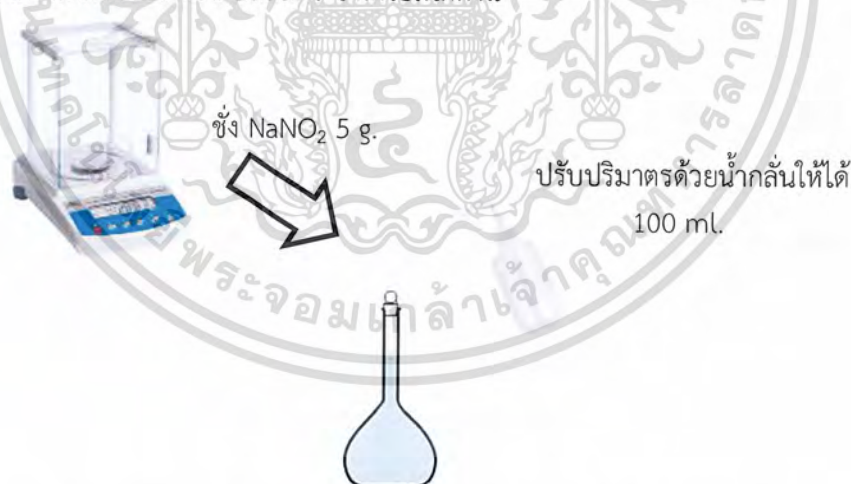
ตารางที่ 1 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ กรดแกลลิก ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาตรของ กรดแกลลิก (μl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (μl)	ความเข้มข้นสุดท้าย ของกรดแกลลิกใน หลอดทดลอง ($\mu\text{g/ml}$)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,875	25
1,000	50	4,950	10

6. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากผักและผลไม้

6.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร (5% (w/v) NaNO_2) เตรียมได้โดยชั่งสาร NaNO_2 ปริมาณ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมได้ดังนี้



รูปที่ 11 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

6.2 การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร (10% (w/v) AlCl_3) เตรียมได้โดยชั่งสาร AlCl_3 ปริมาณ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ผ่านการคัดค้าน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 (ข) การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

6.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล

ดังนั้น ในสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร NaOH เท่ากับ	40 กรัม
ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร NaOH เท่ากับ	4 กรัม

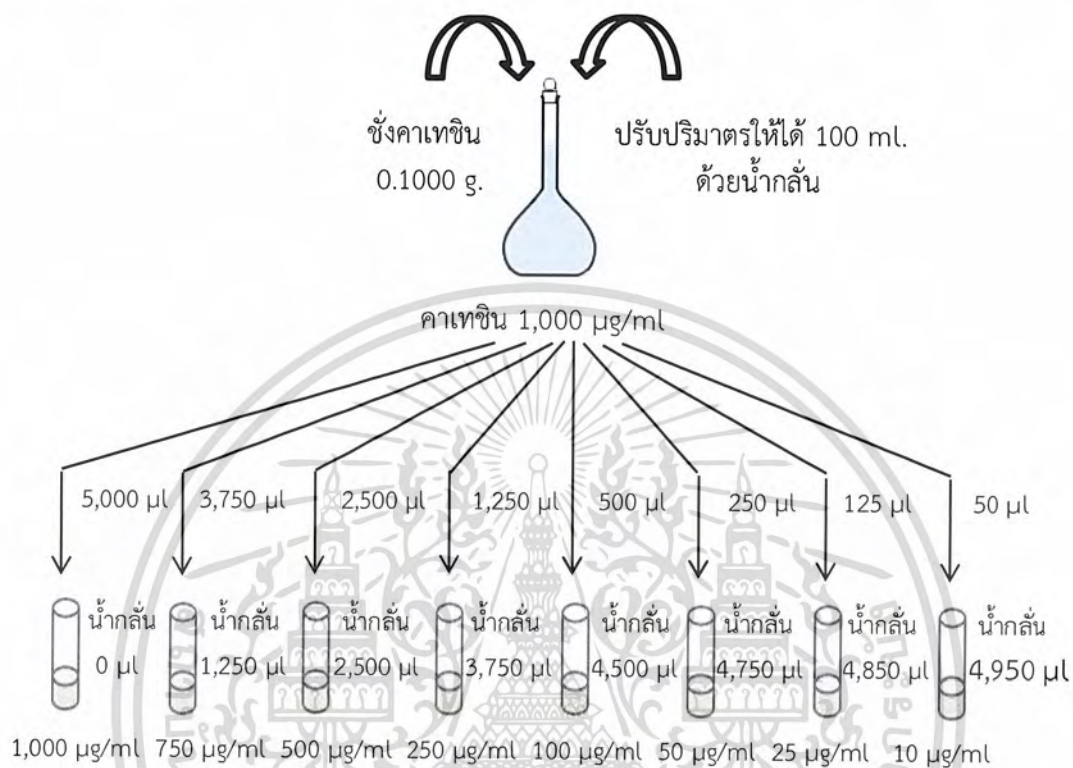


รูปที่ 13 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 สารละลายมาตรฐานคาเทชิน

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่มีความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ได้ดังนี้



รูปที่ 14 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน

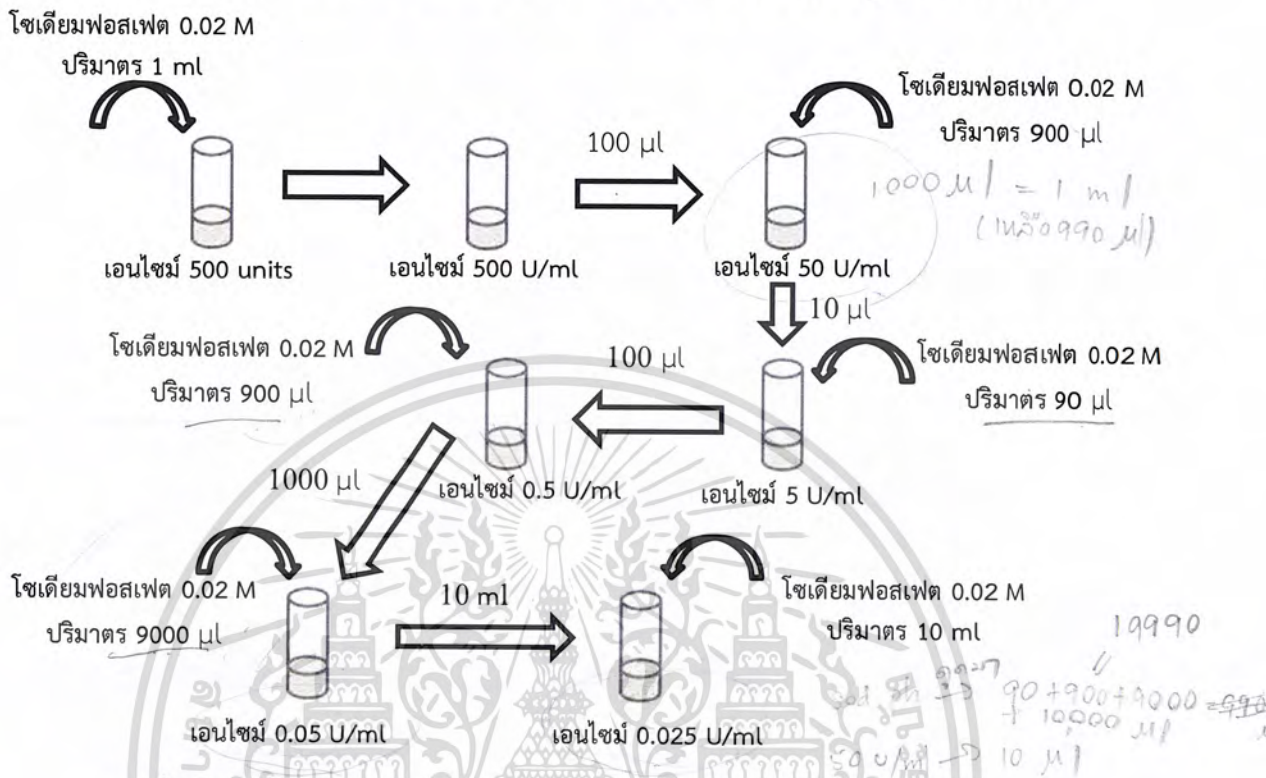
ตารางที่ 2 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของคาเทชิน (µg/ml)	ปริมาตรของคาเทชิน (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของคาเทชินในหลอดทดลอง (µg/ml)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,875	25
1,000	50	4,950	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

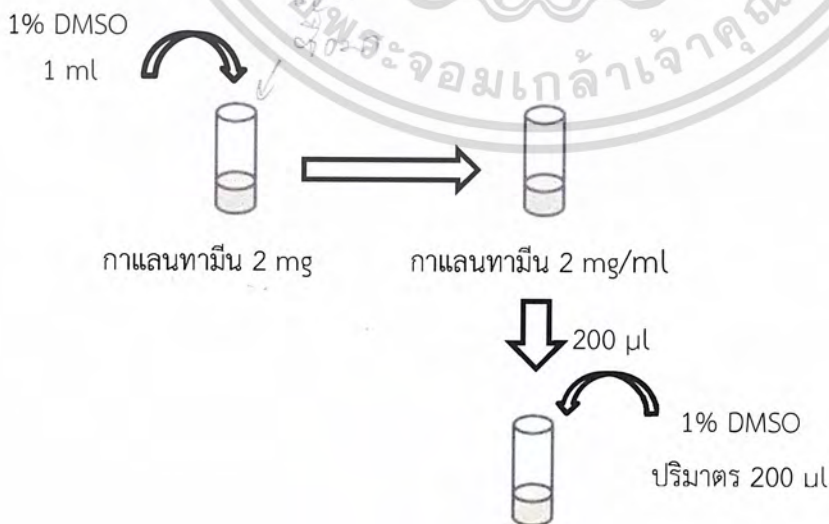
7.1 การเตรียมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 15 (ข) การเตรียมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

7.2 การเตรียมสารกาแลนทามีน

ทำการเตรียมสารกาแลนทามีนความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในห้องปฏิบัติการ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กาแลนทามีน 0.1 mg/ml

รูปที่ 16 (ข) การเตรียมสารกาแลนทามีนความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

7.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์

Stock A : มวลโมเลกุลของสาร Na_2HPO_4 เท่ากับ 141.96 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลาย 1 โมล ต้องชั่งสาร Na_2HPO_4 เท่ากับ	141.96 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลาย 0.02 โมล ต้องชั่งสาร Na_2HPO_4 เท่ากับ	$0.02 \times 141.96 = 2.8392$ กรัม
ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Na_2HPO_4 เท่ากับ	2.8392 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Na_2HPO_4 เท่ากับ	0.2839 กรัม



รูปที่ 17 (ข) การเตรียม Stock A

Stock B : มวลโมเลกุลของสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 156.01 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลาย 1 โมล ต้องชั่งสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ	156.01 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลาย 0.02 โมล ต้องชั่งสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ	$0.02 \times 156.01 = 3.1202$ กรัม
ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ	3.1202 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ	0.3120 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์อื่น การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ชั่ง $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.3120 g.



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 ml.

รูปที่ 18 (ข) การเตรียม Stock B

จากนั้นทำการปรับพีเอช ให้ได้ 7.0 โดยทำการเติม Stock B ลงใน Stock A จนได้ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 จะได้สารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 แล้วเติมสาร Bovine serum albumin ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

7.4 การเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0

จากมวลโมเลกุลของสาร Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อโมล
ต้องการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ หรือ 50 มิลลิโมลต่อลิตร
เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl 121.14 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลายความเข้มข้น 50×10^{-3} โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl $121.14 \times 50 \times 10^{-3}$ เท่ากับ 6.0570 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยการชั่งสาร Tris-HCl เท่ากับ 6.0570 กรัม ถ้าเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Tris-HCl เท่ากับ 0.6057 กรัม ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



ชั่ง Tris-HCl 0.6057 g.



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 ml.
ปรับ pH ให้ได้ 8.0

รูปที่ 19 (ข) การเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.5 การเตรียมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB)

ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์

มวลโมเลกุลของสาร 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) เท่ากับ 396.35 กรัมต่อโมล

ต้องการเตรียมสารละลาย DTNB ที่มีความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมล หรือ 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร DTNB 396.35 กรัม

ถ้า เตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.3×10^{-3} โมลาร์ ต้องใช้สาร DTNB $0.3 \times 10^{-3} \times 396.35$

เท่ากับ 0.1189 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร DTNB เท่ากับ 0.1189 กรัม ถ้าเตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร DTNB เท่ากับ 0.0119 กรัม ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



รูปที่ 20 (ข) การเตรียมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์

7.6 การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7

จากมวลโมเลกุลของสาร $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 156.01 กรัมต่อโมล

ต้องการเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

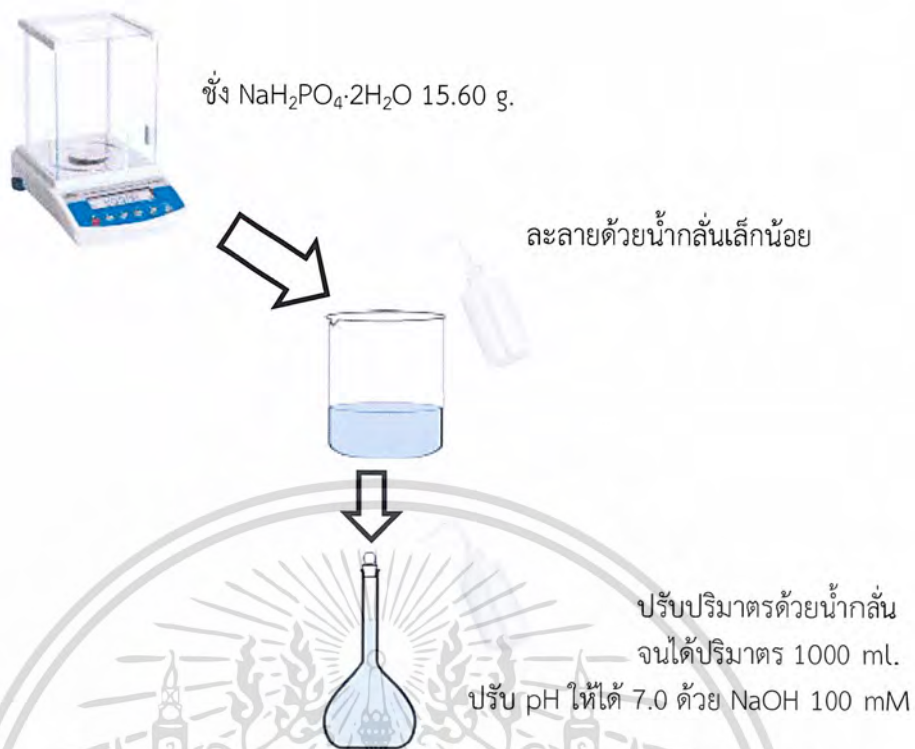
เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 156.01 กรัม

ถ้า เตรียมสารละลายความเข้มข้น 100×10^{-3} โมลาร์ ต้องใช้สาร $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $100 \times 10^{-3} \times 156.01$

เท่ากับ 15.60 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 15.60 กรัม ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7

7.7 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล

ต้องการเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร NaOH 40 กรัม

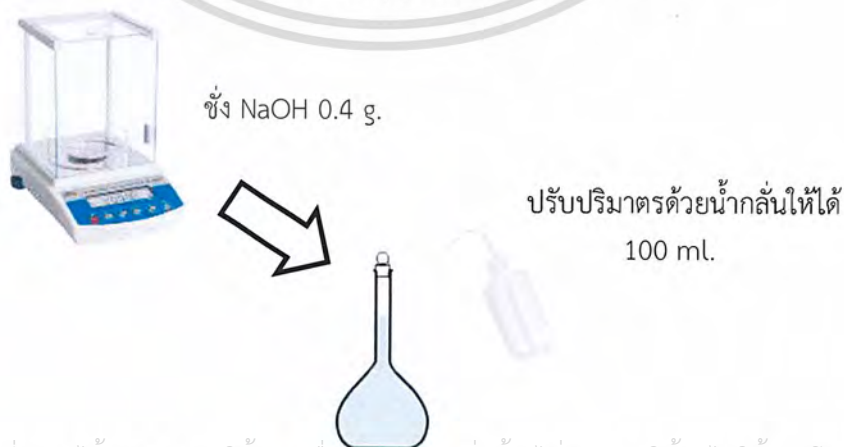
ถ้า เตรียมสารละลายความเข้มข้น 100×10^{-3} โมลาร์ ต้องใช้สาร NaOH $100 \times 10^{-3} \times 40$

เท่ากับ 4 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร

NaOH เท่ากับ 4 กรัม ถ้าเตรียมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100

มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร NaOH เท่ากับ 0.4 กรัม ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 22 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

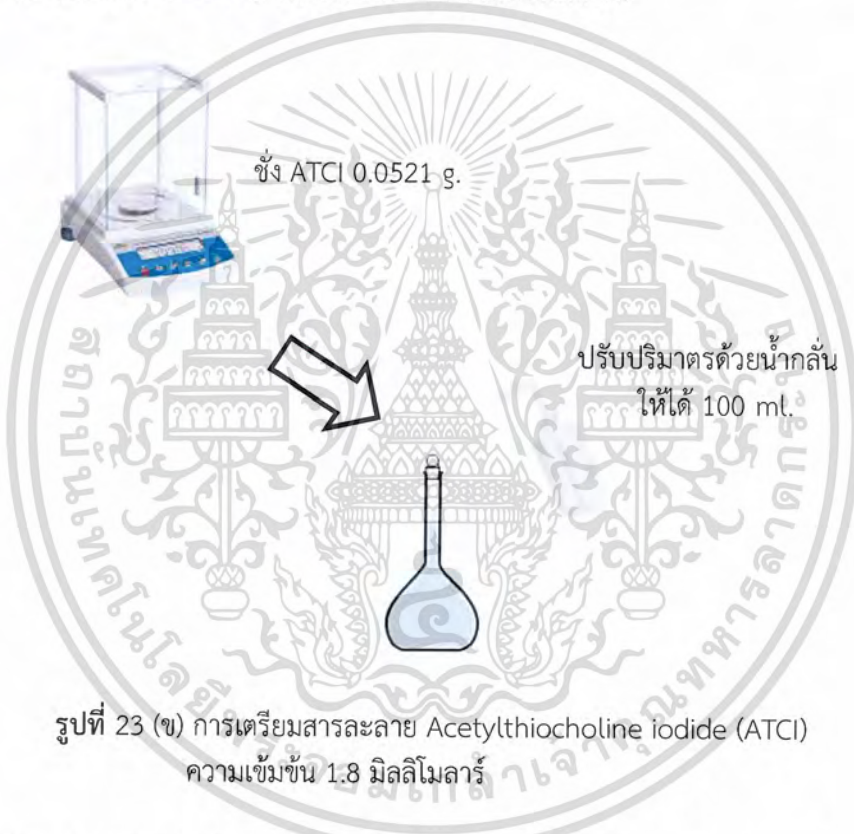
7.8 การเตรียมสารละลาย Acetylthiocholine iodide (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสาร Acetylthiocholine iodide (ATCI) เท่ากับ 289.18 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย ATCI ที่มีความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ หรือ 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1	โมลาร์ ต้องใช้สาร ATCI	289.18 กรัม
ถ้าเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.8×10^{-3} โมลาร์	ต้องใช้สาร ATCI	$1.8 \times 10^{-3} \times 289.18$

เท่ากับ 0.5210 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมสารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร ATCI เท่ากับ 0.5210 กรัม ถ้าเตรียมสารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร ATCI เท่ากับ 0.0521 กรัม ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



8. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากผักและผลไม้ โดยวิธี Alpha-amylase inhibition

8.1 สารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร (1% (w/v) Starch)

ในการเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งสตาร์ช 1 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 24 (ข) การเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

8.2 การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9

จากมวลโมเลกุลของสาร Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ที่มีความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือ 0.5 โมลต่อลิตร ใน สารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl 121.14 กรัม ถ้าเตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ต้องใช้สาร Tris-HCl

เท่ากับ 121.14×0.5

เท่ากับ 60.57 กรัมต่อลิตร ดังนั้น เตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Tris-HCl เท่ากับ 60.57 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวด ปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



รูปที่ 25 (ข) การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ภายใต้การศึกษาค้นคว้า ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.9 ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คิดได้ดังนี้

จากโมเลกุลของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เท่ากับ 147.02 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมลาร์ ต้องใช้สาร CaCl_2	147.02 กรัม
ถ้า เตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ต้องใช้สาร CaCl_2	147.02×0.01

เท่ากับ 1.4702 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.9 ประกอบด้วย แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรนั้น จะต้องเติมสาร CaCl_2 ปริมาณ 1.4702 กรัม แล้วเติมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร ดังรูป



รูปที่ 26 (ข) การเตรียมสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

และทำการปรับสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ซึ่งประกอบด้วย แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ที่ได้ให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 6.9 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 3 โมลาร์

8.3 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองหาสมบัติการต้านโรคเบาหวานจะใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก	เอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร	มีปริมาณโปรตีน	21	มิลลิกรัม
ดังนั้น	เอนไซม์ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร	มีปริมาณโปรตีน	$(0.47 \times 21)/1$	9.87 มิลลิกรัม

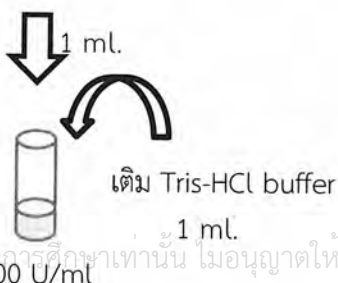
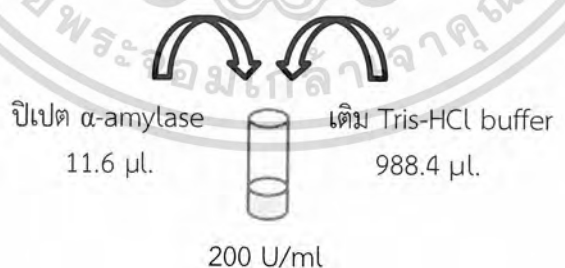
นำปริมาณโปรตีนมาคำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

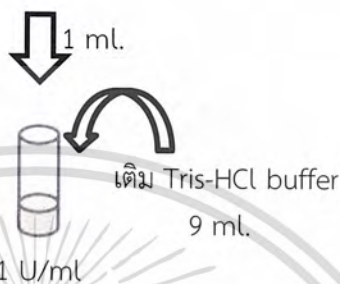
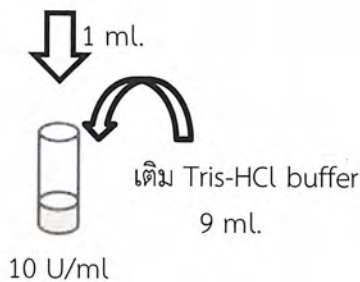
จาก ปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ 821 หน่วย
 ดังนั้น ปริมาณโปรตีน 9.87 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ $(9.87 \times 821)/1 = 8,103.27$ หน่วย
 ดังนั้น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น
 เท่ากับ 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร เท่ากับความเข้มข้น 8,103.27 หน่วย
 ต่อมิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 1 หน่วยต่อมิลลิลิตรโดยตรง
 เป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆแล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 1 หน่วย
 ต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 200 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีคำนวณและวิธี
 เตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 8,103.27 หน่วย มีปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร
 ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 200 หน่วย มีปริมาตร $(200 \times 0.47)/8,103.27 = 0.0116$ มิลลิลิตร
 หรือ = 11.6 ไมโครลิตร

ดังนั้นทำการปิเปตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาตร 11.6 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
 เต็มสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์
 ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 988.4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้เอนไซม์แอลฟา-
 อะไมเลส ความเข้มข้น 200 หน่วยต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ two-fold dilution โดยทำ
 การปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1
 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เต็มสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์
 ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้
 สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ
 ten-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 100 หน่วยต่อ
 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เต็มสารละลายทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ความ
 เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 9
 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 10 หน่วยต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการ
 เจือจางด้วยวิธีดังกล่าวอีก 1 ครั้ง จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 หน่วยต่อ
 มิลลิลิตร ดังแสดงในรูป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

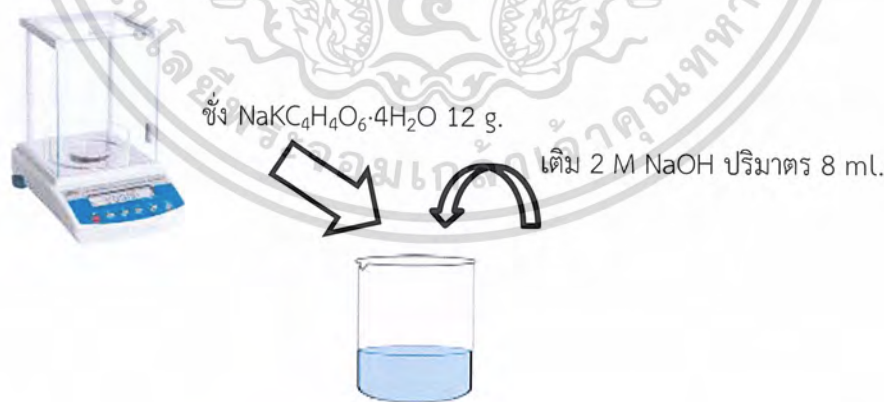


รูปที่ 27 (ข) การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 1 ยูนิตรต่อมิลลิลิตร

8.4 การเตรียม coloring reagent

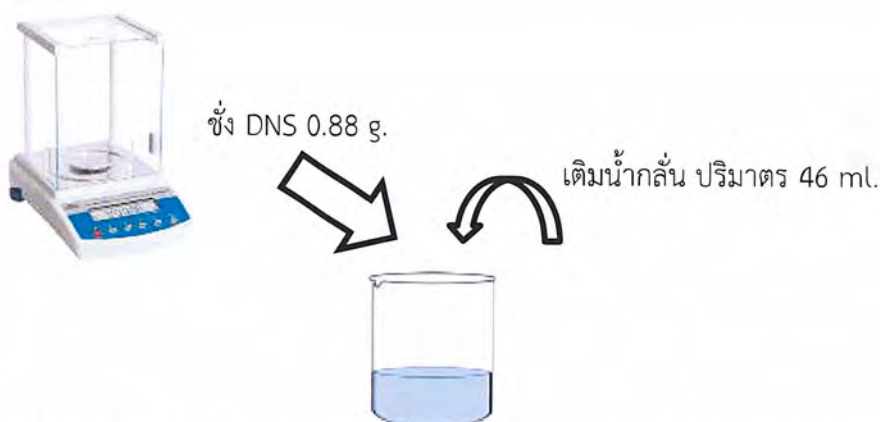
สารผสมของสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต ($\text{NaK}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) กับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS) ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีวิธีการเตรียม ดังนี้

เตรียมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต โดยการชั่งสารโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต ($\text{NaK}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ปริมาณ 12 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดังรูป



รูปที่ 28 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต ($\text{NaK}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

เตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ โดยการชั่งกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS) ปริมาณ 0.88 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดังรูป เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 29 (ข) การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์

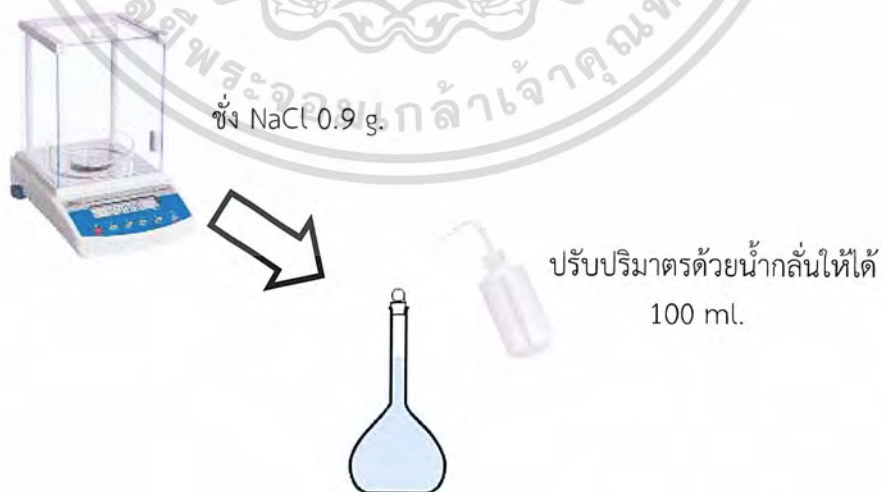
ผสมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรตไนโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ กับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เข้าด้วยกันได้เป็นสาร coloring reagent

9. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากผักและผลไม้ โดยวิธี Alpha-glucosidase inhibition

9.1 สารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ทำการเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 น้ำหนักต่อปริมาตร (0.9% (w/v) Saline)

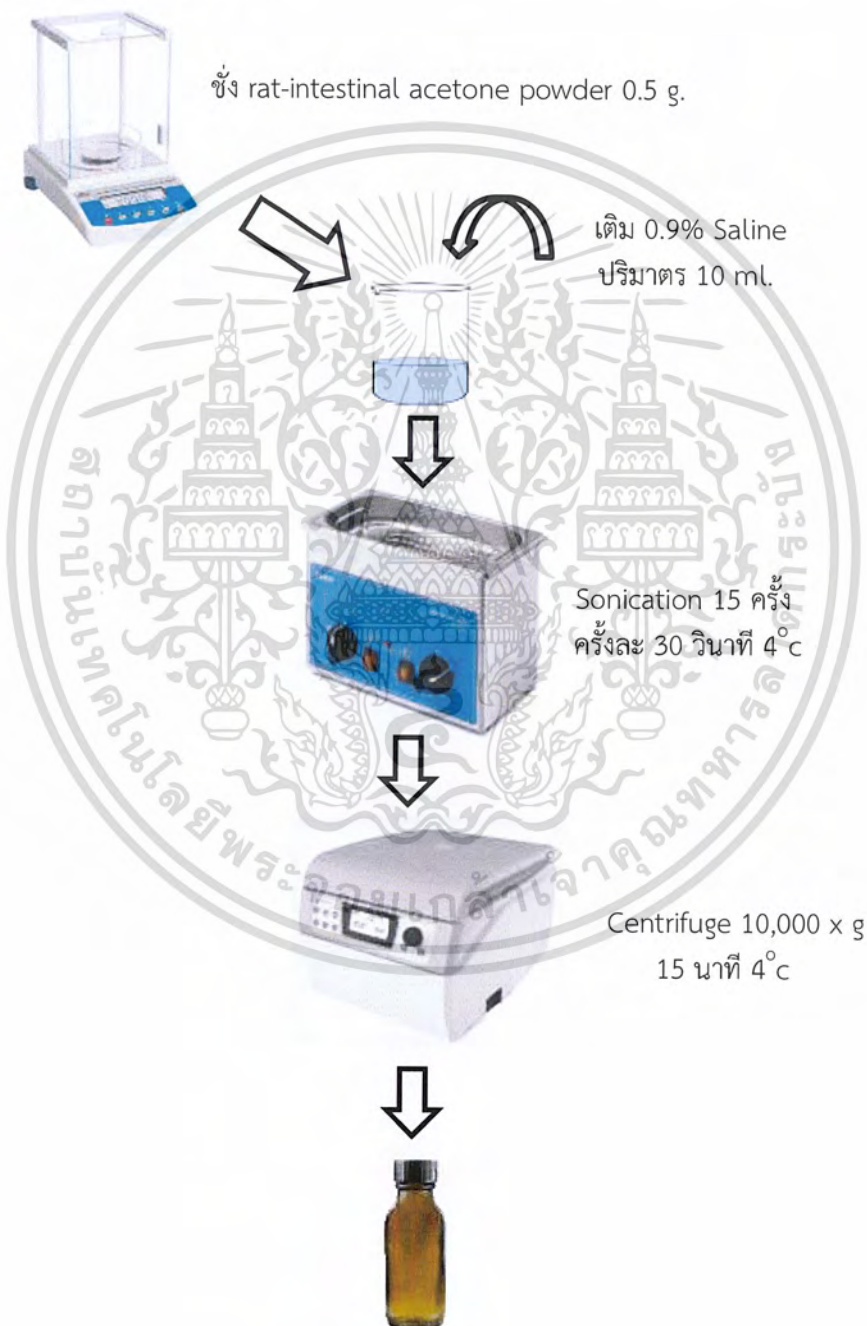
ในการเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.9 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งทำได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นรูปที่ 30 (ข) การเตรียมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase

ในการเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase เตรียมได้โดยชั่ง rat-intestinal acetone powder 0.5 กรัม แล้วเติมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ลงไป ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป sonication 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 แร่ง g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งมีวิธีเตรียมได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสาร **รูปที่ 31 (ข) การเตรียมสารละลายเอนไซม์ rat-intestinal α -glucosidase** ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.3 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9

Stock A : ชั่งสาร NaH_2PO_4 ปริมาณ 0.6899 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร



ชั่ง NaH_2PO_4 0.6899 g.



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 ml.

รูปที่ 32 (ข) การเตรียม Stock A

Stock B : ชั่งสาร Na_2HPO_4 ปริมาณ 0.7098 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร



ชั่ง Na_2HPO_4 0.7098 g.



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 ml.

รูปที่ 33 (ข) การเตรียม Stock B

เมื่อทำการเตรียมสารละลาย Stock A และ B แล้วให้ทำการผสมสารละลายทั้งสองชนิดในสัดส่วนดังตารางที่ 6 (ข) เพื่อให้ได้ pH ที่ต้องการ (ในที่นี้ต้องการสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ pH \approx 6.9) จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ข) ปริมาณของสารละลาย Stock A และ Stock B ที่ใช้ในการเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ค่า pH	ปริมาตร Stock A (มิลลิลิตร)	ปริมาตร Stock B (มิลลิลิตร)
6.8	51.0	49.0
6.9	45.0	55.0
7.0	39.0	61.0
7.1	33.0	67.0

9.4 การเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9

ทำการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ คิดได้ดังนี้

น้ำหนักโมเลกุล *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside เท่ากับ 301.30 กรัมต่อโมล

ใน 1 โมล มีสาร PNPG = 301.30 กรัม

ถ้า 5×10^{-3} โมล มีสาร PNPG = $(5 \times 10^{-3} \times 301.30)/1 = 1.5065$ กรัม

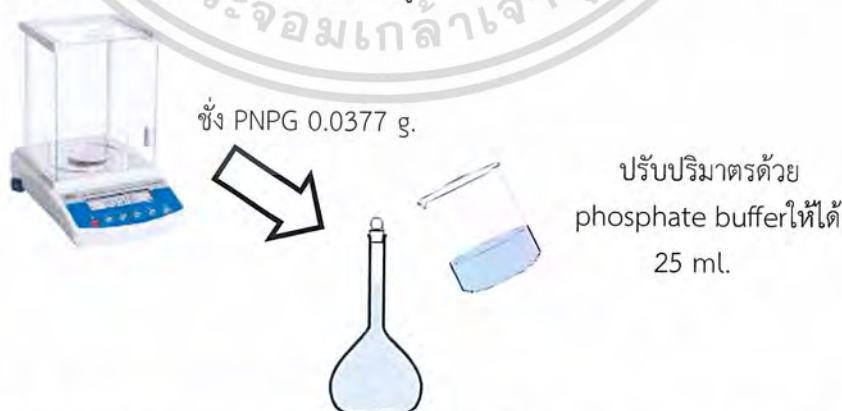
ทำการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คิดได้ดังนี้

จากสารละลาย ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะมีสาร PNPG = 1.5065 กรัม

ถ้าเตรียม ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะมีสาร PNPG = $(25 \times 1.5065)/1,000$ กรัม

เท่ากับ 0.0377 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เตรียมได้โดยชั่งสาร *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside ปริมาณ 0.0377 กรัม แล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9 ลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9 ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ดังรูป



รูปที่ 34 (ข) การเตรียมสารละลาย *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG)

ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

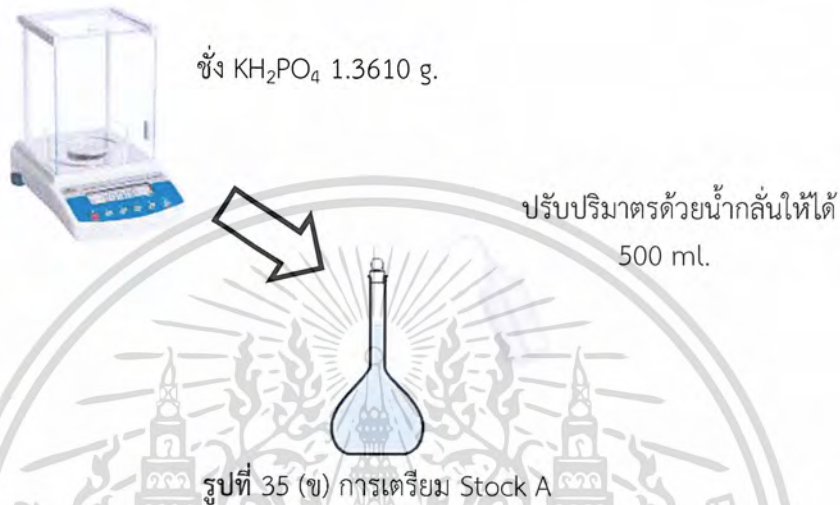
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.9

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

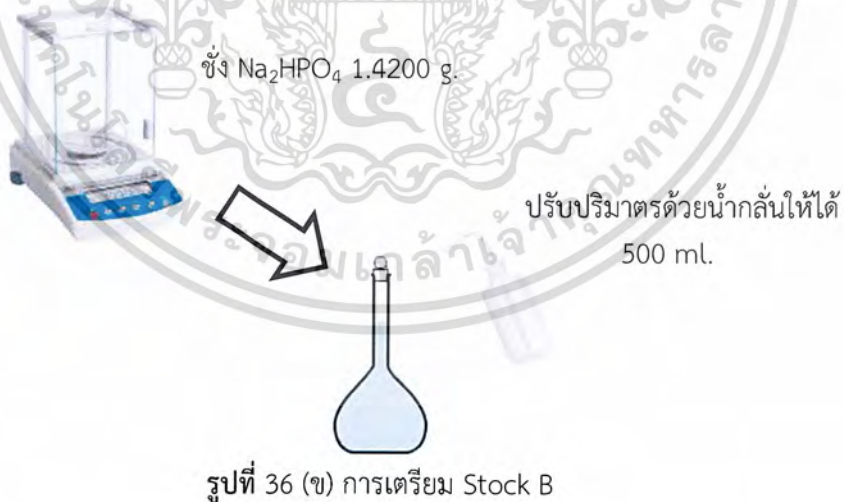
10. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพสเฟตคาร์ดิที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

10.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0

Stock A : ชั่งสาร KH_2PO_4 ปริมาณ 1.3610 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร



Stock B : ชั่งสาร Na_2HPO_4 ปริมาณ 1.4200 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร



เมื่อทำการเตรียมสารละลาย Stock A และ B แล้วให้ทำการผสมสารละลายทั้งสองชนิดในสัดส่วนดังตารางที่ 6 (ข) เพื่อให้ได้ pH ที่ต้องการ (ในที่นี้ต้องการสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ pH \approx 7.0) จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 (ข) ปริมาณของสารละลาย Stock A และ Stock B ที่ใช้ในการเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ค่า pH	ปริมาตร Stock A (มิลลิลิตร)	ปริมาตร Stock B (มิลลิลิตร)
6.0	26.32	3.69
7.0	4.80	25.20
7.6	3.90	26.10
8.0	1.59	28.41

10.2 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์นั้นจะใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน 21 มิลลิกรัม
 ดังนั้น เอนไซม์ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน $(0.47 \times 21)/1 = 9.87$ มิลลิกรัม
 นำปริมาณโปรตีนมาคำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร

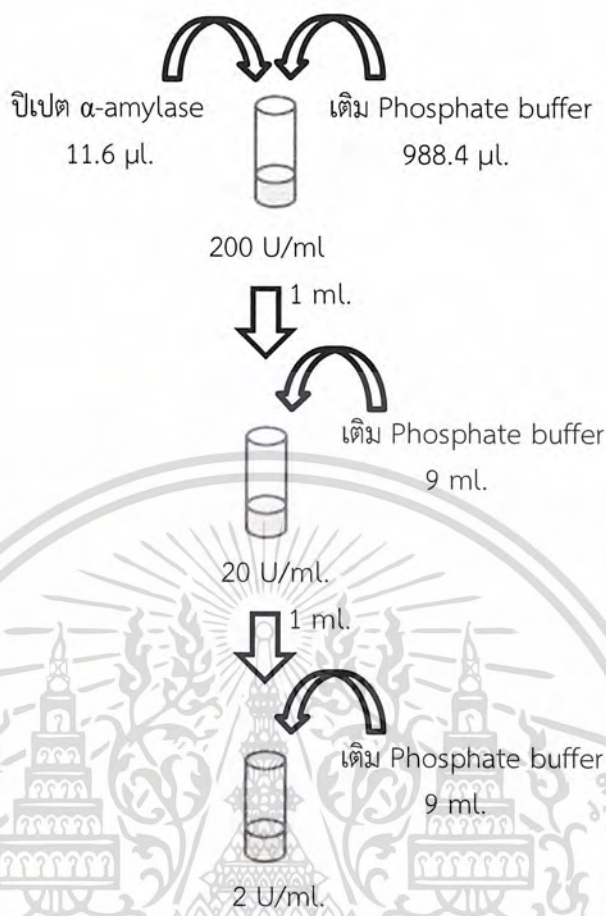
จาก ปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ 821 ยูนิต
 ดังนั้น ปริมาณโปรตีน 9.87 มิลลิกรัม มีเนื้อสารของเอนไซม์ $(9.87 \times 821)/1 = 8,103.27$ ยูนิต
 ดังนั้น เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น

21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร เท่ากับความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรโดยตรงเป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆแล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิต มีปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร
 ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 200 ยูนิต มีปริมาตร $(200 \times 0.47)/8,103.27 = 0.0116$ มิลลิลิตร
 หรือ = 11.6 ไมโครลิตร

ดังนั้นทำการปิเปตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสปริมาตร 11.6 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 988.4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ ten-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธีดังกล่าวอีก 1 ครั้ง จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 37 (ข) การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

10.3 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer)

การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ทำได้โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.2 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟตไดไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 8.25 กรัม โซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (NaH_2PO_4) 14.35 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.1 กรัม และแมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.18 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร และทำการปรับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ที่ได้ให้มีพีเอชเท่ากับ 1 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลาร์

10.4 การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

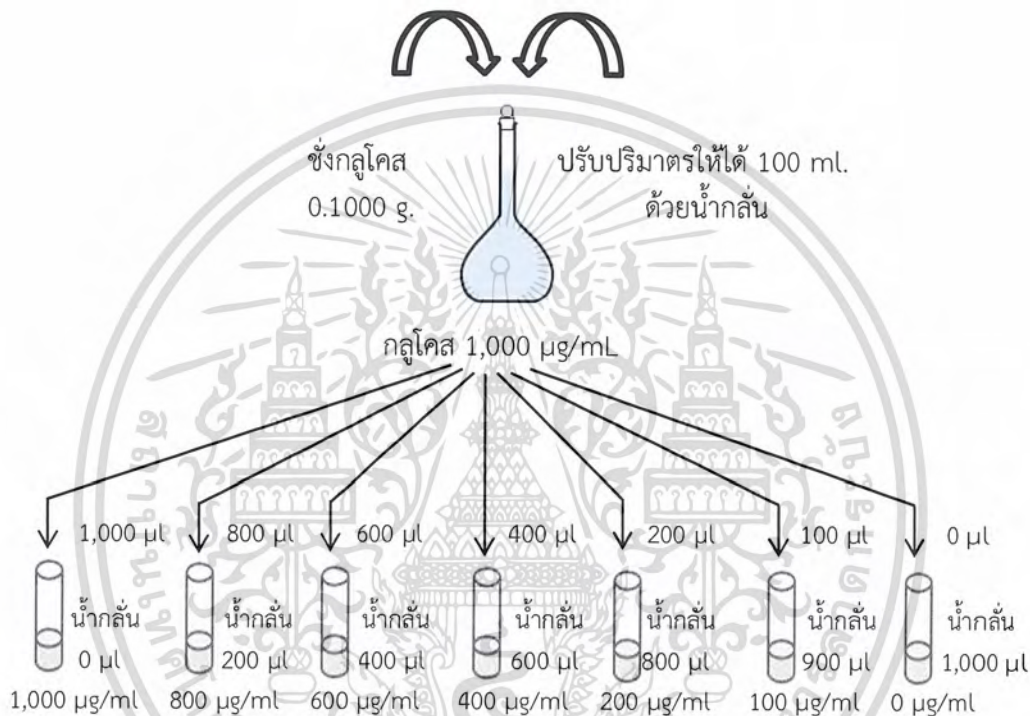
การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ทำได้โดยชั่งสาร DNS ปริมาณ 10 กรัม ลงในบีกเกอร์จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยคนให้ละลายโดยใช้เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (hot plate stirrer) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายหมดแล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นเติมสารโซเดียมโพแทสเซียมเทอร์ต ปริมาณ 300 กรัม ลงไปแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

10.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200, 100 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 38 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

ตารางที่ 5 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (µg/ml)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (µg/ml)
1,000	1,000	0	1,000
1,000	800	200	800
1,000	600	400	600
1,000	400	600	400
1,000	200	800	200
1,000	100	900	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น 1,000 มอนอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.6 สารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5

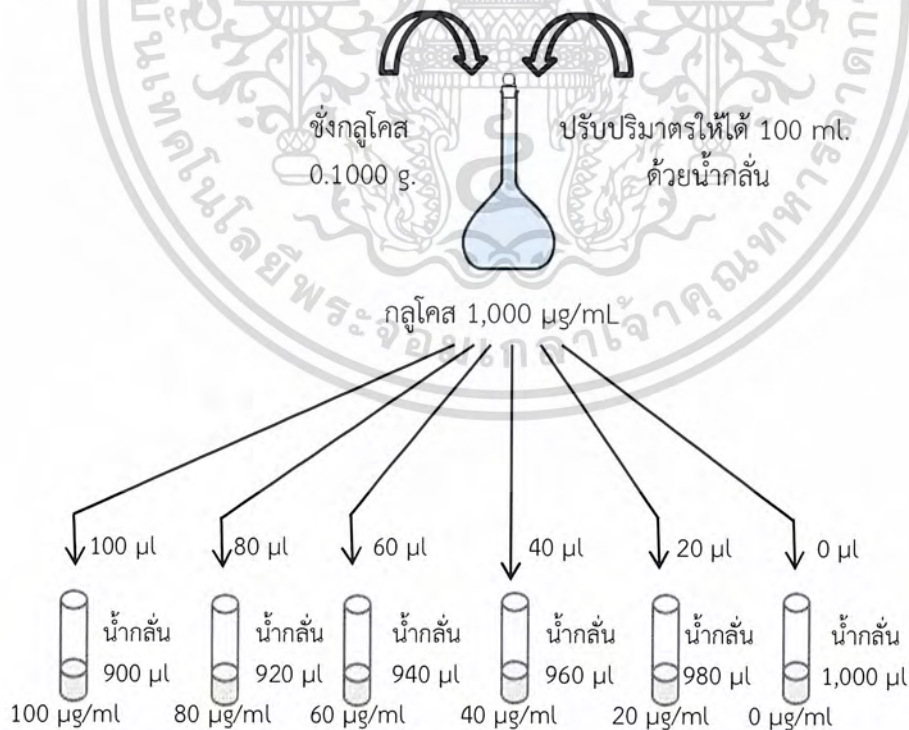
ทำการเตรียมสารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เตรียมได้โดยชั่งสารฟินอลปริมาณ 12.5 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 39 (ข) การเตรียมสารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5

10.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 40 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารละลายกลูโคส ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาตรของ สารละลายกลูโคส (μl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (μl)	ความเข้มข้นสุดท้าย ของกลูโคสในหลอด ทดลอง ($\mu\text{g/ml}$)
1,000	100	900	100
1,000	80	920	80
1,000	60	940	60
1,000	40	960	40
1,000	20	980	20
1,000	0	1,000	0

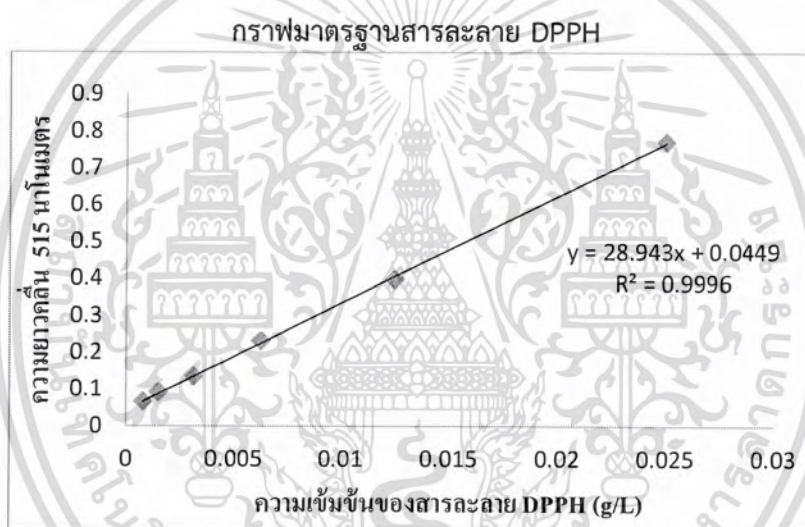


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค การคำนวณ

1. การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical โดยใช้สารละลายมาตรฐาน DPPH ทำการเจือจางสารละลายมาตรฐาน DPPH ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรและความเข้มข้นของ DPPH ดังนี้



รูปที่ 1 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ในหน่วยกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (ซ้ำ1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือสามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$[\%DPPH_{REM}] = ([DPPH]_T / [DPPH]_{T=0}) \times 100$$

เมื่อ $[DPPH]_T$ คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลาใดๆ

$[DPPH]_{T=0}$ คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง 1.1 การคำนวณหาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH

ความเข้มข้น ของสารสกัด ($\mu\text{g/ml}$)	เปลือกมังคุดที่เวลา 0 นาที O.D. ₅₁₅	[DPPH]
1000	0.524	0.016553
500	0.535	0.016933
100	0.643	0.020665
10	0.696	0.022496
1	0.699	0.0226

สารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า O.D.₅₁₅ เท่ากับ 0.524 จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 28.943 + 0.0449x$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH
y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า

$$x = \frac{0.524 - 0.0449}{28.943}$$

$$= 0.016553 \text{ mg}$$

ความเข้มข้น ของสารสกัด ($\mu\text{g/ml}$)	เปลือกมังคุดที่เวลา 30 นาที O.D. ₅₁₅	[DPPH]
1000	0.089	0.001524
500	0.108	0.00218
100	0.556	0.017659
10	0.669	0.021563
1	0.672	0.021667

สารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า O.D.₅₁₅ เท่ากับ 0.089 จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 28.943 + 0.0449x$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH
y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า

$$x = \frac{0.089 - 0.0449}{28.943}$$

$$= 0.001524 \text{ mg}$$

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที สามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

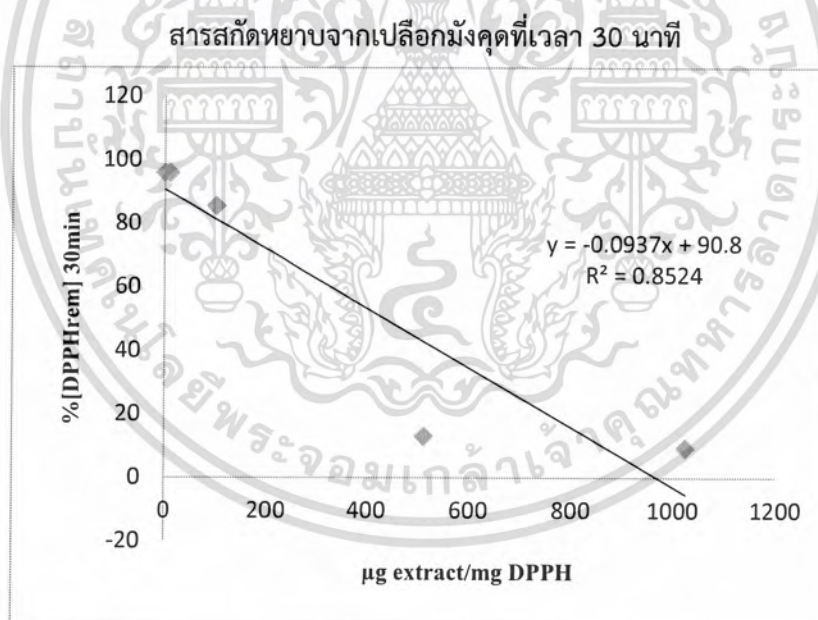
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$[\%DPPH_{REM}] = ([DPPH]_T / [DPPH]_{T=0}) \times 100$$

$\mu\text{g extract/mg DPPH}$	$[DPPH]$
1025.641	9.2067
512.8205	12.8749
102.5641	85.4539
10.2564	95.8532
1.0256	95.8722

$$\begin{aligned} [\%DPPH_{REM}] &= (0.001524 / 0.016553) \times 100 \\ &= 9.2067 \text{ mg} \end{aligned}$$

จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH เพื่อคำนวณหาค่า effective concentration (EC_{50}) และค่า antiradical efficiency (AE) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$ จากกราฟสมการเส้นตรง



รูปที่ 2 (ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH (ซ้ำที่ 1)

การคำนวณหาค่า EC_{50} เท่ากับ 50

จากสมการเส้นตรงของกราฟค่าความเข้มข้นของ DPPH ณ 30 นาที

$$y = -0.0937x + 90.8$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า} \quad x &= \frac{50-90.8}{-0.0937} \\ &= 435.43 \mu\text{g extract /mg DPPH} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดมีความสามารถกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical มีค่า EC_{50} เท่ากับ 435.43 ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

2. การคำนวณสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์ริซัลเฟตจะทำการทดลองตามวิธีการเดียวกับสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆจะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอร์ริซัลเฟต ดังนี้

สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟตเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต	3 มิลลิโมล
ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต	$\frac{0.1 \text{ ml} \times 3 \text{ mmol}}{1,000 \text{ ml}}$
		= 0.0003 มิลลิโมล

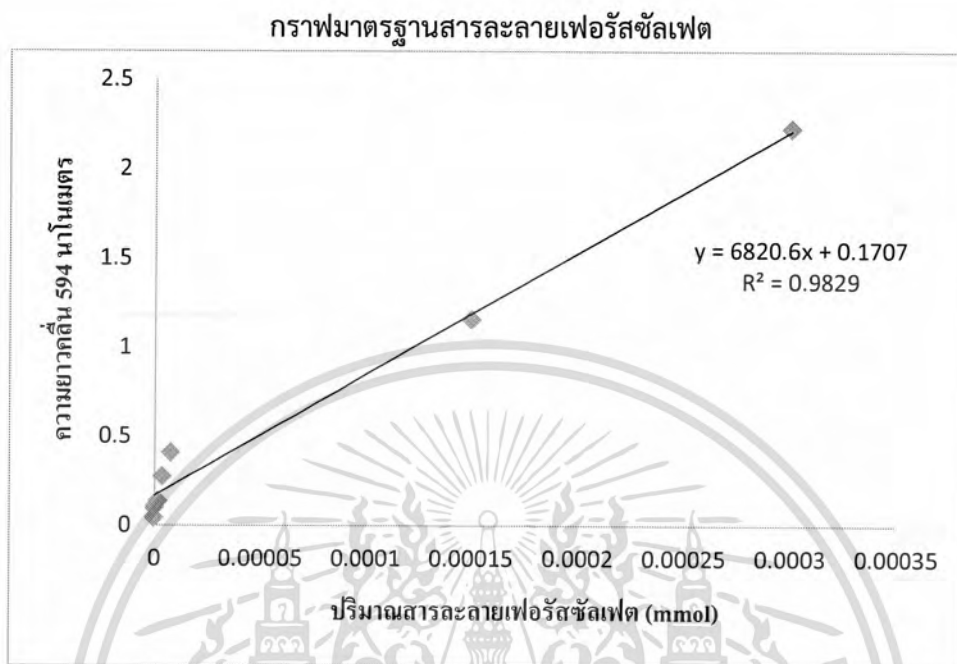
สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟตเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต	3 มิลลิโมล
ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต	$\frac{0.1 \text{ ml} \times 1.5 \text{ mmol}}{1,000 \text{ ml}}$
		= 0.00015 มิลลิโมล

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟตอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.000075, 0.0000375, 0.0000188, 0.0000094 และ 0.0000047 มิลลิโมลตามลำดับ มาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอร์ริซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมลได้ดังนี้



รูปที่ 3 (ค) กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอร์ริซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร และปริมาณสารละลายเฟอร์ริซัลเฟต (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่างที่ 2.1 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากมะขามป้อม โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ของสารสกัดมะขามป้อม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟต

สารสกัดมะขามป้อม มีค่า A_{594} เท่ากับ 2.533

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอร์ริซัลเฟต

$$y = 6820.6x + 0.1707$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า} \quad 2.533 &= 6820.6x + 0.1707 \\ x &= \frac{2.533 - 0.1707}{6820.6} \\ &= 3.46 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสาร สกัด เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ในสารสกัด 0.1 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 3.46×10^{-4} mmol
 ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ $\frac{3.46 \times 10^{-4}}{0.1}$ mmol
 ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ $\frac{3.46 \times 10^{-4}}{0.1} \times 1,000$
 เท่ากับ 3.46 mmol/g extract

เพราะฉะนั้น สารสกัดมะขามป้อมมีปริมาณเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 3.46 มิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อ กรัมของสารสกัด

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจาก ผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการ วิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากผักและผลไม้ ซึ่ง ในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก ดังนี้

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{1,000 \mu\text{g} \times 0.1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 100 \mu\text{g}$$

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

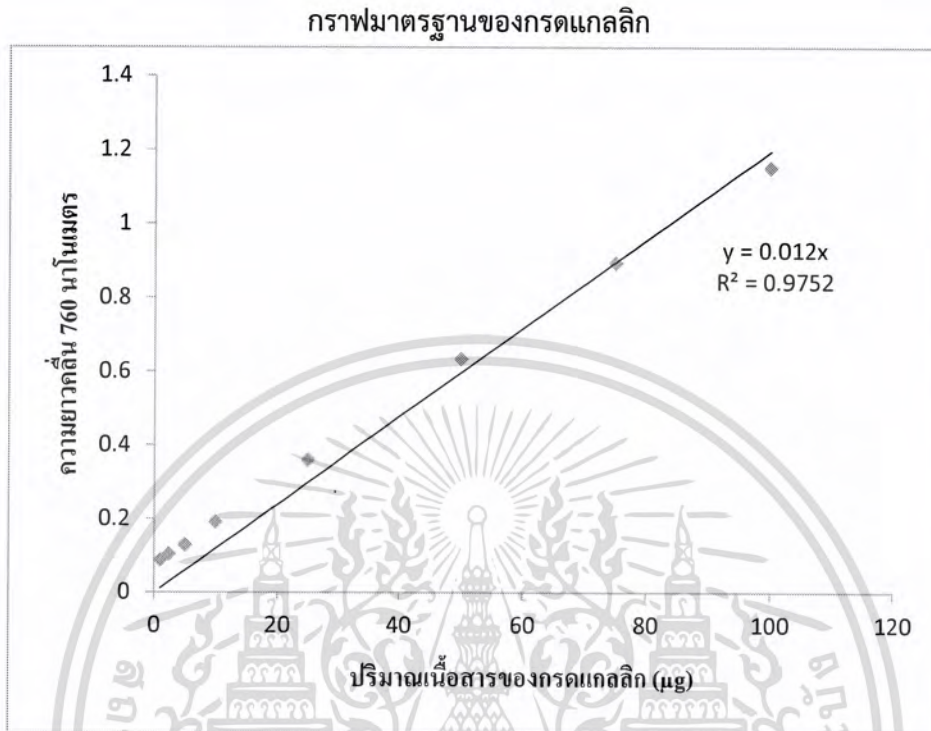
ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750 \mu\text{g} \times 0.1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 75 \mu\text{g}$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรด แกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมา เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 4 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่าง 3.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม (ซ้ำที่ 1) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากมะขามป้อมแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากมะขามป้อม มีค่า O.D.₇₆₀ เท่ากับ 0.507
จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.012x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.507 = 0.012x$$

$$x = \frac{0.507}{0.012}$$

$$x = 42.25 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 42.25 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก	เท่ากับ $\frac{42.25 \mu\text{g} \times 1 \text{ mg}}{0.1 \text{ mg}}$
	เท่ากับ 422.50 μg GAE
ดังนั้น สารสกัด 1 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก	เท่ากับ $\frac{422.50 \text{ mg GAE}}{1,000}$
ถ้า สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก	เท่ากับ $\frac{422.50 \times 1,000}{1,000}$
(1 g)	เท่ากับ 422.50 mg GAE

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 422.50 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากผักและผลไม้ ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของคาเทชินดังนี้

สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{1,000 \mu\text{g} \times 0.25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 250 \mu\text{g}$$

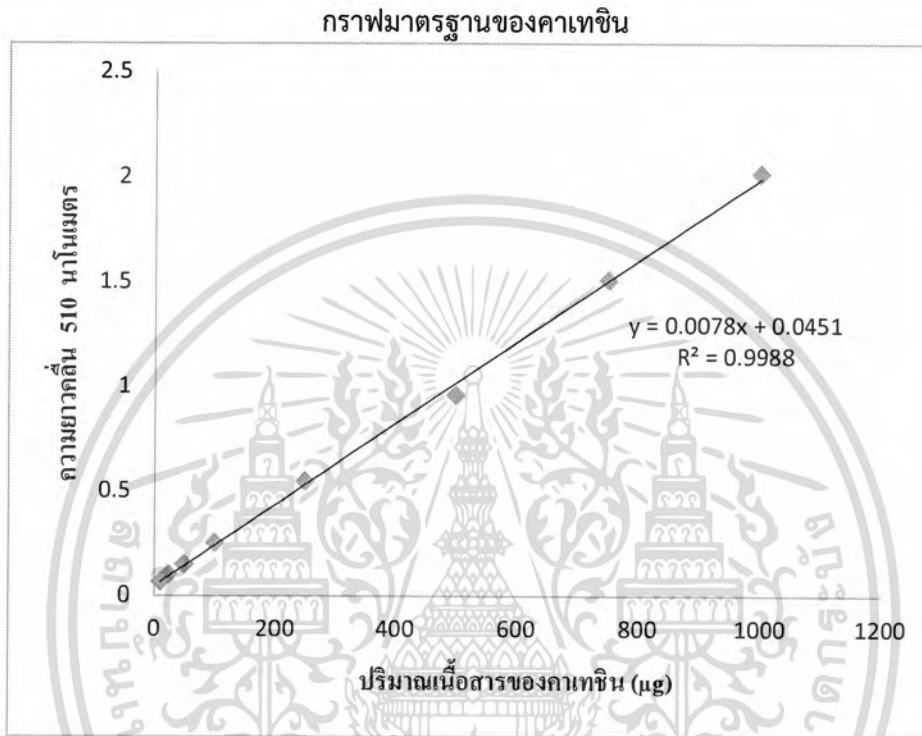
สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{750 \mu\text{g} \times 0.25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 187.5 \mu\text{g}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของคาเทชินอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 250, 187.5, 125, 62.5, 25, 12.5, 6.25, และ 2.5 ไมโครลิตรตามลำดับนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 5 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่าง 4.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานคาเทชิน ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า $O.D._{510}$ เท่ากับ 0.725

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน

$$y = 0.0078x + 0.0451$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase} = 100 \times (0.554 - 0.092) / 0.554$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase} = 83.39$$

เพราะฉะนั้น กาเลนทามีนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 83.39

6. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

ตัวอย่าง การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารสกัดหยาบจากใบย่านาง คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของหลอดควบคุม และหลอดสารสกัดหยาบจากใบย่านางแทนค่าลงในสูตรหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ดังนี้

หลอด	O.D. ₅₄₀
ควบคุม (control)	1.163
สารสกัดหยาบจากใบย่านาง (ความเข้มข้น 1 mg/ml)	0.253
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 100 \times (1.163 - 0.253) / 1.163$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-amylase} = 78.25$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากใบย่านางมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เท่ากับ 78.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

ตัวอย่าง การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบจากหม่อน คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรของหลอดควบคุม และหลอดสารสกัดหยาบจากหม่อนแทนค่าลงในสูตรหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ดังนี้

หลอด	O.D. ₄₀₅
ควบคุม (control)	2.582
สารสกัดหยาบจากหม่อน (ความเข้มข้น 1 mg/ml)	1.058
Blank	0

สูตรการคำนวณ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 100 \times (2.582 - 1.058) / 2.582$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ } \alpha\text{-glucosidase} = 59.02$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากหม่อนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับ 59.02

8. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) ซึ่งในการทดลองนั้น จะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่เท่ากับ

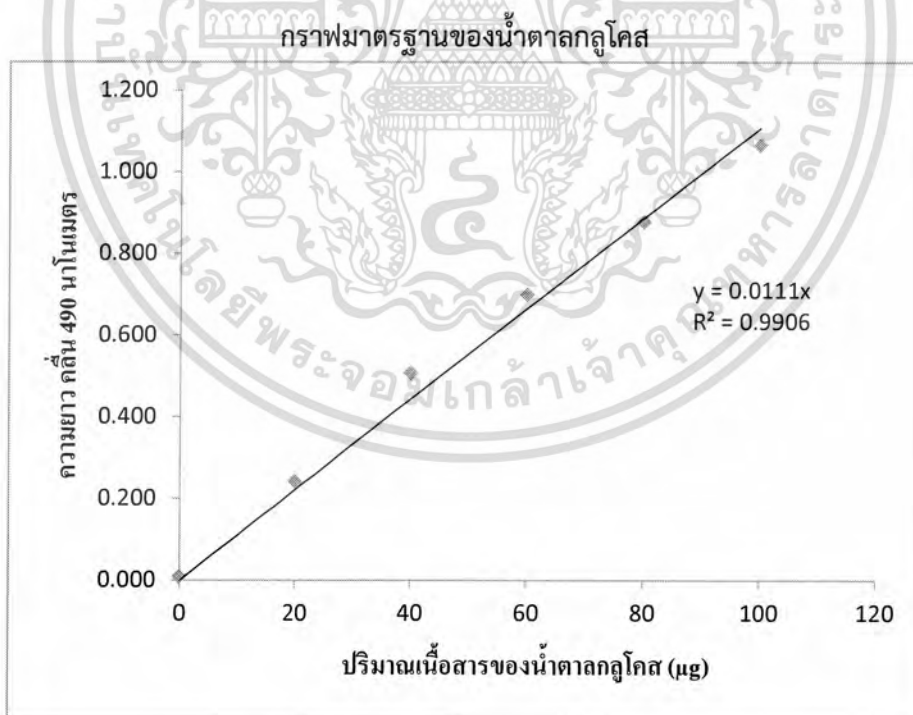
$$\frac{100 \mu\text{g} \times 1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 100 \mu\text{g}$$

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่เท่ากับ

$$\frac{80 \mu\text{g} \times 1 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 80 \mu\text{g}$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 6 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หา

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารสกัด (เข้าที่ 1)
เอกสารนี้เป็นเอกสารของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ อัญญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 8.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (หลังการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า O.D.490 เท่ากับ 0.699 (ที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0111x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0111x$$

$$0.699 = 0.0111x$$

$$x = 0.699 / 0.0111$$

$$x = 60.27 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากผักและผลไม้ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเจือจาง 10 เท่า ก่อนการวัด (เพื่อให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2 ถึง 0.8) โดยปีเปิดสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนี้

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เท่ากับ 60.27 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{60.27 \mu\text{g} \times 1000 \text{ mg}}{0.1 \text{ mg}}$

0.1 mg

เท่ากับ 602,700 μg

หรือเท่ากับ 602,700/1,000 เท่ากับ 602.70 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 602.70 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

9. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (DNS method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Miller (1956) ซึ่งในการทดลองนั้น จะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส เท่ากับ

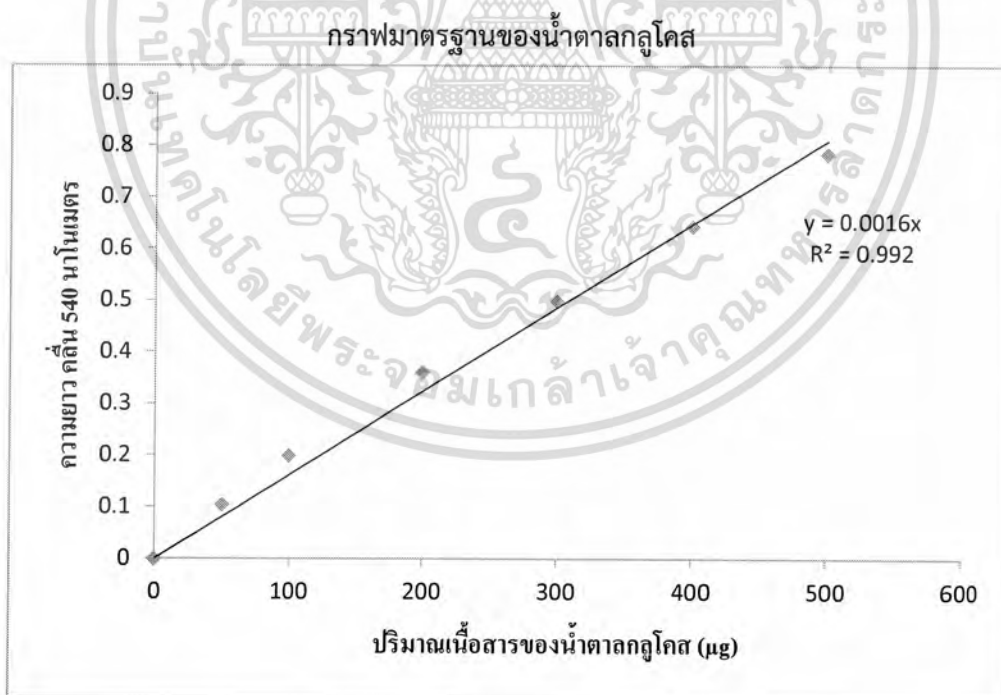
$$\frac{1,000 \mu\text{g} \times 0.5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 500 \mu\text{g}$$

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส เท่ากับ

$$\frac{800 \mu\text{g} \times 0.5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 400 \mu\text{g}$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 500, 400, 300, 200, 100 และ 50 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 7 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หา

ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในสารสกัด เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 9.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (ก่อนย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า O.D.540 เท่ากับ 0.330

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0016x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0016x$$

$$0.33 = 0.0016x$$

$$x = 0.330 / 0.0016$$

$$x = 206.25 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนี้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิกรัม เท่ากับ 206.25 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{206.25 \mu\text{g} \times 1,000 \text{ mg}}{0.5 \text{ mg}}$

เท่ากับ 412,500 μg

หรือเท่ากับ 412,500 / 1,000 เท่ากับ 412.50 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 412.50 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

10. การหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (Indigestible polysaccharide) ของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ นั้น จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลืออยู่หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 8.1) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 9.1) มาคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด
ในโยเกิร์ตโพรไบโอติก ที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	6.5400	.01732	.01000	6.4970	6.5830	6.53	6.56
ข้าวตำ	3	6.5000	.07810	.04509	6.3060	6.6940	6.45	6.59
กล้วยไข่	3	6.5233	.04163	.02404	6.4199	6.6268	6.49	6.57
กล้วยน้ำว้า	3	6.4967	.02082	.01202	6.4450	6.5484	6.48	6.52
สับปะรด	3	6.4667	.02082	.01202	6.4150	6.5184	6.45	6.49
อินทูลิน	3	6.5267	.03215	.01856	6.4468	6.6065	6.49	6.55
ชุดควบคุม	3	6.5133	.05859	.03383	6.3678	6.6589	6.47	6.58
Total	21	6.5095	.04330	.00945	6.4898	6.5292	6.45	6.59

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.011	6	.002	.915	.512
Within Groups	.027	14	.002		
Total	.037	20			

Homogeneous Subsets

Growth

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Duncan ^a สับปะรด	3	6.4667	
กล้วยน้ำว้า	3	6.4967	
ข้าวตำ	3	6.5000	
ชุดควบคุม	3	6.5133	
กล้วยไข่	3	6.5233	
อินทูลิน	3	6.5267	
เม็ดบัว	3	6.5400	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ Sig. ใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. เจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด
ในโยเกิร์ตโพรไบโอติก ที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	8.0133	.01155	.00667	7.9846	8.0420	8.00	8.02
ข้าวตำ	3	7.9200	.05000	.02887	7.7958	8.0442	7.87	7.97
กล้วยไข่	3	8.2567	.12097	.06984	7.9562	8.5572	8.12	8.35
กล้วยน้ำว้า	3	8.1900	.10583	.06110	7.9271	8.4529	8.07	8.27
สับปะรด	3	8.2267	.08737	.05044	8.0096	8.4437	8.13	8.30
อินทูลิน	3	7.8200	.02646	.01528	7.7543	7.8857	7.79	7.84
ชุดควบคุม	3	7.8167	.04041	.02333	7.7163	7.9171	7.78	7.86
Total	21	8.0348	.19096	.04167	7.9478	8.1217	7.78	8.35

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.652	6	.109	19.806	.000
Within Groups	.077	14	.005		
Total	.729	20			

Homogeneous Subsets

Growth

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a ชุดควบคุม	3	7.8167		
อินทูลิน	3	7.8200		
ข้าวตำ	3	7.9200	7.9200	
เม็ดบัว	3		8.0133	
กล้วยน้ำว้า	3			8.1900
สับปะรด	3			8.2267
กล้วยไข่	3			8.2567
Sig.		.126	.145	.313

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด
ในโยเกิร์ตโพรไบโอติก ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	8.7800	.02646	.01528	8.7143	8.8457	8.75	8.80
ข้าวดำ	3	8.6967	.07095	.04096	8.5204	8.8729	8.62	8.76
กล้วยไข่	3	8.6533	.10066	.05812	8.4033	8.9034	8.56	8.76
กล้วยน้ำว้า	3	8.5133	.02082	.01202	8.4616	8.5650	8.49	8.53
สับปะรด	3	8.5867	.03215	.01856	8.5068	8.6665	8.55	8.61
อินทูลิน	3	8.5033	.14572	.08413	8.1414	8.8653	8.34	8.62
ชุดควบคุม	3	8.4133	.02517	.01453	8.3508	8.4758	8.39	8.44
Total	21	8.5924	.13538	.02954	8.5308	8.6540	8.34	8.80

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.288	6	.048	8.577	.000
Within Groups	.078	14	.006		
Total	.367	20			

Homogeneous Subsets

Growth

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a ชุดควบคุม	3	8.4133			
อินทูลิน	3	8.5033	8.5033		
กล้วยน้ำว้า	3	8.5133	8.5133		
สับปะรด	3		8.5867	8.5867	
กล้วยไข่	3			8.6533	8.6533
ข้าวดำ	3			8.6967	8.6967
เม็ดบัว	3				8.7800
Sig.		.142	.216	.109	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	6.2633	.01528	.00882	6.2254	6.3013	6.25	6.28
ข้าวดำ	3	6.2800	.01000	.00577	6.2552	6.3048	6.27	6.29
กล้วยไข่	3	6.1900	.02000	.01155	6.1403	6.2397	6.17	6.21
กล้วยน้ำว้า	3	6.2533	.02517	.01453	6.1908	6.3158	6.23	6.28
สับปะรด	3	5.8567	.02517	.01453	5.7942	5.9192	5.83	5.88
อินทูลิน	3	6.4533	.01528	.00882	6.4154	6.4913	6.44	6.47
ชุดควบคุม	3	6.4433	.03215	.01856	6.3635	6.5232	6.42	6.48
Total	21	6.2486	.18985	.04143	6.1622	6.3350	5.83	6.48

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.714	6	.119	255.116	.000
Within Groups	.007	14	.000		
Total	.721	20			

Homogeneous Subsets

pH

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a สับปะรด	3	5.8567			
กล้วยไข่	3		6.1900		
กล้วยน้ำว้า	3			6.2533	
เม็ดบัว	3			6.2633	
ข้าวดำ	3			6.2800	
ชุดควบคุม	3				6.4433
อินทูลิน	3				6.4533
Sig.		1.000	1.000	.173	.580

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	5.2433	.03512	.02028	5.1561	5.3306	5.21	5.28
ข้าวดำ	3	5.2700	.02646	.01528	5.2043	5.3357	5.24	5.29
กล้วยไข่	3	4.7900	.06000	.03464	4.6410	4.9390	4.73	4.85
กล้วยน้ำว้า	3	5.0200	.01732	.01000	4.9770	5.0630	5.01	5.04
สับปะรด	3	4.9767	.01155	.00667	4.9480	5.0054	4.97	4.99
อินทูลิน	3	5.6467	.01155	.00667	5.6180	5.6754	5.64	5.66
ชุดควบคุม	3	5.6700	.03000	.01732	5.5955	5.7445	5.64	5.70
Total	21	5.2310	.31832	.06946	5.0861	5.3759	4.73	5.70

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.013	6	.335	335.430	.000
Within Groups	.014	14	.001		
Total	2.027	20			

Homogeneous Subsets

pH

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a กล้วยไข่	3	4.7900			
สับปะรด	3		4.9767		
กล้วยน้ำว้า	3		5.0200		
เม็ดบัว	3			5.2433	
ข้าวดำ	3			5.2700	
อินทูลิน	3				5.6467
ชุดควบคุม	3				5.6700
Sig.		1.000	.115	.319	.381

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	4.4233	.01155	.00667	4.3946	4.4520	4.41	4.43
ข้าวตัง	3	4.5400	.01732	.01000	4.4970	4.5830	4.53	4.56
กล้วยไข่	3	3.8433	.02517	.01453	3.7808	3.9058	3.82	3.87
กล้วยน้ำว้า	3	4.0400	.03606	.02082	3.9504	4.1296	4.01	4.08
สับปะรด	3	3.9067	.03512	.02028	3.8194	3.9939	3.87	3.94
อินทูลิน	3	4.5467	.07234	.04177	4.3670	4.7264	4.50	4.63
ชุดควบคุม	3	4.8400	.01000	.00577	4.8152	4.8648	4.83	4.85
Total	21	4.3057	.35955	.07846	4.1420	4.4694	3.82	4.85

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.568	6	.428	335.327	.000
Within Groups	.018	14	.001		
Total	2.586	20			

Homogeneous Subsets

pH

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Duncan ^a กล้วยไข่	3	3.8433					
สับปะรด	3		3.9067				
กล้วยน้ำว้า	3			4.0400			
เม็ดบัว	3				4.4233		
ข้าวตัง	3					4.5400	
อินทูลิน	3					4.5467	
ชุดควบคุม	3						4.8400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.823	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (% คำนวณในรูปของกรดแลคติก) ที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

Acid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	.1800	.02000	.01155	.1303	.2297	.16	.20
ข้าวดำ	3	.1933	.01155	.00667	.1646	.2220	.18	.20
กล้วยไข่	3	.1933	.01155	.00667	.1646	.2220	.18	.20
กล้วยน้ำว้า	3	.1800	.00000	.00000	.1800	.1800	.18	.18
สับปะรด	3	.3100	.03606	.02082	.2204	.3996	.27	.34
อินทูลิน	3	.1733	.01155	.00667	.1446	.2020	.16	.18
ชุดควบคุม	3	.1733	.01155	.00667	.1446	.2020	.16	.18
Total	21	.2005	.04883	.01066	.1782	.2227	.16	.34

ANOVA

Acid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.043	6	.007	22.582	.000
Within Groups	.004	14	.000		
Total	.048	20			

Homogeneous Subsets

Acid

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a อินทูลิน	3	.1733	
ชุดควบคุม	3	.1733	
เม็ดบัว	3	.1800	
กล้วยน้ำว้า	3	.1800	
ข้าวดำ	3	.1933	
กล้วยไข่	3	.1933	
สับปะรด	3		.3100
Sig.		.238	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (% คำนวณในรูปของกรดแลคติก) ที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

Acid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	.3367	.04509	.02603	.2247	.4487	.29	.38
ข้าวตำ	3	.3133	.02082	.01202	.2616	.3650	.29	.33
กล้วยไข่	3	.4633	.00577	.00333	.4490	.4777	.46	.47
กล้วยน้ำว้า	3	.3933	.01528	.00882	.3554	.4313	.38	.41
สับปะรด	3	.6967	.01528	.00882	.6587	.7346	.68	.71
อินบูลิน	3	.2933	.04509	.02603	.1813	.4053	.25	.34
ชุดควบคุม	3	.3300	.00000	.00000	.3300	.3300	.33	.33
Total	21	.4038	.13589	.02965	.3420	.4657	.25	.71

ANOVA

Acid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.359	6	.060	83.836	.000
Within Groups	.010	14	.001		
Total	.369	20			

Homogeneous Subsets

Acid

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a อินบูลิน	3	.2933			
ข้าวตำ	3	.3133			
ชุดควบคุม	3	.3300			
เม็ดบัว	3	.3367			
กล้วยน้ำว้า	3		.3933		
กล้วยไข่	3			.4633	
สับปะรด	3				.6967
Sig.		.087	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (% คำนวณในรูปของกรดแลคติก) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

Acid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เม็ดบัว	3	.5500	.01000	.00577	.5252	.5748	.54	.56
ข้าวดำ	3	.5067	.00577	.00333	.4923	.5210	.50	.51
กล้วยไข่	3	.4900	.01000	.00577	.4652	.5148	.48	.50
กล้วยน้ำว้า	3	.5667	.00577	.00333	.5523	.5810	.56	.57
สับปะรด	3	1.2867	.00577	.00333	1.2723	1.3010	1.28	1.29
อินทูลิน	3	.5500	.00000	.00000	.5500	.5500	.55	.55
ชุดควบคุม	3	.4133	.00577	.00333	.3990	.4277	.41	.42
Total	21	.6233	.28187	.06151	.4950	.7516	.41	1.29

ANOVA

Acid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.588	6	.265	5559.400	.000
Within Groups	.001	14	.000		
Total	1.589	20			

Homogeneous Subsets

Acid

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Duncan ^a ชุดควบคุม	3	.4133					
กล้วยไข่	3		.4900				
ข้าวดำ	3			.5067			
เม็ดบัว	3				.5500		
อินทูลิน	3				.5500		
กล้วยน้ำว้า	3					.5667	
สับปะรด	3						1.2867
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การคัดเลือกชนิดของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิต โยเกิร์ตโพรไบโอติก

วิธีการทดลอง

ในการทดลองขั้นต้นได้ผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 7 ชุด ได้แก่ กล้าเชื้อ ก. (*Streptococcus thermophilus* BCC 5366) กล้าเชื้อ ข. (*Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451) กล้าเชื้อ ค. (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034) กล้าเชื้อ ง. (*Lactobacillus casei* spp. *casei* BCC 4308) กล้าเชื้อ จ. (*S. thermophilus* BCC 5366 และ *L. bulgaricus* TISTR 451) กล้าเชื้อ ฉ. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. acidophilus* TISTR 1034) และกล้าเชื้อ ช. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* spp. *casei* BCC 4308)

ก.) การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ชนิดคือ *S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451, *L. acidophilus* TISTR 1034 และ *L. casei* spp. *casei* BCC 4308 ทำได้โดยเชื้อแต่ละชนิดจากหลอด Stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณ 1 ลูกบาศก์ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว MRS ดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนและเทส่วนใสทิ้งไป เหลือแต่เฉพาะตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด แล้วจึงล้างเซลล์โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixture) นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน Mcfarland เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร)

ข.) การผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

สำหรับการผลิตกล้าเชื้อผสม ก. ทำได้โดยเติมสารแขวนลอยเซลล์ของ *S. thermophilus* BCC 5366 ลงในน้ำมันพร้อมมันเนยตราเมจิที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ส่วนกล้าเชื้อ ข. (*L. bulgaricus* TISTR 451) กล้าเชื้อ ค. (*L. acidophilus* TISTR 1034) และกล้าเชื้อ ง. (*L. casei* spp. *casei* BCC 4308) ทำเช่นเดียวกับการผลิตกล้าเชื้อ ก. สำหรับการผลิตกล้าเชื้อผสม จ. ทำได้โดยเติมสารแขวนลอยของ *S. thermophilus* BCC 5366 และ *L. bulgaricus* TISTR 451 ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นจึงเติมสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกผสมลงในน้ำมันพร้อมมันเนยที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สำหรับการผลิตกล้าเชื้อผสม ฉ. ทำได้โดยเติมสารแขวนลอยเซลล์ของ *S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 ใน

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วน 1:1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นจึงเติมลงในน้ำมันพร้อมมันเนยตราเมจิที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ส่วนการผลิตกล้าเชื้อผสม ช. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* spp. *casei* BCC 4308) ทำเช่นเดียวกับการผลิตกล้าเชื้อ ฉ. แล้วนำน้ำมันที่ผสมกล้าเชื้อแล้วทั้ง 7 ชุดไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสม ทำการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติของกล้าเชื้อทั้ง 7 ชุด แล้วคัดเลือกกล้าเชื้อที่มีลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติที่ดีที่สุด เพื่อนำมาศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ผลการทดลอง

จากการคัดเลือกชนิดของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก ลักษณะปรากฏของชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเดี่ยวได้แก่ กล้าเชื้อ ก. (*Streptococcus thermophilus* BCC 5366) กล้าเชื้อ ข. (*Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451) กล้าเชื้อ ค. (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034) และกล้าเชื้อ ง. (*Lactobacillus casei* spp. *casei* BCC 4308) จะมีลักษณะของเจลไม่แข็งตัวและมีความนิ่มมาก เกิดการแยกตัวของน้ำเวย์มาก และเคิร์ดจะไม่ค่อยเรียบเนียน ส่วนสีจะมีสีขาวขุ่น กลิ่นคาวนม รสชาติเปรี้ยว ส่วนชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมได้แก่ กล้าเชื้อ ฉ. (*S. thermophilus* BCC 5366 และ *L. bulgaricus* TISTR 451) กล้าเชื้อ จ. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. acidophilus* TISTR 1034) และกล้าเชื้อ ช. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. casei* spp. *casei* BCC 4308) จะมีลักษณะเจลที่แข็งตัว มีการแยกตัวของน้ำเวย์เล็กน้อยและเคิร์ดเรียบเนียน มีสีขาวนวลออกเหลือง กลิ่นคาวนม รสชาติเปรี้ยวแต่มีความเฉพาะตัวมากกว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเดี่ยว และพบว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกชนิด *Lactobacillus casei* spp. *casei* BCC 4308 (กล้าเชื้อ ง. และ กล้าเชื้อ ช.) จะมีกลิ่นเปรี้ยวฉุนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดโยเกิร์ตที่เติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 (จ)

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองการคัดเลือกกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติกโดยพิจารณาจากลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตภายหลังการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเดี่ยวและกล้าเชื้อเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโยเกิร์ตชุดที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสม ฉ. (*S. thermophilus* BCC 5366, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *L. acidophilus* TISTR 1034) เป็นโยเกิร์ตชุดที่มีลักษณะของเจลที่แข็งตัว มีการแยกตัวของน้ำเวย์เล็กน้อยและเคิร์ดเรียบเนียน มีสีขาวนวลออกเหลืองเล็กน้อย กลิ่นคาวนม และมีรสชาติที่ดีกว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกชุดอื่น จึงได้คัดเลือกกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสม ฉ. นี้มาศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (จ) ลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

กล้าเชื้อ แบคทีเรีย (ชุด)	ลักษณะปรากฏ			
	สี	กลิ่น	รส	เนื้อสัมผัส
ก.	ขาวขุ่น	กลิ่นคาวนม	เปรี้ยว	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว และมีความนุ่ม
ข.	ขาวขุ่น	กลิ่นคาวนม	เปรี้ยว	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว และมีความนุ่ม
ค.	ขาวขุ่น	กลิ่นคาวนม	เปรี้ยว	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว และมีความนุ่ม
ง.	ขาวขุ่น	กลิ่นเปรี้ยวฉุน	เปรี้ยว	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว และมีความนุ่ม
จ.	ขาวนวลออก เหลือง	กลิ่นคาวนม	เปรี้ยว	เคิร์ดเรียบเนียน เจลมีความแข็งตัว
ฉ.	ขาวนวลออก เหลืองเล็กน้อย	กลิ่นคาวนม	เปรี้ยว	เคิร์ดเรียบเนียน เจลมีความแข็งตัว
ช.	ขาวนวลออก เหลืองเล็กน้อย	กลิ่นเปรี้ยวฉุน	เปรี้ยว	เคิร์ดเรียบเนียน เจลมีความแข็งตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การคัดเลือกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของ แบคทีเรียกรดแลคติก

วิธีการทดลอง

ในการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ (ที่ 2 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ร้อยละ 2 และร้อยละ 4) ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ผลิตโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้แต่ละชนิดซึ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดีและมีปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยสูง ได้แก่ สารสกัดจากเม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลกล้วยน้ำว้า หัวมันต่อเผือก ผลสับปะรด และผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง

ก.) การผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ทำการผลิตโยเกิร์ตจำนวนทั้งหมด 9 ชุด ได้แก่ ชุดที่ 1 โยเกิร์ตชุดควบคุม (ไม่เติมสารใดๆ) ชุดที่ 2 โยเกิร์ตที่เติมอินนูลิน (ชุดควบคุมเชิงบวก) ชุดที่ 3 โยเกิร์ตที่เติมเม็ดบัว ชุดที่ 4 โยเกิร์ตที่เติมเมล็ดข้าวดำ ชุดที่ 5 โยเกิร์ตที่เติมผลกล้วยไข่ ชุดที่ 6 โยเกิร์ตที่เติมผลกล้วยน้ำว้า ชุดที่ 7 โยเกิร์ตที่เติมหัวมันต่อเผือก ชุดที่ 8 โยเกิร์ตที่เติมผลสับปะรด และชุดที่ 9 โยเกิร์ตที่เติมผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง โดยโยเกิร์ตชุดที่ 2 ถึง 9 ปริมาณสารที่เติมจะแบ่งเป็น 2 ระดับความเข้มข้นคือร้อยละ 2 และร้อยละ 4 ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต เริ่มจากการนำนมพรีอิมเมเนย (ที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 3.56 และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12.32) ไปทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมโดยการเติมหางนมผงปริมาตรร้อยละ 5 เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 18 จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเพื่อผสมหางนมผงกับนมให้เข้ากัน แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารสกัดแต่ละชนิด (ร้อยละ 2 หรือร้อยละ 4) ลงในนํานมแล้วทำให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวด้วยเครื่องผสม (vortex mixture) แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่เตรียมไว้ (ความเข้มข้นร้อยละ 2) คนให้เข้ากัน นำไปบรรจุในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic สุ่มตัวอย่างโยเกิร์ตหลังจากการหมักไปวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีชีวิตโดยเทคนิค Spiral plate บนอาหารแข็ง MRS

ผลการทดลอง

ในการวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลกล้วยน้ำว้า หัวมันต่อเผือก ผลสับปะรด ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง และอินนูลิน (ชุดควบคุมเชิงบวก) เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดใดๆเลย หลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ร้อยละ 2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 3.9×10^7 ถึง 9.2×10^8 CFU ต่อกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับโยเกิร์ตชุดควบคุมซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเท่ากับ 1.0×10^8 CFU ต่อกรัม แต่โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบแต่ละชนิดร้อยละ 4 ในแต่ละชนิดของสารสกัดหยาบพบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดมากกว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบแต่ละชนิดร้อยละ 2 โดยมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 4.2×10^7 ถึง 1.1×10^9

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CFU ต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดควบคุมซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเท่ากับ 1.0×10^8 CFU ต่อกรัม แสดงผลดังตารางที่ 1 (ฉ)

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 มีผลช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 แต่สารสกัดหยาบจากหัวมันต่อเผือก และผลแอปเปิ้ลพื้นเมืองมีผลช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นจึงได้เลือกใช้สารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ในโยเกิร์ตโพรไบโอติกมาใช้ในขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 (ฉ) จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติกหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

ชุดโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)	
	ความเข้มข้นร้อยละ 2	ความเข้มข้นร้อยละ 4
เม็ดบัว	9.2×10^8	1.1×10^9
ข้าวดำ	7.0×10^8	7.9×10^8
กล้วยไข่	4.1×10^8	5.7×10^8
กล้วยน้ำว้า	2.2×10^8	4.2×10^8
มันต่อเผือก	3.9×10^7	4.2×10^7
สับปะรด	4.7×10^8	5.4×10^8
แอปเปิ้ลพื้นเมือง	6.4×10^7	9.5×10^7
อินทูลิน	3.5×10^8	3.5×10^8
ชุดควบคุม	1.0×10^8	1.0×10^8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของ แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรด แลคติกทั้งหมดโดยการผลิตโยเกิร์ต

ตารางที่ 1 (ข) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต
โพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	3.4×10^6	1.0×10^8	5.6×10^8
ข้าวดำ	2.8×10^6	7.4×10^7	5.8×10^8
กล้วยไข่	3.1×10^6	1.3×10^8	5.8×10^8
กล้วยน้ำว้า	3.1×10^6	1.2×10^8	3.4×10^8
สับปะรด	2.9×10^6	1.3×10^8	4.1×10^8
อินทูลิน	3.5×10^6	6.2×10^7	2.2×10^8
ชุดควบคุม	3.0×10^6	6.0×10^7	2.7×10^8

ตารางที่ 2 (ข) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต
โพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	3.6×10^6	1.1×10^8	6.1×10^8
ข้าวดำ	2.9×10^6	9.3×10^7	5.1×10^8
กล้วยไข่	3.2×10^6	2.3×10^8	3.6×10^8
กล้วยน้ำว้า	3.3×10^6	1.7×10^8	3.3×10^8
สับปะรด	3.1×10^6	1.8×10^8	3.9×10^8
อินทูลิน	3.1×10^6	6.9×10^7	3.5×10^8
ชุดควบคุม	3.1×10^6	7.3×10^7	2.4×10^8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ข) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต
โพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	3.4×10^6	1.0×10^8	6.3×10^8
ข้าวดำ	3.9×10^6	8.4×10^7	4.1×10^8
กล้วยไข่	3.7×10^6	2.0×10^8	4.4×10^8
กล้วยน้ำว้า	3.0×10^6	1.9×10^8	3.1×10^8
สับปะรด	2.8×10^6	2.0×10^8	3.5×10^8
อินนูลิน	3.5×10^6	6.8×10^7	4.2×10^8
ชุดควบคุม	3.8×10^6	6.4×10^7	2.6×10^8

ตารางที่ 4 (ข) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต
โพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม) \pm SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	$3.5 \times 10^6 \pm 0.02$	$1.0 \times 10^8 \pm 0.01$	$6.0 \times 10^8 \pm 0.03$
ข้าวดำ	$3.2 \times 10^6 \pm 0.08$	$8.4 \times 10^7 \pm 0.05$	$5.0 \times 10^8 \pm 0.07$
กล้วยไข่	$3.3 \times 10^6 \pm 0.04$	$1.9 \times 10^8 \pm 0.12$	$4.6 \times 10^8 \pm 0.10$
กล้วยน้ำว้า	$3.1 \times 10^6 \pm 0.02$	$1.6 \times 10^8 \pm 0.11$	$3.2 \times 10^8 \pm 0.02$
สับปะรด	$2.9 \times 10^6 \pm 0.02$	$1.7 \times 10^8 \pm 0.09$	$3.8 \times 10^8 \pm 0.03$
อินนูลิน	$3.4 \times 10^6 \pm 0.03$	$6.6 \times 10^7 \pm 0.02$	$3.3 \times 10^8 \pm 0.15$
ชุดควบคุม	$3.3 \times 10^6 \pm 0.06$	$6.6 \times 10^7 \pm 0.04$	$2.6 \times 10^8 \pm 0.03$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่คัดเลือกระหว่างการหมัก

ตารางที่ 5 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมงที่
เม็ดบัว	6.26	5.28	4.43
ข้าวดำ	6.29	5.28	4.53
กล้วยไข่	6.17	4.85	3.87
กล้วยน้ำว้า	6.28	5.01	4.08
สับปะรด	5.88	4.99	3.94
อินทูลิน	6.44	5.66	4.50
ตัวควบคุม	6.43	5.70	4.84

ตารางที่ 6 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	6.28	5.24	4.41
ข้าวดำ	6.28	5.29	4.56
กล้วยไข่	6.19	4.79	3.84
กล้วยน้ำว้า	6.25	5.01	4.03
สับปะรด	5.86	4.97	3.91
อินทูลิน	6.47	5.64	4.63
ตัวควบคุม	6.48	5.67	4.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	6.25	5.21	4.43
ข้าวดำ	6.27	5.24	4.53
กล้วยไข่	6.21	4.73	3.82
กล้วยน้ำว้า	6.23	5.04	4.01
สับปะรด	5.83	4.97	3.87
อินนูลิน	6.45	5.64	4.51
ตัวควบคุม	6.42	5.64	4.83

ตารางที่ 8 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) \pm SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	6.26 \pm 0.02	5.24 \pm 0.04	4.42 \pm 0.01
ข้าวดำ	6.28 \pm 0.01	5.27 \pm 0.03	4.54 \pm 0.02
กล้วยไข่	6.19 \pm 0.02	4.79 \pm 0.06	3.84 \pm 0.03
กล้วยน้ำว้า	6.25 \pm 0.03	5.02 \pm 0.02	4.04 \pm 0.04
สับปะรด	5.86 \pm 0.03	4.98 \pm 0.01	3.91 \pm 0.04
อินนูลิน	6.45 \pm 0.02	5.64 \pm 0.01	4.51 \pm 0.02
ตัวควบคุม	6.44 \pm 0.03	5.67 \pm 0.03	4.84 \pm 0.01

ตารางที่ 9 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, คำนวณในรูปของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	0.20	0.38	0.55
ข้าวดำ	0.20	0.29	0.51
กล้วยไข่	0.20	0.46	0.48
กล้วยน้ำว้า	0.18	0.41	0.57
สับปะรด	0.32	0.68	1.29
อินนูลิน	0.16	0.25	0.55
ตัวควบคุม	0.18	0.33	0.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, คำนวณในรูปของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	0.18	0.34	0.56
ข้าวดำ	0.20	0.32	0.51
กล้วยไข่	0.18	0.47	0.50
กล้วยน้ำว้า	0.18	0.38	0.56
สับปะรด	0.27	0.70	1.28
อินนูลิน	0.18	0.29	0.55
ตัวควบคุม	0.18	0.33	0.41

ตารางที่ 11 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, คำนวณในรูปของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	0.16	0.29	0.54
ข้าวดำ	0.18	0.33	0.50
กล้วยไข่	0.20	0.46	0.49
กล้วยน้ำว้า	0.18	0.39	0.57
สับปะรด	0.34	0.71	1.29
อินนูลิน	0.18	0.34	0.55
ตัวควบคุม	0.16	0.33	0.42

ตารางที่ 12 (ข) ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, คำนวณในรูปของกรดแลคติก) \pm SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	0.18 \pm 0.02	0.34 \pm 0.05	0.55 \pm 0.01
ข้าวดำ	0.20 \pm 0.01	0.31 \pm 0.02	0.51 \pm 0.00
กล้วยไข่	0.20 \pm 0.01	0.47 \pm 0.01	0.49 \pm 0.01
กล้วยน้ำว้า	0.18 \pm 0.00	0.39 \pm 0.01	0.57 \pm 0.01
สับปะรด	0.31 \pm 0.03	0.70 \pm 0.02	1.29 \pm 0.01
อินนูลิน	0.17 \pm 0.01	0.29 \pm 0.04	0.55 \pm 0.00
ตัวควบคุม	0.17 \pm 0.02	0.33 \pm 0.00	0.41 \pm 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้เพื่อประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้