การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพด โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

Study on the possibility of using ferulic acid extracted from corn cob by *Lactobacillus plantarum* Hong

สิปปวิชญ์ ศรีอินทร์

อธิวัฒน์ บุรินทร์วัฒนา

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพด
โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong
Study on the possibility of using ferulic acid extracted from corn cob by *Lactobacillus plantarum* Hong

จัดทำโดย
สิปปวิชญ์ ศรีอินทร์ รหัสนักศึกษา 58080068
อธิวัฒน์ บุรินทร์วัฒนา รหัสนักศึกษา 58080074

ได้รับพิจารณาความเห็นชอบจาก

ปาจรีย์ อิงคะสุภัทร ..... 19 / ก.ค. / 62

(ดร. ปาจรีย์ อิงคะสุภัทร) อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพด โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong
ชื่อนักศึกษา	สิปปวิชญ์ ศรีอินทร์ รหัสนักศึกษา 58080068
	อธิวัฒน์ บุรินทร์วัฒนา รหัสนักศึกษา 58080074
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ปาจรีย์ อิงคะสุภัทร

บทคัดย่อ

กรดเฟอรูลิกเป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางค์ กรดเฟอรูลิกชนิดที่ใช้ในปัจจุบันนั้นได้มาจากการสังเคราะห์ จึงมีราคาสูง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงตามไปด้วย ซังข้าวโพดเป็นวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร (By-product) ที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณกรดเฟอรูลิกสูง จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นแหล่งของกรดเฟอรูลิกเพื่อทดแทนกรดเฟอรูลิกชนิดเคมี ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตและยังเป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลืออย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกที่สกัดได้จากซังข้าวโพดตามงานวิจัยของ พัทธพล และวิศรุต (2561) มาหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong (*Lp* Hong) สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดที่นำมาใช้อยู่ในรูปของเหลวและผง ทำการทดลองเปรียบเทียบการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong กับกรดเฟอรูลิกชนิดเคมีและรำข้าวหอมมะลิ ซึ่งเป็นอีกหนึ่งวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรที่มีกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบ ตัวอย่างทดลองหลังหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ถูกนำไปตรวจวิเคราะห์ค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin – Ciocalteu รวมถึงการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอรูลิก และกรดไฮโดรเฟอรูลิกด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อตรวจสอบความสามารถในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงของเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ผลการทดลองพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong สามารถใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนเป็นกรดไฮโดรเฟอรูลิกได้ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกในตัวอย่างการทดลองที่มีการผสมรำข้าวและหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีอาหารรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) รวมถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างภายหลังการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong นั้นมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้หมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

คำสำคัญ: กรดเฟอรูลิก, กรดไฮโดรเฟอรูลิก, รำข้าว, ซังข้าวโพด, *Lactobacillus plantarum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Study on the possibility of using ferulic acid extracted from corn cob by *Lactobacillus plantarum* Hong
Student name	Sippawich Sri-in Student ID 58080068
	Athiwat Burinwatana Student ID 58080074
Program	Bachelor degree of science in Food Science and Technology
Year	2019
Advisor	Dr. Pajaree Ingkasupart

Abstract

Ferulic acid is a phenolic compound that has an ability to be an antioxidant that is preferred in the pharmaceutical and cosmetic industries. Type of ferulic acid, used in these days from a synthesis which causes a high production cost. Corn cob is one of an agricultural waste (By-product) that has an antioxidant property and contains high ferulic acid content. Therefore, it is interesting to use as a source of ferulic acid to replace the ferulic acid chemical type. This research was focused on the possibility of using the extract of ferulic acid extracted from corncob by *Lactobacillus plantarum* Hong (*Lp* Hong) to replace the Ferulic acid chemical type. The ferulic acid extracted from corncobs was in liquid and powder form. Experiment was carried out by comparison the contant of phenolic acid conversion after fermented with *Lp* Hong by using different source of ferulic acid substrate (chemical ferulic acid, jasmine rice bran, and ferulic acid extracted from corncob). Sample was collected after fermentation for 45. 48 hours and determined antioxidant activity (DPPH), total phenolic content, and phenolic acid content by HPLC (FA and HFA). Results found that *Lp* Hong can use the ferulic acid extracted from corn cob both in liquid and powder form as a substrate to convert to hydroferulic acid. In addition, rice bran adding in fermented sample can promote the biotransformation process of this *Lp* Hong. All fermented sample showed higher antioxidant activity and total phenolic content than that of non-fermented sample ($p<0.05$)

Keywords: Ferulic acid, Hydroferulic acid, Rice bran, Corn cobs, *Lactobacillus plantarum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่องการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพด โดยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ทางผู้จัดทำปัญหาพิเศษ ขอขอบพระคุณ ดร. ปาจรีย์ อิงคะสุภัทร อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่ามาให้คำแนะนำ ตักเตือน เอาใจใส่ และตรวจทานรวมถึงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ให้ปัญหาพิเศษเล่มนี้ถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณอาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่คอยให้ปรึกษาและแนะนำตลอดในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่สนับสนุนและให้กำลังใจในทุกด้าน รวมถึงให้คำปรึกษาและให้โอกาสในการศึกษาอย่างเต็มที่ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจและคอยช่วยเหลือในทุกๆด้านเสมอมา

ในนามของคณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานปัญหาพิเศษที่กลุ่มของข้าพเจ้าได้ศึกษาและค้นคว้า มานี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย หากรายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

สิปปวิชญ์ ศรีอินทร์
อธิวัฒน์ บุรินทร์วัฒนา
21 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
ประมวลคำศัพท์	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	11
3.2 อุปกรณ์	12
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	13
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	18
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	29
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก	33
ภาคผนวก ก. กราฟประกอบปัญหาพิเศษ	34
ภาคผนวก ข. รูปภาพประกอบปัญหาพิเศษ	35
ประวัติผู้เขียน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ตารางแสดงสัดส่วนของตัวอย่างแต่ละทรีตเมนต์	14
4.1.1	ปริมาณกรดเฟอรูลิกตั้งต้นในแต่ละชุดการทดลองก่อนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong (ตัวอย่างชุดควบคุม)	19
4.1.2	ปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดไฮโดรเฟอรูลิกและผลได้ของกรด HFA ในแต่ละชุดการทดลอง ภายหลังการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong	20
4.2	การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นก่อนและหลังการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong	22
4.3	การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ก่อนและหลังกระบวนการหมักของแต่ละชุดตัวอย่างการทดลอง	24
4.4	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong	26
4.5	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ซังข้าวโพด	4
2.2	รำข้าว	5
2.3	โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก	6
2.4	โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮโดรเฟอรูลิก	6
2.5	โครงสร้างทางเคมีของกรดเฟอรูลิก	7
2.6	ปริมาณกรดเฟอรูลิกที่พบในส่วนต่างๆของสารประกอบลิกโนเซลลูโลส	7
2.7	เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	10
ก.1	กราฟมาตรฐานกรดไฮโดรเฟอรูลิก	34
ก.2	กราฟมาตรฐานกรดเฟอรูลิก	34
ข.1	HPLC โครมาโตแกรมของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน	35
ข.2	HPLC โครมาโตแกรมของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน	35
ข.3	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวควบคุมที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)	36
ข.4	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)	36
ข.5	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)	37
ข.6	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูริกเคมีที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)	37
ข.7	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที	38
ข.8	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที	38
ข.9	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที	39
ข.10	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมกรดเฟอรูริกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
ข.11	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที.....	40
ข.12	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที.....	40
ข.13	HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูลิกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที.....	41
ข.14	UV-Spectrum ของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน.....	41
ข.15	UV-Spectrum ของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน.....	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมวลศัพท์และคำย่อ

DPPH	=	2,2 -diphenyl-1-picrylhydrazyl
FAE	=	Ferulic acid esterase
HPLC	=	High performance liquid chromatography
ABS	=	Absorbance
Lp Hong	=	*Lactobacillus plantarum* Hong
CPE	=	Corn cobs Powder Extracted
CCE	=	Corn cobs Concentration Extracted
FAC	=	Ferulic acid Chemical
ND	=	Not detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาพิเศษ

ประเทศไทยนับเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก ประชาชนมากกว่าร้อยละ 50 ประกอบอาชีพเกษตรกรรม วัสดุเศษเหลือจากการเกษตรเป็นผลพลอยได้ที่สำคัญนอกเหนือจากผลผลิตการเกษตรหลัก ซึ่งสามารถนำไปแปรรูปหรือปรับใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ ซังข้าวโพดเป็นวัสดุเศษเหลือจากการปลูกข้าวโพด ในบางพื้นที่ เช่น จังหวัดทางภาคเหนือ มีวัสดุเศษเหลือจากการปลูกข้าวโพดเป็นจำนวนมากและวิธีการกำจัดส่วนใหญ่จะเป็นการเผาทิ้ง ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของปัญหามลพิษหมอกควันทางภาคเหนือ มีรายงานการวิจัยกล่าวว่าซังข้าวโพดมีองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งในผนังเซลล์พืชนั้นมีกรดเฟอรูลิกซึ่งเป็นสารฟีนอลิกประเภทหนึ่ง (Torre et al., 2008) โดยกรดเฟอรูลิกนั้นเป็นที่ต้องการของอุตสาหกรรมการผลิตยาและเครื่องสำอางค์ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ และมีประโยชน์อย่างมากในการรักษาโรคต่างๆ อาทิเช่น โรคมะเร็ง ความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน และโรคอัลไซเมอร์ (Eugenio et al., 2017) จากรายงานการวิจัยของ Ingkasupart (2015a) ได้รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong สามารถใช้กรดเฟอรูลิกชนิดเคมีในการเปลี่ยนเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นๆ ที่มีความสำคัญและมีราคาสูงกว่าได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดมาใช้เป็นสารตั้งต้นของกระบวนการหมักเพื่อทดแทนการใช้กรดเฟอรูลิกชนิดเคมี เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายและสามารถใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรให้ได้สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อตรวจสอบความสามารถในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบถึงความสามารถในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

1.3.2 ทราบถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

1.3.3 ทราบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (Nonmotile) ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส (Catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่ม แบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ การเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ ความสามารถในการทนเกลือ และการทนต่อกรดหรือด่าง (Wood and Holzapfel, 1997) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในนม ผัก และผลไม้ ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศแต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย แบคทีเรียแลคติกขาดสารไซโตโครม (Psytochromes) และฟอร์ไฟลิน (Porphyrins) จึงไม่ให้เอนไซม์แคตาเลสและออกซิเดส (สุมณฑา, 2545) แบคทีเรียแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรตเกิดกรดแลคติกจากปฏิกิริยา 2 ทาง คือ วิถีทางที่ได้แลคเตทเพียงอย่างเดียว เรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) และวิถีทางที่ได้แลคเตทร่วมกับสารอื่นในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) (สมใจ, 2537)

1) โฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ซึ่งพวกนี้จะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมลเป็นกรดแลคติก 1.8 โมล และได้กรดอะซิติก เอทานอล และ คาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อย

2) เฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ เป็นแบคทีเรียที่หมักคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกประมาณ ร้อยละ 50 นอกนั้น ให้ กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล แล้วสร้างกรดแลคติกได้น้อยกว่า 1.8 โมล ในปัจจุบันได้มีการจัดจำแนก แบคทีเรียแลคโตบาซิลไลออกเป็นกลุ่มย่อย 3 กลุ่ม ดังนี้ (สุมณฑา, 2545)

2.1) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (Obligate homofermenter) สปีชีส์ที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus, L. delbruckii* และ *L. helveticus*

2.2) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักได้ทั้งสองแบบ (Facultative heterofermenter) สปีชีส์ที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *L. plantarum, L. casei* และ *L. sake*

2.3) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (Obligate heterofermenters) สปีชีส์ที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *L. bervis, L. fermentum* และ *L. kefir* สำหรับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่แลคโตแบซิลไล (สุมณฑา, 2545) ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1) จีนัส ลิวโคนอสตอค (Leuconostoc) เป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างกลม อันเป็นลักษณะสำคัญ ที่ทำให้สามารถจำแนกออกจากพวกแลคโตแบซิลไลได้ง่าย แบคทีเรียชนิดนี้ไม่นิยมนำมาใช้ในการหมักกรดแลคติกเพราะเกิดเมือก

2.3.2) จีนัส เพดิโอคอกคัส (Pediococcus) เป็นแบคทีเรียแลคติกที่นิยมนำมาใช้หมักกรดแลคติกมากกว่า เช่น *P. pentosaceus* ส่วน *P. halophilus* ในปัจจุบันถูกจัดไว้ในสปีชีส์ใหม่ในชื่อว่า *Tetragenococcus halophilus*

2.3.3) จีนัส เสตรปโตคอกคัส (Streptococcus) เป็นแบคทีเรียแลคติกอีกสปีชีส์หนึ่ง จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียในกลุ่มเสตรปโตคอกไคมีลักษณะเด่นที่สามารถจำแนกย่อยออกได้เป็น 3 กลุ่ม (จีนัส) คือ *Enterococci, Lactococcus* และ *Streptococcus*

2.2 ซังข้าวโพด (Corn cob)

ซังข้าวโพด คือ ส่วนหนึ่งของข้าวโพด ซึ่งเหลือจากการสีเมล็ดข้าวโพดออกไป สมัยก่อนซังข้าวโพดไม่เคยถูกใช้ประโยชน์ โดยเกษตรกรบางรายทิ้งให้ย่อยสลายไปเอง บางรายเผาทิ้งเพื่อเตรียมพื้นปลูกในฤดูกาลถัดไป จนกระทั่งมีการศึกษาและนำไปใช้จริงในอุตสาหกรรมทำให้ซังข้าวโพดเป็นสิ่งที่มีมูลค่าขึ้นมาจากเดิม (ธีธัช, 2561)

ภาพที่ 2.1 ซังข้าวโพด

ที่มา: http://www.cp-enews.com/news/details/cpnews/998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 รำข้าว (Rice bran)

รำข้าว คือ ส่วนที่ได้จากการขัดข้าวกล้องให้เป็นข้าวสาร ซึ่งประกอบด้วยชั้นเยื่อหุ้มเมล็ด และคัพภะ เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้จากกระบวนการสีข้าว โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ (Bran) ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้อง และรำละเอียด (Polish) ได้จากการขัดขาวและขัดมัน นอกจากนี้ รำข้าวยังมีคุณค่าทางอาหารสูง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร เถ้า วิตามิน และเกลือแร่ต่างๆ (กรมการข้าว, 2561)

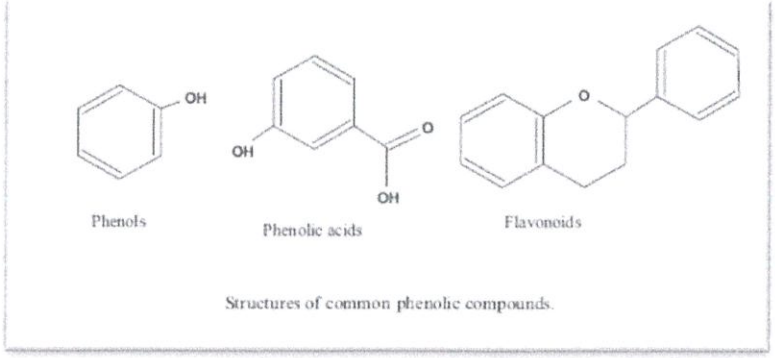
ภาพที่ 2.2 รำข้าว

ที่มา: http://www.thailivestock.com

2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด อาทิ เช่น ผัก, ผลไม้, เครื่องเทศ, สมุนไพร, ถั่วเมล็ดแห้ง และเมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด สารประกอบฟีนอลิก มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ คือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่อกับสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (Phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ดังภาพที่ 2.3

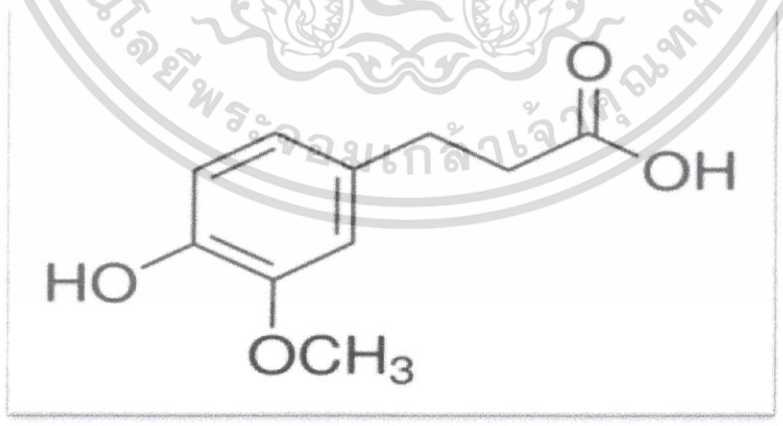
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา (2560)

2.5 กรดไฮโดรเฟอรูลิก (Hydroferulic acid)

กรดไฮโดรเฟอรูลิก ($C_{10}H_{12}O_4$) รู้จักกันในอีกชื่อ คือ กรดโพรพิโอนิก 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) หรือ dihydroconiferylate จัดอยู่ในกลุ่มของกรดฟีนิลโพรพาโอนิก ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนเบนซีนร่วมกับกรดโพรพาโนอิค กรดไฮโดรเฟอรูลิกสามารถละลายน้ำได้เล็กน้อย และมีความเป็นกรด กรดโพรพิโอนิกมีหน้าที่เป็นสารกันเสีย (Preservative) สารกันเชื้อรา สารกันบูด และยังเป็นวัตถุที่ใช้แต่งกลิ่นรสของอาหารด้วย กรดโพรพิโอนิกที่นำมาเป็นส่วนประกอบของอาหารจะอยู่ในรูปของกรดเกลือ แคลเซียม โพแทสเซียมและโซเดียม นิยมใช้ในขนมปัง อาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมการเคลือบพลาสติกซึ่งจะใช้ในรูปของ Cellulose Propionate (TMIC, 2016)

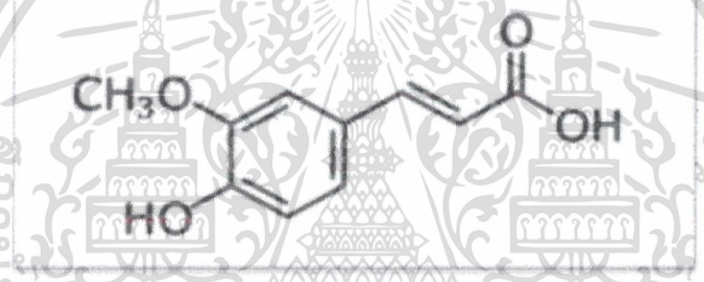


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฮโดรเฟอรูลิก
ที่มา: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/17803?lang=en&region=TH

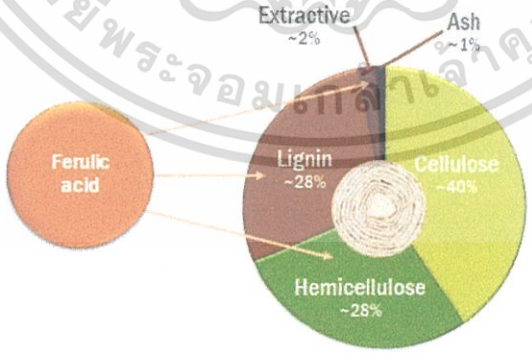
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid)

กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid) เป็นสารพฤกษเคมี (Phytochemical) จัดอยู่ในสารประกอบฟีนอล (Polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล มีลักษณะเป็นโครงสร้างผลึกสีขาวละลายน้ำได้ โครงสร้างธรรมชาติอยู่ในทรานซ์ (Trans-ferulic acid) แหล่งที่พบกรดเฟอรูลิก ได้แก่ เมล็ด และใบของธัญพืชต่างๆ อาทิเช่น ข้าวสาลี, ข้าวโพด, ข้าวโอ๊ต, สับปะรด, แอปเปิ้ล และส้ม เป็นต้น ประโยชน์ของกรดเฟอรูลิก คือ ช่วยทำให้ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงถูกใช้สำหรับชะลอความแก่ (Anti-aging) ป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็ง, โรคหัวใจ, ไข้หวัด, รักษาสุขภาพของกล้ามเนื้อ และต่อต้านผลกระทบจากรังสีอัลตร้าไวโอเลต ซึ่งสามารถช่วยป้องกันมะเร็งผิวหนังได้ (พูนทรัพย์, 2553)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของกรดเฟอรูลิก
ที่มา: Huseyin (2015)



ภาพที่ 2.6 ปริมาณกรดเฟอรูลิกที่พบในส่วนต่างๆของสารประกอบลิกโนเซลลูโลส
ที่มา: Jonsson และ Martin (2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของกรดเฟอรูลิกแตกต่างกันตามตำแหน่งและองค์ประกอบของผนังเซลล์ ยกตัวอย่างเช่น เปลือก, ใบ, ลำต้น และยอดอ่อน มีสัดส่วนของกรดเฟอรูลิกแตกต่างกัน

2.7 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือ โมเลกุลที่ไม่เสถียร และไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ซึ่งมีผลต่อการทำลายโมเลกุลอื่นๆต่อเนื่องกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระจึงเป็นสารพิษต่อเซลล์ของร่างกาย ถ้ามีในปริมาณมากก็สามารถเป็นอันตรายต่อร่างกายได้ โดยจะทำลายดีเอนเอ เยื่อหุ้มเซลล์และอื่นๆ ในระยะสั้น อนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อ ในระยะยาวมีผลต่อความเสื่อม หรือการแก่ของเซลล์ ปัจจุบันผลการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศพบว่า อนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรังชนิดไม่ติดต่อหลายชนิดโดยเฉพาะโรคมะเร็ง ซึ่งเป็นสาเหตุแก่การเสียชีวิตอันดับต้นๆ ของคนไทย และคนทั่วโลก อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย และ ในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรคหรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกันจากการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระ โดยสิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองก็คือ ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์ ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่มีความเข้มข้นต่ำๆที่สามารถชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสาร (Substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยสารเหล่านี้จะรวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน, ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตาม มีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์จะจัดการได้ จึงทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า Oxidative stress ซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ, โปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ, โรคเกี่ยวกับชราภาพภูมิคุ้มกัน, โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน รวมไปถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น (เนตรนภา และเฉลิม, 2557)

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระก่อตัวขึ้นโดยจะทำการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ ช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆในร่างกาย รวมทั้งช่วยกำจัด และแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย โดยสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ รวมไปถึงอนุพันธุ์ของสารประกอบฟีนอลซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น ฟลาโวนอยด์, ลิกนิน, กรดซินนามิก และโคเอ็นไซม์คิวเท็น สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก จนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกัน หรือเป็นสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน, แอลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ เป็นต้น การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำโดยใช้วิธีมาตรฐานในการตรวจวัด ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu และการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) และ 1,10-Phenantroline (Phen) โดยอาศัยการตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (เนตรนภา และเฉลิม, 2557)

2.9 กระบวนการหมักกรดแลคติก (Lactic acid fermentation)

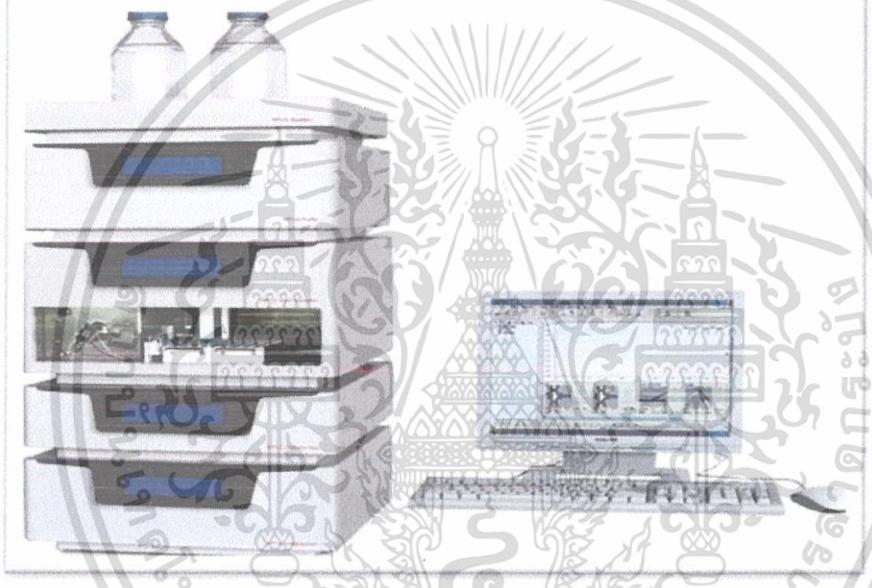
กระบวนการหมักที่มีการผลิตกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus plantarum, Pediococcus cerevisiae* และ *Streptococcus thermophiles* เป็นต้น ทำหน้าที่ในการหมักน้ำตาลแล้วเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก เป็นอาหารของมนุษย์และปลอดภัยต่อผู้บริโภค กระบวนการหมักจะทำให้เกิดกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสที่หลากหลาย และอุดมไปด้วยสารอาหาร โดยกระบวนการหมักจะเกี่ยวข้องกันทั้งแบคทีเรียกรดแลคติกพวก heterofermentative และ homofermentative จะทำหน้าที่ในการผลิตกรดแลคติกเพิ่มจนทำให้มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 4 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ (Aukrust et al. 1994) จากรายงานของ Mukerjee (1987) แสดงให้เห็นว่าชาวอินเดียสามารถถนอมอาหารจำพวกผักและผลไม้ในสวนของพวกเขา โดยกระบวนการหมักกรดแลคติก อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มสารอาหารได้อีกด้วย นอกจากนี้กระบวนการหมักยังสามารถเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ จากงานวิจัยของ Juan andChou (2010) รายงานว่ากระบวนการหมักถั่วดำด้วย *Bacillus subtilis* BCRC14715 สามารถเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ได้

2.10 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC)

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ระเหย (Non-Volatile Organic Compounds) หรือกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (Semi-Volatile Organic Compounds) ทั้งนี้ตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงนี้ (แสดงดังภาพ 2.7) จำเป็นต้องพิจารณาถึงความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์ กับตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้เพื่อป้องกันการไม่ละลายของตัวอย่าง หรือการตกตะกอนของตัวทำละลายอินทรีย์ผสม และไม่ให้เกิดการอุดตันในระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมถึงมีการพิจารณาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมด้วย เทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสมของเครื่องมือดังกล่าว อาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เฟสคงที่ คือ สารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือ ตัวทำละลายอินทรีย์ผสม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และสารดังกล่าวจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยตัวทำละลายอินทรีย์ผสม เพื่อให้เกิดการแยกสาร (Separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (Interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) และความสามารถในการละลายของสารผสม (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2561)



ภาพที่ 2.7 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
ที่มา: https://www.indiamart.com/proddetail/hplc-instrument-10784692297.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1.1.1 รำข้าวหอมมะลิ สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงสีข้าวอุ่นเจริญทรัพย์, จังหวัดนครปฐม

3.1.1.1.2 MRS Agar, Himedia, India

3.1.1.1.3 MRS Broth, Himedia, India

3.1.1.2 สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพด

3.1.1.2.1 สารสกัดกรดเฟอรูลิกในรูปผง

3.1.1.2.2 สารสกัดกรดเฟอรูลิกในรูปของเหลว

3.1.1.3 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong ได้รับความอนุเคราะห์จาก Prof. Dr. Jeong Hwa Hong, Inje university, South Korea

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 Hexane, AR grade, RCI Labscan, Thailand

3.1.2.2 Ethyl acetate, AR grade, RCI Labscan, Thailand

3.1.2.3 Methanol, HPLC grade, RCI Labscan, Thailand

3.1.2.4 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl, AR grade, Sigma-Aldrich, Germany

3.1.2.5 Ethanol 95%, AR grade, RCI Labscan, Thailand

3.1.2.6 Trans-Ferulic acid, Sigma-Alorich, Germany

3.1.2.7 Sodium carbonate, AR grade, Thermo Fisher Scientific, Australia

3.1.2.8 Hydrochloric acid 6 N, AR grade, RCI Labscan, Thailand

3.1.2.9 Sodium phosphate dibasic anhydrous 99%, AR grade, Loba Chemie, India

3.1.2.10 Sodium sulphate anhydrous, AR grade, Kemaus, Australia

3.1.2.11 Orthophosphoric acid, HPLC g rade, Fisher Scientific, England

3.1.2.12 Folin-Ciocalteu's RS reagent, AR grade, Carlo Erba, France

3.1.2.13 Trans-Ferulic acid >99.0%, analytical, Fluka, Germany

3.1.2.14 Propionic acid >96.0%, chemistry, Sigma-Aldrich, British

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.15 Gallic acid monohydrate, Sigma-Alorich, China

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 เครื่องโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง : Agilent 1100, Germany

3.2.2 เครื่องหมุนเหวี่ยงหนีศูนย์ : Thermo Legend mach 1.6r, Germany

3.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง : METTLER TOLEDO PB1502-L, Switzerland

3.2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง : METTLER TOLEDO ML204/01, Switzerland

3.2.5 เครื่องระเหยแบบควบคุมบรรยากาศ : BUCHI Labortechnik AG, Switzerland

3.2.6 HPLC คอลัมน์ : C-18 TSKgel ODS-100V (4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 µm), Japan

3.2.7 เครื่อง pH meter : METTLER TOLEDO s220, Switzerland

3.2.8 ตู้บ่มเชื้อ : Memmert, D91126, Switzerland

3.2.9 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) : Tomy ES-315, Japan

3.2.10 ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaking incubator) : N-biotech , NB250 VL

3.2.11 ขวดรูปชมพู่ : 250 mL, Schott, Germany

3.2.12 บีกเกอร์ : 100 mL, Pyrex, Germany

3.2.13 ขวดปรับปริมาตร : 1000 mL, Witeg, Germany

3.2.14 ตัวกรองสำหรับกระบอกฉีดยา (Cellulose acetate membrane Syringe filter): 0.45 µm, Nipro, Thailand

3.2.15 ขวดก้นกลม : 500mL, BUCHI Labortechnik AG, Switzerland

3.2.16 กระดาษกรอง (Whatman No.1) : GE Healthcare, China

3.2.17 หลอดทดลอง : Pyrex, Germany

3.2.18 ไมโครปิเปต : Rainin, U.S.A

3.2.19 กระบอกฉีดยา ขนาด 1 mL : Nipro, Thailand

3.2.20 ขวดไวออลสีชา ขนาด 1.5 mL : National scientific, Kingdom of Saudi Arabia

3.2.21 Cellulose acetate membrane : Sartorius stedim, Germany

3.2.22 Cell culture plate จำนวน 96 well : Corning Incorporate, China

3.2.23 เครื่องอ่านถาดไมโครเพลท : Thermo fisher scientific multiskan GO, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.3.1.1 วัสดุเศษเหลือที่นำมาใช้ร่วมในการหมักคือ รำข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที บรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3.1.2 สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปผงและของเหลวมีขั้นตอนการเตรียมดังรายงานของ พัทธพล และวิศรุต (2561) ซึ่งถูกเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยสารสกัดกรดเฟอรูลิกในรูปผงถูกเก็บในถุงอะลูมินั่มฟอยส์บรรจุแบบสุญญากาศ และ รูปของเหลวถูกบรรจุและเก็บในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong ถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสในรูปผง โดยก่อนนำมาทดลองจำเป็นต้องกระตุ้นเชื้อผง (Inoculate) ลงในอาหารเหลว MRS broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อจะถูกถ่ายลงในอาหารเหลว MRS broth อีกครั้ง โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณร้อยละ 5-10 และบ่มที่สภาวะเดียวกันเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.3.1.4 ตัวอย่างทั้ง 7 ทรีตเมนต์ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ถูกเตรียมดังรายละเอียดดังตาราง โดยมีสัดส่วนการผสมของแข็งต่อของเหลว คือ 1 ต่อ 9 ในปริมาตรรวมสุดท้ายที่เท่ากัน คือ 150 มิลลิลิตร ปริมาณสารสกัดกรดเฟอรูลิกที่ถูกเติมลงไปเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นของเชื้อจุลินทรีย์ถูกกำหนดในปริมาณร้อยละ 0.0545 โดยมวลต่อปริมาตรของแต่ละทรีตเมนต์ (Ingkasupart, 2015b) ปริมาณกรดเฟอรูลิกในสารสกัดจากซังข้าวโพดแบบผง และแบบเหลวมีปริมาณเริ่มต้นที่ 36.05 และ 11.65 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ (พัทธพล และวิศรุต, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงสัดส่วนของตัวอย่างแต่ละทรีตเมนต์

ทรีตเมนต์	ตัวอย่าง	ปริมาณส่วนผสม					
		รำข้าว (กรัม)	*Lp* Hong (มล)	น้ำกลั่น (มล)	CPE (มล)	CCE (มล)	FAC (มล)
1	อาหารรำข้าว+*Lp* Hong	15	7.5	135	-	-	-
2	อาหารรำข้าว+CPE+*Lp* Hong	15	7.5	132.72	2.28	-	-
3	อาหารรำข้าว+CCE+*Lp* Hong	15	7.5	128.03	-	7.02	-
4	อาหารรำข้าว+FAC+*Lp* Hong	15	7.5	135	-	-	0.08175
5	CPE + *Lp* Hong	-	7.5	150	2.28	-	-
6	CCE + *Lp* Hong	-	7.5	143.03	-	7.02	-
7	FAC + *Lp* Hong	-	7.5	150	-	-	0.08175

หมายเหตุ : *Lp* Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong
CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted
CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted
FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical

3.3.2 ขั้นตอนการหมักตัวอย่างด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

ตัวอย่างแต่ละทรีตเมนต์ดังแสดงในตารางที่ 3.1 ของ 2 ชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 คือตัวอย่างหลังจากการหมักแล้วจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีเพื่อหยุดการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่ใช้ความร้อน และนำไปทำการตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับชุดการทดลองที่ 2 คือตัวอย่างหลังจากการหมักแล้วจะถูกนำไปเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำส่วนใสที่แยกได้ไปสกัดต่อไป ซึ่งก่อนการหมักนั้นตัวอย่างทั้ง 2 ชุดการทดลองถูกนำไปเข้าหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) เพื่อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และถ่ายเชื้อ *Lactobacillus plantarum* Hong ร้อยละ 5 โดยปริมาตรลงในแต่ละตัวอย่าง ก่อนนำไปหมักที่อุณหภูมิ 34.4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที เนื่องจากเป็นสภาวะที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนกรดเฟอรูลิกเป็นกรดไฮโดรเฟอรูลิกได้มากที่สุด (Ingkasupart, 2015b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การสกัดตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เพื่อตรวจวิเคราะห์กรดเฟอรูลิกและกรดไฮโดรเฟอรูลิกโดยวิธีโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (สำหรับชุดการทดลองที่ 2)

ส่วนใส (supernatant) ที่แยกได้ของตัวอย่างชุดการทดลองที่ 2 ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงในข้อ 3.3.2 ปริมาณ 15 มิลลิลิตร ถูกนำมาสกัดด้วยสารละลายเฮกเซน (Hexane) จำนวน 2 ครั้ง เพื่อแยกส่วนที่ไม่มีขั้วออกจากตัวอย่างในอัตราส่วนของตัวอย่างและสารละลายเฮกเซนเท่ากับ 1 ต่อ 1 เขย่าเบาๆ เพื่อให้เกิดการสกัดเป็นระยะเวลา 8-10 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ประมาณ 8-10 นาที จนเกิดการแยกชั้น แล้วแยกเอาชั้นเฮกเซนทิ้งไป ทำการสกัดเช่นเดิมอีกครั้งหนึ่ง โดยตัวอย่างภายหลังการแยกส่วนที่ไม่มีขั้วด้วยสารละลายเฮกเซนและทำการแยกชั้นเฮกเซนออกแล้ว จะถูกนำไปปรับให้มีค่าพีเอช (pH) เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ เพื่อเตรียมสำหรับการสกัดด้วยสารละลายเอธิลอะซีเตท (Ethyl acetate) ซึ่งการสกัดตัวอย่างด้วยสารละลายเอทิลอะซิเตทมีวิธีการสกัดเช่นเดียวกันกับการสกัดด้วยสารละลายเฮกเซนดังกล่าวในข้างต้น โดยตัวอย่างถูกสกัดด้วยสารละลายเอธิลอะซีเตทจำนวน 3 ครั้ง ชั้นสารละลายเอธิลอะซีเตทจะถูกเก็บไว้ ส่วนตัวอย่างที่สกัดได้ในครั้งที่ 1 และ 2 ถูกนำมาสกัดด้วยสารละลายเอธิลอะซีเตท จนครบจำนวน 3 ครั้ง ด้วยวิธีการสกัดเช่นเดียวกับการสกัดด้วยสารละลายเอธิลอะซีเตทในครั้งแรก นำชั้นของสารละลายเอทิลอะซีเตททั้งหมดที่ได้มากำจัดโมเลกุลน้ำ ด้วยการเติมสารโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Sodium Sulphate anhydrous) จนไม่เกิดการจับตัวกันของสาร แยกตะกอนของโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสออกแล้วนำส่วนใสไประเหยสารละลายเอธิลอะซีเตทออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ควบคุมอุณหภูมิที่ 35-40 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่ผ่านการระเหยถูกนำมาปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้มีปริมาณรวม 2 กรัม จากนั้นกรองด้วย Syringe-filter ชนิดเซลลูโลสอะซีเตทเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร เก็บบรรจุในขวดไวออลสีชา (Vial) เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟอรูลิกและกรดไฮโดรเฟอรูลิกด้วยวิธี HPLC

3.3.4 การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างก่อนและหลังผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong

3.3.4.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ทำได้โดยนำตัวอย่างปริมาณ 50 มิลลิลิตร ไปวัดค่าความเป็นกรด – ด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) ที่ผ่านการปรับ (Calibrate) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน

3.3.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟอรูลิกและกรดไฮโดรเฟอรูลิกโดยวิธีโครมาโทร กราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ C-18 ในการวิเคราะห์ วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เมทานอล (A) และสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอชเท่ากับ 2.5 ปรับพีเอชด้วยกรดฟอสฟอริก (B) ในอัตราส่วนระหว่างสารละลาย A ต่อ B เท่ากับ 30 ต่อ 70 กำหนดอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ในลักษณะ Isocretic ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 40 องศาเซลเซียส และใช้ UV visible detector ที่กำหนดค่าความยาวคลื่นที่ 280 นาโนเมตร โดยเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 20 นาที ต่อ 1 ตัวอย่าง (นัทธพงศ์ และคณะ, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่ผ่านการหมักด้วยวิธีดีพีพีเอช (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) ทำตามวิธีการของ (Fukumoto andMazza, 2000) โดยเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น ให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นลดลง 10 เท่า (มิลลิกรัมของกรดเฟอรูลิกในแต่ละตัวอย่างต่อมิลลิลิตรของสารละลาย) ปริมาณ 22 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายดีพีพีเอช (DPPH) เข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ ปริมาณ 200 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 1

$$\% \text{ Radical Scavenging} = \frac{[(ABS_{blank} - ABS_{sample})]}{ABS_{blank}} \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots (1)$$

เมื่อ ABS_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่างผสมกับสารละลาย DPPH

ABS_{blank} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH กับน้ำกลั่น

3.3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu สามารถทำได้โดย นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นลดลง 10 เท่า (มิลลิกรัมของกรดเฟอรูลิกในแต่ละตัวอย่างต่อมิลลิลิตรของสารละลาย) ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารทำปฏิกิริยา Folin-Ciocalteu (1:10 เจือจางในน้ำกลั่น) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร จำนวน 75 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดถูกแสดงเป็นมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Ingkasupart, 2015a)

3.3.4.5 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดเฟอรูลิกเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอรูลิกในตัวอย่าง มีขั้นตอนการทำโดยการนำกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน มาละลายด้วยสารละลายเมทานอล (HPLC grade) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กรองด้วย Syringe-filter ชนิดเซลลูโลสอะซีเตทเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดไวออลสีชา (Vial) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟอรูลิกด้วย วิธีโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ดังวิธีการในหัวข้อ 3.3.4.2

3.3.4.6 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดไฮโดรเฟอรูลิกเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกในตัวอย่าง มีขั้นตอนการทำโดยการ นำกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน มาละลายด้วยสารละลายเมทานอล (HPLC grade) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.002, 0.004, 0.006, 0.008, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กรองด้วย Syringe-filter ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลสอะซีเตทเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดไวออลสีชา (Vial) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกด้วย วิธีโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ดังวิธีการในหัวข้อ 3.3.4.2

3.3.4.7 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิคเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมในตัวอย่าง มีขั้นตอนการทำโดยการ นำกรดแกลลิคมาตรฐาน มาเจือจางน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0.25, 0.20, 0.15, 0.10, 0.05, 0.025 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมดังวิธีการที่ระบุไว้ในหัวข้อ 3.4.4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ความสามารถในการใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

ตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปของเหลวและผงซึ่งใช้เป็นกรดเฟอรูลิกตั้งต้นถูกนำไปหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45.48 ชั่วโมง โดยมีกรดเฟอรูลิกเคมีเป็นกลุ่มควบคุมแบบบวก ผลการทดลองนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟอรูลิกด้วยวิธี HPLC แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกในตัวอย่างที่หมักโดยใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงผสมกับรำข้าวมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่หมักโดยใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่มีรำข้าวผสมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปผงมีปริมาณความชื้นต่ำกว่าเมื่อเตรียมในสัดส่วนที่เท่ากัน ดังนั้นสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปผงจึงมีปริมาณกรดเฟอรูลิกซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนเป็นกรดไฮโดรเฟอรูลิกที่มากกว่า (Kaur และคณะ, 2013)

นอกจากนี้ตัวอย่างหมักที่ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ผสมรำข้าวและกลุ่มที่ไม่ผสมรำข้าวดังตารางที่ 4.2 พบว่าร้อยละผลได้ของกรดไฮโดรเฟอรูลิกในตัวอย่างกลุ่มที่มีอาหารรำข้าวมีค่าสูงกว่าตัวอย่างกลุ่มที่ไม่ได้ผสมด้วยรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong มีการปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาเพื่อย่อยโครงสร้างผนังเซลล์ใน substrate (วัตถุดิบที่ใช้หมัก) เอนไซม์นี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างซับซ้อนเปลี่ยนอยู่ในรูปโครงสร้างที่ใช้ได้ง่ายขึ้น (Iqbal และคณะ, 2005) เอนไซม์ดังกล่าวคือ Ferulic acid esterases (FAE) และ Carboxylic acid reductase (CAR) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสส่งผลให้สัดส่วนของกรดเฟอรูลิก, น้ำตาล, และอนุพันธ์อื่นๆของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นได้ (Kaur และคณะ, 2013) โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* เท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนกรดเฟอรูลิกให้เป็นกรดไฮโดรเฟอรูลิกได้ในระยะ mid-exponential phase โดยเห็นได้ชัดว่าเอนไซม์กลุ่ม reductase มีส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดเฟอรูลิกให้เป็นกรดไฮโดรเฟอรูลิกและอนุพันธุ์อื่นๆในระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Knockaert และคณะ, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1.1 ปริมาณกรดเฟอรูลิกตั้งต้นในแต่ละชุดการทดลองก่อนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong (ตัวอย่างชุดควบคุม)

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	ปริมาณกรดเฟอรูลิก (mg) ($mg_{\text{ferulic acid}}$ / 150 $g_{\text{ตัวอย่างสารละลาย}}$)
อาหารรำข้าว + FAC	443.14 ± 1.56^{f}
อาหารรำข้าว + CPE	46.18 ± 1.98^{d}
อาหารรำข้าว + CCE	8.82 ± 1.55^{b}
อาหารรำข้าว	2.50 ± 0.10^{a}
FAC	434.64 ± 1.94^{e}
CPE	47.04 ± 0.86^{d}
CCE	11.55 ± 0.87^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d, e, f ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong

CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted

CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted

FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1.2 ปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดไฮโดรเฟอรูลิกและผลได้ของกรด HFA ในแต่ละชุดการทดลองภายหลังการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	ปริมาณกรดเฟอรูลิก (mg) (mg $_{\text{ferulic acid}}$/150 g ตัวอย่างสารละลาย)	ปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิก (mg) (mg $_{\text{hydro ferulic acid}}$/150 g ตัวอย่างสารละลาย)	ผลได้ของกรดไฮโดรเฟอรูลิก
อาหารรำข้าว + FAC + *Lp* Hong	1.66 ± 0.29 ^{a}	173.10 ± 6.22^{f}	0.39 ± 0.02^{c}
อาหารรำข้าว + CPE + *Lp* Hong	0.79 ± 0.19 ^{a}	30.23 ± 1.50^{d}	0.66 ± 0.01^{d}
อาหารรำข้าว + CCE + *Lp* Hong	0.24 ± 0.05 ^{a}	9.83 ± 1.15^{c}	0.85 ± 0.10^{e}
อาหารรำข้าว + *Lp* Hong	ND	2.63 ± 0.24^{b}	1.05 ± 0.13^{f}
FAC + *Lp* Hong	2.35 ± 0.20^{a}	152.04 ± 8.71^{e}	0.35 ± 0.02^{b}
CPE + *Lp* Hong	32.58 ± 2.24^{c}	10.30 ± 0.70^{c}	0.22 ± 0.02^{a}
CCE + *Lp* Hong	9.83 ± 0.72^{b}	2.01 ± 0.21^{a}	0.24 ± 0.07^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d, e, f ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong
CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted
CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted
FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical
ND หมายถึง Not detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

ตัวอย่างภายหลังจากหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45.48 ชั่วโมงถูกนำมาตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง จากตารางที่ 4.3 ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นก่อนและหลังการหมัก พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างมีค่าลดลงจากช่วง 6.01-8.58 เป็น 4.37-3.79 สาเหตุที่ตัวอย่างมีค่าพีเอชลดลงภายหลังจากกระบวนการหมัก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ใช้คาร์โบไฮเดรตภายในรำข้าวเพื่อสร้างกรดแลคติกในระหว่างกระบวนการหมักส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น (Bintsis, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นก่อนและหลังการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	
	ก่อนหมัก	หลังหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong
อาหารรำข้าว + FAC	6.28 ± 0.03^{aB}	4.09 ± 0.06^{cA}
อาหารรำข้าว + CPE	6.18 ± 0.01^{aB}	4.28 ± 0.00^{dA}
อาหารรำข้าว + CCE	7.60 ± 0.03^{cB}	4.31 ± 0.02^{dA}
อาหารรำข้าว	6.03 ± 0.03^{aB}	4.33 ± 0.02^{dA}
FAC	6.68 ± 0.04^{bB}	4.33 ± 0.05^{dA}
CPE	8.29 ± 0.42^{dB}	3.80 ± 0.02^{aA}
CCE	7.62 ± 0.06^{cB}	3.91 ± 0.03^{bA}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ A, B ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong

CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted

CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted

FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละชุดตัวอย่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันโดยตารางที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ก่อนและหลังกระบวนการหมักซึ่งตัวอย่างอาหารหมักแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นและลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ตัวอย่างที่ใช้กรดเฟอรูลิกเคมีและเคมีผสมด้วยอาหารรำข้าวเป็นสารตั้งต้นไม่มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ไม่มีแหล่งคาร์บอนหรือมีน้อยมากเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตซึ่งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ LAB สามารถใช้รำข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโตได้โดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ polysaccharides (Reyed และ El-Diwany, 2007) ดังนั้นชุดตัวอย่างทดลองที่ผสมด้วยรำข้าวจึงมีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าชุดที่ไม่ได้ผสมด้วยรำข้าว โดยตัวอย่างหมักสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงพบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong สูงกว่าตัวอย่างหมักสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ก่อนและหลังกระบวนการหมักของแต่ละชุดตัวอย่างการทดลอง

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (logCFU/g)	
	ที่เวลาที่ 0 ชม.	ที่เวลาที่ 45.48 ชม.
อาหารรำข้าว + FAC + *Lp* Hong	5.97 ± 0.08^{aA}	5.90 ± 0.01^{bA}
อาหารรำข้าว + CPE + *Lp* Hong	6.13 ± 0.00^{aA}	6.96 ± 0.07^{cB}
อาหารรำข้าว + CCE + *Lp* Hong	6.79 ± 0.07^{bcdA}	6.78 ± 0.21^{cA}
อาหารรำข้าว + *Lp* Hong	6.97 ± 0.09^{dA}	6.83 ± 0.01^{cA}
FAC + *Lp* Hong	6.81 ± 0.17^{cdB}	4.48 ± 0.00^{aA}
CPE + *Lp* Hong	6.59 ± 0.09^{bcA}	7.71 ± 0.05^{dB}
CCE + *Lp* Hong	6.57 ± 0.03^{bA}	6.79 ± 0.02^{cB}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ A, B ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong

CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted

CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted

FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างทดลองชนิดที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong ด้วยวิธี DPPH วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.5 พบว่า ตัวอย่างที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong มีค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้หมัก เนื่องจากการหมักสามารถทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นดังรายงานการวิจัยของ Rashid และคณะ (2015) กล่าวว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างรำข้าวหมักกับเชื้อรา *Rhizopus oryzae* มีค่าสูงขึ้นภายหลังการหมัก นอกจากนี้ตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงนั้นมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบเหลว เนื่องจากสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงมีปริมาณความชื้นต่ำกว่าเมื่อเตรียมในสัดส่วนที่เท่ากัน ส่งผลให้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงจึงมีปริมาณกรดเฟอรูลิกที่สูงกว่า (Kaur และคณะ, 2013) ดังนั้นความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงจึงสูงกว่าแบบเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging)	
	ก่อนหมัก	หลังหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong
อาหารรำข้าว + FAC	26.82 ± 0.62^{dA}	40.20 ± 0.99^{dB}
อาหารรำข้าว + CPE	6.24 ± 2.19^{aA}	19.23 ± 1.65^{cB}
อาหารรำข้าว + CCE	13.70 ± 2.69^{bA}	15.94 ± 3.14^{bcA}
อาหารรำข้าว	14.30 ± 2.13^{bA}	15.76 ± 3.24^{bcA}
FAC	20.31 ± 1.71^{cA}	21.70 ± 2.45^{cA}
CPE	3.46 ± 0.14^{aA}	10.59 ± 1.92^{abB}
CCE	3.21 ± 0.64^{aA}	4.91 ± 0.78^{aA}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d, e, f ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ A, B ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong
CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted
CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted
FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong

จากผลการทดลองทำการตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างทดลองชนิดที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร จากตารางที่ 4.6 พบว่าตัวอย่างที่ทำการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดที่ไม่ได้หมัก ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของกรดเฟอรูลิกในระหว่างกระบวนการหมัก โดยเกิดจากเอนไซม์ Ferulic acid esterase ที่ถูกผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้พันธะเอสเธอร์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับส่วนประกอบอื่นๆถูกตัดจึงสามารถปลดปล่อยอนุพันธุ์เดี่ยวของสารประกอบฟีนอลิกหรือสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆออกมา (Anastasia และคณะ, 2012) ส่งผลให้ตรวจพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างที่ผสมด้วยรำข้าวนั้นจะพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าแบบที่ไม่ได้ผสมรำข้าวเนื่องจากมีปริมาณของกรดเฟอรูลิกตั้งต้นที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong

ชนิดของตัวอย่างทดลอง	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg $_{\text{Gallic acid}}$ /g$_{\text{ตัวอย่าง}}$)	
	ก่อนหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong	หลังหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong
อาหารรำข้าว + FAC	28.00 ± 2.83^{dA}	54.33 ± 2.52^{eB}
อาหารรำข้าว + CPE	18.50 ± 1.00^{cA}	18.00 ± 1.00^{cA}
อาหารรำข้าว + CCE	3.00 ± 0.00^{aA}	8.33 ± 1.15^{bB}
อาหารรำข้าว	6.50 ± 2.12^{bB}	3.00 ± 0.00^{aA}
FAC	21.0 ± 1.41^{cA}	24.33 ± 2.10^{dA}
CPE	ND	3.33 ± 0.58^{a}
CCE	ND	ND

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ a, b, c, d, e, f ในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ A, B ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

Lp Hong หมายถึง *Lactobacillus plantarum* Hong
CPE หมายถึง Corn cob Powder Extracted
CCE หมายถึง Corn cob Concentration Extracted
FAC หมายถึง Ferulic acid Chemical
ND หมายถึง Not detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

ซังข้าวโพดเป็นวัสดุเศษเหลือที่มีกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบอยู่ค่อนข้างสูง จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปผงและของเหลว สามารถนำไปใช้ทดแทนกรดเฟอรูลิกแบบเคมี เพื่อเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* Hong ผลิตภัณฑ์ที่มีความน่าสนใจภายหลังจากกระบวนการหมักคือ กรดไฮโดรเฟอรูลิก โดยการใช้สารสกัดจากซังข้าวโพดร่วมกับอาหารรำข้าวพบว่า มีปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างหมักที่ไม่มีการใช้รำข้าว โดยตัวอย่างที่หมักด้วยเชื้อ *Lp* Hong มีค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าชนิดที่ไม่ได้หมัก แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเพิ่มความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและเพิ่มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดภายหลังการหมักได้ นอกจากนี้รูปแบบของสารสกัดกรดเฟอรูลิกที่นำมาใช้ในกระบวนการหมักนั้นส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงนั้นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างหมักที่ใช้สารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบเหลว แต่อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระภายหลังการหมักนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับระยะเวลาที่ใช้ในการหมักตัวอย่างที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณกรดไฮโดรเฟอรูลิกมากที่สุด เนื่องจากอาหารที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความแตกต่างจากอาหารที่ใช้งานวิจัยอ้างอิง

5.2.2 ควรศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อให้การหมักมีประสิทธิภาพมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมการข้าว. 2561. รำข้าว. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.ricethailand.go.th/Rkb/product/index.phpfile=content.php&id=13.htm. 14 พฤษภาคม 2562.

ธีธัช ดีหนู. ม.ป.ป. ซังข้าวโพด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://allbiomass.blogspot.com/2014/11/blog-post_71.html. 9 พฤศจิกายน 2561.

นัทธพงศ์ พละทรัพย์, อัฐพล อาจคงหาญ และปรเมศร์ เหล่าโรจน์ทวีกุล. 2559. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดเฟอรูลิกจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง. ภาคนิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (ฉบับบัณฑิตศึกษา) ฉบับที่. 4 เลขหน้า 69-79.

พัทธพล ตังคณานนท์ และวิศรุต ช้างสัมฤทธิ์. 2561. การศึกษาความคงตัวและอายุการเก็บรักษาสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดในรูปผงและของเหลวข้นหนืด. ภาคนิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0237/chromatography. 9 พฤศจิกายน 2561.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. สารประกอบฟีนอล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3154/hemicellulose. 4 พฤษภาคม 2561.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. แบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0782/lactic-acid-bacteriaแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก. 9 พฤศจิกายน 2561.

พูนทรัพย์ วิชัยพงษ์. 2553. กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid). โครงการทางชีวภาพ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

สมใจ ศิริโชค. 2537. เทคโนโลยีการหมัก. กรุงเทพ: ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีวทางอาหาร. กรุงเทพ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anastasia, S. H., Ida, R., Stine, G., Stefanie, S., Judith, N. and Stefan, S. 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. Journal of Agricultural Food Chemistry. 60: 6369-6375.

Aukrust, T. W., Blom, A., Sandtorv, B. F. and Slinde, E. 1994. Interaction between starter culture and raw material in lactic acid fermentation of sliced carrot. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 27: 337-341.

Bintsis, T. 2018. Lactic acid bacteria: their applications in foods. Journal of Bacteriology & Mycology. 6: 90-94.

Chakraborty, M., Savarese, M., Harbertson, E., Harbertson, J., and Ringer, K.L. 2010. Effect of the novel radiant zone drying method on anthocyanins and phenolics of three blueberry liquids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58: 324-330.

Eugenio, M.H.A., Pereira, R.G.F.A., Abreu, W.C. and Pereira, M.C.A. 2017. Phenolic compound and antioxidant activity of tuberous root leaves. International Journal of Food Properties. 20: 2966-2973.

Fukumoto, L.R. and Mazza, G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 3597-3604.

Huseyin, B. 2015. Ferulic acid in cereal. Czech Journal Food Science. 33: 1-7.

Ingkasupart, P., Manochai, B., Song, W.T. and Hong, J.H. 2015a. Antioxidant activities and lutein content of 11 marigold cultivars (*Tagetes* spp.) grown in Thailand. Food Science and Technology. 35: 380-385.

Ingkasupart, P. 2015b. Enhanced production of neuroprotective compounds from rice bran fermentation using *Lactobacillus plantarum* Hong. Graduate School. Department of Smart Foods and Drugs. Inje University.

Iqbal, S., Bhanger, M.I. and Anwar, F. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. Food Chemistry. 93: 265-272.

Kaur, B., Chakraborty, D. and Kumar, B. 2013. Phenolic biotransformations during conversion of ferulic acid to vanillin by lactic acid bacteria. Hindawi Publishing Corporation Biomedical Research International. 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Knockaert, D., Rae, K.., Wille, C., Struijs, K. and Camp, J. V., 2012. Metabolism of ferulic acid during growth of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus collinoides*. Wiley online library. Doi 10.1002/jsfa.5623

Mukerjee, S. 1987. Introduction of the sauerkraut fermentation at the farm and village level in India. In-Proc. Symosium on low-cost preservation of vegetables. Jadavpur University. 28 Mach 2019.

Rashid, N.Y.A., Razak, D.L.A., Jamaluddin, A., Sharifuddin, S.A. and Long, K. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. Malaysian Journal of Microbiology. 11: 156-162.

Reyed, R. and El-Diwany, A. 2007. Molasses as bifidus promoter on bifidobacteria and lactic acid bacteria growing in skim milk. The Internet Journal of Microbiology. 5: 1-8.

The Metabolomics Innovation Centre. 2016. Showing metabocard for Hydroferulic acid. [Online]. Available: http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0062121. 14 May 2019.

Torre, P., Aliakbarian, B., Rivas, B., Dominguez, J.M. and Converti, A. 2008. Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. Biochemical Engineering Journal. 40: 500-506.

Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. 1997. The lactic bacteria: The genera of lactic acid bacteria. Blackie academic & professional, New York. 7-15.

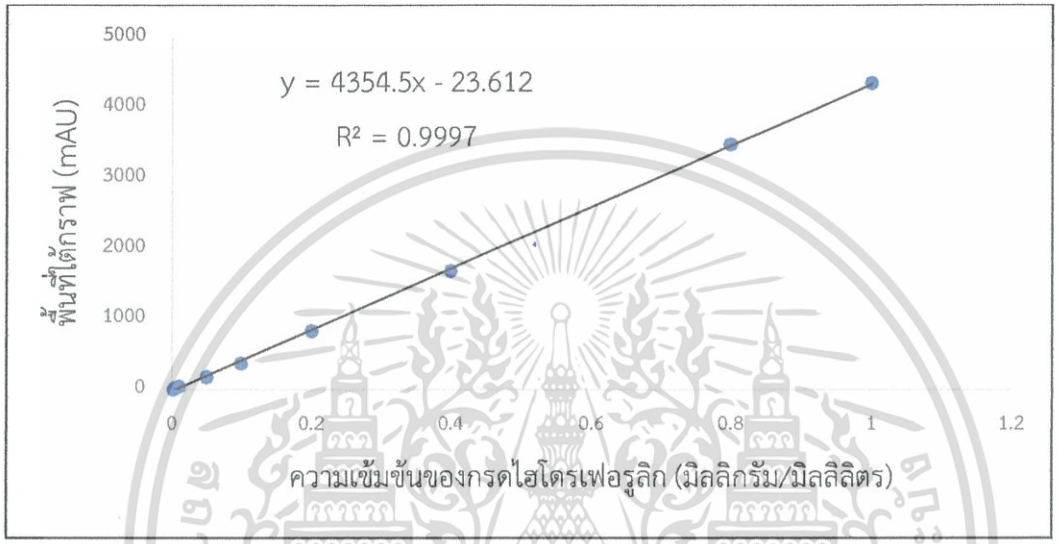
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

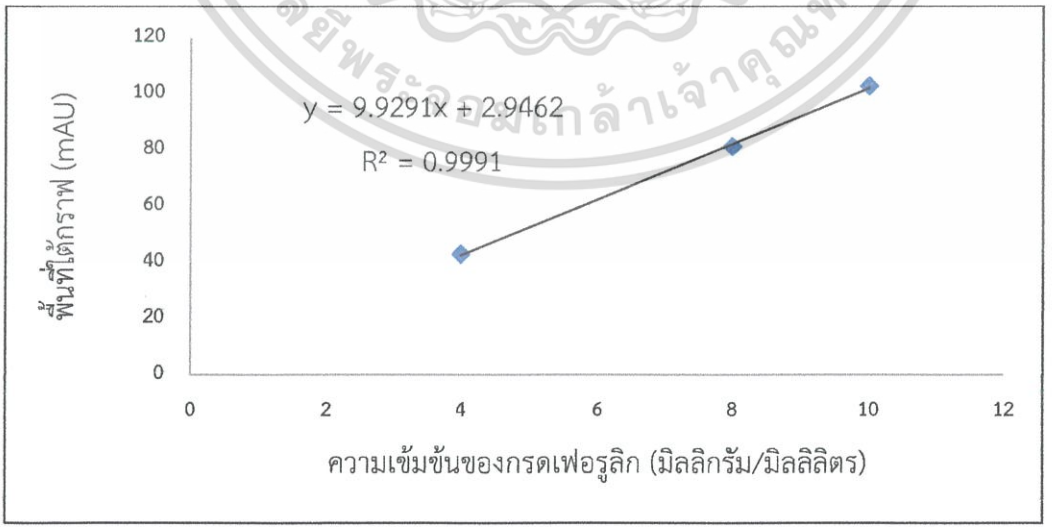
ภาคผนวก ก
กราฟประกอบปัญหาพิเศษ

ก.1 กราฟมาตรฐานกรดไฮโดรเฟอรูลิก



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของกรดไฮโดรเฟอรูลิก

ก.2 กราฟมาตรฐานกรดเฟอรูลิก

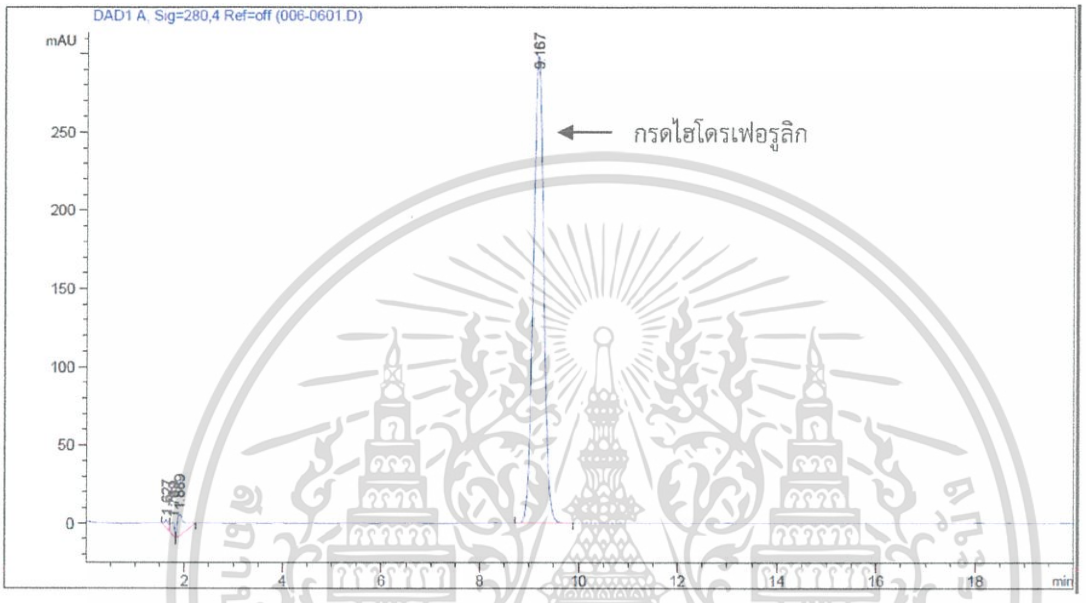


ภาพที่ ก.2 กราฟมาตรฐานกรดเฟอรูลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

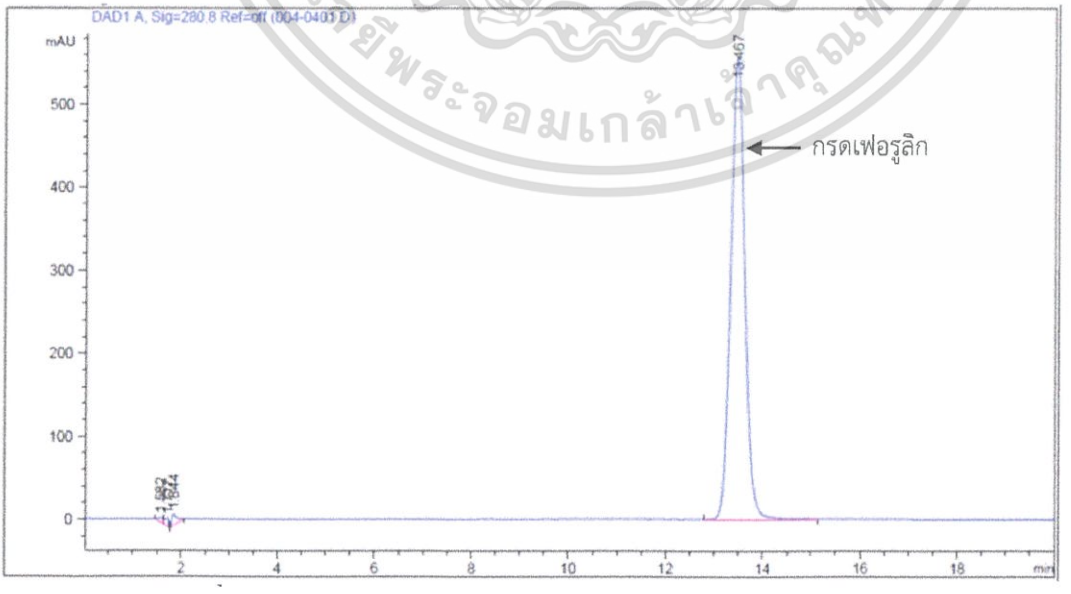
ภาคผนวก ข
รูปภาพประกอบปัญหาพิเศษ

ข.1 HPLC โครมาโตแกรมของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน



ภาพที่ ข.1 HPLC โครมาโตแกรมของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน

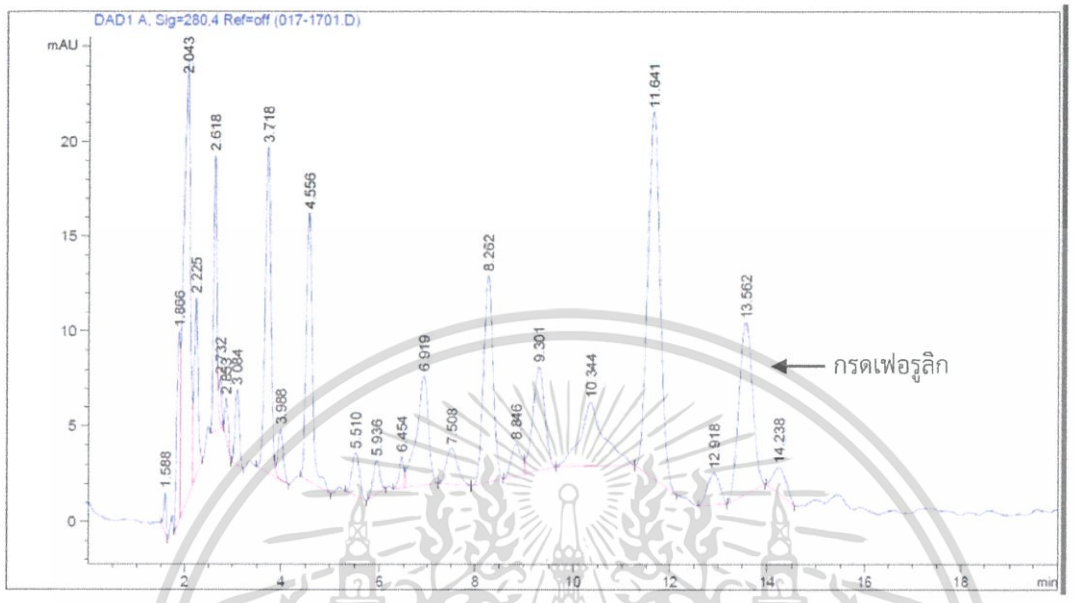
ข.2 HPLC โครมาโตแกรมของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน



ภาพที่ ข.2 HPLC โครมาโตแกรมของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน

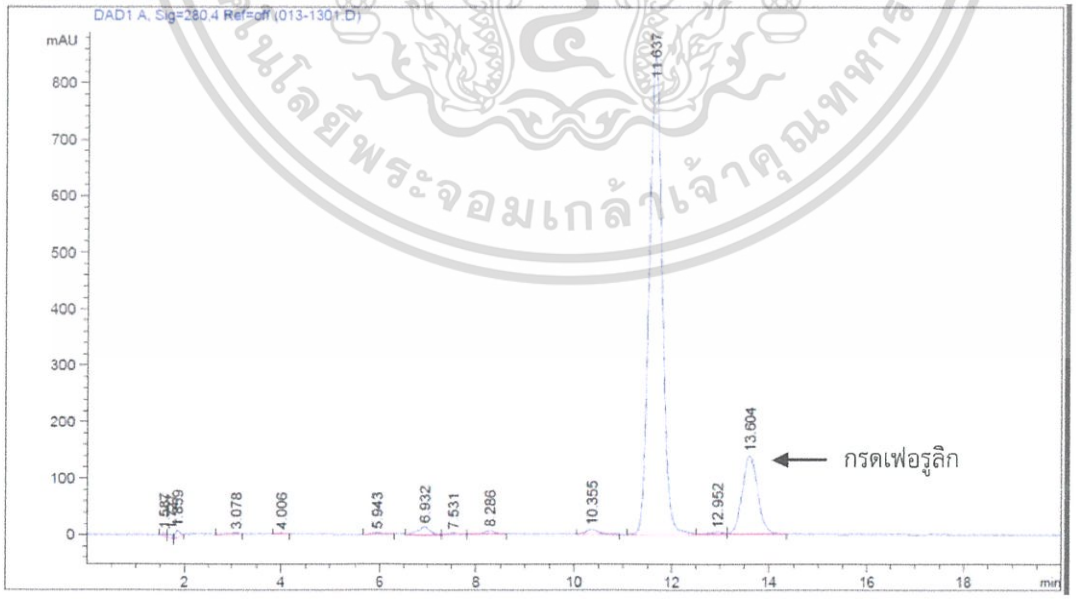
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)



ภาพที่ ข.3 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวควบคุมที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)

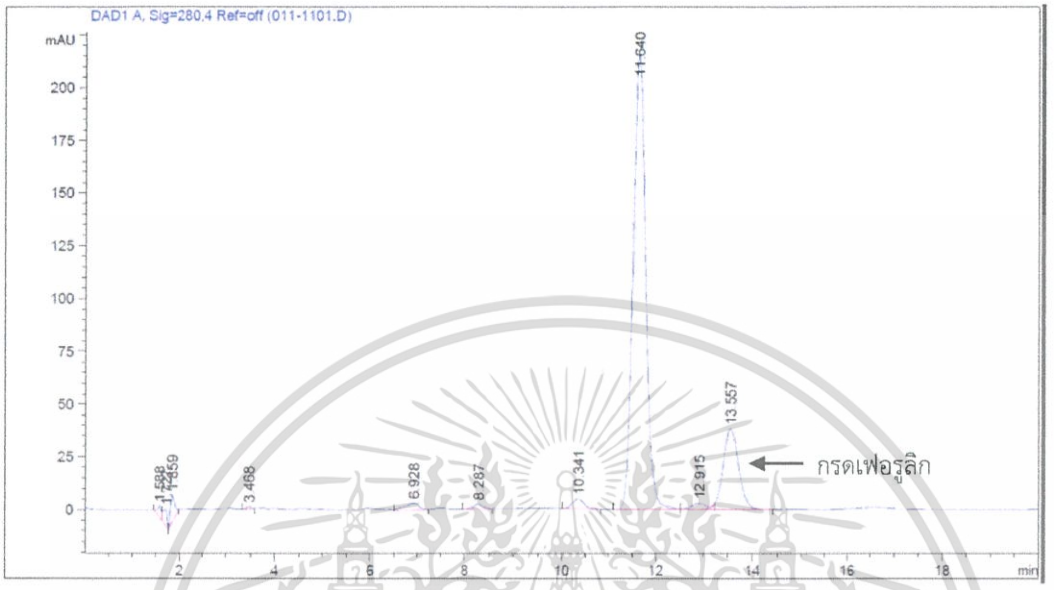
ข.4 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)



ภาพที่ ข.4 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)

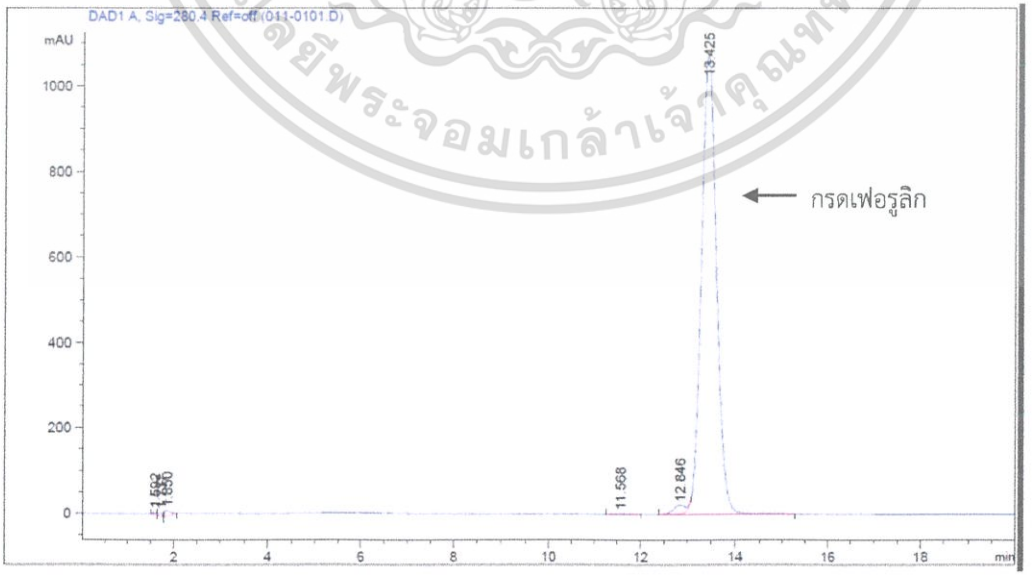
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.5 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)



ภาพที่ ข.5 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม)

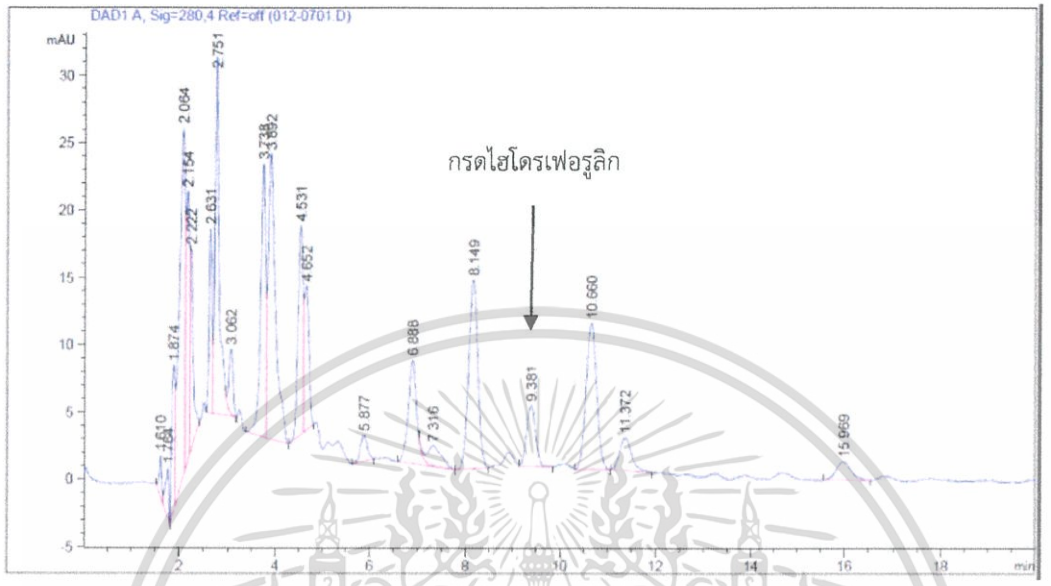
ข.6 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูริกเคมีที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก(ชุดควบคุม)



ภาพที่ ข.6 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูริกเคมีที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก(ชุดควบคุม)

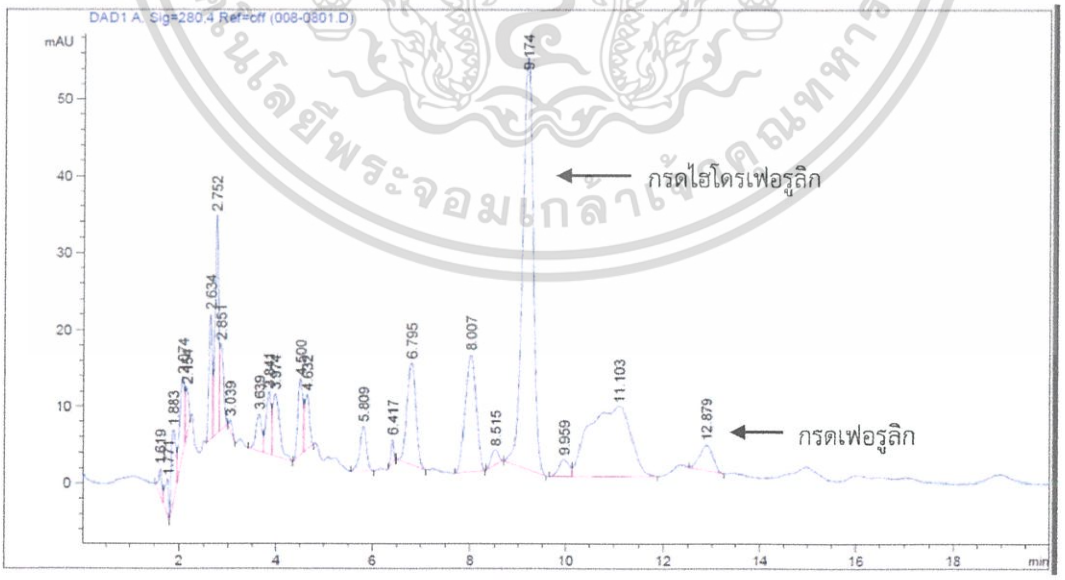
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.7 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.7 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างอาหารรำข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

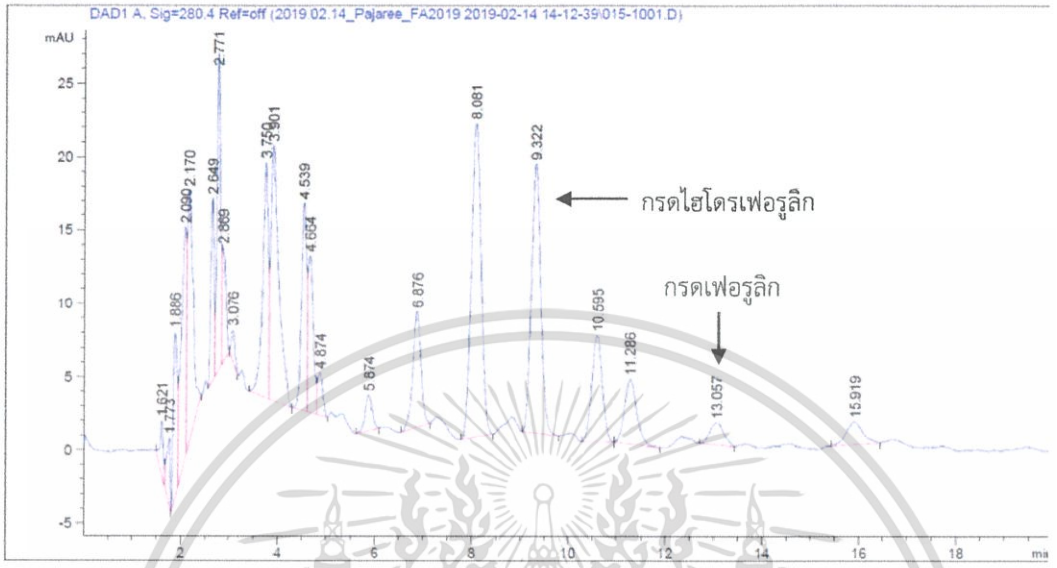
ข.8 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.8 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

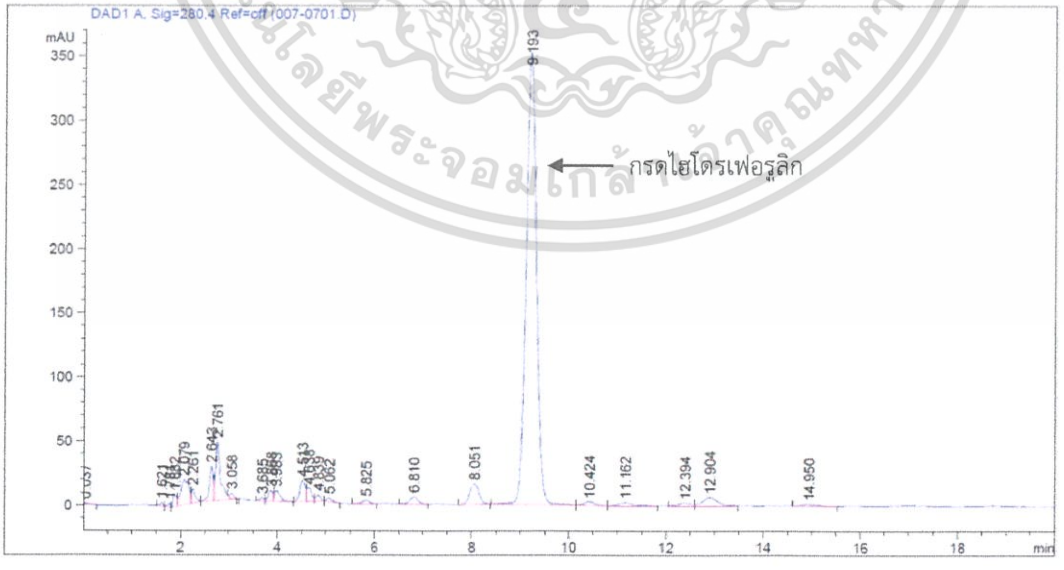
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.9 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.9 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

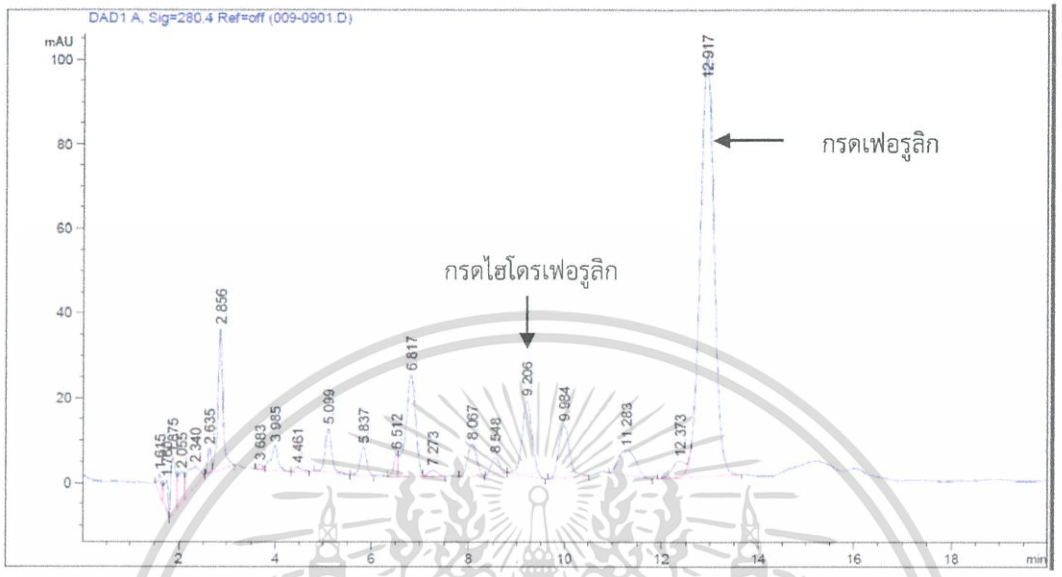
ข.10 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมกรดเฟอรูริกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.10 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวผสมกรดเฟอรูริกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

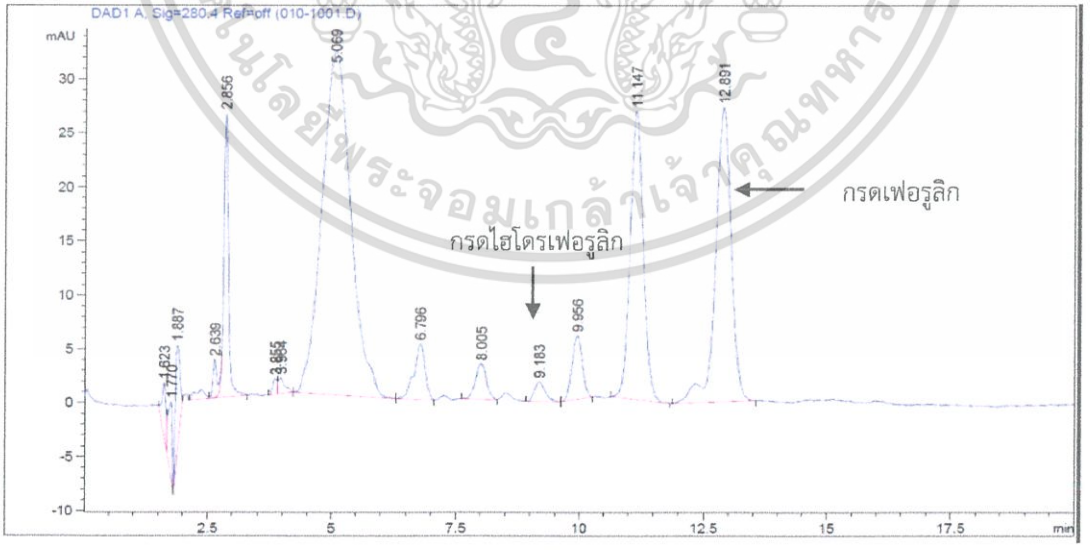
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.11 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.11 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบผงที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

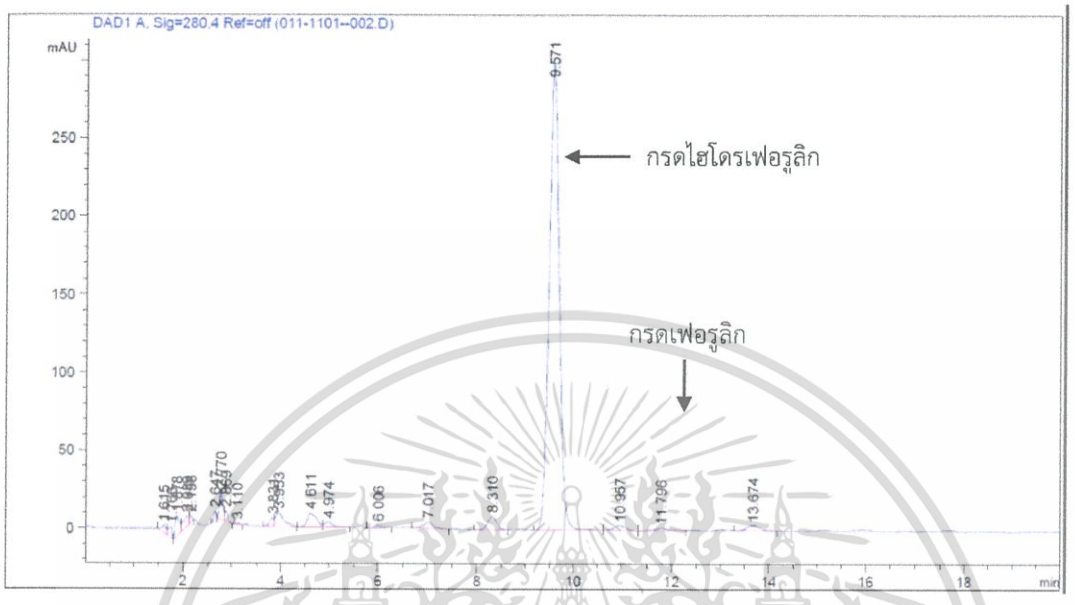
ข.12 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.12 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างสารสกัดกรดเฟอรูลิกจากซังข้าวโพดแบบของเหลวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

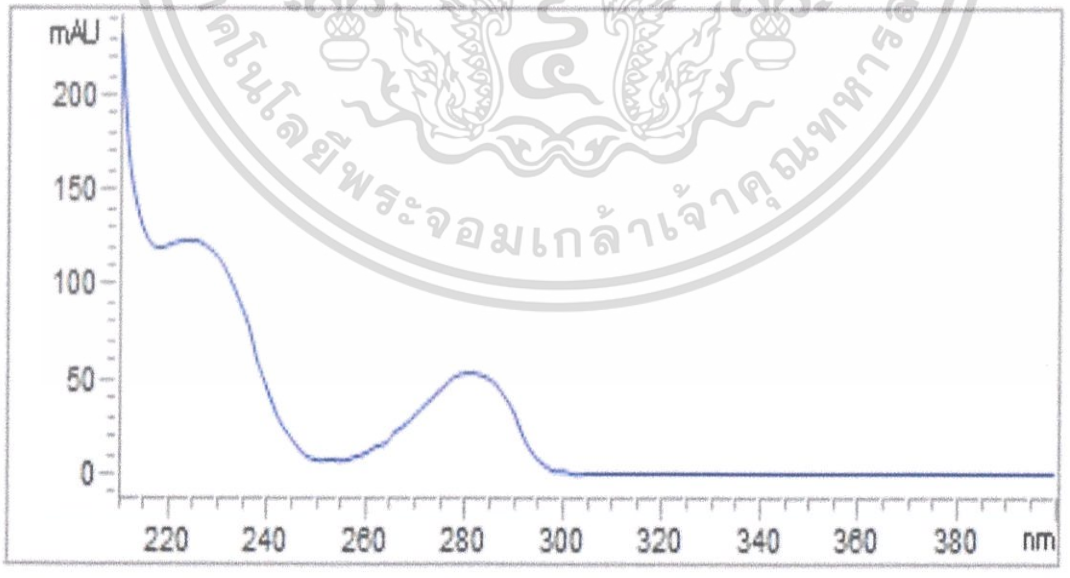
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.13 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูลิกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที



ภาพที่ ข.13 HPLC โครมาโตแกรมของตัวอย่างกรดเฟอรูลิกเคมีที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lp* Hong เป็นเวลา 45 ชั่วโมง 48 นาที

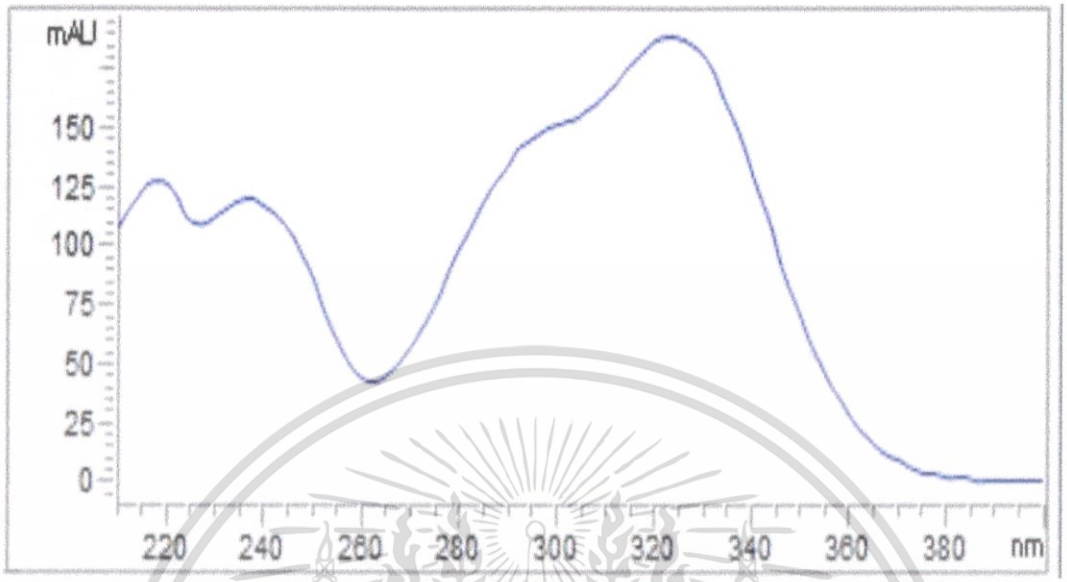
ข.14 UV-Spectrum ของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน



ภาพที่ ข.14 UV-Spectrum ของกรดไฮโดรเฟอรูลิกมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.15 UV-Spectrum ของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน



ภาพที่ ข.15 UV-Spectrum ของกรดเฟอรูลิกมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายสิปปวิชญ์ ศรีอินทร์
วัน เดือน ปี เกิด	19 กันยายน 2539
ประวัติการศึกษา	ระดับประถม โรงเรียนปรีชานุศาสตร์
	ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนชลราษฎรอำรุง
	ระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท เนสท์เล่ (ไทย) จำกัด

ชื่อ-นามสกุล	นายอธิวัฒน์ บุรินทร์วัฒนา
วัน เดือน ปี เกิด	30 มกราคม 2540
ประวัติการศึกษา	ระดับประถมศึกษา โรงเรียน นิรมล
	ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียน ศรียาภัย
	ระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท บริษัท ซีเฟรชอินดัสตรี จำกัด (มหาชน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้