

ผลของเส้นใยอาหารจากผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรีย
โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก

EFFECT OF FRUIT DIETARY FIBER ON GROWTH OF
PROBIOTIC BACTERIA IN FERMENTED MILK PRODUCT

เบญจมาศ แซ่กี้
ประภาวรินทร์ อินยา
ภัทรานิษฐ์ อ่องเอี่ยม

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

ผลของเส้นใยอาหารจากผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรีย
โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก

EFFECT OF FRUIT DIETARY FIBER ON GROWTH OF
PROBIOTIC BACTERIA IN FERMENTED MILK PRODUCT



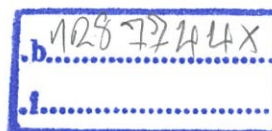
T148979

เบญจมาศ แซ่กี้
ประภาวรินทร์ อินยา
ภัทรานิษฐ์ อ่องเอี่ยม

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

148979

1 ๐ ๕.๐. 256๐



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558


EFFECT OF FRUIT DIETARY FIBER ON GROWTH OF
PROBIOTIC BACTERIA IN FERMENTED MILK PRODUCT

BENJAMAD SAIKE
PRAPHAWARIN INYA
PATTRANIT AUNGIEM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

หัวข้อโครงการพิเศษ	ผลของเส้นใยอาหารจากผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก		
	Effect of Fruit Dietary Fiber on Growth of Probiotic Bacteria in Fermented Milk Product		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเบญจมาศ	แซ่กี้	รหัสนักศึกษา 55051119
	นางสาวประภาวรินทร์	อินยา	รหัสนักศึกษา 55051127
	นางสาวภัทรานิษฐ์	อ่องเอี่ยม	รหัสนักศึกษา 55051148
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ลินจง สุขล้ำ กรรมการ	คิมอง กงสง ว
รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุรีย์ นานาสมบัติ

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	ผลของเส้นใยอาหารจากผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก			
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเบญจมาศ	แซ่กี้	รหัสนักศึกษา	55051119
	นางสาวประภาวรินทร์	อินยา	รหัสนักศึกษา	55051127
	นางสาวภัทรานิษฐ์	อ่องเอี่ยม	รหัสนักศึกษา	55051148
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)			
ภาควิชา	ชีววิทยา			
คณะ	วิทยาศาสตร์			
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)			
ปีการศึกษา	2558			
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ			

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผลไม้และเปลือกผลไม้จำนวน 14 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล ได้แก่ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ผลปรากฏว่าสารสกัดที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม (*Punica granatum*) เปลือกมะขามเทศ (*Pithecellobium dulce*) และผลของตะขบ (*Muntingla calabura*) มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.59, 0.81 และ 0.46 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม เปลือกส้มโอ (*Citrus maxima*) และเปลือกมะขามเทศ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 210.31, 80.63 และ 77.58 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง ได้แก่ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ (*Eugenia Javanica* Lamk) และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ (*Malus domestica*) ซึ่งมีปริมาณ 425.03 และ 239.44 มิลลิกรัมของสารสกัด ดังนั้นจึงได้คัดเลือกผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกทับทิม เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และผลตะขบ เพื่อนำมาเติมลงในนมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ตซึ่งหมักด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophiles* และ *Bifidobacterium*) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และในบรรดาพรีไบโอติกทั้งหมดการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีผลทำให้จำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตเพิ่มจำนวนได้มากที่สุด (มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 1.97 log CFU ต่อกรัม) และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด (ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.52) หลังจากหมัก 24 ชั่วโมง

คำจำกัดความ: กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โยอาหารทั้งหมด

Title	Effect of fruit dietary fiber on growth of probiotic bacteria in fermented milk product		
Student	Miss Benjamad Saike	Student ID 55051119	
	Miss Praphawarin Inya	Student ID 55051127	
	Miss Pattranit Aungiem	Student ID 55051148	
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Associate Professor Dr. Suree Nanasombat		

Abstract

In this study, 14 crude ethanolic extracts of dried fruit and fruit peels were analyzed for their phytochemical properties including antioxidant activity, total phenolic and indigestible polysaccharide. The extracts showing strong antioxidant activity were fruit peel extracts of pomegranate (*Punica granatum*) and manila tamarind (*Pithecellobium dulce*), fruit extract of takhop (*Muntingla calabura*) which showed reducing ability of 1.59, 0.81 and 0.46 mmol Fe(II)SO₄/g extract by ferric reducing antioxidant power (FRAP), respectively. The extracts with high amount of phenolic compounds were fruit peel extracts of pomegranate, grapefruit (*Citrus maxima*) and manila tamarind which had total phenolic content of 210.31, 80.63 and 77.58 mg gallic acid equivalent (GAE)/g extract, respectively. In addition, the extracts with high amount of indigestible polysaccharide were fruit peel extracts of rose apple (*Eugenia Javania* Lamk) and apple fuji (*Malus domestica*) (425.03 and 239.44 mg/g extract). Then, dried fruit peels of apple fuji, pomegranate, rose apple, manila tamarind and dried fruit of takhop were selected to add in milk for yogurt production which fermented by probiotic starter cultures (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophiles* and *Bifidobacterium*) in yogurt at 37°C for 24 hours. Among all treatments, addition of dried fruit peel of apple fuji in yogurt resulted in highest increase of total viable lactic acid bacteria (LAB) (1.97 log unit increase of LAB counts) and total acidity (2.52% increase) after 24 hour fermentation

Keywords: antioxidant activity, Total dietary fiber

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงการพิเศษในหัวข้อเรื่อง “ผลของเส้นใยอาหารจากผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก” ของนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีให้แก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ และกรรมการสอบโครงการพิเศษ รวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความสมบูรณ์เรียบร้อยยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้งานห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจ และให้คำปรึกษาในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆและพี่ๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจ และมีมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงการพิเศษนี้

เบญจมาศ แซ่กี้
ประภาวรินทร์ อินยา
ภัทรานิษฐ์ อ่องเอี่ยม

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ผลไม้.....	5
2.1.1 กล้วยหอม.....	5
2.1.2 แก้วมังกร.....	6
2.1.3 ชมพู่.....	6
2.1.4 ตะขบ.....	7
2.1.5 ทับทิม.....	8
2.1.6 ทูเรียน.....	8
2.1.7 ฟักข้าว.....	9
2.1.8 มะขามเทศ.....	9
2.1.9 มะละกอ.....	10
2.1.10 ลูกพลับ.....	10
2.1.11 ส้มแมนดาริน.....	11
2.1.12 ส้มโอ.....	11
2.1.13 สับปะรด.....	12
2.1.14 องุ่นแดง.....	12
2.1.15 แอปเปิ้ล.....	13
2.2 พรไบโอติก (Prebiotic).....	13
2.2.1 กลุ่มของสารพรไบโอติก.....	14
2.2.1.1 อินนูลิน (Inulin).....	14
2.2.1.2 โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide).....	16
2.2.1.3 น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar Alcohol).....	18
2.2.1.4 เส้นใยอาหาร (Dietary fiber).....	19
2.2.2 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรไบโอติก.....	20
2.2.2.1 ผลต่อระบบทางเดินอาหาร.....	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.2.2 ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด.....	20
2.2.2.3 ผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมัน.....	21
2.3 โพรไบโอติก (Probiotic).....	21
2.3.1 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้เป็น โพรไบโอติกในอาหารและเครื่องดื่ม.....	21
2.3.2 กลุ่มของแบคทีเรียที่จัดเป็นโพรไบโอติก.....	23
2.3.2.1 แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid Probiotic Bacteria).....	23
2.3.3 ประโยชน์ของโพรไบโอติกที่ส่งผลต่อสุขภาพ.....	24
2.3.3.1 การปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย.....	24
2.3.3.2 การลดภาวะร่างกายไม่สามารถย่อยหรือไม่ทนต่อน้ำตาลแล็กโทส.....	24
2.3.3.3 การป้องกันหรือลดระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง.....	24
2.3.3.4 การปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน.....	24
2.3.3.5 การลดภาวะภูมิแพ้และลดการอักเสบรุนแรง.....	25
2.3.3.6 การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด.....	25
2.3.3.7 บทบาทต่อสุขภาพด้านอื่นๆ.....	25
2.4 อนุมูลอิสระ.....	26
2.4.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation).....	26
2.4.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ.....	26
2.4.2.1 ขั้นอินิทิเอชัน (Chain initiation).....	27
2.4.2.2 ขั้นพรอพาเกชัน (Chain propagation).....	28
2.4.2.3 ขั้นเทอร์มิเนชัน (Chain termination).....	28
2.5 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant).....	29
2.5.1 ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติ.....	29
2.5.1.1 วิตามินเอ.....	29
2.5.1.2 วิตามินซี.....	29
2.5.1.3 สารประกอบฟีนอลิก.....	30
2.5.1.4 ฟลาโวนอยด์ (ไบโอฟลาโวนอยด์).....	30
2.5.2 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์.....	31
2.5.2.1 Gallic acid.....	31
2.5.2.2 EDTA.....	31
2.5.3 การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ.....	32
2.5.3.1 วิธี Scavenging activity of ABTS radical.....	32
2.5.3.2 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical.....	33
2.5.3.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity.....	34
2.5.3.4 วิธี Lipid peroxidation in liver homogenates.....	34
2.5.3.5 วิธี Metal chelating activity.....	35

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.3.6 วิธี Superoxide radical scavenging.....	35
2.5.3.7 วิธี Reducing power.....	36
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	37
3.1 อุปกรณ์.....	37
3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง.....	37
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	37
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง.....	37
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	38
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	38
3.2 วิธีการทดลอง.....	39
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้.....	39
3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80.....	39
3.2.2 การศึกษาสมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้.....	40
3.2.2.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ สารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay.....	40
3.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้.....	40
3.2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์.....	41
3.2.3 การศึกษาผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญ ของแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต.....	42
3.2.3.1 การเตรียมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้.....	42
3.2.3.2 การผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้.....	43
3.2.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	45
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	46
4.1 สมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้.....	46
4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay.....	46
4.1.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	46
4.1.3 ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย ด้วยกรดและเอนไซม์.....	50
4.2 ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ลงในโยเกิร์ต.....	52
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด ในระหว่างการหมักโยเกิร์ต.....	52

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมด.....	54
ในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก	
4.2.3 ปริมาณความชื้นของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้ง.....	56
จากเปลือกและผลของผลไม้	
4.2.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้ง.....	56
จากเปลือกและผลของผลไม้	
4.2.4.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี.....	56
Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay	
4.2.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ต.....	56
ที่มีการเติมผงแห้งเปลือกและผลของผลไม้	
4.2.5 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส.....	57
ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้	
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	59
เอกสารอ้างอิง.....	61
ภาคผนวก.....	70
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	71
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีและเอนไซม์ชนิดต่างๆ.....	72
ภาคผนวก ค การคำนวณ.....	91
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	105
ภาคผนวก จ การศึกษาผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีผลต่อ.....	129
การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก	
ภาคผนวก ฉ แบบประเมินความพึงพอใจของโยเกิร์ต.....	135
ภาคผนวก ช การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วย.....	136
วิธี DPPH radical scavenging assay	
ภาคผนวก ซ การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber).....	144
ภาคผนวก ฌ Product rescription.....	154

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณ Inulin และ Oligosaccharide ที่ใช้สำหรับการโภชนาการของมนุษย์.....	15
2.2 วิวัฒนาการของค่านิยมและการอธิบายถึงลักษณะเฉพาะของโพรไบโอติก.....	22
2.3 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆและสุขภาพ.....	25
3.1 ผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด.....	37
3.2 ค่าคงที่ของปริมาตรตัวอย่างที่จ่ายลงบน segment ที่นับโคโลนีทั้ง 2 ด้าน..... (ปริมาตรที่จ่าย 50 ไมโครลิตรต่อจาน)	44
4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ..... สารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้	52
4.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..... ที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก	53
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจาก..... เปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก	55
4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจาก..... เปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก	55
4.5 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ ปริมาณความชื้น..... ในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกผลไม้	57
4.6 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต.....	58

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กล้วยหอม.....	5
2.2 แก้วมังกร.....	6
2.3 ชมพู่.....	6
2.4 ตะขบ.....	7
2.5 ทับทิม.....	8
2.6 ทูเรียน.....	8
2.7 ฟักข้าว.....	9
2.8 มะขามเทศ.....	9
2.9 มะละกอ.....	10
2.10 ลูกพลับ.....	10
2.11 ส้มแมนดาริน.....	11
2.12 ส้มโอ.....	11
2.13 สับปะรด.....	12
2.14 องุ่นแดง.....	12
2.15 แอปเปิ้ล.....	13
2.16 โครงสร้างของอินนูลิน.....	15
2.17 โครงสร้างของน้ำตาลมอลโทส.....	16
2.18 โครงสร้างของน้ำตาลแลคโทส.....	17
2.19 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส.....	17
2.20 โครงสร้างของราฟฟิโนส.....	18
2.21 โครงสร้างของน้ำตาลแอกอฮอล์.....	18
2.22 ลักษณะแบคทีเรียกรดแลคติกเมื่อถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กำลังขยาย X15000 (รูปแบคทีเรีย <i>Lactobacillus plantarum</i> และ <i>Bifidobacterium longum</i>) และ X20000 (รูป <i>Lactobacillus casei</i> และ <i>Bifidobacterium infantis</i>)	23
2.23 โครงสร้างของกรดแกลลิก.....	31
2.24 โครงสร้างของ EDTA.....	32
2.25 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS.....	33
2.26 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical.....	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมา

สารต้านอนุมูลอิสระซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากออกซิเจน (reactive oxygen species หรือ ROS) และไนโตรเจน (reactive nitrogen species) ถูกสร้างขึ้นในร่างกาย เมื่อเผชิญกับสภาวะทางเคมี ภายภาพหรือมลภาวะต่างๆ โดยกระบวนการอนุมูลอิสระสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ เช่น ไขมันถูกทำให้เกิดความเสียหายโดยอนุมูลอิสระได้ง่ายเป็นผลให้ไขมันเกิดออกซิเดชัน (lipid peroxidation) โปรตีนที่ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระทำให้เกิดการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ และดีเอ็นเอที่ถูกทำลายทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenesis) และการเกิดโรคมะเร็ง (carcinogenesis) ซึ่งในที่สุดทำให้มนุษย์แก่ชราและป่วยเป็นโรคต่างๆ (Devasagayam และคณะ, 2004) อย่างไรก็ตามร่างกายมีระบบการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ (antioxidant enzyme) เช่น superoxide dismutase, glutathione peroxidases, heme peroxidase และ catalase ที่ช่วยป้องกันความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว แต่ถ้าหากเมื่อใดก็ตามที่ความสมดุลระหว่างการสร้าง ROS กับระบบการป้องกันโดยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติได้สูญเสียไป จะเป็นผลให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นได้ ซึ่งจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดพยาธิสภาพ รวมทั้งความผิดปกติของหัวใจและหลอดเลือด โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท โรคมะเร็ง ความผิดปกติในระบบเผาผลาญ และการเกิดริ้วรอยก่อนวัย (Bandyopadhyay และคณะ, 1999) ดังนั้นทางแก้ไขคือ จะต้องรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ต่อต้านอนุมูลอิสระ (neutralize free radical) และการกระทำของอนุมูลอิสระ โดยสารนี้จะไปจับกับอนุมูลอิสระ เช่น การดักจับ อนุมูลเพอร์ออกซิล (Peroxyl Radical) สารต้านอนุมูลอิสระที่ให้ผลดี เช่น วิตามินซีและวิตามินอี กลูตาไธโอน (glutathione) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารประกอบไทออล (thiol) ชนิดอื่นๆ และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีหลายการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นหรือไฟโตนิวเทรียนท์ (Phytonutrient) ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อและตัวอย่างเลือดกับการเกิดขึ้นของโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็งหรือการเสียชีวิตจากโรคเหล่านี้ (Devasagayam และคณะ, 2004)

ผลไม้เป็นแหล่งของวิตามิน แร่ธาตุ และใยอาหารที่สำคัญสำหรับมนุษย์ ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างบ้างในด้านปริมาณของสารดังกล่าว นอกจากนี้ในผลไม้ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดในผลไม้ ได้แก่ โพลีฟีนอล วิตามินเอ บี ซี และอี (Arshiya, 2013) เช่น วิตามินซีจะพบในผลไม้สดทุกชนิด แต่จะพบมากในสตอเบอร์รี่ ผลไม้ตระกูลส้ม และกีวี วิตามินเอส่วนใหญ่จะพบมากในผลไม้สีเหลือง เช่น แคนตาลูป (cantaloupe) และแอปริคอต (apricot) และไทอามิน (thiamin) จะพบมากในผลพลัม (plum) และผลไม้แห้งที่ไม่ผ่านการทำด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Lintas, 1992)

ในอุตสาหกรรมการผลิตผลไม้แปรรูปส่วนใหญ่จะมีเปลือกผลไม้จำนวนมากเป็นวัสดุเหลือทิ้ง และก่อให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม การนำเปลือกผลไม้มาใช้ประโยชน์จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหา (Parashar และคณะ, 2014) เนื่องจากเปลือกผลไม้ส่วนใหญ่อุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด Akhtar และคณะ (2015) มีรายงานว่าเปลือกทับทิมมีสารประกอบฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น เอลลาจิทแทนนิน (ellagitannins) สารประกอบพอลิแซคคาไรด์ โพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) ฟลาโวนอยด์ และธาตุอาหารรอง ในเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิจะพบสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ โพรไซยานิดินบี 3 (procyanidin B3) อีพิแคทีชิน (epicatechin) กรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) กรดโปรโตคาเทคชุยิก (protocatechuic acid) เควอร์ซีทิน-3-รามโนไซด์ (quercetin-3-rhamnoside) โพลริดีซิน (phloridzin) กรดพี-คูมาริก (p-coumaric acid) และรูทีน (rutin) (Veberic และคณะ, 2005) ในเปลือกกล้วยจะพบสารแคโรทีนอยด์ (carotenoid) และสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ กรดวานิลลิก (vanillic acid) แคทีชิน (catechin) กรดแกลลิก (gallic acid) และอีพิแคทีชิน (Singh และคณะ, 2016) และเปลือกส้มแมนดารินจะพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ได้แก่ สารฟลาโวนอนด์ (flavonone) เช่น เฮสเปเรติน (hesperetin) และนารินจินิก (naringenin) สารฟลาโวนอยด์ (flavonol) เช่น แคมพ์เฟอรอล (keampferol) และเควอร์ซีทิน (quercetin) และกรดฟีนอลิก เช่น กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) (Wang และคณะ, 2008) จากรายงานการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าเปลือกผลไม้หลายชนิดมีสารประกอบฟีนอลิกสูงและมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ เปลือกทับทิม (Manasathien และคณะ, 2011) เปลือกแก้วมังกร (Nurliyana และคณะ, 2010) เปลือกสับปะรด (Rashad และคณะ, 2015) เปลือกเสาวรส (Wong และคณะ, 2014) และเปลือกส้ม (Hegazy และ Ibrahim, 2012) แต่ก็ยังมีเปลือกผลไม้ เช่น เปลือกมะขามเทศและเปลือกชมพู-ทับทิมจันทร์ที่ยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษาวิจัยไว้ ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเปลือกผลไม้เหล่านี้

ในอุตสาหกรรมการแปรรูปผลไม้มีเปลือกผลไม้ปริมาณมากเป็นวัสดุเหลือทิ้ง ดังการรายงานของ Aguiar และคณะ (2008) ที่กล่าวว่าการใช้สับปริมาณ 33 ล้านตันเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มในปี 2006 ทำให้เกิดเปลือกสับที่ปริมาณ 20 ล้านตัน ที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมนี้ ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการแก้ปัญหานี้วิธีหนึ่งคือการนำเปลือกผลไม้มาใช้ประโยชน์ เช่น นำมาอบแห้งแล้วบดเป็นผงเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ (Kasapidou, 2015) ในเปลือกผลไม้หลายชนิด นอกจากจะมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีสารจำพวกพรีไบโอติกซึ่งเป็นสารที่ไม่ถูกย่อยและจะมีประโยชน์ต่อแบคทีเรียในลำไส้ โดยที่สารจำพวกพรีไบโอติกจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Gibson และ Roberfrid, 1995)

สารที่จัดเป็นพรีไบโอติกได้แก่สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย รวมไปถึงใยอาหาร (fiber) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เพคติน (pectin) และ ลิกนิน (licnin) มีรายงานว่าเปลือกผลไม้หลายชนิดมีสารพรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบ เช่น เปลือกแอปเปิ้ลมีสาร ลิกนิน เพคติน และเซลลูโลส (Yan และ Ker, 2013) ในองุ่นมีเพคติน เซลลูโลส และใยอาหาร (Llobera และคณะ, 2007) และในเปลือกส้มชนิดต่างๆยังมีใยอาหาร และน้ำตาล oligosaccharide (Chau และ Huang, 2003) แต่ยังมีเปลือกผลไม้หลายชนิด เช่น สับปะรด ลูกพลับ ฟักข้าว มะขามเทศ ตะขบ กล้วย และ ชมพู-ทับทิมจันทร์ ที่ยังไม่มีใครศึกษาเพื่อหาปริมาณสารพรีไบโอติกรวมทั้งสาร indigest

polysaccharide ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะศึกษาหาปริมาณสาร indigest polysaccharide ในเปลือกผลไม้ดังกล่าว

โยเกิร์ตโพรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับและมีผู้บริโภคผลิตภัณฑ์นี้เป็นจำนวนมาก โยเกิร์ตโพรไบโอติกมีรสชาติที่เป็นกรดเล็กน้อย มีการย่อยที่ดี มีความหลากหลายในรสชาติ และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งมีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ เช่น (*Lactobacilli*, *Streptococci*, *Enterococci*, *Lactococci* และ *Bifidobacteria*) อีกทั้งยังมี *Bacillus* spp. และเชื้อราบางชนิดอีกด้วย เช่น *Saccharomyces* spp. และ *Aspergillus* spp. (Penner และคณะ, 2005)

ดังนั้น การนำเปลือกผลไม้มาเติมลงในโยเกิร์ตช่วยให้เกิดความหลากหลายในบริโภคช่วยเพิ่มสารอาหารให้กับร่างกาย และยังช่วยเพิ่มมูลค่าของสินค้าได้อีกด้วย ซึ่งการเติมส่วนผสมจากผลไม้ลงในน้ำนมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ตเป็นการเพิ่มใยอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ โดยประโยชน์ของโยเกิร์ตที่เติมผลไม้จะทำให้ผู้บริโภคมีความสนใจในสารอาหารที่จะได้รับประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์และประโยชน์ต่อสุขภาพ นักวิจัยหลายท่านได้ประสบความสำเร็จในการเติมส่วนผสมจากผลไม้ลงในโยเกิร์ต ได้แก่ การเติมสารสกัดจากองุ่นในโยเกิร์ต (Chouchouli และคณะ, 2013) การผลิตคีเฟอร์ที่เติมน้ำผลไม้ (Randazzo และคณะ, 2016) และการผลิตน้ำมันดอกทานตะวันที่ใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุด (Chong และคณะ, 2015) ซึ่งโยเกิร์ตที่เป็นโพรไบโอติกจะมีคุณค่าทางสารอาหารสูงและมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของผู้สูงอายุ โดยจะช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และโรคอ้วน (Santiago และคณะ, 2016)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1.2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกและผลของผลไม้
- 1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์จากเปลือกและผลของผลไม้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

- 1.3.1 สกัดสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 จากผลไม้ทั้งหมด 15 ชนิด ได้แก่ กล้วยหอม แก้วมังกรแดง ชมพูทับทิมจันทร์ ตะขบ ทูเรียนหมอนทอง ทับทิม ฟักข้าว มะขามเทศ มะละกอสุก ลูกพลับ สับปะรด ศรีราชา ส้มแมนดาริน ส้มโอ องุ่นแดงนอก และแอปเปิ้ลฟูจิ
- 1.3.2 ศึกษาคุณสมบัติทางพิษเคมีในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ ทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
- 1.3.3 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกด้วยการหาสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์
- 1.3.4 ศึกษาผลกระทบของสารโพรไบโอติกในเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติทางด้านพิษเคมีในเปลือกและผลของผลไม้ เช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
- 1.4.2 ทำให้ทราบถึงผลกระทบของสารพรีไบโอติกในเปลือกและผลของผลไม้ที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลไม้

ผลไม้เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากสิ่งมีชีวิตจำพวกพืช โดยลักษณะรวมๆจะมีรูปทรงคล้ายทรงกลมหรือทรงรี ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันบ้างตามสายพันธุ์ โดยปกติผลไม้จะต้องมีเปลือกหรือมีสิ่งที่ห่อหุ้มเนื้อที่อยู่ข้างใน ซึ่งมักจะถูกนำไปเป็นอาหารโดยมนุษย์หรือสัตว์ ในส่วนของการเจริญเติบโตสามารถขยายพันธุ์ได้โดยดอก เมล็ด หรือ อื่นๆ ซึ่งผลไม้ที่ออกมานี้ตอนแรกจะมีขนาดเล็กและมักจะไม่ค่อยถูกนำมารับประทานโดยมนุษย์ แต่เมื่อเติบโตจนสุกงอมจะมีลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิม คือ เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง มีกลิ่นหอม และรสหวาน เป็นต้น จนสามารถนำมารับประทานหรือประกอบอาหาร ส่วนมากมักจะเป็นอาหารหวาน ถ้าผลไม้สุกงอมเต็มที่จะมีลักษณะที่ก่อให้เกิดประโยชน์ได้น้อยลง เช่น เน่าเสีย บุด ขึ้นรา เป็นต้น และจะหลุดร่วงจากต้นลงสู่พื้นดินหรือพื้นน้ำกลายเป็นอาหารให้แก่ห่วงโซ่อาหารลำดับถัดไป เช่น แบคทีเรีย จุลินทรีย์ จนกลายเป็นอินทรีย์ธาตุหรืออินทรีย์ธาตุหมุนเวียนเป็นวัฏจักรต่อไป การที่จะบอกได้ว่าเป็นผลไม้อะไรนั้นจำเป็นต้องมีสิ่งบ่งชี้อื่นๆประกอบหลายอย่าง เช่น เปลือกมีลักษณะเป็นหนามและแข็ง เนื้อข้างในผลมีสีเหลือง หมายถึง ทุเรียน เป็นต้น (พรทิพย์, 2553)

ปัจจุบันประชากรไทยมีปัญหาเรื่องสุขภาพมากขึ้นเนื่องจากวิถีชีวิตในเมืองเปลี่ยนไปจากการปรุงอาหารเองมาเป็นการซื้ออาหารสำเร็จรูป และรับประทานอาหารจากร้านสะดวกซื้อทำให้ได้รับสารอาหารไม่ครบหมู่ ส่งผลให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคสมองเสื่อม โรคหัวใจ โรคอ้วน เป็นต้น ประกอบกับประชากรไทยมีอายุเฉลี่ยสูงขึ้นทำให้ค่ารักษาพยาบาลสูงขึ้นเพื่อลดปัญหาด้านสุขภาพรัฐบาลจึงมีนโยบายส่งเสริมให้มีการรับประทานผักและผลไม้โดยยึดเกณฑ์ของ WHO ที่ให้รับประทานผักและผลไม้ปริมาณ 400 กรัมต่อวัน (พรทิพย์, 2553) ซึ่งตัวอย่างของผลไม้ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้แก่

2.1.1 กล้วยหอม



รูปที่ 2.1 กล้วยหอม

ที่มา : <http://www.drwallet.jp/navi/1339/> (27 ต.ค. 2558)

กล้วยหอมเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารต่างๆมากมายที่ร่างกายควรได้รับ และให้พลังงานมากถึง 100 กิโลแคลอรีต่อหน่วย เนื่องจากในกล้วยหอมนั้นมีน้ำตาลอยู่ถึง 3 ชนิด ได้แก่ ซูโครส ฟรักโทส และกลูโคส รวมทั้งเส้นใยอาหาร ดังนั้น ร่างกายเราจะได้รับพลังงานและสามารถนำไปใช้ได้ทันที นอกจากคุณประโยชน์ในแง่สารอาหารแล้ว กล้วยหอมยังมีสรรพคุณอื่นๆที่น่าสนใจ

เช่น ลดอาการซึมเศร้า เพราะว่ามีสารทริปโตเฟน เป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งซึ่งร่างกายสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นซีโรโทนิน สารกระตุ้นที่ทำให้ร่างกายรู้สึกผ่อนคลาย อารมณ์สดใสและมีความสุข โรคโลหิตจาง กลัวยหอบหืดไปด้วยธาตุเหล็กซึ่งมีส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้ร่างกายสร้างฮีโมโกลบินให้กับเม็ดเลือดแดง จึงช่วยป้องกันไม่ให้เกิดโรคโลหิตจางได้ ช่วยลดความดันโลหิต เพราะว่ามีเกลือแร่ที่สำคัญ คือ โพแทสเซียม ช่วยเพิ่มพลังสมองเพราะสารที่อยู่ในกล้วยหอมช่วยสร้างความตื่นตัวให้กับสมองได้ กล้วยหอมเป็นผลไม้ที่หากินได้ง่ายแถมยังเป็นที่ยิยมส่งออกให้กับต่างประเทศอีกด้วย (นิจศิริ และ ธวัชชัย, 2547)

2.1.2 แก้วมังกรแดง



รูปที่ 2.2 แก้วมังกรแดง

ที่มา : <http://www.drwallet.jp/navi/1339/> (27 ต.ค. 2558)

แก้วมังกรแดงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Hylocereus undatus* (Haw) Britt. & Rose แก้วมังกรมีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกากลางจัดเป็นไม้ในตระกูลกระบองเพชร สามารถปลูกได้ทั่วประเทศ แต่แหล่งเพาะปลูกที่สำคัญจะอยู่ที่จังหวัดจันทบุรี ชลบุรี กาญจนบุรี สระบุรี และสมุทรสงคราม โดยผลจะมีรูปร่างกลมรี มีเปลือกสีแดง มีเมล็ดคล้ายเม็ดแมงลักอยู่ทั่วผล โดยแก้วมังกรจะมีสายพันธุ์ดังนี้ คือ แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง จะมีรสชาติหวานนิดๆอมเปรี้ยวหน่อยๆ แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกเหลือง ให้รสชาติออกหวานและแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดงจะมีรสชาติหวานกว่าพันธุ์อื่นๆ แก้วมังกรแดงเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เมื่อเรารับประทานแก้วมังกร 1 ลูกที่มีน้ำหนัก 100 กรัม ร่างกายจะได้รับคาร์โบไฮเดรต 12.4 กรัม โปรตีน 1.4 กรัม พลังงาน 66 กิโลแคลอรี ฟอสฟอรัส 32 มิลลิกรัม วิตามินซี 7 มิลลิกรัม และมีปริมาณใยอาหาร 2.6 กรัมประโยชน์ของแก้วมังกรช่วยบำรุงผิวพรรณให้เปล่งปลั่ง ช่วยดับร้อน ช่วยดับกระหายได้เป็นอย่างดี ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ลดเลือนริ้วรอยต่างๆ ช่วยป้องกันการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจ รักษาโรคเบาหวาน ทั้งยังช่วยดูดซับสารพิษต่างๆออกจากร่างกาย เช่น สารตกค้างอย่างตะกั่วที่มาจากควันท่อไอเสีย หรือสารตกค้างจากยาฆ่าแมลง (นิดดา และทวีทอง, 2550)

2.1.3 ชมพู่



รูปที่ 2.3 ชมพู่

ที่มา : <http://www.istockphoto.com/photos/rose-apple> (27 ต.ค. 2558)

ชมพูมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Eugenia Javanica* Lamk ชมพูมีลำต้นค่อนข้างใหญ่ ต้นจะมีความสูงประมาณ 15 ถึง 21 เมตร ลำต้นขรุขระมีสีน้ำตาลคล้ำ ใบค่อนข้างใหญ่เรียวยาว มีดอกสีขาวอมเหลืองออกเป็นช่อ ผลมีกลิ่นหอมรูปทรงคล้ายระฆังคว่ำและสีส้มแตกต่างกัน มีทั้งสีแดง สีเขียวหรือเขียวมีแดงแทรก มีเนื้อฉ่ำน้ำ รสชาติจะมีตั้งแต่จืดกระทั่งหวานจัด บางพันธุ์มีเมล็ด บางพันธุ์มีเฉพาะไส้ โดยในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคมเป็นฤดูกาลของชมพูที่ออกผลปีละครั้ง ซึ่งแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญอยู่ที่อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรีและเพชรบุรี เป็นต้น ประโยชน์ของชมพู ถ้าผลสดจะให้เส้นใยอาหารทั้งชนิดที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำซึ่งดีต่อระบบขับถ่าย ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ลดความเสี่ยงของการเกิดภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง โรคหัวใจ และมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีวิตามินเอที่ช่วยบำรุงสายตาและผิวพรรณ วิตามินซีช่วยปกป้องร่างกายด้วยการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากร่างกายต้องการวิตามินซีเพื่อสร้างคอลลาเจนที่จำเป็นต่อการสร้างผิวหนังและรักษาบาดแผล นอกจากนี้ ชมพูยังช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงของกระดูกและฟันด้วยแคลเซียมและแมกนีเซียม และยังเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งในไม่กี่ชนิดที่มีไลโคพีนรงควัตถุสีแดงที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันโรคมะเร็งให้ติดต่อเรื้อรัง ลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร สำหรับผู้ป่วยโรคไตที่ต้องจำกัดปริมาณน้ำควรระวังในการกิน เพราะชมพูมีปริมาณน้ำค่อนข้างมาก (นิดดา และทวีทอง, 2550)

2.1.4 ตะขบ



รูปที่ 2.4 ตะขบ

ที่มา: <http://www.atsurin.com> (27 ต.ค. 2558)

ตะขบมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Muntingla calabura* L. อยู่ในวงศ์ Muntingiaceae ลักษณะของตะขบจัดเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีความสูงประมาณ 5 ถึง 7 เมตร ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวเป็นรูปไข่ ปลายใบเรียว โคนใบมนมีขนาดความกว้างประมาณ 1.5 ถึง 3.5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 4.5 ถึง 9 เซนติเมตร หลังใบด้านบนเป็นสีเขียว ส่วนท้องใบด้านล่างเป็นสีนวล เส้นแขนงใบมี 3 ถึง 5 เส้น ดอกตะขบมีสีขาวจำนวน 5 กลีบ จะออกดอกบริเวณเหนือซอกใบ ส่วนผลของตะขบมีลักษณะเป็นทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.75 ถึง 1.5 เซนติเมตร มีเปลือกบาง ผลอ่อนเป็นสีเขียวเมื่อสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีแดง รสชาติหวาน ตะขบมักขึ้นเองตามธรรมชาติสามารถขยายพันธุ์ได้เอง โดยวิธีเพาะเมล็ดออกดอกและติดผลตลอดปี ตะขบเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยพลังงาน เส้นใยอาหาร แคลเซียม โพแทสเซียมและโซเดียม จากการวิจัยพบว่าตะขบสามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ลดความเสี่ยงมะเร็งลำไส้ใหญ่ และเส้นเลือดในสมองแตกได้ (นิดดา และทวีทอง, 2550)

2.1.5 ทับทิม



รูปที่ 2.5 ทับทิม

ที่มา : <http://www.goodlife.co.th/www/eating.php> (27 ต.ค. 2558)

ทับทิม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Punica granatum* L. จัดอยู่ในวงศ์ Lythraceae ทับทิม เป็นผลไม้ที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศอิหร่านทางตอนใต้ของอัฟกานิสถาน ผลไม้ชนิดนี้จะชอบอากาศหนาวเป็นพิเศษ ยิ่งอากาศหนาวมาก เนื้อทับทิมก็จะมีสีแดงมากยิ่งขึ้น และยังเป็นผลไม้มงคลของคนจีนอีกด้วย ทับทิมเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดหวานออกเปรี้ยวจึงทำให้มีวิตามินซีสูง และยังประกอบไปด้วยเกลือแร่ต่างๆที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จึงช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี และนอกจากนี้ ยังมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรคได้อีกด้วย เช่น บรรเทาอาการของโรคหัวใจ รักษาความดันโลหิตสูง ช่วยลดสภาวะการแข็งตัวของเลือด รักษาโรคบิด เป็นต้น (นิตดา และทวีทอง, 2550)

2.1.6 ทูเรียน



รูปที่ 2.6 ทูเรียน

ที่มา : <http://frynn.com>. (27 ต.ค. 2558)

ทูเรียนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Durio zibthinus* Murray จัดอยู่ในวงศ์ Maldaceae ทูเรียน จัดว่าเป็นราชาผลไม้ไทย โดยเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย และบรูไน โดยลักษณะของผลทูเรียนจะมีขนาดใหญ่ ผลรีถึงกลม และมีเปลือกสีเขียวถึงสีน้ำตาลที่ปกคลุมไปด้วยหนามแข็ง ผลทูเรียนจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 เซนติเมตร และมีเนื้อที่นำมารับประทานเป็นสีเหลืองซีดจนถึงสีแดงซึ่งจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมและปลูกกันมาก คือ พันธุ์หมอนทอง ชะนี กระดุมทอง และก้านยาว เป็นต้น ทูเรียนเป็นผลไม้ที่มีกลิ่นเฉพาะตัว โดยเนื้อในจะเหมือนคัสตาร์ด มีรสชาติดคล้ายอัลมอนด์ สรรพคุณของทูเรียน ส่วนเนื้อจะช่วยแก้โรคผิวหนัง ทำให้ผิแห้ง ใบช่วยขับพยาธิ ทำให้หนองแห้ง เปลือกแก้โรคคางทูม ช่วยรักษาแผลพุพอง และรากช่วยรักษาอาการท้องร่วงได้ (นิตดา และทวีทอง, 2550)

2.1.7 ฟักข้าว



รูปที่ 2.7 ฟักข้าว

ที่มา : <http://nafoodsgroup.com.vn> (27 ต.ค. 2558)

ฟักข้าวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Momordica cochinchinensis* (Lour.) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ฟักข้าวมีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศจีนตอนใต้ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวเป็นรูปหัวใจหรือรูปไข่คล้ายใบโพธิ์ ดอกมีลักษณะคล้ายดอกตำลึง กลีบดอกมีสีขาวแกมเหลือง ส่วนก้านเกสรมีสีม่วงแกมดำ ผลมีลักษณะคล้ายรูปไข่กลมรี เปลือกมีหนามอยู่รอบผล ผลอ่อนจะมีสีเขียวอมเหลืองแต่เมื่อสุกแล้วจะมีสีส้มอมแดง ภายในผลจะมีเมล็ดสีน้ำตาลจำนวนมาก ด้านในเมล็ดมีเนื้อสีขาวประโยชน์ของฟักข้าวจะมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร และมะเร็งปอด โพรตีนจากฟักข้าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเอชไอวี (HIV) นอกจากนี้ ฟักข้าวยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายอย่าง เช่น น้ำฟักข้าว ฟักข้าวแคปซูล เป็นต้น (นิตดา และทวิทอง, 2550)

2.1.8 มะขามเทศ



รูปที่ 2.8 มะขามเทศ

ที่มา : <http://decembertown.com> (27 ต.ค. 2558)

มะขามเทศมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Pithecellobium dulce* ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae หรือ Leguminosea มะขามเทศเป็นผลไม้ท้องถิ่นที่ปลูกกันอยู่ทั่วไปตามต่างจังหวัดมีความอดทนต่อสภาพแวดล้อม ไม่ค่อยมีปัญหาเกี่ยวกับโรคหรือแมลงศัตรูพืช โดยเป็นผลไม้ที่มีรูปฟักโค้งเป็นวงกลมให้รสชาติออกหวานมันผสมรสฝาดนิดๆ มะขามเทศนั้นมีประโยชน์มากมายเพราะประกอบไปด้วยวิตามิน และแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามินเอซึ่งมีส่วนช่วยในการมองเห็น วิตามินซีสูงซึ่งมีส่วนช่วยในการบำรุงผิวและเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ วิตามินอีสูงซึ่งมีส่วนช่วยในการชะลอวัย วิตามินบี 1 ช่วยในการบำรุงประสาทและสมอง วิตามินบี 2 ซึ่งมีส่วนช่วยในการบำรุงผิวพรรณ เล็บ และเส้นผม วิตามินบี 3 ซึ่งมีส่วนช่วยในการลดระดับคอเลสเตอรอล แคลเซียมที่มีส่วนช่วยในการเสริมสร้างกระดูกและฟัน ฟอสฟอรัสช่วยในการเจริญเติบโตและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอในร่างกาย ธาตุเหล็กช่วยในการป้องกันอาการอ่อนเพลียของร่างกาย และเส้นใยอาหารที่จะช่วยในการขับถ่าย ลดปัญหาของอาการท้องผูก เป็นต้น นอกจากนี้ มะขามเทศถือเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่ง

เพราะคนโบราณนิยมนำมาใช้ในการรักษาโรคปากนกกระจอกและยังช่วยบรรเทาอาการปวดฟันได้อีกด้วย (นิตดา และทวีทอง, 2550)

2.1.9 มะละกอ



รูปที่ 2.9 มะละกอ

ที่มา : <http://www.pikool.com>. (27 ต.ค. 2558)

มะละกามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Carica papaya* L. จัดอยู่ในวงศ์ Caricaceae มะละกอเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพที่มีต้นกำเนิดมาจากอเมริกากลาง สามารถรับประทานได้สดๆหรือนำมาประกอบอาหาร เช่น ส้มตำ แกงส้ม หรือนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นก็ได้ มะละกอนั้นจัดเป็นไม้ล้มลุก ประโยชน์ของมะละกอนั้นมีค่อนข้างมาก มีสรรพคุณเป็นทั้งยารักษาโรค ใช้เป็นยาระบาย ช่วยบำรุงประสาทและสมอง เป็นยาระบายอ่อนๆแก้อาการท้องผูก ทั้งยังมีเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหาร สามารถใช้เป็นยารักษาแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวกด้วยการใช้เนื้อมะละกอดิบที่ตำจนเปียกแล้วนำมาตำ จากนั้นนำไปพอกบริเวณบาดแผล และเป็นยาช่วยบำรุงหัวใจให้แข็งแรง แต่มีข้อแนะนำว่าไม่ควรรับประทานมะละกอสุกในปริมาณมากหรือติดต่อกันเป็นเวลานาน เพราะอาจจะทำให้ผิวของเราเปลี่ยนเป็นสีเหลืองได้ (นิตดา และทวีทอง, 2550)

2.1.10 ลูกพลับ



รูปที่ 2.10 ลูกพลับ

ที่มา : <http://frynn.com> (27 ต.ค. 2558)

ลูกพลับมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Diospyros kaki* จัดอยู่ในวงศ์ Ebenaceae ลูกพลับเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ใบสีเขียวคล้ายรูปหัวใจ มีดอกสีเหลือง ทรงคล้ายระฆัง ลักษณะของผลลูกพลับจะมีอยู่หลายรูปทรงทั้งแบบกลม แบบกรวย แบบแบน ผลอ่อนจะเป็นสีเขียว เมื่อแก่จะเป็นสีเหลือง เนื้อแข็งเป็นสีส้ม ภายในผลจะมีเมล็ดสีน้ำตาลประมาณ 8 เม็ด ลูกพลับสามารถจำแนกรสชาติออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ลูกพลับหวาน เช่น พันธุ์พูยู่ จะมีรสหวาน ผลสุกสีส้มอมเหลือง สามารถรับประทานสดๆได้ และลูกพลับฝาด เช่น พันธุ์ชิชู จะมีรสฝาด เนื้อนิ่ม ผลสุกเนื้อสีส้มอมแดงต้องนำมาผ่านกระบวนการลดความฝาดก่อนถึงจะนำมารับประทานได้ ลูกพลับเป็นผลไม้ที่มีแคลอรีและไขมันต่ำ ทั้งยังอุดมไปด้วยเส้นใยอาหารจึงเหมาะอย่างยิ่งสำหรับผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักหรือควบคุมน้ำหนัก

และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ซึ่งช่วยชะลอการเกิดริ้วรอยและช่วยสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่างๆ ช่วยบำรุงและรักษาสายตา ป้องกันการเกิดต้อกระจก ในผลสดจะช่วยแก้พิษสุรา แก้อาการท้องเดิน และมีสรรพคุณเป็นยาห้ามเลือด สำหรับผลแห้งช่วยแก้หืดหอบ บรรเทาอาการเจ็บคอ ช่วยขับเสมหะ ทั้งยังช่วยบำรุงกระเพาะอาหารและลำไส้ได้อีกด้วย (นิตดา และทวีทอง, 2550)

2.1.11 ส้มแมนดาริน



รูปที่ 2.11 ส้มแมนดาริน

ที่มา : http://www.prd.go.th/ewt_news.php?nid=81914 (27 ต.ค. 2558)

ส้มแมนดารินมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Citrus Japonica* Thunb. จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae มะปิ่นหรือส้มจัดจัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มเตี้ย มีความสูงประมาณ 1.5 ถึง 3 เมตร เปลือกลำต้นเป็นสีน้ำตาล มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและแพร่กระจายออกมายังตะวันออกเฉียงใต้ ฮาวาย อินเดีย อินเดียนตะวันตก อเมริกากลาง และอเมริกาเหนือ ใบมีลักษณะเป็นรูปไข่หรือรูปรียาวปลายใบแหลม โคนใบมน จะออกดอกเป็นช่อหรือออกดอกเดี่ยวโดยจะออกที่ปลายยอด ดอกย่อยจะเป็นสีขาวและมีกลิ่นหอมออกดอกได้ตลอดทั้งปี ลักษณะของผลเป็นรูปทรงกลมเหมือนผลส้มทั่วไป แต่จะมีขนาดเล็กกว่า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 ถึง 2 เซนติเมตร ผิวผลเรียบ เปลือกบาง ผิวอ่อนเป็นสีเขียว เมื่อสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม น้ำเยอะ มีรสเปรี้ยวจัด สรรพคุณของ ส้ม น้ำจากผลมีรสเปรี้ยวนำมาผสมกับเกลือเล็กน้อยใช้ดื่มเป็นยาบรรเทาอาการไอ ผลแก่ต้องเคี้ยวตากแห้งแก้อาการเจ็บคอ เปลือกผลดิบใช้กินสดๆเป็นยาขับลม แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ (นิจศิริ และ ธวัชชัย, 2547)

2.1.12 ส้มโอ



รูปที่ 2.12 ส้มโอ

ที่มา : <http://www.oknation.net/blog/horti-asia/2013/01/16/entry-1> (27 ต.ค. 2558)

ส้มโอมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Citrus maxima* (Burm.) Merr. จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae ส้มโอเป็นผลไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส้มโอจัดเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์หลากหลายและมีสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคต่างๆ เพราะอุดมไปด้วยวิตามินซีซึ่งมีสารต่อต้าน

อนุมูลอิสระในปริมาณมาก ทั้งยังมีวิตามินและแร่ธาตุอื่นๆที่จำเป็นต่อร่างกายอีกหลายชนิด โดยส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์มีหลายส่วน ไม่ว่าจะเป็นผลที่ช่วยในการขับสารพิษในร่างกาย ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง แก้อาการเมาสุรา เปลือกของส้มโอช่วยแก้ไอ แก้อาการวิงเวียนศีรษะ หน้ามืดตาลาย ใจสั่น คลื่นไส้ อาเจียน ส่วนใบช่วยแก้อาการปวดศีรษะ แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ ลดอาการปวดบวม และเมล็ด ช่วยแก้อาการปวดท้อง และช่วยแก้อาการไส้เลื่อน เป็นต้น (นิตดา และทวิทอง, 2550)

2.1.13 สับปะรด



รูปที่ 2.13 สับปะรด

ที่มา : <http://www.worakornhomemade.com> (27 ต.ค. 2558)

สับปะรดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Ananas comosus* L. Merr จัดอยู่ในวงศ์ Bromeliaceae สับปะรดมีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกาใต้ มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี แหล่งปลูกที่สำคัญมักจะอยู่ใกล้ๆทะเล เช่น ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ชลบุรี อุตรดิตถ์ เป็นต้น สำหรับพันธุ์ที่นิยมปลูกในบ้านเรามีหลายพันธุ์ เช่น พันธุ์ปัตตาเวียหรือสับปะรดศรีราชาจะมีผลใหญ่ เนื้อฉ่ำสีเหลืองอ่อน พันธุ์ภูเก็ตจะมีผลเล็ก เปลือกหนา เนื้อสีเหลืองหวานกรอบ พันธุ์นางแลจะมีเนื้อสีเหลืองเข้ม รสออกหวานจัด เป็นต้น สับปะรดจัดเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่ง โดยประโยชน์ของสับปะรดนั้นมีอยู่หลากหลาย เพราะจะอุดมไปด้วยแร่ธาตุและวิตามินต่างๆจำนวนมาก ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต วิตามินซี วิตามินบี กรดโฟลิก ธาตุแคลเซียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส ธาตุเหล็ก และสังกะสี เป็นต้น ซึ่งสารอาหารเหล่านี้ถือว่ามีประโยชน์ต่อร่างกายและสุขภาพของเราเป็นอย่างมาก ช่วยในการรักษาอาการต่างๆ เช่น ช่วยบรรเทาอาการแผลเป็นหนอง ขับปัสสาวะ ลดอัตราความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง บรรเทาอาการหวัด ช่วยรักษาอาการบวมน้ำ และช่วยรักษาโรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น (นิตดา และทวิทอง, 2550)

2.1.14 องุ่นแดง



รูปที่ 2.14 องุ่นแดง

ที่มา : <http://www.yesspathailand.com> (27 ต.ค. 2558)

องุ่นแดงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Vitis vinifera* L. จัดอยู่ในวงศ์ Vitaceae องุ่นจัดเป็นพันธุ์ไม้เลื้อยจำพวกเถา มีความยาวประมาณ 10 เมตร ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ใบเป็นสีเขียวมีลักษณะเป็นรูปกลมรี ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย เนื้อใบบาง องุ่นจะออกดอกเป็นช่อลักษณะ

กลมยาวใหญ่ ดอกย่อยเป็นสีเหลืองอมเขียวแบ่งเป็น 5 กลีบย่อยแตกออกเป็น 5 แฉก ออ่งจะออกผลเป็นพวง ผลย่อยจะมีลักษณะเป็นทรงกลมสีแดงม่วง เนื้อในผลจะฉ่ำน้ำ ภายในจะมีเมล็ดประมาณ 1 ถึง 3 เมล็ดมีลักษณะเป็นรูปยาวรี ประโยชน์ของอองุ่นแดงจะมีสารอาหารสำคัญ คือ เรสเวอราทรอล (Resveratrol) ที่มีคุณสมบัติช่วยป้องกันโรคหัวใจ ช่วยชะลอวัย ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และทำลายพิษของสารก่อมะเร็ง ทั้งยังมีสารซาโปนิน (Saponin) ซึ่งเป็นสารช่วยลดการดูดซึมของคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดจึงช่วยป้องกันโรคหัวใจได้ และยังช่วยต้านแบคทีเรียไวรัส ป้องกันเนื้องอกได้ด้วย นอกจากนี้ยังมีสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ที่ช่วยเพิ่มระดับไขมันดี (HDL) ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย มีสารโพลีฟีนอล (Polyphenols) ที่เป็นตัวลดระดับไขมันเลว (LDL) และช่วยต้านอนุมูลอิสระ มีสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ที่ช่วยชะลอความแก่ ควบคุมการทำงานของระบบประสาท เพิ่มการไหลเวียนเลือด บำรุงสายตา และป้องกันการอักเสบ มีวิตามินซีที่มีส่วนช่วยในการสร้างคอลลาเจน ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรค มีวิตามินบี 12 ที่ช่วยในการเผาผลาญอาหารให้เป็นพลังงาน ควบคุมการทำงานของระบบประสาท และสร้างเม็ดเลือดแดง มีแคลเซียมที่ช่วยเสริมสร้างกระดูกและฟันให้แข็งแรง เป็นต้น (นิดดา และทวีทอง, 2550)

2.1.15 แอปเปิ้ล



รูปที่ 2.15 แอปเปิ้ล

ที่มา : <http://www.yesspathailand.com> (27 ต.ค. 2558)

แอปเปิ้ลมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Malus domestica* จัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae แอปเปิ้ลนั้นมีถิ่นกำเนิดในประเทศอิหร่าน ซึ่งจัดได้ว่าเป็นผลไม้เมืองหนาวที่นิยมรับประทานกันมาก สำหรับประเทศไทยจะปลูกอยู่แถวๆภาคเหนือ เช่น ดอยอ่างขาง โดยแอปเปิ้ลนั้นมักนิยมรับประทานเป็นผลสุกและอาจใช้ปรุงอาหารได้ด้วย เช่น สลัด แยม พาย เป็นต้น คุณค่าทางโภชนาการของแอปเปิ้ลต่อน้ำหนัก 100 กรัม จะให้พลังงานทั้งหมด 52 กิโลแคลอรี ทั้งยังประกอบไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่มีความสำคัญอย่างมากต่อร่างกาย โดยประโยชน์ของแอปเปิ้ลแต่ละสายพันธุ์จะโดดเด่นแตกต่างกันไปตามสีของแอปเปิ้ล คือ แอปเปิ้ลสีแดงจะมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระเยอะที่สุด จึงเหมาะแก่การช่วยชะลอวัย ลดริ้วรอย เป็นต้น แอปเปิ้ลสีชมพูมีสารที่ช่วยยับยั้งการเกิดฝ้า ช่วยชะลอความแก่ ทั้งยังช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน ลดไข้ และยังช่วยให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรง แอปเปิ้ลสีเขียวมีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักเพราะมีน้ำตาลน้อยกว่าแอปเปิ้ลสีอื่น แอปเปิ้ลสีเหลืองจะมีสารช่วยลดอัตราความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ ต้อกระจก และโรคหลอดเลือดหัวใจ (นิดดา และทวีทอง, 2550)

2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติก คือ สารอาหาร หรือองค์ประกอบที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร บางชนิดสามารถจับกับจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้อย่างจำเพาะเจาะจง เช่น เชื้อ *Salmonella* spp. และ *E. coli*

โดยจะถูกกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับอุจจาระ หรือบางชนิดจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น เชื้อ bifidobacteria และ lactobacilli โดยจะเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรีย ทำให้ลำไส้เกิดความสมดุลและยังช่วยเพิ่มการนำสารอาหารไปใช้ สารที่จะจัดเป็นพรีไบโอติกได้นั้นจะต้องมีลักษณะอย่างน้อย 3 ประการ คือ

- 1) สารนั้นจะต้องไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก
- 2) สารนั้นจะต้องมีความจำเพาะกับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้
- 3) สารนั้นควรจะมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย

สารพรีไบโอติกมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ น้ำตาลแอลกอฮอล์ โอลิโกฟรุคโตส โอลิโกแซคคาไรด์ แลคโตส อินนูลิน เป็นต้น ส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบพอลิเมอร์โพลีไฮเดรตที่พบได้ตามธรรมชาติ เช่น สารที่เรียกว่า อินนูลิน จะพบประมาณร้อยละ 15 ของพืชดอก ซึ่งพืชจะสะสมสารชนิดนี้โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตให้กับพืช นอกจากนี้ พรีไบโอติกยังสามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรมโดยการย่อยสลายน้ำตาล โยอาหาร แป้ง หรือการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์จากน้ำตาลกลูโคสหรือแลคโตส และยังสามารถผลิตจากเชื้อราได้อีกด้วย (ชัชวิน, 2549)

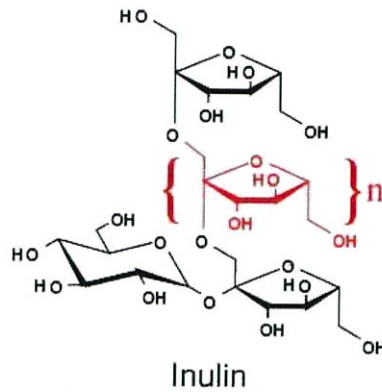
พรีไบโอติกจะถูกย่อยสลายในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ โดยที่ลำไส้ใหญ่ส่วนต้นจะมีการย่อยมากกว่าส่วนปลาย เนื่องจากมีความเข้มข้นของสารค่อนข้างมาก และมีค่า pH ค่อนข้างต่ำประมาณ 5 ถึง 6 ทำให้แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แต่ในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายจะมีปริมาณสารพรีไบโอติกค่อนข้างน้อยเพราะมีค่า pH เป็นกลาง จึงทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ช้ากว่า โดยที่สารพรีไบโอติกจะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดไขมันสายสั้นๆซึ่งจะทำให้ค่า pH ลดลง มีผลไปยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ ทั้งยังช่วยกระตุ้นให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโต หยุดการเปลี่ยนแปลง และช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์ ซึ่งคุณสมบัติทั้ง 3 ชนิดนี้จะมีฤทธิ์ในการต้านการเกิดมะเร็ง ทั้งยังพบอีกว่าโอลิโกฟรุคโตสยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมในลำไส้ใหญ่ ทำให้มีการดูดซึมแร่ธาตุได้ดีขึ้น (ชัชวิน, 2549)

2.2.1 กลุ่มของสารพรีไบโอติก

พรีไบโอติก (Prebiotic) เป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีหลายชนิด เช่น

2.2.1.1 อินนูลิน (Inulin)

อินนูลินเป็นสารประเภทพรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งก็คือการนำน้ำตาลมาต่อกันเป็นสายโซ่สั้นๆประมาณ 2 ถึง 60 หน่วย ลักษณะโมเลกุลของอินนูลินจะคล้ายๆกับเซลลูโลส แต่แตกต่างกันตรงที่เซลลูโลสจะเป็นกลูโคสต่อกันทั้งหมด ส่วนอินนูลินจะเป็นฟรุคโตสต่อกันทั้งหมด อินนูลินมีลักษณะเฉพาะ คือ จะมีรสชาติหวานคล้ายน้ำตาล จึงมักนำมาเป็นส่วนประกอบในอาหารประเภทอาหารหวาน เช่น ไอศกรีมและไม่ได้ถูกย่อยในทางเดินอาหารจึงไม่ให้เกิดพลังงานและไม่เพิ่มระดับน้ำตาล อินนูลินจัดเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำซึ่งจะช่วยในการย่อยและดูดซึมแป้ง และน้ำตาลข้างลง ซึ่งจะมีผลดีต่อระดับน้ำตาลในเลือดและผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ใส่อินนูลินเพิ่มเข้าไป เพื่อเพิ่มรสชาติหวาน โดยที่ไม่เพิ่มแคลอรี นอกจากนี้ยังช่วย ในระบบขับถ่าย ช่วยดูดซับ และขับสารพิษ ทำให้ผิวกระจ่างใส และป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ ซึ่งก็เป็นคุณสมบัติของใยอาหารที่พบในผักและผลไม้ (Niness, 1999)



Inulin

รูปที่ 2.16 โครงสร้างของอินนูลิน
ที่มา : Niness, 1999 (28 ต.ค. 2558)

ก) แหล่งอาหารของอินนูลิน

ใยอาหารทั้ง 2 เราสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด ซึ่งมีปริมาณของอินนูลินและ โอลิโก-ฟรุคโตสที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณ Inulin และ Oligosaccharide ที่ใช้สำหรับการโภชนาการของมนุษย์

ชนิด	ส่วนที่กินได้	ปริมาณอินนูลิน g/100g	โอลิโกฟรุคโตส g/100g
หัวหอม	ผล	2-6	2-6
แก่นตะวัน	ส่วนหัว	16-20	10-15
ต้นชิคอร์รี	ราก	15-20	5-10
กระเทียมหอม	ผล	3-10	2-5
กระเทียม	ผล	9-16	3-6
อาร์ตีโชค	ส่วนใบ	3-10	<1
กล้วย	ผล	0.3-0.7	0.3-0.7
ข้าวไรน์	เมล็ด	0.5-1.0	0.5-1.0
ข้าวบาร์เลย์	เมล็ด	0.5-1.5	0.5-1.5
ต้นแดนดีไลออน	ส่วนใบ	12-15	-
โกโบ	ราก	3.5-4.0	-
ข้าวสาลี	เมล็ด	1-4	1-4

ที่มา : Moshfegh และคณะ (1999)

ข) การนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

อุตสาหกรรมอาหารได้มีการนำอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสมาเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารหลายอย่าง เพื่อเพิ่มปริมาณใยอาหารให้มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกและเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม นอกจากนี้ ยังมีการนำสารพรีไบโอติกมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่เป็นที่นิยมอีก 2 กลุ่ม คือ อินนูลินสามารถนำมาใช้ทดแทนไขมันในอาหารบางชนิดเพื่อกำจัดปริมาณไขมันและพลังงาน ส่วนโอลิโกฟรุคโตสสามารถนำมาใช้แทนน้ำตาลทรายเพราะจะมีรสหวานเล็กน้อย ซึ่งจะ

ใช้ร่วมกับสารให้ความหวานได้ เช่น แอสปาร์เทมหรือเอซซัลเฟม-เค ซึ่งหวานจัดมากๆ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ไอศกรีม เค้ก แครกเกอร์ เป็นต้น (อาณัติ, 2553)

ค) ประโยชน์ที่ได้รับ

อินนูลินเป็นเส้นใยอาหารจึงไม่จัดเป็นสารอาหาร เนื่องจากไม่ให้พลังงานแต่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและมีบทบาทต่อร่างกาย ดังนี้

1. ช่วยเสริมระบบการย่อยอาหาร
2. ส่งเสริมระบบการขับถ่ายให้เป็นปกติ ลดอาการท้องผูก
3. ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน และควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคลำไส้ใหญ่
4. ส่งเสริมระบบการดูดซึมอาหาร และแร่ธาตุโดยเฉพาะการดูดซึมแคลเซียม
5. ส่งเสริมร่างกายในการสังเคราะห์วิตามินบี
6. ช่วยลดการสังเคราะห์ไขมันทั้งไตรกลีเซอไรด์และคลอเรสเตอรอลที่เกิดจากตับ
7. ช่วยควบคุมระดับกลูโคสในเลือด ซึ่งเหมาะกับผู้ป่วยเบาหวาน
8. ลดความเสี่ยงของการเป็นโรคระดุกพรุน
9. มีงานวิจัยสนับสนุนเรื่องการป้องกันและควบคุมมะเร็งเต้านม
10. ลดความเสี่ยงการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ (อาณัติ, 2553)

2.2.1.2 โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide)

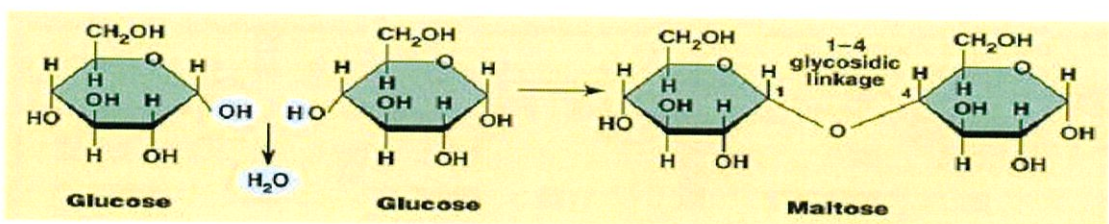
โอลิโกแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากมอนอแซคคาไรด์ 2-10 หน่วย มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความสำคัญ ได้แก่

ก) ไดแซคคาไรด์ (Disaccharide)

ไดแซ็กคาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ซึ่งเกิดจากโมโนแซคคาไรด์ 2 โมเลกุล มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งส่วนใหญ่จะพบมากในธรรมชาติและเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญที่สุดของมนุษย์ (Aniansson และคณะ, 1992) ได้แก่

i. มอลโทส (Maltose)

มอลโทส (Maltose) มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วย D-Glucose 2 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างหมู่ -OH ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของน้ำตาลตัวแรกกับหมู่ -OH ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของน้ำตาลตัวที่ 2 ด้วยพันธะ α -1, 4 ไกลโคซิดิก ดังรูปที่ 2.17 มอลโทสจัดเป็นน้ำตาลรีดิวงซึ่ง ซึ่งในธรรมชาติสามารถพบได้ในเมล็ดข้าวบาร์เลย์หรือจะพบได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลส การย่อยสลายมอลโทสด้วยเอนไซม์มอลเตสจะได้กลูโคส 2 โมเลกุล (Aniansson และคณะ, 1992)

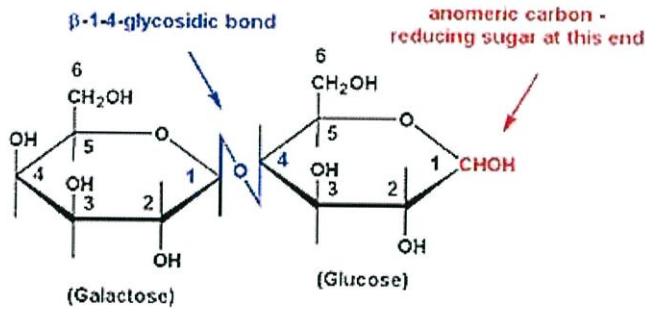


รูปที่ 2.17 โครงสร้างของน้ำตาลมอลโทส

ที่มา : <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/cm1503/Image71.gif> (28 ต.ค. 2558)

ii แลคโทส (Lactose)

แลคโทส มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ ซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบในน้ำนม จึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า น้ำตาลจากนม (milk sugar) เป็นไดแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลกาแลคโทสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1, 4 โกลโคซิดิก ดังรูปที่ 2.18 แลคโทสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งในธรรมชาติพบในน้ำนมคนจะมีแลคโทสประมาณร้อยละ 7.5 และในน้ำนมวัวมีประมาณร้อยละ 4.5 โดยในร่างกายคนจะมีเอนไซม์แลคเตสย่อยสลายแลคโทส จะได้กลูโคสและกาแลคโทสอย่างน้อย 1 โมเลกุล (Aniansson และคณะ, 1992)

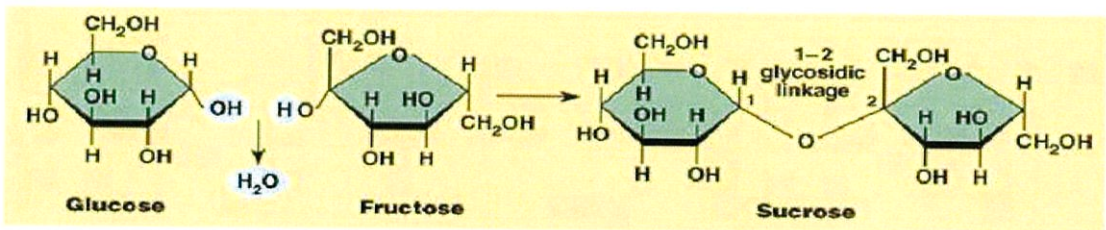


รูปที่ 2.18 โครงสร้างของน้ำตาลแลคโทส

ที่มา : wine1.sb.fsu.edu/bch4053/Lecture12/Lecture12.htm (28 ต.ค. 2558)

iii ซูโครส (Sucrose)

ซูโครส (Sucrose) หรือน้ำตาลทรายมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ เป็นไดแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคสและฟรักโทสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1, 2 โกลโคซิดิก ดังรูปที่ 2.19 ซูโครสเป็นน้ำตาลชนิดนอนรีดิวซ์ซึ่ง ในธรรมชาติสามารถพบได้ในผลไม้ เช่น อ้อย หัวบีท และพบในน้ำเชื่อมลูกอม และขนมหวาน โดยซูโครสจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ซูเครสได้กลูโคสและฟรักโทสอย่างละ 1 โมเลกุล (Aniansson และคณะ, 1992)

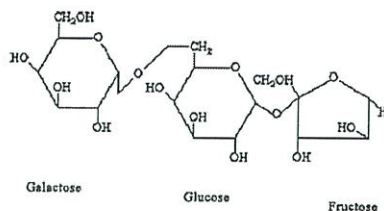


รูปที่ 2.19 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส

ที่มา: <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/cm1503/Image71.gif> (28 ต.ค. 2558)

ข) ไตรแซคคาไรด์ (Trisaccharide)

ไตรแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากมอนอแซคคาไรด์จำนวน 3 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก เช่น ราฟฟิโนส (Raffinose) เป็นไตรแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคส ฟรักโทส และ แลคโทสอย่างละ 1 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งในธรรมชาติจะพบราฟฟิโนสในอ้อย หัวบีท และพืชชั้นสูง (Aniansson และคณะ, 1992) ดังรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 โครงสร้างของราฟฟิโนส

ที่มา: class.fst.ohio-state.edu/.../lect19.html (28 ต.ค. 2558)

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถพบได้ตามแหล่งต่างๆดังนี้

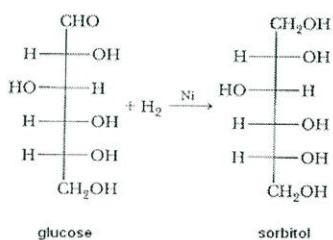
- 1) สกัดออกมาจากพืช เช่น ข้าวสาลี กลัวยหอม กระเทียม และหน่อไม้ฝรั่ง ได้แก่ กลุ่ม fructooligosaccharides และกลุ่ม α -galactooligosaccharides
- 2) จากการย่อยของ polysaccharides ได้แก่ fructooligosaccharides และ xylooligosaccharides
- 3) จากการสังเคราะห์ (enzymatic synthesis) ได้แก่ กลุ่ม fructooligosaccharides กลุ่ม α -Glucooligosaccharides, กลุ่ม β -glucooligosaccharides และกลุ่ม β -galactooligosaccharides โอลิโกแซคคาไรด์ที่สำคัญ ได้แก่

- ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)
- กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galactooligosaccharide)
- กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (Glucooligosaccharide; GOS)
- แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (Mannooligosaccharide; MOS)
- ทรานสกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Transgalactooligosaccharide, TOS)
- ไชโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylooligosaccharide, XOS)

โอลิโกแซคคาไรด์จะส่งผลต่อพรีไบโอติกโดยจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคมายในลำไส้ และช่วยให้ลำไส้ดูดซึมแคลเซียม แมกนีเซียมและธาตุเหล็กได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มแบคทีเรียบีฟิดัส ซึ่งโอลิโกแซคคาไรด์ในนมเป็นส่วนผสมที่ช่วยเพิ่มแบคทีเรียที่ดีชื่อว่า Bifidus ที่อยู่ในลำไส้ (Aniansson และคณะ, 1992)

2.2.1.3 น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar Alcohol)

น้ำตาลแอลกอฮอล์ หรือโพลิไฮดรอกซีแอลกอฮอล์ เป็นสารอาหารที่ให้ความหวานที่สกัดจากพืชผักตามธรรมชาติที่ให้แคลอรีต่ำ ซึ่งได้จากปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดย Carbonyl oxygen ถูกรีดิวซ์ได้เป็น polyhydroxy alcohol (Aniansson และคณะ, 1992)



รูปที่ 2.21 โครงสร้างของน้ำตาลแอลกอฮอล์

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com> (28 ต.ค. 2558)

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เพราะเชื่อมั่นในความปลอดภัยของกระบวนการผลิตที่ใช้ปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชัน หรือทำการสกัดจากมันสำปะหลังและพืชผักหลายชนิด อีกทั้งผู้ผลิตสามารถเลือกใช้ประโยชน์ให้เหมาะสมกับประเภทอาหารได้ทุกชนิด โดยพิจารณาคุณสมบัติเด่นของน้ำตาลแอลกอฮอล์แต่ละชนิดตามที่ต้องการ (Aniansson และคณะ, 1992)

2.2.1.4 เส้นใยอาหาร (Dietary Fiber)

เส้นใยอาหาร คือ ส่วนของพืช ผัก ผลไม้ หรือเมล็ดธัญพืชที่มนุษย์รับประทานในชีวิตประจำวัน ซึ่งจะไม่ถูกย่อยโดยน้ำย่อยของมนุษย์จึงไม่ใหพลังงาน แต่อาจจะถูกย่อยโดยเอนไซม์บางชนิดในทางเดินอาหารของร่างกายมนุษย์ ใยอาหารแต่ละชนิดมีความสามารถแตกต่างกันในหลายๆด้าน เช่น การละลายน้ำ ความหนืด ความสามารถในการจับกับน้ำ ความสามารถในการจับกับแร่ธาตุต่างๆ บทบาทของใยอาหารในเด็กและทารกจะมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากในน้ำนมของแม่มีใยอาหารมากกว่า 150 ชนิด จึงมีการเติมใยอาหารบางชนิดลงในนมผงตัดแปลงสำหรับทารกเพื่อให้คล้ายกับนมแม่มากขึ้น เส้นใยอาหารสามารถจำแนกได้หลายรูปแบบตามความสามารถในการละลายน้ำ (Trowell และคณะ, 1976) ได้แก่

ก) ใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ (Insoluble Fiber)

เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจะพองตัวได้ในน้ำคล้ายฟองน้ำ แต่ใยอาหารชนิดนี้จะไม่หนืดจึงทำให้เพิ่มปริมาตรน้ำภายในกระเพาะอาหาร ช่วยเพิ่มกากอาหาร และช่วยทำความสะอาดทางเดินอาหาร เมื่อรับประทานเข้าไปจึงทำให้รู้สึกว่ามีอึด โดยเส้นใยชนิดนี้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่บางชนิดจะไม่สามารถย่อยได้จึงช่วยลดอาการท้องผูก และช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้อีกด้วย เช่น เซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส (Trowell และคณะ, 1976)

ข) ใยอาหารชนิดละลายน้ำ (Soluble Fiber)

เส้นใยอาหารที่ละลายได้ในน้ำจะดูดน้ำเก็บไว้กับตัว เมื่อละลายน้ำแล้วจึงทำให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น มีลักษณะคล้ายกับเจลสามารถจับกับน้ำตาลและดูดซับน้ำมันได้อีกด้วย ซึ่งใยอาหารชนิดนี้ร่างกายของคนเราไม่สามารถย่อยเองได้ แต่แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่จะสามารถย่อยได้ (Trowell และคณะ, 1976)

ใยอาหารมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ ดังต่อไปนี้

1. ใยอาหารช่วยควบคุมระดับน้ำตาล ช่วยลดการดูดซึมของน้ำตาลจึงส่งผลดีต่อผู้ที่ป่วยเป็นโรคเบาหวาน ซึ่งผู้เป็นโรคเบาหวานที่รับประทานใยอาหารประมาณ 8 ถึง 20 กรัมต่อ 100 กรัมของคาร์โบไฮเดรต จะสามารถช่วยลดระดับกลูโคสและอินซูลินได้ประมาณร้อยละ 20 ถึง 50 เชื่อกันว่าใยอาหารชนิดละลายน้ำจะช่วยเพิ่ม glucose tolerance แต่ใยอาหารที่ไม่ละลายจะไม่มีผลเลย
2. ช่วยลดระดับไขมันในเลือด ช่วยจับไขมันในอาหาร และป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน ใยอาหารชนิดละลายน้ำสามารถช่วยลดระดับโททอลและแอลดีแอลคอเลสเตอรอล (ไขมันเลว) ในเลือดได้ ส่วนใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจะไม่มีผลต่อระดับคอเลสเตอรอลในเลือด
3. ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้กับร่างกาย
4. ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ

5. โยอาหารมีประโยชน์ต่อการทำหน้าที่ของทางเดินอาหารส่วนต้น โดยโยอาหารชนิดละลายน้ำเท่านั้นจะทำให้อาหารอยู่ในกระเพาะนานขึ้น โดยการฟอร์มตัวเป็นเจลเหนียวในกระเพาะอาหาร สำหรับผลกระทบต่อการศึกษาของสารอาหารพบว่าโยอาหารที่ละลายน้ำจะช่วยลดการดูดซึมของกลูโคสผ่านเยื่อผิวของลำไส้ ช่วยลดการดูดซึมของไขมัน จึงมีประโยชน์ต่อการควบคุมระดับไขมันในเลือดและระดับกลูโคส

6. ผลดีที่เกิดจากขบวนการ fermentation ของโยอาหารต่อระบบของลำไส้ใหญ่ เอนไซม์ในทางเดินอาหารของมนุษย์จะไม่สามารถย่อยโยอาหารได้ แต่แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่และซีกัมสามารถทำได้และยังสามารถ ferment โยอาหารได้ด้วย ทำให้ได้กรดไขมันสายสั้น รวมไปถึงพลังงานและแก๊สต่างๆ กรดไขมันสายสั้นจะถูกดูดซึมผ่านเยื่อผนังของลำไส้ใหญ่ เมื่อเข้าไปอยู่ในเยื่อแล้วมันจะถูกใช้เป็นพลังงาน

7. ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเยื่อผิวผนังของโอเลียมและลำไส้ใหญ่ โดยจะให้พลังงานแก่ host ช่วยทำให้เกิดความสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้

8. ช่วยป้องกันและรักษาอาการท้องผูกและท้องเสีย โดยโยอาหารชนิดที่เป็นเซลล์โลสนั้นจะมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ ทำให้อุจจาระอ่อน ขับถ่ายได้ดี ท้องไม่ผูก จึงช่วยลดโอกาสการเป็นโรคริดสีดวงทวาร ลำไส้โป่งพอง รวมไปถึงมะเร็งลำไส้ใหญ่

9. ช่วยลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ และช่วยป้องกันการดูดซึมของสารที่ทำให้เกิดมะเร็ง เพราะโยอาหารจะช่วยทำให้ขับถ่ายออกมาได้เร็วและลดการสัมผัสต่อผนังลำไส้

10. โยอาหารสามารถช่วยในเรื่องของการลดน้ำหนักหรือควบคุมน้ำหนักได้ดี เนื่องจากทำให้ปริมาณของอาหารมีมากขึ้น มีการดูดน้ำเข้ามาในทางเดินอาหารทำให้รู้สึกอิ่มเร็วจึงทำให้การบริโภคอาหารลดน้อยลงตามไปด้วย ความสำคัญของโยอาหารในทารกและเด็กนับวันยังมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น เพราะในนมแม่จะมีโยอาหารชนิดละลายน้ำมากกว่า 150 ชนิด จึงได้มีการเติมโยอาหารบางชนิดลงในนมผงตัดแปลงสำหรับทารกเพื่อให้คล้ายนมแม่มากขึ้น (ประสงค์, 2557)

2.2.2 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติก

2.2.2.1 ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

พรีไบโอติกจะทนต่อการย่อยในทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์เป็นอาหารให้กับแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งเมื่อแบคทีเรียนำไปใช้ก็จะให้พลังงานและสารสำคัญบางอย่างแก่ร่างกาย ตัวอย่าง เช่น inulin-type fructans ให้กรดแลคติก (lactic acid) และกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acids) ซึ่งเป็นผลผลิตผลจากกระบวนการหมัก โดยการหมักนี้จะทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของ bifidobacteria ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์สุขภาพ และในสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Clostridium perfringens*, *Esherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในลำไส้จึงช่วยป้องกันท้องเสีย ท้องเดิน โดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติคล้ายโยอาหารอื่นๆ ก็จะช่วยบรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น (สุญาณี, 2556)

2.2.2.2 ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด

โยอาหารหรือพรีไบโอติกจะรบกวนการดูดซึมของเกลือแร่ด้วยการไปจับแร่ธาตุไว้ในโครงสร้างที่ซับซ้อน ทำให้ไม่สามารถถูกดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็กและเดินทางมาถึงลำไส้ใหญ่ จากนั้นก็จะ

ปลดปล่อยแร่ธาตุเหล่านั้นออกมา เมื่อมีการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ได้กรดไขมันชนิดสายสั้น ความ เป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด ได้แก่ แคลเซียมและแมกนีเซียม นอกจากนี้กลไกที่ทำให้ เกิดแรงดันออสโมติก (osmotic effect) จะดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่างๆได้ และ แม้ว่าจะมีพรีไบโอติกจะช่วยเรื่องการดูดซึมแคลเซียม ซึ่งอาจส่งผลลดความเสี่ยงต่อโรคกระดูกพรุน (สุญาณี, 2556)

2.2.2.3 ผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมัน

การที่จุลินทรีย์สุขภาพเพิ่มจำนวนมากขึ้นก็จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอลและยับยั้งการ ดูดซึมผ่านผนังลำไส้ หรืออาจเป็นผลจากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้นบางชนิด โดยเฉพาะ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอลได้ อีกกลไกหนึ่ง คือ มีการปรับเปลี่ยนระดับกลูโคสและอินซูลิน เนื่องจากการสังเคราะห์ไขมันมี ความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงต่อเมแทบอลิซึมของกลูโคสด้วย ดังนั้นพรีไบโอติกจึงมีส่วนช่วยลด ความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งมีสาเหตุจากไขมัน โดยเฉพาะภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง (hypertriglyceridemia) และภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) (สุญาณี, 2556)

2.3 โพรไบโอติก (Probiotic)

โพรไบโอติก คือ อาหารที่ส่งผลดีต่อสุขภาพ ช่วยเสริมสร้างสุขภาพและช่วยปรับปรุงสมดุลของ จุลินทรีย์ในร่างกาย ซึ่งนอกจากนี้คำนิยามเกี่ยวกับโพรไบโอติกยังเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นอีกมากมาย ซึ่งส่วนใหญ่จะพิจารณาจากผลกระทบโดยตรงกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในร่างกาย (Lee และ Salminen, 1995) โดยมีคำนิยามที่เกี่ยวข้องกับโพรไบโอติกดังตารางที่ 2.2

2.3.1 กฎเกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในอาหารและ เครื่องดื่ม

ปัจจุบันนักวิจัยและผู้ประกอบการทางด้านอาหารเริ่มเล็งเห็นถึงศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็น อาหารโพรไบโอติกมากขึ้น จึงทำให้มีการกำหนดกฎเกณฑ์มากมายเพื่อใช้ในการคัดเลือก เชื้อจุลินทรีย์ โดยจะต้องก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และต้องได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค อีกด้วย ซึ่งมีกฎเกณฑ์ดังต่อไปนี้

1. เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในร่างกายมนุษย์
2. ต้องทนต่อสภาวะของกรด น้ำดีและเอนไซม์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร
3. สามารถคงเหลืออยู่ได้ในลำไส้
4. มีความปลอดภัยเมื่อรับประทาน (ไม่ก่อให้เกิดโรคและเกิดสารพิษ)
5. ให้คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ดี
6. มีการตรวจสอบทางวิทยาศาสตร์แล้วว่าก่อให้เกิดผลที่ดีกับร่างกาย

โดยเกณฑ์ 3 ข้อแรก จะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่เหมาะสม ส่วน 3 ข้อหลังจะ เกี่ยวข้องกับการยอมรับและทัศนคติของผู้บริโภค (Lee และ Salminen, 1995; Rambaud และ คณะ, 1993)

ตารางที่ 2.2 วิวัฒนาการของคำนิยามและการอธิบายถึงลักษณะเฉพาะของโพรไบโอติก

ปี คศ	นักวิจัย	คำนิยาม
1953	Kollath	โพรไบโอติกพบได้ในอาหารประเภทผักเช่นเดียวกับวิตามิน เอนไซม์ และสารอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดำรงชีวิตของพืช
1954	Vergin	โพรไบโอติกตรงข้ามกับแอนติไบโอติก (ปฏิชีวนะ)
1955	Kolb	อันตรายที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะสามารถป้องกันได้โดยใช้โพรไบโอติก
1965	Lilly และ Stillwell	สารคัดหลั่งจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งได้
1971	Sperti	ส่วนสกัดของเนื้อเยื่อที่สามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์
1973	Fujii และ Cook	ส่วนประกอบที่ช่วยต้านทานการติดเชื้อในร่างกาย แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อทดสอบในหลอดทดลอง
1974	Parker	สิ่งมีชีวิตและสารที่ช่วยปรับสมดุลของลำไส้
1989	Fuller	อาหารสัตว์ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งช่วยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ที่บริโภคอาหารนั้น
1992	Havenaar และ Huis int'Veld	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตชนิดเดียวหรือชนิดผสมซึ่งเมื่อใช้กับคน หรือสัตว์จะส่งผลต่อสุขภาพโดยการช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ประจำถิ่น
1996	Salminen	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค (host) และช่วยเพิ่มคุณค่าสารอาหาร
1997	Reuter	จุลินทรีย์ที่ได้จากการเตรียมจุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือจุลินทรีย์เซลล์ตายซึ่งช่วยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์และเอนไซม์ในผนังเยื่อ หรือช่วยกระตุ้นกลไกของระบบภูมิคุ้มกัน
1999	Salminen, Ouwehand, Benno และ Lee	เซลล์จุลินทรีย์หรือองค์ประกอบของจุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค
2001	Schrezenmeir และ de Vrese	เซลล์จุลินทรีย์หรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ เมื่อบริโภคในปริมาณที่เพียงพอจะช่วยปรับเปลี่ยนการอยู่อาศัยของจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค
2008	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ประเทศไทย	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ด้านสุขภาพ

ที่มา : Lee และ Salminen, 1995; Schrezenmeir และ de Vrese, 2001; Vasiljevic และ Shah, 2008

2.3.2 กลุ่มของแบคทีเรียที่จัดเป็นโพรไบโอติก

2.3.2.1 แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกหรือกรดน้ำนมได้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ รวมทั้งในอาหารหมักดองต่างๆ โดยที่แบคทีเรียที่นำมาศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมากที่สุด ได้แก่ แบคทีเรียในตระกูลหรือจีส (Genus) *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Bifidobacterium* (Salminen และคณะ, 1998)

ในปีค.ศ.1900 ได้มีการแยกสายพันธุ์แบคทีเรียบริสุทธ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* ได้เป็นครั้งแรก ต่อมาก็ได้มีการแยกแบคทีเรีย *Lactobacillus bifidus* และจัดอยู่ในแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* หากนำไปย้อมสีและส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะรูปร่างคล้ายกับรูปตัวเอ็กซ์ (X-shape) หรือส่วนใหญ่จะเป็นรูปตัววาย (Y-shape) ส่วน *Lactobacillus* นั้นจะมีรูปร่างเป็นท่อนเรียงต่อกันเป็นสายโซ่สั้นหรือโซ่ยาวขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอาศัยอยู่ในลำไส้เล็กของร่างกายมนุษย์ตั้งแต่แรกเกิด แต่แบคทีเรียชนิด *Bifidobacterium* มักจะอาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะพบในเด็กที่ติ่มนมแม่ตั้งแต่อายุ 7 วันขึ้นไป ดังนั้น จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ทารกที่ติ่มนมมารดาตั้งแต่แรกคลอดมีสุขภาพแข็งแรง และมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าทารกที่ติ่มนมขวดหรือนมกระป๋อง ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด คือ *Bifidobacterium infantis* มีมากถึงร้อยละ 99 (Salminen และคณะ 1998)

แบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* จัดเป็นแบคทีเรียเจ้าถิ่นประจำลำไส้ เนื่องจากพบในลำไส้มนุษย์ตั้งแต่แรกเกิดจนเติบโตเป็นผู้ใหญ่ แต่อาจมีความหลากหลายในชนิดสายพันธุ์และจำนวนขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเครียด พฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสม การติ่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ หรือการใช้ยาปฏิชีวนะ เป็นต้นโดยตัวอย่างลักษณะแบคทีเรียกรดแลคติก (Salminen และคณะ 1998) แสดงดังรูปที่ 2.22



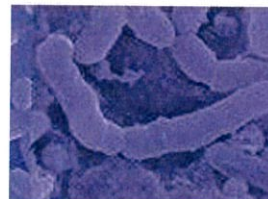
Lactobacillus casei



Lactobacillus plantarum



Bifidobacterium longum



Bifidobacterium infantis

รูปที่ 2.22 ลักษณะแบคทีเรียกรดแลคติกเมื่อถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยาย X15000
ที่มา : ไชยวัฒน์ และคณะ, 2553 (29 ต.ค. 2558)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับ และใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในมนุษย์มากที่สุด เนื่องจากองค์การอนามัยโลกให้การรับรองว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความปลอดภัย (Generally Regarded as Safe หรือ GRAS) ซึ่งได้มีการศึกษาและนำมาใช้ในสิ่งมีชีวิต โดยมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับถึงความปลอดภัยในการนำใช้กับมนุษย์ และยังได้มีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกส่งเสริมสุขภาพและนำใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ (Salminen และคณะ, 1998)

2.3.3 ประโยชน์ของโพรไบโอติกที่ส่งผลต่อสุขภาพ

2.3.3.1 การปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย

ภาวะท้องเสียส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรีย ซึ่งโพรไบโอติกจะช่วยลดความถี่และระยะเวลาของอาการท้องร่วง ลดอาการติดเชื้อภายในลำไส้ เนื่องจากโพรไบโอติกที่อาศัยอยู่ในลำไส้จะใช้อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต เพื่อใช้ในการสร้างพลังงานและได้กรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Heyman, 2000) ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacillus rhamnosus* (Oberhelman และคณะ, 1999) *Bifidobacterium bifidum* และ *Streptococcus thermophilus* (Saavedra และคณะ, 1994) เพื่อบรรเทาอาการท้องเสียในทารกโดยเฉพาะทารกที่ไม่ได้ดื่มนมมารดา ทั้งยังช่วยลดเวลาและความรุนแรงของภาวะท้องเสียที่เกิดจากอาหารเป็นพิษได้ (Guandalini และคณะ, 2000)

2.3.3.2 การลดภาวะที่ร่างกายไม่สามารถย่อยหรือไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโทส

ผู้ที่มีภาวะไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโทสจะมีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเดิน และปวดท้องเมื่อร่างกายได้รับน้ำตาลแลคโทสซึ่งส่วนใหญ่จะพบมากในนมวัว สาเหตุที่ร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโทสได้ เพราะขาดเอนไซม์ β -galactosidase จึงทำให้แลคโทสไม่สามารถย่อยได้ในทางเดินอาหาร (de Vrese และคณะ, 2001)

2.3.3.3 การป้องกันหรือลดระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง

โพรไบโอติกเกี่ยวข้องกับการป้องกันมะเร็งในลำไส้โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น ช่วยลดการทำงานของสารก่อมะเร็ง ลดเมทาบอลไลท์ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น แอมโมเนีย อินโดล สแกโทล และลดปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง (procarcinogenic enzyme) ในลำไส้ (Guerin-Danan และคณะ, 1998) โพรไบโอติกสามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็งได้ และมีผลต่อการเคลื่อนไหวหรือการบีบตัวของลำไส้ ทำให้กำจัดสารก่อการกลายพันธุ์หรือสารก่อมะเร็งให้ออกจากร่างกายเร็วขึ้น ซึ่งตัวอย่างของแบคทีเรียได้แก่ *Lactobacillus rhamnosus* และจากการศึกษาโดยใช้ *Lactobacillus acidophilus* LBKV3 ร่วมกับ *Propionibacterium freunderichii* กับสัตว์ทดลอง พบว่าจะเกิดสารต้านจุลชีพที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักเน่าเหม็นได้ (putrefactive bacteria) (Khedkar และคณะ, 1993)

2.3.3.4 การปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

โพรไบโอติกสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์เพื่อให้เจริญเติบโตเป็นแมคโครฟาจจับกินเชื้อ

โรคนั้น นอกจากนี้ยังหลังสารเคมีที่เกี่ยวกับการทำลายเชื้อโรค เช่น โซโตคายนซ์ชนิดแกมมาโกลบูลิน เอ (Immunoglobulin A; IgA) (Kirjavainen และคณะ, 1998; Herich และ Levkut, 2002) อินเตอร์ลิวคิน (Interleukin) และทูเมอริสแฟกเตอร์ แอลฟา (Tumor Necrosis Factor; TNF-a) ทำให้ร่างกายป้องกันต่อต้าน และกำจัดเชื้อโรค รวมทั้งสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้โพรไบโอติกยังช่วยเพิ่มปริมาณสารต่อต้านเชื้อโรคในร่างกายแล้วยังทำให้มีการสื่อสารกับเนื้อเยื่อน้ำเหลืองในชั้นใต้เยื่อบุลำไส้ได้ดียิ่งขึ้น นำไปสู่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบป้องกันมากกว่าการตอบสนองแบบก่อการอักเสบหรือภูมิแพ้ ทำให้เนื้อเยื่อที่อักเสบบรรเทาลง และซ่อมแซมเซลล์ร่างกายที่บาดเจ็บให้ฟื้นตัวได้เร็วยิ่งขึ้น (Ouweland และคณะ, 1999)

2.3.3.5 การลดภาวะภูมิแพ้ และการอักเสบรุนแรง

ภาวะโรคภูมิแพ้เกิดจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน จึงทำให้เกิดอาการแพ้มักพบอาการในเด็กโดยเฉพาะเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 1 ปี ซึ่งโพรไบโอติกจะช่วยในเรื่องการกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ผลิตสารตอบสนองที่สามารถทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ดียิ่งขึ้น โดยจะช่วยลดหรือป้องกันการสร้างโปรตีน หรือแอนติบอดีที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรงของร่างกายได้ ทั้งยังช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างสารตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อไม่ให้เกิดอาการอักเสบรุนแรง ในเด็กอายุ 2 ปีที่ได้รับ Lactobacilli จะสามารถช่วยลดการเกิดภาวะผื่นและภูมิแพ้ได้ร้อยละ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับแบคทีเรียดังกล่าว (Kirjavainen และคณะ, 1998)

2.3.3.6 การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

คอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เกลือน้ำดี ซึ่งโพรไบโอติกสามารถสร้างน้ำย่อยหรือเอนไซม์ที่สามารถย่อยเกลือน้ำดีได้ จึงทำให้เกลือน้ำดีที่ถูกย่อยแล้วกลายเป็นเกลือน้ำดีอิสระสามารถถูกขับออกทางอุจจาระได้ ทำให้ร่างกายใช้คอเลสเตอรอลมาสังเคราะห์เป็นเกลือน้ำดีทดแทน จึงทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Kirjavainen และคณะ, 1998)

2.3.3.7 บทบาทต่อสุขภาพด้านอื่นๆ

มีรายงานการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ อีกมากมาย ตัวอย่างผลของการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆและสุขภาพ

บทบาทต่อสุขภาพ	ชนิด / สายพันธุ์โพรไบโอติก
ภาวะติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
ภาวะท้องผูก	<i>Bifidobacterium</i> BB536 <i>Lactobacillus casei</i>
มะเร็งลำไส้ใหญ่	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
ภาวะลำไส้อักเสบและ ลำไส้ขาดเลือด	<i>Lactobacillus</i> ร่วมกับ <i>Bifidobacterium</i>
ภาวะตับอักเสบ	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
ภาวะภูมิแพ้	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota

ที่มา : Kirjavainen และคณะ (1998)

2.4 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารต่างๆ ไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical (HO^\cdot), Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้ (Halliwell, 1991)

ก) การแตกของพันธะโควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส (Homolysis)



ข) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



ค) การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



2.4.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน หมายถึง ปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ ออกซิเดชันยัง หมายถึง การสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องกัน เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมายหลายชนิดและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (โอภา และคณะ, 2550)

2.4.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่า ขั้นตอนอินิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระจะถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อกันไป โดยจะเรียกว่า ขั้นพรอพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้าย เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูลได้สารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็นอนุมูลอิสระได้นั้นต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็ยังมีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระ

ได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตด้วย ซึ่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระที่มักพบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตมีดังนี้ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.4.2.1 ชั้นอินิทิเอชัน (Chain initiation)

อนุมูลอิสระเกิดมาจากกลไกต่างๆกันได้หลายวิธี คือ การแตกพันธะของโมเลกุลที่เรียกว่า Homolysis หรือการแตกพันธะเนื่องจากแสง (photolysis) หรือผลของรังสี (radiolysis) หรือมาจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 4 ปฏิกิริยาจัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสร้างอนุมูลอิสระจากสารอินทรีย์ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

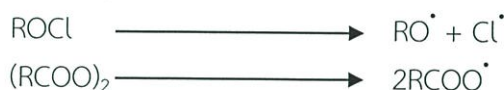
ก) Bond hemolysis

โมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (valence electron) เป็นจำนวนคู่แล้วในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพท์เป็นอนุมูลอิสระได้ โดยในสภาวะที่อุณหภูมิปกติ การที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนต์สามารถแยกจากกันไปให้อะตอมแต่ละตัวได้นั้น ต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก (Roberfroid และ Calderon, 1995) ตัวอย่าง Bond homolysis แสดงได้ดังสมการต่อไปนี้



ข) Photolysis

การแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอุลตราไวโอเล็ตทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ที่พบมากคือการแตกพันธะของ hydrogen peroxide (H_2O_2) กลายเป็นอนุมูล hydroxyl (HO^{\cdot}) โดยที่ในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสง เช่น รงควัตถุและสารของอะโรมาติกคาร์บอนบางชนิด หลังจากดูดพลังงานแสงแล้วจะทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะที่ตื่นตัว (excited state) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้าสถานะพื้น (ground state) ดั้งเดิม และอีกวิธีหนึ่งของการคายพลังงาน คือ การแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ดังนี้ (Roberfroid และ Calderon, 1995)



ค) Radioly

พลังงานจากรังสีชนิดต่างๆ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนต์ของโมเลกุลสารได้ โดยเฉพาะโมเลกุลของน้ำจะให้อนุมูลประจุบวก ($\text{H}_2\text{O}^{+\cdot}$) และอนุมูล hydroxyl (HO^{\cdot}) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูงทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้ รังสียังส่งผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยตรงจากสารองค์ประกอบเคมีของเซลล์ โดยเฉพาะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิต ซึ่งปฏิกิริยานี้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

ง) ปฏิกิริยารีดอกซ์

ปฏิกิริยารีดอกซ์หรือเรียกอีกอย่างว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยา ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน์ แต่มีปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหาย โดยสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่สำคัญคือ โมเลกุลของอนุมูล superoxide ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอด

อิเล็กตรอนที่อยู่ในโมโตคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกายนี้อาจจัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเฉพาะเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.4.2.2 ชั้นพรอพาเกชัน (Chain propagation)

ชั้นพรอพาเกชันเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่นซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ ซึ่งสามารถแบ่งกลไกของปฏิกิริยาในชั้นพรอพาเกชันได้ 3 ชนิดที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต (Roberfroid และ Calderon, 1995) คือ

ก) การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม

การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอมเป็นกลไกที่เกิดมากที่สุดในระดับของพรอพาเกชัน โดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวข้องกับการดึงไฮโดรเจนดังสมการ (Roberfroid และ Calderon, 1995)



ข) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน

การถ่ายทอดอิเล็กตรอนเป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เป็นกลางหรือมีประจุลบไปให้โมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical molecule) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันในสิ่งมีชีวิต (Lipid peroxidation) (Roberfroid และ Calderon, 1995)

ค) การเติมอนุมูลอิสระ

การเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่างๆ ดังสมการ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

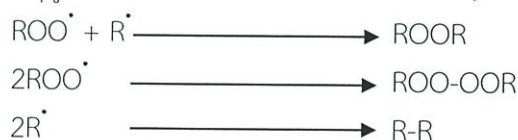


2.4.2.3 ชั้นเทอร์มิเนชัน (Chain termination)

ชั้นเทอร์มิเนชันเป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระมีกลไกหลัก 3 ชนิด คือ

ก) การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ

การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุล โดยการนำอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ของแต่ละโมเลกุลอนุมูลอิสระมาสร้างพันธะกันได้เป็นสารโมเลกุลใหม่ที่มีพันธะร่วมกัน หากเป็นการรวมตัวกันระหว่างอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่เป็นชนิดเดียวกัน เรียกโมเลกุลสารใหม่ที่ได้ว่า homodimer แต่ถ้าเป็นการรวมตัวของอนุมูลอิสระต่างชนิดกันเรียก heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และไขมัน เป็นต้น การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ (Roberfroid และ Calderon, 1995) แสดงได้ดังนี้



ข) การกำจัดอนุมูลอิสระ

Scavenge หมายถึงการกำจัดเอาขยะและสิ่งที่ไม่ต้องการออกไป ในกรณีนี้เปรียบอนุมูลอิสระได้กับสิ่งที่ไม่ต้องการ ซึ่งการกำจัดออกจะกระทำโดยสารกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า scavenger หรือ สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งจัดเป็น radical scavenger ที่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งวิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เป็นต้น (Roberfroid และ Calderon, 1995)

ค) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน

การถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุล หรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมีที่ว่างอยู่ในโมเลกุลทำให้สภาวะการเป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล superoxide (O_2^-) เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) เป็นต้น (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.5 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม โปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกลูโซนี่ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ubiquinone, uric acid, bilirubin, albumin, sulfhydryl groups ในกรดอะมิโน cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากนี้วิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavanoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย (มลศิริ, 2540)

สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด ดังนี้ (Strain และ Benzie, 1999)

- | | |
|-------------------------------|--|
| 1. Preventive antioxidant | ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ |
| 2. Scavenging antioxidant | ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น |
| 3. Chain breaking antioxidant | ทำให้ลูกลูโซของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง |

2.5.1 ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติ

2.5.1.1 วิตามินเอ

ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็น Precursor ของวิตามินเอ เรียกว่า โปรวิตามินเอมักพบในพืชผักใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง หรือสีส้มแดง (Park และคณะ, 2013)

2.5.1.2 วิตามินซี

วิตามินซีมีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxy (Iqbal และคณะ, 2004)

2.5.1.3 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งสารกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic ได้แก่ พวก lignin, tannin เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีการประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (อัญชญา, 2544) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และ แทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่นิวคลีโอสิสที่สำคัญคืออนุมูล peroxyl โดยมีกลไก 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขึ้นตอนพลอพาเกินได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans และคณะ, 1996)

2.5.1.4 ฟลาโวนอยด์ (ไบโอฟลาโวนอยด์)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากอีกชนิดหนึ่ง โดยจะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่าง คือ เป็นรงควัตถุทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจงและทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์และคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้น ต่อด้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอล และช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซี ซึ่งสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทย และพวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น (Buhler และ Miranda, 2000) สามารถแบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ คือ

ก) แอนโธไซยานิน แอนโทคลอร์ส และออโรนัส

แอนโธไซยานินเป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงิน ขึ้นกับชนิดของพืช พบใน บลูเบอร์รี่ เชอร์รี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโทคลอร์ส เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้ (Buhler และ Miranda, 2000)

ข) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวนอน (flavonones) ฟลาโวน-3-อล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และไดไฮโดรชัลโคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้มได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ (Buhler และ Miranda, 2000)

ค) ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols)

เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์ พบใน บลูเบอร์รี่ เซอร์รี่หวาน หัวหอม ชาดำ ชาเขียว บร็อคโคลี่ ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น (Buhler และ Miranda, 2000)

ง) ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid)

พบมากในพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone) เทอโรคาร์แพนส์ (terocarpans) ไอโซฟลาวัน (isoflavans) และโรทีนอยด์ (rotenoid) ได้ โดยทั่วไปจะรวมถึง เจนิสทีน (genistein) ไบโอซานิน เอ (biochanin a) และไดด์ซีน (daidzein) (Buhler และ Miranda, 2000)

จ) แทนนิน (tannin)

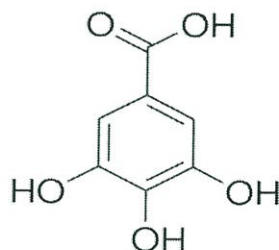
แทนนินหรือโพรแอนโธไซยานิดินเป็นสารประเภทโพลีฟีนอล (polyphenols) แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชันได้ เนื่องจากสามารถจับกับโปรตีน (Buhler และ Miranda, 2000)

2.5.2 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาติ นำมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น เช่น สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาจากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ โดยพัฒนามาจากโครงสร้างของวิตามินอีและโครงสร้างสารโพลีฟีนอล (โอภา และคณะ, 2550)

2.5.2.1 Gallic acid

Gallic acid หรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_7H_6O_5$ Gallic acid เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น เปลือกไม้โอ๊ค ใบชา และพืชอื่นๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของ Gallic acid คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี (Reynolds และ Wilson, 1991)



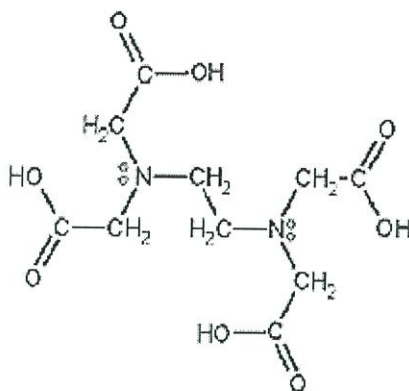
รูปที่ 2.23 โครงสร้างของกรดแกลลิก

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Gallic_acid (29 ต.ค. 2558)

2.5.2.2 EDTA

EDTA หรือ Ethylenediaminetetraacetic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_{10}H_{16}N_2O_8$ มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต โดยการจับกับธาตุโลหะที่มีประจุ เช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แคดเมียม

แมงกานีส และทองแดง ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่างๆได้ (Strain และ Benzie, 1999)



รูปที่ 2.24 โครงสร้างของ EDTA
ที่มา : Sinex, 2007 (29 ต.ค. 2558)

2.5.3 การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

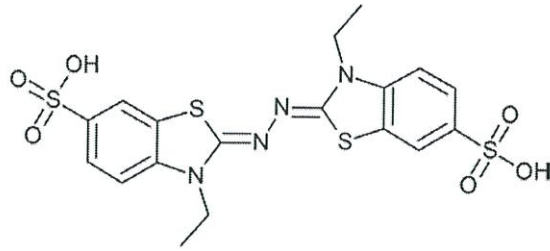
อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลากหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์และทำให้เกิดโรคต่างๆตามมา อนุมูลที่สำคัญ ได้แก่ Superoxide radical, Hydroxyl radical, สารอัลดีไฮด์ต่างๆที่เกิดจากกระบวนการ Lipid peroxidation จึงมีการคิดวิธีการสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระเหล่านี้ จึงมีหลายวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบ (Re และคณะ, 1999) ดังนี้

2.5.3.1 วิธี Scavenging activity of ABTS radical

วิธี Scavenging activity of ABTS radical เป็นวิธีวัดทางอ้อมโดยใช้สาร 2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้กลายเป็น $ABTS^{+•}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า ถึง เขียว มี λ_{max} ที่ 660, 734 และ 820 nm แต่ส่วนใหญ่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^{+•}$ ให้เป็น 0.700 ± 0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้ $ABTS^{+•}$ ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลงและสามารถนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ (Re และคณะ, 1999) ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{734} \text{ control} - A_{734} \text{ test sample}) / A_{734} \text{ control}] \times 100$$

ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน Trolox จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+•}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชันอนุมูล $ABTS^{+•}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย (Re และคณะ, 1999)



รูปที่ 2.25 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS

[2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)]

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/...> (29 ต.ค. 2558)

2.5.3.2 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical

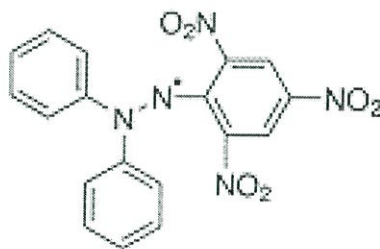
อนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+•}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม สามารถวัดได้โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Hou และคณะ, 2001)

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH[•] มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Blois, 1958)



ค่าที่วัดได้จะแสดงในสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517 \text{ control}} - A_{517 \text{ test sample}}) / A_{517 \text{ control}}] \times 100$$



รูปที่ 2.26 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical

ที่มา : Kubáček, 2004 (29 ต.ค. 2558)

ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำได้ง่าย จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH[•] มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ (Blois, 1958)

2.5.3.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

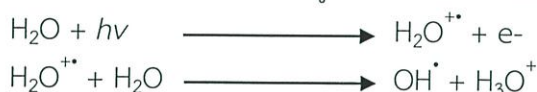
Hydroxyl radical (OH[•]) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย โดยการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer และคณะ, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH[•] radical โดย 2 กลไก ได้แก่

ก) ปฏิกิริยาของไอออนโลหะทรานซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

โลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H₂O₂ ได้ OH[•] แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe²⁺ ทำปฏิกิริยากับ H₂O₂ ได้ OH[•] โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction (Ohkawa และคณะ, 1979) ดังสมการ



ข) การแตกตัวของน้ำ เนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ



ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH[•] radical ของสารตัวอย่างต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical (OH[•]) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพู เมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH[•] radical ลงไป จะทำให้สีชมพูของสารละลายจางลง โดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (Ohkawa และคณะ, 1979) จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532 \text{ control}} - A_{532 \text{ test sample}}) / A_{532 \text{ control}}] \times 100$$

ค) การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี

การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสีเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation สามารถเกิดขึ้นได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วย ลิพิด 2 ชั้น การเกิดลิปิดออกซิเดชันกับลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ทั้งยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่มีการฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก Lipid peroxidation ได้แก่ สารจำพวกไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน เพนเทน และอีทีน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) Lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้นและการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิพิดและทำให้เกิดอนุมูลลิพิด (L[•] หรือ R[•]) (โอภาและคณะ, 2550)

2.5.3.4 วิธี Lipid peroxidation in liver homogenates

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดทดสอบโดยใช้ตับหนูมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยา Lipid

peroxidation ได้เป็นสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทูริกในสภาวะกรดสาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ลงไป จะทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (โอภาและคณะ, 2550)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ทำการศึกษาง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง แต่มีข้อเสีย คือ ต้องใช้สิ่งมีชีวิตในการทำการทดลอง จึงทำให้ลดความนิยมลงเมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532 \text{ control}} - A_{532 \text{ test sample}}) / A_{532 \text{ control}}] \times 100$$

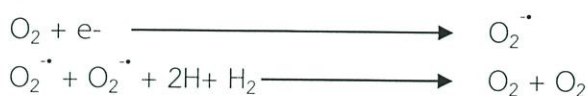
2.5.3.5 วิธี Metal chelating activity

การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ เป็นวิธีหนึ่งที่ยิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส หรือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot -}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe^{2+} ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ Fe^{2+} แล้วอยู่ในรูป Ferrozine - Fe^{2+} complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe^{2+} จะอยู่ในรูป Antioxidant - Fe^{2+} complex แล้วจะทำให้สีแดงของ Ferrozine - Fe^{2+} complex จางลงได้ เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition (Dinis และคณะ, 1994) ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{562 \text{ control}} - A_{562 \text{ test sample}}) / A_{562 \text{ control}}] \times 100$$

2.5.3.6 วิธี Superoxide radical scavenging

Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot -}$) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้น ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากจะทำให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้ว ฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงชันด้วย แต่ตัวของ $\text{O}_2^{\cdot -}$ จะมีความว่องไวน้อยกว่า OH^{\cdot} ซึ่งการเกิด $\text{O}_2^{\cdot -}$ (Nikishimi และคณะ, 1972) เป็นดังสมการ



เมื่อ $\text{O}_2^{\cdot -}$ ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 จะทำให้เกิด OH^{\cdot} ได้ทำการเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber-Weiss reaction (Nikishimi และคณะ, 1972) ดังสมการ



การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ $O_2^{\cdot -}$ ของสารตัวอย่าง ซึ่ง $O_2^{\cdot -}$ จะผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) – Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) อนุมูล $O_2^{\cdot -}$ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetrazolium (NBT) ซึ่งมีสีเหลือง ปฏิกิริยาระหว่าง $O_2^{\cdot -}$ กับสาร NBT ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร diformazan (DF) ที่มีสีน้ำเงิน และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 nm จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition (Nikishimi และคณะ, 1972) ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{560 \text{ control}} - A_{560 \text{ test sample}}) / A_{560 \text{ control}}] \times 100$$

2.5.3.7 วิธี Reducing power

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการจะทดสอบสามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN)_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN)_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น (Oyaizu, 1986)

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุที่ใช้ในการทดลอง คือ ผลไม้จำนวน 15 ชนิด จากตลาดสุวรรณภูมิ เขตตลาดกระบุง กรุงเทพมหานคร และจากตลาดในกรุงเทพและปริมณฑล ได้แก่

ตารางที่ 3.1 ผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	พันธุ์	ชื่อสามัญ	วงศ์	ส่วนที่นำมาใช้
<i>Ananas comosus</i> L. Merr	สับปะรด	ศรีราชา	Pineapple	Bromeliaceae	เปลือก
<i>Carica papaya</i> L.	มะละกอสุก	แขกดำ	Papaya	Caricaceae	เปลือก
<i>Citrus Japonica</i> Thunb.	ส้ม	แมนดาริน	Kumquat	Rutaceae	เปลือก
<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	ส้มโอ	ทองขาว	Pommelo	Rutaceae	เปลือก
<i>Diospyros kaki</i>	ลูกพลับ	ฟูยู	Persimmon	Ebenaceae	เปลือก
<i>Durio zibthinus</i> Murray	ทุเรียน	หมอนทอง	Durian	Malvaceae	เปลือก
<i>Eugenia Javanica</i> Lamk	ชมพู	ทับทิมจันทร์	Rosoe Apple	Myrtaceae	เปลือก
<i>Hylocereus undatus</i> (Haw) Britt. & Rose	แก้วมังกร	เนื้อแดง	Dragon fruit	Cactaceae	เปลือก
<i>Malus domestica</i>	แอปเปิ้ล	ฟูจิ	Apple	Rosaceae	เปลือก
<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.)	ฟักข้าว	เวียดนาม	Sweet Gourd	Cucurbitaceae	เปลือก
<i>Muntingia calabura</i> L.	ตะขบ	ฝรั่ง	Jamalcan	Muntingiaceae	ผล
<i>Musa</i> (AAA group) "Kluai Hom thong"	กล้วย	หอมทอง	Gros Michel	Musaceae	เปลือก
<i>Pithecellobium dulce</i>	มะขามเทศ	ฝักหวาน	Manila Tamarind	Fabaceae	เปลือก
<i>Punica granatum</i> L.	ทับทิม	อินเดีย	Punica apple	Punicaceae	เปลือก
<i>Vitis vinifera</i> L.	องุ่น	แดงนอก	Grape	Vitaceae	เปลือก

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ FD-DVS ABT-5 Probio-Tec ที่เป็นเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* และ *Bifidobacterium* ที่ได้มาจาก บริษัทเบรนท์ อินกรีเดียน ประเทศไทย (Brenntag Ingredients (Thailand) Public Company Limited) ที่อยู่ 1168/98-100 ดิกลุมพินิทาวน์ ชั้น 33 ถนนพระราม 4 ทุ่งมหาเมฆ สาทร กรุงเทพมหานคร 10120

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

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

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 (Ethanol, V569-10, Macron, USA) สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร น้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูง Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) สารละลาย 2,2-difhenol-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร สารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 141358.1210, Panreac, E.U) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ สาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ อะซีโตน (Acetone, AC0310, Scharlau, Spain) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0 เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ทนความร้อน (heat-stable α -amylase, from *Bacillus licheniformis*, A3306-10ml, Sigma Aldrich, Germany) เอนไซม์โปรตีเอส (Protease, from *Bacillus licheniformis*, P5459-56, Sigma Aldrich, Germany) เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase, form *Aspergillus niger*, A7095-50ml, Sigma Aldrich, Germany) สารช่วยกรอง (Celite, 22140-1KG-F, Sigma Aldrich, Germany) สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.325 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์ สารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 226-500G, Ajaxfinechem, Australia) สารละลายกรด-3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-dinitrosalicylic acid) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0 (Phosphate buffer 20mM pH 7.0) เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (α -amylase 2 unit/ml, A6255-10MG, Sigma Aldrich, Germany) สารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์พีเอช 1.0 (HCl buffer pH 1.0) สารละลายมาตรฐานกลูโคส (Glucose standard) สารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 (5% Phenol , 164852.1210, Panreac, E.U) สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 (2% Boric acid) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น ร้อยละ 45 (45% NaOH 482-1KG, Ajaxfinechem, Australia) สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (H_2SO_4 0.1 N) สารละลายกรดซัลฟูริก (Conc. H_2SO_4 , 534-2.5L, Ajaxfinechem, Australia) สารละลายอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) สารละลายอินดิเคเตอร์สกรีนเมทิลออเรนจ์ (Screened Methyl orange) Catalyst (ตัวเร่งปฏิกิริยา) ประกอบด้วย 98% K_2SO_4 และ 2% CuSO_4 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 (Methanol, 3016-68, Macron, USA) และเส้นใยที่ละลายน้ำได้จากข้าวโพด (Fibersol-2 soluble จาก corn, prebiotic, Brenntag ingredients, ประเทศไทย)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แท่งแก้วคนสาร ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) กรวยแก้วกรองสาร ลูกเขี่ยเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (TE214S, Sartorius, Germany) ตู้อบ

ลมร้อน (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) เครื่องเขย่า (shaker, Gallenkamp, United Kingdom) 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) ฟิลเตอร์ ครูซิเบิล 50 มิลลิลิตร (Filter Crucible Vacuum flask ROBU Borosilicat 3.3 Por.2, Germany) เตาอบสุญญากาศ (Vacuum oven) เดซิเคเตอร์ (Desiccator, NALGENE, USA) เตาเผาความร้อนสูง (Muffle Furnace, Humanlab รุ่น DMF-05, 1200 C 4.5 ลิตร, Korea) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) บีกเกอร์ (beaker) เครื่องผสมสาร (vortex mixer) เครื่องนับโคโลนี (Colony counter, Funke Gerber, Germany) เครื่องชั่งสาร 3 ตำแหน่ง (PG 803, Mettler Toledo, Switzerland) เครื่องตีปั่น (Stomacher, Bagmixer 400, France) เครื่องเจือจางสารตัวอย่างลงบนจานเพาะเชื้ออัตโนมัติ (Automated spiral plate, Autoplate 4000, USA) เตาแก๊ส (กล้วยน้ำไท การช่างไทย, ประเทศไทย) หลอดทดลอง ขนาด 16×150 มิลลิเมตร (Test tube, Pyrex, ประเทศไทย) ถ้วยพลาสติกกลมพร้อมฝา ปริมาตร 120 มิลลิลิตร (ประเทศไทย) ถ้วยพลาสติก ปริมาตร 4 ออนซ์ (ประเทศไทย) เทอร์โมมิเตอร์ เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer, IKA c-mag HS 10, China) ฟลากส์กลัสน์โปรตีน (CLS5420800, ALDRICH Pyrex® Kjeldahl, Germany) และเครื่องผสม (SHARP EM-ICEPOWER, บริษัท ชาร์ป, ประเทศไทย)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง คือ ผลไม้จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ กล้วยหอม แก้วมังกรแดง ชมพูทับทิมจันทร์ ตะขบ ทุเรียนหอมทอง ทับทิม ฟักข้าว มะขามเทศ สับปะรดศรีราชา ส้มแมนดาริน องุ่นแดงนอก แอปเปิ้ลฟูจิ มะละกอสุก ส้มโอ เริ่มจากการนำเปลือกผลไม้เหล่านี้ ยกเว้นตะขบที่ใช้ทั้งลูกมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยการอบในตู้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เมื่อเปลือกและผลของผลไม้แห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น ในการเตรียมสารสกัดทำได้โดยระเหยเอาสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) จนได้สารสกัดเข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู นำไประเหยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเอทานอลระเหยออกจนหมดจะได้สารสกัดแห้ง เมื่อวิเคราะห์จะเตรียม stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารสกัดแห้งด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เพื่อนำไปวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

assay ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และปริมาณใยอาหารทั้งหมด

3.2.2 การศึกษาสมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

3.2.2.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) มีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) พีเอช 3.6 ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน จะได้เป็นสารละลาย FRAP reagent จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent มา 3 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารสกัดตัวอย่างหรือชุดควบคุมเชิงบวก BHT (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) ส่วนแบลงค์ (blank) จะใช้สารละลาย FRAP เป็นแบลงค์ และใช้สารละลายมาตรฐาน Fe(II) ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยทำการเจือจางเป็น 7 ระดับ คือ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำมาทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารตัวอย่างรายงานผลเป็นหน่วยมิลลิโมลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II) /g extract)

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป แล้วเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการ

เส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยได้รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรด-แกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) ที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากเปลือกผลไม้ ส่วนแบลนค์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวาดกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ 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 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับพีเอชของสารละลายมาผสมให้มีพีเอชเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล จากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase from porcine pancreas, Sigma, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (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 3.2.2.3 ก.) โดยทำตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้นจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรนี้

$$\text{ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์} - \text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย}}{\text{(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)}} \quad \text{(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)}$$

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดชั่วโมงที่ 0 วิเคราะห์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS method) ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Miller (1959) ทำได้

โดยปิเปตสารสกัดจากเปลือกและผลของและผลไม้ความเข้มข้น 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)

ก) การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

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

จากผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้ จะพิจารณาจากสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้มีปริมาณสูง 5 อันดับแรก นำมาวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (ภาคผนวก ข)

3.2.3 การศึกษาผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลของการเติมผลแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้ที่มากที่สุด 5 อันดับแรกมาทำการประยุกต์ลงในโยเกิร์ตโดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.2.3.1 การเตรียมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

นำเปลือกและผลของผลไม้ที่ถูกคัดเลือกแล้วว่ามีปริมาณของใยอาหารสูงที่สุด 5 อันดับแรกมาล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจนแห้ง จากนั้นนำมาทำให้เป็น

ผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น และร่อนด้วยตะแกรงเพื่อทำให้มีขนาดเล็ก แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.2.3.2 การผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักขั้นแรกได้นำน้ำนมพร่องมันเนยตราเมจิ ปริมาตร 2,500 มิลลิลิตรที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 0 และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 11.838 นำไปทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมด้วยหางนมผงปริมาณร้อยละ 5 (125 กรัม) เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 17.246 จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเพื่อผสมหางนมผงกับนมให้เข้ากัน แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมผงแห้งจากเปลือกผลไม้ร้อยละ 2.5 (ตัวอย่างละ 6.25 กรัมเติมลงในนมปริมาตร 250 มิลลิลิตร) ลงไปให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสม (SHARP EM-ICEPOWER, บริษัท ชาร์ป ประเทศไทย) แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อ FD-DVS ABT-5 Probio-Tec ที่เป็นเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophiles* และ *Bifidobacterium* ที่ได้มาจาก บริษัทเบรนเทค อินกรีเดียน ประเทศไทย ที่เตรียมไว้ใส่ลงไปร้อยละ 0.02 (0.5 กรัมในนมปริมาตร 2,500 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน นำไปบรรจุในภาชนะปิดฝา แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักที่เวลา 0 12 และ 24 ชั่วโมงของการหมักเพื่อนำไปวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด การวัดค่าความเป็นกรด ต่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณความชื้น และเฉพาะตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักที่เวลา 24 ชั่วโมง นำมาหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ดังต่อไปนี้

ก) การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด

การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดด้วยวิธี spiral plate ทำได้ดังนี้ โดยนำตัวอย่างโยเกิร์ต 10 กรัม มาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่น (Stomacher, Bagmixer 400, France) หลังจากนั้นนำมาทำการเจือจางเป็นความเข้มข้น 100 1,000 และ 10,000 เท่า จากนั้นนำตัวอย่างไปจ่ายลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ด้วยเครื่อง spiral plate (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมงแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยนำเพลทใส่ลงในภาชนะปิดแล้วจุดเทียนเพื่อไล่อากาศออกจากภาชนะนั้น เมื่อเทียนดับแล้วจึงนำไปบ่ม หลังจากครบ 24 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนโคโลนีด้วยมือ (manual counting) โดยการใช้ spiral grid ทาบลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ก่อนนับให้วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อคว่ำลงบนเครื่องนับโคโลนี โดยให้จุดที่ทำเครื่องหมายเริ่มต้นไว้อยู่ที่ตำแหน่ง 6 นาฬิกา วางแผ่น spiral grid ทาบกับจาน ให้ส่วนที่อยู่ในสุดอยู่ใน segment ที่ 13 อยู่ตรงกลางจานเพาะเชื้อ โดยเริ่มนับจำนวนโคโลนีที่วงนอกสุด คือ segment ที่ 8 โดยเลือกนับที่ quadrant A หรือ B อย่างไม่อย่างหนึ่ง นับจากข้างนอกเข้ามาข้างใน จนกระทั่งได้อย่างน้อย 20 โคโลนี ถ้าวางนอกสุดมีโคโลนีน้อยกว่า 20 โคโลนีให้นับโคโลนีใน segment ที่ติดกันถัดเข้ามาจนกระทั่งครบได้อย่างน้อย 20 โคโลนี ถ้าหากมีโคโลนีขึ้นมากกว่า 20 โคโลนีใน segment สุดท้ายให้นับต่อจนครบทุกโคโลนี และนับจำนวนโคโลนีใน

segment เดียวกันในด้านทแยงมุมที่อยู่ใน quadrant เดียวกัน ถ้านับทุก segment แล้วมีจำนวน โคโลนีน้อยกว่า 20 โคโลนี ให้นำโคโลนีทั้งหมดในจาน

วิธีการคำนวณ

$$\frac{\text{ผลรวมของจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ด้าน}}{\text{ค่าคงที่ของปริมาตร}} \times 1,000 \times \text{dilution factor}$$

ตารางที่ 3.2 ค่าคงที่ของปริมาตรตัวอย่างที่จ่ายลงบน segment ที่นับโคโลนีทั้ง 2 ด้าน (ปริมาตรที่จ่าย 50 ไมโครลิตรต่อจาน)

Segment ที่	จานขนาด 100 มิลลิเมตร
8	1.214
9	2.968
10	5.500
11	9.157
12	14.482
13	25.015
ทั้งเพลท	50.030

ที่มา : Automated spiral plater User Guide, Spiral Biotech

ข) การวัดค่าความเป็นกรดต่าง

การวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH510, Eutech-Mettler, Green plus, Thailand) โดยทำการใช้ส่วนของ Glass electrode ของเครื่องวัดกรดต่างแบบตั้งโต๊ะจุ่มลงในเนื้อของโยเกิร์ต แล้วอ่านค่าของพีเอชที่ได้

ค) การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมด

การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมดทำตามวิธีการของ AOAC (2006) โดยการนำตัวอย่างโยเกิร์ต ปริมาณ 1 กรัมผสมกับน้ำปราศจากคาร์บอน 9 มิลลิตร จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วนำมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งถึงจุดยุติเปลี่ยนเป็นสีชมพู จดปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้ในการไตเตรทเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรดแลคติก

สูตรคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก)} = \frac{0.009 \times M \times V_x}{0.1 \times w} \times 100$$

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

ง) การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในโยเกิร์ต (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นทำตามวิธีการของ AOAC 2000 ดังนี้ ทำการอบ moisture can ในตู้อบลมร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาออกมาใส่ในเดสิเคเตอร์เพื่อดูความชื้น และทำการอบซ้ำอีกครั้งเพื่อให้อุณหภูมิคงที่ นำเอาตัวอย่างโยเกิร์ตที่ต้องการหาความชื้นมาชั่งน้ำหนัก 2 กรัม แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบมาใส่เดสิเคเตอร์เพื่อดูความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก moisture can พร้อมตัวอย่าง อบซ้ำจนอุณหภูมิคงที่ แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ}-\text{น้ำหนักหลังอบ(กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)

จ) การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์นมหมักด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) นำโยเกิร์ตปริมาณ 1 กรัม เจือจางด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีการที่ 3.2.2.1

ฉ) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในโยเกิร์ต

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โยเกิร์ตปริมาณ 1 กรัม ทำการเจือจางด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตรแล้วทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีการที่ 3.2.2.2

ช) การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ โดยให้ผู้ทดสอบลงคะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความเปรี้ยว ความหวาน และความชอบโดยรวม โดยเสิร์ฟตัวอย่างที่แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากการหมักครบเวลา 24 ชั่วโมง ตัวอย่างละ 20 กรัม ผู้ทดสอบชิมเป็นนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ และบุคลากร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 20 คน ได้ทำการทดสอบความชอบโดยใช้วิธี 9 point hedonic scale เป็นการทดสอบการยอมรับหรือระดับความพึงพอใจของผู้ทดสอบ ซึ่งให้ 1 คือ ระดับคะแนนที่ไม่ชอบมากที่สุดจนถึง 9 คือ ระดับคะแนนที่ชอบมากที่สุด (แบบประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสแสดงใน ภาคผนวก ฉ)

3.2.2.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ชั่วโมงของจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด ปริมาณความเป็นกรดต่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และ การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22.0 (IBM, USA)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ทั้ง 14 ชนิด และผลของตะขบ ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยที่รีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) ซึ่งจะมีสีเป็นสีน้ำเงินอมม่วง โดยสีน้ำเงินอมม่วงนั้นเกิดจากอะตอมของเหล็กในสารเฟอร์ริก จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็นสารเฟอร์รัส ถ้าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นยังมีสีเข้มขึ้นจะหมายความว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์สูง จะแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะยิ่งมากขึ้นเช่นกัน จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิมซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.59 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์รองลงมาเป็นอันดับ 2 ถึง 5 คือ สารสกัดจากเปลือกมะขามเทศ สารสกัดจากผลตะขบ เปลือกส้มแมนดาริน และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.81, 0.46, 0.38 และ 0.26 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไม่สูงมากนัก ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกสับปะรดศรีราชา ส้มโอ ฝรั่งแดงนอก พักข้าว แก้วมังกรแดง ลูกพลับ ทูเรียนหมอนทอง กล้วยหอม มะละกอสุก และชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ในช่วง 0.25 ถึง 0.01 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานที่ใช้ คือ บิวทิล ไฮดรอกซี โทลูอิน (Butylated hydroxyl toluene) หรือ BHT ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.65 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด และพบว่าสารมาตรฐาน BHT นั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุดซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าสารสกัดทุกตัวที่นำมาทำการวิเคราะห์

4.1.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกผลไม้ทั้ง 14 ชนิด และผลของตะขบ พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 210.31 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรองลงมาเป็นอันดับ 2 ถึง 5 คือ สารสกัดจากเปลือกส้มโอ มะขามเทศ ส้มแมนดาริน และแก้วมังกรแดง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 80.63, 77.58, 54.67 และ 49.16 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารจากเปลือกผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ สารสกัดจากผลตะขบ เปลือกแก้วมังกรแดง พักข้าว สับปะรดศรีราชา กล้วยหอม มะละกอสุก ทูเรียนหมอนทอง แอปเปิ้ลฟูจิ ชมพูทับทิมจันทร์ ฝรั่งแดงนอก และลูกพลับ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 34.51 ถึง 7.60 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เมื่อพิจารณาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ได้พบว่าสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่เปลือกทับทิมมีปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน

การศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง ซึ่งจากการวิจัยของ Manasathien และคณะ (2011) ที่ได้ทำการทดลองหา กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 451.96 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 49.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธี FRAP method นอกจากนี้ยังมีการวิจัยของ Kanatt และคณะ (2010) ที่ได้ทำการทดลองหา กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยน้ำกลั่น พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 161.25 มิลลิกรัม catechin equivalent ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของสารสกัด ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อให้ได้สารประกอบฟีนอลิกถูกสกัดออกมาในปริมาณสูงสุด มีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องคือ ชนิดของตัวทำละลาย (เช่น เอทานอล เมทานอล และน้ำ) หรืออัตราส่วนของตัวทำละลายที่ผสมกับขนาดอนุภาคของวัสดุจากพืช อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับวัสดุจากพืชที่ใช้ รวมทั้งอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด การใช้เอทานอลและน้ำในการสกัด แม้ว่าจะทำให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าการใช้เมทานอล แต่การใช้เอทานอลและน้ำในการสกัดสารฟีนอลิกจากพืชปลอดภัย เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ใช้กับอาหารได้ (Akhtar และคณะ, 2015) Tabaraki และคณะ (2012) ได้ใช้อุลตราโซนิคร่วมกับสถานะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกทับทิมโดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 ผสมกับน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น (8,673.87 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมและมีอัตราผลได้ใน การสกัด (extraction yield) เท่ากับร้อยละ 45.38 และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 63.37 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อ 100 กรัม จากการที่สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงอาจมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด โดยที่เปลือกทับทิมในอัตราส่วนร้อยละ 50 ของน้ำหนักผล ประกอบไปด้วยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ คือ ฟีนอลิก, ellagitannins, proanthocyanidins polysaccharides และฟลาโวนอยด์ ซึ่งจะช่วยในการต่อต้านการกลายพันธุ์ของเซลล์ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และส่งเสริมคุณสมบัติการตายของเซลล์ (Akhtar และคณะ, 2015) Elsherbiny และคณะ (2016) ได้รายงานว่สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 104.6 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และได้จำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเมทานอล ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบสารสำคัญ 24 ชนิด โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบปริมาณมากในสารสกัดจากเปลือกทับทิม ได้แก่ chlorogenic acid (42.401 มิลลิกรัมต่อกรัม) catechin (30.412 มิลลิกรัมต่อกรัม) และสารอื่นๆที่พบในปริมาณค่อนข้างน้อย ได้แก่ ellagic acid (5.374 มิลลิกรัมต่อกรัม) caffeic acid (3.178 มิลลิกรัมต่อกรัม) catechol (2.868 มิลลิกรัมต่อกรัม) ferulic acid (2.102 มิลลิกรัมต่อกรัม) protocatechuic acid (1.931 มิลลิกรัมต่อกรัม) coumarin (1.694 มิลลิกรัมต่อกรัม) salicylic acid (1.641 มิลลิกรัมต่อกรัม) cinnamic acid (1.537 มิลลิกรัมต่อกรัม) gallic acid (1.398 มิลลิกรัมต่อกรัม) pyrogallol

(1.292 มิลลิกรัมต่อกรัม) p-coumaric acid (1.236 มิลลิกรัมต่อกรัม) caffeine (1.137 มิลลิกรัมต่อกรัม) a-coumaric acid (1.058 มิลลิกรัมต่อกรัม) และ 4-amino benzoic acid (1.016 มิลลิกรัมต่อกรัม) และยังมีสารที่พบในปริมาณน้อยได้แก่ benzoic acid (0.549 มิลลิกรัมต่อกรัม) e-vanillic acid (0.401 มิลลิกรัมต่อกรัม) p-hydroxy benzoic acid (0.356 มิลลิกรัมต่อกรัม) vanillic acid (0.301 มิลลิกรัมต่อกรัม) epicatechin (0.292 มิลลิกรัมต่อกรัม) 3-hydroxy tyrosol (0.262 มิลลิกรัมต่อกรัม) resveratrol (0.203 มิลลิกรัมต่อกรัม) และ Isoferulic acid (0.109 มิลลิกรัมต่อกรัม)

จากการทดลองนี้สารสกัดจากเปลือกมะขามเทศมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์หาคิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะขามเทศยังไม่เคยมีการศึกษาไว้ แต่มีการรายงานเฉพาะในเนื้อ (pulp) ของผลสุกจากมะขามเทศ และในมะขามเทศทั้งผลเท่านั้น Kubola และคณะ (2011) ได้รายงานว่กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อของผลสุกของมะขามเทศที่สกัดด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 มีค่าเท่ากับ 0.92 มิลลิโมลเฟอรส์ซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัดด้วยวิธี FRAP method และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 3.85 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมของสารสกัด ส่วน Megala และ Geetha (2010) ได้รายงานว่สารสกัดจากผงแห้งจากมะขามเทศทั้งผลที่ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 44.50 และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 26.50 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด เนื่องจากสารสกัดจากผลมะขามเทศมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างดีเพราะว่าอาจมีสารโพลีฟีนอลที่สำคัญอยู่หลายชนิด Kubola และคณะ (2011) จึงได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากผลมะขามเทศที่สกัดด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบสาร hydrobenzoic acids ได้แก่ gallic acid 12.37 มิลลิกรัมต่อกรัม และ protocatechuic acid 3.59 มิลลิกรัมต่อกรัม และพบสาร hydrocinnamic acids ได้แก่ caffeic acid 18.69 มิลลิกรัมต่อกรัม p-coumaric acid 12.36 มิลลิกรัมต่อกรัม และ ferulic acid 12.35 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากสารโพลีฟีนอลเป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติโดยเฉพาะในพืช ได้แก่ phenolic acids, flavonoids, stilbenes, lignans และ tannins ซึ่งจะช่วยในการชะลอการเสื่อมสภาพของหลอดเลือดและปรับปรุง การเสื่อมสภาพของที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของหลอดเลือดโดยการยับยั้งการเกิด oxidative stress หรือสภาวะความเครียดออกซิเดชัน และการอักเสบ รวมทั้งลดอัตราเสี่ยงในการเกิดหัวใจขาดเลือด (Du และคณะ, 2016)

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากตะขบมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kubola และคณะ (2011) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หาคิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยทำการสกัดตะขบ (*Muntingia calabura* Linn.) ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ซึ่งพบว่าสารสกัดจากตะขบมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 6.83 มิลลิโมลเฟอรส์ซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด นอกจากนี้ยังมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 16.50 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และได้จำแนกชนิดสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากตะขบด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบสาร hydrobenzoic acids ซึ่งประกอบด้วย protocatechuic acid 29.08 มิลลิกรัมต่อกรัม gallic acid 17.23 มิลลิกรัมต่อกรัม vanillic acid 13.80 มิลลิกรัมต่อกรัม

และ p-hydroxy benzoic acid 2.63 มิลลิกรัมต่อกรัม และสาร hydrocinnamic acids ซึ่งประกอบด้วย chlorogenic acid 16.46 มิลลิกรัมต่อกรัม caffeic acid 1.70 มิลลิกรัมต่อกรัม syringic acid 3.65 มิลลิกรัมต่อกรัม p-coumaric acid 3.01 มิลลิกรัมต่อกรัม ferulic acid 143.74 มิลลิกรัมต่อกรัม และsinapicnic acid 45.68 มิลลิกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ตัวยังมีสารที่ให้สีแดง คือ สารไลโคปีน (lycopene) กรดเอลลาจิก (ellagic Acid) และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่ช่วยทำให้ระบบการทำงานของต่อมลูกหมากดีขึ้น ทั้งยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด รวมถึงปกป้องเซลล์จากการถูกทำลายจากสิ่งแวดล้อม (กานดา, 2556)

สารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปานกลาง Casquete และคณะ (2015) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 530.05 มิลลิกรัมกรดแกลลิก 100 กรัมของเปลือกสด และจากการทดลองของ Li และคณะ (2006) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 72 พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 1.271 มิลลิโมลเพอร์ซัลเฟตต่อ 100 กรัมของเปลือกสด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 121.14 มิลลิกรัม GAE ต่อ 100 กรัมของเปลือกสด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลางในเปลือกส้มแมนดารินอาจเป็นผลมาจากการมีสารโพลีฟีนอลซึ่งเป็นสารที่สามารถพบได้ทั่วไปในพืช Wang และคณะ (2008) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินที่สกัดด้วยเมทานอลมีสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 49.2 มิลลิกรัม (rutin equivalents) ต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง และมีแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.04 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง และได้ทำการจำแนกชนิดของสารทั้งหมดจากเปลือกส้มแมนดารินด้วยวิธี Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) พบสารที่เป็นองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ ได้แก่ สารประกอบฟลาโวนอนด์ (flavanone) เช่น naringin (0.54 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) hesperidin (29.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และneohesperidin (0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) สารประกอบฟลาโวนน (flavones) เช่น diosmin (0.36 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) luteolin (0.21 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และ sinensetin (0.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonol) เช่น rutin (0.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) quercetin (0.47 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และkaempferol (0.38 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และกรดฟีนอลิก (phenolic acid) หลายชนิด เช่น caffeic acid 3.06 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง chlorogenic acid 321 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง sinapic acid 94.2 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง serulic acid 150 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง และ q-coumaric acid 346 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง และพบสารที่เป็นองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ lutein (7.75 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) zeaxanthin (6.46 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) β -cryptoxanthin (30.5 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และ β -carotene (69.2 ไมโครกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) ซึ่งสารประกอบฟลาโวนอยด์ เช่น quercetin, rutin hesperidin เป็นสารที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้สารประกอบฟลาโวนอยด์ยังมี

คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารประกอบฟลาโวนอยด์มีกลุ่ม phenolic hydroxyl ที่จะคอยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันโดยอัตโนมัติ (Du และคณะ, 2016)

สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง และมีสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างน้อย ซึ่งจากการรายงานของ Vieira และคณะ (2011) ที่ได้ทำการศึกษาสมบัติทางพิษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแอปเปิ้ลฟูจิที่สกัดด้วยสารละลายอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 907.41 ไมโครโมล-ทรอลอกซ์ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 499.22 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ส่วนสารสกัดจากเนื้อแอปเปิ้ลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 155.64 ไมโครโมล-ทรอลอกซ์ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 137.47 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด Veberic และคณะ (2005) จึงได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกและเนื้อของแอปเปิ้ลฟูจิ ด้วยวิธีด้วยวิธี High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า สารประกอบฟีนอลิกในเปลือกทับทิมประกอบด้วย procyanidin B3 (0.60 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) protocatechuic acid (0.30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) chlorogenic acid (17.40 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) epicatechin (2.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) p-coumaric acid (0.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) rutin (84.30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) phloridzin (11.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) และ quercetin-3-rhamnoside (18.00 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) ส่วนในเนื้อแอปเปิ้ลประกอบด้วย protocatechuic acid (0.08 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) chlorogenic acid (10.70 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) epicatechin (0.37 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) p-coumaric acid (0.02 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) และ phloridzin (0.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) ซึ่งจะเห็นได้ว่าในเปลือกแอปเปิ้ลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเนื้อแอปเปิ้ล

4.1.3 ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เป็นการหาปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ถ้าหลังจากการย่อยแล้วยังเหลือสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณมาก แสดงว่าสารสกัดชนิดนั้นมีความสามารถในการทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณสูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 425.03 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1) ส่วนมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์รองลงมาอันดับที่ 2 ถึง 5 คือ สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ สับปะรดศรีราชา ทุเรียนหมอนทอง ลูกพลับ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 239.44, 211.44, 67.23 และ 52.27 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ไม่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ใน

ปริมาณไม่สูงมากนัก ได้แก่ สารสกัดจากผลตะขบ สารสกัดจากเปลือกทับทิม องุ่นแดงนอก ส้มโอ มะขามเทศ พักข้าว กล้วยหอม แก้วมังกร ส้มแมนดาริน และมะละกอสุก ซึ่งมีปริมาณของ สารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 50.99 ถึง 1.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

พรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ถูกย่อยซึ่งส่งผลต่อร่างกายโดยช่วยกระตุ้นการ เจริญเติบโตหรือกิจกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ สารที่จัดเป็นสารพรีไบโอติกจะต้องไม่ถูกไฮโดรไลซ์หรือดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนต้น เป็นข้อบ่งชี้ที่ถูกต้องที่เลือกโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ใน ลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียนี้และสามารถเปลี่ยนแปลง colonic flora ในทางที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (non-digestible carbohydrate) เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ เปปไทด์ โปรตีนบางชนิด และไขมันบางชนิดทั้งประเภท อีเทอร์และเอสเทอร์ เป็นเพราะโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ทำให้ไม่ถูกดูดซึมในส่วนบนของระบบ ทางเดินอาหารหรือไม่ถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ย่อยอาหารของมนุษย์สารนั้นเรียกว่า colonic food เช่น อาหารเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และเป็นข้อบ่งชี้สำหรับแบคทีเรีย ดังนั้นจึงให้พลังงานเมแทบอลิซึม สเตรต และสาร micronutrient ที่จำเป็นแก่ร่างกาย (Gibson และ Roberfroid, 1995) ซึ่งโอลิโก- แซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยเป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ในธรรมชาติสารนี้เป็น intermediate ระหว่าง simple sugar และโพลีแซคคาไรด์ โดยสารเหล่านี้มีสมบัติทางเคมีกายภาพ และสมบัติทางสรีรวิทยาที่สำคัญซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นิยม นำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารกันมากขึ้น นอกจากนี้สมบัติดังกล่าวยังรวมไปถึงการไม่ทำให้ฟันผุ ให้ พลังงานน้อย และสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ และยัง เกี่ยวข้องกับการลดความเสี่ยงในการติดเชื้อและเป็นโรคอุจจาระร่วง และช่วยปรับปรุงการตอบสนอง ของระบบภูมิคุ้มกัน ยิ่งกว่านั้นการลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ซึ่งมีสาเหตุมาจากการหมักของโอลิโก แซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย เป็นผลให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคลดลง และยังช่วยเพิ่มประชากรของ bifidobacteria และช่วยเพิ่มความสามารถในการเอาแร่ธาตุที่ไปใช้ (Mussatto และ Mancilha, 2007) ดังเช่นการรายงานของ Wichienchot และคณะ (2010) พบว่าสารสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จาก เนื้อแก้วมังกรขาวส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ทำให้จำนวน เชื้อเพิ่มขึ้นจาก 9.02×10^7 เป็น 6.17×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตรภายใน 48 ชั่วโมงและเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* เพิ่มขึ้นจาก 1.70×10^8 เป็น 2.51×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตรภายใน 72 ชั่วโมงและจากการทดลอง Thammarutwasik และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดจากเปลือก ผลอ่อน และเนื้อของปาล์ม (palm fruit) เปลือก เนื้อและเมล็ดของขนุน (jackfruit) เนื้อเงาะ (rambutan) เนื้อจำปาดะ (jampadah) เนื้อมะพร้าวอ่อน (young coconut) และฝักกระเจี๊ยบ (okra pod) มี ปริมาณ indigestible polysaccharide อยู่ในช่วง 334.87 ถึง 705.80 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด แห้ง ซึ่งสารสกัดเหล่านี้ทั้งหมดสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ได้ โดยมีสารสกัด 8 ชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และมี 4 ชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* ซึ่งมีสารพรี ไบโอ-ติกทางการค้าที่กระตุ้นเจริญเติบโตของเชื้อ bifidobacterium ได้แก่ อินนูลิน (inulin) โอลิโก- ฟรุคโตส (oligofructose) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) กาแลคโตโอลิโกแซคคา- คาร์ไรด์ (galactooligosaccharide) เจนทิโอลิโกแซคคาไรด์ (gentiooligosaccharide) ไอโซมอล- โตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomaltooligosaccharide) แลคโตซูโครส (lactosucrose) แลคโทโลส

(lactulose) ราฟิโนส (raffinose) โอลิโกแซคคาไรด์จากธัญพืชและถั่วเหลือง และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide) (Sako และคณะ, 1999)

ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ยังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูงมาจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากผลตะขบ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ชมพูทับทิมจันทร์ มะขามเทศ และแอปเปิ้ลฟูจิเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต ในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

ตัวอย่างสารสกัด	Antioxidant activity ^a	Total Phenolic content ^a (mg GAE / g extract) ± SD	Indigestible polysaccharide ^a (mg / g extract) ± SD
	FRAP assay (mmol Fe (II) / g extract) ± SD		
สับปะรดศรีราชา	0.01 ± 0.01	33.90 ± 2.72	211.44 ± 5.4
ส้มแมนดาริน	0.38 ± 0.02	54.67 ± 2.02	8.25 ± 4.2
ส้มโอ	0.01 ± 0.00	80.63 ± 4.59	23.20 ± 4.3
ทับทิม	1.59 ± 0.21	210.31 ± 16.36	50.99 ± 5.2
องุ่นแดงนอก	0.01 ± 0.01	8.63 ± 1.57	50.95 ± 6.1
ฟักข้าว	0.20 ± 0.09	34.51 ± 3.43	21.09 ± 4.1
แก้วมังกรแดง	0.06 ± 0.03	49.16 ± 2.77	10.11 ± 3.3
มะขามเทศ	0.81 ± 0.29	77.58 ± 4.14	26.18 ± 0.3
ลูกพลับ	0.06 ± 0.05	7.60 ± 0.23	52.27 ± 2.5
ทุเรียนหมอนทอง	0.14 ± 0.03	20.51 ± 4.16	67.23 ± 2.2
กล้วยหอม	0.25 ± 0.09	27.38 ± 2.67	15.50 ± 2.7
ตะขบ	0.46 ± 0.15	28.15 ± 4.27	5.67 ± 3.3
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.26 ± 0.09	13.99 ± 1.71	239.44 ± 2.3
มะละกอสุก	0.14 ± 0.02	23.43 ± 0.62	1.29 ± 3.6
ชมพูทับทิมจันทร์	0.12 ± 0.01	11.80 ± 2.53	425.03 ± 4.8
BHT	1.65 ± 0.22	-	-

^a คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2 ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ลงในโยเกิร์ต

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ต

จากการทดลองเปรียบเทียบการหมักโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ ชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมผงแห้ง

จากเปลือกและผลของผลไม้ และ ชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 6.28 ถึง 6.59 log CFU ต่อกรัม หลังจากบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วพบว่าจำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดจากจำนวนเซลล์เริ่มต้น คือ มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.07 log CFU ต่อกรัม ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.73 ถึง 1.89 log CFU ต่อกรัม และเมื่อทำการหมักครบ 24 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์เริ่มต้น คือ มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 1.97 log CFU ต่อกรัม ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกมะขามเทศ ทับทิม ชมพู่ทับทิมจันทร์ และชุดควบคุมเชิงบวก ซึ่งมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเพิ่มขึ้น 1.80, 1.82, 1.77, 1.53 และ 1.62 log CFU ต่อกรัม โดยจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์มากกว่าจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (log CFU ต่อกรัม) ± SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม ^x	6.33 ± 0.09 ^{cd}	8.40 ± 0.03 ^a	7.77 ± 0.00 ^a
ข้าวโพด ^y	6.43 ± 0.05 ^{bc}	8.32 ± 0.09 ^{ab}	8.05 ± 0.03 ^a
ทับทิม	6.59 ± 0.01 ^a	8.32 ± 0.03 ^{ab}	8.36 ± 0.01 ^a
มะขามเทศ	6.30 ± 0.02 ^{de}	8.12 ± 0.03 ^d	8.10 ± 0.05 ^a
ตะขบ	6.28 ± 0.02 ^e	8.16 ± 0.08 ^{cd}	8.10 ± 0.06 ^a
แอปเปิ้ลฟูจ	6.47 ± 0.02 ^b	8.23 ± 0.01 ^{bc}	8.44 ± 0.01 ^a
ชมพู่ทับทิมจันทร์	6.31 ± 0.02 ^{de}	8.08 ± 0.06 ^d	7.84 ± 0.05 ^a

x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

หมายเหตุ a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นค่อนข้างสูงกว่าโยเกิร์ตชนิดอื่น คาดว่าอาจเป็นเพราะสารสำคัญในเปลือกทับทิมรวมทั้งสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต ดังเช่น รายงานของ Akhtar และคณะ (2015) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากทับทิมจะมีสาร ellagitannins ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์โดยแบคทีเรียในลำไส้กลายเป็น puicalagins และกรด ellagic ซึ่งเป็นสารโพรไบโอติก โดยสารสกัดจากเปลือกทับทิมจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค แต่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่นเดียวกับ Bialonska และคณะ (2009) ได้พบว่า

องค์ประกอบของทับทิม (punicalagins, punicalins และกรด ellagic) จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* เพียงเล็กน้อย และสาร ellagitannins จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium breve* และ *Bifidobacterium infantis*

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และเปลือกชมพูทับทิมจันทร์ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวกคือ โยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพด และชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่ทำการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วง 6.22 ถึง 5.97 หลังการหมักโยเกิร์ตทุกชุดค่าพีเอชมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นหลังจากบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าค่าพีเอชของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ มีค่าพีเอชลดลงมากกว่าโยเกิร์ตทุกชุด คือ พีเอชลดลง 2.32 ส่วนโยเกิร์ตที่มีค่าพีเอชลดลงรองลงมา คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมโยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีค่าพีเอชลดลง 2.28 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีค่าพีเอชที่ไม่ลดลงมากนัก ได้แก่ ผลของตะขบ เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ และ เปลือกทับทิม ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.14 ถึง 1.94 เมื่อหมักถึงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชต่ำลงอีก โดยโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และ โยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีค่าพีเอชลดลงเท่ากับ 2.61 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีค่าพีเอชลดลงไม่มากนัก ได้แก่ เปลือกทับทิม ชมพูทับทิมจันทร์ และมะขามเทศ ซึ่งมีค่าพีเอชที่ลดลงเท่ากับ 2.49, 2.43 และ 2.40 ตามลำดับ และโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากผลตะขบซึ่งมีค่าพีเอชลดลงน้อยที่สุด คือ ลดลง 2.30 ซึ่งค่าพีเอชลดลงน้อยกว่าชุดควบคุม โดยชุดควบคุมมีค่าพีเอชที่ลดลงเท่ากับ 2.37

สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตพบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 0.30 ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ตัวอื่นๆ สูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุม และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมโยอาหารจากข้าวโพด โดยโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดรองลงมาคือ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.27 ส่วนโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศ ผลของตะขบ และเปลือกชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 0.12 ถึง 0.15 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นด้วย โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ มีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นมากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 12 คือ มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.44 รองลงมา คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมโยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.32 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งนั้น มีปริมาณกรดทั้งหมดน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ ผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกทับทิม มะขามเทศ แอปเปิ้ลฟูจิ และชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1.11 ถึง 1.26 และในชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 2.52 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นไม่มากนัก ได้แก่ ผลของตะขบ เปลือก

ชมพูทับทิมจันทร์ ทับทิม มะขามเทศ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 2.22 ถึง 1.80

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ พบว่าในชั่วโมงที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างนั้น โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงมากที่สุดเช่นกัน

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) \pm SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
ชุดควบคุม ^x	6.17 \pm 0.01 ^b	3.85 \pm 0.03 ^{ab}	3.80 \pm 0.01 ^b
ข้าวโพด ^y	6.22 \pm 0.01 ^a	3.94 \pm 0.01 ^{ab}	3.61 \pm 0.01 ^a
ทับทิม	6.01 \pm 0.02 ^d	3.93 \pm 0.02 ^c	3.52 \pm 0.01 ^d
มะขามเทศ	5.97 \pm 0.01 ^e	4.03 \pm 0.01 ^d	3.57 \pm 0.02 ^e
ตะขบ	5.97 \pm 0.01 ^{de}	4.03 \pm 0.01 ^{bc}	3.67 \pm 0.01 ^c
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.07 \pm 0.03 ^c	3.96 \pm 0.05 ^a	3.46 \pm 0.02 ^b
ชมพูทับทิมจันทร์	6.19 \pm 0.02 ^{ab}	4.05 \pm 0.02 ^d	3.76 \pm 0.02 ^b

x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

หมายเหตุ a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด \pm SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
ชุดควบคุม ^x	0.18 \pm 0.09 ^{bc}	1.62 \pm 0.09 ^a	1.98 \pm 0.09 ^b
ข้าวโพด ^y	0.18 \pm 0.00 ^{bc}	1.50 \pm 0.13 ^{ab}	2.34 \pm 0.63 ^{ab}
ทับทิม	0.30 \pm 0.05 ^a	1.56 \pm 0.02 ^{ab}	2.52 \pm 0.09 ^a
มะขามเทศ	0.12 \pm 0.05 ^c	1.32 \pm 0.01 ^{cd}	2.34 \pm 0.09 ^{ab}
ตะขบ	0.12 \pm 0.05 ^c	1.23 \pm 0.05 ^d	2.31 \pm 0.10 ^{ab}
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.27 \pm 0.09 ^{ab}	1.44 \pm 0.09 ^{bc}	2.79 \pm 0.09 ^a
ชมพูทับทิมจันทร์	0.15 \pm 0.05 ^c	1.32 \pm 0.05 ^{cd}	1.95 \pm 0.05 ^b

x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

หมายเหตุ a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.3 ปริมาณความชื้นของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และเปลือกชมพูทับทิมจันทร์ พบว่าผลของความชื้นของโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าของความชื้นใกล้เคียงกันมาก คือ มีค่าความชื้นอยู่ในช่วง 83.58 ถึง 85.58 กรัมต่อ 100 กรัมของสารสกัด

4.2.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

4.2.4.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ด้วยวิธี FRAP method จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 2.25 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต (ตารางที่ 4.5) ส่วนโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ ผลของตะขบ และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.08, 1.05, 0.80 และ 0.70 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต ตามลำดับ ซึ่งในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่มีการเติมสารใดๆ และชุดควบคุมเชิงบวกที่มีการเติมโยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.38 และ 0.58 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต ตามลำดับ

4.2.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งเปลือกและผลของผลไม้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีปริมาณ 6,079.42 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต (ตารางที่ 4.5) ส่วนโยเกิร์ตที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ ผลของตะขบ และเปลือกมะขามเทศ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกปริมาณ 3,883.71, 3,606.57, 3,496.59 และ 2,820.83 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโยเกิร์ต 100 กรัมของโยเกิร์ตตามลำดับ ซึ่งโยเกิร์ตที่มีการเติมเปลือกมะขามเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าชุดควบคุมทั้งสองชุด ซึ่งชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่เติมสารใดๆ และชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 2,042.30 และ 3,110.86 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต

จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method มีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้ง โดยโยเกิร์ตที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงคือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม

ตารางที่ 4.5 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ ปริมาณความชื้น ใน โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ชุดของโยเกิร์ต	Antioxidant activity ^a	Total Phenolic content ^a (mg GAE / 100 g yogurt) ± SD	ปริมาณความชื้น (g / 100 g extract)
	FRAP assay (mmol Fe (II) / 100 g yogurt) ± SD		
ชุดควบคุม ^x	0.38 ± 0.02	2,042.30 ± 1.30	85.06 ± 0.66
ข้าวโพด ^y	0.53 ± 0.07	3,110.86 ± 0.83	83.58 ± 0.72
ทับทิม	2.55 ± 0.28	6,079.42 ± 1.28	84.76 ± 0.03
มะขามเทศ	1.08 ± 0.13	2,820.83 ± 1.44	85.58 ± 0.09
ตะขบ	0.80 ± 0.08	3,496.59 ± 1.38	85.55 ± 0.22
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.70 ± 0.02	3,883.71 ± 1.25	85.18 ± 0.12
ชมพูทับทิมจันทร์	1.05 ± 0.11	3,606.57 ± 0.85	84.87 ± 0.14

^a คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

^x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

^y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

4.2.5 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ และผลของตะขบ พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชื่นชอบโยเกิร์ตทุกชุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งคะแนนความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพด และผงแห้งจากเปลือกชมพูทับทิมจันทร์มีค่าสูงที่สุดประมาณ 5.40 และโยเกิร์ตที่มีการเติมผลตะขบมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 4.80

ด้านลักษณะที่ปรากฏของโยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 7.12 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพูทับทิมจันทร์มีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตที่ผงแห้งเติมจากเปลือกมะขามเทศไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับโยเกิร์ตทุกชุด

ด้านสีของโยเกิร์ตในชุดควบคุมมีค่ามากที่สุดประมาณ 7.06 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพูทับทิมจันทร์มีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.05 โดยโยเกิร์ตชุดควบคุมทั้งสองชุดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งทุกชุด

ด้านกลิ่นของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 6.42 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ด้านความเปรี้ยวของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมโยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 6.42 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตทุกชุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ด้านความหวานของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพูทับทิมจันทร์มีค่ามากที่สุดประมาณ 4.05 และโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารใดๆมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 3.40 ซึ่งโยเกิร์ตทุกชุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับในการผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ ควรมีการเพิ่มรสชาติหวานเพื่อปรับปรุงสูตรและรสชาติของโยเกิร์ต และควรมีการกรองตะกอนอย่างละเอียดสำหรับโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีลักษณะตะกอนละเอียดเพื่อปรับปรุงลักษณะปรากฏของเนื้อโยเกิร์ต

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต

การประเมิน	ค่าเฉลี่ยคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต ^g					
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความชอบโดยรวม
ชุดควบคุม ^x	6.94±0.9 ^{ab}	7.06±1.2 ^a	6.22±1.2 ^{ab}	6.22±1.1 ^a	3.40±1.7 ^a	5.00±1.8 ^a
ข้าวโพด ^y	7.12±0.9 ^a	7.05±1.3 ^a	6.42±1.1 ^a	6.42±1.1 ^a	3.75±2.1 ^a	5.40±2.0 ^a
ทับทิม	5.37±1.7 ^c	5.05±1.6 ^c	6.21±1.4 ^{ab}	6.21±1.4 ^a	4.05±2.0 ^a	5.00±1.8 ^a
มะขามเทศ	6.06±1.2 ^{bc}	5.88±1.6 ^{bc}	5.37±1.4 ^b	5.37±1.4 ^a	3.65±1.8 ^a	5.15±1.7 ^a
ตะขบ	5.40±1.9 ^c	5.55±2.0 ^c	5.60±1.9 ^{ab}	5.60±1.9 ^a	3.65±1.8 ^a	4.80±1.7 ^a
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.59±1.2 ^{ab}	6.79±1.2 ^{ab}	6.35±1.2 ^{ab}	6.35±1.3 ^a	4.00±1.8 ^a	5.05±1.7 ^a
ชมพูทับทิมจันทร์	5.37±1.8 ^c	5.05±1.6 ^c	5.80±1.2 ^{ab}	5.80±1.2 ^a	4.05±1.6 ^a	5.40±1.5 ^a

x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

g คือ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ a, b, c ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันตามแนวดังนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีจากเปลือกผลไม้จำนวน 14 ชนิดและผลของตะขบ ผลปรากฏว่าสารสกัดที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกทับทิม เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ผลตะขบ เปลือกส้มแมนดาริน และเปลือกมะขามเทศ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ในช่วง 1.59 ถึง 0.26 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกทับทิม เปลือกส้มโอ และเปลือกมะขามเทศ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 210.31, 80.63 และ 54.67 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณมาก ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกชมพูทับทิม จันทน์ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และเปลือกสับปะรดศรีราชา ซึ่งมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เท่ากับ 425.03, 239.44 และ 211.44 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

สำหรับการศึกษาผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ลงในโยเกิร์ตที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ตเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดีที่สุด (จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 1.97 log CFU ต่อกรัม) ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีผลดีที่สุดหลังการหมัก 24 ชั่วโมง (มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้น 2.61 และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.52 ตามลำดับ)

ในการผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ นั้น พบว่าในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีที่สุด (2.25 มิลลิโมลของเหล็กเฟอร์รัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต) ด้วยวิธี FRAP method ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในโยเกิร์ตนั้น โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ซึ่งมีปริมาณ 6,079.42 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต และปริมาณใยอาหารทั้งหมดพบว่าโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับร้อยละ 6.23

จากผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพูทับทิมจันทน์ และผลของตะขบ พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด และผงแห้งจากเปลือกชมพูทับทิมจันทน์มีค่าสูงที่สุดประมาณ 5.40 และโยเกิร์ตที่มีการเติมผลตะขบมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 4.80

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดและผงแห้งของเปลือกและผลของผลไม้ที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และปริมาณใยอาหารทั้งหมด ไปแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์

มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลไม้ จะช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย ช่วยในการชะลอวัย และโรคอื่นๆ ส่วนในการทำโยเกิร์ตนั้นอาจทำการปรับปรุงเรื่องสี กลิ่น เนื้อสัมผัสและรสชาติของโยเกิร์ตให้ดียิ่งขึ้น หรืออาจดัดแปลงเป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในรูปแบบอื่นๆเพื่อความหลากหลายในการเลือกรับประทาน เช่น นำไปดัดแปลงเป็นโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

เอกสารอ้างอิง

- กานดา แสนมณี. (2556). ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ของไทย ปกป้องหัวใจ เช่น "ตะขบ" บางคนมองข้ามนั้น ไม่ธรรมดา. [ออนไลน์]. Available: <https://www.gotoknow.org/posts/520010>.
- ชัชวิน เพชรเลิศ. (2549). “ฟรีโอบีโอติก”. บทความเผยแพร่ทางวิทยุกระจายเสียง, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ไชยวัฒน์ ไชยสุด. (2553). สุขภาพดีด้วยโปรไบโอติก. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: ศูนย์หนังสือสวทช.
- นิจศิริ เรืองรังษี และ ธวัชชัย มังคละคุปต์. (2547). รวบรวมรายชื่อสมุนไพรไทย 333 ชนิด. กรุงเทพมหานคร: บริษัทฐานการพิมพ์ จำกัด
- นิดดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์. (2550). ผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหารและการกิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: แสงแดด.
- ประสงค์ เทียนบุญ. (2557). “โยอาหาร”. หน่วยโภชนศาสตร์และศูนย์วิจัยโภชนาการ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พรทิพย์ เกยุรานนท์. (2553). ชวนชิมผลไม้ไทยอร่อยและได้ประโยชน์กับสุขภาพ. จุลสารสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ ฉบับที่ 1.
- มลศิริ วีโรทัย. (2540). ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*. 13(2), 69-75.
- สุญาณี พงษ์ธนานิกร. (2556). “ฟรีโอบีโอติก”. [ออนไลน์]. Available: <http://www.thaimeiji.co.th>.
- อัญชญา เจนวิถีสุข. (2544). การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อาณัติ นิตธิธรรมง. (2553). การวิจัยและพัฒนาอาหารเพื่อสุขภาพ: สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยมหิดล.
- โอภา วัชรระคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent. กรุงเทพมหานคร: นิวไทยมิตรการพิมพ์.
- A.O.A.C. (2000). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Maryland, USA. 446-471.
- A.O.A.C. (2006). Official methods of analysis: AOAC official Method. Association of Official Chemists, Washington, DC, USA.
- Aguiar, L., Marquez-Montesinos, F., Gonzalo, A., Sánchez, J. L., & Arauzo, J. (2008). Influence of temperature and particle size on the fixed bed pyrolysis of orange peel residues. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 83(1), 124-130. DOI: 10.1016/j.jaap.2008.06.009.
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D., & Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174, 417-425. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.035.
- Aniansson, A., Grimby, G., & Hedberg, M. (1992). Compensatory muscle fiber hypertrophy in elderly men. *Journal of Applied Physiology*, 73(3), 812-816.

- Arshiya, S. (2013). The antioxidant effect of certain fruits: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(12), 256-268.
- Bae, I. Y., Jun, Y., Lee, S., & Lee, H. G. (2016). Characterization of apple dietary fibers influencing the in vitro starch digestibility of wheat flour gel. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 158-163. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.07.071.
- Bandyopadhyay, U., Das, D., & Banerjee, R. K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77(5), 658-666.
- Bialonska, D., Kasimietty, S. G., Schrader, K. K., & Ferrira, D. (2009). The effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8344-8349. DOI: 10.1021/jf901931b.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200. DOI: 10.1038/1811199a0.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Bersert, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Buhler, D. R. & Miranda, C. (2000). Antioxidant activities of flavonoids. [Online]. Available: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html>.
- Casquete, R., Castro, S. M., Martin, A., Ruiz-Moyano, S., Saraiva, J. A., Córdoba, M. G., & Teixeira, P. (2015). Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 37-44. DOI: 10.1016/j.ifset.2015.07.005.
- Chau, C. F., & Huang, Y. -L. (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2615-2618. DOI: 10.1021/jf025919b.
- Chong, Y. M., Chang, S. K., Sia, W. C. M., & Yim, H. S., (2015). Antioxidant efficacy of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage. *Food Bioscience*, 12, 18-25. DOI: 10.1016/j.fbio.2015.07.002.
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Malris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 522-529. DOI: 10.1016/j.lwt.2013.03.008.
- Condezo-Hoyos, L., Mohanty, I. P., & Noratto, G. D. (2014). Assessing non-digestible compounds in apple cultivars and their potential as modulators of

- obese faecal microbiota in vitro. *Food Chemistry*, *161*, 208–215. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.03.122.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India*, *52*, 794-804.
- de Vrese, M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenseiau, S., Laue, C., & Schrezenbeir, J. (2001). Probiotics compensation for lactase insufficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *73*(2), 421S-429S.
- Dinis, T. C., Madeira, V. M., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *315*(1), 161-169. DOI: 10.1006/abbi.1994.1485.
- Du, G., Sun, L., Zhao, R., Du, L., Song, J., Zhang, L., He, G., Zhang, Y., & Zhang, J. (2016). Polyphenols: Potential source of drugs for the treatment of ischaemic heart disease. *Pharmacology & Therapeutics*, *162*, 23-34. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.04.008.
- 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. DOI: 10.1021/ac60111a017.
- Elsherbiny, E. A., Amin, B. H., & Baka, Z. A. (2016). Efficiency of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels extract as a high potential natural tool towards Fusarium dry rot on potato tubers. *Postharvest Biology and Technology*, *111*, 256-263. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.019.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, *125*(6), 1401-1412.
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., & Martín-Belloso, O. (2001). Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(2), 952–957. DOI: 10.1021/jf000947k.
- Guandalini, S., Pensabene, L., Zikri, M. A., Dias, J. A., Casali, L. G., Hoekstra, H., Kolacek, S., Massar, K., Micetic-Turk, D., Papadopoulou, A., de Sousa J. S., Sandhu, B., Szajewska, H., & Weizman, Z. (2000). *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *30*(1), 54-60. DOI: 10.1097/00005176-200001000-00018.

- Guerin-Danan, C., Chabanet, C., Pedone, C., Popot, F., Vaissade, P., Bouley, C., Szylit, O., & Andrieux, C., (1998). Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: Influence on intestinal microflora in healthy infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, *67*(1), 111-117.
- Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, *91*(3), s14-s22. DOI: 10.1016/0002-9343(91)90279-7.
- Hegazy, A. E., & Ibrahim, M. I. (2012). Antioxidant activities of orange peel extracts. *World Applied Sciences Journal*, *18*(5), 684-688. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2012.18.05.64179.
- Herich, R. & Levkut, M. (2002). Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Veterinárni medicína*, *47*(6), 169-180.
- Heyman, M. (2000). Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *Journal of the American College of Nutrition*. *19*(2), 137S-146S.
- Hou, W. C., Chen, Y. C., Chen, H. J., Lin, Y. H., Yang, L. L. & Lee, M. H. (2001). Antioxidant activities of trypsin inhibitor a 33 kDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam Cv. Tainong 57). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(6), 2978-2981. DOI: 10.1021/jf0100705.
- Iqbal, K., Khan, A., & Khattak, M. M. A. K. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health: A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, *3*(1), 5-13. DOI: 10.3923/pjn.2004.5.13.
- Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science and Technology*, *45*(2), 216-222. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2009.02124.
- Karaman, S., Tütem, E., Baskan, K. S., & Apak, R. (2013). Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(4), 867-875. DOI: 10.1002/jsfa.5810.
- Kasapidou, E., Sossidou, E., & Mitlianga, P. (2015). Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*, *5*, 1020-1034. DOI: 10.3390/agriculture5041020.
- Khedkar,, C. D., Garge, R. D., Mantri, J. M., Kulkarni, S. A., & Khedkar, G. D. (1993) Effect of feeding acidophilus milk on serum cholesterol in human volunteers of 50–60 years. *Journal of Dairying Foods & Home Science*, *12*(1), 33–38.

- Kirjavainen, P. V., Ouwehand, A. C., Isolauri, E. & Salminen S. J. (1998). The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2), 185–189. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13226.x.
- Kjeldahl, J. (1883). Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern (New method for the determination of nitrogen in organic substances). *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22(1), 366-383.
- 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(5), 958-965. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01607.x.
- Kubáček, P. (2004). DPPH. [Online]. Available: <http://cheminfo.chemi.muni.cz/kubacek>.
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126(3), 972-981. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.104.
- Lado, C., Then, M., Varga, I., Szoke, E., & Szentmihályi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 59(5-6), 354-358. DOI: 10.1515/znc-2004-5-611.
- Lee, Y. K. & Salminen, S., (1995). The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 6(7), 241-245. DOI: 10.1016/S0924-2244(00)89085-8.
- Li, B. B., Smith, B., & Hossain, Md. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: I solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182–188. DOI: 10.1016/j.seppur.2005.07.005.
- Lintas, C. (1992). Nutritional aspects of fruit and vegetable consumption. In F. Lauret (Ed.), *Options Mediterraneennes* (pp. 79-87). Montpellier, France: CIHEAM.
- Llobera, A., & Cañellas, J. (2007). Dietary fiber content and antioxidant activity of manto negro red grape (*Vitis vinifera*): Pomace and stem. *Food Chemistry*, 101(2), 659-666. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.02.025.
- Macagnan, F. T., dos Santos, L. R., Roberto, B. S., de Moura, F. A., Bizzani, M., & de Silva, L. P. (2015). Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(1), 1-6. DOI: 10.1016/j.bcdf.2015.04.001.
- Manasathien, J., Kupittayanant, S., & Indrapichate, K. (2011). Protective efficacy of pomegranate (*Punica granatum* Linn., Punicaceae) peel ethanolic extract on UVB-irradiated rat skin. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 3(4), 250-258.

- Megala, J., & Geetha, A. (2010). Free radical-scavenging and H^+ , K^+ -ATPase inhibition activities of *Pithecellobium dule*. *Food Chemistry*, *121*(4), 1120-1128. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.01.059.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. *31*(3), 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030.
- Moshfegh, A., Friday, J. E., Goldman, J. P. & Ahuja, J. K. C. (1999). Nutritional and health benefits of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition*, *129*(7), 1407s-1411s.
- Mussatto, S. I., Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, *68*(3), 587-597. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.12.011.
- Nikishimi, M., Rao, N. A., & Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *46*(2), 849-854. DOI: 10.1016/S0006-291X(72)80218-3.
- Niness, K. R. (1999). Inulin and oligofructose: What are they?. *Journal of Nutrition*, *129*(7), 1402S-1406S.
- Nurliyana, R., Zahir, I. S., Suleiman, K. M. , Aisyah, M. R. & Rahim, K. K. (2010). Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: A comparative study. *International Food Research Journal*, *17*, 367-375.
- Oberhelman, R. A., Gilman, R. H., Sheen, P., Taylor, D. N., Black, R. E., Cabrera, L., Lescano, A. G., Meza, R., & Madico, G. (1999). A placebo-controlled trial of *Lactobacillus* GG to prevent diarrhea in undernourished peruvian children. *The Journal of Pediatrics*, *134*(1), 15-20. DOI: 10.1016/S0022-3476(99)70366-5.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, *95*(2), 351-358. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90738-3.
- Ouwehand, A. C., Kirjavainen, P. V., Shortt, C., & Salminen, S. (1999). Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*, *9*(1), 43-52. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00043-6.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, *44*, 307-315.
- Parashar, S., Sharma, H., & Garg, M. (2014). Antimicrobial and antioxidant activities of fruits and vegetable peels: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *3*(1), 160-164.
- Park, Y., Kim, J., Scrimgeour, A. G., Condlin, M. L., Kim, D., & Park, Y. (2013). Conjugated linoleic acid and calcium co-supplementation improves bone

- health in ovariectomised mice. *Food Chemistry*, 140(1-2), 280-288. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.12.067.
- Penner, R., Fedorak, R. N., & Madsen, K. L., (2005). Probiotic and nutraceuticals: Non-medical treatments of gastrointestinal diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, 5(6), 596-603. DOI: 10.1016/j.coph.2005.06.009.
- Rambaud, J.-C., Bouhnik, Y., Marteau, P., & Pochart P. (1993). Manipulation of the human gut microflora. *Proceedings of the Nutrition Society*, 52, 357-366.
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germanà, M. A., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54, 40-51. DOI: 10.1016/j.fm.2015.10.018.
- Rashad, M. M., Mahmoud, A. E., Ali, M. M., Nooman M. U., & Al-Kashef, A. S. (2015). Antioxidant and anticancer agents produced from pineapple waste by solid state fermentation. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 7(6), 287-296.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evan, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- Reynolds, L. D. & Wilson, N. G. (1991). Gallic acid. [Online]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/gallic_acid.
- Rice-Evans, C. A. & Miller, N. J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive compounds of foods. *Biochemical Society Transactions*, 24(3), 790-795.
- Roberfroid, M. B. & Calderon, P. B. (1995). Free radicals and oxidation phenomena in biological systems. New York. U.S.A.: Marcel Dekker. Inc.
- Saavedra, J. M., Bauman, N. A., Oung, I., Perman, J. A., & Yolken, R. H. (1994). Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *The Lancet*, 344(8929), 1046-1049.
- Sako, T., Matsumoto, K., & Tanaka, R. (1999). Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 9(1), 69-80. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00046-1.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R., Isolauri, E., Moreau, M. C., Roberfroid, M., & Rowland, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *The British Journal of Nutrition*, 80(1), S147-S171. DOI: <http://dx.doi.org/10.1079/BJN19980108>.
- Santiago, S., Sayón-Orea, C., Babio, N., Ruiz-Canela, M., Martí, A., Corella, D., Estruch, R., Fitó, M., Aros, F., Ros, E., Gómez-García, E., Fiol, M., Lapetra, J., Serra-

- Majem, Li., Becerra-Tomás, N., Salas-Salvadó, J., Pinto, X., Schröder, H., & Martínez, J. A. (2016). Yogurt consumption and abdominal obesity reversion in the predimed study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, *26*(6), 468-475. DOI: 10.1016/j.numecd.2015.11.012.
- Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, *73*, 361S-364S.
- Sinex, S. (2007). EDTA – A molecule with a complex story. [Online]. Available: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/edta/edtah.htm>.
- Shinohara, K., Ohashi, Y., Kawasumi, K., Terada, A., & Fujisawa, T. (2010). Effect of apple intake on fecal microbiota and metabolites in humans. *Anaerobe*, *16*(5), 510–515. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.03.005.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2016). Bioactive compounds in banana and their associated health benefits: A review. *Food Chemistry*, *206*, 1-11. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.03.033.
- 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. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Spencer, B. A. (1994) Models of organization and total quality management: A comparison and critical evaluation. *Academy of Management Review*, *19*(3), 446-471. DOI: 10.5465/AMR.1994.9412271807.
- Strain, J. J. & Benzie, I. F. F. (1999). Antioxidants. In J. S. Michele, J. J. Strain, & B. Caballero, *Encyclopedia of human nutrition* (pp. 95-105). San Diego, California: Academic Press.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, *98*, 16–23. DOI: 10.1016/j.seppur.2012.06.038.
- Thammarutwasik, P., Hongpattarakere, T., Chantachum, S., Kijroongrojana, K., Itharat, A., Reanmongkol, W., Tewtrakul, S., & Ooraikul, B. (2009). Prebiotics : A Review. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, *31*(4), 401-408.
- Trowell, H., Southgate, D. A., Wolever, T. M., Leeds, A. R., Gassull, M. A., & Jenkins, D. J. (1976). Letter: Dietary fibre redefined. *Lancet*, *1*, 967.
- Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics -From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, *18*(7), 714–728. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.03.004.
- Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D., & Stampar, F. (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and

- integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(10), 1687-1694. DOI: 10.1002/jsfa.2113.
- Vieira, F. G. K., Borges, G. D. S. C., Copetti, C., Pietro, P. F. D., Nunes, E. D. C., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Scientia Horticulturae*, 128(3), 261-266. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.01.032.
- Wang, Y. -C., Chuang, Y. -C., & Hsu, H. -W. (2008). The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 106(1), 277-284. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.05.086.
- Wong, Y. S., Sia, C. M., Khoo, H. E., Ang, Y. K., Chang, S. K., & Yim, H. S. (2014). Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 13(3), 257-265. DOI: 10.17306/J.AFS.2014.3.4.
- Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(5), 517-523.
- Yan, H., & Kerr, W. L. (2013). Total phenolics content, anthocyanins, and dietary fiber content of apple pomace powders produced by vacuum-belt drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(6), 1499-1504. DOI: 10.1002/jsfa.5925.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS Agar (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	5.0	กรัม
	Manganese sulfate	0.05	กรัม
	Dipotassium Phosphate	2.0	กรัม
	Agar	15.0	กรัม
	Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ค่อยๆให้ความร้อนทำให้ส่วนผสมละลายจนหมด เมื่อส่วนผสมละลายหมด อาหารจะมีสีใสขึ้น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เมื่อทำการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารสำเร็จ นำอาหารออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ปริมาตรของอาหารในแต่ละจานอยู่ที่ประมาณ 15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว ปิดฝา แล้วนำอาหารเก็บใส่ตู้เย็น โดยการเก็บอาหารควรคว่ำจานเพาะเชื้อเพื่อไม่ให้ไอน้ำเกาะอยู่บนหน้าอาหาร

หมายเหตุ : ขั้นตอนการเทอาหารลงจานเพาะเชื้อควรทำในตู้ลาร์มินาร์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีและเอนไซม์ชนิดต่างๆ

1. การเตรียมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเอทานอล ปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้



รูปที่ 1 (ข) การเตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

2. การเตรียม stock solution ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

Stock solution ของสารสกัดจากผลไม้ที่ใช้ในการทดลองจะใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม แล้วเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป 1 มิลลิลิตร เนื่องจากการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม นั้นทำได้ยาก ดังนั้นเพื่อให้ได้สารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำได้ดังนี้

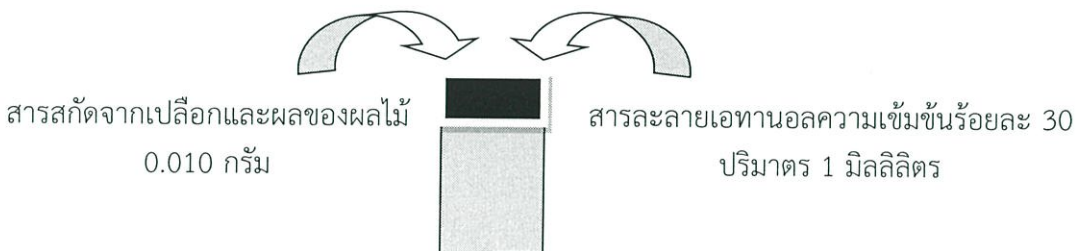
จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม

ดังนั้น ชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ถ้า ชั่งสารสกัด 0.010 กรัม จะเติมสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 1×0.010

$$\frac{0.0010}{1}$$

เท่ากับ 10 มิลลิลิตร



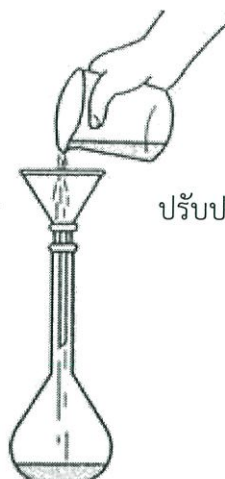
รูปที่ 2 (ข) การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

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

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

ชั่งสาร DPPH ปริมาณ 0.025 กรัม ละลายในเมทานอลเล็กน้อยแล้วทำการปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งสาร DPPH 0.025 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้
1,000 มิลลิลิตร

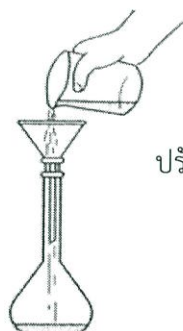
รูปที่ 3 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอลความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

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

การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย 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 ระหว่างการเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH



ชั่งสาร DPPH 0.025 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้
1,000 มิลลิลิตร

DPPH 0.025 กรัมต่อลิตร

↓ 5 มิลลิลิตร



เมทานอล 5 มิลลิลิตร

DPPH 0.0125 กรัมต่อลิตร

↓ 5 มิลลิลิตร

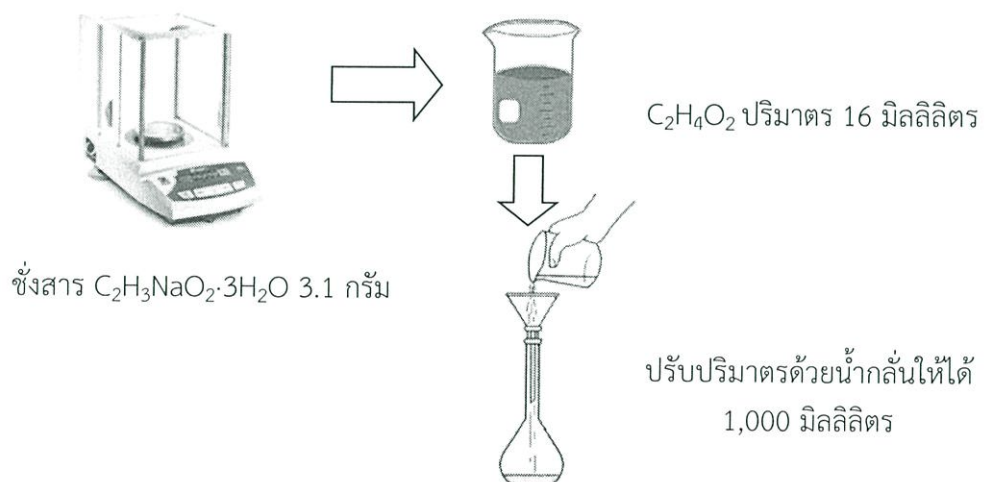


รูปที่ 4 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

4. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

4.1 การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6

ทำการชั่งสารโซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรต ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$) ปริมาณ 3.1 กรัม ลงในสารละลายกรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$) ปริมาตร 16 มิลลิตร แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดในขวดปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิตรด้วยน้ำกลั่น



รูปที่ 5 (ข) การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6

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

$$C = \frac{10dx}{MW}$$

เมื่อกำหนดให้ C = ความเข้มข้นหน่วยเป็นนอร์มอล (N)

D = ความหนาแน่น

X = ปริมาณเนื้อกรด

MW = มวลโมเลกุล

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

เนื่องจาก 1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริกจะได้กรดไฮโดรคลอริกมีความเข้มข้น 12.06 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ต้องการเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.04 โมลาร์ จากกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 12.06 โมลาร์ จะได้

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

ทำการปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 3.32 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่น 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 $\frac{10 \text{ มิลลิโมลาร์} \times 312.33 \text{ กรัมต่อโมล}}{1,000 \text{ มิลลิโมลาร์}}$

เท่ากับ 3.1233 กรัมต่อลิตร

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

ชั่งสาร TPTZ 3.1233 กรัม



ปรับปริมาตรด้วย 40 มิลลิโมลาร์ HCl ให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

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

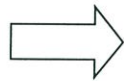
4.3 การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล
 ในสารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 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 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

$$\text{เท่ากับ } \frac{20 \text{ มิลลิโมลาร์} \times 270.30 \text{ กรัม}}{1,000 \text{ มิลลิโมลาร์}}$$

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

ชั่งสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5406 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 มิลลิลิตร

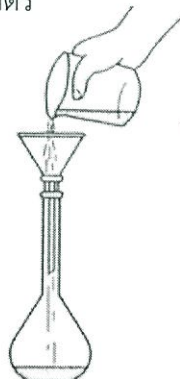
รูปที่ 7 (ข) การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

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

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 10, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.188, 0.094 และ 0.047 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ดังนี้

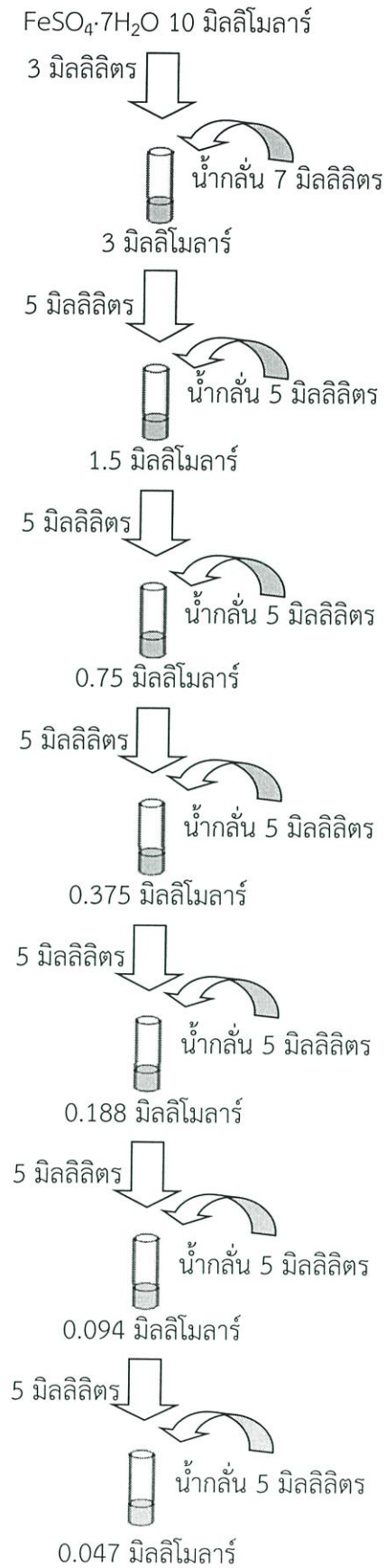
จากมวลโมเลกุลของเฟอรัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เท่ากับ 278.01 กรัมต่อโมล
 เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อลิตร
 เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10×10^{-3} โมล ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 2.7081 กรัมต่อลิตร
 ดังนั้น เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 2.7081 กรัม
 ถ้าต้องเตรียมสารละลายในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 0.2781 กรัม
 ละลายแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ชั่งสาร $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2781 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
100 มิลลิลิตร

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 มิลลิโมลาร์



รูปที่ 8 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO₄·7H₂O)

5. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

5.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 20 (Na_2CO_3)

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

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสาร Na_2CO_3 20 กรัม ดังนั้นในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 20 กรัม ละลายแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร ให้ได้ 100 มิลลิลิตร



รูปที่ 9 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

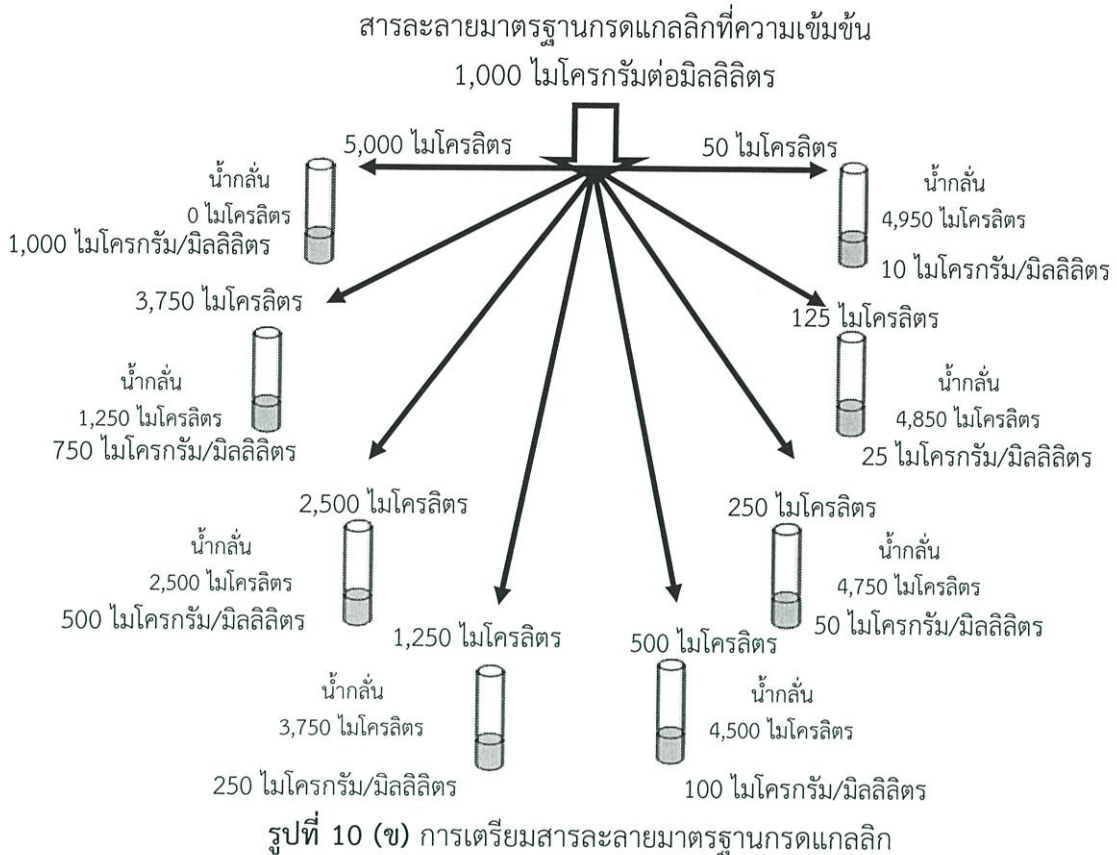
5.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายแกลลิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้ 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยการชั่งกรดแกลลิก 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร



สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ตารางที่ 1 (ข) การทำความเข้าใจของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรด แกลลิก (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรของ กรดแกลลิก (ไมโครลิตร)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของกรด แกลลิกในหลอดทดลอง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
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

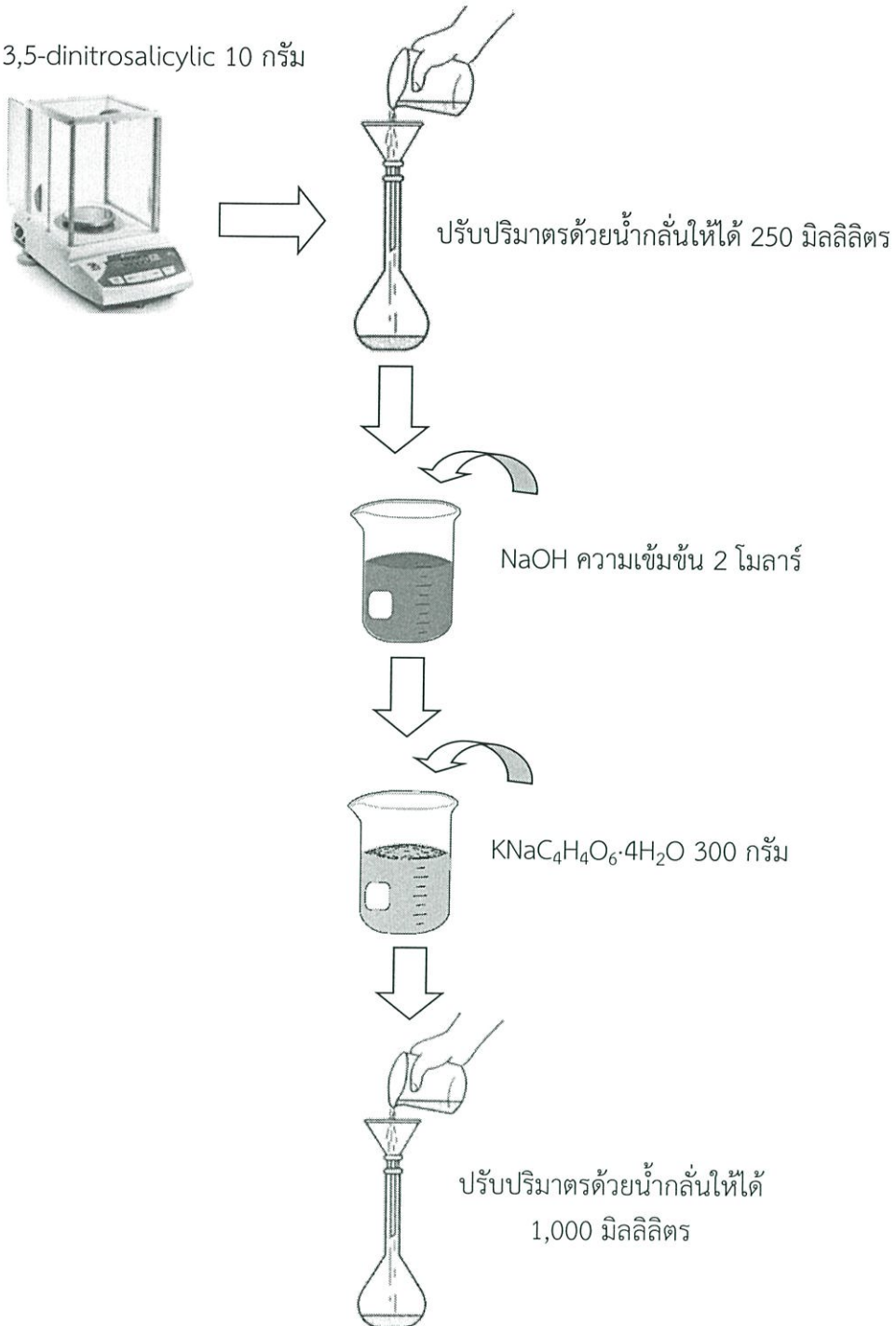
6. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

6.1 การเตรียมสารละลายกรด 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5 dinitrosalicylic acid)

ทำการเตรียมสารละลายกรด 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5 dinitrosalicylic acid) โดยการชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic 10 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ทีละน้อย (เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ได้โดยการชั่ง NaOH 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร) คนสารละลายให้เข้ากัน

จนกระทั่งสารละลายใส จากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมเตตระไฮดรอกซีเตตระทรีไฮเดรต($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ลงไปที่ละน้อยจนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic 10 กรัม



รูปที่ 11 (ข) การเตรียมสารละลายกรด 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5 dinitrosalicylic acid)

6.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0

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

ชั่งสาร KH_2PO_4 1.3610 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
500 มิลลิลิตร

รูปที่ 12 (ข) การเตรียม Stock A

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

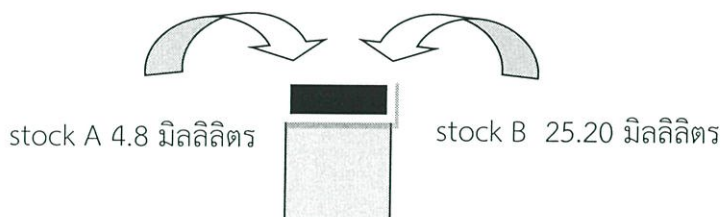
ชั่งสาร Na_2HPO_4 1.4200 กรัม



ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
500 มิลลิลิตร

รูปที่ 13 (ข) การเตรียม Stock B

เมื่อทำการเตรียมสารละลาย stock A และ stock B แล้วให้ทำการผสมสารละลายทั้งสองชนิดตามสัดส่วนดังตารางที่ 2 (ข) เพื่อให้ได้ pH ที่ต้องการ (ในที่นี้ต้องการสารละลายฟอสเฟต-บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ pH \approx 7.0) จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



รูปที่ 14 (ข) การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0

ตารางที่ 2 (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

6.3 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์นั้นจะใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียมดังนี้

ใน เอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน 21 มิลลิกรัม

ดังนั้น เอนไซม์ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตรมีปริมาณโปรตีน $(0.47 \times 21) / 1 = 9.87$ มิลลิกรัม

นำเอาปริมาณโปรตีนมาคำนวณหาความเข้มข้นของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร

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) ที่ได้จาก porcine pancreas ที่มีความเข้มข้น 21 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.47 มิลลิลิตร เท่ากับความเข้มข้น 8,103.27 ยูนิตต่อ 21 มิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยตรงเป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆแล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้

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 ผสมให้เข้ากันจะได้สารละลายแอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ ten-fold dilution โดยทำการปิเปตสารละลายแอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายแอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธีดังกล่าวซ้ำอีก 1 ครั้งจะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรดังรูป



เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส
200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร



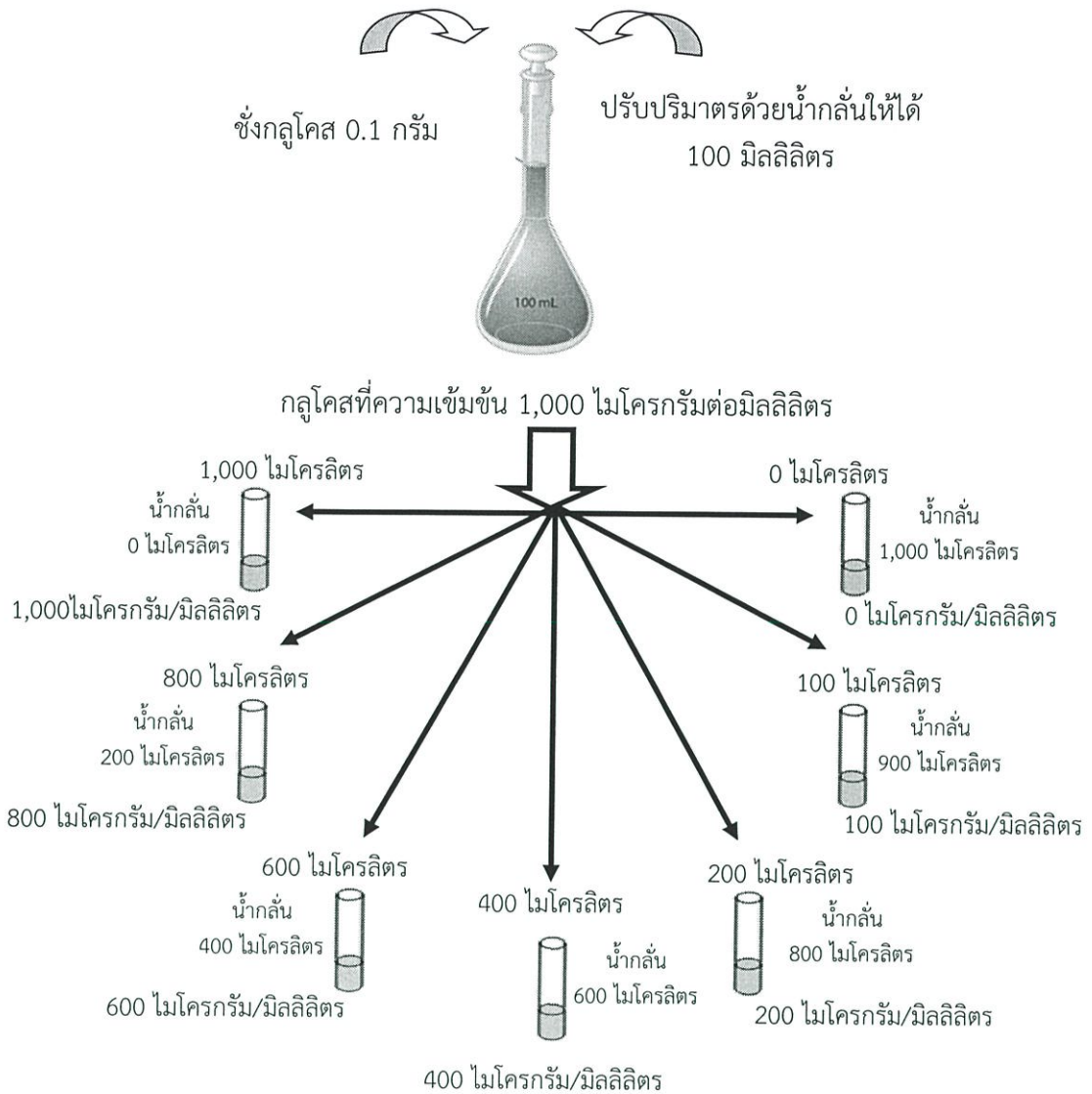
รูปที่ 15 (ข) การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

6.4 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl Buffer)

การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl Buffer) ทำได้โดยการชั่งโซเดียมคลอไรด์ (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 จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวลงขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร และทำการปรับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl Buffer) ที่ได้ให้มีพีเอชเท่ากับ 1 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลาร์

6.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสสำหรับการทำกราฟมาตรฐานกลูโคส จะทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200, 100 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีวิธีการเตรียมดังนี้



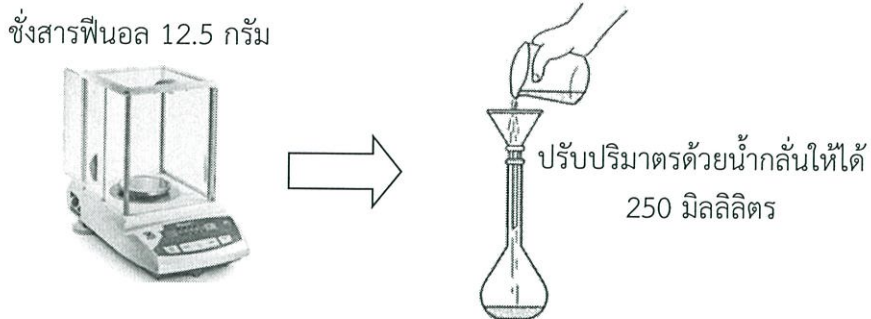
รูปที่ 16 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS)

ตารางที่ 3 (ข) การทำความเข้าใจของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส(ไมโครลิตร)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
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
1,000	0	1,000	0

6.6 การเตรียมสารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5

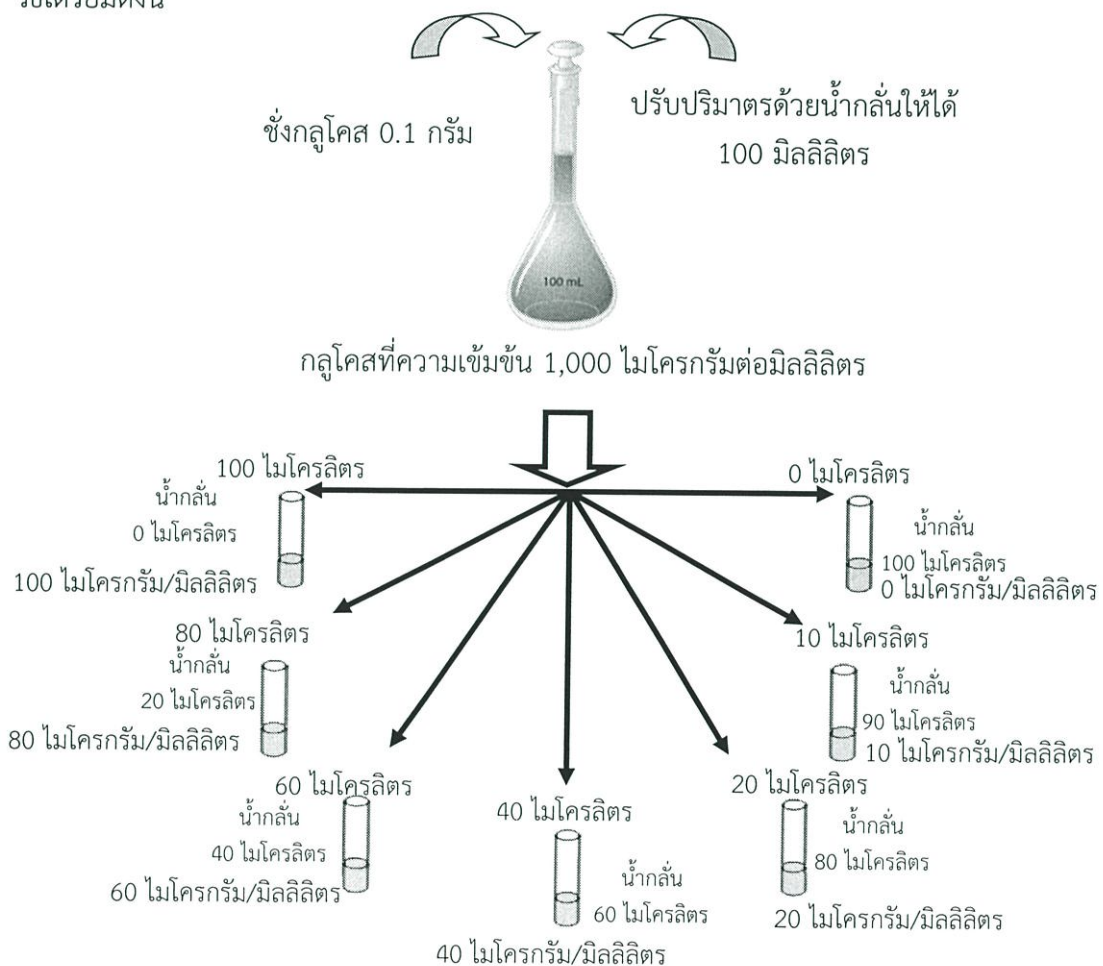
ทำการเตรียมสารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เตรียมได้โดยชั่งสารฟินอลปริมาณ 12.5 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้



รูปที่ 17 (ข) การเตรียมสารละลายฟินอลความเข้มข้นร้อยละ 5

6.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

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



รูปที่ 18 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

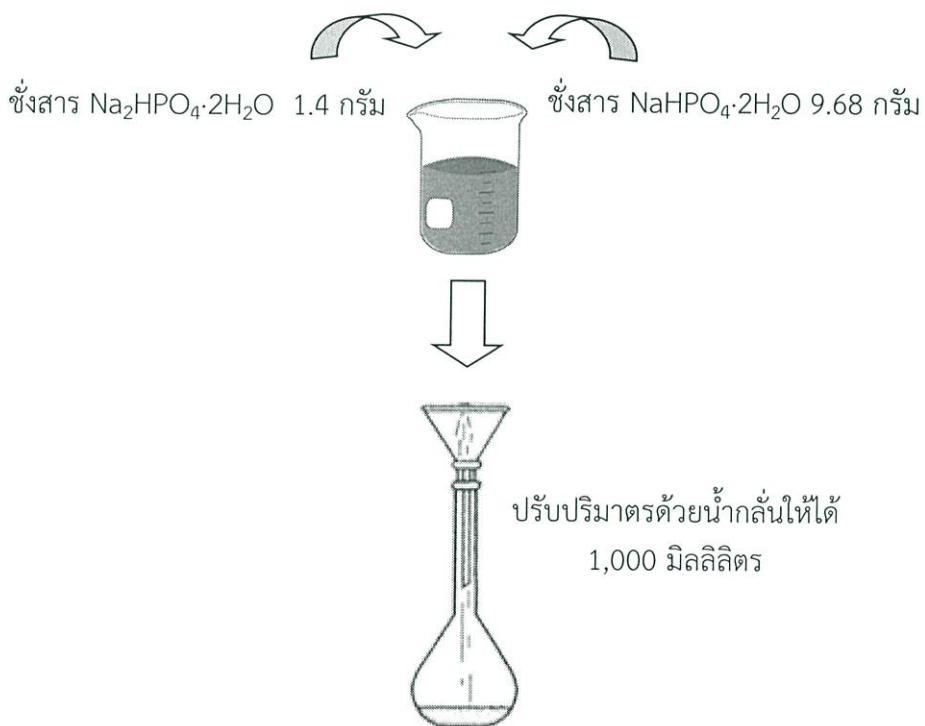
ตารางที่ 4 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส(ไมโครลิตร)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
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

7. การเตรียมสารละลายสำหรับการหาใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber)

7.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0 (Phosphate buffer 0.08M pH 6.0)

ทำการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0 (Phosphate buffer 0.08M pH 6.0) ได้โดยการชั่งสาร $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มา 1.4 กรัม จากนั้นชั่งสาร $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มา 9.68 กรัม ทำการละลายสารทั้งสองด้วยน้ำกลั่น แล้วเทลงขวดปรับปริมาตร จากนั้นทำการปรับปริมาตรสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปรับพีเอชสุดท้ายของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ ให้มีพีเอชเท่ากับ 6.0



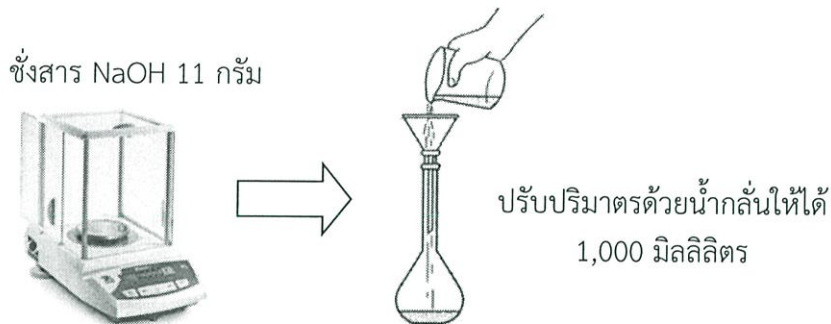
รูปที่ 19 (ข) การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0 (Phosphate buffer 0.08M pH 6.0)

7.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์ (NaOH 0.275M)

จากมวลโมลของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล เตรียมที่ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จะต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร ถ้า เตรียมที่ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์ จะต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์

$$\frac{\text{เท่ากับ } 0.275 \text{ โมลาร์} \times 40 \text{ กรัมต่อลิตร}}{1 \text{ โมลาร์}}$$

เท่ากับ 11 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 20 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์ (NaOH 0.275M)

7.3 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.375 โมลาร์ (HCl 0.375 M)

จากสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1 โมลาร์ มีปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

ถ้า ต้องการเตรียมที่ความเข้มข้น 0.375 โมลาร์จะต้องปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

$$\frac{\text{เท่ากับ } 0.375 \text{ โมลาร์} \times 1000 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ โมลาร์}}$$

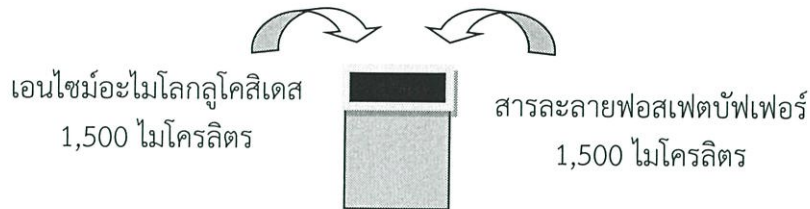
เท่ากับ 375 มิลลิลิตร



รูปที่ 21 (ข) การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.375 โมลาร์ (HCl 0.375 M)

7.4 การเตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

ทำการเตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase, A7095-50ml, Sigma Aldrich, Germany) จาก *Aspergillus niger* (Product rescription อยู่ในภาคผนวก ฉ.) ได้โดยการปิเปตจาก Stock ที่ความเข้มข้น 300 ยูนิตต่อมิลลิลิตรมา 1,500 ไมโครลิตร แล้วทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:1 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของเอนไซม์เท่ากับ 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 22 (ข) การเตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ความเข้มข้น 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

7.5 การเตรียมสารละลายเอนไซม์โปรตีเอสที่ความเข้มข้น 7-15 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

การเตรียมสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส (Protease, P5459-56, Sigma Aldrich, Germany) จาก *Bacillus licheniformis* (Product rescription อยู่ในภาคผนวก ฉ.) จาก stock ที่ความเข้มข้น 7-15 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ในการทดลองใช้เอนไซม์โปรตีเอสที่ความเข้มข้นเท่ากับใน stock จะสามารถใช้สารละลายเอนไซม์ได้จาก stock โดยตรง

7.6 การเตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทนความร้อน ที่ความเข้มข้น 3,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสทนความร้อน(heat-stable α -amylase, A3306-10ml, Sigma Aldrich, Germany) จาก *Bacillus licheniformis* (Product rescription อยู่ในภาคผนวก ฉ.) จาก stock ที่ความเข้มข้น 3,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

ในการทดลองใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสทนความร้อนที่ความเข้มข้นเท่ากับใน stock จะสามารถใช้สารละลายเอนไซม์ได้จาก stock โดยตรง

7.7 การเตรียมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 78

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเอทานอล ปริมาตร 78 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้



รูปที่ 23 (ข) การเตรียมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 78

7.8 การเตรียมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเอทานอล ปริมาตร 95 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้



รูปที่ 24 (ข) การเตรียมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95

8. การเตรียมสารละลายสำหรับการวัดหาค่าความเป็นกรดต่าง

8.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (NaOH 0.1 M)

จากมวลโมเลกุลของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล เตรียมที่ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จะต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร ถ้า เตรียมที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จะต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์

$$\frac{\text{เท่ากับ } 0.1 \text{ โมลาร์} \times 40 \text{ กรัมต่อลิตร}}{1 \text{ โมลาร์}}$$

เท่ากับ 4 กรัมต่อลิตร

ชั่งสาร NaOH 4 กรัม



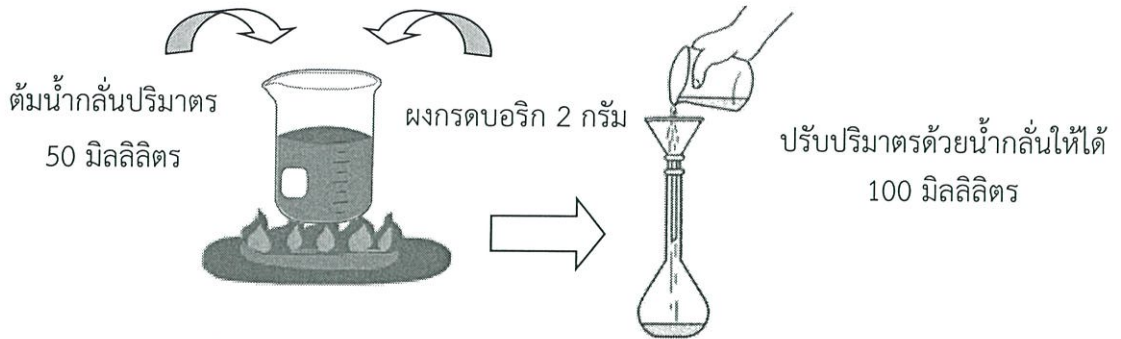
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้
1,000 มิลลิลิตร

รูปที่ 25 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (NaOH 0.1 M)

9. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารตกค้าง

9.1 การเตรียมสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2

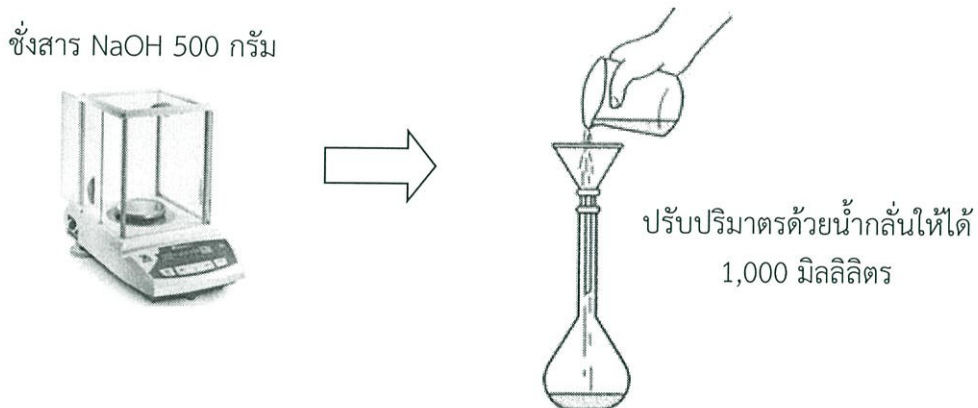
การเตรียมสารละลายกรดบอริก ทำได้โดย ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตรให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริกลงไป 2 กรัม ต้มจนสารละลายหมด ทั้งไว้นจนสารละลายเย็นลงแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร



รูปที่ 26 (ข) การเตรียมสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2

9.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 (NaOH 50%)

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 (NaOH 50%) โดยชั่ง NaOH มา 500 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนละลายหมด จากนั้นเทลงขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร



รูปที่ 27 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 50 (NaOH 50%)

ภาคผนวก ค การคำนวณ

1. การคำนวณสำหรับสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ (Lado และคณะ, 2004)

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์ริซัลเฟตจะทำการทดลองตามวิธีการเดียวกับสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในแต่ละหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอร์ริซัลเฟต ดังนี้

สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟตเท่ากับ

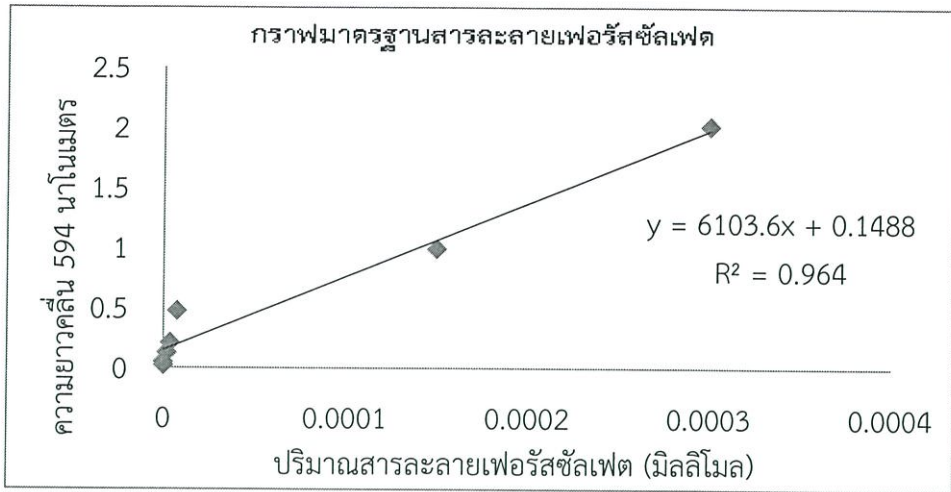
สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต 3 มิลลิโมล
ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต
	$\frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 3 \text{ มิลลิโมล}}{1000 \text{ มิลลิลิตร}}$
	เท่ากับ 0.0003 มิลลิโมล

สารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต 1.5 มิลลิโมล
ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร	มีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟต
	$\frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.5 \text{ มิลลิโมล}}{1000 \text{ มิลลิลิตร}}$
	เท่ากับ 0.00015 มิลลิโมล

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 3 1.5 0.75 0.375 0.1875 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเฟอร์ริซัลเฟตอยู่ในหลอดทดลอง เท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.0000375, 0.0000188, 0.00000094 และ 0.00000047 มิลลิโมลตามลำดับ แล้วนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอร์ริซัลเฟต (หน่วยมิลลิ-โมล ได้ดังนี้



รูปที่ 1 (ค) กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร และปริมาณสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ (ซ้ำ 1)

ตัวอย่างที่ 1 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต

สารสกัดเปลือกทับทิม มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร เท่ากับ 0.971

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต

$$y = 6103.6x + 0.1488$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.971 = 6103.6x + 0.1488$$

$$6103.6x = 0.971 - 0.1488$$

$$x = \frac{0.8222}{6103.6}$$

$$x = 1.35 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด

เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ในสารสกัด 0.1 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอร์รัสซัลเฟต 1.35×10^{-4} มิลลิโมล

ในสารสกัด 1 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอร์รัสซัลเฟต 1.35×10^{-4} มิลลิโมล

$$\frac{1.35 \times 10^{-4}}{0.1}$$

ในสารสกัด 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของเฟอร์รัสซัลเฟต $\frac{1.35 \times 10^{-4} \times 1000}{0.1}$

$$0.1$$

เท่ากับ 1.35 มิลลิโมล

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากเปลือกทับทิมจะมีปริมาณเฟอร์รัสซัลเฟต เท่ากับ 1.35 มิลลิโมลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

2. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ (Singleton และคณะ, 1999)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยที่ใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้นต่างๆดังนี้คือ 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเปลือกผลไม้ ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

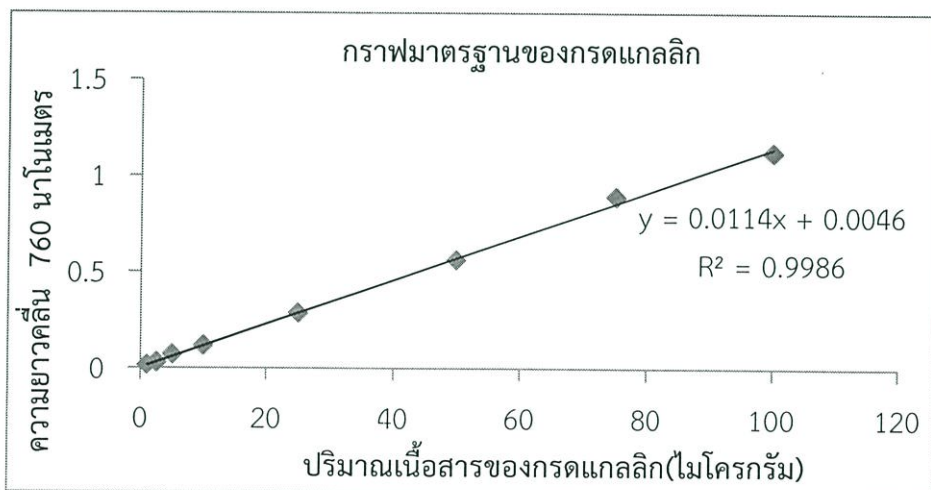
$$\frac{1000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 75 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ในการทดลองใช้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัม ตามลำดับ จากนั้นนำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 2 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ (ซ้ำ 1)

ตัวอย่างที่ 2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกทับทิม (ซ้ำ 1) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดจากเปลือกทับทิมแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแกลลิก ดังนี้ สารสกัดจากเปลือกทับทิม มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรเท่ากับ 0.213

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.0114x + 0.0046$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.213 = 0.0114x + 0.0046$

$$x = \frac{0.213 - 0.0046}{0.0114}$$

$$x = 18.281 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 18.281 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากเปลือกทับทิม ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกทับทิม 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 18.281 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{18.281 \text{ ไมโครกรัม} \times 1 \text{ มิลลิกรัม}}{0.1 \text{ มิลลิกรัม}}$

$$\text{เท่ากับ } 182.207 \text{ ไมโครกรัม GAE}$$

ดังนั้น สารสกัด 1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก

$$\text{เท่ากับ } \frac{182.807 \text{ มิลลิกรัม GAE}}{1000}$$

ถ้า สารสกัด 1,000 มิลลิกรัม (1 กรัม) จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก

$$\text{เท่ากับ } \frac{182.807 \times 1000}{1000}$$

$$\text{เท่ากับ } 182.807 \text{ มิลลิกรัม GAE}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 182.807 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

- การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (น้ำตาลทั้งหมด) และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ด้วยวิธี ฟีนอลซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956) ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) ซึ่งในการทดลอง จะใช้สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในแต่ละหลอดการทดลองของจะมีปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสดังนี้

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่

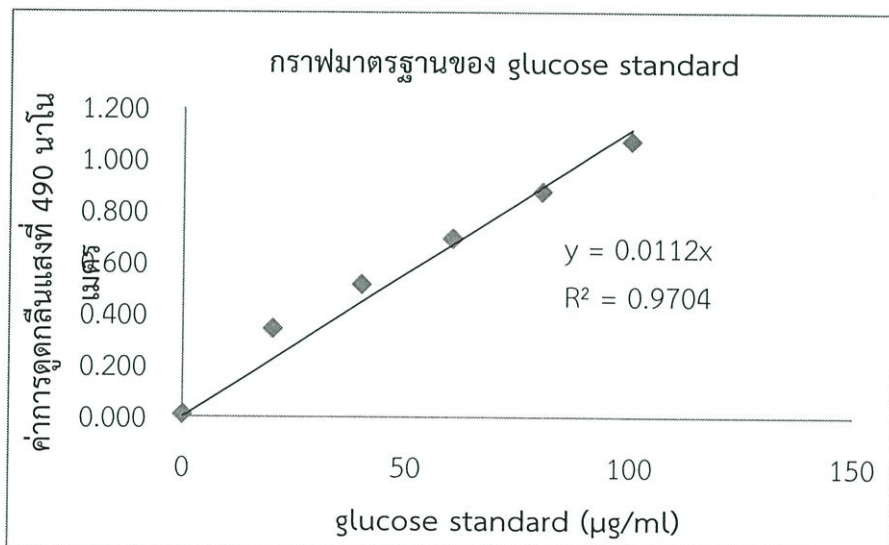
$$\frac{100 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่

$$\frac{80 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 80 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 3 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารสกัด (ซ้ำที่ 1)

ตัวอย่างที่ 3 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (หลังการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรของสารสกัดจากเปลือกทับทิม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สมการสกัดจากเปลือกทับทิม มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ 490 นาโนเมตร เท่ากับ 0.984 (ที่ระดับความเจือจาง 5 เท่า)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส $y = 0.0112x$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

แทนค่า $y = 0.0112x$

$$0.423 = 0.0112x$$

$$x = \frac{0.423}{0.0112}$$

$$x = 37.77 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเจือจาง 5 เท่า ก่อนการวัด (เพื่อให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2 ถึง 0.8) โดยปีเปตสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนี้

ดังนั้น ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เท่ากับ 37.77 ไมโครกรัม

ถ้า สารสกัด 1,000 มิลลิกรัมจะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{37.77 \text{ กรัม} \times 1000 \text{ มิลลิกรัม}}{0.1 \text{ มิลลิกรัม}}$

เท่ากับ 377,700 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ $\frac{377,700}{1,000}$

1,000

เท่ากับ 377.70 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 377.70 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

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

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ

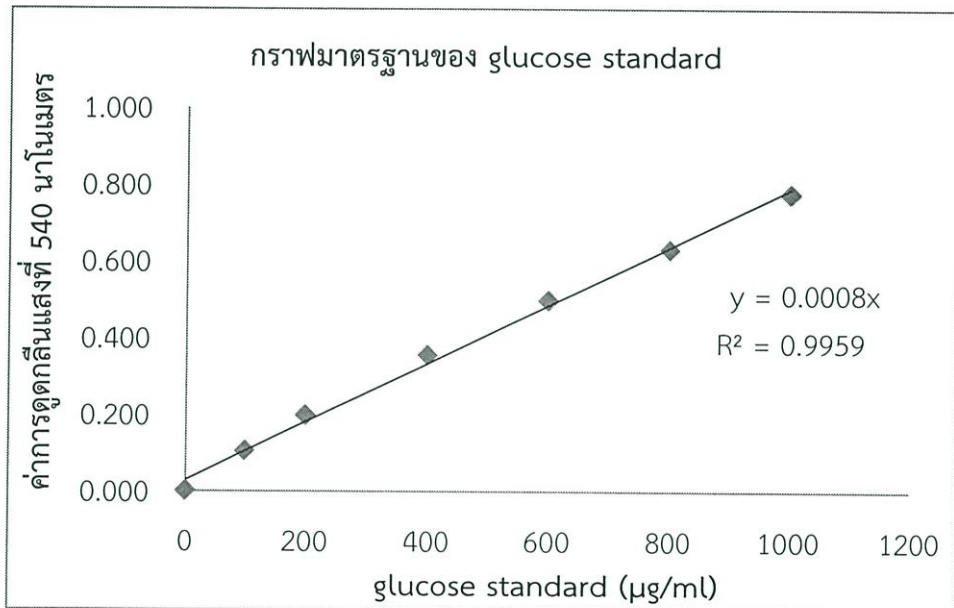
$$\frac{1000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.5 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 500 \text{ ไมโครกรัม}$$

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ

$$\frac{800 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.5 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 400 \text{ ไมโครกรัม}$$

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



รูปที่ 4 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัด

ตัวอย่างที่ 4 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม (ก่อนย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของสารสกัดจากเปลือกทับทิม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้ สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เท่ากับ 0.330 จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส $y = 0.0008x$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

แทนค่า $y = 0.0008x$

$$0.056 = 0.0008x$$

$$x = \frac{0.056}{0.0008}$$

$$x = 70 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัด 0.5 มิลลิกรัม เท่ากับ 70 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเนื้อสารกลูโคส เท่ากับ $\frac{70 \text{ ไมโครกรัม} \times 1,000 \text{ มิลลิกรัม}}{0.5 \text{ มิลลิกรัม}}$

0.5 มิลลิกรัม

เท่ากับ 140,000 ไมโครกรัม

หรือเท่ากับ $\frac{140,000 \text{ ไมโครกรัม}}{1,000}$

1,000

เท่ากับ 140.00 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้นสารสกัดจากเปลือกทับทิมมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 140.00 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

5. การหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (Indigestible polysaccharide) ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ นั้น จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลืออยู่หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัด (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 2.1) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัด (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 3.1) มาคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

ในที่นี้จะยกตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม

จากสูตร

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า Indigestible polysaccharide} &= 377.70 - 140.00 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด} \\ &= 237.70 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้นสารสกัดจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ 237.70 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

6. การคำนวณสำหรับสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้ (Lado และคณะ, 2004)

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตจะทำการทดลองตามวิธีการเดียวกับสารสกัดตัวอย่าง ซึ่งในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในแต่ละหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ดังนี้

สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟตเท่ากับ

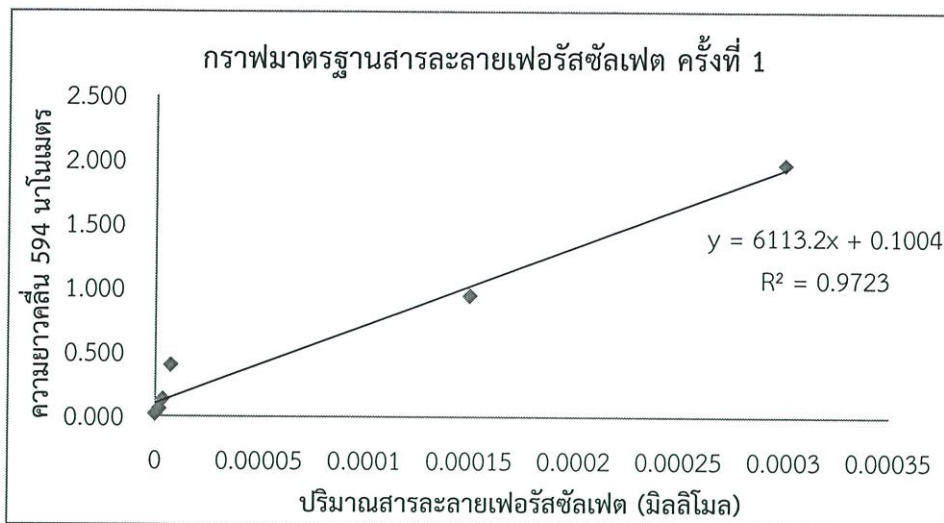
$$\begin{aligned} \text{สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟต 3 มิลลิโมล} \\ \text{ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟต } & \frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 3 \text{ มิลลิโมล}}{1000 \text{ มิลลิลิตร}} \\ & \text{เท่ากับ 0.0003 มิลลิโมล} \end{aligned}$$

สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟต เท่ากับ

$$\begin{aligned} \text{สารละลายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟต 1.5 มิลลิโมล} \\ \text{ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟต } & \frac{0.1 \text{ มิลลิลิตร} \times 1.5 \text{ มิลลิโมล}}{1000 \text{ มิลลิลิตร}} \\ & \text{เท่ากับ 0.00015 มิลลิโมล} \end{aligned}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารเฟอร์รัสซัลเฟตอยู่ในหลอดทดลอง เท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.0000375, 0.0000188, 0.00000094 และ 0.00000047 มิลลิโมลตามลำดับ แล้วนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอร์รัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล ได้ดังนี้



รูปที่ 5 (ค) กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร และปริมาณสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้ (ซ้ำ 1)

ตัวอย่างที่ 5 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม (ซ้ำ 1) โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร เท่ากับ 1.836 จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต

$$y = 6113.2x + 0.1004$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า

$$1.836 = 6113.2x + 0.1004$$

$$x = \frac{1.836 - 0.1004}{6113.2}$$

$$x = 2.84 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยที่โยเกิร์ตมีค่าการเจือจางเป็น 10 เท่า

คือ ชั่งโยเกิร์ต 1 กรัมผสมกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

จะได้ว่า ในโยเกิร์ตปริมาตร 10 กรัม จะมีโยเกิร์ตบริสุทธิ์ ปริมาตร 1 กรัม

ดังนั้น ถ้าในการวิเคราะห์ใช้โยเกิร์ตปริมาตร 0.1 กรัม จะมีโยเกิร์ตบริสุทธิ์ ปริมาตร 0.01 กรัม

การวิเคราะห์ใช้โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมปริมาตร 0.01 กรัม จะมีเฟอร์รัสซัลเฟสต่อกรัมอยู่เท่ากับ 2.84×10^{-4} มิลลิโมล

ถ้า โยเกิร์ตปริมาตร 100 กรัมจะมีปริมาณเฟอร์รัสซัลเฟสอยู่เท่ากับ

$$\frac{100 \text{ มิลลิลิตร} \times 2.84 \times 10^{-4} \text{ มิลลิโมล}}{0.01 \text{ มิลลิลิตร}} = 2.84 \text{ มิลลิโมล}$$

เพราะฉะนั้น โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมปริมาณเฟอร์รัสซัลเฟต เท่ากับ 2.84 มิลลิโมลของเฟอร์รัสซัลเฟสต่อโยเกิร์ต 100 กรัม

7. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ต ที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ (Singleton และคณะ, 1999)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยที่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก เป็นสารละลายมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้นต่างๆดังนี้คือ 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเปลือกผลไม้ ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก ดังนี้

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

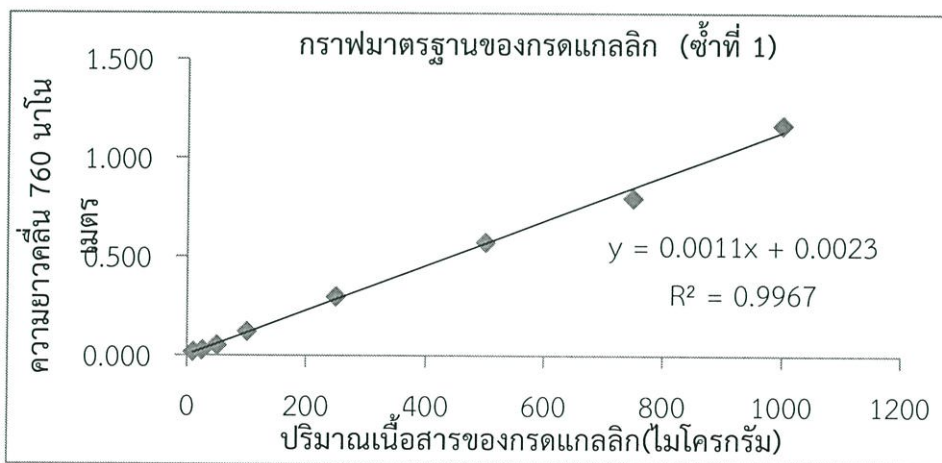
$$\frac{1000 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 100 \text{ ไมโครกรัม}$$

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750 \text{ ไมโครกรัม} \times 0.1 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ มิลลิลิตร}} = 75 \text{ ไมโครกรัม}$$

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ในการทดลองใช้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัม ตามลำดับ จากนั้นนำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 6 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้ (ซ้ำ 1)

ตัวอย่างที่ 6 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม (ซ้ำ 1) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแกลลิก ดังนี้

โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม ที่ความเจือจาง 10 เท่า มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรเท่ากับ 0.673

$$y = 0.0011x + 0.0023$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรแทนค่า

$$0.673 = 0.0011x + 0.0023$$

$$x = \frac{0.673 - 0.023}{0.0011}$$

$$x = 609.73 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

โดยที่โยเกิร์ตมีค่าการเจือจางเป็น 10 เท่า

คือ ชั่งโยเกิร์ต 1 กรัมผสมกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

จะได้ว่า ในโยเกิร์ตปริมาตร 10 กรัม จะมีโยเกิร์ตบริสุทธิ์ ปริมาตร 1 กรัม

ดังนั้น ถ้าในการวิเคราะห์ใช้โยเกิร์ตปริมาตร 0.1 กรัม จะมีโยเกิร์ตบริสุทธิ์ ปริมาตร 0.01 กรัม

การวิเคราะห์ใช้โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมปริมาตร 0.01 กรัมจะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่เท่ากับ 609.73 ไมโครกรัม

ถ้า โยเกิร์ตปริมาตร 100 กรัม จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่เท่ากับ 60972.73 ไมโครกรัม

เพราะฉะนั้น โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 60972.73 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อโยเกิร์ต 100 กรัม

8. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้ (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในโยเกิร์ตโดยทำตามวิธีของ AOAC, 2000 ซึ่งในการทดลองได้มีการชั่งตัวอย่างโยเกิร์ต 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่อบแห้ง และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 ถึง 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

ตัวอย่างที่ 7 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม (ซ้ำ 1)

น้ำหนักโยเกิร์ตเริ่มต้น 3.192 กรัม จะมีน้ำอยู่ เท่ากับ 2.705 มิลลิลิตร

ถ้า โยเกิร์ตปริมาณ 100 กรัม จะมีน้ำอยู่ เท่ากับ $\frac{2.705 \times 100}{3.192}$

$$84.764$$

เท่ากับ 84.764 มิลลิลิตร

เพราะฉะนั้น โยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมในปริมาณ 100 กรัม จะมีน้ำหรือปริมาณความชื้นอยู่เท่ากับ 84.764 มิลลิลิตร

9. การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำมันด้วยวิธี gravimetric method

การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำมันด้วยวิธี gravimetric method ซึ่งในการทดลองได้ทำการปิเปตน้ำมันพร่องมันเนยตราเมจิที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่อบแห้งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำไปวางบน water bath เป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 102 ถึง 104 องศาเซลเซียสโดยไม่ต้องปิดฝา 2 ชั่วโมง แล้วปิดฝานำมาทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์และชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบซ้ำอีกครั้ง โดยไม่ต้องปิดฝา 1 ชั่วโมง แล้วปิดฝานำมาทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์และชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 8 การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำมัน

$$\text{จากสูตร} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า (ซ้ำ 1)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{21.118 - 18.612}{21.118} \times 100 \\ &= 11.867 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า (ซ้ำ 2)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{21.125 - 18.627}{21.125} \times 100 \\ &= 11.825 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า (ซ้ำ 3)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{21.123 - 18.626}{21.123} \\ &= 11.821 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด (เฉลี่ย)} &= \frac{11.867 + 11.825 + 11.821}{3} \\ &= 11.838 \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น ในน้ำมันจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมด (เฉลี่ย) เท่ากับร้อยละ 11.838

ตัวอย่างที่ 9 การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำมันที่ถูกปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดด้วยหางนมผงปริมาตรร้อยละ 5

$$\text{จากสูตร} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า (ซ้ำ 1)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{22.072 - 18.267}{22.072} \times 100 \\ &= 17.239 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า (ซ้ำ 2)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{22.081 - 18.259}{22.081} \times 100 \\ &= 17.309 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{แทนค่า (ซ้ำ 3)} \quad \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด} &= \frac{22.067 - 18.274}{22.309} \\
 &= 17.189 \\
 \text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด (เฉลี่ย)} &= \frac{17.239 + 17.309 + 17.189}{3} \\
 &= 17.246
 \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น ในน้ำนมที่ถูกปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดด้วยหางนมผงปริมาตรร้อยละ 5 จะมีปริมาณของแข็งทั้งหมด (เฉลี่ย) เท่ากับร้อยละ 17.246

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. ผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.3633	.09074	.05239	6.1379	6.5887	6.28	6.46
Corn	3	6.4267	.04933	.02848	6.3041	6.5492	6.37	6.46
ทับทิม	3	6.5967	.01528	.00882	6.5587	6.6346	6.58	6.61
มะขามเทศ	3	6.3033	.02082	.01202	6.2516	6.3550	6.28	6.32
ตะขบ	3	6.2733	.02887	.01667	6.2016	6.3450	6.24	6.29
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	6.4700	.01732	.01000	6.4270	6.5130	6.46	6.49
ชมพูทับทิมจันทร์	3	6.3100	.01732	.01000	6.2670	6.3530	6.29	6.32
Total	21	6.3919	.11435	.02495	6.3399	6.4440	6.24	6.61

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.236	6	0.039	21.566	0.000
Within Groups	0.026	14	0.002		
Total	0.262	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a ตะขบ	3	6.2733				
มะขามเทศ	3	6.3033	6.3033			
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	6.3100	6.3100			
Control	3		6.3633	6.3633		
Corn	3			6.4267	6.4267	
แอปเปิ้ลฟูจิ	3				6.4700	
ทับทิม	3					6.5967
Sig.		0.335	0.124	0.091	0.234	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

2. ผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	8.3933	.03215	.01856	8.3135	8.4732	8.37	8.43
Corn	3	8.3167	.08963	.05175	8.0940	8.5393	8.26	8.42
ทับทิม	3	8.3200	.02646	.01528	8.2543	8.3857	8.29	8.34
มะขามเทศ	3	8.1167	.02887	.01667	8.0450	8.1884	8.10	8.15
ตะขบ	3	8.1567	.08021	.04631	7.9574	8.3559	8.08	8.24
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	8.2300	.01000	.00577	8.2052	8.2548	8.22	8.24
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	8.0800	.06083	.03512	7.9289	8.2311	8.04	8.15
Total	21	8.2305	.12056	.02631	8.1756	8.2854	8.04	8.43

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.249	6	0.042	13.946	0.000
Within Groups	0.042	14	0.003		
Total	0.291	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	8.0800			
มะขามเทศ	3	8.1167			
ตะขบ	3	8.1567	8.1567		
แอปเปิ้ลฟูจิ	3		8.2300	8.2300	
Corn	3			8.3167	8.3167
ทับทิม	3			8.3200	8.3200
Control	3				8.3933
Sig.		0.124	0.122	0.075	0.124

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

3. ผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	7.7767	.00577	.00333	7.7623	7.7910	7.77	7.78
Corn	3	8.0500	.03464	.02000	7.9639	8.1361	8.01	8.07
ทับทิม	3	6.7033	2.87810	1.66167	-.4463	13.8529	3.38	8.37
มะขามเทศ	3	8.1033	.05508	.03180	7.9665	8.2401	8.05	8.16
ตะขบ	3	8.0900	.06083	.03512	7.9389	8.2411	8.05	8.16
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	8.4400	.01000	.00577	8.4152	8.4648	8.43	8.45
ชมพูทับทิมจันทร์	3	7.8333	.04933	.02848	7.7108	7.9559	7.80	7.89
Total	21	7.8567	1.05067	.22927	7.3784	8.3349	3.38	8.45

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.490	6	0.915	.772	0.604
Within Groups	16.588	14	1.185		
Total	22.078	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Duncan ^a ทับทิม	3	6.7033
Control	3	7.7767
ชมพูทับทิมจันทร์	3	7.8333
Corn	3	8.0500
ตะขบ	3	8.0900
มะขามเทศ	3	8.1033
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	8.4400
Sig.		0.103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

4. ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.1700	.01000	.00577	6.1452	6.1948	6.16	6.18
Corn	3	6.2200	.01000	.00577	6.1952	6.2448	6.21	6.23
ทับทิม	3	6.0133	.02517	.01453	5.9508	6.0758	5.99	6.04
มะขามเทศ	3	5.9667	.01528	.00882	5.9287	6.0046	5.95	5.98
ตะขบ	3	5.9900	.02000	.01155	5.9403	6.0397	5.97	6.01
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	6.0733	.03055	.01764	5.9974	6.1492	6.04	6.10
ชมพูทับทิมจันทร์	3	6.1933	.02517	.01453	6.1308	6.2558	6.17	6.22
Total	21	6.0895	.10052	.02194	6.0438	6.1353	5.95	6.23

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.196	6	0.033	75.396	0.000
Within Groups	0.006	14	0.000		
Total	0.202	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a มะขามเทศ	3	5.9667				
ตะขบ	3	5.9900	5.9900			
ทับทิม	3		6.0133			
แอปเปิ้ลฟูจิ	3			6.0733		
Control	3				6.1700	
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3				6.1933	6.1933
Corn	3					6.2200
Sig.		0.191	0.191	1.000	0.191	0.139

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

5. ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	4.0133	.02082	.01202	3.9616	4.0650	3.99	4.03
Corn	3	4.0200	.03000	.01732	3.9455	4.0945	3.99	4.05
ทับทิม	3	3.9533	.02517	.01453	3.8908	4.0158	3.93	3.98
มะขามเทศ	3	3.9100	.02000	.01155	3.8603	3.9597	3.89	3.93
ตะขบ	3	3.9867	.01528	.00882	3.9487	4.0246	3.97	4.00
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	4.0333	.01528	.00882	3.9954	4.0713	4.02	4.05
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	3.9067	.02517	.01453	3.8442	3.9692	3.88	3.93
Total	21	3.9748	.05297	.01156	3.9506	3.9989	3.88	4.05

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.049	6	0.008	16.554	0.000
Within Groups	0.007	14	0.000		
Total	0.056	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	3.9067			
มะขามเทศ	3	3.9100			
ทับทิม	3		3.9533		
ตะขบ	3		3.9867	3.9867	
Control	3			4.0133	4.0133
Corn	3			4.0200	4.0200
แอปเปิ้ลฟูจิ	3				4.0333
Sig.		0.857	0.088	0.103	0.314

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

6. ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	3.7967	.01528	.00882	3.7587	3.8346	3.78	3.81
Corn	3	3.9067	.01528	.00882	3.8687	3.9446	3.89	3.92
ทับทิม	3	3.5600	.03000	.01732	3.4855	3.6345	3.53	3.59
มะขามเทศ	3	3.5000	.02646	.01528	3.4343	3.5657	3.47	3.52
ตะขบ	3	3.6667	.01528	.00882	3.6287	3.7046	3.65	3.68
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	3.7600	.02646	.01528	3.6943	3.8257	3.73	3.78
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	3.7600	.02000	.01155	3.7103	3.8097	3.74	3.78
Total	21	3.7071	.13521	.02950	3.6456	3.7687	3.47	3.92

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.359	6	0.060	123.127	0.000
Within Groups	0.007	14	0.000		
Total	0.366	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a มะขามเทศ	3	3.5000				
ทับทิม	3		3.5600			
ตะขบ	3			3.6667		
แอปเปิ้ลฟูจิ	3				3.7600	
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3				3.7600	
Control	3				3.7967	
Corn	3					3.9067
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.072	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

7. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก) ที่เวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	.1800	.09000	.05196	.0436	.4036	.09	.27
Corn	3	.1800	.00000	.00000	.1800	.1800	.18	.18
ทับทิม	3	.3000	.05196	.03000	.1709	.4291	.27	.36
มะขามเทศ	3	.1200	.05196	.03000	.0091	.2491	.09	.18
ตะขบ	3	.1200	.05196	.03000	.0091	.2491	.09	.18
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	.2700	.09000	.05196	.0464	.4936	.18	.36
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	.1500	.05196	.03000	.0209	.2791	.09	.18
Total	21	.1886	.08493	.01853	.1499	.2272	.09	.36

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.090	6	0.015	3.900	0.017
Within Groups	0.054	14	0.004		
Total	0.144	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a มะขามเทศ	3	0.1200		
ตะขบ	3	0.1200		
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	0.1500		
Control	3	0.1800	0.1800	
Corn	3	0.1800	0.1800	
แอปเปิ้ลฟูจิ	3		0.2700	0.2700
ทับทิม	3			0.3000
Sig.		0.300	0.113	0.564

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

8. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก) ที่เวลา 12 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	1.6200	.09000	.05196	1.3964	1.8436	1.53	1.71
Corn	3	1.5000	.13748	.07937	1.1585	1.8415	1.35	1.62
ทับทิม	3	1.5600	.13748	.07937	1.2185	1.9015	1.44	1.71
มะขามเทศ	3	1.3200	.05196	.03000	1.1909	1.4491	1.26	1.35
ตะขบ	3	1.2300	.05196	.03000	1.1009	1.3591	1.17	1.26
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	1.4400	.09000	.05196	1.2164	1.6636	1.35	1.53
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	1.3200	.05196	.03000	1.1909	1.4491	1.26	1.35
Total	21	1.4271	.15663	.03418	1.3558	1.4984	1.17	1.71

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.366	6	0.061	6.884	0.001
Within Groups	0.124	14	0.009		
Total	0.491	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a ตะขบ	3	1.2300			
มะขามเทศ	3	1.3200	1.3200		
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	1.3200	1.3200		
แอปเปิ้ลฟูจิ	3		1.4400	1.4400	
Corn	3			1.5000	1.5000
ทับทิม	3			1.5600	1.5600
Control	3				1.6200
Sig.		0.285	0.160	0.160	0.160

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

9. ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	1.9800	.09000	.05196	1.7564	2.2036	1.89	2.07
Corn	3	2.3400	.63000	.36373	.7750	3.9050	1.89	3.06
ทับทิม	3	2.5200	.09000	.05196	2.2964	2.7436	2.43	2.61
มะขามเทศ	3	2.3400	.09000	.05196	2.1164	2.5636	2.25	2.43
ตะขบ	3	2.3100	.10392	.06000	2.0518	2.5682	2.25	2.43
แอปเปิ้ลฟูจิ	3	2.7900	.09000	.05196	2.5664	3.0136	2.70	2.88
ชมพู่ทับทิมจันทร์	3	1.9500	.05196	.03000	1.8209	2.0791	1.89	1.98
Total	21	2.3186	.34846	.07604	2.1600	2.4772	1.89	3.06

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.543	6	0.257	4.065	0.014
Within Groups	0.886	14	0.063		
Total	2.428	20			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a ชมพูทับทิมจันทร์	3	1.9500	
Control	3	1.9800	
ตะขบ	3	2.3100	2.3100
Corn	3	2.3400	2.3400
มะขามเทศ	3	2.3400	2.3400
ทับทิม	3		2.5200
แอปเปิ้ลฟูจิ	3		2.7900
Sig.		0.106	0.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

10. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

เพศของผู้ทดสอบ

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid male	8	5.7	40.0	40.0
female	12	8.6	60.0	100.0
Total	20	14.3	100.0	

ตัวอย่างโยเกิร์ต

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Control	20	14.3	14.3	14.3
	Corn	20	14.3	14.3	28.6
	ทับทิม	20	14.3	14.3	42.9
	มะขามเทศ	20	14.3	14.3	57.1
	ตะขบ	20	14.3	14.3	71.4
	แอปเปิ้ลฟูจิ	20	14.3	14.3	85.7
	ชมพูทับทิมจันทร์	20	14.3	14.3	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

10.1 ความชอบด้านลักษณะที่ปรากฏ

Statistics

	ความชอบด้าน ลักษณะที่ปรากฏ	ความชอบ ด้านสี	ความชอบ ด้านกลิ่น	ความชอบด้าน ความเปรี้ยว	ความชอบด้าน ความหวาน	ความชอบ โดยรวม
Mean	6.08	6.08	6.05	5.99	4.55	3.76
Std. Error of Mean	0.143	0.143	0.152	0.121	0.172	0.154
Median	6.00	6.00	6.00	6.00	4.00	3.00
Mode	7	7	8	5	4	3
Std. Deviation	1.611	1.611	1.738	1.401	2.018	1.826
Variance	2.597	2.597	3.020	1.963	4.073	3.333
Range	7	7	6	6	7	7
Minimum	1	1	2	2	1	1
Maximum	8	8	8	8	8	8
Sum	772	772	793	809	623	527

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	17	6.94	.899	.218	6.48	7.40	5	8
Corn	17	7.12	.928	.225	6.64	7.59	5	8
ทับทิม	19	5.37	1.739	.399	4.53	6.21	3	8
มะขามเทศ	18	6.06	1.259	.297	5.43	6.68	3	8
ตะขบ	20	5.40	1.984	.444	4.47	6.33	1	8
แอปเปิ้ลฟูจิ	17	6.59	1.176	.285	5.98	7.19	4	8
ชมพู่ทับทิมจันทร์	19	5.37	1.802	.413	4.50	6.24	2	8
Total	127	6.08	1.611	.143	5.80	6.36	1	8

ANOVA

ความชอบด้านลักษณะที่ปรากฏ	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63.803	6	10.634	4.844	0.000
Within Groups	263.410	120	2.195		
Total	327.213	126			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^{a,b} ทั้บหีม	19	5.37		
ชมพู่ทั้บหีมจันท์	19	5.37		
ตะขบ	20	5.40		
มะขามเทศ	18	6.06	6.06	
แอปเปิ้ลฟูจิ	17		6.59	6.59
Control	17		6.94	6.94
Corn	17			7.12
Sig.		0.209	0.092	0.316

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.074

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

10.2 ความชอบด้านสี

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	18	7.06	1.211	.286	6.45	7.66	5	8
Corn	19	7.05	1.268	.291	6.44	7.66	5	8
ทั้บหีม	19	5.05	1.649	.378	4.26	5.85	2	8
มะขามเทศ	17	5.88	1.654	.401	5.03	6.73	3	8
ตะขบ	20	5.55	2.038	.456	4.60	6.50	2	8
แอปเปิ้ลฟูจิ	19	6.79	1.228	.282	6.20	7.38	4	8
ชมพู่ทั้บหีมจันท์	19	5.05	1.649	.378	4.26	5.85	2	8
Total	131	6.05	1.738	.152	5.75	6.35	2	8

ANOVA

ความชอบด้านสี	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	90.967	6	15.161	6.232	0.000
Within Groups	301.659	124	2.433		
Total	392.626	130			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^{ab} ทับทิม	19	5.05		
ชมพู่ทับทิมจันทร์	19	5.05		
ตะขบ	20	5.55		
มะขามเทศ	17	5.88	5.88	
แอปเปิ้ลฟูจิ	19		6.79	6.79
Corn	19			7.05
Control	18			7.06
Sig.		0.142	0.078	0.627

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.671

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is

used. Type I error levels are not guaranteed

10.3 ความชอบด้านกลิ่น

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	18	6.22	1.166	.275	5.64	6.80	5	8
Corn	19	6.42	1.071	.246	5.91	6.94	5	8
ทับทิม	19	6.21	1.437	.330	5.52	6.90	3	8
มะขามเทศ	19	5.37	1.383	.317	4.70	6.03	2	8
ตะขบ	20	5.60	1.903	.426	4.71	6.49	2	8
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	6.35	1.268	.284	5.76	6.94	3	8
ชมพูทับทิมจันทร์	20	5.80	1.240	.277	5.22	6.38	4	8
Total	135	5.99	1.401	.121	5.75	6.23	2	8

ANOVA

ความชอบด้านกลิ่น	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.121	6	3.187	1.673	0.133
Within Groups	243.872	128	1.905		
Total	262.993	134			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^{a,b} มะขามเทศ	19	5.37	
ตะขบ	20	5.60	5.60
ชมพู่ทับทิมจันทร์	20	5.80	5.80
ทับทิม	19	6.21	6.21
Control	18	6.22	6.22
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	6.35	6.35
Corn	19		6.42
Sig.		0.054	0.110

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19.260

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed

10.4 ความชอบด้านความเปรี้ยว

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	18	6.22	1.166	.275	5.64	6.80	5	8
Corn	19	6.42	1.071	.246	5.91	6.94	5	8
ทับทิม	19	6.21	1.437	.330	5.52	6.90	3	8
มะขามเทศ	19	5.37	1.383	.317	4.70	6.03	2	8
ตะขบ	20	5.60	1.903	.426	4.71	6.49	2	8
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	6.35	1.268	.284	5.76	6.94	3	8
ชมพู่ทับทิมจันทร์	20	5.80	1.240	.277	5.22	6.38	4	8
Total	135	5.99	1.401	.121	5.75	6.23	2	8

ANOVA

ความชอบด้านความเปรี้ยว	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.673	6	3.112	0.756	0.606
Within Groups	535.268	130	4.117		
Total	553.942	136			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Duncan ^{ab} Control	19	3.89	
ตะขบ	20	4.30	
มะขามเทศ	20	4.35	
Corn	19	4.58	
ชมพูทับทิมจันทร์	20	4.70	
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	4.95	
ทับทิม	19	5.05	
Sig.		0.128	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19.559

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group

sizes is used. Type I error levels are not guaranteed

10.5 ความชอบด้านความหวาน

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	20	3.40	1.729	.387	2.59	4.21	1	8
Corn	20	3.75	2.197	.491	2.72	4.78	1	8
ทับทิม	20	4.05	2.012	.450	3.11	4.99	1	8
มะขามเทศ	20	3.65	1.872	.418	2.77	4.53	1	7
ตะขบ	20	3.45	1.572	.352	2.71	4.19	1	7
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	4.00	1.864	.417	3.13	4.87	1	7
ชมพู่ทับทิมจันทร์	20	4.05	1.605	.359	3.30	4.80	1	7
Total	140	3.76	1.826	.154	3.46	4.07	1	8

ANOVA

ความชอบด้านความหวาน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.271	6	1.545	0.453	0.842
Within Groups	453.950	133	3.413		
Total	463.221	139			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Duncan ^a Control	20	3.40	
ตะขบ	20	3.45	
มะขามเทศ	20	3.65	
Corn	20	3.75	
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	4.00	
ทับทิม	20	4.05	
ชมพูทับทิมจันทร์	20	4.05	
Sig.		0.348	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed

10.6 ความชอบโดยรวม

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	19	5.00	1.886	.433	4.09	5.91	3	8
Corn	20	5.40	2.062	.461	4.43	6.37	3	8
ทับทิม	20	5.00	1.892	.423	4.11	5.89	2	8
มะขามเทศ	20	5.15	1.725	.386	4.34	5.96	3	8
ตะขบ	20	4.80	1.735	.388	3.99	5.61	2	8
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	5.05	1.731	.387	4.24	5.86	3	8
ชมพูทับทิมจันทร์	20	5.40	1.501	.336	4.70	6.10	3	8
Total	139	5.12	1.770	.150	4.82	5.41	2	8

ANOVA

ความชอบโดยรวม	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.858	6	0.976	0.302	0.935
Within Groups	426.300	132	3.230		
Total	432.158	138			

Homogeneous Subsets

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Duncan ^a ตะขบ	20	4.80
Control	19	5.00
ทับทิม	20	5.00
แอปเปิ้ลฟูจิ	20	5.05
มะขามเทศ	20	5.15
Corn	20	5.40
ชมพูทับทิมจันทร์	20	5.40
Sig.		0.375

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19.851

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed

ภาคผนวก จ

การศึกษาผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้
ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก

1. ผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดโดยการผลิตโยเกิร์ต

ตารางที่ 1 (จ) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	1.91×10^6	2.68×10^8	6.06×10^7
ข้าวโพด	2.34×10^6	1.82×10^8	1.02×10^8
ทับทิม	3.94×10^6	1.98×10^8	2.33×10^8
มะขามเทศ	2.03×10^6	1.41×10^8	1.12×10^8
ตะขบ	1.75×10^6	1.21×10^8	1.14×10^8
แอปเปิ้ลฟูจิ	2.89×10^6	1.67×10^8	2.80×10^8
ชมพูทับทิมจันทร์	2.11×10^6	1.09×10^8	6.37×10^7

ตารางที่ 2 (จ) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	2.25×10^6	2.41×10^8	6.06×10^7
ข้าวโพด	2.83×10^6	1.87×10^8	1.17×10^8
ทับทิม	3.85×10^6	2.14×10^8	2.30×10^8
มะขามเทศ	2.09×10^6	1.27×10^8	1.26×10^8
ตะขบ	1.98×10^6	1.41×10^8	1.15×10^8
แอปเปิ้ลฟูจิ	2.88×10^6	1.75×10^8	2.71×10^8
ชมพูทับทิมจันทร์	1.98×10^6	1.41×10^8	6.49×10^7

ตารางที่ 3 (จ) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	2.28×10^6	2.36×10^8	5.86×10^7
ข้าวโพด	2.91×10^6	2.61×10^8	1.18×10^8
ทับทิม	4.09×10^6	2.19×10^8	2.35×10^8
มะขามเทศ	1.91×10^6	1.27×10^8	1.45×10^8
ตะขบ	1.99×10^6	1.72×10^8	1.44×10^8
แอปเปิ้ลฟูจิ	3.09×10^6	1.70×10^8	2.84×10^8
ชมพูทับทิมจันทร์	2.08×10^6	1.14×10^8	7.86×10^7

ตารางที่ 4 (จ) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU ต่อกรัม)±SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	$2.14 \times 10^6 \pm 0.18$	$2.48 \times 10^8 \pm 0.16$	$5.99 \times 10^7 \pm 0.01$
ข้าวโพด	$2.69 \times 10^6 \pm 0.31$	$2.10 \times 10^8 \pm 0.04$	$1.12 \times 10^8 \pm 0.08$
ทับทิม	$3.96 \times 10^6 \pm 0.06$	$2.10 \times 10^8 \pm 0.09$	$2.32 \times 10^8 \pm 0.03$
มะขามเทศ	$2.01 \times 10^6 \pm 0.05$	$1.31 \times 10^8 \pm 0.07$	$1.27 \times 10^8 \pm 0.08$
ตะขบ	$1.90 \times 10^6 \pm 0.13$	$1.44 \times 10^8 \pm 0.15$	$1.24 \times 10^8 \pm 0.01$
แอปเปิ้ลฟูจิ	$2.95 \times 10^6 \pm 0.02$	$1.70 \times 10^8 \pm 0.12$	$2.78 \times 10^8 \pm 0.04$
ชมพูทับทิมจันทร์	$2.05 \times 10^6 \pm 0.08$	$1.21 \times 10^8 \pm 0.19$	$6.90 \times 10^7 \pm 0.09$

ตารางที่ 5 (จ) ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (log(CFU ต่อกรัม))±SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	8.33 ± 0.09	8.4 ± 0.03	7.77 ± 0.00
ข้าวโพด	8.43 ± 0.05	8.32 ± 0.09	8.05 ± 0.03
ทับทิม	6.59 ± 0.01	8.32 ± 0.03	8.36 ± 0.01
มะขามเทศ	6.3 ± 0.02	8.12 ± 0.03	8.1 ± 0.05
ตะขบ	6.28 ± 0.03	8.16 ± 0.08	8.1 ± 0.06
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.47 ± 0.02	8.23 ± 0.01	8.44 ± 0.01
ชมพูทับทิมจันทร์	6.31 ± 0.02	8.08 ± 0.06	7.84 ± 0.05

2. ผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่คัดเลือกระหว่างการหมัก

ตารางที่ 6 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นต่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	6.17	3.82	3.81
ข้าวโพด	6.21	3.95	3.59
ทับทิม	6.04	3.91	3.51
มะขามเทศ	5.97	4.03	3.59
ตะขบ	5.99	4.01	3.67
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.08	3.96	3.47
ชมพู่ทับทิมจันทร์	6.19	4.07	3.78

ตารางที่ 7 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นต่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	6.16	3.89	3.78
ข้าวโพด	6.22	3.92	3.62
ทับทิม	5.99	3.93	3.52
มะขามเทศ	5.95	4.05	3.56
ตะขบ	6.01	4.03	3.65
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.1	4.01	3.48
ชมพู่ทับทิมจันทร์	6.17	4.04	3.76

ตารางที่ 8 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นต่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณความเป็นกรด-ต่าง (pH)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	6.18	3.83	3.8
ข้าวโพด	6.23	3.95	3.61
ทับทิม	6.01	3.96	3.53
มะขามเทศ	5.98	4.02	3.55
ตะขบ	5.97	4.04	3.68
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.04	3.91	3.43
ชมพู่ทับทิมจันทร์	6.22	4.03	3.74

ตารางที่ 9 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นต่างของ
โยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณความเป็นกรด-ต่าง (pH) \pm SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	6.17 \pm 0.01	3.85 \pm 0.03	3.80 \pm 0.01
ข้าวโพด	6.22 \pm 0.01	3.94 \pm 0.01	3.61 \pm 0.01
ทับทิม	6.01 \pm 0.02	3.93 \pm 0.02	3.52 \pm 0.01
มะขามเทศ	5.97 \pm 0.01	4.03 \pm 0.01	3.57 \pm 0.02
ตะขบ	5.99 \pm 0.02	4.03 \pm 0.01	3.67 \pm 0.01
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.07 \pm 0.03	3.96 \pm 0.05	3.46 \pm 0.02
ชมพูทับทิมจันทร์	6.19 \pm 0.02	4.05 \pm 0.02	3.76 \pm 0.02

ตารางที่ 10 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดของ
โยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 1)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	0.18	1.71	1.98
ข้าวโพด	0.18	1.35	2.07
ทับทิม	0.27	1.53	2.43
มะขามเทศ	0.18	1.35	2.25
ตะขบ	0.18	1.26	2.25
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.27	1.53	2.70
ชมพูทับทิมจันทร์	0.18	1.35	1.98

ตารางที่ 11 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดของ
โยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 2)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	0.27	1.62	1.89
ข้าวโพด	0.18	1.53	3.06
ทับทิม	0.27	1.71	2.52
มะขามเทศ	0.09	1.26	2.34
ตะขบ	0.09	1.17	2.43
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.18	1.44	2.79
ชมพูทับทิมจันทร์	0.09	1.35	1.98

ตารางที่ 12 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ซ้ำที่ 3)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	0.09	1.53	2.07
ข้าวโพด	0.18	1.62	1.89
ทับทิม	0.36	1.44	2.61
มะขามเทศ	0.09	1.35	2.43
ตะขบ	0.09	1.26	2.25
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.36	1.35	2.88
ชมพูทับทิมจันทร์	0.18	1.26	1.89

ตารางที่ 13 (จ) ผลของการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 3 ซ้ำ)

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปร้อยละของกรดแลคติก)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	0.18±0.09	1.62±0.09	1.98±0.09
ข้าวโพด	0.18±0.00	1.50±0.13	2.34±0.63
ทับทิม	0.3±0.05	1.56±0.13	2.52±0.09
มะขามเทศ	0.12±0.05	1.32±0.05	2.34±0.09
ตะขบ	0.12±0.05	1.23±0.05	2.31±0.10
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.27±0.09	1.44±0.09	2.79±0.09
ชมพูทับทิมจันทร์	0.15±0.05	1.32±0.05	1.95±0.05

ภาคผนวก ฉ

แบบประเมินความพึงพอใจของโยเกิร์ต

แบบประเมินความพึงพอใจของโยเกิร์ต

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำชี้แจง : แบบประเมินนี้เป็นการเก็บข้อมูลความพึงพอใจของนักศึกษา บุคลากร และอาจารย์ ที่มีต่อโยเกิร์ต ทั้งนี้เพื่อนำคะแนนความพึงพอใจที่ได้ไปปรับปรุงสูตรและรสชาติให้มีความเหมาะสมเป็นที่ชื่นชอบและเป็นที่ยอมรับในกลุ่มผู้บริโภค

ตอนที่ 1 : การทดสอบโดยการใช้คะแนนและสเกล (Scoring and Scaling) แบบ 9 point hedonic scale ในด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่น ความเปรี้ยว ความหวาน และการยอมรับโดยรวม โดยมีระดับความพึงพอใจดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด

8 = ชอบมาก

7 = ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

5 = เฉยๆ

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	รหัสของผลิตภัณฑ์นมหมัก						
	1	2	3	4	5	6	7
ลักษณะปรากฏ							
สี							
กลิ่น							
ความเปรี้ยว							
ความหวาน							
ความชอบโดยรวม							

หมายเหตุ :

.....

.....

.....

.....

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

1. วิธีการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกและผลของ ผลไม้ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) จะทำการเจือจางสารสกัดด้วยสารละลายเมทานอล ที่มีความเข้มข้น 5 ระดับ ดังนี้ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นำสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้แต่ละชนิดของแต่ละความเข้มข้น หรือชุดควบคุมเชิงบวก BHT ปริมาตร 75 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย 2,2-diphenol-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 2,925 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด โดยทำการใช้สารละลายเมทานอลเป็น แบลงค์ (Blank) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตรด้วย เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) แล้วบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 นาที หลังจากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร แล้วบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 30 นาที

การทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015625 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH

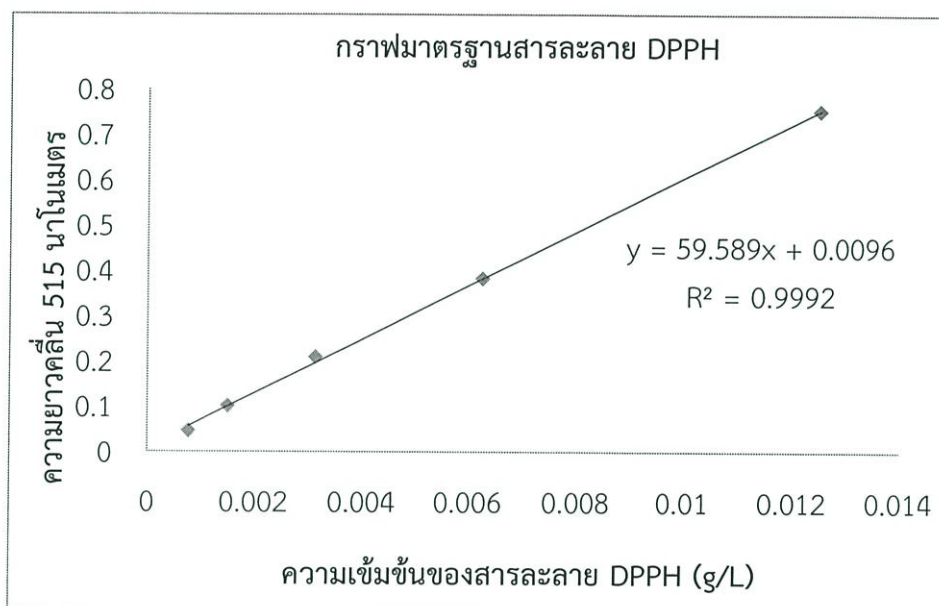
นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาทีและที่เวลา 30 นาที มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ ($\%DPPH'_{REM}$) จากปฏิกิริยาในแต่ละหลอดทดลอง (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ข้างต้น สามารถคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH จากสมการต่อไปนี้

$$\%DPPH'_{REM} = ([DPPH']_T / [DPPH']_{T=0}) \times 100$$

โดย $[DPPH']_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH' ที่เวลาใดๆ (30 นาที) และ $[DPPH']_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ของสารสกัดแต่ละชนิดที่เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้น DPPH (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา EC_{50} (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิด และหาค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

2.การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ (Brand-Wiliams และคณะ, 1995)

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical โดยใช้สารละลายมาตรฐาน DPPH โดยทำการเจือจางสารละลายมาตรฐาน DPPH ให้มีความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015625 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ DPPH ดังนี้



รูปที่ 1 (ข) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ในหน่วยกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (ซ้ำ 1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH โดยการหาความเข้มข้นของ 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

ตัวอย่าง 1 (ข) การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดจากเปลือกทับทิม มาแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน DPPH

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปลือกทับทิมที่เวลา 0 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร	ความเข้มข้น ของสารละลาย DPPH
1,000	0.419	0.00687
500	0.656	0.01085
100	0.778	0.01289
10	0.809	0.01342
1	0.818	0.01357

สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 0.419

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 59.589x + 0.0096$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.419 = 59.589x + 0.0096$$

$$x = \frac{0.419 - 0.0096}{59.589}$$

$$= 0.00687 \text{ มิลลิกรัม}$$

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปลือกทับทิมที่เวลา 30 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร	ความเข้มข้น ของสารละลาย DPPH
1,000	0.310	0.00504
500	0.629	0.01039
100	0.743	0.01231
10	0.790	0.0131
1	0.815	0.01352

สารสกัดจากเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 0.310

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 59.589x + 0.0096$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
แทนค่า $0.419 = 59.589x + 0.0096$

$$x = \frac{0.310 - 0.0096}{59.589}$$

$$= 0.00504 \text{ มิลลิกรัม}$$

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที สามารถคำนวณหาได้จากสูตร ดังนี้

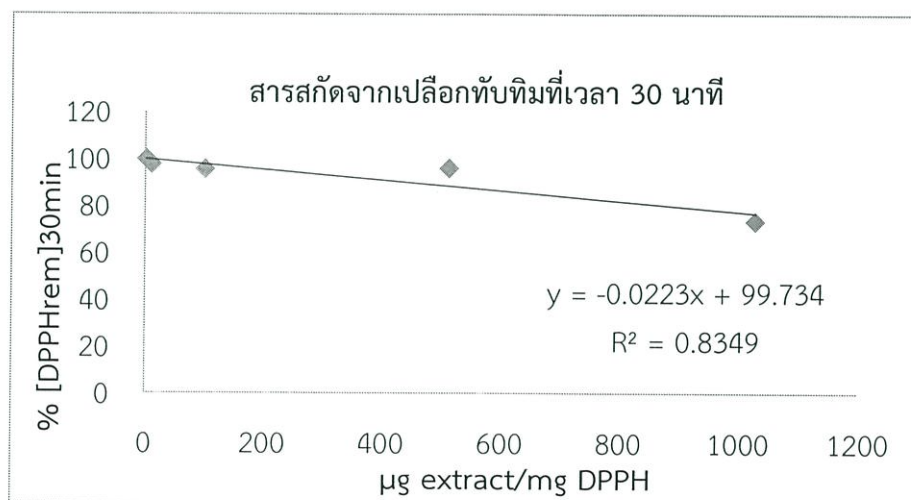
$$[\%DPPH'_{REM}] = ([DPPH']_T / [DPPH']_{T=0}) \times 100$$

ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH ($\mu\text{g extract/mg DPPH}$)	ความเข้มข้นของ DPPH
1025.641	73.376
512.8205	95.823
102.5641	95.455
10.2564	97.623
1.0256	99.629

$$[\%DPPH'_{REM}] = \frac{0.00504 \times 100}{0.00687}$$

$$= 73.376 \text{ มิลลิกรัม}$$

จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือที่เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ต่อความเข้มข้นของ DPPH เพื่อคำนวณหาค่า effective concentration (EC_{50}) และค่า antiradial efficiency (AE) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$ จากกราฟสมการเส้นตรง



รูปที่ 2 (ข) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือที่เวลา 30 นาที กับ อัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาดต่อความเข้มข้นของ DPPH (ข้อ 1)

การคำนวณหาค่า EC_{50} เท่ากับ 50

จากสมการเส้นตรงของกราฟค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่ 30 นาที

$$y = -0.0223x + 99.734$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า

$$x = \frac{50 - 99.734}{-0.0223}$$

$$= 2230.22 \mu\text{g extract/mg DPPH}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีความสามารถกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical มีค่า EC_{50} เท่ากับ 2230.22 ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

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

จากการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ทั้งหมด 14 ชนิดและผลตะขบ ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH โดยสารละลาย DPPH เมื่อละลายแล้วจะเป็นสารละลายสีม่วงที่มีอนุมูลและความเสถียรเมื่อละลายใน สารละลายเมทานอล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้ความเข้มของสารละลาย DPPH ลดลงจนเปลี่ยนสีไปเป็นสีเหลือง โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานคือบิวทิล ไฮดรอกซี โทลูอีน (Butylated hydroxyl toluene) หรือ BHT ซึ่งจะแสดงค่าในรูปของค่า effective concentration (EC_{50}) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระของสารละลาย DPPH โดยเริ่มต้นที่ร้อยละ 50 นั้นหมายถึงว่า ถ้าหากค่า EC_{50} ยังมีค่าต่ำแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นก็จะมีสูง จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่สามารถกำจัดอนุมูลของ DPPH ได้สูงที่สุดคือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2206.18 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 4.1) หรือมีค่า antiradical efficiency (AE) เท่ากับ 0.45×10^{-3} ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูลของ DPPH ได้ต่ำกว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} คือ 645.35 ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมะขามเทศ และตะขบ ซึ่งมีค่า EC_{50} คือ 2,789.62 และ 9,585.56 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ในช่วงปานกลาง ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ส้มแมนดาริน กล้วยหอม องุ่นแดง นอก พักข้าว และชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 10,447.65 ถึง 25,686.11 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกสัปรดศรีราชา มะละกอสุก ส้มโอ และทุเรียนหมอนทอง ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 28,837.35 ถึง 45,064.53 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ต่ำมาก ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกลูกพลับ และแก้วมังกรแดง ซึ่งมีค่า EC_{50} คือ 61,805.84 และ 97,205.00 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ตามลำดับ (ตารางที่ 1 (ข.))

ตารางที่ 1 (ช.) ผลของความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

ตัวอย่างสารสกัด	Antioxidant activity ^a	
	DPPH assay	
	EC ₅₀ (µg extract / mg DPPH) ± SD	AE (10 ⁻³) ± SD
สับปะรดศรีราชา	28,837.35 ± 0.00	0.03 ± 0.00
ส้มแมนดาริน	11,117.79 ± 0.00	0.09 ± 0.00
ส้มโอ	34,881.91 ± 1.61	0.03 ± 0.00
ทับทิม	2,206.18 ± 0.94	0.45 ± 0.00
องุ่นแดงนอก	20,302.71 ± 0.42	0.05 ± 0.00
ฟักข้าว	25,432.19 ± 2.60	0.04 ± 0.00
แก้วมังกรแดง	97,205.00 ± 1.73	0.01 ± 0.00
มะขามเทศ	2,789.62 ± 0.00	0.39 ± 0.00
ลูกพลับ	61,805.84 ± 2.36	0.02 ± 0.00
ทุเรียนหมอนทอง	45,064.53 ± 0.81	0.02 ± 0.00
กล้วยหอม	16,213.00 ± 0.00	0.06 ± 0.00
ตะขบ	9,585.56 ± 0.15	0.11 ± 0.00
แอปเปิ้ลฟูจิ	10,447.65 ± 0.00	0.10 ± 0.00
มะละกอสุก	28,844.41 ± 1.84	0.03 ± 0.00
ชมพูทับทิมจันทร์	25,686.11 ± 0.00	0.04 ± 0.00
BHT	645.35 ± 0.03	1.55 ± 0.00

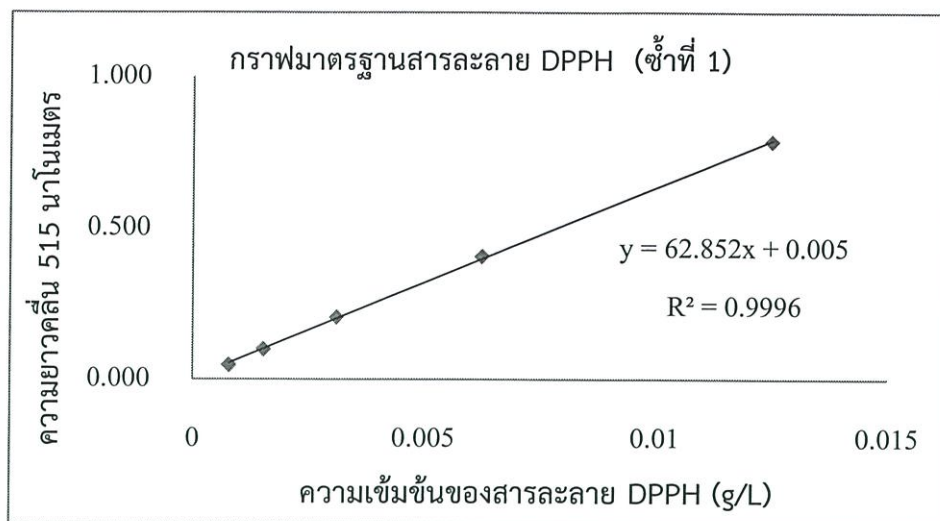
^a คือผลการทดลอง 3 ซ้ำ

4. วิธีการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) ทำได้โดยการชั่งโยเกิร์ตปริมาณ 1 กรัม ทำการเจือจางสารสกัดด้วยสารละลายเมทานอลปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วทำการทดลองตามวิธีการ ข้อ 1 (ภาคผนวก ช.)

5. การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ (Brand-Williams และคณะ, 1995)

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical โดยใช้สารละลายมาตรฐาน DPPH โดยทำการเจือจางสารละลายมาตรฐาน DPPH ให้มีความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และความเข้มข้นของ DPPH ดังนี้



รูปที่ 3 (ข) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ในหน่วยกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (ซ้ำที่ 1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH โดยการหาความเข้มข้นของ 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

ตัวอย่างที่ 2 การคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของผลิตภัณฑ์นมหมักเปลือกทับทิม มาแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน DPPH

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปลือกทับทิมที่เวลา 0 นาที มีค่าการดูดแสงที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร	เปลือกทับทิมที่เวลา 30 นาที มีค่าการดูดแสงที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
1000	0.612	0.377
500	0.694	0.509
100	0.760	0.714
10	0.776	0.765
1	0.779	0.775

สำหรับการคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมยังไม่ทราบแน่ชัด เนื่องจากความเข้มข้นของโยเกิร์ตมีค่ามากกว่าสารสกัด 100 เท่า

6. ผลของความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ลงไปนั้น ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งเปลือกผลไม้ลงไปมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดีกว่าชุดควบคุม ซึ่งโยเกิร์ตที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีที่สุด คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 1,254.30 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 2 (ช.)) ส่วนโยเกิร์ตที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างสูง คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 5,124.77 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และโยเกิร์ตที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างน้อย ได้แก่ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งเปลือกมะขามเทศ ตะขบ และชมพูทับทิมจันทร์ ซึ่งมีค่า EC₅₀ คือ 13,401.62, 17,560.68 และ 18,952.53 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ตามลำดับ

ตารางที่ 2 (ช.) ผลของความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

ชุดของโยเกิร์ต	Antioxidant activity ^a	
	DPPH assay	
	EC ₅₀ (µg extract / mg DPPH) ± SD	AE (10 ⁻³) ± SD
ชุดควบคุม ^x	19,683.00 ± 0.00	0.05 ± 0.00
ข้าวโพด ^y	4,399.72 ± 0.11	0.23 ± 0.00
ทับทิม	1,254.30 ± 0.05	0.80 ± 0.00
มะขามเทศ	13,401.62 ± 0.39	0.07 ± 0.00
ตะขบ	17,560.68 ± 0.21	0.06 ± 0.00
แอปเปิ้ลฟูจิ	5,124.77 ± 0.17	0.20 ± 0.00
ชมพูทับทิมจันทร์	18,952.53 ± 0.23	0.05 ± 0.00

^a คือผลการทดลอง 3 ซ้ำ

^x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

^y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

ภาคผนวก ข

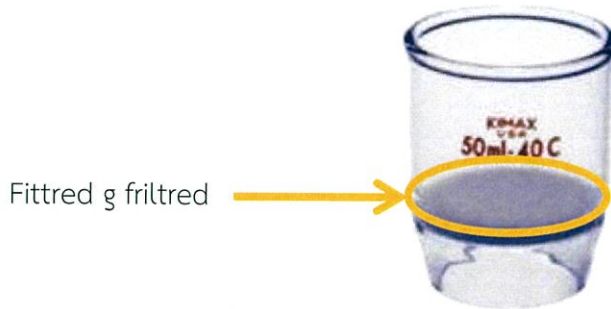
การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber)

1. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมดในผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ (Total dietary fiber)

การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber) ทำตามวิธีการของ AOAC (2006) โดยทำการชั่งตัวอย่างที่จะวิเคราะห์มา 2 ส่วน ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร จำนวน 2 ใบ ใบละ 1 กรัม และทำการเตรียมบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตรมาอีก 2 ใบ โดยไม่ใส่ตัวอย่างสำหรับการหาเบลนค์ (Blank) จากนั้นนำบีกเกอร์ทั้ง 4 ใบมาทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์แต่ละใบ แล้วนำไปวัดค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.0 ± 0.2 แล้วเติมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทนความร้อน (heat-stable α -amylase, from *Bacillus licheniformis*, A3306-10ml, sigma Aldrich, Germany) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์ แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ทำการเขย่าเบาๆทุก 5 นาที จากนั้นนำสารละลายมาตั้งทิ้งให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 7.5 ± 0.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.275 โมลาร์ แล้วเติมเอนไซม์โปรติเอส (Protease, from *Bacillus licheniformis*, P5459-56, sigma Aldrich, Germany) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์ แล้วนำไปต้มพร้อมกวนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาทำสารละลายให้เย็นลงแล้วปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 4.0 ถึง 4.6 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.375 โมลาร์ จากนั้นเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase, from *Aspergillus niger*, A7095-50ml, sigma Aldrich, Germany) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร นำไปต้มพร้อมกวนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งสารละลายให้เย็นแล้วทำการเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 280 มิลลิลิตร นำสารละลายไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นตั้งบีกเกอร์ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงเทตะกอนลงใน crucible ที่ได้เตรียมไว้ (การเตรียม crucible ทำตามวิธีการดังนี้ นำ crucible ไปแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที ทำให้แห้งแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นเติม สารช่วยกรอง (celite, 22140-1KG-F, sigma Aldrich, Germany) ปริมาณ 0.5 กรัม ลงใน crucible แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนักเปล่าของ crucible crucible รวมกับ celite(mg) ก่อนนำ crucible มาใช้ ต้องทำให้ celite ติดกับ fritted glass (รูปที่ 1 (ข)) ด้วยการทำให้ celite เปียกด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 ทำการกรองตะกอนลงใน crucible โดยใช้เครื่อง suction เพื่อให้เกิดการกรองที่สมบูรณ์ จากนั้นล้างตะกอนที่ตกค้างในบีกเกอร์ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง แล้วล้างต่อด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง ครั้งสุดท้ายล้างด้วยอะซิโตน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง นำ crucible ที่ผ่านการกรองมาชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกเป็นค่า จากนั้นนำ crucible ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 1 คีน แล้วชั่งน้ำหนักหลังอบ นำน้ำหนักหลังอบที่ได้ไปลบออกด้วยน้ำหนัก crucible เปลาที่เติม celite จะได้ค่าน้ำหนักของสิ่งที่ตกค้าง (Z_B สำหรับ Blank และ Z สำหรับ ตัวอย่าง) จากนั้นนำสารตกค้างใน crucible ใบแรกที่ใส่ตัวอย่าง และ ใบแรก สำหรับแบลงค์ มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl



รูปที่ 1 (ข) ครุซิบิลแก้วที่ใช้ในการหา total dietary fiber
ที่มา : <http://www.capitolscientific.com> (วันที่ 25 พฤษภาคม 2559)

สำหรับสารตกค้างที่อยู่ใน crucible ใบที่สองที่ใส่ตัวอย่าง และ crucible ใบที่สองสำหรับแบลงค์ ไปเผาในเตาเผาความร้อนสูง (muffle furnace, humanlab รุ่น DMF-05, 1200c 4.5 ลิตร, Korea) ที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในเดสิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก นำน้ำหนักที่ได้ไปหักลบกับน้ำหนักของ crucible และ celite ก่อนเผา จะได้น้ำหนักของเถ้า (A_B สำหรับ Blank และ A สำหรับตัวอย่าง)

การคำนวณหา Determination of Blank โดยสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Blank} = Z_B - P_B - A_B$$

เมื่อ Z_B = น้ำหนักของสิ่งตกค้างของแบลงค์ (มิลลิกรัม)

P_B = ปริมาณโปรตีนของแบลงค์ (ร้อยละ)

A_B = น้ำหนักเถ้าของแบลงค์ (มิลลิกรัม)

B = แบลงค์ (มิลลิกรัม)

สำหรับการคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (Total dietary fiber) ตามวิธีของ AOAC (2006) ตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{ใยอาหารทั้งหมด} = \frac{Z - P - A - \text{Blank}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์}} \times 100$$

2. การคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดในผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ก) การวิเคราะห์หาน้ำหนักสิ่งตกค้างหลังผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

ทำการวิเคราะห์หาใยอาหารโดยการนำสารสกัดมาย่อยด้วยเอนไซม์ termamyl (heat-stable α -amylase, from *Bacillus licheniformis*, A3306-10ml, Sigma Aldrich, Germany) เอนไซม์โปรติเอส (Protease, from *Bacillus licheniformis*, P5459-56, Sigma Aldrich, Germany) และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase, form *Aspergillus niger*,

A7095-50ml, Sigma Aldrich, Germany) และใช้สารละลายเอทานอลเพื่อช่วยในการตกตะกอนกรองเพื่อทราบน้ำหนักแล้วคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้าง

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุซีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ

ตัวอย่างที่ 1 การคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้างของตัวอย่างผงแห้งจากเปลือกทับทิม (Z) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ตัวอย่างผงแห้ง	น้ำหนักครุซีเบลก่อนอบ (mg)	น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)
ทับทิม	113,985	101,840

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุซีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ

จะได้ น้ำหนักสิ่งตกค้างของตัวอย่างผงแห้งจากเปลือกทับทิม = 113,985-101,840
= 12,145 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น น้ำหนักสิ่งตกค้างของตัวอย่างผงแห้งจากเปลือกทับทิม เท่ากับ 12,145 มิลลิกรัม

ตัวอย่างที่ 2 การคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ (Z_B) ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ตัวอย่าง	น้ำหนักครุซีเบลก่อนอบ (mg)	น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)
แบลงค์	100,932	100,886

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุซีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ

จะได้ น้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ = 100,932 – 100,886
= 46 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น น้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ (Z_B) เท่ากับ 46 มิลลิกรัม

ข) การคำนวณหาปริมาณเถ้าหลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียสของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

หลังจากนำสิ่งที่กรองได้ไปอบแห้งแล้วชั่งน้ำหนักจะได้น้ำหนักของสิ่งตกค้าง จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้วส่วนหนึ่งไปเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จะได้เถ้า นำเถ้าที่ได้ไปชั่งน้ำหนักแล้วหักลบกับน้ำหนักหลังอบ จะได้น้ำหนักเถ้าของตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ 3 การคำนวณหาปริมาณเถ้าของตัวอย่าง (A) หลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างผงแห้ง	น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)	น้ำหนักหลังเผา 525 °C (mg)
ทับทิม	101,840	100,663

จากสูตร ปริมาณเถ้า = น้ำหนักครุซีเบลหลังอบ – น้ำหนักครุซีเบลหลังเผาที่ 525 องศาเซลเซียส

$$\begin{aligned} \text{จะได้ ปริมาณเถ้าของตัวอย่างเปลือกหับทิม (A)} &= 101,840 - 100,663 \\ &= 1,177 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น จะได้ปริมาณเถ้าของตัวอย่างเท่ากับ 1,177 มิลลิกรัม

ตัวอย่างที่ 4 การคำนวณหาปริมาณเถ้าของแบลงค์ (A_B) หลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)	น้ำหนักหลังเผา 525 °C (mg)
แบลงค์	100,886	100,876

จากสูตร ปริมาณเถ้า = น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ - น้ำหนักครุชชีเบลหลังเผาที่ 525 องศาเซลเซียส

$$\begin{aligned} \text{จะได้ ปริมาณเถ้าของตัวอย่างเปลือกหับทิม (A}_B) &= 101,886 - 100,876 \\ &= 10 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น จะได้ปริมาณเถ้าของแบลงค์ (A_B) เท่ากับ 10 มิลลิกรัม

ค) การหาปริมาณโปรตีนของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้โดยวิธี Kjeldahl

ทำการวิเคราะห์หาโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl โดยทำการกลั่นใน Kjeldahl digestion flask ทำการกลั่นเก็บแอมโมเนียในกรดบอริกความเข้มข้น 2% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จดปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ไป เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนของตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ 5 การคำนวณหาปริมาณโปรตีนของผงแห้งจากเปลือกหับทิม (P) ทำการไตเตรทสารละลายของตัวอย่างเปลือกหับทิมที่กลั่นได้ ใช้ปริมาณกรดซัลฟูริกไป 0.2 มิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร} \quad \%N = \frac{(\text{ปริมาณกรดที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้นของกรด}) \times 1.4}{\text{น้ำหนักของสารสกัด}}$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad \%N &= \frac{(0.2 \times 0.1) \times 1.4}{0.5} \\ &= 0.056 \end{aligned}$$

$$\% \text{protein} = \%N \times \text{conversion factor}$$

$$= 0.056 \times 6.25 = 0.35$$

เพราะฉะนั้น จากการหาปริมาณโปรตีนของผงแห้งจากเปลือกหับทิม จะได้ปริมาณโปรตีน (P) ของสารสกัดเปลือกหับทิมเท่ากับ 0.35 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างที่ 6 การคำนวณหาปริมาณโปรตีนของแบลงค์ (P_B) ทำการไตเตรทสารละลายของแบลงค์ได้ ใช้ปริมาณกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอลไป 0.02 มิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร} \quad \%N = \frac{(\text{ปริมาณกรดที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้นของกรด}) \times 1.4}{\text{น้ำหนักของสารสกัด}}$$

จะได้

$$\begin{aligned} \%N &= \frac{(0.02 \times 0.1) \times 1.4}{0.5} \\ &= 0.003 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%protein &= \%N \times \text{conversion factor} \\ &= 0.003 \times 6.25 \\ &= 0.018 \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น จากการหาปริมาณโปรตีนของแบลงค์จะได้ปริมาณโปรตีน (P_B) ของสารสกัด เปลือกทับทิมเท่ากับ 0.018 เปอร์เซ็นต์

ง) การคำนวณหาแบลงค์ (Blank) ที่ใช้ในการหาใยอาหารทั้งหมด ตัวอย่างที่ 7 การคำนวณหาแบลงค์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด คำนวณได้จาก

สูตร Blank = น้ำหนักสิ่งตกค้างของ Blank - น้ำหนักเถ้าของ Blank - Protein ของ Blank

จากสูตร Blank = น้ำหนักสิ่งตกค้างของ Blank - น้ำหนักเถ้าของ Blank - Protein ของ Blank
(ตัวอย่างที่ 8.2) - (ตัวอย่างที่ 9.2) - (ตัวอย่างที่ 10.2)

$$\text{Blank} = 46 - 10 - 0.018 = 35.982$$

จะได้ Blank เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด เท่ากับ 0.022

จ) การคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดของผงแห้งจากเปลือกผลไม้ (total dietary fiber) สามารถคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดได้จากสูตร

$$\text{total dietary fiber} = \frac{[(\text{น้ำหนักสิ่งตกค้าง} - \text{น้ำหนักเถ้า} - \text{โปรตีน-Blank}) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 100}{100}$$

ตัวอย่างที่ 8 การคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) ของผงแห้งจากเปลือกทับทิม จากสูตร

$$\text{total dietary fiber} = \frac{[(\text{น้ำหนักสิ่งตกค้าง} - \text{น้ำหนักเถ้า} - \text{โปรตีน-Blank}) \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 100}{(\text{ตัวอย่างที่ 8.1}) (\text{ตัวอย่างที่ 9.1}) (\text{ตัวอย่างที่ 10.1}) (\text{ตัวอย่างที่ 11.1})}$$

$$\text{ใยอาหารทั้งหมดของทับทิม (\%)} = \frac{[(12,145 - 1,177 - 0.35 - 35.982) / 2000] \times 100}{100} = 548.38$$

เพราะฉะนั้น ใยอาหารทั้งหมดของผงแห้งจากเปลือกทับทิม เท่ากับร้อยละ 548.38

3. ผลการหาปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดในผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดในผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกมะขามเทศ ทับทิม แอปเปิ้ลฟูจิ และชมพูทับทิมจันทร์ พบว่าผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดมากที่สุด คือ มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 676.62 (ตารางที่ 1) ส่วนผงแห้งที่มีปริมาณใยอาหารรองลงมา คือ ผงแห้งจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 548.38 ส่วนผงแห้งที่มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ ผงแห้งจากเปลือกชมพู

ทับทิมจันทร์ มะขามเทศ และผงแห้งจากผลตะขบ ซึ่งมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 184.36, 171.27, 300.57

ตารางที่ 1 (ช) ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ตัวอย่างผงแห้ง	ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (% total dietary fiber) ^a
ทับทิม	548.38
มะขามเทศ	184.36
ตะขบ	171.27
แอปเปิ้ลฟูจิ	676.62
ชมพูทับทิมจันทร์	300.57

^a คือผลการทดลองเฉลี่ย 3 ซ้ำ

สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดค่อนข้างสูง เช่นเดียวกับ Gorinstein และคณะ (2001) ได้รายงานไว้ในเปลือกแอปเปิ้ลมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับ 0.91 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด โดยมีใยอาหารประเภทที่ไม่ละลายน้ำเท่ากับ 0.46 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด และใยอาหารประเภทที่ละลายน้ำเท่ากับ 0.43 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด นอกจากนี้ยังพบว่าในเปลือกแอปเปิ้ลยังมีโปรแทนเนียมสูง โดยมีปริมาณโปรแทนเนียมเท่ากับ 107 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด และมีแร่ธาตุอื่นๆ เช่น โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม ธาตุเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ในปริมาณน้อย (มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.04 ถึง 12.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) สารประกอบฟีนอลิกชนิดหลักที่พบในเปลือกแอปเปิ้ล ได้แก่ epicatechin (1.1 mg), ferulic acid (14.9 mg), gallic acid (19.4), protocatechuic acid (8.7 mg), vanillic acid (0.8 mg) และ p-coumaric acid (53.1 mg) ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด นอกจากนี้ Bae และคณะ (2016) ได้ทำการผลิต fiber-enriched material จากเปลือกแอปเปิ้ลโดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้ นำเปลือกแอปเปิ้ล ปริมาณ 500 กรัม แช่ในน้ำกลั่นปริมาตร 5 ลิตรและนำไปกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 2,218 รอบ เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้งเพื่อขจัดสิ่งที่จะละลายน้ำได้ แล้วนำตะกอนที่ได้ไปเติมในน้ำกลั่น 5 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,218 รอบ เป็นเวลา 20 นาที นำสารตกค้างที่ได้ไปทำการแช่แข็งแห้ง (freeze-dried) แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารพบว่าปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 58.44 โดยมีปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำเท่ากับร้อยละ 51.68 และใยอาหารประเภทที่ละลายน้ำเท่ากับ 6.76 นอกจากนี้ Macagnan และคณะ (2015) ได้วิเคราะห์กากแอปเปิ้ล (apple pomace) พันธุ์ฟูจิที่ผ่านการแยกเอาน้ำออก พบว่าในกากแอปเปิ้ลมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 76.84 มีปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำเท่ากับ 57.87 และมีปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำเท่ากับร้อยละ 18.97 และจากการทดลองของ Condezo-Hoyos และคณะ (2014) พบว่าในเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 20.6 ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 7.1 กรัมของน้ำตาลกลูโคสต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้งที่ผ่านการแช่แข็งแห้ง และมีปริมาณ total extractable phenolics เท่ากับ 5.78 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง

ใยอาหารในแอปเปิ้ลรวมไปถึง เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ลิกนิน (lignin) และ เพคติน (pectin) (Yan & Ker, 2012) ส่วนสารประกอบฟีนอลิกที่พบในแอปเปิ้ล ได้แก่ flavan-3-ols, dihydrochalcone เช่น phloridzin, flavonols เช่น quercetin glycosides,

anthocyanidin เช่น cyanidin และ hydroxycinnamic acid เช่น chlorogenic acid (Karaman และคณะ, 2013) โยอาหารและสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกแอปเปิ้ลอาจช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก ดังรายงานการวิจัยของ Shinohana และคณะ (2010) ซึ่งได้พบว่า แบคทีเรีย *Bifidobacterium* และ *Enterococcus* มีจำนวนเพิ่มขึ้นในอุจจาระที่เติมเพคตินจากแอปเปิ้ล และมีจำนวนเพิ่มขึ้นในอุจจาระของผู้ใหญ่ที่สุขภาพดีหลังจากกินแอปเปิ้ลเข้าไป

4. การวิเคราะห์หาปริมาณโยอาหารทั้งหมดในโยเกิร์ต

การวิเคราะห์หาปริมาณโยอาหารทั้งหมด ทำตามวิธีการของ AOAC (2006) โดยทำตามวิธีการดังนี้ ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม แล้วทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีการข้อที่ 1

5. การคำนวณหาปริมาณโยอาหารทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ก) การวิเคราะห์หาน้ำหนักสิ่งตกค้างหลังผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้

ทำการวิเคราะห์หาโยอาหารโดยการนำโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมมาย่อยด้วยเอนไซม์ termamyl (α -amylase-heat stable) เอนไซม์โปรติเอส (protease) และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) และใช้สารละลายเอทานอลเพื่อช่วยในการตกตะกอน กรองเพื่อทราบน้ำหนักแล้วคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้าง(Z)

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุชชีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ

ตัวอย่างที่ 9 การคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้างของตัวอย่างโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ชุดของโยเกิร์ต	น้ำหนักครุชชีเบลก่อนอบ (mg)	น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)
ทับทิม	115,749	101,632

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุชชีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ

จะได้ น้ำหนักสิ่งตกค้างของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม = $115,749 - 101,632$
= 14,117 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น น้ำหนักสิ่งตกค้าง (Z) ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม เท่ากับ 14,117 มิลลิกรัม

ตัวอย่างที่ 10 การคำนวณหาน้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ตัวอย่าง	น้ำหนักครุชชีเบลก่อนอบ (mg)	น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)
แบลงค์	100,911	100,873

จากสูตร น้ำหนักสิ่งตกค้าง = น้ำหนักครุชชีเบลก่อนอบ-น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ

จะได้ น้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ = $100,911 - 100,873 = 38$ มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น น้ำหนักสิ่งตกค้างของแบลงค์ (Z_B) เท่ากับ 38 มิลลิกรัม

ข) การคำนวณหาปริมาณเถ้าหลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียสของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้

หลังจากนำสิ่งที่กรองได้ไปอบแห้งแล้วชั่งน้ำหนักจะได้น้ำหนักของสิ่งตกค้าง จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้วส่วนหนึ่งไปเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จะได้เถ้า นำเถ้าที่ได้ไปชั่งน้ำหนักแล้วหักลบกับน้ำหนักหลังอบ จะได้น้ำหนักเถ้าของตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ 11 การคำนวณหาปริมาณเถ้าหลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)	น้ำหนักหลังเผา 525 °C (mg)
ทับทิม	101,632	100,432

จากสูตร ปริมาณเถ้า = น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ - น้ำหนักครุชชีเบลหลังเผาที่ 525 องศาเซลเซียส
จะได้ ปริมาณเถ้าของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม = 101,632-100,432
= 1,200 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น จะได้ปริมาณเถ้าของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมเท่ากับ 1,200 มิลลิกรัม

ตัวอย่างที่ 12 การคำนวณหาปริมาณเถ้าหลังผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ 24 ชั่วโมง (mg)	น้ำหนักหลังเผา 525 °C (mg)
แบลงค์	100,873	100,869

จากสูตร ปริมาณเถ้า = น้ำหนักครุชชีเบลหลังอบ - น้ำหนักครุชชีเบลหลังเผาที่ 525 องศาเซลเซียส
จะได้ ปริมาณเถ้าของแบลงค์ = 100,873-100,869
= 4 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น จะได้ปริมาณเถ้าของแบลงค์ (A_B) เท่ากับ 4 มิลลิกรัม

ค) การหาปริมาณโปรตีนของตัวอย่างโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกผลไม้โดยวิธี Kjeldahl

ทำการวิเคราะห์หาโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl โดยทำการกลั่นใน Kjeldahl digestion flask ทำการกลั่นเก็บแอมโมเนียในกรดบอริกความเข้มข้น 2% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จดปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ไป เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนของตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ 13 การคำนวณหาปริมาณโปรตีนของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิม

ทำการไตเตรทสารละลายของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกทับทิมที่กลั่นได้ ใช้ปริมาตรกรดซัลฟูริกไป 0.5 มิลลิลิตร

จากสูตร ร้อยละของไนโตรเจน (%N) = $\frac{(\text{ปริมาณกรดที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้นของกรด}) \times 1.4}{\text{น้ำหนักของสารสกัด}}$

จะได้ ร้อยละของไนโตรเจน (%N) = $\frac{(0.5 \times 0.1) \times 1.4}{1}$

$$= 0.07$$

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละของโปรตีน\%protein} &= \text{ร้อยละของไนโตรเจน (\%N)} \times \text{conversion factor} \\ &= 0.07 \times 6.25 \\ &= 0.4375 \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น จากการหาปริมาณโปรตีนของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกหับทิมจะได้ปริมาณโปรตีนของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกหับทิมเท่ากับ 0.4375 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างที่ 14 การคำนวณหาปริมาณโปรตีนของแบลงค์ (P_B)

ทำการไตเตรทสารละลายของแบลงค์ที่กลั่นได้ ใช้ปริมาณกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอลไป 0.03 มิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร} \quad \text{ร้อยละของไนโตรเจน (\%N)} = \frac{(\text{ปริมาณกรดที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้นของกรด}) \times 1.4}{\text{น้ำหนักของสารสกัด}}$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad \text{ร้อยละของไนโตรเจน (\%N)} &= \frac{(0.03 \times 0.1) \times 1.4}{1} \\ &= 0.004 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละของโปรตีน\%protein} &= \text{ร้อยละของไนโตรเจน (\%N)} \times \text{conversion factor} \\ &= 0.004 \times 6.25 = 0.026 \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น จากการหาปริมาณโปรตีนของแบลงค์ (P_B) จะได้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.026 เปอร์เซ็นต์

ง) การคำนวณหาแบลงค์ (Blank) ที่ใช้ในการหาใยอาหารทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 15 การคำนวณหาแบลงค์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด คำนวณได้จากสูตร Blank = น้ำหนักสิ่งตกค้างของ Blank - น้ำหนักเถ้าของ Blank - Protein ของ Blank

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad \text{Blank} &= \text{น้ำหนักสิ่งตกค้างของ Blank} - \text{น้ำหนักเถ้าของ Blank} - \text{Protein ของ Blank} \\ & \quad (\text{ตัวอย่างที่ 17.2}) \quad - \quad (\text{ตัวอย่างที่ 18.2}) \quad - \quad (\text{ตัวอย่างที่ 19.2}) \\ &= 38-4-0.026 \\ &= 33.974 \end{aligned}$$

จะได้ Blank เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด เท่ากับ 33.974

จ) การคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ (total dietary fiber)

สามารถคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดได้จากสูตร

$$\text{total dietary fiber} = [(\text{น้ำหนักสิ่งตกค้าง} - \text{น้ำหนักเถ้า} - \text{โปรตีน-Blank}) \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 100$$

ตัวอย่างที่ 16 การคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) ของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกหับทิม

จากสูตร

$$\text{total dietary fiber} = [(\text{น้ำหนักสิ่งตกค้าง} - \text{น้ำหนักเถ้า} - \text{โปรตีน-Blank}) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}] \times 100$$

$$\text{ใยอาหารทั้งหมดของหับทิม} = [(14,117-1,200-0.4-33.974)/2000] \times 100 = 644.13$$

เพราะฉะนั้น ใยอาหารทั้งหมดของโยเกิร์ตที่ใส่ผงแห้งจากเปลือกหับทิม เท่ากับร้อยละ 644.13

6. ผลของใยอาหารทั้งหมดของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ พบว่าโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับร้อยละ 644.13 ส่วนโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพูทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และผลของตะขบ ซึ่งมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับ ร้อยละ 451.59, 416.26, 267.63 และ 154.65 ตามลำดับ

ภาคผนวก ฅ

Product rescription

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:

Amyloglucosidase from *Aspergillus niger* - ≥ 300 U/mL, aqueous solution

Product Number:

A7095

CAS Number:

9032-08-0

MDL:

MFCD00081350

Storage Temperature:

2 - 8 °C

TEST

Specification

units/ml

≥ 300

Density

Conforms

Approx 1.2 g/mL

Specification: PRD.0.ZQ5.10000042112



3050 Spruce Street
Saint Louis, Missouri 63103 USA
Telephone 800-325-6832 • (314) 771-5765
Fax (314) 286-7828
email: techserv@sial.com
sigma-aldrich.com

Product Information

α -Amylase, heat-stable

Product Number A 3306

Storage Temperature 2-8 °C

Product Description

Enzyme Commission (EC) Number: 3.2.1.1

CAS Number: 9000-85-5

MW: Approximately 62,650¹

This enzyme has been shown to have sufficient stability to maintain over 98% of its activity after 60 minutes at pH 6.2 at 85 °C.¹

The biological source of this product is considered proprietary. Each lot is carefully use tested for suitability as a component in the Total Dietary Fiber Kit, TDF-100A.

This enzyme is suitable for use in the determination of soluble and insoluble dietary fiber in cereal products.²

Precautions and Disclaimer

For Laboratory Use Only. Not for drug, household or other uses.

References

1. J. Applied Bacteriol., 50, 107-114, (1981).
2. Lee, S.C., et al., Determination of Soluble and Insoluble Dietary Fiber in Psyllium-containing Cereal Products. J. AOAC Int., 78(3), 724-729 (1995).

CMH/RXR 9/02

Product Information

Protease from *Bacillus licheniformis*

Catalog Number P5459

Storage Temperature 2–8 °C

CAS RN 9014-01-1

EC 3.4.21.62

Synonym: Subtilisin A

Product Description

This enzyme optimally hydrolyzes gelatin over the range of pH 8.0 to 10 at 50 °C, and remains active over the range of pH 6.0 to 10.0 at 50 °C. It has optimal activity at 60 °C and effectively hydrolyzes gelatin at temperatures up to 70 °C. For general usage, maintain temperature at 45–50 °C at pH 8–10. Sodium bicarbonate may be used to adjust and maintain pH.¹

This protease from *Bacillus licheniformis* is not specific in activity. Commercial uses are in laundry detergent formulations and recovery of silver from photographic emulsions. This product is assayed as a general protease, using casein as a substrate.²

This product is supplied in an aqueous propylene glycol solution containing sodium benzoate and potassium sorbate.

Specific activity: 7–15 units/mg protein

Unit definition: One unit will hydrolyze casein to produce color equivalent to 1.0 μ mole of tyrosine per minute at pH 7.5 at 37 °C. (Color by Folin-Ciocalteu reagent)

Precautions and Disclaimer

This product is for R&D use only, not for drug, household, or other uses. Please consult the Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

Preparation Instructions

This product gives a clear solution when diluted with 0.85% NaCl,² and is completely miscible with water.¹ It is recommended to prepare and use diluted solutions as needed, rather than storing at 2–8 °C.

Storage/Stability

Stored the product at 2–8 °C. It is expected to remain active for at least two years.

References

1. Supplier information
2. Sigma quality control data

AI,MAM 01/15-1

CHR HANSEN*Improving food & health***FD-DVS ABT-5 Probio-Tec®**

Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 11-23-2011

Description	Thermophilic lactic acid culture. Contains the documented probiotic strains BB-12 [®] and LA-5 [®] . The strains have a long history of safe use.								
Taxonomy	Lactobacillus acidophilus Streptococcus thermophilus Bifidobacterium								
Packaging	<table border="0"> <tr> <td>Material No:</td> <td>Size</td> <td>Type</td> </tr> <tr> <td>100134</td> <td>10X50 U</td> <td>Pouch(es) in box</td> </tr> </table>	Material No:	Size	Type	100134	10X50 U	Pouch(es) in box		
Material No:	Size	Type							
100134	10X50 U	Pouch(es) in box							
Physical Properties	<table border="0"> <tr> <td>Color:</td> <td>Off-white to slightly reddish or brown</td> </tr> <tr> <td>Form:</td> <td>Granulate</td> </tr> </table>	Color:	Off-white to slightly reddish or brown	Form:	Granulate				
Color:	Off-white to slightly reddish or brown								
Form:	Granulate								
Application	<p>Usage</p> <p>The culture will produce a fermented milk with high body, mild flavor and minimal post-acidification. Suitable for cup set, stirred and drinking yoghurt.</p> <p>Suggested dosage</p> <p>Recommended inoculation rate: 100 U/500 l milk.</p> <p>Recommended inoculation rate</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Amount of milk to be inoculated</th> <th>250 l/ 70 gal</th> <th>1,000 l/ 300 gal</th> <th>2,500 l/ 700 gal</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Amount of DVS culture</td> <td>50 U</td> <td>200 U</td> <td>500 U</td> </tr> </tbody> </table>	Amount of milk to be inoculated	250 l/ 70 gal	1,000 l/ 300 gal	2,500 l/ 700 gal	Amount of DVS culture	50 U	200 U	500 U
Amount of milk to be inoculated	250 l/ 70 gal	1,000 l/ 300 gal	2,500 l/ 700 gal						
Amount of DVS culture	50 U	200 U	500 U						
Range	<p>Directions for Use</p> <p>Remove cultures from the freezer just prior to use. Do not thaw. Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly. The recommended incubation temperature is dependent on the application in which the culture is used. For more information on specific applications see our technical brochures and suggested recipes.</p> <p>Cultures in this series include ABT-1, ABT-2, ABT-4, ABT-10 (frozen or freeze-dried), ABT-3, ABT-5, ABT-7 (freeze-dried) and ABT-6, ABT-21 (frozen).</p>								

CHR HANSEN*improving food & health***FD-DVS ABT-5 Probio-Tec®**

Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 11-23-2011

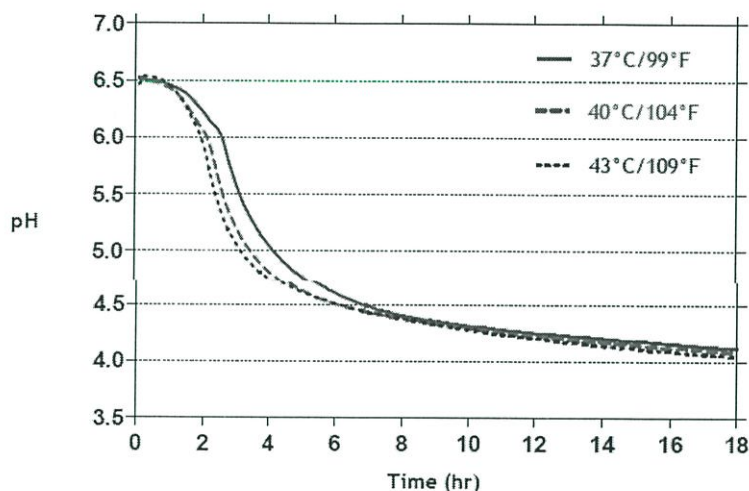
Storage and handling

< -18 °C /

Shelf life

At least 24 months from date of manufacture when stored according to recommendations.

At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks.

Technical Data**Acidification curve**

Fermentation conditions:

Whole milk +2 % skim milk powder (85°C/185°F, 30 minutes)

Inoculation: 0.02 %

Analytical Methods

References and analytical methods are available upon request.

Legislation

Chr. Hansen's cultures comply with the general requirements on food safety laid down in Regulation 178/2002/EC. Lactic acid bacteria are generally recognized as safe and can be used in food, however, for specific applications we recommend to consult national legislation.

The product is intended for use in food.

CHR HANSEN*Improving food & health***FD-DVS ABT-5 Probio-Tec®**

Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 11-23-2011

Allergen Information

List of common allergens in accordance with the US Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 (FALCPA) and EU labeling Directive 2000/13/EC with later amendments	Present as an ingredient in the product
Cereals containing gluten* and products thereof	No
Crustaceans and products thereof	No
Eggs and products thereof	No
Fish and products thereof	No
Peanuts and products thereof	No
Soybeans and products thereof	No
Milk and products thereof (including lactose)	Yes
Nuts* and products thereof	No
List of allergens in accordance with EU labeling Directive 2000/13/EC only	
Celery and products thereof	No
Mustard and products thereof	No
Sesame seeds and products thereof	No
Lupine and products thereof	No
Mollusks and products thereof	No
Sulphur dioxide and sulphites at concentrations of more than 10 mg/kg or 10 mg/litre expressed as SO ₂	No

* Please consult the EU Labeling Directive 2000/13 Annex IIIa for a legal definition of common allergens, see European Union law at: www.eur-lex.europa.eu