รายงานการวิจัย

ผลของใยอาหารจากเปลือกผลไม้ต่อการเจริญและการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก

Effect of dietary fiber from fruit peel on growth and survival of probiotic bacteria in fermented milk product

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2559
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

ผลของใยอาหารจากเปลือกผลไม้ต่อการเจริญและการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก

Effect of dietary fiber from fruit peel on growth and survival of probiotic bacteria in fermented milk product

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

สาขาวิชา.....
เลขทะเบียน 145943
วันเดือนปี 11 เม.ย. 2560

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2559
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย)	ผลของใยอาหารจากเปลือกผลไม้ต่อการเจริญและการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก
แหล่งเงิน	เงินรายได้
ประจำปีงบประมาณ 2557	จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท
ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี	ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึง กันยายน พ.ศ. 2559
หัวหน้าโครงการวิจัย:	รศ .ดร .สุรีย์ นานาสมบัติ
หน่วยงานต้นสังกัด:	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผลไม้และเปลือกผลไม้จำนวน 14 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล ได้แก่ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด 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 เปลือกชมพู่-ทับทิมจันทร์ (*Eugenia Javaniea* Lamk) และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ (*Malus domestica*) ซึ่งมีปริมาณ 425.03 และ 239.44 มิลลิกรัมของสารสกัด ดังนั้นจึงได้คัดเลือกผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ล ฟูจิ เปลือกทับทิม เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และผลตะขบ เพื่อนำมาเติมลงในนมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ตซึ่งหมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophiles* และ *Bifidobacterium*) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และในบรรดาทรีตเมนต์ทั้งหมดการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีผลทำให้จำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตเพิ่มจำนวนได้มากที่สุด (มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 1.97 log CFU ต่อกรัม) และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด (ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.52) หลังจากหมัก 24 ชั่วโมง

คำสำคัญ : กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมี พรีไบโอติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Effect of dietary fiber from fruit peel on growth and survival of probiotic bacteria in fermented milk product

Researcher: Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

Faculty of Science, Department of Biology, KMITL

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 $Fe(II)SO_4$/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 Javaniea* 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, Phytochemical, Prebiotic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยเรื่องนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 25

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 34

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 47

เอกสารอ้างอิง 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

สารต้านอนุมูลอิสระซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากออกซิเจน (reactive oxygen species หรือ ROS) และไนโตรเจน (reactive nitrogen species) ถูกสร้างขึ้นในร่างกาย เมื่อเผชิญกับสภาวะทางเคมี กายภาพหรือมลภาวะต่างๆโดยกระบวนการอนุมูลอิสระสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ เช่น ไขมันถูกทำให้เกิดความเสียหายโดยอนุมูลอิสระได้ง่ายเป็นผลให้ไขมันเกิดออกซิเดชัน (lipid peroxidation) โปรตีนที่ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระทำให้เกิดการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ และดีเอ็นเอที่ถูกทำลายทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenesis) และการเกิดโรคมะเร็ง (carcinogenesis) ซึ่งในที่สุดทำให้มนุษย์แก่ชราและป่วยเป็นโรคต่างๆ (Devasagayam และคณะ, 2004) อย่างไรก็ตามร่างกายมีระบบการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ (antioxidant enzyme) เช่น superoxide dismutase, glutathione peroxidases, heme perooxidase และ catalase ที่ช่วยป้องกันความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว แต่ถ้าหากเมื่อใดก็ตามที่ความสมดุลระหว่างการสร้าง ROS กับระบบการป้องกันโดยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติได้สูญเสียไป จะเป็นผลให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นได้ ซึ่งจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดพยาธิสภาพรวมทั้งความผิดปกติของหัวใจและหลอดเลือด โรคที่เกี่ยวกับระบบประสาท 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) มีหลายการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นหรือไฟโตนิวเตรียนท์ (Phytonutrient) ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อและตัวอย่างเลือดกับการเกิดขึ้นของโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็งหรือการเสียชีวิตจากโรคเหล่านี้ (Devasagayam และคณะ, 2004)

ผลไม้เป็นแหล่งของวิตามิน แร่ธาตุ และใยอาหารที่สำคัญสำหรับมนุษย์ ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างบ้างในด้านปริมาณของสารดังกล่าว นอกจากนี้ในผลไม้ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดในผลไม้ได้แก่ โพลีฟีนอล วิตามินเอ บี ซี และอี (Arshiya, 2013) เช่น วิตามินซีจะพบในผลไม้สดทุกชนิด แต่จะพบมากในสตอเบอร์รี่ ผลไม้ตระกูลส้ม และกีวี่ วิตามินเอส่วนใหญ่จะพบมากในผลไม้สีเหลือง เช่น แคนตาลูป (cantaloupe) และแอปริคอท (apricot) และไทอะมิน (thiamin) จะพบมากในผลพลัม (plum) และผลไม้แห้งที่ไม่ผ่านการทำด้วยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Lintas, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอุตสาหกรรมการผลิตผลไม้แปรรูปส่วนใหญ่จะมีเปลือกผลไม้จำนวนมากเป็นวัสดุเหลือทิ้ง และก่อให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม การนำเปลือกผลไม้นี้มาใช้ประโยชน์จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหา (Parashar และคณะ, 2014) เนื่องจากเปลือกผลไม้ส่วนใหญ่อุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด Akhtar และคณะ (2015) มีรายงานว่าเปลือกทับทิมมีสารประกอบฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น เอลลาจิแทนนิน (ellagitannins) สารประกอบพอลิแซคคาไรด์ โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) ฟลาโวนอยด์ และธาตุอาหารรอง ในเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิจะพบสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ โปรไซยานิดินบี 3 (procyanidin B3) อิพิแคทีชิน (epicatechin) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) กรดโปรโตคาเทคชูอิค (protocatechuic acid) เควอร์ซิทิน-3-แรมโนไซด์ (quercetin-3-rhamnozide) โฟลริดซิน (phloridzin) กรดพี-คูมาริก (p-coumaric acid) และรูทีน (rutin) (Veberic และคณะ, 2005) ในเปลือกกล้วยจะพบสารแคโรทีนอยด์ (carotenoid) และสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ กรดวานิลลิก (vanillic acid) แคทีชิน (catechin) กรดแกลลิก (gallic acid) และอิพิแคทีชิน (Singh และคณะ, 2016) และเปลือกส้มแมนดารินจะพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ได้แก่ สารฟลาโวโนนด์ (flavonone) เช่น เฮสเปเรติน (hesperetin) และนารินจินิน (naringenin) สารฟลาโวนอย (flavonol) เช่น แคมพ์เฟอรอล (keampferol) และเควอร์ซิทิน (quercetin) และกรดฟีนอลิก เช่น กรดคาเฟอิค (caffeic acid) และกรดคลอโรเจนิค (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 Ibrahium, 2012) แต่ก็ยังมีเปลือกผลไม้ เช่น เปลือกมะขามเทศและเปลือกชมพู่-ทับทิมจันทร์ที่ยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษาวิจัยไว้ ดังนั้นจึงน่าสนในที่จะศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเปลือกผลไม้เหล่านี้

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

สารที่จัดเป็นพรีไบโอติกได้แก่สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย รวมไปถึงใยอาหาร (fiber) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccaride) 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) แต่ยังมีเปลือกผลไม้อีกหลายชนิด เช่น สับปะรด ลูกพลับ ฟักข้าว มะขามเทศ ตะขบ กล้วย และ ชมพู่ทับทิมจันทร์ ที่ยังไม่เคยมีการศึกษาเพื่อหาปริมาณสารพรีไบโอติกรวมทั้งสาร indigest

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 โดยประโยชน์ของโยเกิร์ตที่เติมผลไม้นั้นจะทำให้ผู้บริโภคมีความสนใจในสารอาหารที่จะได้รับประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์และประโยชน์ต่อสุขภาพ นักวิจัยหลายท่านได้ประสบความสำเร็จในการเติมส่วนผสมจากผลไม้ลงในโยเกิร์ต ได้แก่ การเติมสารสกัดจากองุ่นในโยเกิร์ต (Chouchouli และคณะ, 2013) การผลิตคีเฟอร์ที่เติมน้ำผลไม้ (Randazzo และคณะ, 2016) และการผลิตน้ำมันดอกทานตะวันที่ใส่สารสกัดจากเปลือกมังคุด (Chong และคณะ, 2015) ซึ่งโยเกิร์ตที่เป็นโพรไบโอติกจะมีคุณค่าทางสารอาหารสูงและมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของผู้สูงอายุ โดยจะช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และโรคอ้วน (Santiago และคณะ, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกและผลของผลไม้

1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์จากเปลือกและผลของผลไม้

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของผงเปลือกผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญและการหมักของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 สกัดสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 จากผลไม้ทั้งหมด 15 ชนิดได้แก่ กล้วยหอม แก้วมังกรแดง ชมพูทับทิมจันทร์ ตะขบ ทุเรียนหมอนทอง ทับทิม ฟักข้าว มะขามเทศ มะละกอสุก ลูกพลับ สับปะรดศรีราชา ส้มแมนดาริน ส้มโอองุ่นแดงนอก และแอปเปิ้ลฟูจิ

1.3.2 ศึกษาคุณสมบัติทางพฤกษเคมีในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ ทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1.3.3 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกด้วยการหาสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

1.3.4 ศึกษาผลกระทบของสารพรีไบโอติกในเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมีในเปลือกและผลของผลไม้ เช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

1.4.2 ทำให้ทราบถึงผลกระทบของสารพรีไบโอติกในเปลือกและผลของผลไม้ที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติก คือ สารอาหาร หรือองค์ประกอบที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร บางชนิดสามารถจับกับจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้อย่างจำเพาะเจาะจง เช่น เชื้อ *Salmonella* spp. และ *E. coli* โดยจะถูกกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับอุจจาระ หรือบางชนิดจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น เชื้อ bifidobacteria และ lactobacilli โดยจะเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรีย ทำให้ลำไส้เกิดความสมดุลและยังช่วยเพิ่มการนำสารอาหารไปใช้ สารที่จะจัดเป็นโพรไบโอติกได้นั้นจะต้องมีลักษณะอย่างน้อย 3 ประการ คือ

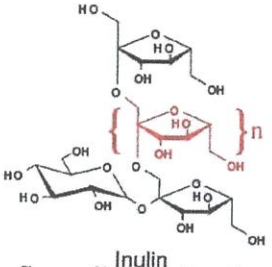
1) สารนั้นจะต้องไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก
2) สารนั้นจะต้องมีความจำเพาะกับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้
3) สารนั้นควรจะมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย

2.1.1 กลุ่มของสารพรีไบโอติก

พรีไบโอติก (Prebiotic) เป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีหลายชนิด เช่น

2.1.1.1 อินนูลิน (Inulin)

อินนูลินเป็นสารประเภทฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งก็คือการนำน้ำตาลมาต่อกันเป็นสายโซ่สั้นๆประมาณ 2 ถึง 60 หน่วย ลักษณะโมเลกุลของอินนูลินจะคล้ายๆกับเซลลูโลส แต่แตกต่างกันตรงที่เซลลูโลสจะเป็นกลูโคสต่อกันทั้งหมด ส่วนอินนูลินจะเป็นฟรุกโตสต่อกันทั้งหมด อินนูลินมีลักษณะเฉพาะ คือ จะมีรสชาติหวานคล้ายน้ำตาล จึงมักนำมาเป็นส่วนประกอบในอาหารประเภทอาหารหวาน เช่น ไอศกรีมและไม่ได้ถูกย่อยในทางเดินอาหารจึงไม่ให้แหล่งพลังงานและไม่เพิ่มระดับน้ำตาล อินนูลินจัดเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำซึ่งจะช่วยในการย่อยและดูดซึมแป้ง และน้ำตาลช้าลง ซึ่งจะมีผลดีต่อระดับน้ำตาลในเลือดและผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ใส่อินนูลินเพิ่มเข้าไป เพื่อเพิ่มรสชาติหวานโดยที่ไม่เพิ่มแคลอรี่ นอกจากนี้ยังช่วย ในระบบขับถ่าย ช่วยดูดซับ และขับสารพิษ ทำให้ผิวกระจ่างใส และป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ ซึ่งก็เป็นคุณสมบัติของใยอาหารที่พบในผักและผลไม้ (Niness, 1999)



Inulin

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) แหล่งอาหารของอินนูลิน

ใยอาหารทั้ง 2 เราสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด ซึ่งมีปริมาณของอินนูลินและ โอลิโก-ฟรุกโตสที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณ Inulin และ Oligosaccharide ที่ใช้สำหรับการโภชนาการของมนุษย์

ชนิด	ส่วนที่กินได้	ปริมาณอินนูลิน g/100g	โอลิโกฟรุกโตส g/100g
หัวหอม	ผล	2-6	2-6
แก่นตะวัน	ส่วนหัว	16-20	10-15
ต้นชิคอริ	ราก	15-20	5-10
กระเทียมหอม	ผล	3-10	2-5
กระเทียม	ผล	9-16	3-6
อาร์ติโชค	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
ต้นแดนดิไลออน	ส่วนใบ	12-15	-
โกโบ	ราก	3.5-4.0	-
ข้าวสาลี	เมล็ด	1-4	1-4

ที่มา : Moshfegh และคณะ (1999)

อินนูลินเป็นเส้นใยอาหารจึงไม่จัดเป็นสารอาหาร เนื่องจากไม่ให้พลังงานแต่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและมีบทบาทต่อร่างกาย ดังนี้

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

2.1.1.2 โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide)

โอลิโกแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากมอนอแซคคาไรด์ 2-10 หน่วย มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความสำคัญ ได้แก่

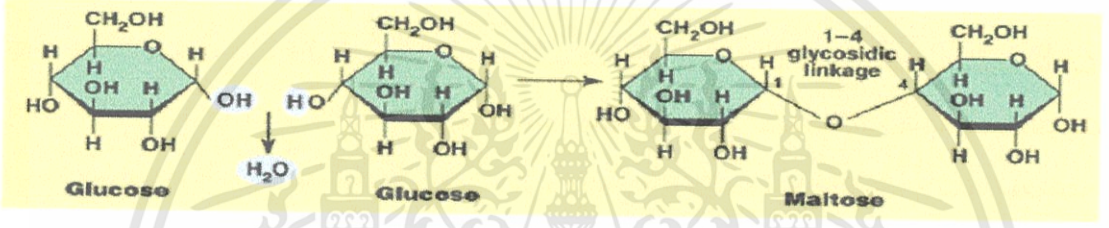
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 มอลโทสจัดเป็นน้ำตาลรีดิวซิ่ง ซึ่งในธรรมชาติสามารถพบได้ในเมล็ดข้าวบาร์เลย์หรือจะพบได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลส การย่อยสลายมอลโทสด้วยเอนไซม์-มอลเทสจะได้กลูโคส 2 โมเลกุล (Aniansson และคณะ, 1992)

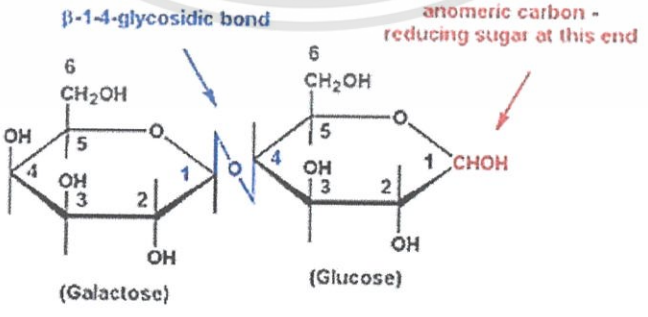


รูปที่ 2.17 โครงสร้างของน้ำตาลมอลโทส

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 ไกลโคซิดิก ดังรูปที่ 2.18 แลคโทสเป็นน้ำตาลรีดิวซิ่งในธรรมชาติพบในน้ำนมคนจะมีแลคโทสประมาณร้อยละ 7.5 และในน้ำนมวัวมีประมาณร้อยละ 4.5 โดยในร่างกายคนจะมีเอนไซม์แลคเทสย่อยสลายแลคโทส จะได้กลูโคสและกาแลคโทสอย่างน้อย 1 โมเลกุล (Aniansson และคณะ, 1992)



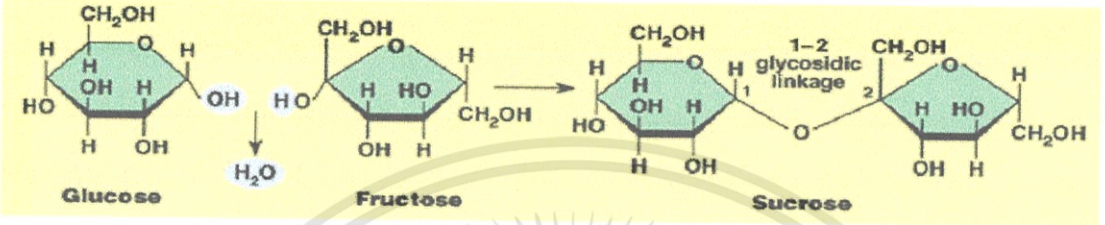
รูปที่ 2.18 โครงสร้างของน้ำตาลแลคโทส

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

iii ซูโครส (Sucrose)

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

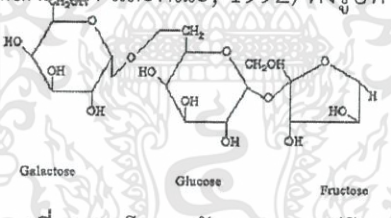


รูปที่ 2.19 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส

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

ข) ไตรแซคคาไรด์ (Trisaccharide)

ไตรแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากมอนอแซคคาไรด์จำนวณ 3 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก เช่น ราฟฟีโนส (Raffinose) เป็นไตรแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคส ฟรักโทส และ แลคโทสอย่างละ 1 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งในธรรมชาติจะพบราฟฟีโนสในอ้อย หัวบีท และพืชชั้นสูง (Aniansson และคณะ, 1992) ดังรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 โครงสร้างของราฟฟีโนส

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

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถพบได้ตามแหล่งต่างๆดังนี้

1) สกัดออกมาจากพืช เช่น ข้าวสาลี กล้วยหอม กระเทียม และหน่อไม้ฝรั่ง ได้แก่ กลุ่ม fructooligosaccarides และกลุ่ม α-galactooligosaccharides

2) จากการย่อยของ polysaccharides ได้แก่ fructooligosaccarides และ xylooligo-saccharides

3) จากการสังเคราะห์ (enzymatic synthesis) ได้แก่ กลุ่ม fructooligosaccarides กลุ่ม α-Glucooligosaccharides, กลุ่ม β-glucooligosacchrides และกลุ่ม β-galactooligosaccha-rides โอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่สำคัญ ได้แก่

- ฟรุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)
- กาแลคโทโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Galactooligosaccharide)
- กลูโคโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Glucooligosaccharide; GOS)

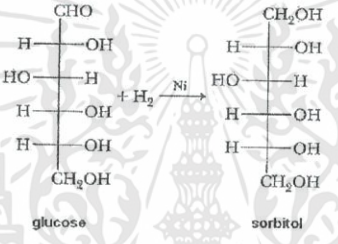
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Mannanoligosaccharide; MOS)
- ทรานสกาแลคโทโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Transgalactooligosaccharide, TOS)
- ไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Xylooligosaccharide, XOS)

โอลิโกแซคคาไรด์จะส่งผลต่อพรีไบโอติกโดยจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคภายในลำไส้ และช่วยให้ลำไส้ดูดซึมแคลเซียม แมกนีเซียมและธาตุเหล็กได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มแบคทีเรียบิฟิดัส ซึ่งโอลิโกแซคคาไรด์ในนมเป็นส่วนผสมที่ช่วยเพิ่มแบคทีเรียที่ดีชื่อว่า Bifidus ที่อยู่ในลำไส้ (Aniansson และคณะ, 1992)

2.1.1.3 น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar Alcohol)

น้ำตาลแอลกอฮอล์ หรือโพลิไฮดริกแอลกอฮอล์ เป็นสารอาหารที่ให้ความหวานที่สกัดจากพืชผักตามธรรมชาติที่ให้แคลอรี่ต่ำ ซึ่งได้จากปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดย Carbonyl oxygen ถูกรีดิวซ์ได้เป็น polyhydroxy alcohol (Aniansson และคณะ, 1992)



รูปที่ 2.21 โครงสร้างของน้ำตาลแอกอฮอล์

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

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เพราะเชื่อมั่นในความปลอดภัยของกระบวนการผลิตที่ใช้ปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชั่น หรือทำการสกัดจากมันสำปะหลังและพืชผักหลายชนิด อีกทั้งผู้ผลิตสามารถเลือกใช้ประโยชน์ให้เหมาะสมกับประเภทอาหารได้ทุกชนิด โดยพิจารณาคุณสมบัติเด่นของน้ำตาลแอลกอฮอล์แต่ละชนิดตามที่ต้องการ (Aniansson และคณะ, 1992)

2.1.1.4 เส้นใยอาหาร (Dietary Fiber)

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

ก) ใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ (Insoluble Fiber)

เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจะพองตัวได้ในน้ำคล้ายฟองน้ำ แต่ใยอาหารชนิดนี้จะไม่หนืดจึงทำให้เพิ่มปริมาตรน้ำภายในกระเพาะอาหาร ช่วยเพิ่มกากอาหาร และช่วยทำความสะอาดทางเดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร เมื่อรับประทานเข้าไปจึงทำให้รู้สึกว่าอิ่ม โดยเส้นใยชนิดนี้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่บางชนิดจะไม่สามารถย่อยได้จึงช่วยลดอาการท้องผูก และช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้อีกด้วย เช่น เซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส (Trowell และคณะ, 1976)

ข) ใยอาหารชนิดละลายน้ำ (Soluble Fiber)

เส้นใยอาหารที่ละลายได้ในน้ำจะดูดน้ำเก็บไว้กับตัว เมื่อละลายน้ำแล้วจึงทำให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น มีลักษณะคล้ายกับเจลสามารถจับกับน้ำตาลและดูดซับน้ำมันได้อีกด้วย ซึ่งใยอาหารชนิดนี้ร่างกายของคนเราไม่สามารถย่อยเองได้ แต่แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่จะสามารถย่อยได้ (Trowell และคณะ, 1976)

2.2 โพรไบโอติก (Probiotic)

โพรไบโอติก คือ อาหารที่ส่งผลดีต่อสุขภาพ ช่วยเสริมสร้างสุขภาพและช่วยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย ซึ่งนอกจากนี้คำนิยามเกี่ยวกับโพรไบโอติกยังเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นอีกมากมาย ซึ่งส่วนใหญ่จะพิจารณาจากผลกระทบโดยตรงกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในร่างกาย (Lee และ Salminen, 1995) โดยมีคำนิยามที่เกี่ยวข้องกับโพรไบติกดังตารางที่ 2.2

2.2.1 กฎเกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในอาหารและเครื่องดื่ม

ปัจจุบันนักวิจัยและผู้ประกอบการทางด้านอาหารเริ่มเล็งเห็นถึงศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอาหารโพรไบโอติกมากขึ้น จึงทำให้มีการกำหนดกฎเกณฑ์มากมายเพื่อใช้ในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะต้องก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และต้องได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคอีกด้วย ซึ่งมีกฎเกณฑ์ดังต่อไปนี้

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

โดยเกณฑ์ 3 ข้อแรก จะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่เหมาะสม ส่วน 3 ข้อหลังจะเกี่ยวข้องกับการยอมรับและทัศนคติของผู้บริโภค (Lee และ Salminen, 1995; Rambaud และคณะ, 1993)

2.2.2 กลุ่มของแบคทีเรียที่จัดเป็นโพรไบโอติก

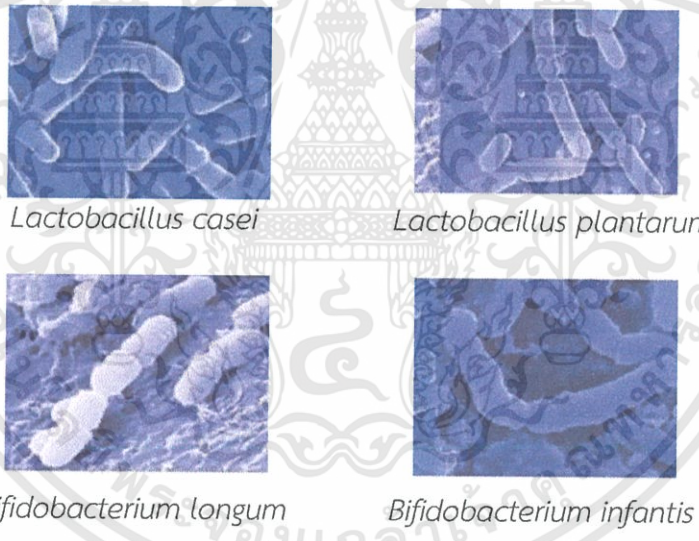
2.2.2.1 แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปีค.ศ.1900 ได้มีการแยกสายพันธุ์แบคทีเรียบริสุทธิ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* ได้เป็นครั้งแรก ต่อมาก็ได้มีการแยกแบคทีเรีย *Lactobacillus bifidus* และจัดอยู่ในแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobateria* หากนำไปย้อมสีและส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะรูปร่างคล้ายกับรูปตัวเอ็กซ์ (X-shape) หรือส่วนใหญ่จะเป็นรูปตัววาย (Y-shape) ส่วน *Lactobacillus* นั้นจะมีรูปร่างเป็นท่อนเรียงต่อกันเป็นสายโซ่สั้นหรือโซ่ยาวขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอาศัยอยู่ในลำไส้เล็กของร่างกายมนุษย์ตั้งแต่แรกเกิด แต่แบคทีเรียชนิด *Bifidobaterium* มักจะอาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะพบในเด็กที่ดื่มนมแม่ตั้งแต่อายุ 7 วันขึ้นไป ดังนั้น จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ทารกที่ดื่มนมมารดาตั้งแต่แรกคลอดมีสุขภาพแข็งแรง และมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าทารกที่ดื่มนมขวดหรือนมกระป๋อง ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด คือ *Bifidobaterium infantis* มีมากถึงร้อยละ 99 (Salminen และคณะ 1998)

แบคเรียกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobaterium* จัดเป็นแบคทีเรียเจ้าถิ่นประจำลำไส้ เนื่องจากพบในลำไส้มนุษย์ตั้งแต่แรกเกิดจนเติบโตเป็นผู้ใหญ่ แต่อาจมีความหลากหลายในชนิดสายพันธุ์และจำนวนขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเครียด พฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสม การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ หรือการใช้ยาปฏิชีวนะ เป็นต้นโดยตัวอย่างลักษณะแบคทีเรียกรดแลคติก (Salminen และคณะ 1998) แสดงดังรูปที่ 2.22



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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ประโยชน์ของโพรไบโอติกที่ส่งผลต่อสุขภาพ

2.2.3.1 การปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย

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

2.2.3.2 การลดภาวะที่ร่างกายไม่สามารถย่อยหรือไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโทส

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

2.2.3.3 การป้องกันหรือลดระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง

โพรไบโอติกเกี่ยวข้องกับการป้องกันมะเร็งในลำไส้โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น ช่วยลดการทำงานของสารก่อมะเร็ง ลดเมทาบอไลท์ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น แอมโมเนียม 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)

2.2.3.4 การปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

โพรไบโอติกสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์เพื่อให้เจริญเติบโตเป็นแม็คโครฟาจจับกินเชื้อโรคนั้น นอกจากนี้ยังหลั่งสารเคมีที่เกี่ยวกับการทำลายเชื้อโรค เช่น ไซโตคายน์ชนิดแกมมาโกลบูลินเอ (Immunoglobulin A; IgA) (Kirjavainen และคณะ, 1998; Herich และ Levkut, 2002) อินเตอร์ลิวคิน (Interleukin) และทูเมอนิวโครซีสแฟคเตอร์ แอลฟา (Tumor Necrosis Factor; TNF-a) ทำให้ร่างกายป้องกัน ต่อต้าน และกำจัดเชื้อโรค รวมทั้งสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้โพรไบโอติกยังช่วยเพิ่มปริมาณสารต่อต้านเชื้อโรคในร่างกายแล้วยังทำให้มีการสื่อสารกับเนื้อเยื่อน้ำเหลืองในชั้นใต้เยื่อบุลำไส้ได้ดียิ่งขึ้น นำไปสู่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบป้องกันมากกว่าการตอบสนองแบบก่อการอักเสบหรือภูมิแพ้ ทำให้เนื้อเยื่อที่อักเสบบรรเทาลง และซ่อมแซมเซลล์ร่างกายที่บาดเจ็บให้ฟื้นตัวได้เร็วยิ่งขึ้น (Ouwehand และคณะ, 1999)

2.2.3.5 การลดภาวะภูมิแพ้ และการอักเสบรุนแรง

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

2.2.3.6 การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

คอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เกลือน้ำดี ซึ่งโพรไบโอติกสามารถสร้างน้ำย่อยหรือเอนไซม์ที่สามารถย่อยเกลือน้ำดีได้ จึงทำให้เกลือน้ำดีที่ถูกย่อยแล้วกลายเป็นเกลือน้ำดีอิสระสามารถถูกขับออกทางอุจจาระได้ ทำให้ร่างกายใช้คอเลสเตอรอลมาสังเคราะห์เป็นเกลือน้ำดีทดแทน จึงทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (Kirjavainen และคณะ, 1998)

2.2.3.7 บทบาทต่อสุขภาพด้านอื่นๆ

มีรายงานการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ อีกมากมาย ตัวอย่างผลของการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.2 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆและสุขภาพ

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

ที่มา : Kirjavainen และคณะ (1998)

2.3 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็คตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), Superoxide anion radical ($O_2^{-\bullet}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้ (Halliwell, 1991)

ก) การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบไอโมไลซิส (Imolysis)

$$A : B \longrightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$$

ข) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A + e^- \longrightarrow A^{-\bullet}$$

ค) การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\bullet} + e^-$$

2.3.1 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน หมายถึง ปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยัง หมายถึง การสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องกัน เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆได้มากมายหลายชนิดและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่า ขั้นตอนอินนิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระจะถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป โดยจะเรียกว่า ขั้นพรอพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้าย เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูลได้สารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็นอนุมูลอิสระได้นั้นต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็ยังมีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตด้วย ซึ่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระที่มักพบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตมีดังนี้ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.3.1.1 Chain initiation

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

ก) Bond hemolysis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (valence electron) เป็นจำนวนคู่แล้ว ในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพธ์เป็นอนุมูลอิสระได้ โดยในสภาวะที่อุณหภูมิปกติ การที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนท์สามารถแยกจากกันไปให้อะตอมแต่ละตัวได้นั้น ต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก (Roberfroid และ Calderon, 1995) ตัวอย่าง Bond homolysis แสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

$$ROOR \longrightarrow 2RO^{\bullet}$$

ข) Photolysis

การแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอุลตร้าไวโอเลตทำให้เกิดอนุมูล-อิสระขึ้น ที่พบมากคือการแตกพันธะของ hydrogen peroxide (H_2O_2) กลายเป็นอนุมูล hydroxyl ($HO^{\bullet}$) โดยที่ในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสง เช่น รงควัตถุและสารของอะโรมาติกคาร์บอนบางชนิด หลังจากดูดพลังงานแสงแล้วจะทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะที่ตื่นตัว (excitedstate) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้าสถานะพื้น (ground state) ดังเดิม และอีกวิธีหนึ่งของการคายพลังงาน คือ การแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ดังนี้ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

$$ROCl \longrightarrow RO^{\bullet} + Cl^{\bullet}$$

$$(RCOO)_2 \longrightarrow 2RCOO^{\bullet}$$

ค) Radioly

พลังงานจากรังสีชนิดต่างๆ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนท์ของโมเลกุลสารได้ โดยเฉพาะโมเลกุลของน้ำจะให้อนุมูลประจุบวก ($H_2O^{+\bullet}$) และอนุมูล hydroxyl ($HO^{\bullet}$) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูงทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้ รังสียังส่งผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยตรงจากสารองค์ประกอบเคมีของเซลล์ โดยเฉพาะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิต ซึ่งปฏิกิริยานี้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

ง) ปฏิกิริยารีดอกซ์

ปฏิกิริยารีดอกซ์หรือเรียกอีกอย่างว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยา ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน์ แต่มีปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหาย โดยสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่สำคัญคือ โมเลกุลของอนุมูล superoxide ($O_2^{-\bullet}$) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่อยู่ในไมโตคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกายก็จัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเฉพาะเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.3.1.2 Chain propagation

ขั้นนี้เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่น ซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อๆกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ ซึ่งสามารถแบ่งกลไกของปฏิกิริยาในขั้นพรอพาเกชัน ได้ 3 ชนิดที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต (Roberfroid และ Calderon, 1995) คือ

ก) การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม

การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอมเป็นกลไกที่เกิดมากที่สุดในลำดับของพรอพาเกชัน โดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวข้องกับการดึงไฮโดรเจนดังสมการ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

$$Cl^{\bullet} + RH \longrightarrow HCl + R^{\bullet}$$

$$R^{\bullet}_1 + R_2Cl \longrightarrow R_1Cl + R^{\bullet}_2$$

ข) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน

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

ค) การเติมอนุมูลอิสระ

การเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่างๆ ดังสมการ (Roberfroid และ Calderon, 1995)

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

2.3.1.3 Chain termination

ขั้นนี้เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระมีกลไกหลัก 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

$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow ROOR$$

$$2ROO^{\bullet} \longrightarrow ROO\text{-}OOR$$

$$2R^{\bullet} \longrightarrow R\text{-}R$$

ข) การกำจัดอนุมูลอิสระ

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

ค) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน

การถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุล หรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมีที่ว่างอยู่ในโมเลกุลทำให้สภาวะการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล superoxide ($O_2^{\cdot-}$) เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) เป็นต้น (Roberfroid และ Calderon, 1995)

2.4 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม โปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือ สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ubiquinone, uric acid, bilirubin, albumin, sulfhydryl groups ในกรดอะมิโน cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน ยังมีสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavanoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจ

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

1. Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ
2. Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น
3. Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

2.4.1 ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติ

2.4.1.1 วิตามินเอ

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

2.4.1.2 วิตามินซี

วิตามินซีมีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxyl (Iqbal และคณะ, 2004)

2.4.1.3 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งสารกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic ได้แก่ พวก lignin, tannin เป็นต้น รวมทั้งยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

145943

พบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (อัญชนา, 2544) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และ แทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูล peroxyl โดยมีกลไก 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans และคณะ, 1996)

2.4.1.4 ฟลาโวนอยด์ (ไบโอฟลาโวนอยด์)

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

ก) แอนโธไซยานิน แอนโธคลอร์ส และออโรนัส

แอนโธไซยานินเป็นรงค์วัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงินขึ้นกับชนิดของพืช พบใน บลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโธคลอร์ส เป็นรงค์วัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้ (Buhler และ Miranda, 2000)

ข) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (flavonones) ฟลาวาน-3-ออล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และไดไฮโดรชาล์โคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้มได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ (Buhler และ Miranda, 2000)

ค) ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols)

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

ง) ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid)

พบมากในพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone) เทอโรคาร์แปนส์ (terocarpans) ไอโซฟลาวาน (isoflavans) และโรทีนอยด์ (rotenoid) ได้ โดยทั่วไปจะรวมถึง เจนีสทีน (genistein) ไบโอชานิน เอ (biochanin a) และไดด์ซีน (daidzein) (Buhler และ Miranda, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ) แทนนิน (tannin)

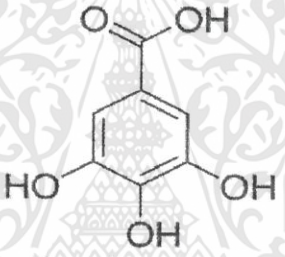
แทนนินหรือโปรแอนโธไซยานิดินเป็นสารประเภทโพลีฟีนอล (polyphenols) แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชันได้ เนื่องจากสามารถจับกับโปรตีน (Buhler และ Miranda, 2000)

2.4.2 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาติ นำมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดี

2.4.2.1 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)

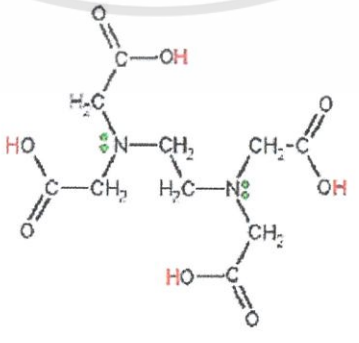


รูปที่ 2.23 โครงสร้างของกรดแกลลิก

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

2.4.2.2 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

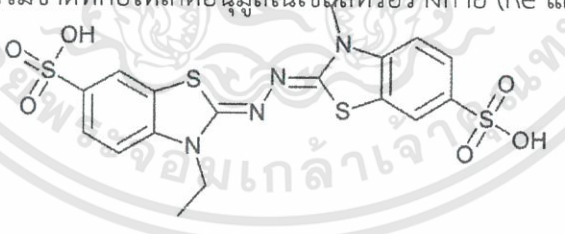
อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลากหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์และทำให้เกิดโรคต่างๆตามมา อนุมูลที่สำคัญ ได้แก่ Superoxide radical, Hydroxyl radical, สารอัลดีไฮด์ต่างๆที่เกิดจากกระบวนการ Lipid peroxidation จึงมีการคิดวิธีการสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง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

2.4.3.1 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 $ABTS^{+\bullet}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า ถึง เขียว มี λ_{max} ที่ 660, 734 และ 820 nm แต่ส่วนใหญ่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^{+\bullet}$ ให้เป็น 0.700±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้ $ABTS^{+\bullet}$ 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 $ABTS^{+\bullet}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชันอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือ 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)

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

อนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม สามารถวัดโดยการใช้เครื่องวัดค่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

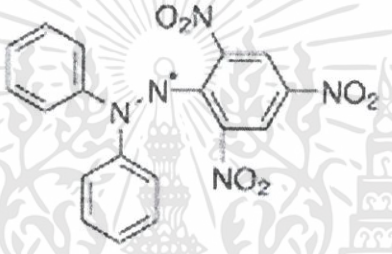
ดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Hou และคณะ, 2001)

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH$^{\bullet}$ มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Blois, 1958)

$$\underset{\text{สีม่วง}}{DPPH^{\bullet}} + \underset{\text{ตัวอย่างทดสอบ}}{RH} \longrightarrow \underset{\text{สีเหลือง}}{DPPH\text{-}H + R^{\bullet}}$$

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$^{\bullet}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ (Blois, 1958)

2.4.3.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

Hydroxyl radical (OH$^{\bullet}$) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย โดยการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer และคณะ, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH$^{\bullet}$ radical โดย 2 กลไก ได้แก่

ก) ปฏิกิริยาของไอออนโลหะทรานซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

โลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ OH$^{\bullet}$ แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ OH$^{\bullet}$ โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction (Ohkawa และคณะ, 1979) ดังสมการ

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{2+} + OH^{\bullet} + OH^{-} \text{ (Fenton reaction)}$$

ข) การแตกตัวของน้ำ เนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ

$$H_2O + h\nu \longrightarrow H_2O^{+\bullet} + e\text{-}$$
$$H_2O^{+\bullet} + H_2O \longrightarrow OH^{\bullet} + H_3O^{+}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง $OH^{\cdot}$ radical ของสารตัวอย่างต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพู เมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง $OH^{\cdot}$ 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 ลิปิด 2 ชั้น การเกิดลิปิดออกซิเดชันกับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ทั้งยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่มีการฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก Lipid peroxidation ได้แก่ สารจำพวกไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน เพนเทน และอีทีน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอน-ไดอัลดิไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) Lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้นและการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิปิดและทำให้เกิดอนุมูลลิปิด ($L^{\cdot}$ หรือ $R^{\cdot}$) (โอภาและคณะ, 2550)

2.4.3.4 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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.5 วิธี Metal chelating activity

การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัสหรือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) 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

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

2.4.3.6 วิธี Superoxide radical scavenging

Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้น ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากจะทำให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้ว ฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นด้วย แต่ตัวของ $O_2^{\cdot-}$ จะมีความว่องไวน้อยกว่า $OH^{\cdot}$ ซึ่งการเกิด $O_2^{\cdot-}$ (Nikishimi และคณะ, 1972) เป็นดังสมการ

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-}$$

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \; H_2 \longrightarrow O_2 + O_2$$

เมื่อ $O_2^{\cdot-}$ ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 จะทำให้เกิด $OH^{\cdot}$ ได้ทำการเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber-Weiss reaction (Nikishimi และคณะ, 1972) ดังสมการ

$$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 + H^+ \longrightarrow OH^{\cdot} + O_2 + H_2O$$

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

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

2.4.3.7 วิธี Reducing power

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการจะทดสอบสามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN^{-})_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^{-})_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโน-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง คือ ผลไม้จำนวน 15 ชนิด จากตลาดสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และจากตลาดในกรุงเทพและปริมณฑล ได้แก่

ตารางที่ 3.1 ผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	พันธุ์	ชื่อสามัญ	วงศ์	ส่วนที่นำมาใช้
Ananas comosus L. Merr	สับปะรด	ศรีราชา	Pineapple	Bromeliaceae	เปลือก
Carica papaya L.	มะละกอสุก	แขกดำ	Papaya	Caricaceae	เปลือก
Citrus Japonica Thunb.	ส้ม	แมนดาริน	Kumquat	Rutaceae	เปลือก
Citrus maxima (Burm.) Merr.	ส้มโอ	ทองขาว	Pommelo	Rutaceae	เปลือก
Diospyros kaki	ลูกพลับ	ฟูยุ	Persimmon	Ebenaceae	เปลือก
Durio zibthinus Murray	ทุเรียน	หมอนทอง	Durian	Malvaceae	เปลือก
Eugenia Javanica Lamk	ชมพู่	ทับทิมจันทร์	Rosoe Apple	Myrtaceae	เปลือก
Hylocereus undatus (Haw) Britt. & Rose	แก้วมังกร	เนื้อแดง	Dragon fruit	Cactaceae	เปลือก
Malus domestica	แอปเปิ้ล	ฟูจิ	Apple	Rosaceae	เปลือก
Momordica cochinchinensis (Lour.)	ฟักข้าว	เวียดนาม	Sweet Gourd	Cucurbitaceae	เปลือก
Muntingia calabura L.	ตะขบ	ฝรั่ง	Jamalcan	Muntingiaceae	ผล
Musa (AAA group) *"Kluai Hom thong"*	กล้วย	หอมทอง	Gros Michel	Musaceae	เปลือก
Pithecellobium dulce	มะขามเทศ	ฝักหวาน	Manila Tamarind	Fabaceae	เปลือก
Punica granatum L.	ทับทิม	อินเดีย	Punica apple	Punicaceae	เปลือก
Vitis vinifera 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 บริษัทเบรนเทค อินกรีเดียน ประเทศไทย (Brenntag Ingredients (Thailand) Public Company Limited) ที่อยู่ 1168/98-100 ตึกลุมพินีทาวน์ ชั้น 33 ถนนพระราม 4 ทุ่งมหาเมฆ สาธร กรุงเทพมหานครฯ 10120

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 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) เอนไซม์โปรติเอส (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 สารละลายเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 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% Borlic 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 ลูปเขี่ยเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (TE214S, Sartorius, Germany) ตู้อบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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) เครื่องสเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) เครื่องเขย่า (shaker, Gallenkamp, United Kingdom) ไมโครปิเปตปริมาตร 500-5,000 ไมโครลิตร (eppendrof, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 100-1,000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 2-20 ไมโครลิตร (Thermo Scentific, USA) ฟิลเตอร์ ครูซิเบิล 50 มิลลิลิตร(Frilter Crucible Vacuum flack 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) เครื่องตีป่น (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) ถ้วยชิมพลาสติก ปริมาตร 4 ออนซ์ (ประเทศไทย) เทอร์โมมิเตอร์ เครื่องกวนสาร (Magnetic sterrier, IKA c-mag HS 10, China) ฟลากส์กลั่นโปรตีน (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 ชมพู่ทับทิมจันทร์ ตะขบ ทุเรียนหมอนทอง ทับทิม ฟักข้าว มะขามเทศ สับปะรดศรีราชา ส้มแมนดาริน องุ่นแดงนอก แอปเปิ้ลฟูจิ มะละกอสุก ส้มโอ เริ่มจากการนำเปลือกผลไม้เหล่านี้ ยกเว้นตะขบที่ใช้ทั้งลูกมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยการอบในตู้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เมื่อเปลือกและผลของผลไม้แห้งแล้วนำมาปั่นให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

assay ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และปริมาณใยอาหารทั้งหมด

3.2.2 การศึกษาสมบัติทางพฤษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

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 ผสมให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 7H_2O$) ความเข้นข้น 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) ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยทำการเจือจางเป็น 7 ระดับ คือ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำมาทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารตัวอย่างรายงานผลเป็นหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II) /g extract)

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 100ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป แล้วเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ส่วนแบลงค์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวาดกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง 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 จากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์โดยทำการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase from porcine pancreas, Sigma, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (mM) ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric method) ตามวิธีการในข้อ 3.2.2.3 ก.) โดยทำตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้นจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรนี้

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) – ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) ตามวิธีการทดลองของ Dubois และคณะ (1956) ปิเปตสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ที่มาย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (PANREAC QUIMICA, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรตามลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRëC, 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) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวนหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract)

จากผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้ จะพิจารณาจากสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้มีปริมาณสูง 5 อันดับแรกนำมาทำการทดลองขั้นต่อไป

3.2.3 การศึกษาผลของผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลของการเติมผลแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในเปลือกผลไม้ที่มากที่สุด 5 อันดับแรกมาทำการประยุกต์ลงในโยเกิร์ตโดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.2.3.1 การเตรียมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

นำเปลือกและผลของผลไม้ที่ถูกคัดเลือกแล้วว่ามีปริมาณของใยอาหารสูงที่สุด 5 อันดับแรกมาล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจนแห้ง จากนั้นนำมาทำให้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น และร่อนด้วยตะแกรงเพื่อทำให้มีขนาดเล็ก แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.2.3.2 การผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักขั้นแรกได้นำน้ำนมพร่องมันเนยตราเมจิ ปริมาตร 2,500 มิลลิลิตรที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 0 และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 11.838 นำไปทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมด้วยหางนมผงปริมาตรร้อยละ 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 ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณความชื้น และเฉพาะตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักที่เวลา 24 ชั่วโมง นำมาหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ดังต่อไปนี้

ก) การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด

การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดด้วยวิธี spiral plate ทำได้ดังนี้ โดยนำตัวอย่างโยเกิร์ต 10 กรัม มาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่น (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 ทำการนับจำนวนโคโลนี และคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (CFU/g)

ข) การวัดค่าความเป็นกรดด่าง

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

ค) การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมด

การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมดทำตามวิธีการของ AOAC (2006) โดยการนำตัวอย่างโยเกิร์ตปริมาณ 1 กรัมผสมกับน้ำปราศจากคาร์บอน 9 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นร้อยละ 0.1 เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วนำมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งถึงจุดยุติเปลี่ยนเป็นสีชมพู จดปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้ในการไตเตรทเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรดแลคติก

สูตรคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

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

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 จากนั้นนำเอาออกมาใส่ในเดสิเคเตอร์เพื่อดูดความชื้น และทำการอบซ้ำอีกครั้งเพื่อให้อุณหภูมิคงที่ นำเอาตัวอย่างโยเกิร์ตที่ต้องการหาความชื้นมาชั่งน้ำหนัก 2 กรัม แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบมาใส่เดสิเคเตอร์เพื่อดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก moisture can พร้อมตัวอย่าง อบซ้ำจนอุณหภูมิคงที่ แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

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

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

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธีของ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9 point hedonic scale เป็นการทดสอบการยอมรับหรือระดับความพึงพอใจของผู้ทดสอบ ซึ่งให้ 1 คือ ระดับคะแนนที่ไม่ชอบมากที่สุดจนถึง 9 คือ ระดับคะแนนที่ชอบมากที่สุด

3.2.2.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ ของจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด ปริมาณความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และ การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนท์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22.0 (IBM, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ทั้ง 14 ชนิด และผลของตะขบ ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยที่จะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งจะมีสีเป็นสีน้ำเงินอมม่วง โดยสีน้ำเงินอมม่วงนั้นเกิดจากอะตอมของเหล็กในสารเฟอริก จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็นสารเฟอรัส ถ้าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นยิ่งมีสีเข้มขึ้นจะหมายความว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์สูง จะแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะยิ่งมากขึ้นเช่นกัน จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิมซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.59 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์รองลงมาเป็นอันดับ 2 ถึง 5 คือ สารสกัดจากเปลือกมะขามเทศ สารสกัดจากผลตะขบ เปลือกส้มแมนดาริน และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.81, 0.46, 0.38 และ 0.26 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไม่สูงมากนัก ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกสับปะรดศรีราชา ส้มโอ องุ่นแดงนอก ฟักข้าว แก้วมังกรแดง ลูกพลับ ทุเรียนหมอนทอง กล้วยหอม มะละกอสุก และชมพู่ทับทิมจันทร์ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ในช่วง 0.25 ถึง 0.01 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานที่ใช้ คือ บิวทิล ไฮดรอกซี่ โทลูอีน (Butylated hydroxyl toluene) หรือ BHT ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.65 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด 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 ฟักข้าว สับปะรดศรีราชา กล้วยหอม มะละกอสุก ทุเรียนหมอนทอง แอปเปิ้ลฟูจิ ชมพู่ทับทิมจันทร์ องุ่นแดงนอก และลูกพลับ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 34.51 ถึง 7.60 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ได้พบว่าสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่เปลือกทับทิมมีปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน

การศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง ซึ่งจากการวิจัยของ Manasathien และคณะ (2011) ที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 451.96 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 49.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธี FRAP method นอกจากนี้ยังมีการวิจัยของ Kanatt และคณะ (2010) ที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยน้ำกลั่น พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 161.25 มิลลิกรัม catechin equivalent ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของสารสกัด ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อให้ได้สารประกอบฟีนอลิกถูกสกัดออกมาในปริมาณสูงสุด มีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องคือ ชนิดของตัวทำละลาย (เช่น เอทานอล เมทานอล และน้ำ) หรืออัตราส่วนของตัวทำละลายที่ผสมกับขนาดอนุภาคของวัสดุจากพืช อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับวัสดุจากพืชที่ใช้ รวมทั้งอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด การใช้เอทานอลและน้ำในการสกัด แม้ว่าจะทำให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าการใช้เมทานอล แต่การใช้เอทานอลและน้ำในการสกัดสารฟีนอลิกจากพืชปลอดภัย เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ใช้กับอาหารได้ (Akhtar และคณะ, 2015) Tabaraki และคณะ (2012) ได้ใช้อุลตร้าโซนิคร่วมกับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกทับทิมโดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 ผสมกับน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น (8,673.87 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมและมีอัตราผลได้ในการสกัด (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) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเมทา-นอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 104.6 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และได้จำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเมทา-นอล 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) salycilic acid (1.641 มิลลิกรัมต่อกรัม) cinnamic acid (1.537 มิลลิกรัมต่อกรัม) gallic acid (1.398 มิลลิกรัมต่อกรัม) pyrogallol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(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 อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะขามเทศยังไม่เคยมีการศึกษาไว้ แต่มีการรายงานเฉพาะในเนื้อ (pulp) ของผลสุกจากมะขามเทศ และในมะขามเทศทั้งผลเท่านั้น Kubola และคณะ (2011) ได้รายงานว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อของผลสุกของมะขามเทศที่สกัดด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 มีค่าเท่ากับ 0.92 มิลลิ-โมลเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัดด้วยวิธี FRAP method และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 3.85 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมของสารสกัด ส่วน Megala และ Geetha (2010) ได้รายงานว่าสารสกัดจากผงแห้งจากมะขามเทศทั้งผลที่ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 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-cormaric acid 12.36 มิลลิกรัมต่อกรัม และ ferulic acid 12.35 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากสารโพลีฟีนอลเป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติโดยเฉพาะในพืช ได้แก่ phenolic acids, flavonoids, stilbenes, lignans และtannins ซึ่งจะช่วยในการชะลอการเสื่อมสภาพของหลอดเลือดและปรับปรุง การเสื่อมสภาพของที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของหลอดเลือดโดยการยับยั้งการเกิด oxidative stress หรือสภาวะความเครียดออกซิเดชัน และการอักเสบ รวมทั้งลดอัตราเสี่ยงในการเกิดหัวใจขาดเลือด (Du และคณะ, 2016)

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากตะขบมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kubola และคณะ (2011) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยทำการสกัดตะขบ (*Muntingia calabura* Linn.) ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ซึ่งพบว่าสารสกัดจากตะขบมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 6.83 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

สารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปานกลาง Casquete และคณะ (2015) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดาริน่ที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 530.05 มิลลิกรัมกรดแกลลิก100 กรัมของเปลือกสด และจากการทดลองของ Li และคณะ (2006) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 72 พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มแมนดารินมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ1.271 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อ 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 สารประกอบฟลาโวโนนด์ (flavanone) เช่น naringin (0.54 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) hesperidin (29.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) และneohesperidin (0.11 มิลลิกรัมต่อกรัมของเปลือกส้มแห้ง) สารประกอบฟลาโวนด์ (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 chlorgenic 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารประกอบฟลาโวนอยด์มีกลุ่ม phenolic hydroxyl ที่จะคอยยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันโดยอัตโนมัติ (Du และคณะ, 2016)

สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง และมีสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างน้อย ซึ่งจากการรายงานของ Vieira และคณะ (2011) ที่ได้ทำการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแอปเปิ้ลฟูจิที่สกัดด้วยสารละลายอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 907.41 ไมโครโมล-ทรอลอกซ์ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 499.22 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนสารสกัดจากเนื้อแอปเปิ้ลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิระด้วยวิธี FRAP method เท่ากับ 155.64 ไมโครโมลทรอลอกซ์ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 137.47 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด Veberic และคณะ (2005) จึงได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกและเนื้อของแอปเปิ้ลฟูจิ ด้วยวิธีด้วยวิธี High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกทับทิมประกอบด้วย 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-rhamnozide (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) และphloridzin (0.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด) ซึ่งจะเห็นได้ว่าในเปลือกแอปเปิ้ลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเนื้อแอปเปิ้ล

4.1.3 ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เป็นการหาปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ถ้าหลังจากการย่อยแล้วยังเหลือสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณมาก แสดงว่าสารสกัดชนิดนั้นมีความสามารถในการทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณสูงที่สุด คือ สารสกัดจากเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคา-ไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 425.03 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1) ส่วนมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์รองลงมาอันดับที่ 2 ถึง 5 คือ สารสกัดจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ สัปปะรดศรีราชา ทุเรียนหมอนทองลูกพลับ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 239.44, 211.44, 67.23 และ 52.27 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไม่สูงมากนัก ได้แก่ สารสกัดจากผลตะขบ สารสกัดจากเปลือกทับทิม องุ่นแดงนอก ส้มโอ มะขามเทศ ฟักข้าว กล้วยหอม แก้วมังกร ส้มแมนดาริน และมะละกอสุก ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 50.99 ถึง 1.29 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

พรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ถูกย่อยซึ่งส่งผลต่อร่างกายโดยช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือกิจกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ สารที่จัดเป็นสารพรีไบโอติกจะต้องไม่ถูกไฮโดรไลซ์หรือดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนต้น เป็นซับสเตรตที่ถูกคัดเลือกโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียนี้และสามารถเปลี่ยนแปลง colonic flora ในทางที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (non-digestible carbohydrate) เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ เปปไทด์ โปรตีนบางชนิด และไขมันบางชนิดทั้งประเภทอีเทอร์และเอสเทอ เป็นเพราะโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ทำให้ไม่ถูกดูดซึมในส่วนบนของระบบทางเดินอาหารหรือไม่ถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ย่อยอาหารของมนุษย์สารนั้นเรียกว่า colonic food เช่น อาหารเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และเป็นซับสเตรตสำหรับแบคทีเรีย ดังนั้นจึงให้พลังงานเมเทบอลิกซับสเตรต และสาร micronutrient ที่จำเป็นแก่ร่างกาย (Gibson และ Roberfroid, 1995) ซึ่งโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยเป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ในธรรมชาติสารนี้เป็น intermediate ระหว่าง simple sugar และโพลีแซคคาไรด์ โดยสารเหล่านี้มีสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติทางสรีรวิทยาที่สำคัญซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารกันมากขึ้น นอกจากนี้สมบัติดังกล่าวยังรวมไปถึงการไม่ทำให้ฟันผุ ให้พลังงานน้อย และสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ และยังเกี่ยวข้องกับการลดความเสี่ยงในการติดเชื้อและเป็นโรคอุจจาระร่วง และช่วยปรับปรุงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ยิ่งกว่านั้นการลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ซึ่งมีสาเหตุมาจากการหมักของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย เป็นผลให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคลดลง และยังช่วยเพิ่มประชากรของ bifidobacteria และช่วยเพิ่มความสามารถในการเอาแร่ธาตุที่ไปใช้ (Mussatto และ Mancilha, 2007) ดังเช่นการรายงานของ Wichienchot และคณะ (2010) พบว่าสารสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อแก้วมังกรขาวส่งผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ทำให้จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 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 ผลอ่อนและเนื้อของปาล์ม (palm fruit) เปลือก เนื้อและเมล็ดของขนุน (jackfruit) เนื้อเงาะ (rambutan) เนื้อจำปะดา (jampadah) เนื้อมะพร้าวอ่อน (young coconut) และฝักกระเจี๊ยบ (okra pod) มีปริมาณ indigestible polysaccharide อยู่ในช่วง 334.87 ถึง 705.80 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง ซึ่งสารสกัดเหล่านี้ทั้งหมดสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ได้ โดยมีสารสกัด 8 ชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และมี 4 ชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* ซึ่งมีสารพรีไบโอ-ติกทางการค้าที่กระตุ้นเจริญเติบโตของเชื้อ bifidobacterium ได้แก่ อินนูลิน (inulin) โอลิโก-ฟรุกโตส (oligofructose) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) กาแลคโตโอลิโกแซค-คาไรด์ (galactooligosaccharide) เจนทิโอโอลิโกแซคคาไรด์ (gentiooligosaccharide) ไอโซมอล-โตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomaltooligosaccharide) แลคโตซูโครส (lactosucrose) แลคโทโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากเปลือกและผลของผลไม้ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ยังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูงมาจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากผลตะขบ สารสกัดจากเปลือกทับทิม ชมพู่ทับทิมจันทร์ 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		
สัปปะรดศรีราชา	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
ชมพู่ทับทิมจันทร์	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 เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ ชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมผงแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากเปลือกและผลของผลไม้ และ ชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 6.28 ถึง 6.59 log CFU ต่อกรัม หลังจากบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้ว พบว่าจำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีจำนวนเพิ่มขึ้นมากที่สุดจากจำนวนเซลล์เริ่มต้น คือ มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.07 log CFU ต่อกรัมส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.73 ถึง 1.89 log CFU ต่อกรัม และเมื่อทำการหมักครบ 24 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรด-แลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์เริ่มต้น 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 และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีจำนวนเซลล์มากกว่าจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 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}
แอปเปิ้ลฟูจิ	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 ซึ่งเป็นสารพรีไบโอติก โดยสารสกัดจากเปลือกทับทิมจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค แต่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่นเดียวกับ Bialonska และคณะ (2009) ได้พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมัก

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวก คือ โยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด และชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่ทำการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วง 6.22 ถึง 5.97 หลังจากการหมักโยเกิร์ตทุกชุดค่าพีเอชมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นหลังจากบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าค่าพีเอชของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ มีค่าพีเอชลดลงมากกว่าโยเกิร์ตทุกชุด คือ พีเอชลดลง 2.32 ส่วนโยเกิร์ตที่มีค่าพีเอชลดลงรองลงมา คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมใยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีค่าพีเอชลดลง 2.28 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีค่าพีเอชที่ไม่ลดลงมากนัก ได้แก่ ผลของตะขบ เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ และ เปลือกทับทิม ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.14 ถึง 1.94 เมื่อหมักถึงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชต่ำลงอีก โดยโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และ โยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีค่าพีเอชลดลงเท่ากับ 2.61 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีค่าพีเอชลดลงไม่มากนัก ได้แก่ เปลือกทับทิม ชมพู่ทับทิมจันทร์ และมะขามเทศ ซึ่งมีค่าพีเอชที่ลดลงเท่ากับ 2.49, 2.43 และ 2.40 ตามลำดับ และโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากผลตะขบซึ่งมีค่าพีเอชลดลงน้อยที่สุด คือ ลดลง 2.30 ซึ่งค่าพีเอชลดลงน้อยกว่าชุดควบคุม โดยชุดควบคุมมีค่าพีเอชที่ลดลงเท่ากับ 2.37

สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตพบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 0.30 ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ตัวอื่นๆ สูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุม และโยเกิร์ตชุดควบคุมเชิงบวกที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด โดยโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดรองลงมา คือ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.27 ส่วนโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศ ผลของตะขบ และเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 0.12 ถึง 0.15 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นด้วย โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ มีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นมากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 12 คือ มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.44 รองลงมา คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมใยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.32 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งนั้นมีปริมาณกรดทั้งหมดน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดไม่สูงมากนัก ได้แก่ ผงแห้งจากผลตะขบ เปลือกทับทิม มะขามเทศ แอปเปิ้ลฟูจิ และชมพู่ทับทิมจันทร์ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1.11 ถึง 1.26 และในชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 2.52 ส่วนโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นไม่มากนัก ได้แก่ ผลของตะขบ เปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชมพู่ทับทิมจันทร์ ทับทิม มะขามเทศ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วงร้อยละ 2.22 ถึง 1.80

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ พบว่าในชั่วโมงที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างนั้น โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่พบว่าในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงมากที่สุดเช่นกัน

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	ปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ± SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
ชุดควบคุม[x]	6.17 ± 0.01[b]	3.85 ± 0.03[ab]	3.80 ± 0.01[b]
ข้าวโพด[y]	6.22 ± 0.01[a]	3.94 ± 0.01[ab]	3.61 ± 0.01[a]
ทับทิม	6.01 ± 0.02[d]	3.93 ± 0.02[c]	3.52 ± 0.01[d]
มะขามเทศ	5.97 ± 0.01[e]	4.03 ± 0.01[d]	3.57 ± 0.02[e]
ตะขบ	5.97 ± 0.01[de]	4.03 ± 0.01[bc]	3.67 ± 0.01[c]
แอปเปิ้ลฟูจิ	6.07 ± 0.03[c]	3.96 ± 0.05[a]	3.46 ± 0.02[b]
ชมพู่ทับทิมจันทร์	6.19 ± 0.02[ab]	4.05 ± 0.02[d]	3.76 ± 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 ± SD		
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24
ชุดควบคุม[x]	0.18 ± 0.09[bc]	1.62 ± 0.09[a]	1.98 ± 0.09[b]
ข้าวโพด[y]	0.18 ± 0.00[bc]	1.50 ± 0.13[ab]	2.34 ± 0.63[ab]
ทับทิม	0.30 ± 0.05[a]	1.56 ± 0.02[ab]	2.52 ± 0.09[a]
มะขามเทศ	0.12 ± 0.05[c]	1.32 ± 0.01[cd]	2.34 ± 0.09[ab]
ตะขบ	0.12 ± 0.05[c]	1.23 ± 0.05[d]	2.31 ± 0.10[ab]
แอปเปิ้ลฟูจิ	0.27 ± 0.09[ab]	1.44 ± 0.09[bc]	2.79 ± 0.09[a]
ชมพู่ทับทิมจันทร์	0.15 ± 0.05[c]	1.32 ± 0.05[cd]	1.95 ± 0.05[b]

x คือ โยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

y คือ โยเกิร์ตที่เติมเส้นใยที่ละลายได้จากข้าวโพด (ชุดควบคุมเชิงบวก)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ปริมาณความชื้นของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลของตะขบ เปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ และเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ 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 เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ เปลือกมะขามเทศ และเปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ ด้วยวิธี FRAP method จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 2.25 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต (ตารางที่ 4.5) ส่วนโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้ที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไม่สูงมากนัก ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศ เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ ผลของตะขบ และเปลือกแอป-เปิ้ลฟูจิ ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 1.08, 1.05, 0.80 และ 0.70 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต ตามลำดับ ซึ่งในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่มีการเติมสารใดๆและชุดควบคุมเชิงบวกที่มีการเติมใยอาหารจากข้าวโพด ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.38 และ 0.58 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ต ตามลำดับ

4.2.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งเปลือกและผลของผลไม้

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

จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method มีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้ง โดยโยเกิร์ตที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง คือ โยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ ปริมาณความชื้น ในโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งจากเปลือกและผลของผลไม้

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
ชมพู่ทับทิมจันทร์	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 เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ และผลของตะขบ พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชื่นชอบโยเกิร์ตทุกชุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งคะแนนความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด และผงแห้งจากเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์มีค่าสูงที่สุดประมาณ 5.40 และโยเกิร์ตที่มีการเติมผลตะขบมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 4.80

ด้านลักษณะที่ปรากฏของโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 7.12 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์มีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตที่ผงแห้งเติมจากเปลือกมะขามเทศไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับโยเกิร์ตทุกชุด

ด้านสีของโยเกิร์ตในชุดควบคุมมีค่ามากที่สุดประมาณ 7.06 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์มีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.05 โดยโยเกิร์ตชุดควบคุมทั้งสองชุดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับโยเกิร์ตที่มีการเติมผงแห้งทุกชุด

ด้านกลิ่นของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 6.42 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ด้านความเปรี้ยวของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพดมีค่ามากที่สุดประมาณ 6.42 และโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกมะขามเทศมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 5.37 โดยโยเกิร์ตทุกชุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความหวานของโยเกิร์ตในโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิมและเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์มีค่ามากที่สุดประมาณ 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}
แอปเปิ้ลพูจิ	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}
ชมพู่ทับทิมจันทร์	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 ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้งนั้น แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

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

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

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

จากผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากเปลือกทับทิม เปลือกมะขามเทศ เปลือกแอปเปิ้ลฟูจิ เปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์ และผลของตะขบ พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมใยอาหารจากข้าวโพด และผงแห้งจากเปลือกชมพู่ทับทิมจันทร์มีค่าสูงที่สุดประมาณ 5.40 และโยเกิร์ตที่มีการเติมผลตะขบมีค่าน้อยที่สุดประมาณ 4.80

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดและผงแห้งของเปลือกและผลของผลไม้ที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคา-ไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และปริมาณใยอาหารทั้งหมด ไปแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น โยเกิร์ตที่เติมผงแห้งจากผลไม้ จะช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย ช่วยในการชะลอวัย และโรคอื่นๆ ส่วนในการทำโยเกิร์ตนั้นอาจทำการปรับปรุงเรื่องสี กลิ่น เนื้อสัมผัสและรสชาติของโยเกิร์ตให้ดียิ่งขึ้น หรืออาจดัดแปลงเป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในรูปแบบอื่นๆเพื่อความหลากหลายในการเลือกรับประทาน เช่น นำไปดัดแปลงเป็นโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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., Fraternale, 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., Martín, 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 Biosciense, 12,* 18-25. DOI: 10.1016/j.fbio.2015.07.002.

Chouchouli, V., Kalogeropouls, 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: 10.1016j.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., Boloor, 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, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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., & Màrtín-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., & Ibrahium, 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. *Veterinární 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

Kubáĉek, 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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-medicial 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 acitivities 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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-Rualt, 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-Raventor, 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัตินักวิจัย

1. รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

2. หน่วยงานที่สังกัดและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถ. ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทรศัพท์: (02) 3298000 ต่อ 6264, 6225, 6226 โทรสาร: (02) 3298427

E-mail: snanasombat@gmail.com

3. ประวัติการศึกษา

- สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วุฒิ วท.บ.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)

- สำเร็จการศึกษาปริญญาโท จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วุฒิ วท.ม.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)

- สำเร็จการศึกษาปริญญาเอก จาก University of Georgia ประเทศสหรัฐอเมริกา

วุฒิ Ph.D. (Food Science)

4. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
จุลชีววิทยาทางอาหาร

ผลงานวิจัยตีพิมพ์

Nanasombat, S., Phunpruch, S. and Charoenrak, N. 2016. Bacteriocins from *Lactobacillus* strains and their anti-*Listeria monocytogenes* in Nham, a Thai fermented pork. KMITL Science and Technology Journal. 16 (2): 43-48.

สุรีย์ นานาสมบัติ นพพร กิตติศุภมงคล นุชนาฏ หมั่นพลศรี และ ปณิธาน กัณหา 2559. การปนเปื้อนของเชื้อราในถั่วลิสงและการควบคุมโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจาก เครื่องเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 44(1): 43-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nanasombat, S., Thonglong, J. and Jitlakha, J. 2015. Formulation and characterization of novel functional beverages with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities. Functional Foods in Health and disease. 5 (1): 1-16.

Nanasombat, S., Bubpasawa, T., Tamaput, N. and Srimakhan, Y. 2014. Antimicrobial activity of Thai medicinal plants against beverage spoilage microorganisms and their potential in retarding Alzheimer's disease progression. Pharmacognosy Communications. 4 (3): 77-87.

Nanasombat, S., Tussanasirikul, J., Khiawdang, T. and Payuyong, T. 2013. Antioxidant Activity of Thai medicinal plant essential oils and their application in repeated frying palm oil In: the Proceeding of the 1st National Conference and the 5th RMUTI Surin Seminar "Research, Development, Technology and Organic Agriculture forward to ASEAN" (pp. 459-470), March 21-22, 2013, Ajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin, Thailand.

Nanasombat, S. , Potiraj, N., Sanma, P., Watthanon Hapermpool, W. and Sirisornchai, S. 2013. Detection of the contamination of *Vibrio parahaemolyticus* from raw seafood sold in some Bangkok freshfood market and thermal inactivation study. In: the Proceeding of the National Conference of Taksin University: Green Society: Food and Energy Security" (pp. 910-917), May 22-25, 2013, the 60th Anniversary of his Majesty the King's Accession to the Throne International Convention Center, Songklanakarin University, Hat Yai, Thailand.

Nanasombat, S., Armeen, W. and Arkom, O. 2013. Use of Thai local vegetable extracts as natural preservatives in dried sausage system. Pharmacognosy Communications. 3 (1): 37-45.

Nanasombat, S. and Charoenrak, N. 2012. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from meat products and their applications as biopreservative. In: the Proceeding of the 38th congress on Science and Technology of Thailand (pp. 1-6), October 17-19, 2012, Empress Convention Centre, Chiang Mai, Thailand.

Nanasombat, S., Adisornkasem, N., Thammajit, P. and Cheangkrajang, S. 2012. Decreasing of postharvest fungal rotting in chilli by organic acid salts. Nakorn Phanom University Journal. Special issue: 272-279.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nanasombat, S. and Wimuttikosol, P. 2012. Control of *Salmonella* Rissen and *Staphylococcus aureus* in fermented beef sausage by a combination of cinnamon and mace oils. Kasetsart Journal (Natural Science) 46: 620-628.

Nanasombat, S., Phunpruch , S. and Jaichalad, T. 2012. Screening and identification of lactic acid bacteria from raw seafoods and Thai fermented seafood products for their potential use as starter cultures. Songklanarin Journal of Science and Technology. 34(3): 255-262.

Nanasombat, S., Khanha, K., Phan-im, J., Jitaied, J., Wannasomboon, S., Patradisakorn, S. and Wongsil, A. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of Thai local fruit extracts: application of a selected fruit extract, *Phyllanthus emblica* Linn. as a natural preservative in raw ground pork during refrigerated storage. The Online Journal of Science and Technology. 2(1): 1-7.

Nanasombat, S and Charoenrak, N. 2012. Characterization of lactic acid bacteria and coagulase negative staphylococci isolated from raw meat and cured meat products. Asean Journal of Food and Agro-industry. 5(6): 531-539.

Nanasombat, S., Rattanawaraha, J., Vichakij, N., Wuttuna-ieppun, W. 2011. Microbiological quality of Thai chilli paste products and control of *Staphylococcus* by cinnamon oil in combination with potassium sorbate. In: The proceeding of The 2nd International Food Safety and Zoonoses Symposium for Asia Pacific. July 21-22, 2011, Holiday Inn Chiang Mai Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Nanasombat, S. and Wimuttikosol, P. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of spice essential oils. Food Science and Biotechnology. 20(1): 45-53.

Nanasombat, S., Pannakan, K., Wanwong, N. and Nuntarat Mankong, N. 2010. Screening and identification of lactic acid bacteria isolated from freshwater fish. In: Proceeding of the International Conference on Biotechnology for Healthy Living, October 20-22, 2010. Songklanakarin University, Trang Campus, Thailand.

Nanasombat, S., Piumnoppakun, N., Atikanbodee, D. and Rattanasuwan, M. 2010. Combined effect of cinnamon essential oil and water activity on growth inhibition of *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus flavus* and possible application on extending shelf-life of bread. In: Proceeding of the Tenth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW10). Septemper 2-7, 2007. Wiley-Blackwell Publishing.

Nanasombat, S. and Teckchuen, N. 2009. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. Journal of Medicinal Plants Research. 3(5): 443-449.

Nanasombat, S. and Chooprang, K. 2009. Control of pathogenic bacteria in raw pork using organic acid salts in combination with freezing and thawing. Kasetsart Journal Natural Science 43 (3): 576-583.

Nanasombat, S., Phunpruch, S., Sriwong, N., Jaichalad, T., Onnom, W. and Odthon, S. 2008. Characterization of the antibacterial activity and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from raw fish and Nham-Plaa. Kasetsart Journal Natural Science 42(4): 747-757.

Nanasombat, S. and Sriwong, N. 2007. Improving viability of freeze-dried lactic acid bacteria using lyoprotectants in combination with osmotic and cold adaptation. KMITL Science and Technology Journal 7(S1): 61-69.

Nanasombat, S., Kaewkan, K., Chanapart, P. and Ketchan, S. 2006. Antimicrobial and antioxidant properties of Thai herbal tea extracts. KMITL Science Journal 6 (2b): 642-651.

Nanasombat, S., Yeesibsan, J. and Chouykert, C. 2006. Effect of spice essential oils in combination with sodium lactate and freezing on growth inhibition of *Salmonella* Rissen during fermentation of nham, a Thai fermented pork. GPO Journal 32(2): 4-15.

Nanasombat, S., Pornchaloempong, P., Yangjaroenyuenyong, P., Sribunsong, S. and Sae-ngow, S. 2006. Survival of acid-adapted and microencapsulated probiotic bacteria in salad dressing during refrigerated storage. In: Proceedings of the fourty-fourth Conference of Kasetsart University, pp. 332-339. January 31 2006- February 3, 2006.

Nanasombat, S., and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against salmonellae and other enterobacteria. KMITL Science Journal 5(3): 527-538.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nanasombat, S. and Chooprang, K. 2004. Effect of acid adaptation on survival of *Salmonella* spp. during nham fermentation. Journal of Science Ladkrabang. 13(2): 65-77.

Nanasombat, S. and Frank, J. F. 2004. Survival of *Salmonella* Typhimurium DT104 in dried foods. In: Proceedings of the Tenth International Congress on Culture Collection, Tsukuba, Japan, October 10-15, 2004.

Nanasombat, S. and Frank, J. F. 2003. Heat and osmotic adaptation induced cross-protection of *Salmonella* Typhimurium DT104 against osmotic challenge in dried milk, pp. 86-97. In: Y. Oian (ed.), Biological Control and Bio-technology, Heilongjiang Science and Technology Press, Harbin, China.

Nanasombat, S. 2003. Effect of spices on controlling *Salmonella* in the presence of starter culture during meat fermentation. Research Report. Department of Applied Biology, Faculty of Science, KMITL, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S., Chodchoey, K. and Kunnajuk, C. 2003. Effect of nutrient supplementation on viability of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage. Journal of Science Ladkrabang. 12(2): 46-54.

Nanasombat, S., Siripanpanich, S. and Intrasena, O. 2003. Effect of holy basil extract on growth of lactic acid bacteria in liquid medium and controlling of *Salmonella* Agona during nham fermentation. Journal of Science Ladkrabang. 12(2): 55-66.

Nanasombat, S., Prasertsin, V., Graisin, K., Hla Shain and Thanaboripat, D. 2002. Efficacy of new enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of *Salmonella* in foods. Government Pharmaceutical Organization Report, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S. 1996. Comparison of Rambach agar, MSRV medium and other differential media for detection of *Salmonella* in high a_w foods and low a_w foods. Research Report. Department of Applied Biology, Faculty of Science, KMITL, Bangkok, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nanasombat, S. 1995. Effect of nisin on inhibition of *Salmonella* Enteritidis in egg powders. Srinakharinwirot University Science Journal 11(2): 11-19.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้