คณะเภสัชศาสตร์
ทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์

รายงานผลการวิจัย
การศึกษาผลต่อการดูดซึมสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือก ผลทุเรียนในหลอดทดลอง

โดย
รศ. ดร. อุมันท์ พรษ์สามารถ และ มณีวรรณ ชุจตมทิพย์

มีนาคม 2546

349 ค.1

016370491
I 20584210

คณะเภสัชศาสตร์

ทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์

รายงานผลการวิจัย
การศึกษาผลต่อการดูดซึมสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกผลทุเรียนในหลอดทดลอง

โดย

รศ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ และ มณีวรรณ สุขสมทิพย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2546

ชื่อโครงการวิจัย: การศึกษาผลต่อการดูดซึมสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกผลทุเรียนในหลอดทดลอง

ชื่อผู้วิจัย: ผู้วิจัยหลัก รศ.ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ , ผู้วิจัยร่วม : อาจารย์ มณีวรรณ สุขสมทิพย์

เดือน ปี ที่ทำวิจัยเสร็จ : กันยายน 2545

บทคัดย่อ

ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของเจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) สกัดจากเปลือกของผลทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เพื่อประเมินคุณสมบัติการทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์อัลฟาอมัยเลสและคุณสมบัติการกักเก็บสารลิปิด โดยทำการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่า ผงเจลโพลีแซคคาไรด์พองตัวในน้ำจับเป็นชั้นข้นหนืด 2% ของสารละลาย PG มีค่าความหนืดเท่ากับ 279.36 $\pm$ 25.87 cps. PG ทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์อัลฟาอมัยเลสซึ่งถูกย่อยได้เพียงส่วนน้อยโดยที่โครงสร้างอัลฟาฮิลิคของ PG หายไปจากการตรวจสอบด้วยน้ำยาไอโอดีน หลังการย่อยด้วยเอนไซม์อัลฟาอมัยเลส พบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยมาก ไม่พบน้ำตาล monosaccharides จากการตรวจสอบด้วย O-toluidine test เทียบกับ standard maltose และเทคนิค Thin Layer Chromatography ยังพบว่า PG ทนต่อการไฮโดรไลส์ในกรดเกลือเจือจาง คุณสมบัติการกักเก็บลิปิดของ PG ทำการตรวจสอบในหลอดทดลอง โดยใช้เทคนิค semipermeable membrane dialysis ทดสอบกับลิปิด โคเลสเตอรอล กรดโอเลอิค และกรดสเตียริค โดยใช้ PG ในความเข้มข้น 0-2% ใช้เกลือน้ำดีเป็นสารช่วยลดแรงตึงผิวให้ลิปิดผสมเข้ากันได้ดียิ่งขึ้นกับน้ำและ PG หลังการ dialysis 4-16 ชั่วโมง นำสารละลายลิปิดภายในและภายนอกถุง dialysis membrane มาวิเคราะห์หาปริมาณลิปิดโดยเทคนิค HPLC พบว่า การกักเก็บลิปิดอยู่ภายในเมมเบรนเพิ่มขึ้น และการปลดปล่อยลิปิดออกมาภายนอกเมมเบรนลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ที่ความเข้มข้น 2% PG กักเก็บสารโคเลสเตอรอลได้ประมาณ 80-90 % ผลการทดลองเปรียบเทียบได้กับผลการทดลองเมื่อใช้กลูโคแมนแนนเป็น standard polysaccharide ความหนืดของ PG มีผลต่อการกักเก็บลิปิด การกักเก็บลิปิดใน PG เพิ่มขึ้นเมื่อความหนืดของ PG เพิ่ม การศึกษาผลของ PG ในการกักเก็บโคเลสเตอรอลในไข่แดง พบว่า ให้ผลการทดลองที่คล้ายกัน ส่วนการศึกษาในลำไส้เล็กของหนูขาว ตรวจสอบการปลดปล่อยโคเลสเตอรอลจาก mixture ของ PG กับโคเลสเตอรอลที่ผ่านออกจากผนังลำไส้หนูในหลอดทดลองโดยเทคนิค membrane dialysis พบว่า ได้ผลที่คล้ายกัน โดยพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ PG มีผลให้ลดการปลดปล่อยโคเลสเตอรอลออกจากผนังลำไส้หนู จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า PG มีผลลดการปลดปล่อยลิปิดผ่านออกมาจากผนังลำไส้เล็กของหนู จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้คาดว่า PG อาจจะนำมาใช้ประโยชน์ในการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารควบคุมน้ำหนัก การศึกษาในหลอดทดลองเพื่อตรวจสอบผลของเส้นใยอาหารต่อการดูดซึมไขมันโดยใช้เทคนิค semipermeable membrane dialysis อาจจะนำมาใช้เป็นวิธีการทดลองเพื่อประเมินเบื้องต้นถึงผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อการดูดซึมอาหารพวกลิปิด

Project Title: In vitro study of the effect of polysaccharide from fruit- hulls of durian on lipid absorption

Name of the Investigator: Associate Professor Dr. Sunanta Pongsamart and Lecturer Maneewan Suksomtip

Month/ Year: September 2002

Abstract

Biological properties of polysaccharide gel (PG) extracted from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.) were studied to evaluate its resistance to enzyme α-amylase activity and lipid entrapment property, *in vitro* study was performed. Powder of PG swelled and formed a viscous layer in water, 2%PG solution showed 279.36 ± 25.87 cps. viscosity. PG showed its resistance to α-amylase digestion and PG was only partially digested by the enzyme, α-helical structure of PG disappeared according to iodine solution test; trace amount of reducing sugar without monosaccharides end product after α-amylase digestion was received according to the O-toluidine test compared to maltose standard and TLC technique. PG was also demonstrated resistance against hydrolysis in dilute hydrochloric acid. Lipid entrapment property of PG was investigated *in vitro* by using semipermeable membrane dialysis technique. Lipids, cholesterol, oleic acid and stearic acid; were determined using PG at 0-2% concentration and bile salt being used as an addition surface active agent to help solubilize lipid in water to make homogeneous solution. Lipids in solution inside and outside dialysis membrane were analyzed by HPLC technique after 4-16 hours of dialysis. Increasing trapped lipids inside membrane and decreasing released lipids outside membrane were found with respect to increasing PG concentration. 2% PG trapped about 80-90% cholesterol. This result was found comparable to standard polysaccharide glucomannan. PG viscosity was also effected lipids trapping in PG, trapping of lipids in PG increased with respected to increasing viscosity of PG. PG trapping of cholesterol in egg yolk was also studied, the similar result was obtained. *In vitro* studies of cholesterol releasing from mixture of cholesterol with PG through out the membrane of dissected rat jejunum was performed by using membrane dialysis technique. The similar result was also obtained, increasing concentration of PG resulted in decreasing released cholesterol. The results indicated that PG has an effect to decrease lipids releasing through rat jejunum wall, according to this study, PG has expected to be used in diet food preparation. *In vitro* study of the effect of dietary fiber on lipid absorption by using semipermeable membrane dialysis may be used in application as a preliminary evaluation of polysaccharide influence lipids absorption.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์ในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ น.ส. ชุติมา ทิพยกุล ในฐานะผู้ช่วยวิจัย ขอบคุณหน่วยเครื่องมือกลางที่ให้ความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC และขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ใช้สถานที่ในการวิจัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ii
กิตติกรรมประกาศ.....iii
สารบัญ.....iv
สารบัญตาราง.....v
สารบัญรูป.....vi

บทที่

1. บทนำ.....1
2. การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
3. วิธีการวิจัย.....16
4. ผลการวิจัย.....29
5. การอภิปรายผล.....51
6. ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ.....54

เอกสารอ้างอิง.....56
ภาคผนวก ก.....65
ภาคผนวก ข.....68
ภาคผนวก ค.....71

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ผลการย่อยสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วยเอ็นไซม์ α—amylase เปรียบเทียบกับแป้ง,maltodextrinและกลูโคแมนแนน..... 31
2. การทดสอบหาสาร reducing sugar ที่ได้จากการย่อยโพลีแซคคาไรด์เจลจาก เปลือกทุเรียนด้วยเอ็นไซม์α—amylaseโดยใช้วิธีFehling'stest.....32
3. ผลการย่อยสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วย กรดเกลือเจือจางความ เข้มข้นต่างๆ..... 34
4. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane เมื่อมีสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นระหว่าง 0-2 % ในถุง หลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.....37
5. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane เมื่อมีสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นระหว่าง 0-2 % ในถุง หลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.....37
6. แสดงปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane ออกมา นอกถุงและที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงเมื่อมีสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2 %หลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม 37

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. Thin-layer chromatography ของสารที่ได้จากการย่อยสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนด้วยเอ็นไซม์ α—amylase..... 33
2. การศึกษานำร่องในหลอดทดลองถึงผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการปลดปล่อยและการกักเก็บสาร cholesterol ในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม..... 36
3. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) สาร cholesterol หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม..... 38
4. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) กรดไขมัน oleic acid หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม..... 39
5. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) กรดไขมัน stearic acid หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม..... 40
6. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บและการปลดปล่อยสาร cholesterol เมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2%..... 43
7. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บและการปลดปล่อยกรดไขมัน oleic acid เมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2%..... 44
8. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บและการปลดปล่อยกรดไขมัน stearic acid เมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2%..... 45
9. ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บสาร cholesterol ไว้ภายในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชั่วโมง 46

รูปที่ หน้า

10. ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บกรดไขมัน oleic acid ไว้ภายในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชั่วโมง 47
11. ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการกักเก็บกรดไขมัน stearic acid ไว้ภายในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชั่วโมง..... 48
12. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol จากไข่แดงออกนอกถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม..... 49
13. ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol จากภายในสู่ภายนอกผนังลำไส้ส่วน jejunum ของหนูหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 1 ชม..... 50
14. Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์ cholesterol โดยใช้ 2- propanol : acetonitrile (7:3) เป็น mobile phase..... 65
15. Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์กรดไขมัน oleic acid โดยใช้ hexane : 2- propanol : acetic acid (100 : 0.5 : 0.1) เป็น mobile phase..... 66
16. Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์กรดไขมัน stearic acid โดยใช้ hexane : 2- propanol : acetic acid (100 : 0.5 : 0.1) เป็น mobile phase..... 67
17. กราฟมาตรฐานของ cholesterol..... 68
18. กราฟมาตรฐานของ oleic acid 69
19. กราฟมาตรฐานของ stearic acid 70
20. โครงสร้างของ cholesterol..... 71
21. โครงสร้างของ oleic acid..... 71
22. โครงสร้างของ stearic acid..... 72

บทที่ 1
บทนำ

เส้นใยอาหารส่วนใหญ่จะพบในพืช ผัก ผลไม้,พวกถั่วและเมล็ด เส้นใยจะเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของพืช เป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหารเส้นใยนั้นเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่ามีประโยชน์ต่อการดำรงสุขภาพที่ดี, ใช้ป้องกันโรคและใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารทางการแพทย์สำหรับผู้ป่วย (1,2) คำว่าเส้นใยอาหารจะรวมถึงเส้นใยที่ละลายน้ำได้ดี เช่น เพคติน, กลูโคแมนแนน, กาแลคโตแมนแนน,กัมม์ และเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำได้แก่ เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, ลิกนิน (3) ไฟเบอร์ชนิดที่ละลายน้ำได้บางชนิดจะชะลอการเพิ่มของน้ำตาลในกระแสเลือด(4) ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้จะมีคุณสมบัติหนืด คุณสมบัติความหนืดข้นของเส้นใยไฟเบอร์นี้จะชะลอการเคลื่อนของ chyme ไว้ในทางเดินอาหารส่วนบนทำให้อาหารถูกดูดซึมในอัตราที่ช้าลงทำให้ความเข้มข้นของสารอาหารในกระแสเลือดลดลง คุณสมบัติความหนืดของเส้นใยอาหารยังนับว่าเป็นคุณสมบัติที่จำเป็นต่อความสามารถในการลดระดับ cholesterol ในกระแสเลือด คุณสมบัติเหล่านี้ส่วนใหญ่จะแสดงออกเมื่อใช้ไฟเบอร์ที่มีความเข้มข้นสูง(1) การเพิ่มการบริโภคเส้นใยอาหารยังช่วยควบคุมโรคอ้วน, ลดระดับ cholesterol ในกระแสเลือด, ลดอัตราเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนั้นยังช่วยลดความต้องการอินซูลินในผู้ป่วยเบาหวาน (5) และยังป้องกันมะเร็งลำไส้ (6) ปัจจุบันมีการนำเอาเส้นใยอาหารผสมเข้ากับอาหารทางการแพทย์และยาสำหรับมนุษย์และสัตว์ (3)

ส่วนใหญ่ของเส้นใยอาหารจะได้จากพืช ด้วยเหตุนี้การนำเอาส่วนของพืช ซึ่งโดยปกติจะเป็นสิ่งเหลือใช้ที่นำไปทำลายทิ้งเพื่อนำมาพัฒนาใช้ให้เป็นประโยชน์นั้น นับเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะประเทศไทยในแต่ละปีจะมีเปลือกทุเรียนซึ่งเป็นกากเหลือทิ้งในแต่ละฤดูกาลเป็นจำนวนมาก ซึ่งเปลือกทุเรียนนี้นับว่าเป็นแหล่งผลิตผลที่สำคัญ ซึ่งจะนำไปสู่สารที่มีความสำคัญในเชิงการค้าเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาต่อไปในอนาคต

จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน พบว่าสารโพลีแซคคาไรด์เจลสามารถใช้เป็นส่วนประกอบสารปรุงแต่งในยาเตรียมและผลิตภัณฑ์อาหาร(7,8) การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและความเป็นพิษเรื้อรัง ของสารโพลีแซคคาไรด์เจลพบว่าสารดังกล่าวไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษที่รุนแรงในหนู (9,10)

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

โพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน (Durio Zibethinus L.) เป็นเส้นใยอาหารชนิดที่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งนับว่ามีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นเส้นใยอาหารเช่นเดียวกับเส้นใยอาหารที่ได้จากผักและพืชจากแหล่งอื่น ๆ การศึกษาคุณสมบัติการเป็นเส้นใยอาหารของสารโพลีแซคคาไรด์

เจลจากเปลือกผลทุเรียนจะเป็นการศึกษาคุณสมบัติการถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหาร และคุณสมบัติความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจล วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อ

1. ศึกษาถึงความสามารถทนต่อการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ α-amylase

ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถทนต่อการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ α-amylase ของสารโพลีแซคคาไรด์ เจลจากเปลือกผลทุเรียนเปรียบเทียบกับสาร maltodextrin, แป้งและกลูโคแมนแนน

2. ศึกษาความสามารถของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนต่อการกักเก็บสารอาหารไขมัน ซึ่งรวมถึง : สารพวก cholesterol, สารไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว ได้แก่ stearic acid และ oleic acid โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับสารพวกกลูโคแมนแนน

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ก็เพื่อหาคุณสมบัติทางชีวภาพและความสามารถกักเก็บสารอาหารไขมันในหลอดทดลองของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นนำไปประกอบการพัฒนาเป็นเส้นใยอาหารในทางการแพทย์ต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เส้นใยอาหาร (3)

เส้นใยอาหารเป็นสารที่พบในอาหารที่ได้จากพืช สารดังกล่าวไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในร่างกาย และเป็นสารที่ไม่ให้พลังงานหรือส่วนประกอบย่อยที่ร่างกายจะนำไปสร้างเป็นส่วนประกอบต่าง ๆ ของร่างกาย เพื่อความสามารถในการดำรงอยู่ และเพื่อการเจริญเติบโตของร่างกาย

1.1 ส่วนประกอบของเส้นใยอาหาร (3)

ปัจจุบัน เส้นใยอาหารถูกแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้เป็นสารที่ได้จากพืชซึ่งไม่ละลายในน้ำร้อน และไม่ถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ส่วนเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้เป็นสารที่ละลายในน้ำอุ่นหรือน้ำร้อน และไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้จะตกตะกอนเมื่อผสมแอลกอฮอล์ลงไปประมาณสี่ส่วน ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้ และไม่ละลายน้ำมีคุณสมบัติทางเคมีและผลต่อร่างกายแตกต่างกัน ไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้จะมีประสิทธิผลในการลดไขมันในกระแสเลือดมากกว่าในขณะที่ไฟเบอร์ที่ไม่ละลายน้ำจะมีความสามารถในด้านช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย เช่นในอาการท้องผูก

เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ

1) cellulose เป็นไฟเบอร์ที่ละลายน้ำได้น้อยสุด ไม่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำเย็น น้ำร้อน รวมทั้งในกรดอ่อน และด่างอ่อน เซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างส่วนใหญ่ของพืชเป็นโพลีเมอร์ของกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วย พันธะ β-1,4 พันธะดังกล่าวทำให้โพลีเมอร์ของเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นตรงเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเป็นผลให้เซลลูโลสมีความแข็งแรงและเหนียว ดังนั้นจึงใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบของอาหาร

2.) Hemicellulose เป็นสาร polysaccharideที่ไม่ละลายในน้ำร้อน แต่สามารถละลายได้ในด่างอ่อน Hemicellulose ประกอบด้วย monosaccharide พวก xylose, glucose และ mannoseรวมทั้งgalactose ซึ่งประกอบเป็นสายหลัก ส่วน side chain จะประกอบด้วย glucose , arabinose และ glucuronic acid

3) Lignin เป็นสารโพลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ดีได้จากพืชโดยเกิดการ polymerization ของสารพวก aromatic alcohol เมื่อผสมรวมอยู่กับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสของเส้นใยของพืช ลิกนินจะช่วยเพิ่มการต้านการสลายตัวและเพิ่มการละลาย

4) Cutin และ plant wax เป็นสารพวกที่ละลายในไขมันซึ่งมักจะพบเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของพืชร่วมกับสารโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นโครงสร้างของพืชหรือที่เป็นผิวด้านนอกของพืช จะพบประกอบอยู่เป็นปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

เส้นใยอาหารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้

1) Gums ปกติแล้วเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดจะเป็นสารพวก gum จากแหล่งต่าง ๆ สารเหล่านี้จะประกอบอยู่ในปริมาณเพียงเล็กน้อยในผลิตภัณฑ์อาหาร gums ในอาหารมีหน้าที่จำเพาะซึ่งสามารถเพิ่มลักษณะการปรุงรวมทั้งการรับประทานเมื่อนำไปปรุงเป็นอาหารที่มีไฟเบอร์สูง

2.) β-glucan เป็นโพลิเมอร์ของกลูโคส โดยแต่ละ subunit ของกลูโคสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4 และ β-1,3 ทำให้สามารถต้านการย่อยโดยน้ำย่อย β-glucan พบในข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ ข้าวบาเลย์ ส่วนใหญ่ของ β-glucan จะละลายน้ำพบเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ไม่ละลายน้ำ

3) Pectins เป็นสารโพลิเมอร์ของ α- D – galacturonic acid เชื่อมต่อกันด้วย 1,4 linkage จะมี side chain ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล galactose, glucose,rhamnose และ arabinose (11) Pectin เป็นสารที่ละลายน้ำได้ ความสามารถในการละลายจะขึ้นกับระดับการเกิด esterification ของ galacturonic acid เช่นเดียวกับส่วนประกอบของ side chain Pectinได้จากเปลือกส้มและแอปเปิ้ล

4) Glucomannan: Glucomannan เป็น heteropolysaccharide ที่เป็นสายยาวๆของน้ำตาล mannose และกลูโคสมาต่อ ๆ กัน เป็นไฟเบอร์ชนิดที่สามารถละลายน้ำได้(12) เป็นสารอาหารธรรมชาติที่ไม่ให้แคลอรี่ เป็นผงที่มีเส้นใยสูงซึ่งได้จากรากของ Amorphophallus Konjac ซึ่งได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารเป็นเวลามากกว่า 1,000 ปี

ประโยชน์ของกลูโคแมนแนน : กลูโคแมนแนนเป็นเส้นใยที่เป็นเจลคล้าย pectin ซึ่งสามารถดูดซับน้ำได้ถึง 50 เท่าของน้ำหนักตัว ทำให้รู้สึกอิ่ม การศึกษาในมนุษย์และหนูแสดงให้เห็นว่ากลูโคแมนแนนจะพองตัวเป็นเจลและเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับอาหารในระหว่าง กระบวนการย่อย (13) เช่นเดียวกับเส้นใยอาหารอื่น ๆ กลูโคแมนแนนจะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า " bulk forming laxative" กลูโคแมนแนนจะเพิ่มกากเนื้ออุจจาระซึ่งสามารถถูกขับออกจากลำไส้ใหญ่ได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้แรงเบ่งอุจจาระมาก ในผู้ที่มีอาการท้องผูก glucomannan จะช่วยให้เกิดการเคลื่อนไหวของลำไส้ภายใน 12-24 ชม. มีการศึกษาการใช้ glucomannan ในผู้ที่เป็นโรคของลำไส้ พบว่าประมาณ 1/3 – $1^{1}/_{2}$ ของผู้ป่วยจะได้รับประโยชน์จากการใช้ glucomannan (14,15)

Glucomannan จะทำให้กระเพาะว่างช้าลงทำให้การดูดซึมน้ำตาลจากอาหารน้อยลง ทำให้ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดหลังอาหาร (14,16) การศึกษาชนิดที่มีการควบคุมพบว่าหลังอาหารระดับของน้ำตาลในกระแสเลือดลดระดับลงในผู้ป่วยเบาหวานที่ให้อาหารที่มี glucomannan มีรายงานจากการศึกษานำร่องพบว่า glucomannan อาจมีประโยชน์ในผู้ป่วยเบาหวานที่ตั้งครรภ์ การศึกษาชนิด one double-blind รายงานว่าglucomannan ในขนาด 8-13 กรัม/วัน ช่วยรักษาระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของผู้ป่วยที่มีภาวะดื้อต่ออินซูลิน การศึกษานำร่องพบว่าการเพิ่ม glucomannan ขนาด 2.6 กรัม

หรือ 5.2 กรัม ลงในอาหารจะป้องกันภาวะการเกิดน้ำตาลในกระแสเลือดต่ำในผู้ใหญ่ที่มีการผ่าตัดกระเพาะอาหาร แต่การศึกษาในเด็กให้ผลที่ขัดแย้งกัน (15)

เช่นเดียวกับเส้นใยที่ละลายน้ำได้ชนิดอื่น ๆ glucomannan สามารถจับ bile acid ในทางเดินอาหารและขับออกมาพร้อมกับอุจจาระ ซึ่งจะทำให้ร่างกายต้องทำการเปลี่ยน cholesterol ให้เป็น bile acid เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะทำให้เกิดการลดระดับของ cholesterol ในกระแสเลือดรวมถึงไขมันชนิดอื่น ๆ ในกระแสเลือดลงด้วย (17) การศึกษาชนิด double - blind ที่มีการควบคุมพบว่าการให้ glucomannan เสริมเป็นจำนวนหลายกรัม/วัน จะทำให้ลดระดับของไขมันชนิด LDL และ triglyceride และในบางกรณีสามารถเพิ่มระดับ HDL ได้ มีการศึกษาชนิด double-blind หนึ่ง รายงานว่า glucomannanในขนาด 8-13 กรัม/วัน จะลดระดับของ cholesterol และไขมันชนิด LDLในผู้ป่วยที่มีภาวะต้าน insulin

การเพิ่มความหนืดของส่วนประกอบของสารในลำไส้จะทำให้เกิดการจำกัดอัตราการดูดซึมของกลูโคส พบว่าการให้ glucomannan จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า " mixed gel system" กับ maltodextrin ซึ่งถึงแม้ว่า mixed gel นี้จะมีความหนืดค่อนข้างต่ำ แต่เมื่อถูกย่อยด้วยน้ำย่อย amylase จะทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นได้ (18)

1.2 ประโยชน์ของเส้นใยอาหาร

เส้นใยที่ไม่ละลายน้ำจะไปเพิ่มเนื้อของอุจจาระและทำให้อุจจาระอ่อนขึ้น (19) ดังนั้นไฟเบอร์โดยเฉพาะชนิดที่พบในเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ จึงมีประโยชน์ในการรักษาและป้องกันภาวะท้องผูก โรคริดสีดวงทวารและ diverticulosis Diverticula เป็นโรคที่มีถุงเกิดขึ้นที่ผนังลำไส้ ซึ่งจะทำให้เกิดภาวะการอักเสบและเจ็บปวด ในอดีตมีความเชื่อว่าต้องให้ผู้ป่วยได้รับอาหารที่มีไฟเบอร์ต่ำ ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันว่าอาหารที่มีไฟเบอร์สูง ๆ จะทำให้เกิดผลในการรักษาที่ดีขึ้นเมื่อภาวะการอักเสบถูกทำให้บรรเทาลงแล้ว พบว่าระดับ cholesterol ในกระแสเลือดที่ต่ำลง (ต่ำกว่า 200 mg/dl) จะทำให้ลดอัตราเสี่ยงของการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ ร่างกายกำจัด cholesterol โดยวิธีการกำจัดออกในรูป bile acid เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้จะจับกับ bile acid แสดงให้เห็นว่าอาหารที่มีไฟเบอร์สูง ๆ จะทำให้เพิ่มการขับ cholesterol ออกจากร่างกาย (20) ไฟเบอร์บางชนิดจะให้ผลมากกว่าชนิดอื่น ๆ ไฟเบอร์ที่พบในข้าวโอ๊ตจะให้ผลในการลดระดับ cholesterol ในกระแสเลือดได้มากกว่าไฟเบอร์ที่พบในข้าว wheat พวก pectin ก็ให้ผลในการลดระดับของ cholesterol ในกระแสเลือดได้เช่นกัน (21)

สรรพคุณอื่น ๆ ของเส้นใยอาหารจะพบได้น้อย เส้นใยอาหารอาจช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคมะเร็งบางชนิดโดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ แนวความคิดนี้มีพื้นฐานมาจากข้อมูลที่ว่าไฟเบอร์ชนิดที่ไม่ละลายน้ำจะช่วยเพิ่มอัตราการกำจัดสารที่ไม่มีประโยชน์ออกจากร่างกาย ซึ่งจะทำให้ลดระยะเวลาที่ร่างกายจะถูกกับสารพิษซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการย่อยอาหารลง อาหารที่มีปริมาณของไขมันจากสัตว์และโปรตีนในขนาดสูงอาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการพัฒนาเป็นมะเร็งลำไส้ได้ (22)

อาหารที่มีเส้นใยปริมาณสูง ๆ จะมีประโยชน์สำหรับผู้ป่วยที่ต้องการลดน้ำหนัก เนื่องจากไฟเบอร์ไม่ให้พลังงาน แต่จะให้ความรู้สึกที่ทำให้อิ่มเร็ว เนื่องจากคุณสมบัติความสามารถของไฟเบอร์

ในการดูดซับน้ำไว้ นอกจากนั้นอาหารที่มีไฟเบอร์ปริมาณสูงยังต้องการระยะเวลาการบดเคี้ยวที่นานขึ้น ทำให้การรับประทานอาหารที่มีปริมาณแคลอรี่สูงอื่น ๆ ลดลงไปด้วย (23)

2. สารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต (24)

คาร์โบไฮเดรทเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก และมีหลายชนิดในธรรมชาติ ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) เช่น แป้ง ไกลโคเจน (glycogen) และเซลลูโลส (cellulose) เป็นต้น แต่ก็มีชนิดที่อยู่ในรูปโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาลชนิดต่าง ๆ คาร์โบไฮเดรททำหน้าที่สำคัญ ๆ หลายอย่างในสิ่งมีชีวิต แป้งและไกลโคเจนเป็นเสมือนเสบียงที่เก็บตุนไว้ใช้ยามที่ต้องการ คาร์โบไฮเดรทที่ไม่ละลายน้ำหลายชนิด ทำหน้าที่โครงสร้างของผนังเซลล์ในบักเตรี พืชและเนื้อเยื่อยึดเหยี่ยว (connective tissue) ของสัตว์ชั้นสูง คาร์โบไฮเดรทบางชนิดทำหน้าที่คล้ายน้ำมันหล่อลื่นป้องกันการเสียดสีของข้อกระดูก บางชนิดช่วยยึดเซลล์ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ให้อยู่ด้วยกัน คาร์โบไฮเดรทที่พบบนผิวเซลล์ของสัตว์ในรูปของไกลโคโปรตีน (glycoprotein) หรือ ไกลโคลิปิด (glycolipid) มีส่วนในการทำให้เซลล์ติดต่อหรือสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมได้อย่างจำเพาะ

คาร์โบไฮเดรทแบ่งออกได้เป็นสามจำพวกตามจำนวนหน่วยของน้ำตาล

คาร์โบไฮเดรทเป็นสารประกอบประเภทอัลดีไฮด์ (aldehyde) หรือคีโตน (ketone) (-OH) หลายหมู่ เราอาจจำแนกคาร์โบไฮเดรทออกเป็นสามจำพวกใหญ่ ๆ ได้ ดังนี้คือ

1. <u>โมโนแซคคาไรด์</u> (monosaccharide) หรือน้ำตาลเป็นหน่วยเล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรทที่อยู่ได้เป็นอิสระในธรรมชาติ มีหมู่อัลดีไฮด์ หรือคีโตนเพียงหมู่เดียว และหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อยที่สุดสองหมู่ ที่รู้จักกันดี ได้แก่ กลูโคส (glucose) ฟรุคโตส (fructose) เป็นต้น มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีและส่วนใหญ่มีรสหวาน
2. <u>โอลิโกแซคคาไรด์</u> (oligosaccharide) เกิดจากโมโนแซคคาไรด์ระหว่าง 2-15 หน่วย มาต่อกันด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) ซึ่งมีชื่อเรียกว่า พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) ที่พบมากในธรรมชาติเป็นชนิดไดแซคคาไรด์ (disaccharide) คือ มีโมโนแซคคาไรด์สองหน่วยต่อกัน ตัวอย่างเช่น ซูโครส (sucrose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ได้จากต้นอ้อยและแล็คโตส (lactose) น้ำตาลในน้ำนม เป็นต้น
3. <u>โปลีแซคคาไรด์</u> (polysaccharide) เป็นโปลีเมอร์ (polymer) ของโมโนแซคคาไรด์จำนวนนับร้อยถึงนับพัน มีทั้งที่ต่อกันเป็นลูกโซ่สายตรง เช่น เซลลูโลส (cellulose) หรือมีกิ่งก้านสาขา เช่น ไกลโคเจน (glycogen) โปลีแซคคาไรด์ที่มีอยู่มากในธรรมชาติ ได้แก่ แป้งและเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสจำนวนมากต่อกันอยู่

โมโนแซคคาไรด์แบ่งออกเป็นสองประเภทคือ อัลโดส (ALDOSE) และคีโตส (KETOSE)

เนื่องจากโมโนแซคคาไรด์เป็นอนุพันธ์ของอัลดีไฮด์หรือคีโตน ดังนั้นจึงแบ่งได้เป็นสองประเภทคือ อัลโดสและคีโตสซึ่งจะมีหมู่อัลดีไฮด์ (-CHO) และหมู่คีโตส (C=O) ตามลำดับ โมโนแซคคาไรด์จะต่างกันที่จำนวนคาร์บอนที่พบทั่วไปจะมีจำนวนระหว่างสามถึงเจ็ดตัวและอาจจะเรียกชื่อตามจำนวนคาร์บอนเป็น triose, tetrose, pentose, hexose และ heptose ตามลำดับ ส่วนประเภทของโมโนแซคคาไรด์และชนิดจะระบุโดยเติมคำว่า aldo- หรือ keto- ไว้หน้าชนิดของโมโนแซคคาไรด์นั้น ๆ เช่น aldotetrose, ketotetrose เป็นต้น ชนิดที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ คือ เฮ็กโซส (hexose) ตัวที่สำคัญคือ กลูโคส ซึ่งเป็น aldohexose และฟรุคโตส ซึ่งเป็น ketohexose ตามลำดับ สารประกอบเหล่านี้รวมเรียกว่าเป็นอนุพันธ์ไกลโคไซด์ (glycosides) ซึ่งไม่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากหมู่ –OH ที่ต่ออยู่กับ anomeric carbon ถูกแทนที่ด้วยหมู่ $-OCH_3$ ทำให้วงแหวนเปิดออกไม่ได้ พันธะที่เกิดขึ้นระหว่าง anomeric carbon และออกซิเจนของแอลกอฮอล์ เรียกว่า พันธะไกลโคซิดิค (glycosidic bond) ซึ่งเป็นพันธะที่พบในโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และโปลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เกิดจาก anomeric carbon ของโมโนแซคคาไรด์ไปเชื่อมต่อกับหมู่ -OH ของโมโนแซคคาไรด์ด้วยกันเอง พันธะไกลโคซิดิกที่เชื่อมระหว่าง anomeric carbon กับหมู่ –OH จะเป็นชนิด O-glycosidic bond แต่ถ้าไปเชื่อมต่อกับหมู่เอมีน (amine) เช่นในโครงสร้างของนิวคลีโอไทด์ UDPG พันธะที่เกิดขึ้นจะเป็นชนิด N-glycosidic bond โครงแบบ (configuration) ของพันธะไกลโคซิดิกเป็นได้ 2 แบบ คือ $\alpha-$ หรือ $\beta-$ ขึ้นอยู่กับโครงแบบของ anomeric carbon

โอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิค

โอลิโกแซคคาไรด์ที่พบมากในธรรมชาติคือ ไดแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์สองหน่วยต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิค ไดแซคคาไรด์แต่ละตัวอาจจะต่างกันที่ชนิดของโมโนแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบโครงแบบของพันธะไกลโคซิดิก (α/β) หรือที่ตำแหน่งที่เชื่อมระหว่าง anomeric carbon ของ โมโนแซคคาไรด์ตัวแรกกับหมู่ –OH ของโมโนแซคคาไรด์อีกตัวหนึ่ง คุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ของไดแซคคาไรด์จะยังคงมีอยู่ ถ้าหากว่าหมู่ –OH ที่ต่ออยู่กับ anomeric carbon ของโมโนแซคคาไรด์ตัวหลังยังเป็นอิสระที่จะทำให้วงแหวนเปิดได้ เช่น ในกรณีของแลคโคส, มอลโตสและเซลโลไบโอส ในขณะที่น้ำตาลซูโครสจะหมดคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจาก anomeric carbon ของฟรุคโตสไปเชื่อมต่อกับหมู่ –OH ที่ anomeric carbon ของกลูโคส

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์มากกว่าสองหน่วยขึ้นไป โอกาสที่จะเกิดโอลิโกแซคคาไรด์รูปแบบต่าง ๆ ที่แตกต่างกันที่ชนิดของโมโนแซคคาไรด์ โครงแบบของพันธะไกลโคซิดิก (α/β) และตำแหน่งของพันธะที่เชื่อมระหว่าง anomeric carbon ของโมโนแซคคาไรด์ตัวหนึ่งกับหมู่ –OH ของโมโนแซคคาไรด์ตัวถัดไป ซึ่งอาจจะเป็นที่ตำแหน่ง 1,2,3,4 หรือ 6 ก็จะยิ่งมีได้มากขึ้น มีผลทำให้รูปร่าง (conformation) โดยรวมของโอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดแตกต่าง

กัน อาจจะยกตัวอย่างได้ว่าโมโนแซคคาไรด์ 4 ชนิด เมื่อนำมาเชื่อมต่อกันเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ จะได้รูปแบบที่มากกว่า เมื่อนำกรดอะมิโนจำนวนเท่ากันมาต่อกันเป็นโอลิโกเปปไทด์หลายเท่า ความหลากหลายของรูปแบบของโอลิโกแซคคาไรด์ ที่สามารถจะเกิดขึ้นได้จากการเชื่อมต่อกันของโมโนแซคคาไรด์มีผลทำให้ชีวโมเลกุลชนิดนี้สามารถทำหน้าที่ทางชีวภาพเป็นเสมือนรหัสที่สื่อความหมายให้กับเซลล์ในการทำหน้าที่ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้เชื่อมต่ออยู่กับโปรตีนหรือลิปิดที่อยู่บนผิวเซลล์ (cell surface)

โปลีแซคคาไรด์เป็นมหโมเลกุลที่มีหน้าที่หลากหลายทางชีวภาพ

คาร์โบไฮเดรทส่วนใหญ่ที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปโปลีแซคคาไรด์ หรืออีกชื่อหนึ่งเรียกว่าไกลแคน (glycan) เป็นสารมหโมเลกุลที่เป็นโพลิเมอร์ของโมโนแซคคาไรด์ โปลีแซคคาไรด์แต่ละชนิดจะต่างกันที่ชนิดของโมโนแซคคาไรด์ โครงแบบและตำแหน่งของพันธะไกลโคซิดิค รวมทั้งลักษณะของสายโปลีเมอร์ที่เป็นสายตรง (linear) หรือมีแขนง (branch) โครงสร้างที่แตกต่างกันนี้จะมีผลทำให้โปลีแซคคาไรด์แต่ละชนิด มีหน้าที่ทางชีวภาพแตกต่างกัน โปลีแซคคาไรด์บางชนิดเป็นโปลิเมอร์ของโมโนแซคคาไรด์ชนิดเดียวกันเรียกว่าเป็นพวก Homopolysaccharides บางชนิดประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์สองชนิดหรือมากกว่า เรียกว่า เป็นพวก Heteropoly-saccharides พวก Homopolysaccharides บางชนิดทำหน้าที่เป็นเสบียงสำคัญของเซลล์ เช่น แป้ง และไกลโคเจน บางชนิดทำหน้าที่ด้านโครงสร้าง เช่น เซลลูโลสและไคติน พวก Hetero-polysaccharides มีหน้าที่ค่อนข้างหลากหลาย บางชนิดทำหน้าที่ด้านโครงสร้างเป็นเกราะป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ เช่น เปปติโดไกลแคนในบักเตรี บางชนิด เช่น พวกไกลโคอะมิโนไกลแคน ทำหน้าที่เป็นน้ำมันหล่อลื่นป้องกันการเสียดสีของข้อกระดูกและหน้าที่จำเพาะอื่น ๆ

แป้งและไกลโคเจนเป็นโปลีแซคคาไรด์ที่เป็นเสบียงสำคัญของเซลล์

แป้งและไกลโคเจนเป็นโปลีแซคคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็นเสบียง (food storage) แป้งมีมากในพืชที่มีหัว (tuber) เช่น เผือก มันสำปะหลังและในส่วนที่เป็นเมล็ด (seed) เช่น ข้าว ไกลโคเจนจะพบอยู่ภายในเซลล์ของตับและกล้ามเนื้อโดยรวมกันเป็นกลุ่มก้อน (granules) มีลักษณะชุ่มน้ำ (hydrated) เนื่องจากมีโมเลกุลของน้ำมาจับอยู่เป็นจำนวนมาก

แป้งเป็นโปลิเมอร์ (polymer) ของกลูโคสมีขนาดและรูปร่างต่าง ๆ กัน แบ่งออกได้เป็นสองชนิดตามลักษณะโครงสร้าง คือ อะมีโลส (amylose) และอะมีโลเพคติน (amylopectin) อะมีโลสประกอบด้วยกลูโคสต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวด้วยพันธะ α(1->4) เช่นกัน แต่มีแขนงแยกออกไปทุก ๆ 25-30 หน่วยของกลูโคส ตรงจุดที่เกิดแขนงกลูโคสจะต่อกันด้วยพันธะ α(1->6) จำนวนกลูโคสในแป้งแต่ละชนิดไม่คงที่ น้ำหนักโมเลกุลของแป้งจะต่าง ๆ กันตั้งแต่สองสามพันจนถึงห้าแสน

ไกลโคเจนเป็นโปลีเมอร์ของกลูโคส เช่นเดียวกับแป้ง โครงสร้างของไกลโคเจนจะมีลักษณะคล้ายกับของอะมีโลเพคติน คือ มีแขนงแต่แขนงของไกลโคเจนจะมีมากกว่า กล่าวคือ บนลูก

โซ่กลูโคส ซึ่งต่อกันด้วยพันธะ $\alpha(1->4)$ ทุก ๆ แปดถึงสิบหน่วยจะแตกแขนง ไกลโคเจนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณสองสามล้าน

ลูกโซ่กลูโคสของอะมีโลสจะมีรูปร่างเป็นเกลียวฮีลิกซ์ (helical coil) แต่ละรอบจะมีกลูโคสหกหน่วยและเป็นเกลียวชนิดเวียนซ้าย รูปร่างแบบนี้ของอะมีโลสเหมาะที่จะอัดตัวรวมกันเป็นกลุ่มก้อนอยู่ในเซลล์ โดยมีโมเลกุลของน้ำเข้ามาจับอยู่ด้านนอกด้วย พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) อะมีโลสในรูปของเกลียวฮีลิกซ์สามารถรวมกับไอโอดีน (I_2) เกิดสีน้ำเงิน โดยที่โมเลกุลของไอโอดีนจะเข้าไปแทรกตัวอยู่ภายในเกลียว แต่ไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมี ดังนั้นจึงใช้ไอโอดีนทดสอบแป้งได้สำหรับไกลโคเจนและอะมีโลเพคตินเกลียวของลูกโซ่มักจะไม่ยาวพอที่จะให้ไอโอดีนเข้าไปแทรกจนกระทั่งเกิดสีน้ำเงินขึ้นมาได้ ดังนั้นเมื่อทดสอบไกลโคเจนกับสารละลายไอโอดีน จึงมักจะได้สีน้ำตาลแดงแทนที่จะได้สีน้ำเงิน

เซลลูโลส (CELLULOSE) เป็นโปลีแซคคาไรด์โครงสร้างของผนังเซลล์พืช

เซลลูโลสเป็นโปลีเมอร์ของกลูโคสเช่นเดียวกับแป้ง และเป็นชนิดสายตรงไม่มีแขนงแต่พันธะไกลโคซิดิคที่ต่อระหว่างกลูโคสจะเป็นชนิด $\beta(1->4)$ ดังนั้น เซลลูโลสจึงมีรูปร่างต่างจากอะมีโลส กล่าวคือ พันธะ $\beta(1->4)$ ทำให้กลูโคสที่ต่อกันอยู่ในสายลูกโซ่ของเซลลูโลสยืดตัวออกในแนวเส้นตรงได้ ทำให้สายของเซลลูโลสหลายสายมีโอกาสเข้ามาใกล้ชิดกัน โดยที่โมเลกุลของน้ำไม่สามารถเข้าไปแทรกตัวอยู่ได้เลย โครงสร้างของเซลลูโลสในลักษณะนี้ได้แก่ เส้นใย (fiber) ที่มีความเหนียว แข็งแรง และไม่ละลายน้ำ เหมาะที่จะทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช ที่มีเซลลูโลสจะอัดตัวกันแน่นเป็นชั้น ๆ รวมตัวอยู่กับโปลีเมอร์ชนิดอื่น ๆ เช่น ฮีมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพคติน (pectin) และลิกนิน (lignin) ซึ่งจะทำหน้าที่คล้ายซีเมนต์ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ ฮีมิเซลลูโลสเป็นโปลีเมอร์ของ D-xylose เป็นส่วนใหญ่ เพคตินเป็นโปลีเมอร์ของ galacturonic acid เป็นส่วนใหญ่ ส่วนลิกนินเป็นโปลีเมอร์ของ aromatic alcohol เซลลูโลสล้วน ๆ ถึงแม้จะมีความเหนียวแต่ก็นิ่ม ตัวอย่างเช่น ปุยฝ้ายเป็นเซลลูโลสที่บริสุทธิ์มีเซลลูโลสอยู่ 98-99%

นอกจากเซลลูโลสแล้ว โปลีแซคคาไรด์อีกชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่โครงสร้าง คือ ไคติน (chitin) พบอยู่ที่กระดองหรือเปลือกนอกของกุ้ง ปูและแมลงต่าง ๆ เป็นโปลีเมอร์ของน้ำตาลอะมิโนชื่อ N-acetyl-D-glucosamine ต่อกันด้วยพันธะ $\beta(1-4)$

3. การย่อยและการดูดซึมสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร

3.1 การย่อยและการดูดซึมอาหาร

สารอาหารหลัก ๆ ที่สำคัญต่อภาวะโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมัน ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากพืชที่ยังไม่ผ่านกระบวนการในการแปรรูปจะมีสารประเภทเส้นใยปริมาณมาก ซึ่งจะไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในร่างกายมนุษย์หรือถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในลำไส้ เส้นใย

เหล่านี้จะเป็นสารพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูโลสหรือเพคติน ปัจจุบันอาหารที่มีเส้นใยปริมาณมาก ๆ กำลังได้รับความนิยมสูง เนื่องจากเชื่อว่าสามารถป้องกันอัตราเสี่ยงจากการเกิดมะเร็งในลำไส้ได้

อาหารที่รับประทานเข้าไปประกอบด้วยสารโพลีเมอร์โมเลกุลใหญ่ ๆ ซึ่งจะต้องถูกทำให้แตกตัวเป็นสารโมเลกุลเล็ก ๆ พวก monomer ก่อนที่จะถูกดูดซึมเข้าไปและไปมีผลต่อร่างกาย กระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ตั้งแต่เริ่มรับประทานอาหารเข้าไปจนถึงการดูดซึมสารอาหารเข้าไปในร่างกายประกอบด้วยขั้นตอนที่ซับซ้อน ซึ่งรวมถึงกระบวนการดังต่อไปนี้ (25,26)

1. การบดอาหารให้ละเอียดแล้วเกิดการคลุกเคล้าของอาหารที่ถูกบดแล้วเข้ากับน้ำย่อยที่ถูกหลั่งออกมาจากต่อมในอวัยวะที่เป็นส่วนประกอบของทางเดินอาหาร
2. การหลั่งของเอ็นไซม์ที่ใช้ย่อยอาหารซึ่งจะไปทำให้สารโมเลกุลใหญ่แตกตัวเป็นสารโมเลกุลเล็ก ๆ พวกoligomer, dimer หรือ monomer
3. การหลั่งของสารพวกอิเลคโตรไลท์ กรด หรือด่างเพื่อทำให้สภาพแวดล้อมเหมาะสมสำหรับเกิดกระบวนการย่อยอาหารโดยเอ็นไซม์
4. การหลั่งของน้ำดีเพื่อละลายอาหารพวกไขมันและทำให้เกิดการดูดซึมของสารเหล่านี้
5. การย่อยสารอาหารโมเลกุลขนาดกลาง ๆ โดยใช้เอ็นไซม์ที่หลั่งจากผนังของลำไส้
6. การขนส่งโมเลกุลของสารอาหารและอิเลคโตรไลท์จากช่องของลำไส้ผ่าน epithelial cell เข้าสู่น้ำเหลืองหรือเลือด

3.2 การย่อยและการดูดซึมสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต

สารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตจะเป็นแหล่งที่ให้พลังงานแหล่งใหญ่สุดสำหรับความต้องการพลังงานในแต่ละวัน สารเหล่านี้ประกอบด้วย mono, di, oligo และpolysaccharide สารพวก monosaccharide ไม่จำเป็นต้องถูกทำให้แตกออกเพื่อให้เกิดการดูดซึม ส่วนสาร disaccharide ต้องการเอ็นไซม์จากลำไส้เล็กมาย่อยสลายเป็นสาร monosaccharide สาร oligosaccharide และ polysaccharide ก็เช่นเดียวกันจะต้องถูกย่อยสลายเป็นสาร monosaccharide ก่อนที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย การย่อยแป้งเริ่มจากการใช้เอ็นไซม์ amylase จากต่อมน้ำลาย แต่การย่อยที่สมบูรณ์จะเกิดโดยเอ็นไซม์ amylaseในลำไส้เล็ก amylase จะย่อยแป้งซึ่งจะทำให้ได้ maltose, maltotriose และ α – dextrin และบางครั้งก็ได้ glucose ผลิตผลที่ได้จากการย่อยโดยเอ็นไซม์ α- amylase จะถูกย่อยสลายต่อไปให้ได้เป็นสารพวก monosaccharide โดยเอ็นไซม์ในลำไส้เล็กซึ่งที่สำคัญได้แก่ maltase, sucrase,isomaltase และlactase (25,27)

Monosaccharide : สารพวก D-glucose และ D-galactose เท่านั้นที่จะถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก D-fructoseจะไม่ถูกดูดซึมโดยกระบวนการ active transport ซึ่งเป็นกระบวนการที่ต้องใช้พลังงาน แต่จะถูกดูดซึมโดยการแพร่กระจายซึ่งไม่ต้องใช้พลังงาน

Di- oligo-, และpolysaccharide : สารเหล่านี้จะไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ amylase หรือเอ็นไซม์ในลำไส้เล็ก ดังนั้นเมื่อไปถึงลำไส้เล็กส่วนปลาย ตั้งแต่บริเวณ ileum ส่วนปลายจะมีแบคทีเรีย

อยู่ แบคทีเรียเหล่านี้สามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตที่ยังคงเหลืออยู่จากการย่อยโดยน้ำย่อยของมนุษย์ เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้จะมีเอ็นไซม์สำหรับย่อยสาร carbohydrate มากชนิดกว่าร่างกายมนุษย์ monosaccharide ซึ่งเกิดขึ้นจากการย่อยโดยเอ็นไซม์ของแบคทีเรียเหล่านี้จะถูกสันดาปโดยไม่ใช้อากาศต่อไปโดยแบคทีเรียเองทำให้เกิดสารต่าง ๆ เช่นกรดไขมันสายสั้น ๆ lactate,ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้จะทำให้เกิดอาการต่าง ๆ กับระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องอืด ท้องเฟ้อ บวมน้ำ จุกเสียดและระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินลำไส้

3.3 การย่อยและการดูดซึมสารอาหารพวกไขมัน

เนื่องจากไขมันไม่ละลายน้ำการย่อยสารอาหารไขมันจึงจำเป็นต้องเอาชนะอุปสรรคในเรื่องดังกล่าวก่อน ส่วนมากผู้ใหญ่จะรับประทานไขมัน ประมาณวันละ 60-150 กรัมต่อวัน อาหารไขมันจะมี Triacylglycerol เป็นส่วนประกอบอยู่มากกว่า 90% ส่วนที่เหลือจะเป็นพวก phospholipid, cholesterol, cholesterol ester และกรดไขมัน นอกจากนั้น cholesterol ประมาณ 1-2 กรัม และ phosphatidylcholine (lecithin) ประมาณ 7-22 กรัม จะถูกหลั่งเข้าไปในลำไส้เล็ก โดยเป็นส่วนประกอบของน้ำดี

เนื่องจากไขมันไม่ละลายน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหาในการย่อยสลายเนื่องจากไขมันไม่สามารถเข้าถึงเอ็นไซม์ซึ่งละลายอยู่ในน้ำได้ นอกจากนั้นถึงแม้ว่าสารอาหารไขมันจะถูกย่อยให้แตกตัวเป็นส่วนประกอบย่อย ๆ แล้วก็ตาม สารที่ได้จากการย่อยก็ยังคงรวมกลุ่มกันเป็นสารเชิงซ้อนขนาดใหญ่ซึ่งจะสัมผัสกับผิวของผนังลำไส้ได้น้อยลง ดังนั้นจึงไม่สามารถดูดซึมเข้าร่างกายได้ ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างส่วนที่เป็นน้ำและส่วนที่เป็นไขมันและละลายไขมันโดยการใช้สาร detergent ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของไขมันจึงมีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างกระบวนการย่อยและการดูดซึม (26)

ในกระบวนการย่อยและการดูดซึมไขมันอย่างน้อย ๆ จะมีขั้นตอนต่าง ๆ ประมาณ 5 ขั้นตอนที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การสลายสาร triacylglycerol ออกเป็นกรดไขมันและ monoacylglycerol โดยใช้น้ำดีเป็นตัวทำละลายไขมัน แล้วทำการขนส่งจากช่องของทางเดินลำไส้เล็กเข้าสู่ผนังเซลล์ การดูดซึมกรดไขมัน และmonoacylglycerol ที่ได้เข้าสู่เซลล์และนำไปสังเคราะห์เป็น triacylglycerol ขึ้นมาใหม่ การผนึก triacylglycerol ที่สร้างขึ้นใหม่นี้เป็นหยดไขมันที่เรียกว่า chylomicron และเกิดกระบวนการ exocytosis ของ chylomicronที่สร้างขึ้นนี้ออกนอกเซลล์เข้าสู่ท่อน้ำเหลือง

ไขมันถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ย่อยไขมัน lipase ในกระเพาะและตับอ่อน

การย่อยไขมันจะเริ่มขึ้นในกระเพาะโดยเอ็นไซม์ lipase แต่อัตราการย่อยจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ เนื่องจากtriacylglycerol ที่รับประทานเข้าไปจะเกิดเป็นชั้นไขมันที่แยกจากชั้นน้ำ เอ็นไซม์ lipase จะเปลี่ยน triacylglycerolเป็นกรดไขมันและ diacylglycerol ความสำคัญของการย่อยในระยะเริ่มแรกนี้ก็คือการที่ triacylglycerol ซึ่งไม่ละลายน้ำจะถูกเปลี่ยนเป็นสารทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้ว สารดังกล่าวจะถูกดูดซึมเข้าสู่ชั้นระหว่างน้ำและไขมัน และจะช่วยทำหน้าที่เป็นส่วนที่สามารถเข้ากับน้ำได้ให้กับหยด

ไขมัน การเพิ่มขึ้นของพื้นผิวดังกล่าวจะทำให้เกิดการแผ่ออกของชั้นไขมันกลายเป็นหยดไขมันเล็ก ๆ ซึ่งจะทำให้เพิ่มพื้นผิวที่จะดูดซับเอาโมเลกุลของ lipase เข้ามามากขึ้น

เอ็นไซม์สำหรับการย่อย triacylglycerol ส่วนใหญ่ คือ lipase ที่ได้จากตับอ่อน การย่อยโดยเอ็นไซม์ดังกล่าวจะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระและ monoacylglycerol

น้ำดีจะช่วยละลาย, ทำให้เป็นกลางและขับสาร Cholesterol และ bile pigment (28,29)

ตับนอกจากจะมีหน้าที่สำคัญในการสันดาปสาร intermediate ต่าง ๆ แล้ว ตับยังทำหน้าที่ผลิตน้ำดีซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยอาหาร ถุงน้ำดี จะทำหน้าที่เก็บน้ำดีซึ่งถูกผลิตโดยตับในระหว่างมื้ออาหาร ในระหว่างการย่อยถุงน้ำดีจะบีบตัวและขับน้ำดีเข้าสู่ duodenum โดยผ่านทางท่อทางเดินน้ำดี น้ำย่อยจากตับอ่อนจะผสมรวมกับน้ำดีซึ่งถูกหลั่งเข้าสู่ลำไส้ส่วน duodenum

คุณสมบัติของน้ำดี

1. ช่วยละลายไขมัน : เกลือน้ำดีมีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวได้มาก คุณสมบัติดังกล่าวจะทำให้มันสามารถละลายไขมันในลำไส้และละลายกรดไขมัน รวมทั้งสารที่ไม่ละลายน้ำ น้ำดีในลำไส้เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้การย่อยไขมันสมบูรณ์และเกิดการดูดซึมไขมันเช่นเดียวกับการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน เช่น วิตามินA, D, E และ K ในกรณีที่การย่อยไขมันบกพร่อง การย่อยอาหารประเภทอื่น ๆ จะไม่สมบูรณ์ตามไปด้วย เนื่องจากไขมันจะไปปกคลุมอนุภาคของอาหารชนิดอื่น ๆ และป้องกันเอ็นไซม์ไม่ให้เข้าถึงสารอาหารเหล่านั้น ทำให้การย่อยไม่สมบูรณ์ ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้แบคทีเรียในลำไส้จะมาย่อยสลายอาหารเกิดก๊าซขึ้น (30)

2. หน้าที่ neutralize กรด : นอกจากทำหน้าที่ละลายไขมันแล้ว น้ำดีซึ่งมี pH สูงกว่า 7 เล็กน้อย จะไปทำให้ chyme ที่เกิดในกระเพาะซึ่งมีภาวะเป็นกรดกลายเป็น chyme ที่มี pH เป็นกลางและเหมาะสมสำหรับเกิดกระบวนการย่อยในลำไส้เล็กต่อไป

3. การขับถ่าย : น้ำดีเป็น vehicle ที่สำคัญสำหรับการขับกรดน้ำดีและ cholesterol นอกจากนั้นยังทำหน้าที่ขับยา สารพิษ, bile pigment และสาร inorganic ทั้งหลายได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ เช่น ทองแดง สังกะสีและเมอร์คิวรี่ออกจากร่างกาย

4. การเผาผลาญ bile pigment : bile pigment เกิดจากสาร haemoglobin การสันดาป haemoglobin จะได้ bilirubin จากส่วนของ heme Bilirubin ที่ได้จะถูกขับลงสู่ลำไส้ร่วมกับ bile ที่สังเคราะห์จากตับ การสลาย haemoglobin จะเกิดในระบบ reticuloendothelial system Bilirubin จะถูกปลดปล่อยลงสู่กระแสเลือดซึ่งจะไปจับกับ albumin ในเลือดและถูกพาไปยังตับ เมื่อเข้าไปในตับ bilirubin จะรวมกับ glucuronic acid เกิดเป็น bilirubin mono และ diglucuronide ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกขับถ่ายออกทางน้ำดี

Cholesterol จะผ่านเข้าสู่ตับและถูกขับออกทางน้ำดีในรูป cholesterol และเกลือน้ำดี ทุก ๆ วัน ร่างกายจะสามารถกำจัด cholesterol ออกจากร่างกายได้ประมาณ 1 กรัม ประมาณครึ่งหนึ่งจะถูกขับออกทางอุจจาระหลังจากถูกเปลี่ยนเป็น bile acid ที่เหลือจะถูกขับออกในรูป neutral sterol ส่วนใหญ่

ของ cholesterol ที่ถูกขับออกในรูปน้ำดีจะถูกดูดซึมกลับเข้าสู่ร่างกายอีก เป็นที่เชื่อกันว่า อย่างน้อย cholesterol บางส่วนซึ่งทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สาร sterol ของอุจจาระนั้นมาจากผนังของลำไส้ ส่วนใหญ่ของ bile salt ที่ถูกขับถ่ายจะถูกดูดซึมกลับทางระบบไหลเวียนที่ผ่านตับ โดยถูกดูดซึมกลับโดยตับแล้วถูกขับถ่ายออกจากร่างกายอีกครั้งทางน้ำดี ซึ่งเรียกวงจรนี้ว่า enterohepatic circulation ส่วนเกลือน้ำดีจะไม่ถูกดูดกลับแต่จะถูกขับออกทางอุจจาระ(31)

กรดน้ำดีสังเคราะห์จาก Cholesterol (25,32)

กรดน้ำดี ถือเป็น detergent ในร่างกายซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นในตับจาก cholesterol และถูกหลั่งออกมาในรูปที่เกิดการ conjugate กับ glycine หรือ taurine เข้าสู่ duodenum เนื่องจากน้ำดีมี เกลือ sodium และ potassiumประกอบอยู่ด้วย และมี pH เป็นด่าง ดังนั้นกรดน้ำดีและรูปแบบที่เกิดการ conjugate จะอยู่ในรูปแบบของเกลือ ดังนั้นจึงถูกเรียกว่า เกลือน้ำดี

กรดน้ำดีส่วนใหญ่จะกลับเข้าสู่ตับโดยผ่าน enterohepatic circulation (33,34)

ส่วนน้อยของเกลือน้ำดี ประมาณ 500 มก./วัน จะไม่ถูกดูดกลับ ดังนั้นจึงถูกขับออกทางอุจจาระ ถึงแม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยแต่ก็ถือว่าเป็นวิถีที่สำคัญในการกำจัด Cholesterol ระบบ enterohepatic circulation ของเกลือน้ำดีค่อนข้างมีประสิทธิภาพนั่นคือแต่ละวัน กรดน้ำดีจำนวนเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 3-5 กรัม) สามารถไหลวนเวียนผ่านลำไส้เป็นจำนวน 6-10 ครั้ง โดยมีการสูญเสียน้ำดีในอุจจาระเพียงจำนวนน้อยนิด อย่างไรก็ตามในแต่ละวันปริมาณของ bile acid เทียบเท่าจำนวนที่ถูกขับออกไปกับอุจจาระจะถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่จาก cholesterol โดยตับ ดังนั้นปริมาณของ bile acid จึงถูกควบคุมให้มีขนาดคงที่ตลอดเวลา

4. หลักการในการวิเคราะห์คุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์เจล

4.1 การทดสอบความเป็น reducing sugar

สารคาร์โบไฮเดรตที่มีกลุ่มอัลดีไฮด์หรือคีโตนอิสระจะเกิดสมดุลย์ในสารละลายในรูป enediol เมื่อ pH มีค่าเป็นด่างเล็กน้อยจะทำให้คาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนไปอยู่ในรูป enediol ซึ่งเป็นสาร reducing agent การทดสอบด้วยวิธี reduction สามารถใช้ได้กับน้ำตาล disaccharide ในกรณีที่หมู่ aldehyde หรือ ketone ของสาร monosaccharide อย่างน้อย 1 โมเลกุลไม่ถูกใช้ไปในการเกิดพันธะ glycosidic เช่น น้ำตาลซูโครส เป็นน้ำตาล disaccharide ซึ่ง anomeric carbon atoms ของทั้ง 2 โมเลกุลของ monosaccharide ถูกนำไปสร้างพันธะ glycosidic ดังนั้น จะทำให้สูญเสียคุณสมบัติ reducing powerอย่างไรก็ตามการแยกความแตกต่างระหว่างการเป็น reducing และ non-reducing disaccharide สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการแยกความแตกต่างของน้ำตาล

วิธีที่ใช้จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน Cu^{2+} (cupric ion)ให้เป็น Cu^{+} (Cuprous ion) ซึ่งจะให้สีเหลืองของ cuprous hydroxide ในสารละลายที่เป็นด่างเมื่อถูกความร้อนจากปฏิกิริยาจะถูกเปลี่ยนเป็น

cuprous oxide ที่เป็นตะกอนสีแดง ในการทดสอบเชิงคุณภาพโดยใช้ปฏิกิริยาดังกล่าวนี้ ถ้าเกิดตะกอนสีเหลืองหรือส้ม-แดงเกิดขึ้นก็แสดงว่ามี reducing carbohydrate อยู่ (35)

การวิเคราะห์ reducing sugar เชิงปริมาณโดยวิธี O-toluidine

สาร O-toluidine reagent จะทำปฏิกิริยากับ aldosugar (เช่น glucose, maltose)ในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรดซึ่งจะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีฟ้า-เขียว (36,37) สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 nm. เพื่อนำมาหาปริมาณของน้ำตาลได้

4.2 การทดสอบหาสารโพลีแซคคาไรด์โดยใช้สารละลายไอโอดีน

พันธะ glycosidic ที่เชื่อมตำแหน่ง α-1,4 ระหว่างโมเลกุลของกลูโคสในโมเลกุลของแป้งจะทำให้เกิดโครงสร้างแบบ helix ของสารโพลีแซคคาไรด์ เส้นผ่าศูนย์กลางภายในสาย helix ดังกล่าวจะใหญ่เพียงพอที่จะทำให้ธาตุไอโอดีนเข้าไปแทรกตัวอยู่ภายในโครงสร้าง helix ดังกล่าวซึ่งจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน เมื่อนำสารละลายของแป้งผสมกับสารละลายไอโอดีนจะได้สารประกอบเชิงซ้อนของแป้ง/ไอโอดีนซึ่งมีสีเข้มเกิดขึ้น สารเชิงซ้อนดังกล่าวสามารถดูดกลืนแสงในช่วง visible light ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงินเข้ม (38,39) ความแตกต่างของสี (สีน้ำเงิน ⟶ ม่วง ⟶ ชมพู ชมพู - ม่วง⟶ ชมพู⟶ น้ำตาลแดง) จะเกิดขึ้นเมื่อใส่สารละลายไอโอดีนลงผสมกับสารละลายของคาร์โบไฮเดรตที่มีความยาวของโมเลกุลของน้ำตาลในสาย helix ลดลงแตกต่างกัน เช่น แป้งจะให้สีน้ำเงิน dextrin จะให้สีน้ำเงิน – ม่วง, ม่วงหรือชมพู-ม่วง, ไกลโคเจนให้สีส้มหรือน้ำตาล (40)

4.3 การใช้เทคนิคไดอะไลซิสสำหรับการวิเคราะห์ผลการดูดซับสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจล

เทคนิคไดอะไลซิสเป็นเทคนิคที่ขึ้นอยู่กับการใช้แผ่น dialyzing membrane ซึ่งอาจเป็นแผ่นเมมเบรนสังเคราะห์ที่มีขนาดรูพรุนคงที่เช่นในการทำ hemodialysis หรือใช้แผ่น membrane จากผนังใต้ท้องซึ่งเกิดตามธรรมชาติ เช่นในการทำ peritoneal dialysis การเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายจะถูกกำหนดโดยขนาดโมเลกุลของสารเหล่านั้นเมื่อเทียบกับขนาดรูของแผ่นเมมเบรน โดยทั่วไปสารโมเลกุลเล็กจะผ่านรูของเมมเบรนได้ง่ายกว่าสารโมเลกุลใหญ่ ขนาดรูของ peritonial membrane จะมีขนาดใหญ่กว่า hemodialysis membrane ซึ่งจะสังเกตุได้ว่าสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าจะสามารถผ่าน peritoneal membrane ได้มากกว่า hemodialysis membrane (41, 42, 43)

4.4 การวิเคราะห์หาสารอาหารไขมัน

4.4.1 การวิเคราะห์สาร Cholesterol โดยวิธีวัดสี

การวัดสีที่เกิดขึ้นเป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้มากในอดีตในการวิเคราะห์หาสาร cholesterol การวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่เป็นที่นิยมมากวิธีหนึ่งซึ่งถูกคิดค้นโดย Zlatkis และคณะ เป็นวิธีที่เกี่ยวกับการทำปฏิกิริยาระหว่าง cholesterol กับสาร $FeCl_3$ (44) ทั้ง free cholesterol และ esterified cholesterol จะให้สีเช่นเดียวกัน สำหรับปฏิกิริยาการเกิดสีที่นิยมใช้กันมาก

(Liebermann-Burchard) จะทำให้เกิดเป็นสีเขียวโดยทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride และกรดซัลฟูริกที่เข้มขึ้น สำหรับปฏิกิริยานี้ cholesterol ในรูป ester จะทำปฏิกิริยาได้ค่อนข้างรวดเร็วกว่า free sterol เนื่องจากความเข้มสูงสุดของสีจะปรากฏระยะสั้น ๆ วิธีนี้อาจทำให้ได้ค่าสำหรับรูปแบบ ester สูงเกินจริง ทั้งวิธีของ Zlatkis และ Liebermann-Burchard เป็นวิธีที่มีข้อเสียเนื่องจากใช้สารที่ค่อนข้างกัดกร่อนและเกิดอันตราย อีกวิธีหนึ่งคือการตกตะกอน cholesterol โดยใช้ digitonin ตามด้วยการวัดการดูดกลืนแสงแต่มีข้อเสียที่ว่าสารอื่นนอกจาก cholesterol อาจตกตะกอนลงมาด้วย (45)

4.4.2 การวิเคราะห์ Cholesterol โดยวิธี HPLC

ถึงแม้ว่า HPLC จะกลายเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีประโยชน์สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol และเป็นวิธีที่ไม่ได้ใช้ความรุนแรงรองจากวิธีการใช้ gas chromatograghy ก็ตาม การนำมาใช้ประยุกต์หาปริมาณ cholesterol ค่อนข้างจำกัดเนื่องจาก cholesterol ไม่มีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง UV wavelength อย่างชัดเจน Cholesterol และสาร sterol มีโครงสร้างลักษณะ unsaturation และหมู่ฟังชั่นซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วง 203-214 nm โดยมีค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ 210 nm สำหรับ Cholesterol (46) การใช้เทคนิค HPLC จะมีข้อได้เปรียบเนื่องจากการแยกสารส่วนใหญ่สามารถกระทำได้ที่อุณหภูมิห้องและสารที่ได้จากการแยกจะสามารถรวบรวมได้จาก mobile phase เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ต่อไปโดยวิธีอื่น ๆ เช่น GC และMS (47) พบว่ามีการใช้วิธี HPLC เป็นจำนวนมากสำหรับการตรวจหา cholesterol ทั้งในรูป ester และ free form ในกระแสเลือด (48,49) และตัวอย่างที่ได้จากสารในร่างกายอื่น ๆ (46) พบว่ามีการใช้ C_{18} reversed-phase HPLC ในการตรวจหา cholesterol ในไข่แดง (44)

4.4.3 การวิเคราะห์กรดไขมัน เช่น Oleic acid และ stearic acid โดยใช้วิธี HPLC

พบว่ามีการใช้ Normal phase HPLC ในการแยกสารผสมของ triglyceride, diglyceride, sterol, กรดไขมันและ monoglyceride หลังจากมีการแยกเอา phospholipid ออกไป แต่นิยมใช้ reverse-phase มากกว่าสำหรับการวิเคราะห์หา cholesterol (50) มีการใช้ mobile phase ชนิด isocratic mobile phase และสามารถตรวจหาสารได้ในช่วง UV ที่ความยาวคลื่น 206 nm. mobile phase ที่ใช้จะเป็นสารผสมของ hexane : 2- propanol: acetic acid (100 : 0.5 : 0.1, V/V/V) สำหรับการแยกกรดไขมัน (51) พบว่าไขมันไม่อิ่มตัวจะให้ค่า retention time สูงกว่าไขมันชนิดอิ่มตัว (47)

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

การศึกษาคุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนเพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับผลของโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อการกักเก็บสารอาหารไขมันเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์เป็นอาหารทางการแพทย์ รวมทั้งการศึกษาถึงคุณสมบัติอื่นๆ เช่น การทนต่อการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์รวมถึงกรดอ่อนนั้นมีรายละเอียดของการทดลองดังนี้

1. การเตรียมเปลือกของผลทุเรียน

เปลือกของผลทุเรียนสด ๆ ถูกรวบรวมไว้ในระหว่างฤดูกาลแล้วนำมาทำความสะอาด, บดให้ละเอียดและทำให้แห้งแล้วนำมาเก็บในที่แห้งและเย็นจนกว่าจะนำมาใช้

2. การสกัด โพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน

สารโพลีแซคคาไรด์เจลได้จากการสกัดแยกจากเปลือกผลทุเรียนโดยใช้น้ำร้อนตามด้วยการตกตะกอนด้วย acid-alcohol ตามขั้นตอนและรายละเอียดที่ปรากฏในงานวิจัยของ Pongsamart and Panmaung (1998) (52)

3. การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน

3.1 การประเมินความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ α – amylase

incubate 1 มล. ของ 4% โพลีแซคคาไรด์เจลด้วย 50 U ของเอ็นไซม์ α – amylase (1 มล.) ที่อุณหภูมิ 37^0 C เป็นเวลา 0 และ 30 นาที หลังจากครบกำหนดเวลาแล้วทำการวิเคราะห์หาสารที่ได้จากการย่อยโดยทดสอบ ดังต่อไปนี้

- I_2 – test
- หา reducing sugar ด้วยวิธี Fehling' s test และวิธี O-toluidine

ใช้แป้งเป็น positive control และน้ำเป็น blank

3.1.1 การทดสอบสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยสารละลายไอโอดีน

- Stock Iodine Solution (ความเข้มข้น 0.1M)

ละลาย 0.3567 กรัมของ potassium iodate และ 4.5 กรัมของ potassium iodide ใน 80 มล. ของน้ำกลั่น เติม 9.0 มล. ของกรดเกลือเข้มข้นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้ควรเก็บไว้ในขวดสีชาในตู้เย็นและใช้ภายใน 2 เดือน

- Working iodine solution

ละลาย 59 กรัมของ Potassion fluoride (KF.2 H_2O) ใน 350 มล. ของน้ำกลั่น เติม 50 มล. ของ stock iodine solution แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มล. ด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้ควรบรรจุขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็นและใช้ภายใน 2 เดือน

- Reaction mixture

เติม 0.5 มล. ของ working iodine solution ลงใน 1 มล. ของสารที่ได้จากการย่อย PG ด้วย α-amylase แล้วสังเกตุสีน้ำเงิน-ม่วงของสารโพลีแซคคาไรด์

3.1.2 Fehling 's test สำหรับการทดสอบ reducing sugars (35)

A. Fehling 's reagent

a) ละลาย 6.92 กรัมของ $CuSO_4.5H_2O$ใน 60 มล. น้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริดเข้มข้น จำนวน 1 หยด ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

b) ละลาย 12.0 กรัมของ KOH และ 34.6 กรัมของ Sodium potassium tartrate tetrahydrate ใน 60 มล. ของน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

c) ผสม (a) กับ (b) ทันทีก่อนนำมาใช้

B. การเตรียมสารละลายของแป้งในบัฟเฟอร์ (40 มก./มล.)

a) ละลาย 2.66 กรัมของ Anh. Disodium Phosphate และ 0.86 กรัม benzoic acid ใน 50 มล. ของน้ำกลั่น ต้มจนเดือดแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

b) ละลาย 4.0 กรัมของแป้งที่ละลายได้ใน 40 มล.ของน้ำเย็น

c) เติม (a) เข้ากับ (b) และต้มจนเดือดเป็นเวลา 2 นาที

d) หลังจากตั้งทิ้งไว้จนเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว ปรับ pH ให้เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

C. สารละลายของสารโพลีแซคคาไรด์เจลในบัฟเฟอร์ (40 มก./มล.)

เตรียมสารละลายของโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนที่ต้องการทดสอบเช่นเดียวกับในข้อ B

D. Reaction mixture

- เติม 1 มล. ของFehling 's reagent ลงใน 1 มล. ของสารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase ผสมให้เข้ากันและให้ความร้อนโดยใช้น้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

- สังเกตุตะกอนสีแดงของ cuprous oxide ที่เกิดขึ้นภายใน 1 นาที

3.1.3 O-toluidine reagent test สำหรับการวิเคราะห์ reducing sugar เชิงปริมาณ (35,36)

A. O-toluidine reagent

ละลาย 0.15 กรัมของ thiourea ใน 94 มล.ของ glacial acetic acid เติม 6 มล. ของ O-toluidine แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

B. สารละลาย maltose มาตรฐาน (1000 มก%)

ละลาย 0.5 กรัม maltose ในน้ำกลั่น 100 มล.

C. 3% TCA

ละลาย 3.0 กรัมของ TCA ใน 100 มล. ของน้ำกลั่น

D. 6% TCA

ละลาย 6.0 กรัมของ TCA ใน 100 มล.ของน้ำกลั่น

E. เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบใหม่ ๆ (ได้แก่ แป้ง, PG, glucomannan และ maltodextrin) ในบัฟเฟอร์ (40 มก./มล.)

ขั้นตอนการทดสอบ

(1) การสร้าง standard curve ของ maltose

- เตรียมสารละลาย maltose มาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0-4 มก./มล.
- เติม 0.4 มล. ของ 3% TCA แล้วปรับปริมาตรเป็น 5 มล. ด้วยน้ำกลั่น
- เติม 4 มล. ของ reagent A แล้วผสมให้เข้ากัน
- ต้มสารละลายในน้ำเดือดเป็นเวลา 8 นาที แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 630 nm.
- นำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ maltose กับการดูดกลืนแสงที่ 630 nm.

(2) การทดสอบสารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase

- incubate 0.75 มล. ของสารละลาย 4% ของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วย 50 U ของ α-amylase จากน้ำลาย 0.75 มล. ที่อุณหภูมิ 37 ^{0} C เป็นเวลา 0 และ 30 นาที
- เติม 1 มล.ของ 6% TCA ลงไปใน 1 มล. ของสารที่ได้จากการย่อย PG ด้วย α-amylase นำไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2000Xg เป็นเวลา 15 นาที
- ผสม 0.5 มล. ของ filtrate เข้ากับ 0.5 มล. ของน้ำกลั่น และ 4 มล. ของ o-toluidine reagent น้ำตาลที่มีคุณสมบัติเป็น reducing agent สามารถหาได้โดยวิธี O-toluidine โดยทำการเปรียบเทียบกับน้ำตาล maltose ความเข้มข้นของน้ำตาล reducing sugar คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของ maltose

3.1.4 การหาส่วนประกอบของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase

ย่อยสารละลาย PG (20 มก./มล.) ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase (จากน้ำลาย, ปริมาณ 25 U) ที่ 37° C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากการย่อยสมบูรณ์แล้วทำการตกตะกอนสารละลายด้วย 60% เอทธานอล ทำการแยกส่วนใสโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 2000xg เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไป

ระเหย นำเอาส่วนที่ละลายน้ำไป load บนแผ่น TLC เพื่อหาส่วนประกอบของน้ำตาลที่ได้จากการย่อย โดยใช้ส่วนผสมของสารละลาย ดังนี้คือ acetone ; water: choloform : methanol (75:5:10:10) เป็น mobile phase ใช้ 5% ของ 1- naphthol ในเอทธานอลและกรดซัลฟูริค เป็น spray reagent (53)เปรียบเทียบผลที่ได้กับน้ำตาลมาตรฐาน

3.2 การประเมินหาความสามารถในการถูกย่อยด้วยกรดอ่อนของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน

Reagent

A. ละลาย 1กรัมของ PG ใน 50 มล. ของน้ำกลั่นเพื่อทำให้มีความเข้มข้นเป็น 20 มก./มล.

B. เตรียมสารละลาย 1M HCl (โดยการเติม 8.3 มล. ของกรดเกลือเข้มข้นลงใน 100 มล. ของน้ำกลั่น)

C. สารละลายไอโอดีน (working iodine solution)

Reaction mixture

(1) ผสมสารละลายของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (1000 ul) เข้ากับสารละลายเจือจางของกรดเกลือ (10, 50 และ 100 μl ของ reagent B) เพื่อทำให้เป็น 0.01, 0.05 และ 0.1M ของ HCL ส่วนสารละลายที่ใช้เป็นตัวควบคุมประกอบด้วยสารผสมของ PG กับน้ำกลั่น

(2) incubate ที่ 37°C เป็นเวลา 0, 0.5, 1 และ 4 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นลงทันที

(3) ใส่ 0.5 มล. ของ reagent C และสังเกตุสีม่วงของสาร polysaccharide ที่เกิดขึ้น

3.2 การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG ในหลอดทดลอง

3.3.1 การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน

3.3.1.1 การศึกษาเบื้องแรกเพื่อประเมินคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG โดยใช้วิธี spectrophotometric สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol (45)

<u>สารเคมี</u>

A. Ringer lactate buffer (Clark-forg Ring), pH 7.0 -

ละลายสารดังต่อไปนี้ในน้ำกลั่น

NaCl	6.5	g
KCl	0.14	g
$CaCl_2.2H_2O$	0.16	g
$NaH_2PO_4.2H_2O$	0.012	g
$NaHCO_3$	0.2	g

Glucose	2.0	g

ปรับ pH ให้เป็น 7 และเติมน้ำจนครบ 1 ลิตร

B. Triton X-100 ในสารละลาย Ringer lactate buffer (1%W/V)

C. Ferric chloride reagent ใน 1 ลิตร ประกอบด้วย 80 มล. ของสารละลาย 2.5% ของ $FeCl_3.6H_2O$ในกรด H_3PO_4เข้มข้น และ 920 มล. ของกรดซัลฟูริค เข้มข้น

ขั้นตอนการวิเคราะห์

(1) การสร้างกราฟมาตรฐานของ cholesterol

a) เตรียม standard cholesterol ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ โดยชั่ง cholesterol ขนาด 0-200 μ_g แล้วละลายด้วย เอทธานอล ปรับปริมาตรให้เป็น 2.0 มล.

b) เติม 2.0 มล. ของ ferric chloride reagent ผสมให้เข้ากันด้วยการใช้ vortex

c) incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

d) นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 550 nm.

e) นำเอาค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ cholesterol ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

(2) การวิเคราะห์คุณสมบัติการกักเก็บสาร Cholesterol ของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน

(a) การเตรียมสารตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

- เตรียมสารละลายตัวอย่างโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้คือ 0 (เป็นตัวควบคุม), 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% โดยใช้ 5 มล. ของ Triton X-100 (1% W/V)ใน Ringer lactate buffer นำเอาสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ของ PG ที่เตรียมได้นี้ผสมกับ 20 มก. ของ cholesterol แล้วปรับปริมาตรเป็น 7 มล. ด้วย Triton X-100 (1% W/V) ใน Ringer lactate buffer

- แช่ถุง dialysis membrane (M.W.CO. 12,000) ใน Ringer lactate buffer ค้างคืนก่อนนำมาใช้

- บรรจุสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ลงในถุง dialysis ผูกให้แน่นแล้วนำไป dialyse ใน 200 มล. ของ Triton X-100 (1% W/V)ใน Ringer lactate buffer โดยใช้บีกเกอร์ขนาด 250 มล. เป็นเวลา 10 ชม.

(b) การวิเคราะห์ cholesterol โดยปฏิกิริยาการทำให้เกิดสี

หลังจากทำการ dialysis ครบเวลาแล้ว ให้รวบรวมตัวอย่างในถุงและสารละลายนอกถุงในบีกเกอร์ไปสกัดแยกเอา cholesterol ด้วย ether วัดหาปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ในถุง dialysis โดย PG และcholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุงโดยปฏิกิริยาการทำให้เกิดสีกับ $FeCl_3$ reagent (44) นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 550 nm. หาปริมาณ cholesterol ในสารตัวอย่างโดยเทียบกับ standard curve

3.3.1.2 การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน(PG) โดยใช้เทคนิค HPLC ในการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol (46,49)

อุปกรณ์

1) กรวยแยก และที่วางกรวยแยก
2) water bath
3) Beaker
4) เครื่อง degas
5) Volumetric flask
6) เครื่องกรองสาร และ pump
7) micromembrane ขนาด 0.45 ไมครอน
8) syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน
9) pipette, micropipette
10) Erlenmeyer Flask
11) Eppendrof
12) เครื่อง HPLC (Shimazu 5 SPD-10A UV-VIS Detector LC 10 AD)
13) Integrator (C-R 6 A Chromatogram)
14) Column : Symmetry C_{18} (3.9 x 150 mm, 5 U)
15) Injector (Exmire microsyringe MS 50)

สารเคมี

1) Ether (J.T. Baker, $(C_2H_5)_2O$, M.W. 74.12 g/mol)
2) Acetonitrile (J.T. Baker, CH_3CN, M.W. 41.05g/mol, HPLC solvent)
3) 2-propanol (APS Ajax Finechem., $(CH_3)_2CHOH$, M.W. 60.10 g/mol, HPLC solvent)
4) Cholesterol (Sigma, M.W. 386.6 g/mol)
5) Sodium taurocholate (Sigma, $C_{26}H_{44}NO_7SNa$, M.W. 537.7 g/mol)

วิธีทดลอง

1) การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ (Sample preparation)

1.1 การทำ dialysis

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ถุงสำหรับ dialysis (Cellu-Sep T_4, M.W. CO. : 12,000 -14,000)
2. Beaker

3. Magnetic Stirrer
4. Pipette
5. Cylinder
6. เครื่องชั่ง
7. Erlenmeyer Flask
8. Stand
9. เชือกใช้ผูกปลายทั้งสองด้านของถุง dialysis membrane

สารเคมี

1. Ringer Lactate Buffer (โดย Clark-forg Ring) ปริมาตร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

NaCl	6.5	กรัม
KCl	0.14	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	0.16	กรัม
$NaH_2PO_4.2H_2O$	0.012	กรัม
$NaHCO_3$	0.2	กรัม
Glucose	2.0	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. 1% Sodium taurocholate ในสารละลาย Ringer Lactate Buffer (ชั่ง Sodium taurocholate 0.1 กรัม ละลายใน Ringer Lactate Buffer 10 มิลลิลิตร)
3. Cholesterol [5(6)-cholesten-3-ol Anhyd. (Sigma, M.W. 386.6 g/mol)
4. สารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน (PG)

วิธีการทดลอง

1) ชั่ง cholesterol ปริมาณ 20 mg นำไปผสมกับ 1% Sodium taurocholate ในสารละลาย Ringer Lactate Buffer ปริมาตร 1.5 ml.
2) ชั่งสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน (เจล PG) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในถุง dialysis ระหว่าง 0-2% นำมาละลายใน Ringer Lactate Buffer จำนวนเล็กน้อย (ประมาณ 3.5 ml.)
3) ผสมสารละลายในข้อ 1) เข้ากับสารละลายในข้อ 2)
4) นำมาบรรจุใน Cellu-Sep T_4 ซึ่งได้ทำการแช่น้ำค้างคืนและนำมาต้มที่อุณหภูมิ 70° C ประมาณ 5 นาทีไว้แล้ว ใช้ Buffer จำนวนอีก 2 มล. ทำการชะล้างสารที่ติดอยู่ข้างบีกเกอร์ลงในถุง dialysis ให้หมด ทำการผูกปลายทั้งสองข้างของถุง dialysis ด้วยเชือกให้

แน่น และใช้ Buffer 10 ml. ล้างบีกเกอร์ซึ่งอาจมีสารติดอยู่หลังจากบรรจุในถุง dialysis แล้ว เพื่อไว้สกัดและวิเคราะห์ปริมาณ cholesterol ที่อาจหลงเหลือในขั้นตอนนี้ [a]

5) ทำการ dialyse ใน Ringer Lactate Buffer จำนวน 200 มล. เป็นเวลา 10 ชม.

ตารางแสดงรายละเอียดการเตรียม dialysis bag ให้มีความเข้มข้นของเจล PG ระหว่าง 0-2%

% Gel PG	0	0.5	1	1.5	2
ปริมาณ cholesterol (mg)	20.1	20.3	20.7	20.6	20.9
ปริมาณเจล PG (g)	0	0.035	0.07	0.105	0.14
Buffer Add To (ml)	7	7	7	7	7

1.2 นำ dialysate จำนวนทั้งหมดที่ได้จากการ dialyse จากข้อ 1.1 ไประเหยบน water bath จนเหลือปริมาตร 20 ml. ของแต่ละตัวอย่าง

1.3 สกัดด้วย ether จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของสารตัวอย่าง

1.4 นำชั้น ether ที่สกัดได้ระเหยให้แห้ง แล้วจึงละลาย residue ด้วย mobile phase (acetonitrile : 2-propanol, 7:3) ปรับให้มีปริมาตร 1 ml. แล้วกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

[a] นำมาสกัดด้วย ether จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของสารตัวอย่าง และนำชั้น ether ที่สกัดได้ระเหยให้แห้ง แล้วจึงละลาย residue ด้วย mobile phase ปรับให้มีปริมาตร 0.5 ml. แล้วกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

1.5 นำสารภายในถุง dialysis หลังการ dialyse เป็นเวลา 10 ชม. แล้วของสารแต่ละความเข้มข้นของ PG มาปรับปริมาตรให้เป็น 25 ml. ด้วย Ringer Lactate Buffer . ส่วน dialysis bag ของแต่ละตัวอย่างให้ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 ml. ด้วย Buffer เพื่อไว้สกัดและวิเคราะห์ปริมาณ cholesterol ที่ยังอาจติดอยู่ในถุง dialysis ในขั้นตอนนี้ [b]

1.6 นำตัวอย่างสารภายในถุง dialysis ของแต่ละความเข้มข้นของ PG มาตัวอย่างละ 10 มล. สกัดด้วย ether จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้ปริมาตรในแต่ละครั้งเท่ากับปริมาตรของสารตัวอย่าง

1.7 นำชั้น ether ที่สกัดได้ระเหยให้แห้ง แล้วจึงละลาย residue ด้วย mobile phase ปรับให้มีปริมาตร 1 ml. แล้วกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

[b] นำมาสกัดด้วย ether จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของสารตัวอย่าง และนำชั้น ether ที่สกัดได้ไประเหยให้แห้งแล้วจึงละลาย residue ด้วย mobile phase ปรับให้มีปริมาตร 0.5 ml แล้วกรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

2) <u>การเตรียมสารละลายมาตรฐาน</u> (Standard preparation)

2.1 เตรียม Stock Standard Cholesterol ความเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 50 ml [ชั่ง Standard Cholesterol 50 mg ละลายใน mobile phase (acetonitrile : 2-propanol, 7:3) ปรับให้มีปริมาตรเป็น 50 ml.]

2.2 เตรียมสารละลาย cholesterol สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน โดยเตรียมให้ความเข้มข้นของ cholesterol อยู่ในช่วง 0.125-0.625 mg/ml (การเลือกช่วงความเข้มข้นดังกล่าว เนื่องจากในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane และถูกกักเก็บไว้ในถุงdialysis membrane เมื่อมีสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG โดยใช้เทคนิคการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer พบความเข้มข้นของ cholesterol อยู่ในช่วงดังกล่าว) รายละเอียดการเตรียมสารละลาย cholesterol สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน สรุปได้ดังตาราง

ความเข้มข้นของ cholesterol ที่เตรียมได้ (mg/ml)	ปริมาตรของ stock standard cholesterol ที่นำมาใช้ (μL)	ปริมาตรของ mobile phase (ACN : 2-propanol, 7 : 3)ที่ใ (μL)	ปริมาณ cholesterol/ครั้งของการ inject (μg)
0.125	125	875	2.5
0.25	250	750	5
0.375	375	625	7.5
0.5	500	500	10
0.625	625	375	12.5

3) <u>การเตรียม mobile phase</u>

ผสม acetonitrile กับ 2-propanol ในอัตราส่วน 7 : 3 นำไปกรองผ่าน micromembrane ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วจึงนำไป degass นานประมาณ 30-60 นาที ก่อนนำไปใช้

4) <u>การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC</u>

4.1) Condition ที่ใช้

Mobile phase	=	acetonitrile : 2-propanol (7 : 3)
Flow rate	=	1.5 ml / min
UV. Detection	=	210 nm
AUFS	=	0.1
Attenuation	=	7
ปริมาณสารที่ inject	=	20 μ_L
Column type	=	Symmetry C_{18} (3.9 x 150 mm, 5 U)
Temperature	=	RTประมาณ 20-24° C
System	=	isocratic

4.2) วิธีวิเคราะห์

1. ทำการ equilibrate column ด้วย mobile phase คือ acetonitrile : 2-propanol (7:3) ด้วย flow rate1.5 ml/min ประมาณ 30 นาที และ check base line ก่อนที่จะทำการ inject สาร
2. ทำการ inject สารละลายมาตรฐาน choesterol แต่ละความเข้มข้น ในปริมาตร 20 μ_L
3. ก่อนที่จะ inject สารตัวอย่าง ควรปล่อยให้ mobile phase ทำการ eqilibrate column ประมาณ 5-10 นาที จนแน่ใจว่า สารละลายมาตรฐานไม่ติดอยู่ตาม column อีก
4. ทำการ inject สารตัวอย่างที่เตรียมสำหรับการวิเคราะห์โดย inject ตัวอย่างละ 20 μ_L (dilute สารตัวอย่างด้วย mobile phase ในกรณีที่สารตัวอย่างมีความเข้มข้นเกินสารละลายมาตรฐาน cholesterol)
5. หลังจากทำการทดลองเสร็จ ก่อนที่จะเก็บ column ปรับให้ mobile phase ไหลในอัตราเร็ว 1.5 ml / min ประมาณ 30 นาที เพื่อให้ column อิ่มตัวด้วย mobile phase

5. <u>การคำนวณและการวิเคราะห์ทางสถิติ</u>

- หาค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้กราฟของ chromatogram ที่ได้ แล้วนำเอาพื้นที่ใต้กราฟดังกล่าวไปคำนวณหาปริมาณ cholesterol จาก standard curve ของ cholesterol
- การวิเคราะห์ทางสถิติ :

ผลลัพธ์ที่ได้ถูกนำเสนอในรูป mean $\pm$ SD การวิเคราะห์ข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดยค่า $p< 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS 10.0

3.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสาร fatty acid ได้แก่ oleic acid และ stearic acid ของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG)โดยใช้เทคนิค HPLC สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ fatty acid

สารเคมี

A. Sodium taurocholate ในสารละลาย Ringer lactate buffer ความเข้มข้น 10มก./มล.

B. Mobile phase ประกอบด้วย 2-propane :acetic acid (100:0.5:0.1)

วิธีทดลอง

1) การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

เตรียมสารตัวอย่างในลักษณะเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol โดยเทคนิค HPLC (3.3.1.2)

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (standard preparation) (51)

เตรียมสารละลาย oleic acid ให้มีปริมาณ oleic acid อยู่ระหว่าง 2.5-12.5 μg เพื่อนำไปสร้าง standard curve

เตรียมสารละลาย stearic acid ให้มีปริมาณ stearic acid อยู่ระหว่าง 5-25 μg เพื่อนำไปสร้าง standard curve

3) condition ที่ใช้ :

Mobile phase : hexane : 2-propanol: acetic acid (100:0.5:0.1) กรองผ่านแผ่น membrane ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วนำไป degass นานประมาณ 30-60 นาที ก่อนนำไปใช้

Flow rate : 2.0 มล./นาที

UV. Detection : 206 nm.

Column type : μ Porasil (3.9x30 cm.)

ปริมาณสารที่ inject : 20 μl

Temperature : Room temperature

System : isocratic

การคำนวณและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ cholesterol

หลังจากทำการทดลองเสร็จแล้ว นำปริมาณของ standard fatty acid ที่ใช้วิเคราะห์และค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้กราฟของ chromatogram ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน

จากกราฟมาตรฐานสามารถนำมาใช้หาปริมาณของ fatty acid (stearic acid หรือ oleic acid)ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane และที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุง โดยใช้ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้กราฟของchromatogram ที่หาได้

การวิเคราะห์ทางสถิติ :

ผลลัพธ์ที่ได้ถูกนำเสนอในรูป mean^{+} SD การวิเคราะห์ข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดยค่า $p< 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS 10.0

3.3.3 การวิเคราะห์เปรียบเทียบคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของ glucomannan ความเข้มข้นต่าง ๆและ PG จากเปลือกทุเรียนโดยเทคนิค HPLC

glucomannan (Konjak mannan) ซึ่งเป็นสารประเภทเส้นใยอาหารที่มีขายทั่วไปตามท้องตลาดถูกนำมาใช้ศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันประเภท fatty acid และ cholesterol เปรียบเทียบกับสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน

การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

เตรียมถุง dialysis bag ให้มีความเข้มข้นของ glucomannan ระหว่าง 0-2% เช่นเดียวกับ PG แล้วทำการ dialysis เช่นเดียวกับในข้อ 3.3.1.2 โดยใช้เวลาในการทำ dialysis เป็นเวลา 10 ชม. เมื่อทำการ dialysis ครบ 10 ชม.แล้ว ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol หรือ fatty acid ที่ถูกกักเก็บไว้ในถุงและถูกปลดปล่อยออกมานอกถุงโดยใช้เทคนิค HPLC โดยมีกระบวนการ ขั้นตอน รวมทั้ง condition ต่าง ๆ ในการทดลองรวมทั้งวิธีการคำนวณ, การวิเคราะห์ทางสถิติ เช่นเดียวกับที่ใช้ในการศึกษาการกักเก็บไขมันของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน (PG)

3.3.4 การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ในไข่แดงของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนโดยใช้วิธี dialysis และใช้เทคนิค HPLC ในการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol

A. การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการตรวจวิเคราะห์

- ชั่งหาน้ำหนักของไข่ไก่ 1 ฟอง นำมาแยกเอาไข่ขาวออกให้เหลือแต่ไข่แดงแล้วนำมาปั่นและผสมให้เข้ากัน (44)

-นำไข่แดง 2 กรัมละลายใน 1.5 มล. ของสารละลาย sodium taurocholate ที่ละลายใน Ringer lactate buffer (ความเข้มข้น 10มก./มล.) ผสมให้เข้ากันกับสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG (ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0-2%) ปรับปริมาตรให้ครบ 7 มล. ด้วย Ringer lactate buffer

-ถ่ายสารละลายผสมที่ได้นี้ลงในถุง dialysis และทำการ dialyse ใน 200 มล. ของ Ringer lactate buffer เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

-รวบรวม dialysate แล้วนำมาระเหยจนเหลือปริมาตรประมาณ 30 มล. นำมาสกัดด้วย ether นำชั้น ether ที่สกัดได้มาระเหยให้แห้ง ละลาย residue ของ cholesterol ที่ได้ด้วย 1 มล. ของ mobile phase

B. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol สภาวะที่ใช้สำหรับเทคนิค HPLC การคำนวณและการวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาปริมาณ cholesterol ในไข่แดงที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis membrane เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ cholesterol ในหัวข้อ 3.3.1.2

3.3.5 การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG ต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol จากลำไส้เล็กส่วน Jejunum ของหนู

A. การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการตรวจวิเคราะห์

- ละลาย cholesterol จำนวน 0.14 กรัมด้วย 10.71 มล. ของสารละลาย sodium taurocholate ที่ละลายใน Ringer lactate buffer (ความเข้มข้น 10 มก./มล.) นำไปผสมกับสารละลายของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG ที่เตรียมขึ้นในช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ ระหว่าง 0-2 % W/V ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มล.ด้วย Ringer lactate buffer
- นำหนูตัวผู้สายพันธุ์ Wistar น้ำหนักประมาณ 250 กรัม นำมาเลี้ยงโดยให้อาหารจนถึงวันก่อนฆ่า นำมาฆ่าโดยใช้ ether แล้วนำเลือดออกจากตัวให้หมด นำมาตัดเอาถุง jejunum ขนาดความยาว 10 ซม. แล้วนำมาปลิ้นเอาด้านในออกข้างนอก (56,57) ใส่ Ringer lactate buffer ลงไปประมาณ 1.5 มล. แล้วนำมา dialyse ในสารผสมของ cholesterol ในสารสกัดจากเปลือกทุเรียนที่เตรียมขึ้น โดยใช้เวลา dialyse ประมาณ 1 ชม.
- หลังจากทำการ dialysis แล้วนำถุง jejunum มาล้างใน Ringer lactate buffer รวบรวมสารละลายที่อยู่ภายในถุง ปรับปริมาตรให้เป็น 2 มล.ด้วย Ringer lactate buffer แล้วนำมาสกัด cholesterol โดยใช้ ether นำเอาชั้น ether มาระเหยให้แห้ง ละลาย cholesterol residue ด้วย 1.0 มล. ของ mobile phase

B. วิธีการวิเคราะห์, สภาวะที่ใช้ การคำนวณและวิธีการทางสถิติที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หา cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้โดยสารสกัดจากเปลือกทุเรียนภายนอกถุงกระทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2

3.4 การประเมินผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมัน

ทำการวัดความหนืดของสารละลายโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนความเข้มข้นต่างๆ (0,0.5,1.0,1.5 และ2.0 % W/V) โดยใช้ viscometer (Rheology international ®) ใช้ shear rate ที่อัตรา 100 rpm ที่อุณหภูมิห้อง ค่าความหนืดที่ได้มีหน่วยเป็น milli Pascal seconds (mPa.s.) หนึ่ง milli Pascal seconds มีค่าเท่ากับ 1 centipoise (54,55)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

สารโพลีแซคคาไรด์เจลสกัดจากเปลือกผลทุเรียน (PG) เป็นผงสีเหลืองอ่อนเตรียมได้จากเปลือกทุเรียนที่แห้งแล้ว ผงสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG นี้จะพองออกและเกิดเป็นเจลหนืดเมื่อผสมกับน้ำ นอกจากนั้นจากการศึกษาคุณสมบัติของสาร PG ในหลอดทดลองปรากฏผลดังต่อไปนี้

1. คุณสมบัติทางชีวภาพของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน

1.1 ความทนต่อการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ α-amylase

ทำการย่อยสารละลายโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนด้วยเอ็นไซม์ α-amylase แล้วนำเอาสารที่ได้จากการย่อยดังกล่าวมาทดสอบคุณสมบัติต่างๆดังต่อไปนี้ :

การทดสอบหาโครงสร้าง α helix โดยใช้ Iodine test : พบว่าสารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase ไม่ให้สีม่วงกับสารละลายไอโอดีนเมื่อเทียบกับแป้งและ maltodextrin ส่วนแป้งและ maltodextrin เมื่อถูกย่อยด้วย α-amylase ก็จะทำให้สีน้ำเงินของแป้งและสีม่วงแดงของ maltodextrin หายไปเช่นกัน (ตาราง 1)

การทดสอบหา reducing sugar ด้วย Fehling's test : สารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase ไม่ให้ตะกอนสีแดง-ส้มกับ Fehling's reagent เมื่อเทียบกับแป้งที่ใช้เป็นตัวควบคุม (ตาราง2)

การทดสอบหาปริมาณ reducing sugar ด้วย O- toluidine test : สารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase จะให้สีเขียวกับ O- toluidine reagent เมื่อเทียบกับแป้งและ maltodextrin ปริมาณของ reducing sugar ที่ได้จากการย่อยสาร PG หลังจากทดสอบด้วยสาร O- toluidine สามารถคำนวณหาได้จากกราฟมาตรฐานของ maltose พบปริมาณของ reducing sugar จากความเข้มข้นสูงไปต่ำดังนี้ maltodextrin> แป้ง >PG> กลูโคแมนแนน (ตาราง1)

การทดสอบหาส่วนประกอบของน้ำตาลด้วย TLC : การหาส่วนประกอบของน้ำตาลที่ได้จากการย่อย PG ใช้วิธี TLC จาก chromatogram ที่ได้พบน้ำตาล 2 ชนิด ซึ่งเมื่อเทียบกับตัวควบคุมแล้วน่าจะเป็นน้ำตาล maltose และ sucrose (รูป 1)

1.2 ความทนต่อการถูกย่อยสลายด้วยกรดอ่อน

จากการย่อยสลายสารละลายโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วยกรดเกลือ ความเข้มข้นต่างๆ (0.01M HCL, 0.05M HCL, และ 0.1 M HCl) โดยการ incubate เป็นเวลา 0, 0.5,1 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับ นำเอาสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดดังกล่าวมาทดสอบโดยวิธี Iodine test พบว่า

สารที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดยังคงให้สีม่วงเช่นเดียวกับสารละลายโพลีแซคคาไรด์เจลที่มิได้ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดซึ่งใช้เป็นตัวควบคุม (ตาราง 3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

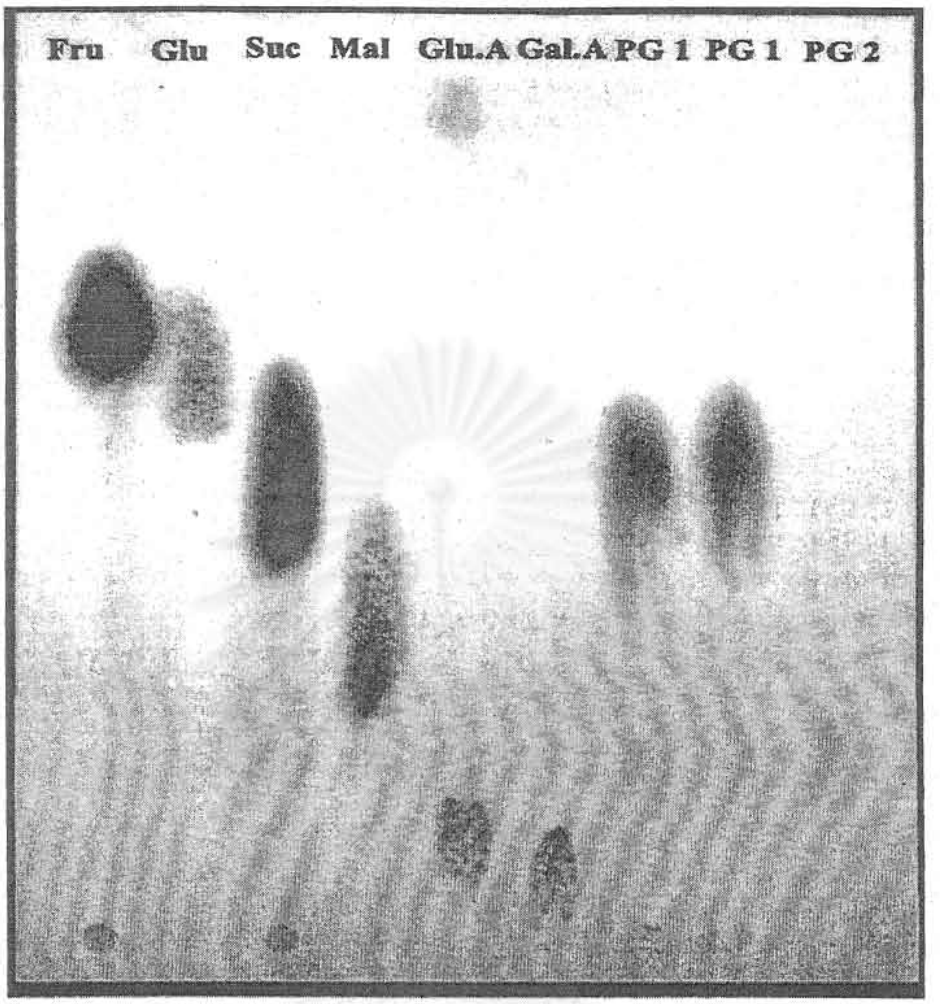
ตารางที่ 1 : ผลการย่อยโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วยเอ็นไซม์ ∝-amylase เมื่อเปรียบเทียบกับแป้ง, maltodextrin และ glucomannan. ใช้เอ็นไซม์ 25 U ; สารตั้งต้น 20 มก. /มล. ; incubation ที่อุณหภูมิ 37 °C

Reagent (Reaction)	Time digestion (min)	Blank (Distilled water,DW)	Control Starch (S)		Polysaccharide gel (PG)		Glucomannan (GM)		Maltodextrin (MD)	
		DW+Enz.	S+DW	S+Enz.	PG+DW	PG+Enz.	GM+DW	GM+Enz.	MD+DW	MD+Enz.
I_2 Solution (∝-helix test)	0	⊖ ve	⊕ ve (blue)	⊕ ve (blue)	⊕ ve (purple)	⊕ ve (purple)	⊖ ve	⊖ ve	⊕ ve (purple+red brown)	⊕ ve (purple+red brown)
	30	⊖ ve	⊕ ve (blue)	⊖ ve	⊕ ve (purple)	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve	⊕ ve (purple+red brown)	⊖ ve
O-Toluidine (reducing end test)	0	⊖ ve	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 0.6 mg maltose	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 0.63 mg maltose
	30	⊖ ve	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 17.52 mg maltose	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 6.3 mg maltose	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 4.8 mg maltose	⊖ ve	⊕ ve(green) eq. to 19.20 mg maltose

ตารางที่ 2 : การทดสอบหา reducing sugar หลังจากการย่อยสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนด้วยเอ็นไซม์ α- amylase โดยใช้วิธี Fehling's test [ใช้เอ็นไซม์ α- amylase 25 U; ตัวควบคุม (สารละลายของแป้งความเข้มข้น 20 มก./มล.; สารตั้งต้น (PG) ความเข้มข้น 20 มก./มล.]

Test	Time (min) hydrolysis at 37^0 C	Fehling's test
Blank (distilled water)	After digestion by α - amylase 0 min	⊖ve (5 min heated)
	After digestion by α- amylase 30 min	⊖ve (5 min heated)
Control (Soluble starch)	After digestion by α- amylase 0 min	⊖ve (5 min heated)
	After digestion by α- amylase 30 min	⊕ ve (1 min heated) orange-red precipitation
PG	After digestion by α- amylase 0 min	⊖ve (5 min heated)
	After digestion by α- amylase 30 min	⊖ve (5 min heated)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 : Thin-layer chromatography ที่ได้จากการย่อยโพลีแซคคาไรด์เจลด้วยเอ็นไซม์ α-amylase Standard sugars ประกอบด้วย Fru = fructose; Glu = glucose; Suc = sucrose; Mal = maltose; Glu A = glucuronic acid; Gal A = galacturonic acid; PG1 = สารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase เป็นเวลา 30 นาที (50 µl), PG2 = สารที่ได้จากการย่อย PG ด้วยเอ็นไซม์ α-amylase เป็นเวลา 0 นาที (50 µl) TLC Plate ประกอบด้วย silica gel 60 F_{254} aluminium sheet; mobile phase ประกอบด้วย acetone : water : chloroform : methanol (75 : 5 : 10 : 10, v/v/v/v); spray reagentประกอบด้วย 5% ของ 1-napthol ในเอทธานอล และกรดซัลฟูริก

ตารางที่ 3 : แสดงผลการย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ เจลจากเปลือกทุเรียน ด้วยกรดเกลือ เจือจาง ความเข้มข้นต่างๆ (0.01 M HCl, 0.05 M HCl, และ 0.1 M HCl) ใช้เวลาในการย่อยสลาย 0, 0.5, 1, และ 4 ชม. สารตั้งต้น (PG) ความเข้มข้น 20 มก. /มล. ในกรดเกลือเจือจาง : ตัวควบคุม = สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนในน้ำ ; ⊕ ve = สีม่วง.

Time (hr.) hydrolysis at 37° C	control (PG in water)	I_2 test for polysaccharide after hydrolysis in dilute HCl		
		PG in 0.01 M HCl	PG in 0.05 M HCl	PG in 0.1 M HCl
0	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve
0.5	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve
1	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve
4	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve	⊕ ve

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2) คุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน

2.1) การศึกษานำร่องเพื่อศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสาร Cholesterol ของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน PG

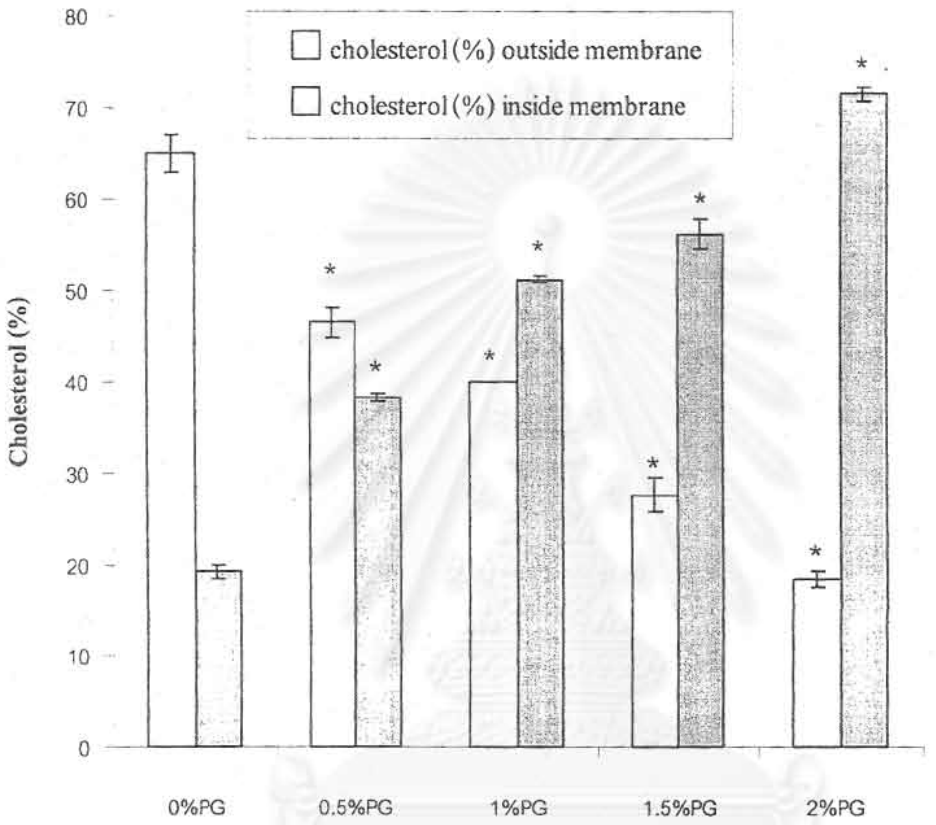
จากการศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสาร Cholesterol ของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0-2% โดยวิธี dialysis เป็นเวลา 10 ชม. และหาปริมาณ Cholesterol ด้วยวิธีวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer พบว่าปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ สารสกัดจากเปลือกทุเรียนภายในถุง นอกจากนั้นยังพบว่าปริมาณของ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane ออกมานอกถุงจะมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเพิ่มปริมาณของ PG ภายในถุง (รูปที่ 2) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของ PG ภายในถุงเป็น 2% จะสามารถกักเก็บ cholesterol ได้ประมาณ 70%

2.2) การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสาร PG จากเปลือกผลทุเรียนโดยใช้วิธี Dialysis และใช้เทคนิค HPLC วิเคราะห์หาปริมาณของสารอาหารไขมัน

Cholesterol : Cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis จะมีปริมาณลดลงในขณะที่ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน PG ภายในถุง (ตารางที่ 4,5,6 และรูปที่ 3 a และ b) หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชม. PG ความเข้มข้น 2%, 1.5% และ 1% สามารถกักเก็บ cholesterol ไว้ได้ 85.68 $\pm$1.8% 73.37 $\pm$ 0% และ 65.35 $\pm$ 13 % ตามลำดับ หลังจากทำการdialysis เป็นเวลา 16 ชม.

Oleic acid : Oleic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis membrane จะลดลงในขณะที่ Oleic acid ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ภายในถุง (รูปที่ 4 a,b) หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชม. PG ความเข้มข้น 2%, 1.5% และ 1% สามารถกักเก็บ oleic acid ไว้ได้ 68.75 $\pm$ 1.41% 53.41 $\pm$ 0.46% และ 42.3 $\pm$ 2.76 % ตามลำดับหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 16 ชม.

Stearic acid : Stearic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis membrane จะลดลงในขณะที่ stearic acidที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ภายในถุง (รูป 5 a, b) หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชม. PG ในขนาดความเข้มข้น 2%, 1.5% และ 1% สามารถกักเก็บ



รูปที่ 2 : การศึกษานำร่องในหลอดทดลองถึงผลของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลสกัดจากเปลือกผลทุเรียนที่มีต่อการปลดปล่อยและการกักเก็บสาร cholesterol ในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม. การวิเคราะห์ cholesterol กระทำโดยปฏิกิริยาการทำให้เกิดสี PG = สารโพลีแซคคาไรด์เจล ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SE แสดงโดยกราฟแท่ง * เป็นค่าเฉลี่ยที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (O % PG), $p < 0.05$

ตารางที่ 4 :แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านถุง dialysis membrane ที่มี PG ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-2% ภายในถุงหลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.

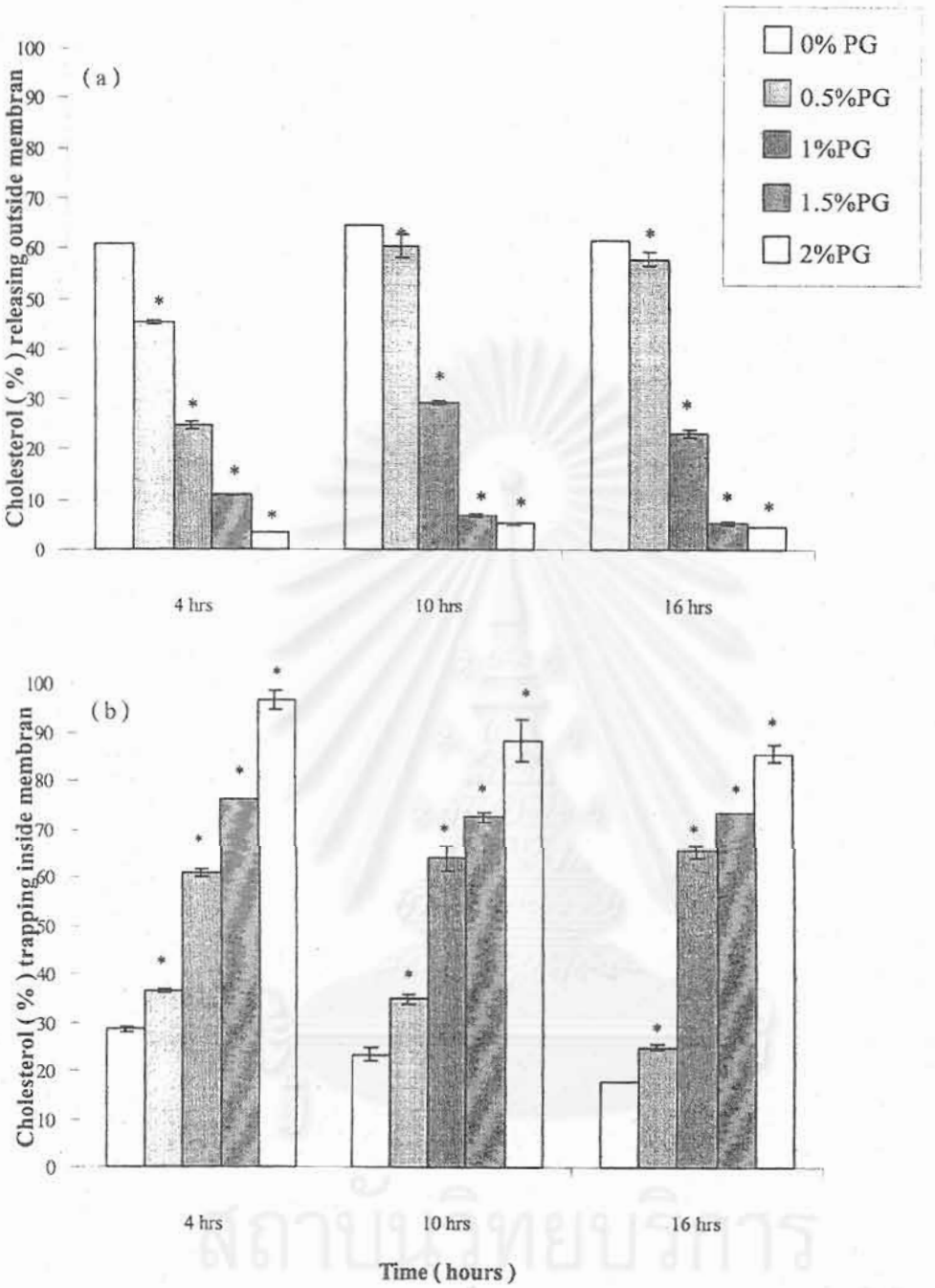
% PG II	Peak area ของ cholesterol		Average peak area	ปริมาณ cholesterol ที่หาได้	ปริมาณ cholesterol ทั้งหมด	% cholesterol ที่ซึมผ่าน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ของ cholesterol	จาก Standard curve (mg)	ใน dialysate (mg)	เยื่อ dialysis membrane
0	1301320	1358737	1330028.5	0.0127	12.7	63.14
0.5	1259969	1241106	1250537.5	0.0119	11.9	58.62
1	1238260	1234220	1236240	0.0117	5.85	28.26
1.5	1126219	1160899	1143559	0.0109	1.36	6.6
2	862555	899467	881011	0.0084	1.05	5.02

ตารางที่ 5 : แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane ที่มี PG ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-2% หลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.

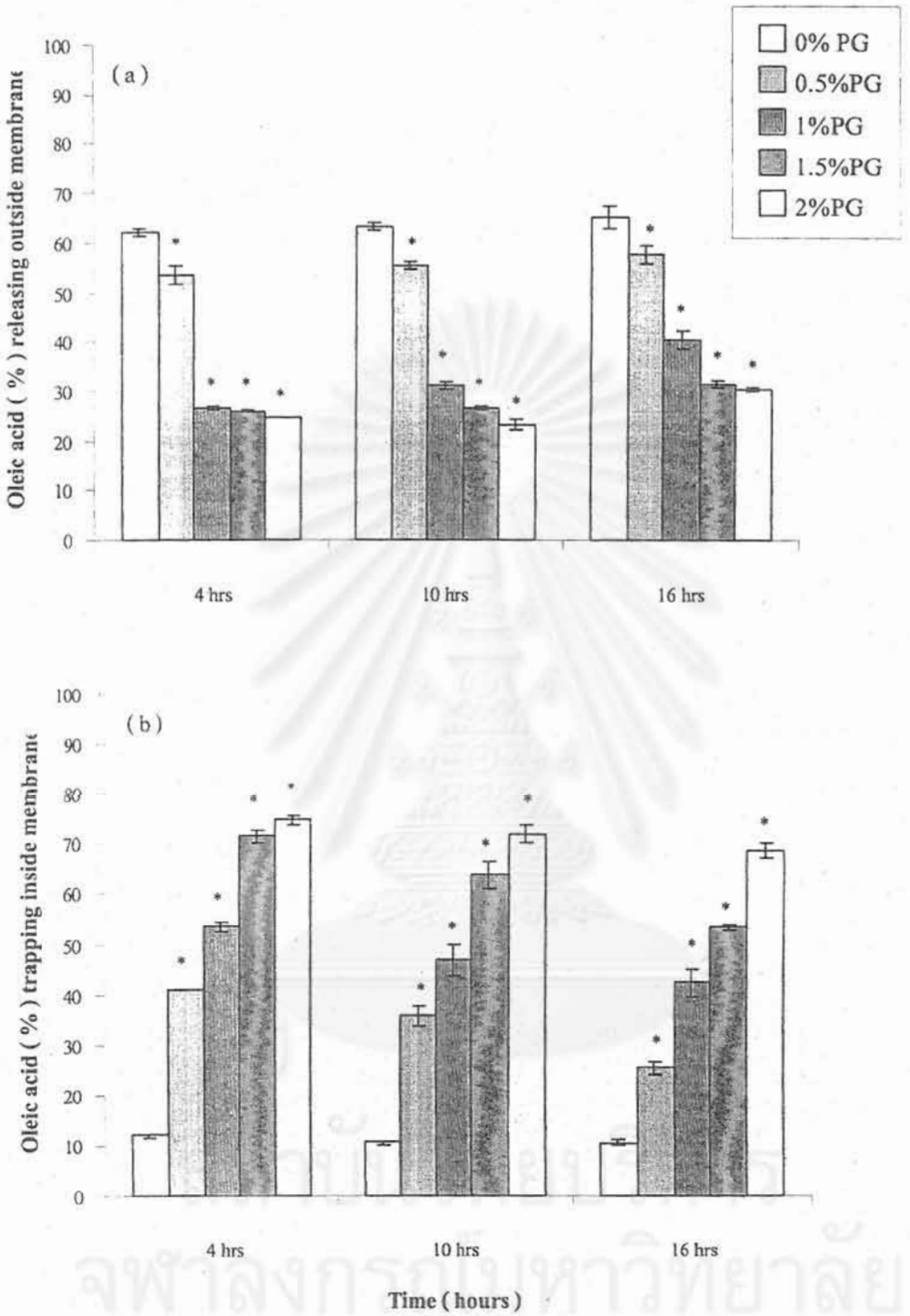
% PG II	Peak area ของ cholesterol		Average peak area	ปริมาณ cholesterol ที่หาได้	ปริมาณ cholesterol ทั้งหมด	% cholesterolที่ถูก
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ของ cholesterol	จาก Standard curve (mg)	ที่ถูกกักเก็บด้วย PG II (mg)	กักเก็บด้วย PG II
0	398469	361765	380117	0.0036	4.5	22.39
0.5	578269	564473	571371	0.0055	6.88	33.89
1	1058674	1064618	1061646	0.0101	12.63	61.01
1.5	1211428	1191118	1201273	0.0114	14.25	69.17
2	717706	774993	746349.5	0.0072	18	86.12

ตารางที่ 6 : แสดงปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane ออกมานอกถุงและที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane เมื่อมี PG ความเข้มข้น ระหว่าง 0-2% หลังทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.

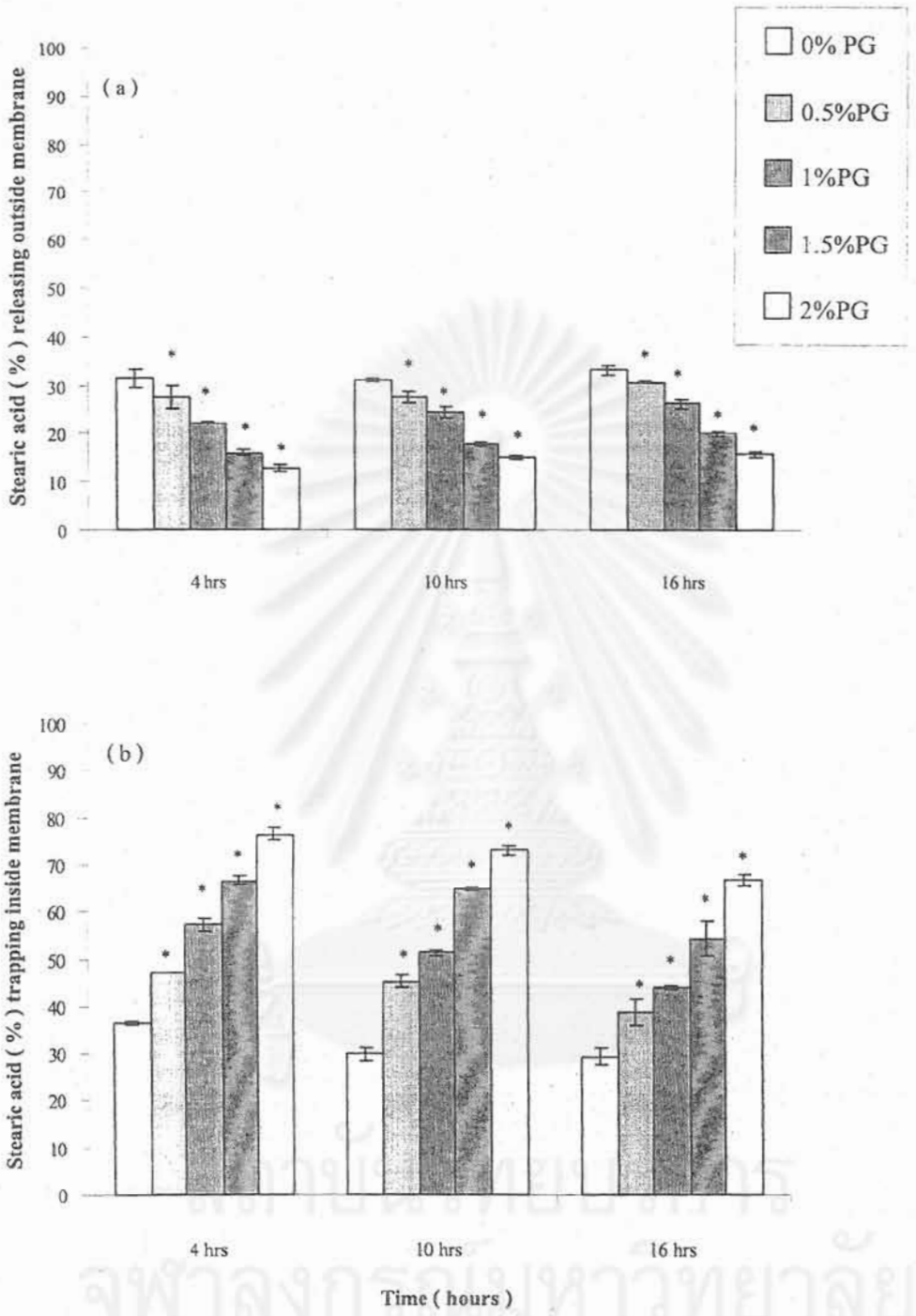
% PG II	ปริมาณ cholesterolตั้งต้น (mg)	ปริมาณ cholesterol ที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane ออกมานอกถุง		ปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane	
		ปริมาณ (mg)	ปริมาณ (%)	ปริมาณ (mg)	ปริมาณ (%)
0	20.1	12.7	63.14	4.5	22.39
0.5	20.3	11.9	58.62	6.88	33.89
1	20.7	5.85	28.26	12.63	61.01
1.5	20.6	1.36	6.6	14.25	69.17
2	20.9	1.05	5.02	18	86.12



รูปที่ 3 : ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) สาร cholesterol หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม. PG= สารโพลีแซคคาไรด์เจล ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SE แสดงโดยกราฟแท่ง * เป็นค่าเฉลี่ยที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (0% PG), $p<0.05$



รูปที่ 4 : ผลของโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) สาร oleic acid หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม. PG= สารโพลีแซคคาไรด์เจล ค่าที่แสดงเป็นค่า mean$\pm$SE แสดงโดยกราฟแท่ง * เป็นค่าเฉลี่ยที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (0% PG), $p<0.05$



รูปที่ 5 : ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อย (a) และการกักเก็บ (b) กรดไขมัน stearic acid หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4,10 และ 16 ชม. PG= สารโพลีแซคคาไรด์เจล ค่าที่แสดงเป็นค่า mean$\pm$SE แสดงโดยกราฟแท่ง * เป็นค่าเฉลี่ยซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (0% PG), $p<0.05$

Stearic acid ได้ 66.76 $\pm$ 1.34% , 54.32 $\pm$ 3.66% และ 43.75 $\pm$ 0.45 % ตามลำดับหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 16 ชม.

2.3) การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนเปรียบเทียบกับสาร glucomannan โดยใช้วิธี Dialysis และวิเคราะห์หาปริมาณของสารอาหารไขมันโดยใช้เทคนิค HPLC

สารอาหารไขมัน (เช่น cholesterol, Oleic acid และ Stearic acid) ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุง dialysis membrane จะลดลงในขณะที่ไขมันที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ glucomannan ภายในถุงหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม.

เมื่อเปรียบเทียบผลการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน(PG) และสาร glucomannanพบว่าสารทั้งสองมีคุณสมบัติกักเก็บสารอาหารไขมันได้พอ ๆ กัน (รูป 6,7,8)

จากรูปที่ 6 จะเห็นว่าปริมาณ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis membrane และที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ภายในถุงมีลักษณะคล้ายกับเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Glucomannan ภายในถุง

รูปที่ 7 จะเห็นว่าปริมาณของ Oleic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุง dialysis membrane และที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน PG มีลักษณะคล้ายกับเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ glucomannan

รูปที่ 8 ก็เช่นเดียวกันเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ภายในถุง ปริมาณของ stearic acid ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุง dialysis membrane และที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงจะมีลักษณะเช่นเดียวกับเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ glucomannan ภายในถุง

2.4) ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมัน

รูปที่ 9, 10, และ 11 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมัน จะพบว่าเมื่อความหนืดของเจลเพิ่มขึ้นจะทำให้สามารถกักเก็บสารอาหารไขมัน เช่น cholesterol , และกรดไขมันอิสระ เช่น oleic acid และ stearic acid ไว้ในถุง dialysis membrane ได้มากขึ้น นอกจากนั้นถึงแม้จะทำการ dialysis นานขึ้นก็ตามก็จะไม่ทำให้การกักเก็บไขมันโดยสารโพลีแซคคาไรด์เจลลดลงแต่อย่างไร

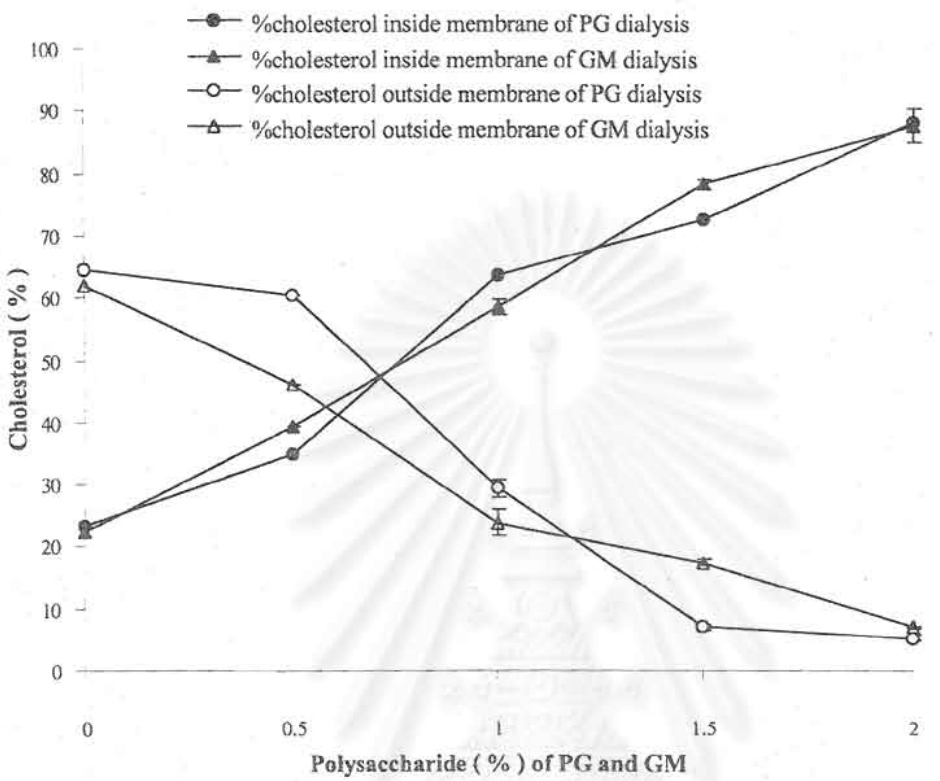
2.5) การทดสอบคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ในไข่แดงของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียนโดยใช้วิธี semipermeable membrane dialysis และเทคนิค HPLC สำหรับการวิเคราะห์ cholesterol

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน PG ภายในถุง semipermeable membrane จะพบว่าปริมาณของ cholesterol ในไข่แดงที่ปลดปล่อยออกมานอกถุงจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากรูปที่ 12 จะพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PG ภายในถุง จาก 1% เป็น 2% ปริมาณ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุงจะลดลงจาก 24.71 $\pm$ 0.25% เป็น 15.89 $\pm$ 0% หลังจากทำการ dialyse เป็นเวลา 10 ชม.

2.6) คุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการปลดปล่อยสารอาหาร cholesterol ออกภายนอกผนังลำไส้เล็ก ส่วน jejunum ของหนู

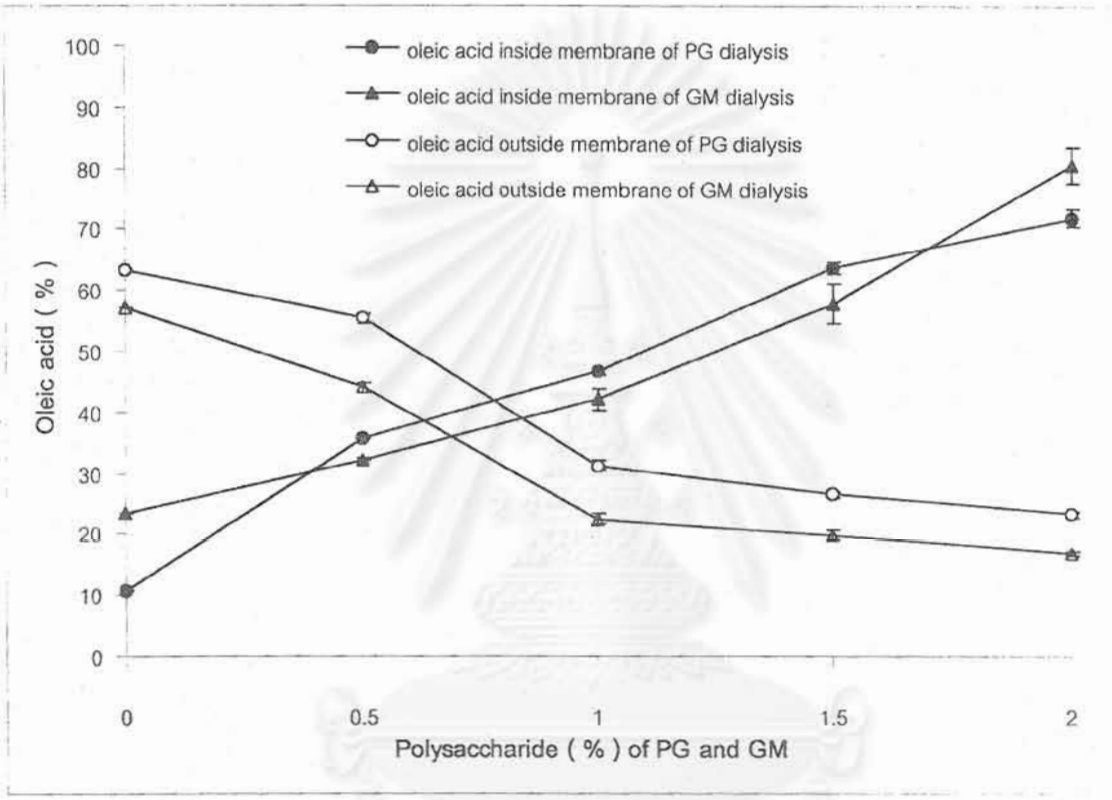
จากรูปที่ 13 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน PG จะมีผลทำให้การปลดปล่อย cholesterol ออกนอกผนังลำไส้หนู ส่วน jejunum ลดลงหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 1 ชม. พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของ PG จาก 1% เป็น 2% ปริมาณของ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกผนังลำไส้เล็กส่วน jejunum จะลดลงจาก 35.6 $\pm$ 0.1% เป็น 21.39 $\pm$ 0.03 % ดังนั้นเมื่อมีสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียนจะทำให้ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกผนังลำไส้เล็กส่วนjejunum ของหนูลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

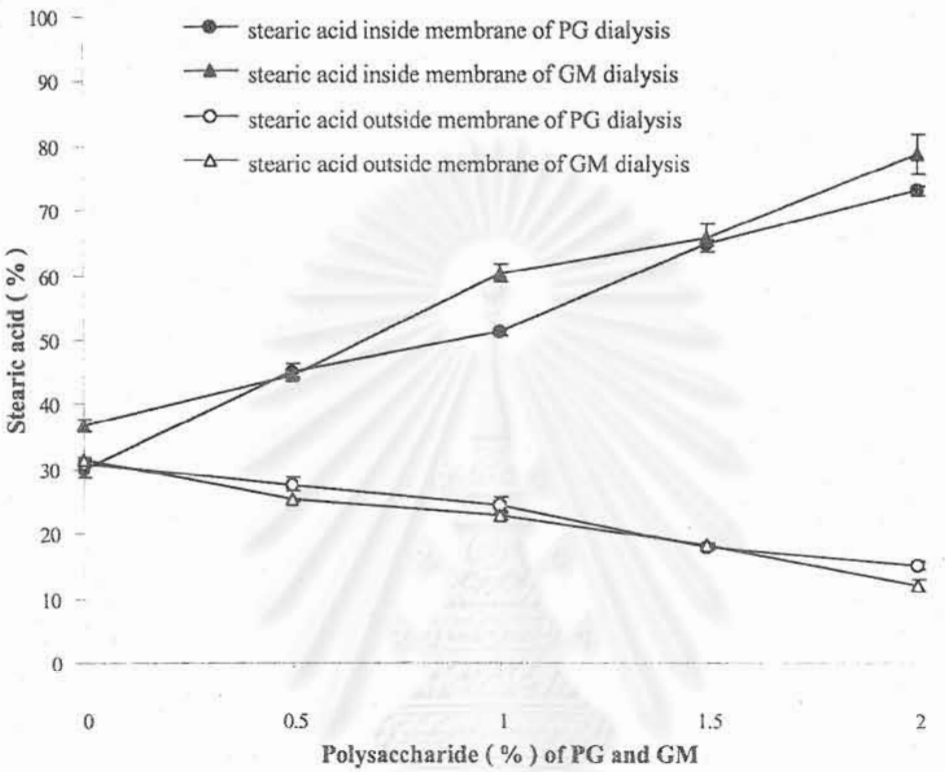


รูปที่ 6 : ผลของโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนต่อการกักเก็บสาร cholesterol ไว้ภายในถุง dialysis membrane และการปลดปล่อย cholesterol ออกนอกถุงเมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2% ทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม. PG= สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน GM= สารกลูโคแมนแนน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean±SE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

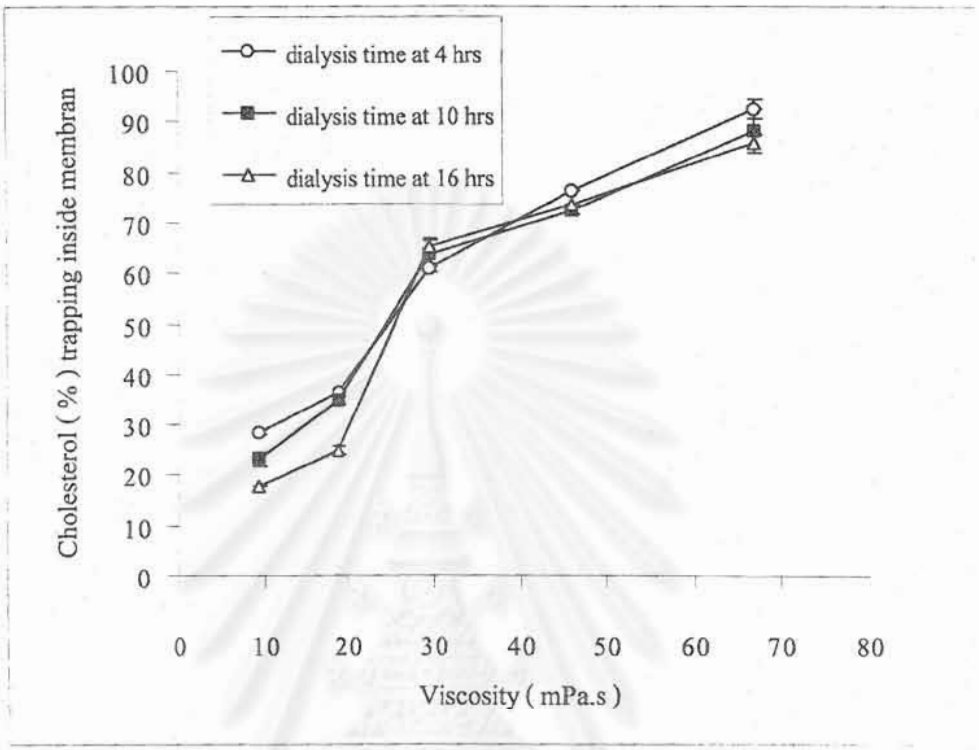


รูปที่ 7 : ผลของโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บกรดไขมัน oleic acid ไว้ภายในถุง dialysis และการปลดปล่อย oleic acid ออกนอกถุงเมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนน ความเข้มข้นระหว่าง 0-2 % ทำการdialysis เป็นเวลา 10 ชม. PG =สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน และ GM=สารกลูโคแมนแนน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SE



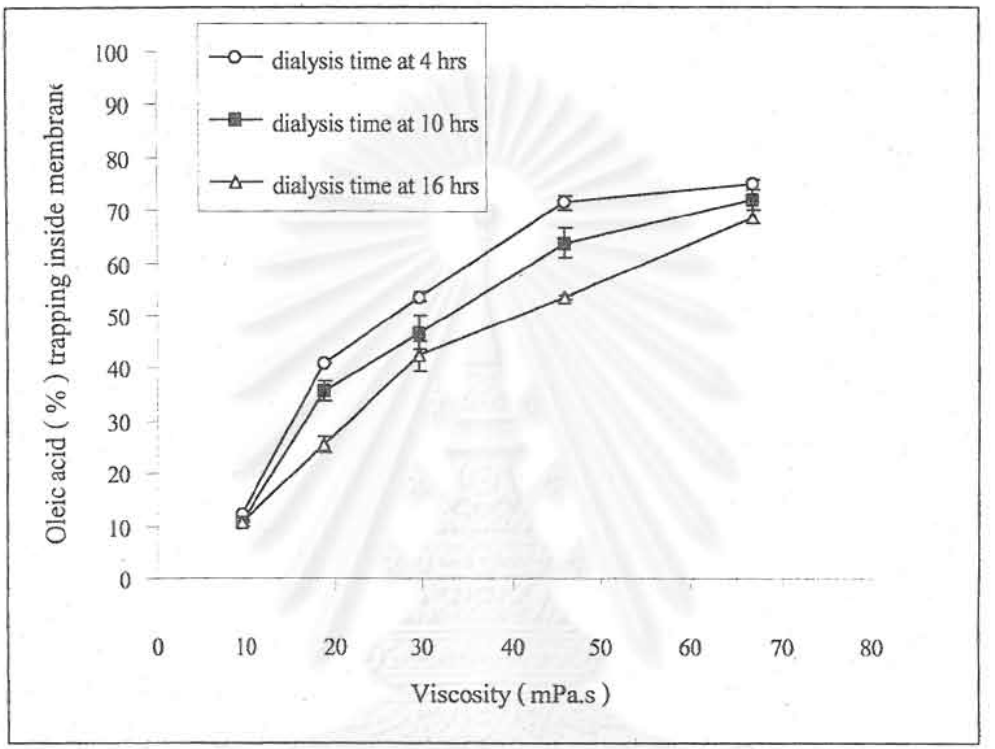
รูปที่ 8 : ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บกรดไขมัน stearic acid ไว้ภายในถุงและปลดปล่อยออกนอกถุงเมื่อเปรียบเทียบกับสารกลูโคแมนแนนความเข้มข้นระหว่าง 0-2% ทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม. PG = สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน และ GM = กลูโคแมนแนน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean±SE

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

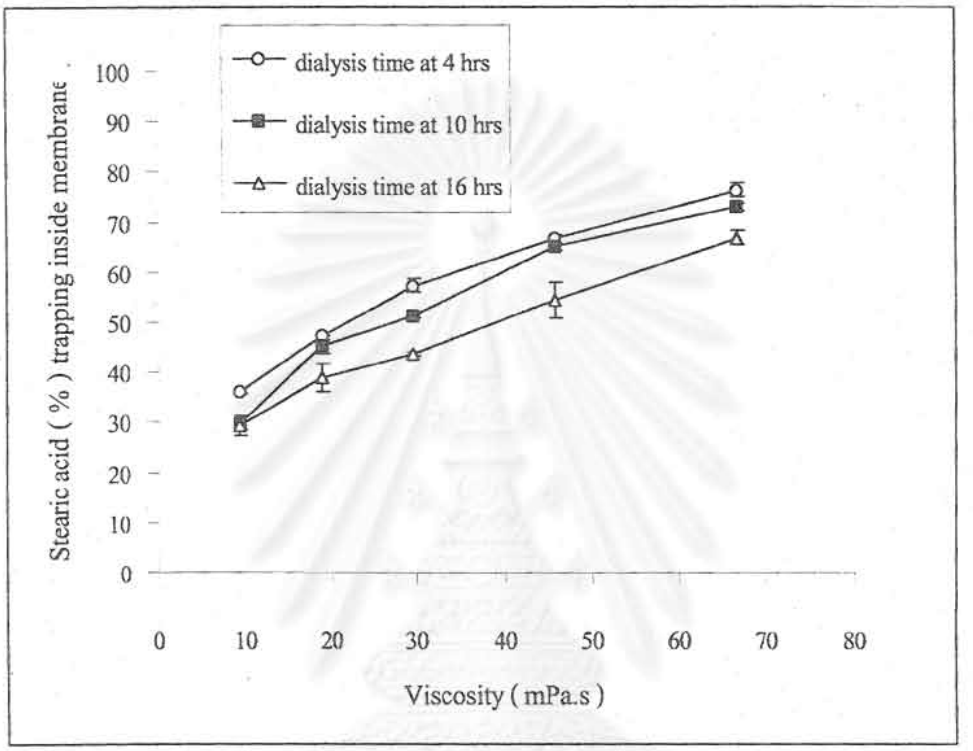


รูปที่ 9 : ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บ cholesterol ไว้ภายในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชั่วโมง PG = สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean$\pm$ SE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

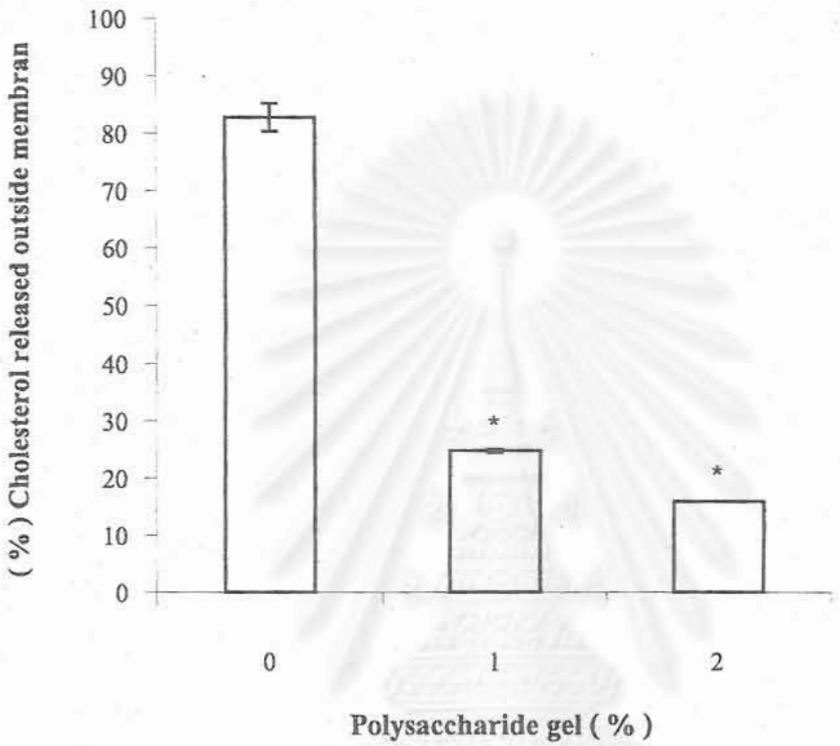


รูปที่ 10 : ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บกรดไขมัน oleic acid ไว้ภายในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชม. PG= สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean$\pm$SE

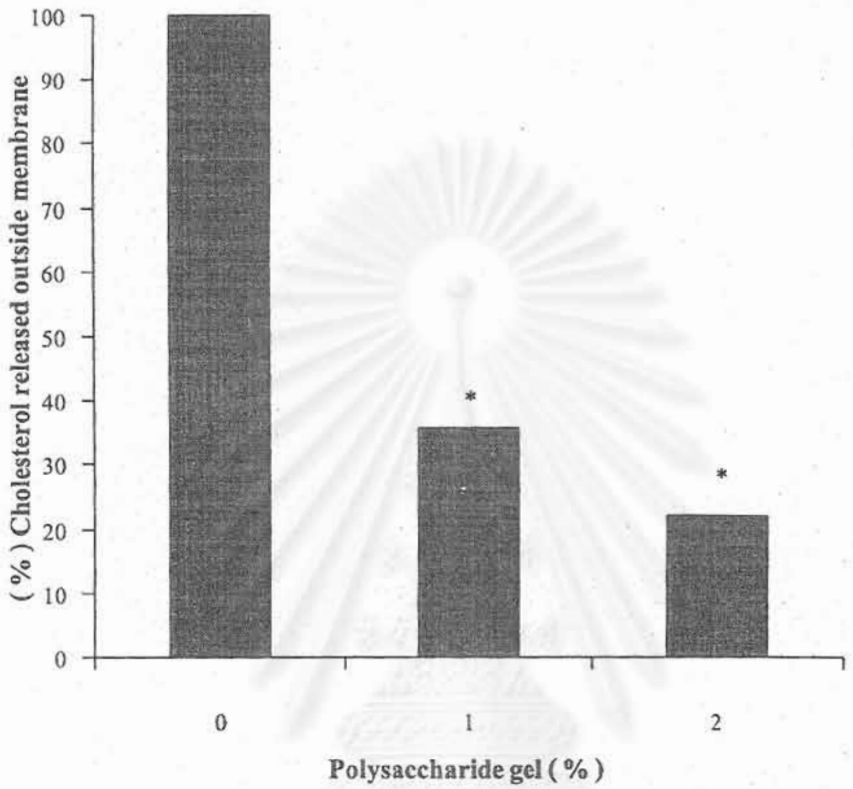


รูปที่ 11 : ผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บกรดไขมัน stearic acid ไว้ภายในถุง dialysis หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4-16 ชม. PG= โพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$SE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 : ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol จากไข่แดงออกนอกถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 10 ชม. ค่าที่แสดงเป็นค่า mean±SE แสดงเป็นรูปกราฟแท่ง * คือค่าเฉลี่ยซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม(0% PG), $p<0.05$



รูปที่ 13 : ผลของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol จากภายในสู่ภายนอกผนังลำไส้ส่วน jejunum ของหนูหลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 1 ชม. ค่าที่แสดงเป็นค่า mean$\pm$SE แสดงเป็นรูปกราฟแท่ง * คือค่าเฉลี่ยซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม (0% PG),$p<0.05$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5
การอภิปรายผล

การศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนในหลอดทดลอง

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีผลการศึกษาที่แน่ชัดซึ่งยืนยันความสามารถในการควบคุมระดับไขมันในเลือดของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ ถึงแม้ว่ากลไกในการออกฤทธิ์ควบคุมระดับไขมันในเลือดของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้นั้นยังไม่แน่ชัด แต่ก็เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่ว ๆ ไปว่าเป็นผลจากการลดอัตราการดูดซึมไขมันเข้าสู่ร่างกาย การมีสารละลายโพลีแซคคาไรด์เจลหลาย ๆ ชนิดในช่องทางเดินอาหารอาจจะไปขัดขวางการปลดปล่อยไขมันสู่บริเวณเยื่อบุกระเพาะและลำไส้ซึ่งเป็นบริเวณพื้นผิวที่มีการดูดซึมลงได้

การมีสารโพลีแซคคาไรด์จะทำให้การบดอาหารโดยใช้แรงทางกายภาพซึ่งเกิดในกระเพาะเกิดช้าลง ดังนั้น จึงทำให้การส่งต่อสารอาหารเข้าสู่ลำไส้เล็กเกิดช้าลง ผลดังกล่าวอาจจะช่วยควบคุมความอ้วนได้

ในการศึกษาทดลองนี้ได้มีการออกแบบการทดลองขึ้นเพื่อศึกษาถึงผลการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียนในหลอดทดลองโดยใช้เยื่อเซลลูโลสเปรียบเทียบกับเยื่อเมมเบรนจากอวัยวะอื่น ๆ เช่น ลำไส้เล็ก โดยใช้วิธี dialysis ใน Ringer Lactate buffer ที่ค่า pH 7.0 เพื่อศึกษาผลการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้เวลาในการทำการ dialysis ต่าง ๆ กัน

การศึกษานำร่องถึงคุณสมบัติการกักเก็บสาร cholesterol ของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน โดยใช้เทคนิคไดอะไลซิสและวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol ด้วยวิธี spectrophotometric โดยใช้ Triton X-100 เป็นตัว emulsifier สำหรับผสม cholesterol ให้เข้ากับสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน PG ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนภายในถุง (จาก 0-2% W/V ของสาร PG) ก็จะยิ่งทำให้ปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุง dialysis membrane เพิ่มปริมาณขึ้นหลังจากทำการdialysis เป็นเวลา 10 ชม.

เช่นเดียวกันเมื่อศึกษาทดลองโดยใช้เทคนิค HPLC ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้อง, แม่นยำกว่าในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของสารอาหารไขมัน (cholesterol, oleic acid และ stearic acid) เพื่อศึกษาคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียน นอกจากนั้นยังใช้ sodium taurocholate ซึ่งเป็นเกลือน้ำดีในการเป็นตัวช่วยละลายไขมันนั้น ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียนในถุง dialysis ให้สูงขึ้นจะทำให้ปริมาณของ cholesterol ที่ถูกกักเก็บไว้ภายในถุงเพิ่มขึ้นในทำนองเดียวกันปริมาณของ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุงจะลดลง คุณสมบัติการกักเก็บกรดไขมัน (oleic acid และ stearic acid)ของสารสกัดจากเปลือกผลทุเรียนมีลักษณะสอดคล้องกับคุณสมบัติการกักเก็บ cholesterol ดังกล่าวแล้ว

ผลที่ได้เหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการดูดซึมสารอาหารไขมันจะลดลงเมื่อรับประทานสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนเพิ่มขึ้น ดังนั้น อาจเป็นไปได้ว่าการรับประทานสารโพลีแซคคาไรด์เจลอาจไปลดการดูดซึมสารอาหารไขมัน

สารอาหารไขมันนั้นนอกจากจะให้โทษโดยไขมันเหลือใช้จะถูกนำไปเก็บสะสมไว้ในเซลล์ไขมันทำให้เกิดโรคอ้วน และโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจขึ้นได้ นอกจากจะให้โทษแล้ว ยังพบว่าไขมันบางชนิดเป็นไขมันที่จำเป็นต่อการทำงานตามปกติของร่างกายและร่างกายได้รับสารไขมันเหล่านี้จากอาหารเท่านั้น โดยที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ ไขมันเหล่านั้นได้แก่ กรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ oleic acid , linoleic acid, linolenic acid เป็นต้น เนื่องจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนสามารถกักเก็บและลดปริมาณการดูดซึมกรดไขมันจำเป็น เช่น กรดโอลิอิค ดังนั้นควรจะต้องระวังการบริโภคสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนในปริมาณสูง เนื่องจากอาจไปลดการดูดซึมกรดไขมันจำเป็นซึ่งเป็นไขมันที่เป็นประโยชน์และจำเป็นต่อการทำงานของร่างกายได้

การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนเปรียบเทียบกับ glucomannan

สาร glucomannan ที่มีขายตามท้องตลาดจะพองตัวเมื่ออยู่ในน้ำ เช่นเดียวกับสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนเปรียบเทียบกับกลูโคแมนแนน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติกักเก็บสารอาหารไขมันได้คล้าย ๆ กัน

ปัจจัยเกี่ยวกับความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อคุณสมบัติการกักเก็บสารอาหารไขมัน

มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ในการเป็นตัวช่วยควบคุมระดับไขมันในร่างกายเนื่องจากคุณสมบัติความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์ดังกล่าว โพลีแซคคาไรด์เจลซึ่งเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้สามารถทำให้เกิดสารละลายที่หนืดข้น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการออกแบบเพื่อประเมินผลของความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลที่มีต่อความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมัน จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่ายิ่งความหนืดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้เพิ่มความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมันไว้ในถุง dialysis membrane หลังจากทำการ dialysis เป็นเวลา 4, 10 และ 16 ชม. ตามลำดับ

ดังนั้นการบริโภคสารโพลีแซคคาไรด์เจลในปริมาณสูงๆ อาจจะไปมีผลลดการแผ่กระจายตัวของสารอาหารเมื่อเข้าไปในทางเดินอาหารซึ่งจะไปมีผลต่อระยะเวลาที่อาหารยังคงค้างอยู่ภายในกระเพาะอาหาร ปัจจัยเหล่านี้จะไปมีผลลดอัตราเร็วซึ่งสารอาหารไขมันสามารถผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็ก ดังนั้น จะทำให้การดูดซึมสารอาหารไขมันจากทางเดินอาหารลดลงและไขมันที่ถูกกักเก็บไว้โดยเส้นใยอาหารเหล่านี้ก็จะถูกขับออกจากร่างกายไปพร้อม ๆ กับกากอุจจาระ

ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนที่มีต่อการกักเก็บสาร cholesterol ในไข่แดง

การบริโภคอาหารที่ให้พลังงานสูงในปริมาณที่มากเกินพอจะเป็นสาเหตุหรือปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลาย ๆ ชนิด เช่น โรคหัวใจและโรคอ้วนซึ่งเป็นโรคที่รุนแรงที่มีสาเหตุจากปัญหาทางโภชนาการ โรคเหล่านี้มีปัจจัยที่สำคัญ คือ เกิดการสะสมสารอาหารไขมันมากเกินไป อาหารบางชนิด เช่น ไข่แดง จะมีปริมาณ cholesterol ในระดับที่สูง (ประมาณ 150-200 มก. ต่อไข่แดง 1 ฟอง) ในการทดลองนี้ได้ทำการประเมินผลความสามารถของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนในการกักเก็บสาร cholesterol จากไข่แดง ผลการทดลองพบว่ายิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์เจล PG ในถุงก็จะมีผลลดปริมาณ cholesterol ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกถุง dialysis membrane อย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาดังกล่าวนี้ชี้แนะว่า การบริโภคสารสกัดโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียน (PG) อาจจะช่วยควบคุมระดับของ cholesterol หลังจากรับประทานไข่แดง ทั้งนี้เนื่องจากไข่เป็นส่วนประกอบของอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายชนิดหนึ่ง

ผลของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกของผลทุเรียนต่อการปลดปล่อยสาร cholesterol ออกสู่ภายนอกผนังลำไส้ส่วน jejunum

ในงานวิจัยนี้มีการใช้ลำไส้เล็กส่วน jejunum ของหนูเป็นตัวแบบแทนการใช้ถุง semi-permeable dialysis membrane ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่ายิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนให้มากขึ้นจะมีผลลดการปลดปล่อย cholesterol จากลำไส้ส่วน jejunum ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลที่ได้จากการใช้เยื่อ semi-permeable membrane ทำการทดลอง ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในการทดลองนี้ชี้แนะว่าเราสามารถใช้ถุง semi-permeable membrane เป็นตัวแบบในการศึกษาทดสอบการดูดซึมสารต่าง ๆ ผ่านทางเดินลำไส้ของสัตว์ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6
ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ

พืชสามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์เจลมากมายหลายชนิดซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารมนุษย์สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียน (PG) ถือเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งซึ่งสกัดได้จากเปลือกของผลทุเรียน (Durio Zibethinus L.) เนื่องจากปัจจุบันมีการใช้สารโพลีแซคคาไรด์ชนิดต่าง ๆ เช่น glucomananจากหัวบุกเป็นส่วนประกอบสำคัญในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีจุดมุ่งหมายเพื่อต้องการควบคุมน้ำหนัก ดังนั้น การตรวจสอบคุณสมบัติความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนเพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นเส้นใยอาหารเพื่อการควบคุมน้ำหนัก จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากประเทศไทยมีเปลือกทุเรียนเป็นกากเหลือใช้ในแต่ละฤดูกาลเป็นจำนวนมาก การนำกากเหลือใช้มาดัดแปลงเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่มีประโยชน์ทางการแพทย์นับเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาเป็นอย่างมาก

การทดลองนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติความสามารถในการกักเก็บสารอาหารไขมันของสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนในหลอดทดลอง โดยใช้เทคนิค membrane dialysis ทำการ dialyse โดยใช้เยื่อ semi-permeable membrane และลำไส้เล็กส่วน jejunum ของหนู เป็นตัวแบบในการศึกษา การวิเคราะห์ปริมาณไขมันที่ถูกกักเก็บไว้ในถุง dialysis และที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกถุงใช้เทคนิค HPLC ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนมีความสามารถกักเก็บสารอาหารไขมันเช่น cholesterol ,กรด oleic acid, และ stearic acid ไว้ได้ ซึ่งคุณสมบัตินี้อาจจะให้ผลในการลดการดูดซึมสารอาหารไขมันทำให้ระดับไขมันในเลือดลดลงได้

อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการลดระดับไขมันในกระแสเลือดของสารโพลีแซคคาไรด์เจลอาจเนื่องจากกลไกอื่น ๆ ที่เป็นไปได้ เช่น มีข้อสันนิษฐานว่าสารโพลีแซคคาไรด์เจลอาจจะเข้าไปทำให้เกิดสารเชิงซ้อนระหว่างสารโพลีแซคคาไรด์เจลกับสารอาหารไขมัน สารเชิงซ้อนนี้จะก่อตัวเป็นรูปเจลในลำไส้เล็กแล้วกักเก็บไขมันไว้ทำให้ไขมันไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในลำไส้ซึ่งก็จะถูกขับออกจากร่างกายพร้อมกับอุจจาระ เมื่อเอ็นไซม์ไลเปสภายในลำไส้เล็กถูกยับยั้งก็จะนำไปสู่การสะสมไขมัน เมื่อมีปริมาณของไขมันที่ไม่ถูกดูดซึมภายในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น ไขมันจะแยกไปอยู่ในชั้นไขมัน ทำให้เกิดการขับถ่ายไขมันออกทางอุจจาระเพิ่มมากขึ้น

อย่างไรก็ตามก่อนที่จะสรุปว่ากลไกใดที่ทำให้ระดับไขมันในกระแสเลือดลดลงเมื่อรับประทานสารโพลีแซคคาไรด์เจลปริมาณมากๆนั้นคงต้องศึกษาทดลองในเชิงลึกเพื่อพิสูจน์ยืนยันต่อไป

นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นสูงๆยังทำให้ปริมาณ คลอเลสเตอรอลจากไข่แดงที่สามารถซึมผ่านเยื่อ dialysis membrane ลดลงอีกด้วย ผลที่ได้นี้ชี้

แนะให้เห็นว่าสารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกผลทุเรียนอาจจะนำมาใช้ประโยชน์เพื่อป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจได้ซึ่งจะต้องมีการศึกษาทดลองในเชิงลึกเพื่อพิสูจน์ยืนยันผลดังกล่าว

ในการศึกษาวิจัยนี้ยังพบอีกว่าเราสามารถใช้ ถุง semi-permeable membrane เป็นตัวแบบในการศึกษาการดูดซึมสารต่างๆแทนที่อวัยวะของสัตว์ จากการศึกษาทดลองนี้ชี้แนะว่า สารโพลีแซคคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนมีศักยภาพที่จะนำมาดัดแปลงใช้เป็นเส้นใยอาหารและนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารทางการแพทย์สำหรับผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานหรือโรคหลอดเลือดหัวใจและผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Health implications of dietary fiber-position of ADA. J. Am. Diet. Assoc. [Online]. Available from: http://www.eartright.org/adap 1097.html. 1997.

2. David, J.A.J., et al. 1997. Effect of psyllium in hypercholesteromia at two monounsaturated fatty acid intakes. Am. J. Clin. Nutr. 65: 1524-1553.

3. Prosky, L., and De Vries, J. W. 1992. Properties of food fibers/fibers in food product. Controlling Delivery Fiber in Food Product. New York: Van Nosrand Reinhold. pp. 6-10.

4. Chandalia, M., et al. 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes melitus. The New England Journal of Medicine. 342: 1392-1398.

5. Peter, J.W., et al. 1994. Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. British J. Nutr. 72: 731-743.

6. Anderson, J., and Wilken, K. 1998. Food and Nutrition [Online]. Available from: http://www.ext.colostate.edu/pubs/foodnut/09333.html

7. Pongsamart, S., Dhumma-upakorn, R., and Panmaung, T. 1989. Extraction of pectin-like substance from durian-rind to use for pharmaceutical preparation and food products. Research Report. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

8. Pongsamart, S. and Panmaung, T. 1998. Isolation of polysaccharides from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.). Songklanakarin J. Sci. Technol. 20 (3) : 323-332.

9. Pongsamart, S., Sukrong, S., and Tawatsin, A. 2001. The determination of toxic effects at a high oral dose of polysaccharide gel extracts from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.) in mice and rats. Songklanakarin J. Sci. Technol. 23 (1) : 55-62.

10. Pongsamart, S., Tawatsin, A., and Sukrong, S. 2002. Long-term consumption of polysaccharide gel from durian fruit-hulls in mice. Songklanakarin J. Sci. Technol. 24(4): 555-567.

11. Brody, T. 1999. Nutrients that resist or escape digestion. Nutritional Biochemistry. 2nd ed. USA. Academic Press.

12. Cynthia, M.G., Jessa M., Robert, H., and John, W. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. J. Nutr. 130: 2753-2759.

13. Encyclopedia of health concerns and individual nutrients [Online]. Available from: http://vitacost.com/science/nutrients/glucomannan.html. [2002, January 20].

14. Vitamin Guide [Online]. Available from: http://www.gnc.com/health/notes/Supp/Glucomannan.htm. [2002, January 20].

15. Vitamin Guide [Online]. Available from: http://ww.pccnaturalmarkets. [2002, January 20].

16. Chong, X.L., Karen, Z.W., Jane, G.M., Tom, M., and Kerin, O'Dea. 2000. Arabinoxylan fiber, a by product of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects. Am. J. Clin. Nutr. 71: 1123-1128.

17. David, E.W., Vaghoubian, V., and Behforooz, A. 1984. Effect of glucomannan of obese patients: A clinical study. J. Int. Obesity 8: 289-293.

18. Haralampu, S.G., Ryan, V., and Crosby, G. Food ingredients used to modulate glucose uptake[Online]. Available from: http://www.opta-food.com/access/glucose.html. [2002, February 17].

19. Kiehm, T.G., Anderson, J.W., and Ward, W. 1976. Beneficial effects of a high carbohydrate, high fiber diet on hyperglycemic diabetic men. Am. J. Clin. Nutr. 29: 895-899.

20. Abraham, Z.D., and Mehta T. 1988. Three-week psyllium-husk supplementation: effect on plasma cholesterol concentrations, fecal steroid excretion, and carbohydrate, absorption in men. Am. J. Clin. Nutr. 47: 67-74.

21. Terpstra, A.H.M., Lapre, J.A., DeVries, H.T., and Beynen, A.C. 1998. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity of hamsters. J. Nutr. 128: 1944-1949.

22. Freudenheim, J.L., et al. 1990. Risks associated with source of fiber and fiber components in cancer of the colon and rectum. Cancer Res. 50: 3295-3300.

23. Hong, S., Lin, H., Ralph, L.P., and Fernandez, M.L. 1998. Dietary soluble fiber lowers plasma LDL cholesterol altering lipoprotein metabolism in female guinea pigs. J. Nutr. 128: 1434-1441.

24. มนตรี จุฬาวัฒนทล และ ประหยัด โกมารทัต ชีวเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล ห้างหุ้นส่วนจำกัด จิรรัชการพิมพ์, กรุงเทพฯ, 2542: 35-54.

25. Brody, T. 1999. Digestion and Absorption. Nutrition Biochemistry. 2nd ed. USA. Academic Press.

26. Donald, V., and Judith, G.V. 1995. Lipid Metabolism. Biochemistry. 2nd ed. USA. John Wiley & Sons Inc.

27. James, M.O., and Otto, W.N. 1982. Metabolism of carbohydrates. Human Biochemisty. 10th ed. St. Louis., USA. The C.V. Mosby Company.

28. Xiaohong, C., David, J.W.G., and Timothy, S.W. 1997. Analysis of the solubilization of steroids by bile salt micelles. J. Pharm. Sci. 86(3) : 372-377.

29. Robert, K.M., Daryl, K.G., Peter, A.M, and Victor W.R. 1993. Lipid transport & storage. Harper's Biochemistry. 23rd ed. USA. Prentice-Hall International Inc.

30. Gurr, M.I., and James, A.T. 1975. Lipid Biochemistry : An Introduction. 2nd ed. USA. Science Paperback.

31. Robert, K.M., Daryl, K.G., Peter A.M., and Victor W.R. 1993. Cholesterol Synthesis, Transport & Excretion. Harper's Biochemistry. 23rd ed. USA. Prentice-Hall International Inc.

32. Lori, A.S., and Mary, B.C. 2000. Nutrition: Sciences & Applications. 3rd ed. USA. Saunders College Publishing.

33. Moundras, C., Stephen, R.B., Christian, R., and Christian, D. 1997. Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. J. Nutr. pp. 1068-1076.

34. Zhang, J-X, et al. 1992. Effect of oat bran on plasma cholesterol and bile acid excretion in nine subjects with ileostomies. Am. J. Clin. Nutr. 56: 99-105.

35. David, J.H., and Hazel, P. 1998. Carbohydrate. Analytical Biochemistry. New York. Wesley Longman. pp. 325.

36. Dusan, S., and Henry, F. 1992. Binding media identification in painted ethanographic objects. J. Am. Ins. Cor. [Online]. Available from: http://www.nic.standford.edu/jaic/articles/jaic 31: 275-288.

37. Occupational Safety & Health Administration U.S. Department of Labor. Available from:http://www.osha-slc.gov/dts/sltc/methods/organic/org073/org073.html

38. Sally, S., Anna, M. F.-P., and Alan, L. 1991. Quantitative Analysis of Eleven Household Compounds. J. Chem. Edu. 4: 1-8.

39. National Starch & Chemical [Online]. Available from: http://www.foodstarch.com/dictionary/i.asp

40. Iodine test for carbohydrate. CHM3566-Biochemistry Lab Carbohydrates [Online]. Available from: http://www.lyon.edu/webdata/users/dthomas/biochem/lab04.html

41. Daryl, K.G. 1993. Membranes: Structure, Assembly, & Function. Harper's Biochemistry. 23rd ed. USA. Prentice-Hall International Inc.

42. Nachiappan, C., and Diane, J.B. 1999. A novel *in vitro* release method for submicron sized dispersed systems. AAPS PharmSci [Online]. Available from: http://www.pharmsci.org/scientific journals/pharmsci/

43. John, T.D., Peter, G.B., and Todd, S.I. 2001. Handbook of dialysis. 3rd ed. USA. Lippincott Williams & Wilkins.

44. Scott, B.R., and Leo, S.J. 1989. Overestimation of the cholesterol content of eggs. J. Agric. Food. Chem. 37: 917-920.

45. Sperry, W., and Webb, M. 1950. A revision of the Schoenheimer and Sperry method for cholesterol determination. J. Bio. Chem. 187: 97-106.

46. Norie, A. et al. 1990. Microquantification of cholesterol and cholesteryl esters in rat peritoneal macrophages by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Anal. Biochem. 185: 339-345.

47. Hoving, E.B. 1995. J. Chromatogr. B. 671: 352-362.

48. JIRR, B., et at. 1991. High-performance liquid chromatographic determination of cholesteryl esters in the blood of obese children. J. Chromatogr. 571: 19-28.

49. Seta, K., Nakamura, H., and Okuyama, T. 1990. Determination of ∝-tocopherol, free cholesterol, esterified cholesterols and triacylglycerols in human lipoproteins by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 515: 585-595.

50. Fenton, M. 1992. Chromatographic separation of cholesterol in foods. J. Chromatogr. 624: 369-388.

51. Jame, G.H., and Karen, C. 1984. Separation of neutral lipids and free fatty acids by high-performance liquid chromatography using low wavelength ultraviolet detection. J. Lipid Res. 25: 1142-1148.

52. Pongsamart, S., and Panmaung, T. 1998. Isolation of polysaccharides from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.). Songklanakarin J. Sci. Technol. 20(3): 323-332.

53. Chaplin, M.F., and Kennedy, J.F. 1994. Monosaccharides. Carbohydrate Analysis: A Practical Approach. 2nd ed. New York. Oxford University Press.

54. Peter, J.W., et al. 1994. Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. 72: 731-743.

55. Blackburn, N.A., and Johnson, I.T. 1981. The effect of guar gum on the viscosity of the gastrointestinal contents and on glucose uptake from the perfused jejunum in rat. J. Nutr. 46: 239-246.

56. Ronaldo, P.F., Donatella, M.C., and Ravi, R.V. 1993. Dietary carbohydrate enhances intestinal sugar transport in diabetic mice. Diabetes. 42: 1579-1587.

57. Johnson, I.T., and Jennifer, M.G. 1981. Effect of gel-forming gums on the intestinal unstirred layer and sugar transport *in vitro*. Gut. 22: 398-403.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

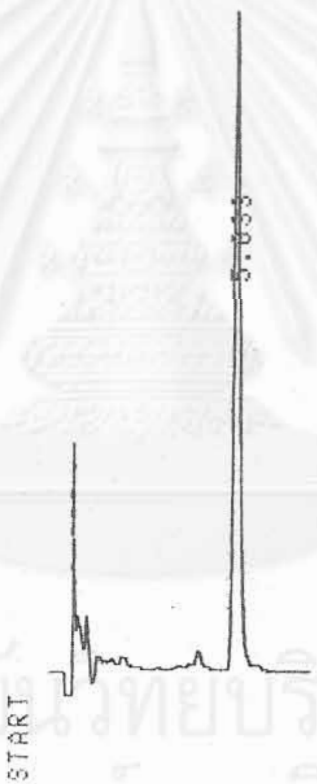
ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

HPLC Chromatogram สำหรับการวิเคราะห์ไขมัน

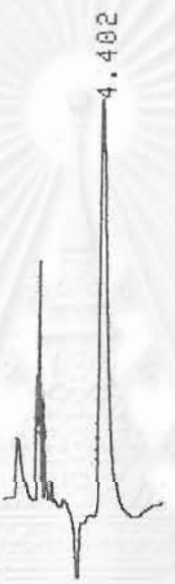
1. HPLC Chromatogram สำหรับการวิเคราะห์ cholesterol



รูปที่ 14 : Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์ cholesterol โดยใช้ 2-propanol : acetronitrile (7 : 3) เป็น mobile phase. ค่า retention time ของ cholesterol มีค่า 5.033 นาที.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

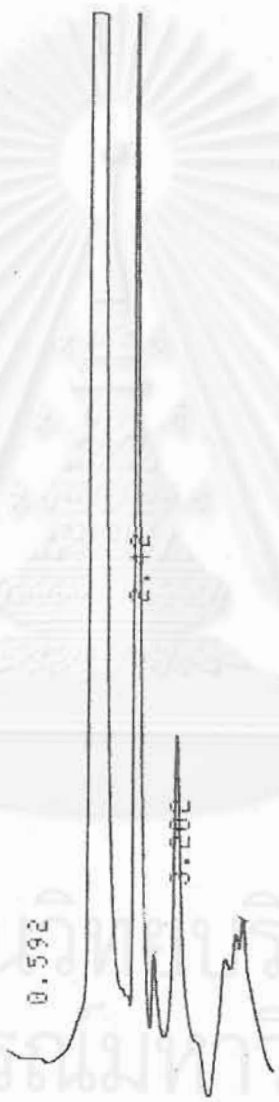
2. HPLC Chromatogram สำหรับการวิเคราะห์ oleic acid



รูปที่ 15 : Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์ oleic acid โดยใช้ hexane : 2-propanol : acetic acid (100 : 0.5 : 0.1) เป็น mobile phase, ค่า retention time ของ oleic acid มีค่า 4.402 นาที.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

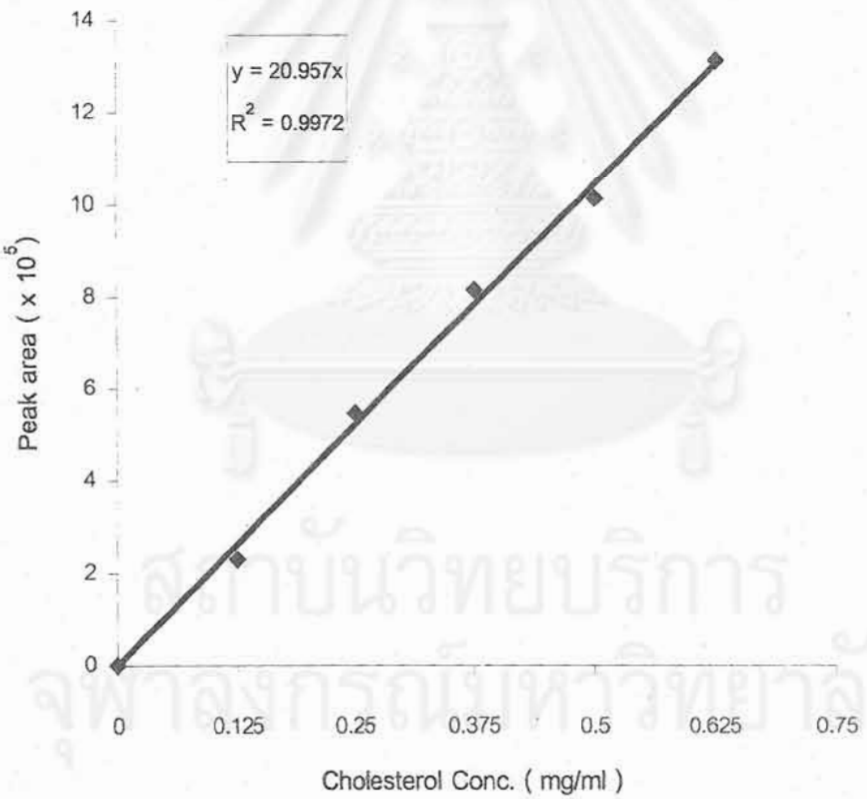
3. HPLC Chromatogram สำหรับการวิเคราะห์ stearic acid



รูปที่ 16 : Liquid chromatogram ของการวิเคราะห์ stearic acid โดยใช้ hexane : 2-propanol : acetic acid (100 : 0.5 : 0.1) เป็น mobile phase, ค่า retention time ของ stearic acid มีค่า 3.202 นาที.

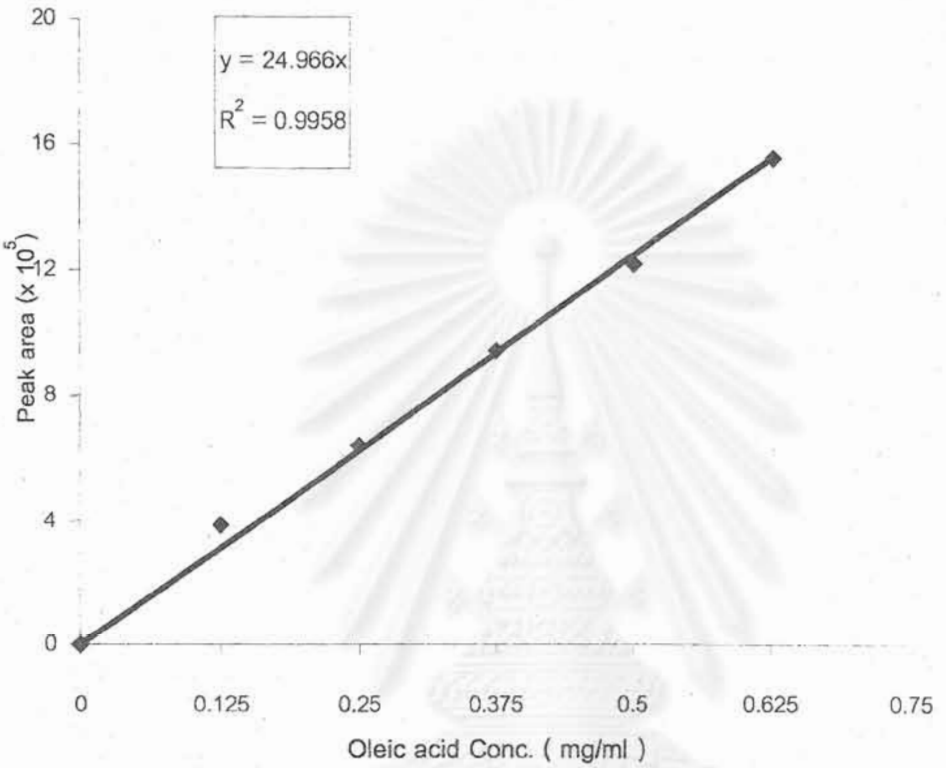
ภาคผนวก ข

แสดงกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ไขมันชนิดต่างๆ เมื่อใช้เทคนิค HPLC



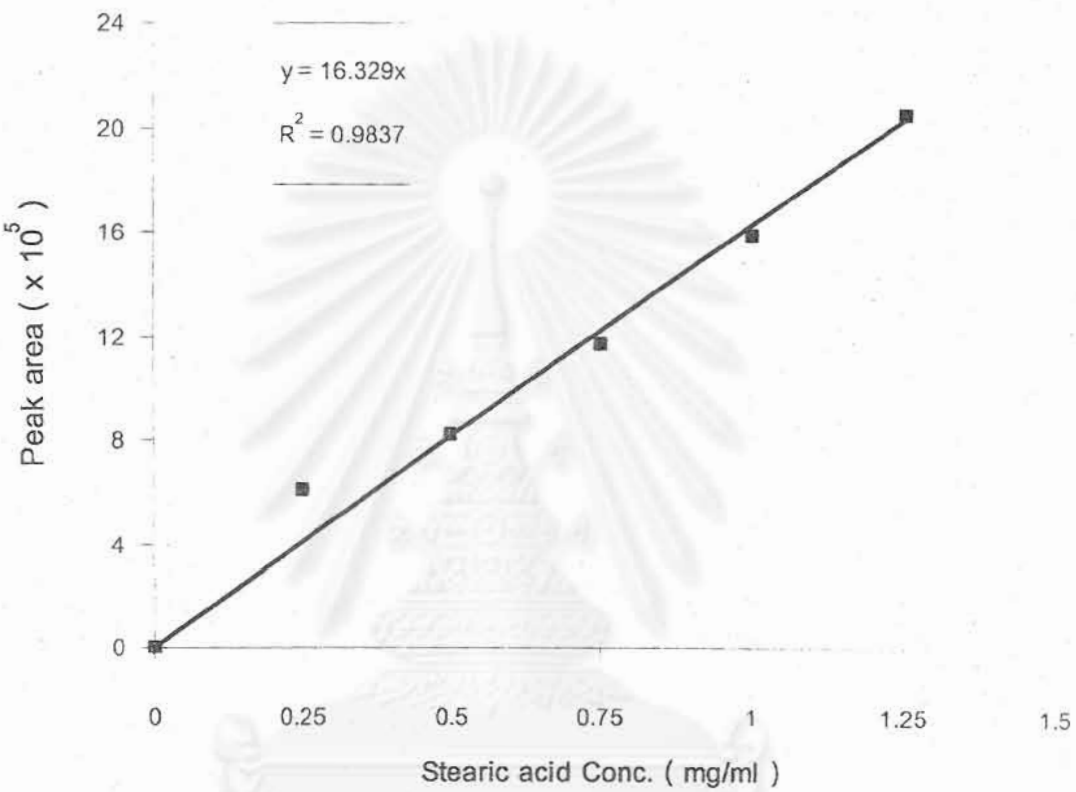
รูปที่ 17 : กราฟมาตรฐานของ Cholesterol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 18 : กราฟมาตรฐานของ Oleic acid

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19 : กราฟมาตรฐานของ Stearic acid

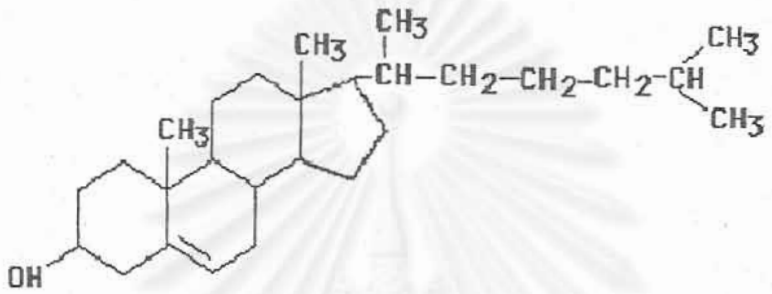
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

แสดงโครงสร้างของไขมันชนิดต่างๆ

Cholesterol ($C_{27}H_{46}O$)

M.W. = 386.66

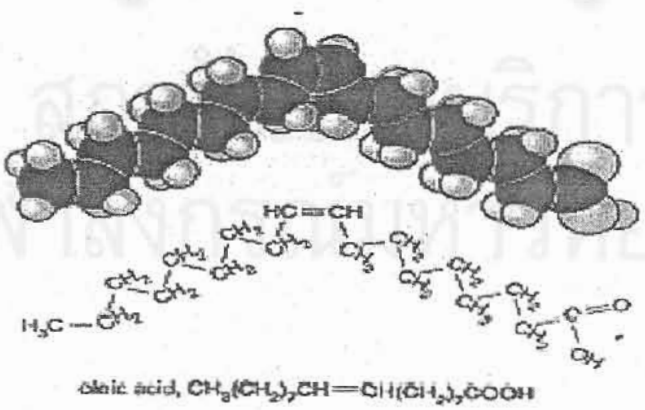


Cholesterol

รูปที่ 20 : โครงสร้างของ Cholesterol

Oleic acid ($CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$)

M.W. = 282.2368

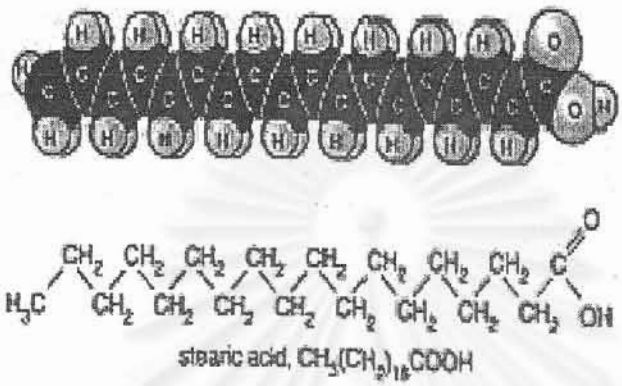


Oleic acid, $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$

รูปที่ 21 : โครงสร้างของ Oleic acid

Stearic acid ($CH_3(CH_2)_{16}COOH$)

M.W. = 284.48



รูปที่ 22 : โครงสร้างของ Stearic acid

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย