



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสกัดเพดตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย

ชื่อนิสิต นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล
นางสาวบุญนุช มณีพงษ์

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย

โดย

นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล
นางสาวบุญนุช มณีพงษ์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2563

EXTRACTION OF PECTIN FROM BANANA COMPONENTS

Punyapat Utitphon

Punyanuch Maneepong

Project advisor

Assistant Professor, Nattida Chotechuang, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2020

หัวข้องานวิจัย การสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย
โดย นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล
นางสาวบุญยนุช มณีพงษ์
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง
ปีการศึกษา 2563

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2563



.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นิตษุธา ชนานวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย การสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย

โดย นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล
นางสาวบุญยอนุช มณีพงษ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง

ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

เพคตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ตามธรรมชาติ สามารถใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหาร เพื่อให้ได้เนื้อสัมผัสที่ต้องการ และยังเป็นใยอาหารที่ดีต่อสุขภาพช่วยลดอัตราการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด เพคตินสามารถพบได้ในเปลือกผลไม้ เช่น ผลไม้ตระกูลซิตรัส และแอปเปิ้ล นอกจากนี้ยังพบเพคตินในเปลือกของผลไม้ชนิดอื่น ๆ เช่น กล้วย กล้วยมีการนำไปบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยทั้งผลกล้วยและลำต้น อย่างไรก็ตาม เปลือกกล้วยและลำต้นที่ไม่ได้นำไปบริโภคเป็นส่วนที่เหลือใช้ งานวิจัยนี้จึงสนใจนำส่วนที่เหลือใช้ของกล้วยน้ำว่ามาสกัดเพคตินได้แก่ เปลือกกล้วยน้ำว่า และแกนกล้วยน้ำว่า โดยเปรียบเทียบกับเพคตินที่ได้จากเปลือกส้มแมนดาริน โดยปริมาณเพคตินที่ได้จากเปลือกส้มมีค่า % yield สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญคือ $31.07 \pm 0.9\%$ ของน้ำหนักแห้ง ขณะที่เพคตินจากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยมีค่า $4.67 \pm 0.2\%$ และ $3.45 \pm 0.3\%$ ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อทำการประเมินคุณสมบัติทางเคมีของเพคติน ได้แก่ ปริมาณเมทอกซิลเพคติน ระดับเอสเทอร์ฟิเคชัน และปริมาณกรดยูโรนิก พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วย แกนกล้วย และเปลือกส้ม มีปริมาณเมทอกซิลของเพคติน เท่ากับ $7.46 \pm 0.48\%$, $6.62 \pm 0.46\%$ และ $6.27 \pm 0.07\%$ ตามลำดับ โดยเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วย และแกนกล้วย เป็นชนิด low methoxyl pectin ซึ่งมีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากับ $37.08 \pm 1.72\%$ และ $33.91 \pm 1.34\%$ ตามลำดับ ขณะที่เพคตินจากเปลือกส้มเป็น high methoxy pectin ซึ่งมีระดับเอสเทอร์ฟิเคชันเท่ากับ $76.50 \pm 1.01\%$ และปริมาณกรดยูโรนิกจากเพคตินที่สกัดจากเปลือกกล้วย แกนกล้วย และเปลือกส้ม มีค่าเท่ากับ $46.30 \pm 0.43\%$, $40.05 \pm 3.74\%$ และ $65.63 \pm 2.54\%$ ตามลำดับ นอกจากนี้การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วย แกนกล้วย และเปลือกส้ม ด้วยวิธี ABTS และ FRAP พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเพคติน ที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยการวิเคราะห์ทั้งวิธี ABTS และ FRAP มีค่า 23.45 ± 1.30 mM VCEAC/g และ 1.50 ± 0.09 mM TEAC/g ตามลำดับ ในขณะที่เพคตินที่ได้จากแกนกล้วย และเปลือกส้มมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS มีค่า 9.68 ± 0.88 และ 7.17 ± 0.57 mM VCEAC/g และวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีค่า 0.74 ± 0.04 และ 0.69 ± 0.02 mM TEAC/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเพคตินที่สกัดได้จากอีกสองแหล่งอย่างมีนัยสำคัญ และจากการทดสอบคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่ของเพคตินที่ได้จากเปลือกกล้วยต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด *L. paracasei* และ *B. lactis Bb12* ในน้ำทับทิมเป็นเวลา 14 วัน พบว่าในหลอดทดลองที่มีการเติมเพคตินในวันที่ 14 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเท่ากับ 6.20 ± 0.02 และ 5.71 ± 0.004 log CFU/ml ตามลำดับ เทียบกับหลอดทดลองที่ไม่เติมเพคตินมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 4.24 ± 0.04 และ 4.18 ± 0.14 log CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นการนำเพคตินจากเปลือกกล้วยไปใช้ประโยชน์จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาต่อไป

| | |
|----------------------|--|
| Project Title | Extraction pectin from banana component |
| Student | Punyapat Utitphon Punyanuch Maneepong |
| Study Program | Bachelor of science in Food Technology |
| Advisor | Assist. Prof. Nattida Chotechuang, Ph.D. |
| Academic | 2020 |

Abstract

Pectin is a complex polysaccharide which are used as gelling agent, thickening agent and stabilizer in food and it is also a dietary fiber that reduces blood sugar. Pectin is fiber found in the fruit's peel, such as citrus peel, apple pomace and banana peel. Banana stem and banana peels are waste. Therefore, this research is interested to extract pectin from banana peel and banana stem of Kluay Nam Wa by comparison with source of commercial pectin, mandarin orange peel, which were extracted under the same extraction conditions. The yield of orange peel was $31.07 \pm 0.9\%$ dry weight. While pectin from Banana peel and banana stem were $4.67 \pm 0.2\%$ and $3.45 \pm 0.3\%$ dry weight, respectively. Pectin extracted from banana peel, banana stem and orange peel have pectin methoxyl content $7.46 \pm 0.48\%$, $6.62 \pm 0.46\%$ and $6.27 \pm 0.07\%$, respectively. The extracted banana peel pectin and banana stem pectin were categorized as low methoxyl pectin with the degree of esterification $37.08 \pm 1.72\%$ and $33.91 \pm 1.34\%$, respectively, while orange peel pectin was high methoxy pectin (76.50%). The anhydrouronic acid (AUA) content of pectin from banana peel, banana stem and orange peel were $46.30 \pm 0.43\%$, $40.05 \pm 3.74\%$ and $65.63 \pm 2.54\%$, respectively. The antioxidant activity of pectin extracted from banana peel, banana stem and orange peel were investigated by ABTS and FRAP method. The results showed that pectin from banana peel were 23.45 ± 1.30 mM VCEAC/g and 1.50 ± 0.09 mM TEAC/g, respectively, which were significantly ($p < 0.05$) higher than those from banana stem and orange peel in both ABTS and FRAP methods. The antioxidant activity of banana stem and orange peel by ABTS method were 9.68 ± 0.88 and 7.17 ± 0.57 mM VCEAC/g and FRAP methods were 0.74 ± 0.04 and 0.69 ± 0.02 mM TEAC/g, respectively. The antioxidant activity in pectin extracted from banana peel and was significantly higher than those from banana stem and orange peel. For the prebiotic activity of pectin extracted from banana peel, the survival of probiotic *L. paracasei* and *B. lactis Bb12* in pomegranate juice with pectin-added for 14 days were 6.20 ± 0.02 and 5.71 ± 0.004 log CFU/ml, respectively, whereas the microbial contents of the test tube without pectin were 4.24 ± 0.04 and 4.18 ± 0.14 log CFU/ml, respectively. Therefore, the use of pectin from banana peels is interesting to research further.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรในระดับปริญญาตรีของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้รับเงินอุดหนุนจากงบประมาณของโครงการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2563 โดยมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

คณะผู้วิจัยสามารถดำเนินโครงการการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์นี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐธิดา โชติช่วง เป็นอย่างสูงที่กรุณาใช้เวลาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ปลุกฝังแนวคิด ชี้แนะแนวทางการวิจัยที่เป็นระบบ และคำติชมต่าง ๆ ในระหว่างการดำเนินการวิจัย รวมทั้งแก้ไขตรวจทานรายงานวิจัยเล่มนี้ในสมบูรณ์ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้คำปรึกษา แนะนำในทุก ๆ ด้านที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยและข้อเสนอแนะที่ได้รับจากการนำเสนอผลงานวิจัยโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมสร้างประสบการณ์ ตลอดจนผู้ทรงคุณวุฒิ เจ้าของตำราทุกเล่มที่ผู้ทำการวิจัยนำมาอ้างอิงประกอบในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณบุคลากรที่ดูแลห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ และภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและช่วยอำนวยความสะดวกด้านสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมีตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณครอบครัว และเพื่อน ๆ ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา เป็นกำลังใจสำคัญตลอดระยะเวลาที่ศึกษาและทำวิจัย

ด้วยความเคารพอย่างสูง

นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล

นางสาวบุญนุช มณีพงษ์

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 1 |
| 1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย | 1 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย | 1 |
| บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 2 |
| 2.1 กล้าม | 2 |
| 2.1.1 แกนกล้ามเนื้อ | 2 |
| 2.1.2 เปลือกกล้ามเนื้อ | 2 |
| 2.2 โยอาหาร | 2 |
| 2.2.1 โยอาหารไม่ละลายน้ำ | 2 |
| 2.2.2 โยอาหารละลายน้ำ | 3 |
| 2.2.3 เพคติน | 3 |
| 2.3 ประโยชน์ของโยอาหารต่อสุขภาพ | 5 |
| 2.3.1 ประโยชน์ของโยอาหารต่อโรคเบาหวานชนิดที่ 2 | 6 |
| 2.3.2 ประโยชน์ของโยอาหารต่อโรคอ้วน | 6 |
| 2.4 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคติน | 6 |
| 2.4.1 ปฏิกริยาออกซิเดชัน | 7 |
| 2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระ | 7 |
| 2.4.3 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ | 8 |
| 2.5 สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคติน | 9 |
| 2.5.1 ชนิดของพรีไบโอติก | 9 |
| 2.5.2 ประโยชน์ของพรีไบโอติก | 10 |
| บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย | 11 |
| 3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี | 11 |
| 3.1.1 วัสดุดิบ | 11 |
| 3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ | 11 |
| 3.1.3 สารเคมี | 12 |
| 3.2 ขั้นตอนการสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้ามเนื้อ | 14 |
| 3.2.1 การเตรียมผงเปลือก ใบ แกนของกล้ามเนื้อและผงเปลือกส้ม | 14 |
| 3.2.2 การสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้ามเนื้อเทียบกับเปลือกส้มแมนดาริน | 14 |

| | | |
|---------|--|----|
| 3.3 | ขั้นตอนการทดสอบสมบัติทางเคมีของเพคตินที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย | 14 |
| 3.3.1 | การหาปริมาณมวลสมมูล | 14 |
| 3.3.2 | การหาปริมาณเมทอกซิลในเพคติน | 15 |
| 3.3.3 | การหาปริมาณกรดยูโรนิก | 15 |
| 3.3.4 | ระดับการเกิดเอสเทอร์ | 15 |
| 3.3.5 | การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า | 16 |
| 3.3.6 | การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น | 16 |
| 3.4 | ขั้นตอนการทดสอบสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย | 16 |
| 3.4.1 | การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยความสามารถในการเป็น radical scavenging วิธี ABTS | 16 |
| 3.4.2 | การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ วิธี FRAP | 17 |
| 3.5 | ขั้นตอนการทดสอบการเป็นพรีไบโอติกของเพคติน | 17 |
| 3.5.1 | การเตรียมเชื้อโพรไบโอติก | 17 |
| 3.5.2 | การเตรียม 2%(w/v) pectin solution | 18 |
| 3.5.3 | การเคลือบเชื้อโพรไบโอติกด้วย 2%(w/v) pectin solution | 18 |
| 3.5.4 | ทดสอบการอยู่รอดของโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ | 18 |
| 3.5.5 | การนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นด้วยวิธี spread plate | 18 |
| 3.5.6 | ทดสอบการเป็นพรีไบโอติกของเพคติน | 18 |
| 3.6 | การวิเคราะห์ผลทางสถิติ | 19 |
| บทที่ 4 | ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง | 20 |
| 4.1 | ปริมาณของเพคตินที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย | 20 |
| 4.2 | ผลของการทดสอบสมบัติทางเคมีของเพคตินที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย | 21 |
| 4.3 | ผลของการทดสอบสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย | 22 |
| 4.4 | ผลของการทดสอบการเป็นพรีไบโอติกของเพคติน | 23 |
| บทที่ 5 | สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ | 25 |
| 5.1 | สรุปผลการทดลอง | 25 |
| 5.2 | ข้อเสนอแนะ | 25 |
| | เอกสารอ้างอิง | 26 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|--|------|
| 1 | ปริมาณเพคตินที่สกัดได้ ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้นจากผงเปลือกกล้วย ผงแกนกล้วยน้ำว้าและผงเปลือกส้มแมนดารินแห้ง | 20 |
| 2 | ค่าทางเคมีของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว้า แกนต้นกล้วยกล้วยน้ำว้า และเปลือกส้มแมนดาริน | 21 |
| 3 | ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และวิธี FRAP ของเพคตินจากส้มแมนดาริน แกนลำต้นกล้วยน้ำว้าและเปลือกกล้วยน้ำว้า | 22 |
| 4 | ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตจากการทดสอบสมบัตินี้การเป็นพรีไบโอติก ของเพคตินในน้ำทับทิมเป็นเวลา 14 วัน | 23 |

สารบัญภาพ

| รูปที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 1 | เนื้อเยื่อของผัก ผลไม้ บริเวณ middle lamella และ ผนังเซลล์ (cell wall) | 3 |
| 2 | การถูกเอสเทอร์ไฟต์โดยหมู่เมทิล | 4 |
| 3 | การแบ่งชนิดของเพคติน | 4 |
| 4 | โครงสร้างทางเคมีของ High methoxyl pectin | 5 |
| 5 | โครงสร้างทางเคมีของ Low methoxyl pectin | 5 |
| 6 | กลไกการออกฤทธิ์ทั้งทางตรงและทางอ้อมของพรีไบโอติกที่มีต่อสุขภาพ | 10 |

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

งานวิจัยนี้เล็งเห็นถึงการนำของเหลือใช้จากการบริโภคมาใช้ให้เกิดประโยชน์นั่นคือ เปลือกกล้วยและแกนกล้วย โดยส่วนประกอบเหล่านี้เป็นส่วนที่มีใยอาหารสูง โดยความสำคัญของใยอาหารคือ เป็นสารที่ไม่ให้พลังงาน เมื่อรับประทานเข้าไปจึงไม่ก่อให้เกิดพลังงานส่วนเกิน ในทางตรงข้ามกลับช่วยขัดขวางการดูดซึมไขมันและคอเลสเตอรอล นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันหรือลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็งในระบบทางเดินอาหาร ลดอัตราเสี่ยงจากไขมันอุดตันหลอดเลือด ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และช่วยในเรื่องระบบการขับถ่ายให้ดีขึ้นจึงช่วยบรรเทาอาการท้องผูก

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อนำส่วนที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์อย่างเปลือกกล้วยและแกนกล้วยมาสกัดเพคติน
2. เพื่อศึกษาชนิด ปริมาณ องค์ประกอบทางเคมี รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วย

ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

1. ตรวจสอบส่วนประกอบต่าง ๆ ของกล้วยที่มีใยอาหารมากที่สุดจากการสกัดด้วยกรดซิตริก
2. ทราบส่วนที่เหมาะสมในการนำใยอาหารที่ได้จากกล้วยไปใช้ประโยชน์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

สามารถนำเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยไปพัฒนาเป็นทางเลือกในการเป็นเพคตินทางการค้า (commercial pectin) หรือใช้ร่วมกับเพคตินจากเปลือกผลไม้ชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยเป็นเพคตินที่สกัดได้จากของเหลือใช้จากการบริโภค ทำให้สามารถลดต้นทุนของวัตถุดิบได้ และเพคตินยังมีคุณสมบัติหลายอย่าง เช่น การต้านอนุมูลอิสระ และมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) จึงน่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 กล้วย (Banana)

กล้วยเป็นผลไม้ท้องถิ่นของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเป็นพืชท้องถิ่นที่มีอยู่ในประเทศไทยมานานซึ่งเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์กับร่างกาย ทั้งในเรื่องของสุขภาพ และประโยชน์ของกล้วยยังถูกพูดถึงอย่างกว้างขวางเพราะถือได้ว่าเป็นผลไม้ที่มีคุณค่า ทั้งยังหารับประทานได้ง่าย และยังเป็นไปด้วยคุณประโยชน์ต่อสุขภาพโดยกล้วยที่นิยมนำมาบริโภคในประเทศไทยมี 3 ชนิด คือกล้วยหอม กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า

2.1.1 แกนกล้วย (Banana stem)

โดยปกติต้นกล้วย 1 ต้น เมื่อเจริญเต็มที่จะออกเครือและผลกล้วย และเกิดแกนกล้วยขึ้นที่กลางลำต้นซึ่งไม่สามารถออกเครือและผลกล้วยได้อีก ส่วนมากชาวสวนมักจะโค่นทิ้งเพราะไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อได้

2.1.2 เปลือกกล้วย (Banana peel)

เปลือกกล้วยคือส่วนของพืชที่ห่อหุ้มผลและเป็นส่วนที่ไม่นิยมนำมารับประทานเปลือกกล้วยจึงกลายเป็นขยะหลังจากที่รับประทานผลของกล้วยแล้ว จากการสำรวจพบว่าในอุตสาหกรรมของสหรัฐอเมริกาปริมาณเปลือกกล้วยส่วนใหญ่จะถูกนำไปฝังกลบประมาณ 780 ล้านปอนด์ต่อปี และพบว่าปริมาณ pectin ในเปลือกกล้วยมี 50% (dry basis)⁽⁸⁾

2.2 โยอาหาร (Dietary fiber)

โยอาหาร คือ ส่วนของพืชที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โยอาหารมีความสำคัญต่อร่างกายไม่น้อยกว่าสารอาหารอื่น ปัจจุบันมีการศึกษาเรื่องโยอาหารได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ทั้งในด้านการผลิต การประยุกต์ใช้ทางโภชนาการ โภชนบำบัด โดยในด้านการผลิตมักทำการวิจัยสกัดโยอาหารจากส่วนที่เหลือทิ้งในกระบวนการผลิตอาหาร เพื่อนำมาใช้ในอาหารที่มีโยอาหารน้อย เช่น การสกัดโยอาหารจากเปลือกกล้วยน้ำว้า กากและเปลือกกล้วยเหลือง เป็นต้น โยอาหารแบ่งได้ 2 ชนิดตามการละลายน้ำ คือ โยอาหารละลายน้ำ (Soluble fiber) และ โยอาหารไม่ละลายน้ำ (Insoluble fiber) โดยงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับโยอาหารประเภทละลายน้ำเป็นหลัก⁽¹²⁾

2.2.1 โยอาหารไม่ละลายน้ำ (Insoluble fiber)

โยอาหารส่วนนี้จะไม่ละลายน้ำ ทำให้มีการเพิ่มปริมาตรของกระเพาะอาหาร จึงทำให้รู้สึกอิ่ม และเพิ่มปริมาตรของอุจจาระ ช่วยเร่งให้อาหารผ่านไปตามทางเดินอาหารได้เร็วขึ้น และช่วยเพิ่มมวลของอุจจาระ ทำให้ช่วงเวลาที่กากอาหารค้างอยู่ในทางเดินอาหารสั้นลง ส่งผลทำให้รู้สึกอยากถ่ายอุจจาระลดปัญหาท้องผูกได้ เช่น เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin)^(9,1)

2.2.2 โยอาหารละลายน้ำ (Soluble fiber)

โยอาหารละลายน้ำจะมีความหนืดทำให้อาหารอยู่ในกระเพาะนานขึ้น ช่วยควบคุมระดับกลูโคส และไขมันในเลือด ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และจะถูกหมักได้ดีในลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดการดไขมันสายสั้น (short chained fatty acid) และแก๊สต่าง ๆ เช่น ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทน เป็นต้น ซึ่งกรดไขมันสายสั้น มีประโยชน์มากคือให้พลังงานแก่เซลล์ในลำไส้ ลดปริมาณแอมโมเนียและยูเรีย ส่งเสริมการดูดซึมแคลเซียม ควบคุมการเคลื่อนไหวของกระเพาะและลำไส้ กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุลำไส้ใหญ่ ลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งของลำไส้ใหญ่ ช่วยในกระบวนการเมทาโบลิซึมของกลูโคสและไขมันและทำให้เกิดความสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ โยอาหารละลายน้ำเช่น กัม (gums) เพคติน (pectin) เป็นต้น^(9,12)

2.2.3 เพคติน (Pectin)

เพคตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภท heteropolysaccharide ที่ดีต่อสุขภาพ พบตามธรรมชาติในผนังเซลล์ของพืช (plant cell wall) และรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ โดยรวมตัวอยู่กับเซลลูโลสทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกันคล้ายเป็นซีเมนต์ส่วนใหญ่พบได้จากเปลือกของผลไม้ตระกูลส้ม กล้วย และหัวบีทโดยเพคตินที่อยู่ในผลไม้ดิบหรือห่าม จะอยู่ในรูปของโปรโตเพคตินซึ่งไม่ละลายน้ำ ระหว่างการสุกของผลไม้โปรโตเพคติน จะเปลี่ยนเป็นเพคติน ซึ่งละลายในน้ำได้ ทำให้ผลไม้มีเนื้อสัมผัสนุ่มลง ความแน่นเนื้อลดลง ในอุตสาหกรรมอาหารเพคตินจะถูกนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความข้นและสารก่อเจลรวมถึงเป็นพรีไบโอติกเป็นอาหารของแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกซึ่งเป็นประโยชน์แก่ร่างกาย^(5,10)

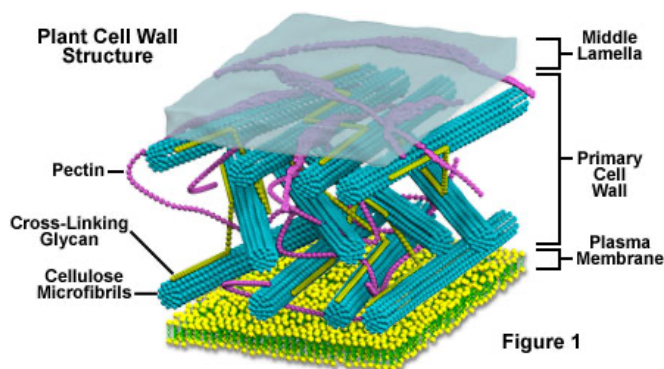
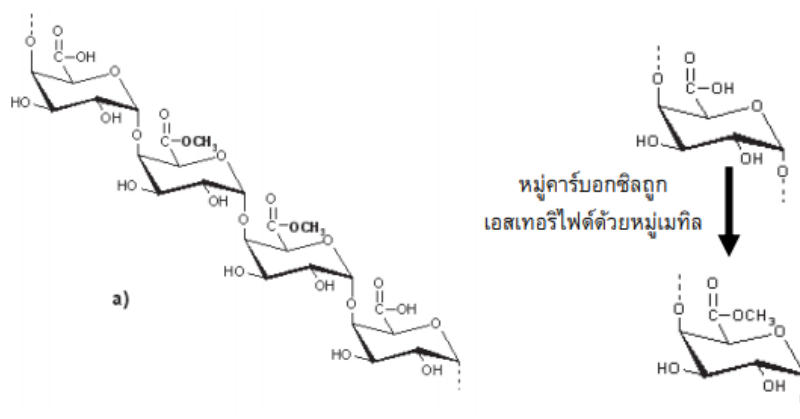


Figure 1

รูปที่ 1 เนื้อเยื่อของผัก ผลไม้ บริเวณ middle lamella และ ผนังเซลล์ (cell wall)

ที่มา ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2010)

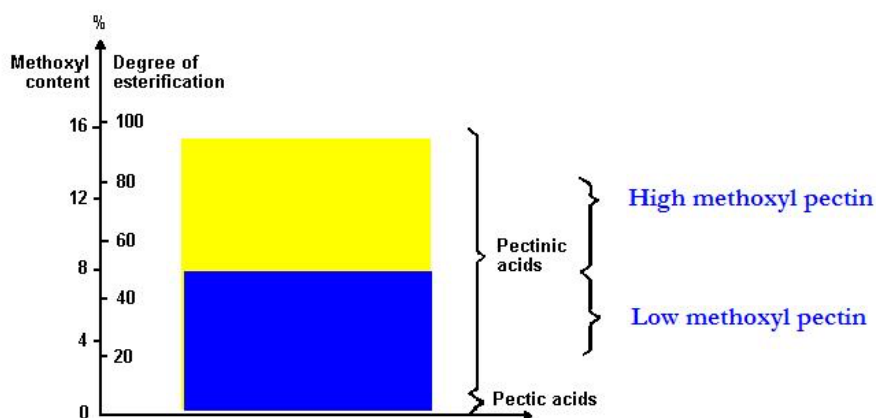
ชนิดของเพคตินที่ใช้ในอาหารแบ่งตามระดับของเอสเทอร์ฟิเคชัน (degree of esterification) ได้ 2 ระดับคือ High methoxyl pectin และ Low methoxyl pectin ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน เป็นคำร้อยละของกรดกาแลกทูโรนิกที่ถูกเอสเทอร์ไฟต์โดยหมู่เมทิล ต่อจำนวนกรดกาแลกทูโรนิกทั้งหมด เมื่อหมู่คาร์บอกซิลถูกเอสเทอร์ไฟต์โดยหมู่เมทิลจะเกิดหมู่เมทอกซิลในโครงสร้างของเพคติน ดังรูป



รูปที่ 2 การถูกเอสเทอร์ไฟต์โดยหมู่เมทิล

ที่มา Mukhiddinov; et al. (2000). Isolation

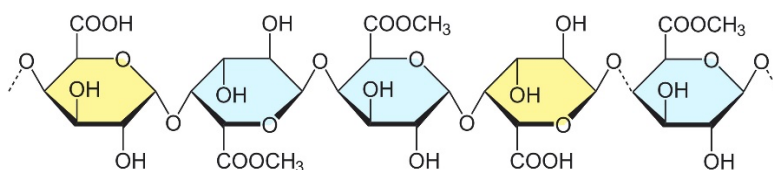
ชนิดของเพคตินที่ใช้ในอาหาร แบ่งตามระดับของเอสเทอร์ฟิเคชันได้ 2 ระดับคือ



รูปที่ 3 การแบ่งชนิดของเพคติน

ที่มา: ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2010)

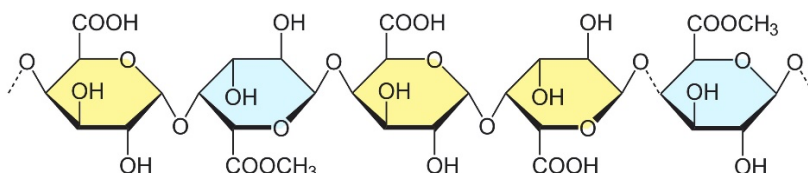
1. High methoxyl pectin (HM) เป็นเพคตินที่มีระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชันมากกว่า 50% จะเกิดเจลได้เมื่อมีของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (total soluble solid) มากกว่า 55% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใช้กับอาหารที่มี pH ต่ำกว่า 3.5



รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ High methoxyl pectin

ที่มา: silvateam S.p.a. (2021)

2. low methoxyl pectin (LM) เป็นเพคตินที่มีระดับของเมทิลเอสเทอร์ฟิเคชันน้อยกว่า 50% จะเกิดเจลได้โดยไม่ต้องมีของแข็งที่ละลายได้แต่ต้องมีแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) อยู่ประมาณ 3% มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตั้งแต่ 10-80% ที่ pH ช่วงกว้างตั้งแต่ 2.9-5.5 เจลที่ได้จะเป็นชนิด thermoreversible gel



รูปที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ Low methoxyl pectin

ที่มา: silvateam S.p.a. (2021)

2.3 ประโยชน์ของเส้นใยอาหารที่มีผลต่อสุขภาพ

เส้นใยอาหารถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการบริโภคเพื่อสุขภาพเพราะ ประโยชน์ของใยอาหารนั้นมีมากมายทั้งใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำสามารถพองตัวได้เหมือนฟองน้ำจึงช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น ความนุ่มและมวลของอุจจาระลดอาการท้องผูกและดีต่อลำไส้ อีกทั้งใยอาหารแบบละลายน้ำมีส่วนช่วยลดการดูดซึมน้ำตาลรวมทั้งไขมันไม่ให้ร่างกายดูดซึมเร็วเกินไป การเลือกกินอาหารที่มีใยอาหารจึงช่วยป้องกันความเสี่ยงการเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดและลำไส้ใหญ่ปริมาณเส้นใยอาหารที่แนะนำต่อวันขึ้นอยู่กับอายุความต้องการด้านสุขภาพและสถานะสุขภาพโดยรวม ทั้งองค์การอนามัยโลก (WHO) และองค์การอาหารและการเกษตรแนะนำให้บริโภคต่อวันอย่างน้อย 25 กรัม แนวทางการบริโภคอาหารตามหลักโภชนาการของโคโรเอเชียแนะนำให้ทานผักและผลไม้อย่างน้อย 400 กรัม เช่นรับประทานวันละ 5 มื้อขึ้นไปเพื่อให้ได้รับเส้นใยอาหารที่เพียงพอ⁽⁹⁾ ผลของฤทธิ์ทางชีวภาพของใยอาหารซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านจุลินทรีย์แบคทีเรีย

ด้านอนุมูลอิสระ และด้านการตายของเซลล์ใยอาหารมีความสามารถในการลดคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ความดันโลหิตซิสโตลิก ภาวะน้ำตาลในเลือดและความไวของอินซูลิน ด้วยเหตุนี้อาหารที่อุดมด้วยเส้นใยอาหาร จึงสามารถใช้เป็นวิธีการรักษาที่ไม่ใช่เชิงเภสัชวิทยาได้ ใยอาหารสามารถช่วยควบคุมน้ำหนักตัวมีผลต่อการทำงานของภูมิคุ้มกันและมีส่วนช่วยในการควบคุมเบาหวานและป้องกันโรกระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ กรดไหลย้อนลำไส้เล็กส่วนต้นลำไส้แปรปรวนโรคมะเร็งโป่งพองท้องผูกและริดสีดวงทวาร ด้วยพฤติกรรมกรกินอาหารของคนในปัจจุบัน การเคลื่อนไหวทางร่างกายลดลง การกินผักและผลไม้ไม่เพียงพอเป็นสาเหตุหลักของโรคอ้วน ซึ่งการรับประทานอาหารที่มีเส้นใยสูงเป็นวิธีแก้ปัญหาโรคอ้วนในเบื้องต้น เส้นใยอาหารทั้งในรูปแบบที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำช่วยในการลดน้ำหนัก การเคลื่อนไหวของใยอาหารในลำไส้มีบทบาทในการควบคุมระดับความอึดใน เส้นใยอาหารทำหน้าที่เป็นเจลสามารถจับกับอาหารเพื่อชะลอการดูดซึมของพลังงานอาหาร ทำให้ร่างกายได้รับพลังงานอาหารน้อยกว่าพลังงานที่ใช้ เพื่อให้ร่างกายได้น้ำไขมันที่สะสมไว้มาเผาผลาญเป็นพลังงาน⁽¹¹⁾

2.3.1 ใยอาหารต่อการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes)

เบาหวานชนิดที่ 2 หรือภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) เป็นภาวะที่ร่างกายสามารถตอบสนองต่อการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินได้น้อยกว่าปกติ โดยปกติฮอร์โมนอินซูลินซึ่งสร้างโดยตับอ่อนจะทำหน้าที่นำน้ำตาลในกระแสเลือดไปยังเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายเพื่อเผาผลาญเป็นพลังงาน แต่ในผู้ที่มีภาวะดื้อต่ออินซูลิน ฮอร์โมนอินซูลินจะไม่สามารถนำน้ำตาลเข้าไปยังเซลล์เพื่อเกิดการเผาผลาญเป็นพลังงานได้ตามปกติ ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น เพิ่มแนวโน้มการเกิดเบาหวานในอนาคต ตัวใยอาหารมีผลในการช่วยลดน้ำตาลในเลือดและยังมีเบต้า-กลูแคน (β -Glucan) เป็นใยอาหารที่สามารถชะลอการปลดปล่อยน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด น้ำตาลจึงถูกดูดซึมเข้าสู่เลือดได้ช้าลง ช่วยลดระดับความต้องการของอินซูลินได้ นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการฟื้นฟูการทำงานของตับอ่อน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตอินซูลินได้ดี⁽¹³⁾

2.3.2 ใยอาหารกับโรคอ้วน

ภาวะน้ำหนักเกินหรือโรคอ้วนเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยและทั่วโลก พฤติกรรมกรกินอาหารของคนในปัจจุบัน การเคลื่อนไหวทางร่างกายลดลง การกินผักและผลไม้ไม่เพียงพอเป็นสาเหตุหลักของโรคอ้วน ซึ่งการรับประทานอาหารที่มีเส้นใยสูงเป็นวิธีแก้ปัญหาโรคอ้วนในเบื้องต้น เส้นใยอาหารทั้งในรูปแบบที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำช่วยในการลดน้ำหนัก การเคลื่อนไหวของใยอาหารในลำไส้มีบทบาทในการควบคุมระดับความอึดใน เส้นใยอาหารทำหน้าที่เป็นเจลสามารถจับกับอาหารเพื่อชะลอการดูดซึมของพลังงานอาหาร ทำให้ร่างกายได้รับพลังงานอาหารน้อยกว่าพลังงานที่ใช้ เพื่อให้ร่างกายได้น้ำไขมันที่สะสมไว้มาเผาผลาญเป็นพลังงาน⁽¹²⁾

2.4 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radicals) คืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว โดยปกติแร่ธาตุทั้งหลายในร่างกายเราจะมีอิเล็กตรอนอยู่รอบนอกเป็นจำนวนคู่ ซึ่งทำให้โมเลกุลนั้นคงตัว หากอิเล็กตรอนขาดคู่จะทำให้สารนั้น ไม่เสถียร เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ว่องไว โดยจะไปดึงหรือแย่งเอาอิเล็กตรอนโมเลกุลอื่นหรืออะตอมจากสารอื่นมา เพื่อทำให้อะตอมหรือโมเลกุลของตัวเองมีความเสถียร ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ขึ้นมาอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะไปดึงอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลของสารข้างเคียงหรือสารอื่นขึ้นมาอีก ทำให้เกิดเป็นปฏิกิริยาที่เรียกว่าปฏิกิริยาลูกโซ่⁽¹⁶⁾ (Chain Reaction) ในกรณีที่มีการสูญเสียและรับอิเล็กตรอนมาอีกเพียง 1 ตัว จะทำให้โมเลกุลนั้น ไม่เสถียรการทำลายของอนุมูลอิสระจะมีอายุสั้นมากประมาณ 10^{-3} - 10^{-10} วินาที⁽¹⁵⁾ โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นระหว่างการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species, ROS) และกลุ่มของสารที่เป็นอนุพันธ์ของไนโตรเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive Nitrogen Species, RNS) ทั้งกลุ่ม ROS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญ ในเซลล์ร่างกาย

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต ส่วนมากเป็นพวกที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ สูง ก่อให้เกิดการชนกัน ทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้นภายในเซลล์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นมากมาย จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวส่งผลให้เกิดความเสียหายอย่างมากกับโครงสร้าง และหน้าที่ของสารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิต ทำให้กระบวนการและกิจกรรมต่าง ๆ ทางเมแทบอลิซึม ภายในร่างกายบกพร่องเกิดความผิดปกติและนำไปสู่การเกิดโรคภัยต่าง ๆ ⁽¹⁶⁾

2.4.1. ปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) หมายถึง ปฏิกิริยาที่อะตอมหรือโมเลกุลมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับอะตอมหรือโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน โดยเรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing Agent) และเรียกสารที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (Oxidation Agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน มักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมจากโมเลกุลอีกด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันและ อนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวพันกันเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน นั้นก่อให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ ได้เสมอและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กับสารอื่น ๆ ⁽¹⁴⁾

2.4.2. สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกัน ยับยั้ง หรือชะลอ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือทำลายการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน โดยอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ โดยในร่างกายมีหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์และสารอื่น ๆ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้มีผลทำลายเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังช่วยขับไล่อนุมูลอิสระช่วยไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัว สารอนุมูลอิสระ

ในร่างกายสำคัญในการป้องกันการเกิดปัญหาสุขภาพหลายประการ ในขณะที่เดียวกันร่างกายก็สามารถจัดการกับอนุมูลอิสระได้โดยการ สร้างสารต้านอนุมูลอิสระออกมาในกระแสเลือด เพื่อจับอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปมนุษย์เราไม่สามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาได้ด้วยตัวเองแต่เนื่องจากมนุษย์เป็นสัตว์ที่กินพืชเป็นอาหาร ซึ่งพืชหลายชนิด มีสารเหล่านี้อยู่ในปริมาณสูง พืชจะสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้น หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ในพืชผักและผลไม้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทและมีคุณสมบัติด้านการออกซิเดชัน ได้แก่ สารกลุ่มโพลีฟีนอล หรือสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) ทำหน้าที่หยุด ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน สารในกลุ่มนี้นอกจากจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีแล้ว ยังสามารถเปลี่ยนอนุมูลอิสระในรูปที่มีสามารถทำลายเซลล์ ให้อยู่ในรูปที่ไม่ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ได้หลายชนิด และมีฤทธิ์ด้านการอักเสบอีกด้วย^(14,17)

2.4.3. กลไกการต้านอนุมูลอิสระ มีหลายรูปแบบ เช่น

2.4.3.1. Free radical scavenging

| | |
|---|---|
| $\text{สารตั้งต้น} \rightarrow \text{R}^{\bullet}$ | โมเลกุลของสารตั้งต้นถูกกระตุ้นด้วยความร้อน แสง หรือได้รับอิเล็กตรอนจากสารรีดิวซิงเอเจนต์หรือถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ(R.) |
| $\text{R}^{\bullet} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}^{\bullet}$ | อนุมูลอิสระ (R.) ทำปฏิกิริยากับ ออกซิเจนได้อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (ROO.) |
| $\text{ROO}^{\bullet} + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}(\text{ตัวใหม่})$ | อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลทำปฏิกิริยากับ ไขมัน ได้ ไตรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอิสระตัวใหม่ (R.(ตัวใหม่)) |
| $\text{ROO}^{\bullet} + \text{ROO}^{\bullet} \rightarrow$ โมเลกุลที่คงตัว | เมื่ออนุมูลอิสระ 2 ตัวมาเจอกันก็จะรวมตัวกัน เป็น โมเลกุลที่คงตัว |

2.4.3.2. Singlet oxygen quenching

การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) สารกลุ่ม carotenoids สามารถยับยั้งการทำวานของ singlet oxygen โดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ triplet oxygen ปล่อยพลังงานที่ได้ในรูปความร้อน

2.4.3.3. Metal chelation

โลหะหนักเช่น Fe^{2+}/Fe^{3+} และ Cu^{2+} มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ในร่างกายซึ่งโลหะหนักดังกล่าวจะไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระหลายประเภท ดังนั้นการที่มีสารจำพวก flavonoids, phosphoric acid, citric acid และ ascorbic acid จะไปจับกับโลหะหนักเหล่านี้จะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้

2.4.3.4. Enzyme inhibition

สารประกอบ phenolics บางชนิด เช่น flavonoids phenolic acid และ gallates สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็น cofactor ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

2.5 สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของพาคติน

พรีไบโอติกเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก แต่แบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยได้ เช่น แบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* เป็นต้น⁽¹⁵⁾ โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถใช้พรีไบโอติกเป็นสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต อีกทั้งยังส่งผลดีต่อสุขภาพอีกด้วย โดยทั่วไปอาหารที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก ได้แก่ ผัก ผลไม้ ธัญพืช เป็นต้น

2.5.1 ชนิดของพรีไบโอติก

พรีสามารถแบ่งได้ 4 กลุ่ม คือ โพลีออลส์ หรือ sugar alcohols, โอลิโกแซ็กคาไรด์, เส้นใยอาหาร และอาหารเสริมอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติพรีไบโอติก

2.5.1.1 โพลีออลส์ (Polyols)

ไซลิตอล (xylitol), ซอร์บิทอล (sorbitol), แมนนิทอล (mannitol), แลคตูโลส (lactulose) และแลคทิทอล (lactitol) เป็นโพลีออลส์พรีไบโอติกที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย

2.5.1.2 โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharides)

เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3-10 หน่วย เป็นแหล่งของพรีไบโอติกที่ดี ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในลำไส้ ช่วยทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เจริญได้ดี เช่น fructo-oligosaccharides (FOS), galacto-oligosaccharides (GOS), soy-oligosaccharides (SOS), isomalto-oligosaccharides (IMO), oligosaccharides (OS), transgalacto-oligosaccharides, xylo-oligosaccharides (XOS), inulins, raffinose lactosucrose, palatinose, oligofructose (OF), galactosyl lactose and pyrodextrins⁽¹⁷⁾

2.5.1.3 เส้นใยอาหาร (Fiber)

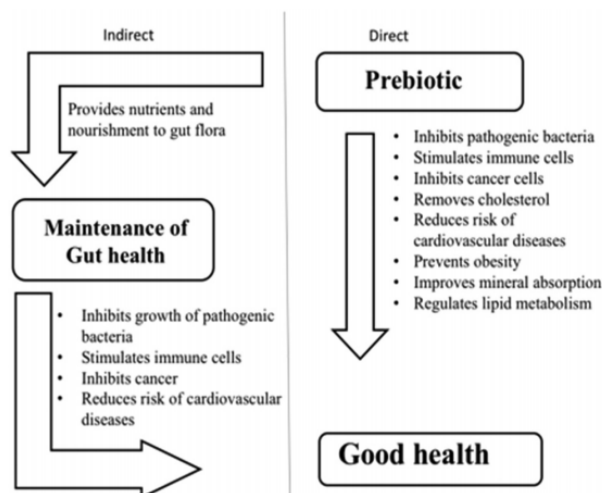
ใยอาหารเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยได้ เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง เช่น cellulose, dextrans, pectins, beta-glucans, waxes, และ lignin⁽¹⁷⁾

2.5.1.4 อาหารเสริมอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติพรีไบโอติก

อาหารเสริมเหล่านี้สามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่ประโยชน์ได้ในลำไส้ และยังเป็นพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ เช่น selenium-containing green tea (SGT), China green tea (CGT), Indian mulberry และ Yacon root เป็นต้น⁽¹⁷⁾

2.5.2 ประโยชน์ของพรีไบโอติก

พรีไบโอติก จัดเป็น functional food โดยพรีไบโอติกและโพรไบโอติกทำงานร่วมกัน จะรวมเรียกว่า ซินไบโอติก (Synbiotics) เป็นผลดีต่อร่างกายช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพดีกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ภายในทางเดินอาหารให้เหมาะสม จะเกิดการสร้างกรดเพิ่มขึ้นทำให้ลำไส้มีพีเอชน้อยลง ไม่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค⁽¹⁷⁾



รูปที่ 6 กลไกการออกฤทธิ์ทั้งทางตรงและทางอ้อมของพรีไบโอติกที่มีต่อสุขภาพ
ที่มา Mohanty; et al. (2018). Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition.

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

รายการ

เปลือกกล้วย

ที่มา

เปลือกกล้วยเหลือใช้จากร้านขายกล้วยปิ้งหรือกล้วยทอดปริมาณ 20 กิโลกรัม จากตลาดสามย่าน

แกนกล้วย

ต้นกล้วยที่ออกเครือแล้วจากสวนกล้วย ปริมาณ 20 กิโลกรัม จากสวนกล้วย

เปลือกส้มแมนดาริน

เปลือกส้มแมนดาริน ปริมาณ 10 กิโลกรัม จาก Tops supermarket

3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์

รายการ

Hot air oven

ที่มา

ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

Hotplate

ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

pH meter

บริษัท เวลต์ไวต์ เทรต ไทย จำกัด

เครื่องบด

Zhaoshenxingsheng

เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) C-MAG HS 7

IKA®

ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100, 250, 1000 ml

Schott, Germany

บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 ,100, 250, 500 ml

Schott, Germany

ปิเปต (pipette) ขนาด 5 ml

Schott, Germany

หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 250 ml (conical centrifuge tube)

Nunc™, Thermo Fisher Scientific, USA

เครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge

Hermle Labortechnik GmbH, Germany

Water bath

ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

| | |
|-----------------------------------|--|
| Freeze drying | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| UV-Visible spectrophotometer | Hitachi, U-51000 spectrophotometer |
| ไมโครปิเปต 1000 μ l | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| จานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาด 90 x 15 mm | Hycon Plastic |
| ตะเกียงแอลกอฮอล์ | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| หลอดทดลอง | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| เครื่องนิ่งฆ่าเชื้อ | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| vortex meter | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |

3.1.3 สารเคมี

รายการ

| | |
|------------------------------|---|
| น้ำกลั่น (Distillated water) | ที่มา ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| 6% citric acid solution | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| 0.05 M HCl solution | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| 95% Ethanol | RCI Labscan Co., Ltd, Bangkok, Thailand |
| Phenol red | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| Phosphate buffer saline | ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี คณะ แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |

| | |
|--|--|
| ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) | ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine) | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| acetate buffer pH 3.6 | ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| Ferric chloride | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| Sodium chloride | ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| จุลินทรีย์ชนิด <i>Lactobacillus paracasei</i> และ <i>Bifidobacterium lactis Bb12</i> | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| Peptone, Bacteriological | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar | ห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร |
| ทิปโก้ น้ำทับทิม 60% | จาก Tops supermarket |

3.2 ขั้นตอนการสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วย

3.2.1 การเตรียมผงเปลือก ใบ แกนของกล้วยและผงเปลือกส้ม

ในงานวิจัยนี้ใช้กล้วยน้ำว้าโดยเราจะนำเปลือก ใบ และแกนของกล้วยน้ำว้ามาทำความสะอาดเส็ดน้ำ จากนั้นนำไปบดและอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือให้มีปริมาณความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นนำเปลือก ใบ และแกนกล้วยน้ำว้าที่อบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดและนำไปร่อนที่ตะแกรงขนาด 60 mesh เปลี่ยนตัวอย่างเป็นเปลือกส้มเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมและทำตามขั้นตอนข้างต้น

3.2.2 การสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วยเทียบกับเปลือกส้มแมนดาริน

นำผงที่ได้จากการร่อน 50 กรัม ผสมด้วย 70% Ethanol ในอัตราส่วน (1:10 w/v) โดย homogenize และนำไปต้มให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองผ่าน Nylon filter และล้างตะกอนด้วย 95% Ethanol ครั้งละ 20 มิลลิลิตร 3 รอบและตามด้วย 80% Acetone ครั้งละ 20 มิลลิลิตร 3 รอบตามลำดับ หลังจากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปอบด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (Alcohol-insoluble residue : AIR)

ผสม AIP 10 กรัมกับ 6% citric acid 200 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน (1:20 w/v) ใน water bath ที่อุณหภูมิ 87 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 นาที pH 2.0 นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 8000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากการปั่นเหวี่ยงนำสารละลายส่วนใสไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 สุดท้ายนำสารละลายที่กรองได้ผสมกับ 95% Ethanol และ 0.05 M HCl ในอัตราส่วน (1:1 v/v) และกวนผสมด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจนเพคตินตกตะกอน

นำสารละลายที่ได้หลังจากการตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ไปปั่นเหวี่ยงที่ 8000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกเพคตินออกจากสารละลายและล้างตะกอนเพคตินที่ได้ด้วย 95% Ethanol ครั้งละ 20 มิลลิลิตร 3 รอบ หลังจากนั้นนำเพคตินไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze drying คำนวณหาปริมาณเพคตินที่ได้จากสมการ (1)

$$\% \text{Pectin yield} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเพคติน}}{\text{น้ำหนักชิ้นส่วนของกล้วยที่สกัด}} \times 100 \quad (1)$$

3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเพคตินที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ กล้วยน้ำว้า

ตามวิธีของ Oliveira TS, et al. (2016)⁽⁶⁾

3.3.1 การหาปริมาณมวลสมมูล (Equivalent weight)

ชั่งผงเพคติน 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมนีออนอล 5 มิลลิลิตรลงไป แล้วเติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 1 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใส่ฟีนอลเรด 6 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ นำสารละลายไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนอินดิเคเตอร์เปลี่ยนสี ให้สี

ของสารละลายเสถียรนาน 30 วินาที บันทึกปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรต จากนั้นนำไปคำนวณหา มวลสมมูลตามสมการ (2)

$$\text{Equivalent weight (g/mol)} = \frac{\text{Weight of sample (g)} \times 1000\text{ml}}{\text{ml of alkali} \times \text{Normality of alkali}} \quad (2)$$

3.3.2 การหาปริมาณเมทอกซิลในพอลิเมอร์ (Methoxyl content, MeO)

นำสารละลายที่ได้จากการวิเคราะห์มวลสมมูลมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.25 N ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน ปิดฝาแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริก 0.25 N ปริมาตร 25 มิลลิลิตรลงไป แล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนถึงจุดยุติอีกครั้ง บันทึกปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ นำไปคำนวณหาปริมาณเมทอกซิลตามสมการ (3)

$$\% \text{Methoxyl content} = \frac{[\text{ml of Alkali} \times \text{Normality of alkali} \times 31]}{\text{Weight of sample (g)} \times 100} \times 100 \quad (3)$$

3.3.3 การหาปริมาณกรดยูโรนิก (Anhydrouronic Acid content, AUA)

โดยคำนวณจากปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรตในการหา equivalent weight และ methoxyl content คำนวณหาปริมาณ AUA ได้ตามสมการที่ (4)

$$\% \text{AUA} = \frac{(176 \times 0.1z \times 100)}{(w \times 1000)} + \frac{(176 \times 0.1y \times 100)}{(w \times 1000)} \quad (4)$$

โดย molecular unit ของ AUA (1 unit) = 176

Z คือ ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรตในการหา Equivalent weight

Y คือ ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรตในการหา Methoxyl content

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็นกรัม

3.3.4 ระดับการเกิดเอสเทอร์ (Degree of esterification, DE)

คำนวณหาปริมาณ %DE ได้ตามสมการที่ (5)

$$\% \text{DE} = \frac{(176 \times \text{MeO}\%)}{(31 \times \text{AUA}\%)} \times 100 \quad (5)$$

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ตามวิธี AOAC (2000) โดย อบ crucible ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นใน desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (w_1) นำตัวอย่างเพคติน 2 กรัม ชั่งใส่ crucible ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (S) แล้วนำไปเผาไฟอ่อน ๆ จนควันหมด จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว นำออกมาใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (w_2) คำนวณหาปริมาณเถ้าได้จากสมการ(6)

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(W_2 - W_1)}{S \text{ (g)}} \times 100 \quad (6)$$

S = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

w_2 = น้ำหนัก crucible (กรัม)

w_2 = น้ำหนัก crucible และเถ้า (กรัม)

3.3.6 การวิเคราะห์ความชื้น

ตามวิธี AOAC (2000) โดย อบตัวอย่างเพคตินด้วยถ้วยอลูมิเนียมในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นใน desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (w_1) ชั่งตัวอย่างเพคติน 1 กรัม ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมที่อบแห้ง แล้วบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (w_2) นำไปชั่งน้ำหนักอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ซึ่งค่าที่ได้จะแตกต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม (w_3) คำนวณปริมาณความชื้นได้จากสมการ(7)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{[(W_2 - W_3) \times 100]}{(W_2 - W_1)} \quad (7)$$

w_1 = น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)

w_2 = น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

w_3 = น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

3.4 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากเพคติน

3.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยความสามารถในการเป็น radical scavenging วิธี ABTS

ตามวิธีของ Floegel A. และคณะ (2011) เป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระด้วย ABTS^{•+} (2, 2'-azino-bis(3- ethylbenzothiazoline-6 -sulfonic acid) radical) สารสังเคราะห์ที่มีสีเขียว

ป็นน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm จากนั้นนำสารละลาย ABTS^{•+} ทำปฏิกิริยากับสารละลายเพคติน ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา ตามสมการที่ (8)



จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารละลายเพคตินได้ โดยสารละลาย ABTS^{•+} เตรียมได้จากสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ที่ละลายในสารละลาย Phosphate buffer saline ความเข้มข้น 1X ผสมกับ APPH ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายในสารละลาย Phosphate buffer saline ความเข้มข้น 1X ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที นำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าสารละลาย ABTS^{•+} จะเย็นลง นำไปวัดค่า OD₇₃₄ ให้ได้ 0.650 ± 0.02 นาโนเมตร โดยปรับด้วย 1XPBS จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างปิเปตสารตัวอย่างมา 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติม ABTS^{•+} ลงไป 950 ไมโครลิตร นำไปตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ total antioxidant capacity (%AA) ตามสมการที่ (9) เพื่อนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของแอสคอร์บิก แสดงค่าในรูปของมิลลิโมลาร์สมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด (mM Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity/g)

$$\%AA = \left(\frac{OD_{Blank} - OD_{sample}}{OD_{Blank}} \right) \times 100 \quad (9)$$

3.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์

วิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

ตามวิธีของ Oguto F. และ Mu Tai-Hua (2016) วิธีนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน [Fe(III)(TPTZ)₂]³⁺ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺ จากสารละลายสีเหลืองจะกลายเป็นสีน้ำเงินม่วง โดยปริมาณของ [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺ ที่เกิดขึ้นคือความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ตามสมการที่ (10)



ซึ่งมีความสามารถในการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร สามารถเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย 300 มิลลิโมลาร์ Acetate buffer pH 3.6 สารละลาย 20 มิลลิโมลาร์ FeCl₃·6H₂O และสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ ที่ละลายในสารละลาย HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ผสมสารละลายทั้งสามตัวในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ จากนั้นนำวางที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เตรียมสารตัวอย่างผสมกับ FRAP reagent เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (n=3) คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากโดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Trolox แสดงค่าในรูปของ mM Trolox)

3.5. การศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรไบโอติกของเพคติน

3.5.1 การเตรียมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

โดยเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติก 2 ชนิดที่เลือกใช้คือ *Bifidobacterium lactis* Bb12 และ *Lactobacillus paracasei* เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) broth บ่มในสภาวะไม่มีออกซิเจนโดยใช้ถุงบ่มไร้ออกซิเจน (anaerobic bag) ที่บรรจุ gas pack บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง โดยให้มีปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ 8 log CFU/ml

3.5.2 การเตรียม 3%(w/v) สารละลายเพคตินจากเปลือกกล้วย

นำเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วย 3 g ผสมกับน้ำกลั่น 50 ml กวนผสมด้วย magnetic stirrer 30 นาทีจนเพคตินเริ่มมีลักษณะเกิดเจล ปรับ pH ด้วย 1M NaOH จนมี pH สุดท้ายเท่ากับ 6.0 หลังจากนั้นนำไปปรับปริมาตรให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 100 ml และนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave

3.5.3 การเคลือบจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วย 3%(w/v) สารละลายเพคตินจากเปลือกกล้วย

นำสารละลายจากข้อ 3.5.2 ปริมาตร 9 ml ผสมกับ จุลินทรีย์พรไบโอติก 1 ml ใน broth หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer

3.5.4 ทดสอบการอยู่รอดของโพรไบโอติกในน้ำผลไม้

นำน้ำทับทิม (pH 3.1) ปริมาตร 9 ml ผสมกับสารละลายดังข้อ 3.5.3 ปริมาตร 1 ml ใน broth หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันเพื่อวัดผลการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำทับทิมในวันที่ 0, 7 และ 14

3.5.5 การนับจำนวนจุลินทรีย์แบคทีเรียเริ่มต้นด้วยวิธี spread plate

นำสารละลายจากข้อ 3.5.4 ของวันที่ 0 มาทำการเจือจางแบคทีเรียโพรไบโอติกแบบอนุกรม 10 เท่า จำนวน 4 ครั้ง ด้วยสารละลาย 0.1% peptone จำนวน 4 ครั้ง จากนั้นกระจายจุลินทรีย์แบคทีเรียลงบนผิวหน้าอาหาร MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียเริ่มต้นสำหรับใช้ในการเปรียบเทียบการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำทับทิม

3.5.6 ทดสอบการเป็นพรไบโอติกของเพคติน

นำสารละลายจากข้อ 3.5.4 ของวันที่ 7 และ 14 มาทำการเจือจางแบคทีเรียโพรไบโอติกที่กระจาย

ตัวใน 3%(w/v) สารละลายเพคติน แบบอนุกรม 10 เท่า ด้วยสารละลาย 0.1% peptone จำนวน 4 ครั้ง จากนั้นกระจายจุลินทรีย์แบคทีเรียลงบนผิวหน้าอาหาร MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียเริ่มต้นสำหรับการเปรียบเทียบการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ในน้ำทับทิม เปรียบเทียบผลที่ได้ตั้งแต่วันที่ 0, 7 และ 14

3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของเพคติน และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคติน และทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคติน วางแผนการทดลองทางสถิติแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ปริมาณเพคตินที่ สกัดได้ ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้นของเพคติน

ตารางที่ 1 ปริมาณเพคตินที่สกัดได้ ปริมาณเถ้า และปริมาณความชื้นจากผงเปลือกกล้วย ผงแกนกล้วยน้ำว้า และผงเปลือกส้มแมนดารินแห้ง

| Pectin sources | Pectin yield (%) | Ash (%) | Moisture (%) |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| เปลือกส้มแมนดาริน (control) | 31.07 ± 0.9 ^a | 4.08 ± 0.19 ^a | 7.69 ± 0.18 ^a |
| เปลือกกล้วยน้ำว้า | 4.67 ± 0.2 ^b | 1.95 ± 0.16 ^b | 6.29 ± 0.15 ^b |
| แกนลำต้นกล้วยน้ำว้า | 3.45 ± 0.3 ^c | 2.01 ± 0.18 ^b | 6.65 ± 0.27 ^b |
| ใบกล้วยน้ำว้า | 0.0923* | - | - |

รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05)

ns ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≥ 0.05)

*สกัดเพียงหนึ่งซ้ำ

จากตารางที่ 1 พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากใบกล้วยเท่ากับ 0.0923 % เมื่อเทียบกับเพคตินที่สกัดได้จากส่วนอื่น ๆ ซึ่งมีปริมาณน้อยจึงไม่ได้ทำการสกัดเพคตินต่อ นอกจากนี้ปริมาณเพคตินจากเปลือกส้มแมนดาริน เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนต้นกล้วยน้ำว้ามีปริมาณเพคตินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) โดยปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว้าเท่ากับ 4.67 ± 0.2% ปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากแกนกล้วยน้ำว้าเท่ากับ 3.45 ± 0.3% และเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม (ตัวควบคุม) เท่ากับ 31.07 ± 0.9% พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับเปลือกส้มที่ใช้เป็นตัวควบคุม เพราะเปลือกกล้วยที่นำมาสกัดเป็นเปลือกกล้วยเหลือใช้มาจากร้านขายกล้วยปิ้งตลาดสามย่าน ซึ่งเปลือกกล้วยอยู่ใน stage ที่ 7 มีสีเหลืองปนน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ จากรายงานของ Emaga และ คณะ พบว่าเปลือกกล้วยที่อยู่ใน stage ที่ 7 มีปริมาณเพคตินที่น้อยเพราะ มีปริมาณเอนไซม์ polygalacturonase และ poly methyl esterase มากซึ่งจะไปย่อยเพคตินให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว(4) และจากการทดลองพบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากใบกล้วยมีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณเพคตินจากส่วนอื่น ๆ ในการทดลองขั้นตอนต่อไปจึงศึกษาเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยเท่านั้น

ปริมาณเถ้าของเพคตินที่สกัดได้สามารถเป็นตัวบ่งชี้ความบริสุทธิ์ของเพคตินได้ จากรายงานของกษมา ชารีโคตร กล่าวว่า เถ้า หมายถึง ส่วนของสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งเหลืออยู่ภายหลังจากการเผาไหม้ เช่น แร่ธาตุโลหะ สามารถเป็นตัวบ่งชี้ความบริสุทธิ์ของเพคตินได้ พบว่าในเพคตินที่มีปริมาณเถ้าต่ำแสดงถึงความบริสุทธิ์ของเพคตินที่สูง เนื่องจากในโมเลกุลของเพคตินจะมีเฉพาะคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนซึ่งจะกลายเป็นออกไซด์ระเหยได้เมื่อถูกเผาไหม้ ไม่มีแร่ธาตุโลหะเจือปน⁽²⁴⁾ จากการทดลองพบว่าปริมาณเถ้าของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วย (1.95 ± 0.16%) และแกนกล้วย (2.01 ± 0.18%) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เทียบกับเปลือกส้มที่วัดปริมาณเถ้าได้ เท่ากับ 4.08 ± 0.19%

ปริมาณความชื้นของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้าเท่ากับ 6.29 ± 0.15% และ 6.65 ± 0.27% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เทียบเท่ากับปริมาณความชื้นจากเพคตินที่สกัดได้ในกล้วยสายพันธุ์อื่น ๆ จากรายงานของ Khamsucharit และคณะ⁽¹⁾ ทำการสกัดเพคตินจากกล้วย 5 สายพันธุ์ 2018 มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 4.54 ถึง 7.92%⁽¹⁾

4.2 ค่าทางเคมีของเพคตินที่

ตารางที่ 2 ค่าทางเคมีของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว้า แกนต้นกล้วยกล้วยน้ำว้า และเปลือกส้มแมนดาริน

| Pectin sources | Equivalent weight (g/mol) | MeO (%) | AUA (%) | DE (%) |
|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| เปลือกส้มแมนดาริน (control) | 1611.02 ± 77.43 ^a | 6.27 ± 0.07 ^b | 65.63 ± 2.54 ^a | 76.50 ± 1.01 ^a |
| เปลือกกล้วยน้ำว้า | 843.19 ± 30.94 ^b | 7.46 ± 0.48 ^a | 46.30 ± 0.43 ^b | 37.08 ± 1.72 ^b |
| แกนลำต้นกล้วยน้ำว้า | 628.12 ± 49.59 ^c | 6.62 ± 0.46 ^b | 40.05 ± 3.74 ^c | 33.91 ± 1.34 ^c |

รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากการศึกษาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว้าและแกนกล้วยน้ำว้า เทียบกับเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแสดงผลตามตารางที่ 2 พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มเปลือกกล้วย และแกนกล้วยมีมวลสมมูลเท่ากับ 1611.02 ± 77.43 843.19 ± 30.94 และ 628.12 ± 49.59 (g/mol) ตามลำดับ มวลสมมูลของเพคตินที่สกัดได้จาก 3 แหล่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ลำดับต่อมาเป็นการศึกษาปริมาณเมทอกซิลของเพคติน โดยเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยมีปริมาณเมทอกซิล เท่ากับ $7.46 \pm 0.48\%$ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากปริมาณเมทอกซิลของเพคตินที่สกัดจากแกนกล้วยและเปลือกส้ม เท่ากับ $6.62 \pm 0.4\%$ และ $6.27 \pm 0.07\%$ ตามลำดับ

ปริมาณกรดยูโรนิกเป็นปริมาณที่บ่งบอกถึงความบริสุทธิ์ของเพคตินที่สกัดได้ ถ้าต้องการนำเพคตินไปใช้เพื่อเป็นวัตถุเจือปนอาหารเพคตินควรมีปริมาณกรดยูโรนิกไม่ต่ำกว่า 65% ⁽¹⁾ จากผลตามตารางที่ 3 พบว่าปริมาณกรดยูโรนิกของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม เท่ากับ $65.63 \pm 2.54\%$ ถือเป็นเพคตินที่มีความบริสุทธิ์สูง เทียบกับปริมาณกรดยูโรนิกของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วย เท่ากับ $46.30 \pm 0.43\%$ และ $40.05 \pm 3.74\%$ ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของการสกัดเพคตินจากเปลือกกล้วยชาวา⁽¹⁴⁾ ซึ่งเพคตินจากเปลือกกล้วยชาวามีปริมาณกรดยูโรนิก เท่ากับ 39.68 ถึง 57.32% และ ปริมาณกรดยูโรนิกของกล้วยสายพันธุ์อื่น ๆ ปริมาณกรดยูโรนิก เท่ากับ 34.56 ถึง 66.67%⁽¹⁾

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งชนิดของเพคตินที่สกัดได้จากระดับการเกิดปฏิกิริยาเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันโดยเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยมีระดับการเกิดปฏิกิริยาเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน เท่ากับ $37.08 \pm 1.72\%$ และ $33.91 \pm 1.34\%$ ตามลำดับจัดเป็นเพคตินชนิด low methoxyl pectin เพราะ มีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันต่ำกว่า 50% แตกต่างจากเปลือกส้มที่มีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน $76.50 \pm 1.01\%$ จัดเป็นเพคตินชนิด high methoxyl pectin

4.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และวิธี FRAP ของเพคตินจากส้มแมนดาริน แกนลำต้นกล้วยน้ำหว่าและเปลือกกล้วยน้ำหว่า

ตารางที่ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และวิธี FRAP ของเพคตินจากส้มแมนดาริน แกนลำต้นกล้วยน้ำหว่าและเปลือกกล้วยน้ำหว่า

| แหล่งเพคติน | ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ | |
|----------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | VCEAC value of ABTS (mM/g) | TEAC value of FRAP (mM/g) |
| เปลือกส้มแมนดาริน | 7.17 ± 0.57^c | 0.69 ± 0.02^b |
| เปลือกกล้วยน้ำหว่า | 23.54 ± 1.30^a | 1.50 ± 0.09^a |
| แกนลำต้นกล้วยน้ำหว่า | 9.68 ± 0.88^b | 0.74 ± 0.04^b |

รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้ม เปลือกกล้วยและแกนกล้วยด้วยวิธี ABTS และ FRAP พบว่าเพคตินจากเปลือกกล้วยน้ำหว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งวิธี ABTS และ FRAP โดยมีค่า 23.54 ± 1.30 mM VCEAC /g และ 1.5 ± 0.09 mM TEAC /g ตามลำดับ ในขณะที่เพคตินจากแกนกล้วยและส้ม ซึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS มีค่า 9.68 ± 0.66 และ 7.17 ± 0.57 mM VCEAC /g และวิธีวิเคราะห์ด้วย FRAP มีค่า 0.74 ± 0.04 และ 0.69 ± 0.02 mM TEAC /g ตามลำดับ

มีรายงานว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลบนเพคติน⁽¹⁹⁾ โดยการที่ low methoxyl pectin (LMP) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า high methoxyl pectin (HMP) นั้น เนื่องจาก LMP มีระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันน้อยกว่าทำให้มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่โครงสร้างมากกว่า จึงสามารถเกิดการรับอิเล็กตรอนได้มากกว่า HMP มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเติม LMP ในโยเกิร์ตพบว่าช่วยเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตได้⁽¹⁸⁾

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของทั้งสองวิธี พบว่าวิธี ABTS (เมื่อเทียบกับ Ascorbic acid (mM)) ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าวิธี FRAP (เมื่อเทียบกับ Trolox) แสดงว่าเพคตินที่สกัดได้ตอบสนองต่อกลไกการเกิด radical scavenging ได้ดีกว่าการเกิดปฏิกิริยากับโลหะหนัก (Fe^{2+}) ซึ่งผลการออกฤทธิ์ที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของเพคตินชนิด LMP ที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกมากกว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่า⁽²⁰⁾

4.4 สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคตินจากเปลือกกล้วย

ตารางที่ 4 สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคตินจากเปลือกกล้วยต่อจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* ในน้ำทับทิม (pH 3.1)

| วันที่ | จำนวนจุลินทรีย์พรีไบโอติกในน้ำทับทิม (log CFU/ml) | | | |
|--------|---|-------------------|------------------------------------|--------------------|
| | <i>Lactobacillus paracasei</i> | | <i>Bifidobacterium lactis Bb12</i> | |
| | ไม่เติมเพคติน | เติมเพคติน | ไม่เติมเพคติน | เติมเพคติน |
| 0 | 8.75 ± 0.02^a | 8.75 ± 0.02^a | 8.76 ± 0.001^a | 8.77 ± 0.001^a |
| 7 | 5.57 ± 0.02^c | 6.67 ± 0.02^b | 4.59 ± 0.004^d | 6.90 ± 0.002^a |
| 14 | 4.24 ± 0.04^c | 6.20 ± 0.02^a | 4.18 ± 0.14^c | 5.71 ± 0.004^b |

รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

จากการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคตินทั้ง 3 แหล่ง พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงเลือกเพคตินจากเปลือกกล้วยมาศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก จากการทดสอบคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคตินจากเปลือกกล้วยต่อจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* ในน้ำทับทิม (pH 3.1) พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus paracasei* ในวันที่ 0, 7 และ 14 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 8.75 ± 0.02 , 6.67 ± 0.02 และ 6.20 ± 0.02 ตามลำดับ เทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ในหลอดทดลองที่ไม่เติมเพคตินในวันที่ 0, 7 และ 14 เท่ากับ 8.75 ± 0.02 , 5.57 ± 0.02 และ 4.24 ± 0.04 ตามลำดับ และปริมาณจุลินทรีย์ชนิด *Bifidobacterium lactis Bb12* ในวันที่ 0, 7 และ 14 มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 8.77 ± 0.001 , 6.90 ± 0.002 และ 5.71 ± 0.004 ตามลำดับ เทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ในหลอดทดลองที่ไม่เติมเพคตินในวันที่ 0, 7 และ 14 เท่ากับ 8.76 ± 0.001 , 4.59 ± 0.004 และ 4.18 ± 0.14 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ในหลอดทดลองที่มีเพคติน มีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่สูงกว่าหลอดทดลองที่ไม่มีเพคตินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Nualkaekul และคณะ ทำการวิจัยเรื่องอิทธิพลของการห่อหุ้มต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ 2 ชนิด ในน้ำผลไม้ ปี 2013 พบว่าการนำเพคตินมาห่อหุ้มจุลินทรีย์สามารถเพิ่มการอยู่รอดของจุลินทรีย์ได้มากกว่าไม่มีเพคติน⁽²¹⁾ เนื่องจากเพคตินเป็นพรีไบโอติกชนิด non-starch polysaccharide ซึ่งเป็นอาหารของจุลินทรีย์โพรไบโอติกจึงทำให้หลอดทดลองที่มีเพคตินผสมอยู่มีการอยู่รอดของจุลินทรีย์มากขึ้น และตัวเพคตินยังมีคุณสมบัติในการปกป้องเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เป็นไปตามผลการทดลองของสุภัทสรวันสุทธะ และคณะ ทำการวิจัยเกี่ยวกับความคงตัวของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์ ด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) ในน้ำแครอท พบว่าการห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกโดยวิธีการเอ็นแคปซูลชัน (encapsulation) ด้วยเทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน สามารถเพิ่มการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำแครอทได้ โดยจุลินทรีย์ชนิด *L. fermentum LF026* และ *B. animalis BF052* มีการลดลงของจุลินทรีย์เท่ากับ 0.06 ± 0.23 และ 0.01 ± 0.41 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์เท่ากับ 0.23 ± 0.05 และ 0.02 ± 0.07 ตามลำดับ⁽²³⁾

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองการสกัดเพคตินจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วยพบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มที่ใช้เป็นตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) พบว่าปริมาณเถ้าและปริมาณความชื้นของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นกัน และค่าทางเคมีของเพคตินจากเปลือกกล้วยและแกนกล้วยเมื่อพิจารณา มวลสมมูล กรดยูโรนิก และ ระดับการเกิดเอสเทอร์ฟิเคชัน พบว่าเพคตินจาก 3 แหล่งให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปริมาณเมทอกซิลของเพคตินจากเปลือกกล้วยแตกต่างจากเพคตินจากเปลือกส้มและแกนกล้วยอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเพคตินที่สกัดได้เป็นเพคตินชนิด Low methoxyl pectin

จากการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคติน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากแกนกล้วยน้ำว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยน้ำว่าและเปลือกส้มอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งวิธี ABTS และ FRAP เนื่องจากเพคตินที่สกัดได้จากแกนกล้วยเป็นเพคตินชนิด High methoxyl pectin

จากการทดสอบคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเพคตินต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ในวันที่ 7 และ 14 หลอดทดลองที่เติมสารละลายเพคตินจากเปลือกกล้วย 3% มีจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตมากกว่าจำนวนจุลินทรีย์ในหลอดทดลองที่ไม่เติมเพคตินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

- เพคตินถือเป็นใยอาหารที่น่าสนใจ มีคุณสมบัติที่หลากหลายควรทำการทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับคุณสมบัติอื่น ๆ ของเพคติน
- ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำเพคตินไปใช้ประโยชน์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร
- ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำเพคตินไปประยุกต์ใช้ในการเป็นพอลิเมอร์ขนส่งสาร เนื่องจากเพคตินมีคุณสมบัติในการเกิดเจลได้ดี และไม่ถูกย่อยโดยน้ำย่อยจากร่างกาย

เอกสารอ้างอิง

1. Khamsucharit P, Laohaphatanalert K, Gavinlertvatana P, Sriroth K, Sangseethong K. Characterization of pectin extracted from banana peels of different varieties. *Food Science and Biotechnology* [Internet].2018 [cited 2020 Sep 11];27:623-9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0302-0>
2. Girma E, Worku T. Extraction and characterization of pectin from selected fruit peel waste. *International Journal of Scientific and Research Publication* [Internet].2016 [cited 2020 Sep 11];6:447-54. Available from: <http://www.ijsrp.org/research-paper-0216/ijsrp-p5069.pdf>
3. Sodchit C, Tochampa W, Kongbangkerd T, Singanusong R. Effect of banana peel cellulose as a dietary fiber supplement on baking and sensory qualities of butter cake. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*35 [Internet].2013 [cited 2020 Sep 11];6:641-6 Available from: <http://rdo.psu.ac.th/sjst/journal/35-6/35-6-4.pdf>
4. Emaga TH, Robert C, Ronkart NS, Wathelet B, Paquot M. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. *Bioresource Technology*[Internet].2008 [cited 2020 Sep 11];99:4346–54 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.030>
5. Kulkarni SG, Vijayanand P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa L.*). *LWT- Food science and technology* [Internet].2010 [cited 2020 Sep 11];43:1026-31 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.11.006>
6. Oliveira TS, Rosa MF, Cavalcante FL, Pereira PF, Moates GK, Wellner N, et al. Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food chemistry*[Internet].2016[cited 2020 Sep 11];198:113-8 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.080>
7. Wang K, Lia M, Wang Y, Liu Z, Ni Y. Effects of extraction methods on the structural characteristics and functional properties of dietary fiber extracted from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food hydrocolloids*[Internet].2021[cited 2020 Sep 11];110:106162 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106162>
8. Swamy GJ, Muthukumarappan K. Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food chemistry*

- [Internet].2017[cited 2020 Sep 10];220:108-114 Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616315977>
9. Ljubicic M, Saric MM, Rumbak I, Baric IC, Komes D, Satalic Z, et al. Knowledge about dietary fibre and its health benefits: A cross-sectional survey of 2536 residents from across Croatia. *Medical hypotheses* [Internet].2017[cited 2020 Sep 9];105:25-31 Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987716309057>
 10. Chen J, Cheng H, Zhi Z, Zhang H, Linhardt RJ, et al. Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin. *Food hydrocolloids*[Internet].2020[cited 2020 Sep 9];109:106160 Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20303453#undfig1>
 11. All R, Staub H, Leveille GA, Boyle PC. Dietary fiber and obesity. In: Vahouny GV et al, editors. *Dietary fiber in health and disease*. New York: Plenum Press; 1982. P.139-49
 12. ซอ์ลัดดา เทียงพุก. โยอาหาร.รู้ไว้ได้ประโยชน์ [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2559[เข้าถึงเมื่อ 9 ก.ย. 2563]. เข้าถึงได้จาก:
<https://www.fostat.org/dietary-fiber/>
 13. Kaczmarczyk MM, Miller MJ, Freund GG. The health benefits of dietary fiber: Beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism* [Internet].2012[cited 2020 Sep 11];61:1058-1066 Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049512000455>
 14. Baskin S, Salem H. *Oxidants, Antioxidants and Free Radicals*. 1. United States: CRC Press; 1997
 15. จักรพงศ์ ไพบูลย์. สารต้านอนุมูลอิสระ. [อินเทอร์เน็ต]. 2542 [เข้าถึงเมื่อ 21 พฤษภาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html>
 16. ชนิษฐา คงยอด. ผลการต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระของสารร้ายเกลียวทอง [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต]. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2553.
 17. Choe E, David Min B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Food. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. [Internet].2009 [cited 2021 May 21];8:345-58 Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1541-4337.2009.00085.x>
 18. Khubber S, Chaturvedi K, Thakur N, Sharma N, Yadav S. Low-methoxyl pectin stabilizes low-fat set yoghurt and improves their physicochemical properties,

- rheology, microstructure and sensory liking.[Internet].2021 [cited 2021 May 23];11: 106240 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106240>
19. Buathongjan C, Israkarn K, Sangean W, Outrequin T, Gamanpilas C, Methacanon P. Studies on chemical composition, rheological and antioxidant properties of pectin isolated from Riang (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) pod. *International Journal of Biological Macromolecules*. [Internet].2020 [cited 2021 May 23];164: 4575-82 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.079>
 20. Celus M, Salvia-Trujillo L, Kyomugasho C, Maes I, VanLoey A.M, Grauwet T, Structurally modified pectin for targeted lipid antioxidant capacity in linseed/sunflower oil-in-water emulsions. *Food Chem*. [Internet].2018 [cited 2021 May 23];241;86-96 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.056>
 21. Nualkaekul S, Cook MT, Khutoryanskiy VV, Charalampopoulos D. Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*.2013 [cited 2021 May 23];53;304-311 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.056>
 22. Srisuvor N, Prakitchaiwattana C, Chinprahast N, Subhimaros S. Use of banana puree from three indigenous Thai cultivars as food matrices for probiotics and application in bio-set-type yoghurt production. *International Journal of Food Science and Technology*. [Internet].2013 [cited 2021 May 23];48;1640-1648
 23. สุภัตสร วันสุทธะ, ลัดดาวัลย์ ยืนยาว, เขมวิทย์ จันตะมา, ศิริมา สุวรรณภูฏ จันตะมา. ความคงตัวของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์ด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชันในน้ำแครอท. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี*. 2563;7:41-60.
 24. กษมา ชารีโคตร. หลักการวิเคราะห์อาหาร. คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี. [อินเทอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 21 พฤษภาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: <http://portal5.udru.ac.th/ebook/pdf/upload/18A7jD007644B3RFF306.pdf>
 25. Floegel A, Kim D, Chung S, Koo S, Chun O. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. [Internet].2011 [cited 2021 APR 11];24:1043-8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
 26. Ogutu F, Tai-HuaMu. Ultrasonic degradation of sweet potato pectin and its antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*. [Internet].2017 [cited 2021 APR 11];38:726-34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.08.014>

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ภาคผนวก ก. วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ก1. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

1. เเผา Crucible ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นใน Desiccator จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ลงใน Desiccator เเผาจนเตาให้ความร้อนจนหมดควัน
3. เเผาที่เตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่
4. ทิ้งให้เย็นใน Desiccator
5. ชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักเถ้า + น้ำหนัก Crucible)

การคำนวณ

$$\text{เถ้า (ร้อยละ)} = \frac{[(\text{น้ำหนัก Crucible} + \text{เถ้า}) - \text{น้ำหนัก Crucible}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ก2. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

1. ออบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบจนน้ำหนักคงที่ ใส่ไว้ในโถดูดความชื้นจนอุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในภาชนะสำหรับหาความชื้น นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องใน desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
3. ออบซ้ำ จนได้น้ำหนักคงที่ซึ่งค่าที่ได้จะแตกต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม คำนวณปริมาณความชื้น

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบกับหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}$$

ก3. ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ค่า %Antioxidant activity จากวิธี ABTS assay

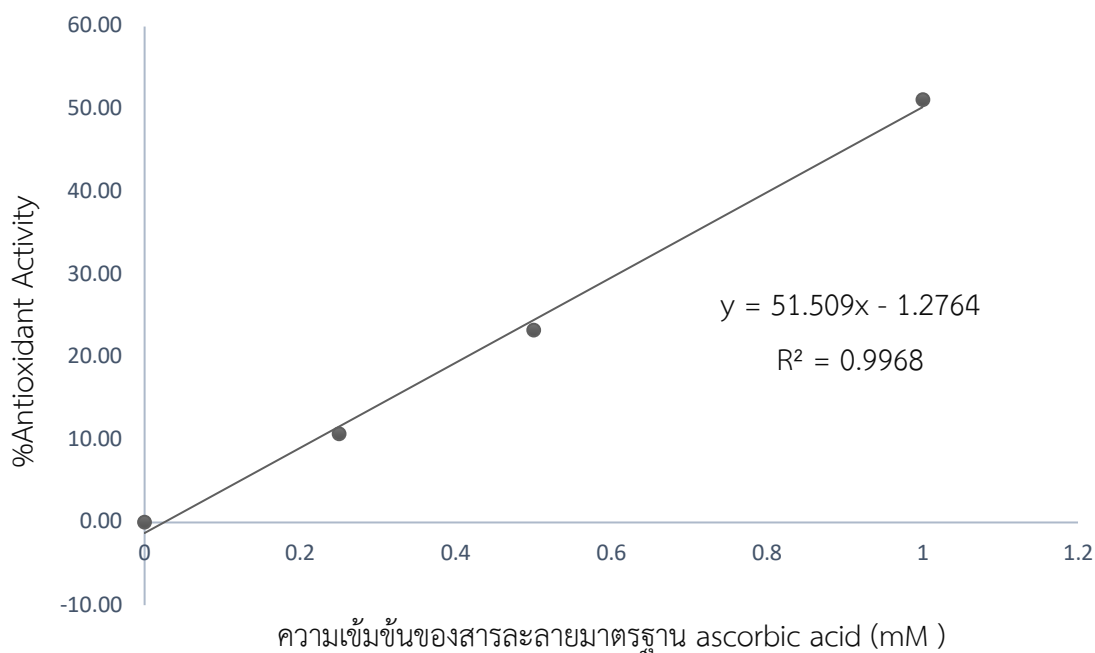
หากกราฟมาตรฐาน %Antioxidant activity ของ Ascorbic acid ที่ OD₇₃₄ ด้วยวิธี ABTS assay

| หลอด | ความเข้มข้น Ascorbic acid (mM) | Absorbance ที่ OD ₇₃₄ | Average — Blank | %Antioxidant activity |
|-------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------|--------------------------|
| Blank | | 0.0491 | | |
| 1 | 0 | 0.6482 | 0.605 | 00.00 |
| 2 | 0.25 | 0.5786 | 0.536 | 10.73 |
| 3 | 0.5 | 0.4976 | 0.455 | 23.23 |
| 4 | 1 | 0.3171 | 0.374 | 51.07 |

นำค่า absorbance ของแต่ละความเข้มข้น คำนวณหาปริมาณ %Antioxidant activity (%AA) ตามสมการ

$$\%AA = \left(\frac{OD_{Blank} - OD_{Sample}}{OD_{Blank}} \right) \times 100$$

จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (แกน x) กับ %Antioxidant activity (แกน y)



กราฟมาตรฐาน %Antioxidant activity ของ Ascorbic acid ที่ OD₇₃₄

วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเพคตินและคำนวณหาค่า %AA แล้วนำไปคำนวณหา VCEAC (mM) จากกราฟค่าในสมการ $y = 51.509x - 1.2764$ ($R^2=0.9968$) เพื่อหาค่า x และคำนวณ VCEAC (mM/ g dw) จากการเทียบบัญญัติไตรยางค์

| ชนิดเพคติน | Absorbance ที่ OD ₇₃₄ | | |
|-------------------|----------------------------------|------------|------------|
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |
| เปลือกส้มแมนดาริน | 0.5732 | 0.5841 | 0.5936 |
| เปลือกกล้วยน้ำว้า | 0.3704 | 0.4043 | 0.3803 |
| แกนกล้วยน้ำว้า | 0.5666 | 0.5832 | 0.5604 |

ตัวอย่างการคำนวณ

โดยนำค่า absorbance ของเปลือกส้มแมนดาริน ครั้งที่ 1 มาคำนวณ VCEAC (mM/ g dw)

เมื่อวัดค่า absorbance ได้ 0.5732 นำไปลบกับ Blank จะได้ absorbance - blank(0.043) = 0.5302

คำนวณหา %AA = 18.195 แทนค่า %AA เป็นค่า y ในสมการ $y = 51.509x - 1.2764$ ($R^2=0.9968$)

เพื่อหาค่า x ได้ VCEAC = 0.378 mM นำไปเทียบบัญญัติไตรยางค์ โดย

น้ำหนักเปลือกส้ม 0.04 กรัม มี VCEAC 0.378 mM

น้ำหนักเปลือกส้ม 1 กรัม มี VCEAC $0.378 \div 0.04 = 9.45$ mM

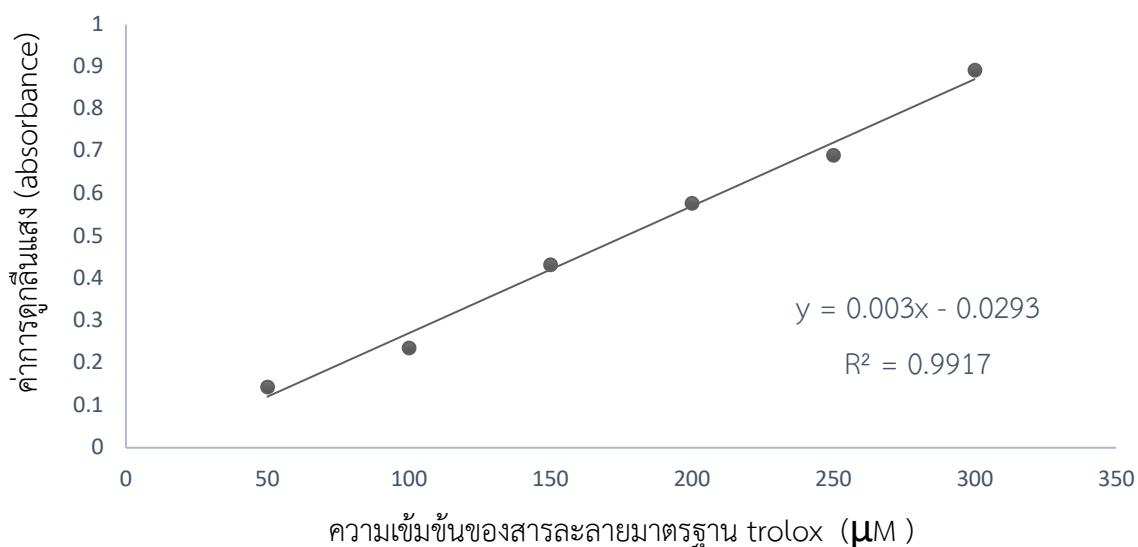
ดังนั้นที่การวัดค่า absorbance ของเปลือกส้มแมนดารินครั้งที่ 1 มี VCEAC 9.45 mM/g dw

คำนวณค่า VCEAC จากการวัดทั้ง 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

ก4. ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้กราฟมาตรฐาน จากวิธี FRAP

| หลอด | ความเข้มข้น Trolox (mM) | Absorbance ที่ OD ₅₉₃ |
|------|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | 25 | 0.314 |
| 2 | 50 | 0.144 |
| 3 | 100 | 0.236 |
| 4 | 150 | 0.443 |
| 5 | 200 | 0.578 |
| 6 | 250 | 0.691 |
| 7 | 300 | 0.892 |

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)



กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ OD₅₉₃

| ชนิดเพคติน | Absorbance ที่ OD ₅₉₃ | | |
|-------------------|----------------------------------|------------|------------|
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |
| เปลือกส้มแมนดาริน | 0.377 | 0.402 | 0.834 |
| เปลือกกล้วยน้ำว้า | 0.878 | 0.923 | 0.814 |
| แกนกล้วยน้ำว้า | 0.441 | 0.401 | 0.397 |

วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเพคตินและคำนวณหาค่า TEAC (mM) จากการแทนค่าในสมการ $y = 0.003x - 0.0293$ ($R^2=0.9917$) เพื่อหาค่า x และคำนวณ TEAC (mM/ g dw) จากการเทียบบัญญัติไตรยางค์

ตัวอย่างการคำนวณ

โดยนำค่า absorbance ของเปลือกส้มแมนดาริน ครั้งที่ 1 มาคำนวณ TEAC (mM/ g dw)

เมื่อวัดค่า absorbance ได้ 0.377 คำนวณหา TEAC โดยการแทนค่า absorbance เป็นค่า y ในสมการ

$y = 0.003x - 0.0293$ ($R^2=0.9917$) เพื่อหาค่า x ได้ TEAC = 135.43 mM นำไปเทียบบัญญัติไตรยางค์ โดย

น้ำหนักเปลือกส้ม 0.01 กรัม มี TEAC 135.43 mM

น้ำหนักเปลือกส้ม 1 กรัม มี TEAC $135.43 \div 0.01 = 0.677$ mM

ดังนั้นการวัดค่า absorbance ของเปลือกส้มแมนดารินครั้งที่ 1 มี TEAC 0.677 mM/g dw

คำนวณค่า TEAC จากการวัดทั้ง 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

ภาคผนวก ข.
ผลวิเคราะห์ทางสถิติ

ภาคผนวก ข.

วิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลโดยโปรแกรม IBM SPSS version 22 Statistic

1. ปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

%Yield

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|--------|--------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 2.00 | 3 | 3.4545 | | |
| 3.00 | 3 | | 4.6705 | |
| 1.00 | 3 | | | 31.0688 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .021.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

2. ปริมาณเถ้าของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

%Ash

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | |
|------|---|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| 3.00 | 3 | 1.9537 | |
| 2.00 | 3 | 2.0108 | |
| 1.00 | 3 | | 4.0773 |
| Sig. | | .713 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .033.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

3. ปริมาณความชื้นของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

%Moisture

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | |
|------|---|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| 3.00 | 3 | 6.2900 | |
| 2.00 | 3 | 6.6533 | |
| 1.00 | 3 | | 7.6933 |
| Sig. | | .076 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .043.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

4. ปริมาณมวลสมมูลของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

Equivalent weight

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|----------|----------|-----------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 2.00 | 3 | 628.1200 | | |
| 3.00 | 3 | | 843.1900 | |
| 1.00 | 3 | | | 1611.0233 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3137.170.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

5. ปริมาณเมทอกซิลของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

Methoxyl content

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | |
|------|---|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| 1.00 | 3 | 6.2733 | |
| 2.00 | 3 | 6.6167 | |
| 3.00 | 3 | | 7.4600 |
| Sig. | | .316 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .148.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

6. ปริมาณกรดยูโรนิกของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

Anhydroronic acid

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 2.00 | 3 | 40.0533 | | |
| 1.00 | 3 | | 46.2967 | |
| 3.00 | 3 | | | 65.6267 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.880.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

7. ระดับการเกิดปฏิกิริยาเกิดเอสเทอร์ฟิเคชันของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า

Degree of esterification

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 2.00 | 3 | 33.9100 | | |
| 3.00 | 3 | | 37.0767 | |
| 1.00 | 3 | | | 76.5033 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.918.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

8. การทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า ด้วยวิธี ABTS

ABTS assay

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|--------|--------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 1.00 | 3 | 7.1729 | | |
| 2.00 | 3 | | 9.7017 | |
| 3.00 | 3 | | | 23.5401 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .939.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

9. การทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกส้มแมนดาริน(ตัวควบคุม) เปลือกกล้วยน้ำว้า และแกนกล้วยน้ำว้า ด้วยวิธี FRAP

FRAP

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | |
|------|---|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| 1.00 | 3 | .6949 | |
| 2.00 | 3 | .7371 | |
| 3.00 | 3 | | 1.5016 |
| Sig. | | .415 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square (Error) = .003.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

10. การทดสอบคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกของเพคตินต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* ในน้ำทับทิม วันที่ 0

วันที่0

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset |
|------|---|--------|
| | | 1 |
| 1.00 | 2 | 8.7472 |
| 2.00 | 2 | 8.7523 |
| 3.00 | 2 | 8.7649 |
| 4.00 | 2 | 8.7679 |
| Sig. | | .171 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

11. การทดสอบคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกของเพคตินต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด ชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* ในน้ำทับทิม วันที่ 7

วันที่ 7

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | | |
|------|---|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3.00 | 2 | 4.5922 | | | |
| 1.00 | 2 | | 5.5711 | | |
| 2.00 | 2 | | | 6.6691 | |
| 4.00 | 2 | | | | 6.8932 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

12. การทดสอบคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกของเพคตินต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด ชนิด *Lactobacillus paracasei* และ *Bifidobacterium lactis Bb12* ในน้ำทับทิม วันที่ 14

วันที่ 14

Duncan^{a,b}

| trt | N | Subset | | |
|------|---|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 3.00 | 2 | 4.1796 | | |
| 1.00 | 2 | 4.2430 | | |
| 4.00 | 2 | | 5.7101 | |
| 2.00 | 2 | | | 6.1973 |
| Sig. | | .407 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

b. Alpha = .05.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นายบุญญพัฒน์ อุทิศผล
วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา 2563
โทรศัพท์ 091-763-0555
E-mail punyapat.u@gmail.com



ชื่อ-สกุล นางสาวบุญยनुช มณีพงษ์
วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา 2563
โทรศัพท์ 094-561-5399
E-mail punyanuch.manee@gmail.com

